

**Zemědělský výzkum, spol. s r.o.  
Mendelova univerzita v Brně**

Uplatněná certifikovaná metodika č. 54/22

## **Metodika aktivace stabilní organické hmoty pomocí nativní mikroflóry**

Ing. Martin Brtnický

Ing. Tereza Hammerschmiedt

Ing. Jiří Holátko, Ph.D.

Mgr. Eliška Kobzová

Ing. Oldřich Látal, Ph.D.

Ing. Antonín Kintl

**Březen 2022**

### **Dedikace:**

Uplatněná certifikovaná metodika vznikla za finanční podpory Technologické agentury České republiky v rámci projektu TH03030319: Podpora funkční diverzity půdních organismů aplikací klasických a modifikovaných stabilních organických hmot při zachování produkčních vlastností půd.

### **Certifikace:**

Metodika byla certifikována Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským v Brně osvědčením č. UKZUZ 053841/2022 ze dne 30.3.2022.

### **Oponovali:**

Prof. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D., Vysoké učení technické v Brně

RNDr. Jiří Čuhel, Ph.D., Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

### **Vydavatel:**

© Zemědělský výzkum, spol. s r.o.

Zahradní 1, 664 41 Troubsko

© Mendelova univerzita v Brně

Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno

**ISBN:** 978-80-88000-35-8 (Zemědělský výzkum, spol. s r.o.)

## **Obsah**

Abstrakt .....	4
Cíl metodiky.....	5
Úvod .....	6
Vlastní popis metodiky .....	7
Aktivace biouhlu.....	7
Pokusná plocha .....	8
Agrotechnické postupy, osevní plán, stanovení výnosů.....	9
Odběr a analýzy půdních vzorků.....	10
Výsledky pokusů.....	11
Srovnání „novosti postupů“ .....	15
Popis uplatnění certifikované metodiky .....	15
Ekonomické aspekty.....	15
Neekonomické (environmentální) aspekty .....	16
Souhrn .....	17
Seznam použité související literatury .....	18
Seznam publikací, které předcházely metodice.....	19

## **Abstrakt**

Biouhel je v zemědělství využíván jako půdní aditivum na bázi stabilní organické hmoty pro zlepšení kvality a zdraví půdy a zvýšení jejího produkčního potenciálu. Tato metodika představuje technologii aktivace biouhlu pomocí „Zařízení pro kapalnou semi-emerzní aktivaci půdních aditiv“ (užitný vzor č. 34650), která využívá komerčních zdrojů živin a nativní mikroflóry obsažené v hnoji či kompostu. Za účelem ověření vhodnosti této aktivace byl v letech 2019-2021 na pokusné ploše poblíž Troubska sledován maloparcelkový pokus. V rámci osevního postupu byly pěstovány kukuřice, pšenice a řepka. Celkové hodnocení výhodnosti zvoleného agrotechnického managementu zahrnovalo jeho vliv nejen na ekonomiku produkce, ale také na kvalitu půdního prostředí. Proto se jako optimální volba pro zachování produkčních i mimoprodukčních vlastností agrosystému jeví aplikace biouhlu aktivovaného nativní mikroflórou z hnoje. Avšak pozitivně hodnotíme také aplikaci biouhlu aktivovaného nativní mikroflórou z kompostu.

### **Klíčová slova:**

Biouhel, hnůj, kompost, aktivace, půdní respirace, enzymatické aktivity.

## **Abstract**

Biochar is used in agriculture as a soil additive based on stable organic matter to improve the quality and health of the soil and increase its production potential. This methodology presents a biochar activation technology using the "Liquid Semi-Emergent Soil Additive Activation Device" (Utility Model No 34650), which uses commercial sources of nutrients and native microflora contained in manure or compost. In order to test the suitability of this activation, a small-plot experiment was monitored in 2019-2021 in an experimental area near Troubsko. Maize, wheat and canola were grown in the rotation. The overall evaluation of the advantage of the chosen agrotechnical management included its impact not only on the economics of production, but also on the quality of the soil environment. Therefore, the application of biochar activated with native microflora from manure appears to be the optimal choice for maintaining the production and non-production properties of the agro-system. However, the application of biochar activated with native microflora from compost is also a positive option.

### **Key words:**

Biochar, manure, compost, activation, soil respiration, enzymatic activities.

## **Cíl metodiky**

Cílem vypracované metodiky je poskytnout zemědělcům a pěstitelům návod, jak díky aplikaci biouhlu aktivovaného pomocí kapalného aktivačního média obsahujícího komerční zdroje živin a nativní mikroflóru z hnoje či kompostu podpořit funkční diverzitu půdních mikroorganismů, která se odráží ve zdraví půdy a má přímý vliv na zachování produkčních vlastností půd.

## Úvod

Biouhel je v zemědělství využíván jako půdní aditivum na bázi stabilní organické hmoty pro zlepšení kvality a zdraví půdy a zvýšení jejího produkčního potenciálu. Biouhel je produkován pyrolýzou organických materiálů, které jsou často odpadními produkty zemědělství, lesnictví či zpracovatelského průmyslu. Jedná se o zuhelnatělý materiál o velkém specifickém povrchu, který je schopný vázat chemické látky, např. živiny následně využitelné rostlinami či půdní organismy, nebo sloužit jako nosič pro kolonizaci půdními mikroorganismy. V současné době bývá biouhel nejčastěji aplikován do půdy přímo bez úpravy, méně časté je využití předchozí úpravy pomocí řízeného obohacování živinami, kompostování nebo smíchání se statkovými hnojivy, hnojem nebo digestátem.

Míchání biouhlu se statkovými hnojivy či kompostem vede k vázání živin i mikroorganismů obsažených v těchto organických hnojivech na povrch biouhlu. Společné zrání takovýchto směsí také vede ke zlepšení vlastností biouhlu a zvyšuje jeho přínos pro kvalitu půdy a výživu pěstovaných plodin. Aktivace biouhlu smísením s organickými hnojivy má však jistá negativa. Tento způsob aktivace je náročný na prostor, vyžaduje velká množství hnojiv a aplikaci biouhlu pouze ve vzniklé směsi. Tyto aspekty prodražují především manipulační a logistické náklady. Navíc jsou složení a vlastnosti výsledného produktu dány typem a kvalitou použitého organického materiálu.

