



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Studies

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta
Katedra veřejného a sociálního zdravotnictví

Diplomová práce

Vliv eutrofizace životního prostředí na přeměny a vyplavování dusíku z půdy do vod

Vypracovala: Bc. Iveta Kofroňová
Vedoucí práce: Ing. Tomáš Pícek, Ph.D.
Konzultant: Mgr. Eva Kaštovská, Ph.D

České Budějovice 2014

Abstract

The topic of this master thesis is the effect of eutrophication of environment on transformation and leaching of nitrogen from soil to water. It lists the basic effects of nitrogen transformation in soil, subsequent leaching of nitrates from soil to water and the effects of eutrophication of aquatic environment on the human health.

The primary aim was to study different forms of nitrogen and their transformation in the meadow model ecosystem (mesocosm experiment) which is exposed to different doses of nitrogen fertilization, varying soil moisture and the presence or absence of vegetation. The second aim was to summarize the health problems resulting from water contamination by nitrogen that gets into the water mainly from the soil (fertilization of agricultural ecosystems).

Nitrogen is an indispensable element for cellular metabolism and structure of the cellular organelles and even genetic material. It is an important element for the growth and development of all organisms. The nitrification is a biochemical reaction, in which the ammonium nitrogen is oxidized to nitrate. The intensity of nitrification depends mainly on the availability of NH_4^+ , sufficient supply of oxygen, which is determined by the balance between the water content of the air and soil, as well as the soil temperature, soil pH and other factors.

Nitrates in the soil may be produced by nitrifying bacteria, but they can also originate from nitrogen fertilizers that are applied to the soil. Nitrates are consumed by plant roots or soil microorganisms and immobilized into their biomass. If the rate of nitrogen consumption by plants and microorganisms is not high enough, there is an excess of nitrogen in the ecosystem. High content of unused NO_3^- in the soil represents the risk of this form of nitrogen to leach to ground- and surface waters, which leads to subsequent eutrophication of these waters and the risks associated with eutrophication.

The health risk of nitrates in water consists in their consumption and the subsequent development of methemoglobinemia (especially in young infants) and the formation of N-nitroso compounds (e.g. nitrosamines), which have carcinogenic and teratogenic effects. Although nitrosamines are substances with proven carcinogenicity in test

animals, epidemiological studies so far do not demonstrate human carcinogenicity. Other possible and also not yet proven effects of nitrates in the human body are thyroid dysfunction, disorders of the heart and the brain, or the formation of reproductive and developmental defects.

Nitrate together with phosphates also promote the growth of cyanobacteria and algae. Cyanobacteria can produce cyanotoxins causing several groups of diseases, such as weakening the immune system, fatigue and weakness, vomiting and indigestion, skin allergic reactions and contact dermatitis, respiratory problems, renal, heart and liver, liver cancer, and more. Algae of our waters do not produce dangerous toxins, but their presence deteriorates the organoleptic properties of these waters.

The research part of this thesis is focused on monitoring of the nitrogen forms and their transformations in the meadow model ecosystem (mesocosm experiment), which is influenced by different doses of nitrogen fertilization, varying soil moisture and the presence or absence of vegetation. In 2013, during the growing season, the soil was four times sampled. Soil samples were subsequently homogenized, incubated and analyzed in the laboratory. The concentration of mineral forms of nitrogen (NO_3^- , NH_4^+) and the net nitrification were determined and potential risk of nitrate leaching into surface- and groundwaters was estimated. The net nitrification is the visible result of a process of transformation of nitrogen in the ecosystem. Its value can indicate the potential amount of nitrates, which can leach from the soil.

The results of this experiment show that the interaction of all three factors (fertilization, soil moisture, vegetation) has a significant effect on the rate of nitrification. Generally, the nitrification rate increases with fertilization, decreases with presence of vegetation and decreases with soil moisture decrease. Studied factors also have a significant effect on the concentration of mineral forms of nitrogen in the soil. The concentration of NO_3^- increases with fertilization and with decreasing humidity and is reduced in the presence of vegetation. The concentration of NH_4^+ rises with fertilization and decreases with lower humidity and the presence of plants. The average rate of nitrification and NO_3^- concentrations were throughout the growing season in the drier fertilized soils without vegetation higher than in the other variants of the soil.

These soils are therefore considered as potentially the highest risk for subsequent leaching of nitrates into surface- and groundwater. High concentrations of NH_4^+ which are considered as precursors of nitrates were found in the fertilized moist soils. These soils are sensitive to variations in water level. After aeration of the soil (changing dry and rainy periods), high rate of nitrification can be expected due to the large pool of ammonium N and the soil can then become another major source of water pollution by nitrates.

Fertilization increases soil fertility and yields not only for agriculturists. If the support of plant growth is needed, the amount of applied fertilizer should be as high as soil microorganisms and plants that are able to consume. This will prevent waters from nitrogen contamination. It is of high importance for drinking water sources quality maintaining. Eutrophication caused by human activities significantly interferes with the functioning of soil and aquatic ecosystems by changing and reducing biodiversity of these environments. Eutrophication limits the services that aquatic environment can provide to human society. Economic losses and financial costs of removing these negative phenomena could be avoided.

Abstrakt

Tato diplomová práce na téma „Vliv eutrofizace životního prostředí na přeměny a vyplavování dusíku z půdy do vod“ je zaměřena na základní vlivy přeměny dusíku v půdě (nitrifikace), na následné vyplavování dusičnanů z půdy do vod a dopady eutrofizace vodního prostředí na lidský organismus.