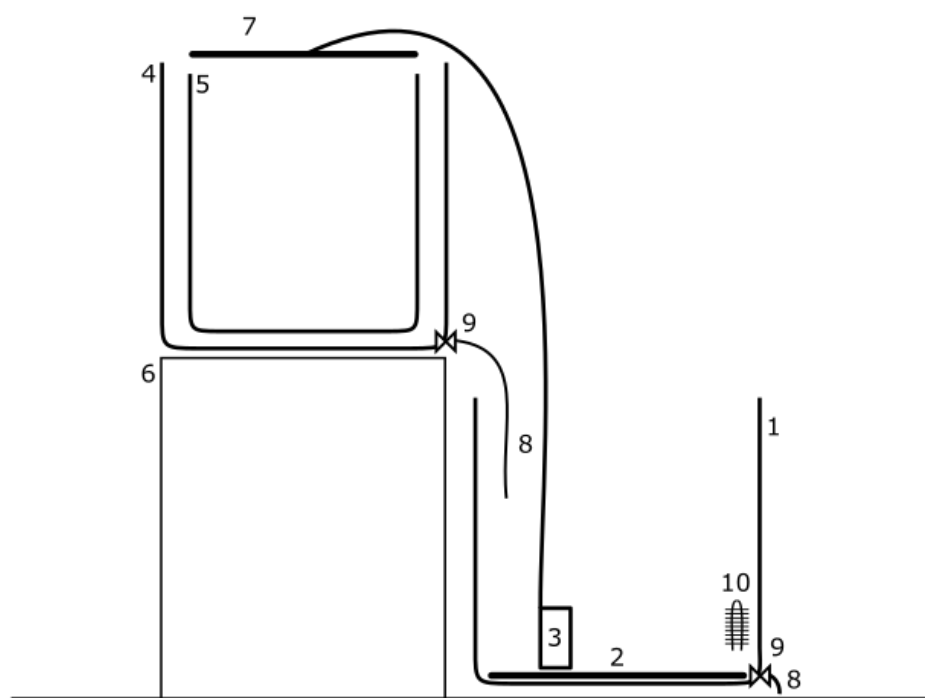
Tato metodika představuje technologii aktivace biouhlu bez nutnosti následné aplikace spolu s aktivačním médiem, která využívá komerčních zdrojů živin a nativní mikroflóry a vede k produkci do značné míry homogenního produktu. Tato technologie je snadno automatizovatelná, není náročná na množství použitých organických hnojiv a prostor, avšak v současnosti není známa nebo prakticky využívána.

## Vlastní popis metodiky

### Aktivace biouhlu

Biouhel byl aktivován pomocí „Zařízení pro kapalnou semi-emerzní aktivaci půdních aditiv“, které je dokumentováno užitným vzorem č. 34650. Technické řešení je dále zobrazeno na Obr. 1, který schematicky znázorňuje aktivační kolonu pracovně nazvanou „sprcha“.

1. Spodní nádrž
2. Aerační rošt
3. Čerpadlo s hladinovým spínačem
4. Horní (aktivační) nádrž
5. Aktivační koš
6. Nosná kovová konstrukce
8. Otočné skrápěcí zařízení
9. Odtokové potrubí
10. Ventil na odtokovém potrubí
11. Topné těleso s termostatem



Obr. 1: Schématické znázornění aktivačního zařízení

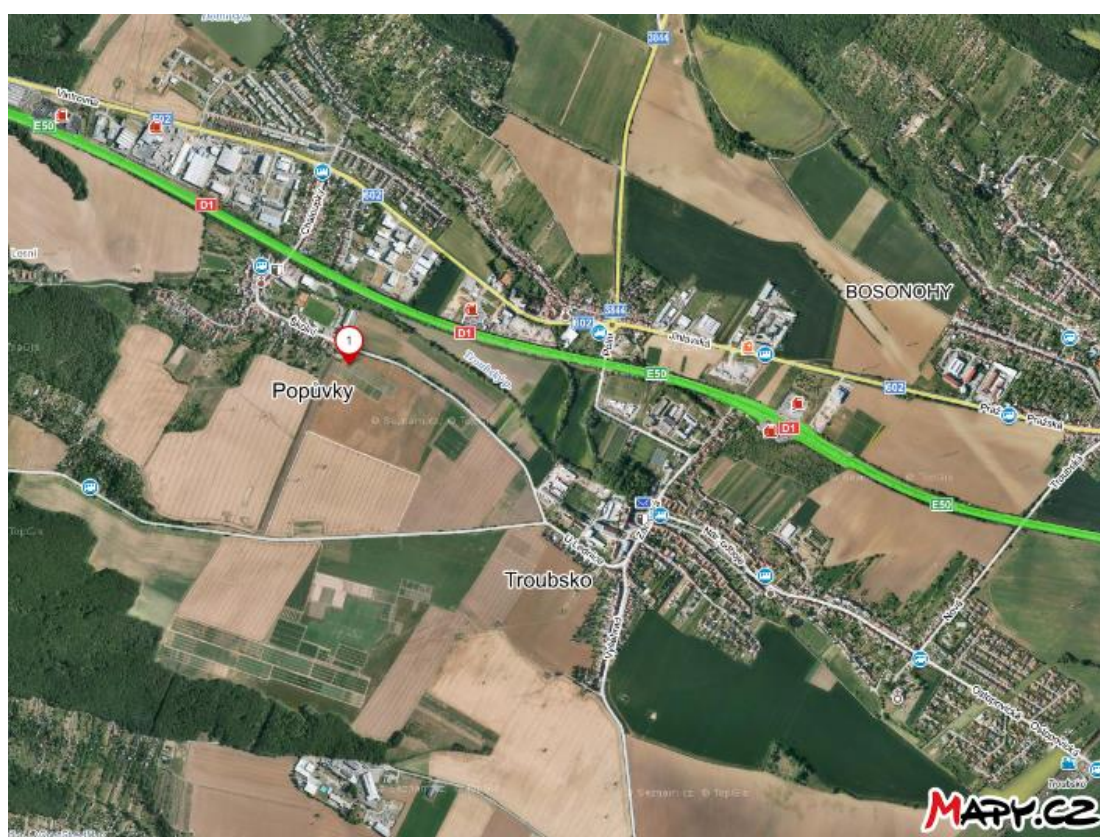
Aktivační kapalina byla připravena ze směsi minerálních hnojiv, konkrétně 2,5 kg fosforečného hnojiva s vápníkem FOSMAG (25 %  $P_2O_5$ , 40 % CaO, 7 % S), 0,54 kg močoviny (46 % N), 0,25 kg draselné soli (60 %  $K_2O$ ), a 0,5 kg řepné melasy (42 % cukru) jako zdroje energie pro mikroorganismy, která byla rozpuštěna v barelu obsahujícím 50 litrů vody a obohacena o 2,5 kg průmyslového kompostu (Fertia s.r.o., Česká republika) nebo 1,25 kg hnoje z chovu skotu bez tržní produkce mléka na vysoké podestýlce (ZOD Slezská Dubina,

Česká republika). Takto připravená aktivační kapalina byla inkubována po dobu tří dnů za intenzivní aerace při teplotě 20 °C.

Horní nádrž aktivačního zařízení byla naplněna 155 kg komerčně vyrobeného biouhlu ze zemědělského odpadu (85 % obilné a slunečnicové slupky, 10 % dřevní štěpky a 5 % ovocné dužiny) při 600 °C (Sonnenerde GmbH, Rakousko). Biouhel byl prolit vodou, přebytečná voda protékla do spodní nádrže, do které byla přelita inkubovaná aktivační kapalina, která byla obohacena o dalších 2,5 kg FOSMAGu, 1,2 kg močoviny, 0,25 kg draselné soli a 5,5 kg řepné melasy. Následně byl obsah spodní nádrže dopuštěn vodou na objem 600 litrů. Aktivační kapalina byla čerpána ze spodní do horní nádrže jednou za 6 hodin. Ve spodní nádrži byla aktivační kapalina aerována a ohřívána na 20 °C. Aktivace biouhlu probíhala po dobu 7 dnů. Na konci aktivace byl biouhel vyjmut z aktivačního zařízení a po odstranění přebytečné aktivační kapaliny byl převezen na pokusný pozemek, kde byl aplikován na povrch půdy.

### Pokusná plocha

Pro testování podpory funkční diverzity půdních organismů aplikací klasických a modifikovaných stabilních organických hmot při zachování produkčních vlastností půd byl vybrán pozemek firmy Zemědělský výzkum, spol. s r.o. v Troubsku, viz Obr. 2. Pokus byl založen poblíž obce Popůvky při okraji půdního bloku č. 7201/2.



Obr. 2: Lokalizace maloparcelových pokusů s aktivovaným biouhlem na stanovišti Troubsko (na mapě bod 1)

Z hlediska agroekologického členění se pokusná plocha nachází v řepařském výrobním typu, v klimatickém okrsku mírně teplém, mírně suchém s nadmořskou výškou 287 m n. m. Geologickým podkladem území je spraš a sprašová hlína Českého masivu, půdní typ je



hnědozem modální (<http://www.geology.cz/extranet>). Na počátku pokusu byl obsah celkového uhlíku v půdě  $1,38 \pm 0,06$  % a celkového dusíku  $0,17 \pm 0,01$  %. Detailní klimatická charakteristika je uvedena v Tab. 2 a 3. Zeměpisné souřadnice dané lokality jsou  $49^{\circ}10'30''N$ ,  $16^{\circ}29'30''E$ .

Tab. 2: Měsíční úhrn srážek (mm) na stanovišti Troubsko

Rok	Úhrn srážek / Měsíc												Úhrn za rok	Úhrn za veg. období
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.		
2019	23,0	17,2	26,5	16,9	78,1	65,4	60,4	55,9	72,6	30,4	40,1	42,9	529,4	349,3
2020	8,5	27,1	25,7	20,3	65,4	87,2	59,0	105,9	81,6	130,1	23,4	36,8	671,0	419,4
2021	36,3	30,8	21,0	16,4	58,0	66,8	100,3	130,2	15,0	10,9	40,4	39,2	565,3	386,7
1981-2010	25,0	23,9	31,5	32,0	60,5	68,7	71,6	63,7	48,2	32,1	36,4	32,0	525,6	344,7

Pozn.: Vegetační období 1. 4.–30. 9.; dlouhodobý 30-letý průměr (1981–2010). Zdroj: ČHMÚ

Tab. 3: Průměrná měsíční teplota vzduchu (°C) na stanovišti Troubsko

Rok	Teplota / Měsíc												Průměr za rok	Průměr za veg. období
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.		
2019	-0,9	2,4	6,7	11,1	12,2	22,0	20,4	20,8	14,6	9,9	6,8	2,0	10,7	16,9
2020	-0,2	4,6	5,3	9,9	12,6	18	19,2	20,6	15	10,1	4,5	2,4	10,2	15,9
2021	-0,1	0	3,5	7,1	12,7	20,2	20,8	17,9	15,6	8,8	4,7	1,2	9,4	15,7
1981-2010	-1,7	-0,3	3,8	9,5	14,6	17,4	19,5	18,8	14,1	8,8	3,5	-0,6	9,0	15,7

Pozn.: Vegetační období 1. 4.–30. 9.; dlouhodobý 30-letý průměr (1981–2010). Zdroj: ČHMÚ

### Agrotechnické postupy, osevní plán, stanovení výnosů

V roce 2018, byla na vybraném pozemku pěstována jako předplodina ozimá pšenice (*Triticum aestivum* L.). Po její sklizni následovalo zpracování půdy pomocí diskového podmiťáče do hloubky 8 cm. Po vzejití výdrolu byla provedena opětovná podmiťka.

V dubnu 2019 byly na pokusné ploše o celkovém rozměru 100 x 50 m založeny pokusné varianty, každá ve 3 opakováních o rozměrech 7 x 3 m, tedy 21 m<sup>2</sup>, které byly umístěny náhodně po celé ploše a odděleny vzájemně ochranným pásmem o šíři 1 m. Jako negativní kontrola sloužily neošetřené plochy. Pro zhodnocení účinnosti aktivace byla založena varianta s aplikací neaktivovaného biouhlu a dvě varianty s biouhlem aktivovaným výše uvedeným způsobem. Aplikáční dávka všech typů biouhlu odpovídala 2 tunám neaktivovaného biouhlu na hektar.

Biouhel aplikovaný na povrch půdy byl zapraven do hloubky 10 cm pomocí půdní frézy o záběru 3 metry totožné se šířkou jednotlivých pokusných variant, při pojezdu z jedné strany tak, aby nedošlo k posunu zeminy a aplikovaného biouhlu. Před setím kukuřice byla aplikována

močovina v dávce 120 kg/ha. 26. 4. 2019 byl prostřednictvím secího stroje Kinze 3500 vyset hybrid kukuřice seté (*Zea mays* L.) KOLETIS FAO Zrno 300 - Siláž 290 ve výsevku 90 tis. j./ha při meziřádkové vzdálenosti 0,75 m do hloubky 8 cm. Tři dny po vysetí byl aplikován postřik STOMP AQUA v dávce 3,5 l/ha. Během vyvinutí 2. až 3. listu (BBCH: 12-13) byl aplikován přípravek LAUDIS v dávce 2,25 l/ha. Bohužel použitá herbicidní ochrana nebyla dostatečná a v průběhu vegetačního období došlo k velmi silnému nerovnoměrnému zaplevelení pozemku. Z tohoto důvodu nebylo možné objektivně vyhodnotit výnos jednotlivých variant, proto jsou v ekonomice za rok 2019 započteny pouze náklady na pěstování kukuřice, nikoliv zisk.

V následujícím roce byla předseťová příprava provedena pomocí půdní frézy o záběru 3 metry totožné se šířkou jednotlivých pokusných variant, při pojezdu z jedné strany tak, aby nedošlo k posunu zeminy a aplikovaného biouhlu. Před předseťovou přípravou byly aplikovány 2/3 dusíku (80 kg č.ž./ha) ve formě ledku amonného. 20. 3. 2020 byla zaseta pšenice setá (*Triticum aestivum* L.; odrůda Jarissa C1), při výsevku 200 kg/ha. Kvalitativní přihnojení bylo provedeno na konci sloupkování opět ledkem amonným v dávce 40 kg č. ž./ha, což odpovídá 1/3. V rámci herbicidní ochrany byl použit přípravek MUSTANG FORTE (Dow AgroSciences s.r.o.) POST 1. dubna, 29–32 BBCH v dávce 0,8 l/ha. Sklizeň byla provedena 11. 8. 2020 malo-parcelovým kombajnem Sampo-Rosenlew. Produkce zrna z každé parcely byla zvážena a byla změřena vlhkost. Výnos byl následně přepočten na 1 ha při vlhkosti 12 %.

Po sklizni pšenice v roce 2020 byla na pokusné ploše provedena podmítka pomocí půdní frézy o záběru 3 metry, totožné se šířkou jednotlivých pokusných variant, při pojezdu z jedné strany tak, aby nedošlo k posunu zeminy a aplikovaného biouhlu. Ozimá řepka (*Brassica napus* L. var. napus) odrůdy Kuga byla vyseta 21. 8. 2020 prostřednictvím bezorebného secího stroje Kinze 3500 při meziřádkové vzdálenosti 0,375 m a výsevku 450 tis. j./ha. Následující den byl na plochu pokusu aplikován postřik herbicidu AUTOR v dávce 1,5 l/ha. Dne 26. 9. 2020 byly aplikovány postřiky FURY v dávce 0,1 l/ha proti dřepčikům a herbicid GALLERA PODZIM v dávce 0,2 l/ha. Hnojení před setím proběhlo pomocí močoviny v dávce 40 kg č.ž./ha. 18. 2. 2021 bylo provedeno regenerační hnojení ledkem amonným v dávce 60 kg č.ž./ha. 15.3.2021 byla aplikována druhá dávka regeneračního hnojení v totožné dávce 60 kg č.ž./ha. Ve vývojové fázi 51 BBCH bylo provedeno ošetření přípravkem PICTOR 0,6-1 l/ha. Při dosažení BBCH 60 proběhlo ošetření přípravkem VOODO v dávce 0,2 l/ha. Sklizeň byla provedena 11. 8. 2021 malo-parcelovým kombajnem Sampo-Rosenlew, produkce zrna byla přepočítána na výnos z 1 ha a vlhkost 8 %.

#### Odběr a analýzy půdních vzorků

V experimentu byl hodnocen vliv rozdílně upraveného (aktivovaného) biouhlu na půdní pH, chemické i biologické vlastnosti půdy a na funkční diverzitu půdní mikrobioty. Z chemických vlastností byl stanoven obsah půdního draslíku, hořčíku a fosforu, z biologických parametrů byly stanoveny: půdní enzymatické aktivity – dehydrogenasasa (DHA),  $\beta$ -glukosidasa (GLU), N-acetyl- $\beta$ -D-glukosaminidasa (NAG), arylsulfatasa (ARS), fosfatasa (Phos), – a bazální (BR) a substrátem (D-glukosa, kys. protokatechoová, D-trehalosa, N-acetyl- $\beta$ -D-glukosamin, D-mannosa, L-alanin, L-arginin) indukované respirace.

Půdní vzorky byly odebrány po sklizni řepky ozimé v roce 2021. Vzorky půdy byly odebrány z hloubky 0-10 cm jako směsný vzorek z pokusné parcelky (7 x 3 m) tvořený 3 dílčími vzorky. Každá varianta byla odebrána ze 3 parcelek. Odebraná půda byla přesáta přes síto s velikostí ok 2 mm a skladována po dobu 14 dní při teplotě 4 °C (DHA a půdních respirace), lyofilizována (GLU, NAG, ARS, Phos) nebo usušena na vzduchu do konstantní hmotnosti pro chemické analýzy (pH, obsah živin).

Metodiky pro provedení stanovení byly odvozeny od následujících: pH stanoveno podle ISO 10390 (2005), dehydrogenázová aktivita (Casida, Klein and Santoro 1964), bazální a indukovaná respirace měřená pomocí zařízení MicroResp (Campbell et al. 2003) a protokolu výrobce (Technical Manual v2.1, The James Hutton Institute), enzymatické aktivity ( $\beta$ -glukosidasa, N-acetyl- $\beta$ -D-glukosaminidasa, arylsulfatasa, fosfatasa) byly měřeny podle normy ISO 20130 (2018). Výsledky byly podrobeny statistické analýze rozptylu ANOVA s Tukey HSD post hoc testem. Grafické znázornění hodnot vlastností pro jednotlivé varianty v sloupcových grafech s různými písmeny vyjadřuje staticky významné rozdíly na hladině významnosti  $p \leq 0,05$ .

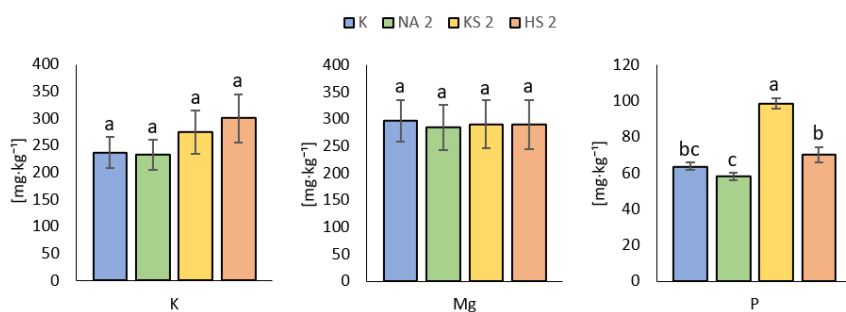
### Výsledky pokusů

Z hlediska hodnocení výnosů sledovaných plodin vycházely v hodnocených letech nejlépe oba aktivované biouhly (Tab. 4). V prvním hodnoceném roce 2020 vykazoval biouhel aktivovaný hnojem významnější zvýšení výnosu než biouhel aktivovaný kompostem. V následujícím roce se zvýšení výnosů oproti kontrole u obou aktivovaných biouhlů vyrovnalo. To může značit vyšší obsah snadno přístupných živin anebo vyšší mikrobiální obohacení biouhlu ve variantě HS 2. Výrazný rozdíl mezi variantami biouhlu se však v průběhu času stírá, a i neaktivovaný biouhel začíná třetí rok od zapravení do půdy vykazovat pozitivní vliv na výnos sledované plodiny.

Tab. 4: Průměrný výnos zrna sledovaných plodin přepočítaný na jednotnou vlhkost: 12 % u pšenice a 8 % u řepky  $\pm$  směrodatná odchylka

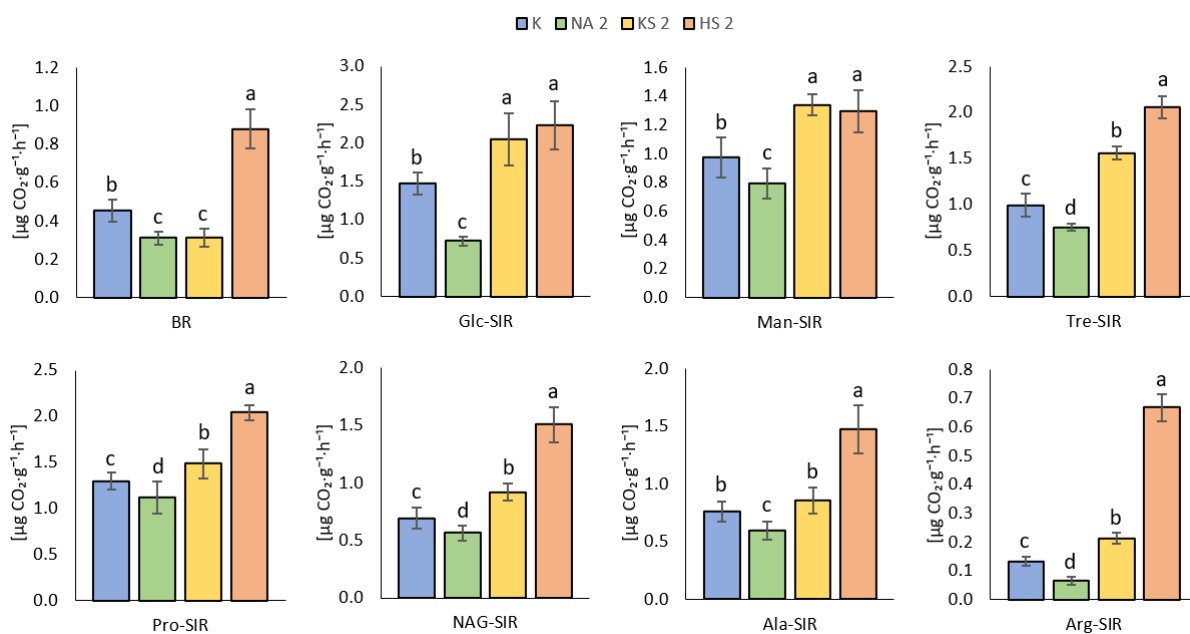
Varianta / Výnosy zrna		Pšenice 2020		Řepka 2021	
		t/ha	t/ha vs K	t/ha	t/ha vs K
<b>K</b>	kontrola (pouze NPK)	3,737 $\pm$ 0,589 <sup>a</sup>	0,000	2,708 $\pm$ 0,196 <sup>b</sup>	0,000
<b>NA 2</b>	neaktivovaný biouhel 2 t/ha	3,349 $\pm$ 0,626 <sup>a</sup>	-0,388	2,985 $\pm$ 0,259 <sup>ab</sup>	0,277
<b>KS 2</b>	biouhel aktivovaný se sprše kompostem 2 t/ha	4,042 $\pm$ 0,072 <sup>a</sup>	0,305	3,602 $\pm$ 0,268 <sup>a</sup>	0,894
<b>HS 2</b>	biouhel aktivovaný se sprše hnojem 2 t/ha	4,473 $\pm$ 0,559 <sup>a</sup>	0,736	3,538 $\pm$ 0,215 <sup>a</sup>	0,830

Ze stanovených chemických parametrů odebraných půdních vzorků byly statisticky nevýznamně variabilní hodnoty obsahu přístupného hořčíku a draslíku v půdě.



Obr. 3: Obsah přístupných živin v půdě (chybové úsečky představují směrodatnou odchylku)

Přístupný fosfor byl v půdě signifikantně zvýšen oproti kontrole ve variantě KS 2 (Obr. 3). Předpokládáme, že neaktivovaný biouhel (podobně jako i ostatní biouhly variant KS 2 a HS 2) sice zvýšil obsah dostupného fosforu v půdě v souladu s již známým zjištěním (Chintala et al. 2014), ale to pravděpodobně vedlo v konečném důsledku k jeho utilizaci/vyplavení a ke snížení obsahu v půdě. Naproti tomu varianty KS 2 a HS 2 byly obohaceny fosfátem z aktivací kapaliny a fosfát-solubilizující frakce mikroflóry těchto biouhlů mohla přispět k jeho sekvestraci v podobě mikrobiálního fosfátu asociovaného s biouhlem (Gul and Whalen 2016).



Obr. 4: Bazální (BR) a substrátem indukované respirace v půdě: D-glukosa (Glc-SIR), D-mannosa (Man-SIR), D-trehalosa (Tre-SIR), kys. protokatechoová (Pro-SIR), N-acetyl-β-D-glukosamin (NAG-SIR), L-alanin (Ala-SIR), L-arginin (Arg-SIR), chybové úsečky představují směrodatnou odchylku

Bazální půdní respirace (BR) je ukazatelem mikrobiální aktivity v půdě, substrátem indukované respirace (SIR) odráží změny ve funkční diverzitě půdního mikrobiomu (Anderson and Domsch 1978). BR byla ve srovnání s kontrolou signifikantně zvýšena ve variantě HS 2, zatímco varianta NA 2 a KS 2 vykazovaly BR signifikantně sníženou (Obr. 4). Vyšší BR půdy obohacené biouhlem aktivovaným hnojem (HS 2) byla pravděpodobně způsobena obohacením biouhlu živinami a aerobními mikroorganismy, které mohly snížit také jeho rigiditu a zvýšit dostupnost organické hmoty biouhlu k aerobní katabolýze jako ve studii

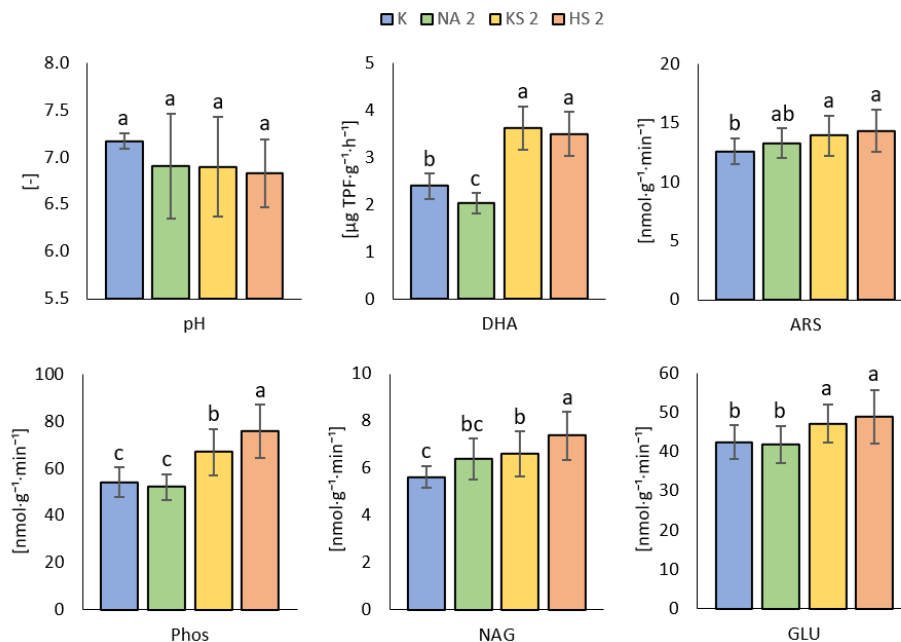
(Gibson et al. 2016). Negativní efekt neaktivovaného biouhlu (NA 2) na půdní BR mohl být naopak způsoben tím, že obohacení nedostupným stabilním organickým uhlíkem z biouhlu snížilo podíl pro půdní organismy využitelného uhlíku v půdní organické hmotě. Biouhel mohl také přispět ke stabilizaci dalších živin vazbou na svůj povrch. Biouhel obohacený kompostem (KS 2) nevykazoval stejně výrazný efekt na zvýšenou půdní respiraci pravděpodobně proto, že jeho obohacení mikroorganismy (bakteriemi a aktinomycetami) bylo nižší než v případě biouhlu HS 2. Tudíž mohlo dojít k méně výraznému mikrobiálnímu „zvětrávání“ biouhlu a méně výraznému zvýšení dostupnosti vázaného organického uhlíku.

Respirace indukovaná D-glukosou (Glc-SIR), univerzálním rychlým zdrojem energie a uhlíku, indikuje maximální aerobní katabolický potenciál půdní mikroflóry a je úměrná celkové mikrobiální půdní biomase. Glc-SIR byla v porovnání s kontrolou signifikantně zvýšena u variant HS 2 a KS 2 (Obr. 4). Mezi těmito variantami nebyl signifikantní rozdíl a měly společně s kontrolou signifikantně vyšší respiraci než varianta NA 2. Vyšší respirační potenciál, a tedy i vyšší celkovou mikrobiální biomasu, opět pravděpodobně podmínil vyšší obsah živin, menší stabilita organického uhlíku a vyšší množství mikrobiální biomasy vnesené do půdy aplikací aktivovaných biouhlů. Stejných výsledků dosáhla i respirace indukovaná D-mannosou (Man-SIR). Velmi podobné výsledky jako Glc-SIR ukázaly i respirace indukované dalšími substráty – Tre-SIR, Pro-SIR, NAG-SIR, Ala-SIR, Arg-SIR – u všech těchto vlastností byla signifikantně nejvyšší hodnota ve variantě HS 2, vyšší v porovnání s KS 2, která byla signifikantně vyšší než kontrola a NA 2, jejíž respirace byla signifikantně nejnižší (Obr. 4). Protokatechoová kyselina je intermediátem degradace ligninu a D-mannosa součástí hemicelulos: respirace jimi indukované jsou ukazateli aktivity mikroorganismů zúčastněných v degradaci lignocelulose v půdě. D-trehalosa a N-acetyl- $\beta$ -D-glukosamin jsou v půdě nejhojnější formy sacharidů, respirace indukované těmito látkami (Tre-SIR, resp. NAG-SIR) jsou ukazatelem procesů dekompozice fungální biomasy. Aminokyseliny jsou intermediáty půdní proteolýzy a ukazateli mineralizace jak uhlíku, tak i dusíku. Respirace indukovaná L-alaninem (Ala-SIR), nejhojnější půdní aminokyselinou, ukazuje na katabolismus půdních proteinů a mineralizační aktivitu dusíku v půdě. Na deaminaci další půdní aminokyseliny L-argininu se podílí fungální deaminasy a respirace indukovaná L-argininem (Arg-SIR) je částečným indikátorem fungální respirační aktivity v půdě. Proto lze říci, že v celé širší dekompoziční funkční diverzity půdy byla aplikace biouhlu aktivovaného kapalinou s hnojovým inokulem nejprospěšnější pro zvýšení mikrobiálních katabolických a mineralizačních aktivit.

Půdní pH bylo aplikací všech typů biouhlu (NA 2, KS 2, HS 2) sníženo statisticky nevýznamně v porovnání s kontrolou (Obr. 5).

Dehydrogenasová aktivita (DHA) je indikátorem dekompoziční aktivity půdního mikrobiomu (Wolinska and Stepniewsk 2012; Elbl et al. 2019). DHA byla signifikantně snížena oproti kontrole ve variantě NA 2 a zvýšena ve variantách KS 2 a HS 2, které měly srovnatelné hodnoty (Obr. 5). Příčinou vyšší celkové degradační aktivity v půdě může být větší obohacení lehce degradovatelnou organickou hmotou a degradačními mikroorganismy přítomnými na aktivovaném biouhlu. Arylsulfatasa (ARS) je enzym zúčastněný v mineralizaci síry, a i jeho hodnoty byly v porovnání s kontrolou vyšší ve variantách KS 2 a HS 2, tj. v půdách obohacených

aktivovanými biouhly. Větší míra mineralizace síry může být způsobena větším množstvím organicky vázané síry v hojnější mikrobiální biomase variant KS 2 a HS 2. Aktivita  $\beta$ -glukosidasy (GLU) přímo souvisí s množstvím a kvalitou organických látek v půdě a je indikátorem zejména bakteriální frakce v půdním mikrobiálním společenstvu. N-acetyl- $\beta$ -D-glukosaminidasa (NAG) katalyzuje reakci degradační dráhy chitinu (klíčového polysacharidu buněčné stěny hub) a její aktivita je také indikátorem mineralizace dusíku. Aktivita GLU a NAG byla signifikantně zvýšena oproti kontrole v obou variantách KS 2 a HS 2. Půdy s aktivovanými biouhly měly srovnatelné hodnoty GLU a signifikantně vyšší ve srovnání s variantou NA 2, u NAG byla hodnota HS 2 statisticky signifikantně vyšší oproti variantě KS 2, která měla NAG statisticky srovnatelné s NA 2. Tyto výsledky naznačují, že stimulace mikrobiální mineralizace organického uhlíku půdní organické hmoty byla shodná u KS 2 a HS 2, zatímco buď množství a/nebo míra dekompozice fungální biomasy a míra mineralizace dusíku nikoliv. To naznačují i výsledky stanovení aktivity fosfatasy (Phos), která podmiňuje míru mineralizace organického fosforu a je závislá i na aktivitě a množství hub arbuskulární mykorrhizy v půdě (Wahid et al. 2022). Signifikantně nejvyšší fosfatasovou aktivitu (Phos) vykazovala varianta HS 2, Phos u KS 2 byla signifikantně nižší, i přes vyšší obsah fosforu v půdě, avšak v porovnání s kontrolou a NA 2 vyšší. Tento výsledek může tedy souviset s celkovým množstvím fungální biomasy v půdě KS 2, která byla s ohledem na výsledky a hodnoty Tre-SIR, NAG-SIR a NAG pravděpodobně nižší než v půdě HS 2.



Obr. 5: pH a enzymatické aktivity v půdě: dehydrogenasa (DHA), arylsulfatasa (ARS), fosfatasa (Phos), N-acetyl- $\beta$ -D-glukosaminidasa (NAG),  $\beta$ -glukosidasa (GLU), chybové úsečky představují směrodatnou odchylku

## Srovnání „novosti postupů“

Postupy uvedené v metodice jsou originální a nelze je jako celek porovnávat s žádnou jinou metodikou, protože podobná metodika nebyla vydána u nás ani v zahraničí.

## Popis uplatnění certifikované metodiky

Metodika je určena zemědělským podnikům zaměřeným na rostlinnou výrobu či producentům biouhlu. Metodika může být využita akreditovanými poradci v oblasti zemědělské výroby a ekonomiky, pracovníky decizní sféry v působnosti Ministerstva zemědělství včetně Oddělení regionálních odborů a Státního zemědělského intervenčního fondu, profesními organizacemi (Agrární komora ČR, Zemědělský svaz ČR aj.), pracovníky zemědělského výzkumu, studenty středních a vysokých škol orientovaných na zemědělskou problematiku, pedologii a ochranu životního prostředí.

## Ekonomické aspekty

Ekonomický dopad byl vyhodnocen rozdílem vícenákladů na pořízení, aktivaci a aplikaci biouhlu v rámci dané varianty a výnosů z ocenění produkce pšenice a řepky ve vztahu ke kontrolní variantě.

Tab. 5: Kalkulace výnosů dle jednotlivých plodin v letech 2019-2021

Varianta / Výnosy zrna		2019	Pšenice 2020			Řepka 2021			Suma	Výnosy
		Nehodnoceno	t/ha	t/ha vs K	Kč/ha vs K	t/ha	t/ha vs K	Kč/ha vs K	Kč/ha vs K	Kč/ha/rok vs K
<b>K</b>	kontrola (pouze NPK)		3,737	0	0	2,708	0	0	0	0
<b>NA 2</b>	neaktivovaný biouhel 2 t/ha		3,349	-0,388	-1619	2,985	0,277	3263	1643	548
<b>KS 2</b>	biouhel aktivovaný kompostem 2 t/ha		4,042	0,305	1273	3,602	0,894	10530	11802	3934
<b>HS 2</b>	biouhel aktivovaný hnojem 2 t/ha		4,473	0,736	3071	3,538	0,830	9776	12847	4282

Tab. 6: Kalkulace nákladů dle jednotlivých plodin v letech 2019-2021

Varianta		Vícenáklady	2019	2020	2021	SUMA	Náklady
		Aplikace Kč/ha	Biouhel Kč/ha	Biouhel Kč/ha	Biouhel Kč/ha	Kč/ha	Kč/ha/rok
<b>K</b>	kontrola (pouze NPK)	0	0	0	0	0	0
<b>NA 2</b>	neaktivovaný biouhel 2 t/ha	1000	1267	1267	1267	4 801	1 600
<b>KS 2</b>	biouhel aktivovaný kompostem 2 t/ha	1000	1733	1733	1733	6 199	2 066
<b>HS 2</b>	biouhel aktivovaný hnojem 2 t/ha	1000	1733	1733	1733	6 199	2 066

Kalkulované výnosy:

- Ocenění produkce (dle průměrné ceny ČSU v daném roce sklizně):
  - Pšenice zrno (2020): 4 173 Kč/t

- Řepka zrno (2021): 11 778 Kč/t

Kalkulované náklady:

- Vícenáklady aplikaci biouhlu při uvedené dávce 2 t/ha: 1 000 Kč/ha
- Roční vícenáklady na biouhel při dávce 2 t/ha:
  - Neaktivovaný biouhel (využitelnost 30 let): 1267 Kč/ha
  - Aktivovaný biouhel (využitelnost 30 let): 1773 Kč/ha

Tab. 7: Souhrnná kalkulace výnosů a vícenákladů v letech 2019-2021 a celkový přínos

Varianta		Výnosy		Náklady		Rozdíl
		Kč/ha vs K	Kč/ha/rok vs K	Kč/ha vs K	Kč/ha/rok vs K	Kč/ha/rok vs K
<b>K</b>	kontrola (pouze NPK)	0	0	0	0	0
<b>NA 2</b>	neaktivovaný biouhel 2 t/ha	1643	548	-4 801	-1 600	-1053
<b>KS 2</b>	biouhel aktivovaný kompostem 2 t/ha	11802	3934	-6 199	-2 066	1868
<b>HS 2</b>	biouhel aktivovaný hnojem 2 t/ha	12847	4282	-6 199	-2 066	2216

Z ekonomického hlediska se jeví jako nejvýhodnější aplikace biouhlu aktivovaného nativní mikroflórou z hnoje, která dosahovala nejvyššího rozdílu mezi průměrnými ročními výnosy a náklady. Také druhá varianta aktivovaného biouhlu obohaceného nativní mikroflórou z kompostu vykazovala velmi dobrých výnosů, ve třetím produkčním roce dokonce vyšších než hnojem aktivovaný biouhel. Neaktivovaný biouhel dosahoval kladného rozdílu mezi výnosy a náklady až ve třetím produkčním roce, avšak za celé sledované období vykazoval negativní finanční bilanci. Lze tedy konstatovat, že pořizovací náklady na neaktivovaný biouhel jsou výrazně nižší než pořizovací náklady na aktivovaný biouhel, ale jeho pozitivní vliv na zvýšení rostlinné produkce je velmi pozvolný. Na druhou stranu vyšší vstupní náklady na aktivovaný biouhel jsou kompenzovány výrazným zvýšením produkce s rychlým nástupem. V kalkulaci celkového přínosu je uvažovaná využitelnost biouhlu po dobu 30 let. Ze získaných dat však nelze predikovat, jak výrazný pozitivní účinek na výnos plodin lze po celou tuto dobu očekávat. Vzhledem k tomu, že se jedná o stabilní organickou hmotu, předpokládáme, že přetrvá minimálně pozitivní vliv na fyzikální vlastnosti půd, tedy zlepšení infiltrace vody, schopnosti zadržet vláhu, zvýšení stability agregátů a provzdušnění půdy.

### Neekonomické (environmentální) aspekty

Výsledky pokusu ukázaly, že na celkovou i dílčí specifické mikrobiální aktivity půdy a transformační procesy živin má nejvýraznější pozitivní efekt obohacení půdy biouhlem aktivovaným nativní mikroflórou z hnoje. Také druhá varianta aktivovaného biouhlu obohaceného nativní mikroflórou z kompostu vykazovala z hlediska bohatosti a aktivity půdního mikrobiomu velmi dobré výsledky.



## **Souhrn**

Celkové hodnocení výhodnosti zvoleného agrotechnického managementu musí komplexně zahrnovat jeho vliv nejen na ekonomiku produkce, ale také na kvalitu půdního prostředí. Proto se jako optimální volba pro zachování produkčních i mimoprodukčních vlastností agrosystému jeví aplikace biouhlu aktivovaného nativní mikroflórou z hnoje, která vykazovala nejlepší vitalitu půdního mikrobiomu a vedla k průměrnému zvýšení zisku o 2 216 Kč/ha/rok v porovnání s kontrolou. Také aplikace biouhlu aktivovaného nativní mikroflórou z kompostu vedla oproti kontrole ke zvýšení mikrobiální aktivity v půdě a navýšení průměrného zisku o 1 868 Kč/ha/rok.

## Seznam použité související literatury

- Anderson, J. P. E. and Domsch, K. H. (1978). "A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils." *Soil Biology and Biochemistry* **10**(3): 215-221. 10.1016/0038-0717(78)90099-8
- Campbell, C. D., Chapman, S. J., Cameron, C. M., Davidson, M. S. and Potts, J. M. (2003). "A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil." *Applied and Environmental Microbiology* **69**(6): 3593-3599. 10.1128/AEM.69.6.3593-3599.2003
- Casida LE, Klein DA, Santoro T. (1964) "Soil dehydrogenase activity." *Soil Science*. 98(6):371-6. 10.1097/00010694-196412000-00004
- Elbl, J., Maková, J., Javoreková, S., Medo, J., Kintl, A., Lošák, T. and Lukas, V. (2019). "Response of microbial activities in soil to various organic and mineral amendments as an indicator of soil quality." *Agronomy* **9**(9). 10.3390/agronomy9090485
- Gibson, C., Berry, T. D., Wang, R. Z., Spencer, J. A., Johnston, C. T., Jiang, Y., Bird, J. A. and Filley, T. R. (2016). "Weathering of pyrogenic organic matter induces fungal oxidative enzyme response in single culture inoculation experiments." *Organic Geochemistry* **92**: 32-41. 10.1016/j.orggeochem.2015.12.003
- Gul, S. and Whalen, J. K. (2016). "Biochemical cycling of nitrogen and phosphorus in biochar-amended soils." *Soil Biology & Biochemistry* **103**: 1-15. 10.1016/j.soilbio.2016.08.001
- Chintala, R., Schumacher, T. E., McDonald, L. M., Clay, D. E., Malo, D. D., Papiernik, S. K., Clay, S. A. and Julson, J. L. (2014). "Phosphorus sorption and availability from biochars and soil/biochar mixtures." *Clean-Soil Air Water* **42**(5): 626-634. 10.1002/clen.201300089
- ISO 10390 (2005). Soil quality - determination of pH
- ISO 20130 (2018). Soil quality — Measurement of enzyme activity patterns in soil samples using colorimetric substrates in micro-well plates.
- Wahid, F., Sharif, M., Fahad, S., Ali, A., Adnan, M., Rafiullah, Saud, S., Danish, S., Arif Ali, M., Ahmed, N., Arslan, H., Arslan, D., Erman, M., El Sabagh, A., Gholizadeh, F. and Datta, R. (2022). "Mycorrhiza and phosphate solubilizing bacteria: Potential bioagents for sustainable phosphorus management in agriculture." *Phyton* **91**(2): 257-278. 10.32604/phyton.2022.016512
- Wolinska, A. and Stepniewska, Z. (2012). Dehydrogenase activity in the soil environment. In *Dehydrogenases*, Canuto, R. A (ed.). London, UK: IntechOpen, pp: 183-210. 10.5772/48294

## Seznam publikací, které předcházely metodice

- Holatko J., Hammerschmiedt T., Kintl A., Danish S., Skarpa P., Latal O., et al. (2021). „Effect of carbon-enriched digestate on the microbial soil activity.“ *PLoS ONE* **16**(7): e0252262. 10.1371/journal.pone.0252262
- Brtnicky, M., Hammerschmiedt, T., Elbl, J., Kintl, A., Skulcova, L., Radziemska, M., Latal, O., Baltazar, T., Kobzova, E., Holatko, J. (2021). „The Potential of Biochar Made from Agricultural Residues to Increase Soil Fertility and Microbial Activity: Impacts on Soils with Varying Sand Content.“ *Agronomy* **11**: 1174. 10.3390/agronomy11061174
- Hammerschmiedt, T., Holatko, J., Pecina V., Huska D., Latal O., Kintl A., Radziemka M., Muhammad S., Gusiatin Z.M., Kolackova M., Nasir M., Baltazar T., Ahmed N., Brtnicky M. (2021). Assessing the potential of biochar aged by humic substances to enhance plant growth and soil biological activity. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* **8**: 46, 10.1186/s40538-021-00242-7
- Brtnicky, M., Datta R., Holatko J., Bielska L., Gusiatin Z.M., Kucerik J., Hammerschmiedt, T., Danish S., Radziemka M., Mravcova L., Fahad S., Kintl A., Sudoma M., Amed N., Pecina V. (2021). A critical review of the possible adverse effects of biochar in the soil environment. *Science of the Total Environment* **796**: 148756. 10.1016/j.scitotenv.2021.148756
- Holatko J., Hammerschmiedt T., Datta R., Baltazar T., Kintl A., Latal O., Pecina V., Sarec P., Novak P., Balakova L., Danis S., Zafar-ul-Hye M., Fahad S., Brtnicky M. (2020). „Humic Acid Mitigates the Negative Effects of High Rates of Biochar Application on Microbial Activity.“ *Sustainability* **12**: 9524, 10.3390/su12229524
- Brtnický, M., Dokulilova, T., Holatko, J., Pecina, V., Kintl, A., Latal, O., Vyhnánek, T., Prichystalova, J., Datta, R. (2019). „Long-Term Effects of Biochar-Based Organic Amendments on Soil Microbial Parameters.“ *Agronomy* **9**: 747. 10.3390/agronomy9110747