Cílem práce bylo sledovat různé formy dusíku a jejich přeměny v modelovém lučném ekosystému (mezokosmový pokus) ovlivněném různou dávkou dusíkatého hnojení, různou vlhkostí půdy a přítomností či nepřítomností vegetace. Dílčím cílem bylo shrnout zdravotní problémy vyplývající z kontaminace vod dusíkem, který se do vod dostává především z půdního prostředí (hnojení zemědělských ekosystémů).

Dusík je nezastupitelným prvkem pro buněčný metabolismus a stavbu buněčných struktur i genetického materiálu. Stává se tak důležitým prvkem pro růst a vývoj všech organismů. Nitrifikací rozumíme biochemickou reakci, při níž se oxiduje amonný dusík na dusičnany. Intenzita nitrifikace je závislá především na dostupnosti NH_4^+ , dostatečném přísunu kyslíku, který určuje rovnováha mezi obsahem vody a vzduchu v půdě, dále na teplotě půdy, pH půdy a dalších faktorech.

Dusičnany přítomné v půdě mohou být produktem nitrifikačních bakterií, ale i součástí dusíkatých hnojiv, které jsou do půdy aplikovány. Dusičnany jsou spotřebovávány kořeny rostlin nebo půdními mikroorganismy a zabudovány do jejich biomasy. Pokud rostliny a mikroorganismy nestačí dusičnany spotřebovat, dochází k přesycení ekosystému dusíkem. Množství nespotebovaných NO_3^- přítomných v půdě pak představuje riziko vyplavování této formy dusíku do podzemních a povrchových vod, které vede k následné eutrofizaci těchto vod a rizikům s eutrofizací spojených.

Zdravotní riziko dusičnanů ve vodě spočívá v jejich konzumaci a následného vzniku methemoglobinémie (především u malých kojenců) a vzniku N-nitroso sloučenin (např. nitrosaminy), které vykazují karcinogenní a teratogenní účinky. I když jsou nitrosaminy látky s prokázanou karcinogenitou u testovaných zvířat, epidemiologické studie lidskou karcinogenitu dosud neprokazují. Dalšími možnými a

těž neprokázanými účinky dusičnanů v lidském organismu jsou např. porucha funkce štítné žlázy, porucha srdce a mozku, nebo vznik reprodukčních a vývojových vad.

Dusičnany spolu s fosforečnany také podporují růst sinic a řas. Sinice mohou produkovat cyanotoxiny vyvolávající několik skupin onemocnění, např. oslabení imunitního systému, malátnost a celkovou slabost, zvracení a zažívací potíže, kožní alergické reakce a kontaktní dermatitidy, respirační obtíže, poruchy funkce ledvin, srdce a jater, karcinomy jater a další. Řasy našich vod neprodukují nebezpečné toxiny, ale svou přítomností zhoršují organoleptické vlastnosti těchto vod.

Výzkumná část práce je zaměřená na sledování forem dusíku a jejich přeměn v modelovém lučném ekosystému (mezokosmový pokus), který je ovlivněn různou dávkou hnojení dusíkem, různou vlhkostí půdy a přítomností či absencí vegetace. V průběhu vegetační sezóny roku 2013 byly čtyřikrát odebrány půdní vzorky z mezokosmového pokusu, které byly následně homogenizovány, inkubovány a analyzovány v laboratoři. Z naměřených hodnot pak byly vypočítány koncentrace minerálních forem dusíku (NO_3^- NH_4^+), čisté rychlosti jejich přeměn (nitrifikace) a odhadnuto potenciální nebezpečí vyplavování nitrátů do povrchových a podzemních vod. Čistá nitrifikace představuje viditelný výsledek procesů přeměn dusíku v ekosystému, její hodnoty tedy vypovídají o potenciálním množství dusičnanů, které se může z půdy vyplavovat.

Z výsledků práce vyplývá, že vzájemné působení všech tří sledovaných faktorů (hnojení, vlhkost půdy, vegetace) má průkazný vliv na rychlost nitrifikace. Obecně lze říci, že rychlost nitrifikace s hnojením stoupá, s přítomností vegetace klesá a s ubývajícím vlhkostí půdy stoupá. Sledované faktory mají také průkazný vliv na koncentraci minerálních forem dusíku v půdě. Koncentrace NO_3^- s hnojením narůstá, s ubývajícím vlhkostí také narůstá a s přítomností vegetace se snižuje. Koncentrace NH_4^+ s hnojením přibývá a s ubývajícím vlhkostí a přítomností rostlin ubývá. Průměrné rychlosti nitrifikace i koncentrace NO_3^- byly v průběhu celé vegetační sezóny ve hnojených sušších půdách bez vegetace vyšší než v ostatních variantách půdy. Tyto půdy se tedy považují za potenciálně nejrizikovější při následném vyplavování dusíku do povrchových a spodních vod. Vysoké koncentrace NH_4^+ , které jsou

považovány za prekurzory dusičnanů, byly nalezeny ve hnojených vlhkých půdách. Tyto půdy jsou citlivé na kolísání hladiny vody. Po provzdušnění těchto půd (střídání sucha a dešťů) zde začne probíhat nitrifikace vysokou rychlostí kvůli velkým zásobám amonného N a tyto půdy se pak mohou stát dalším významným zdrojem znečištění vod dusičnany.

Hnojení zvyšuje úrodnost půdy a výnosy nejen pro zemědělské podniky. Pokud chceme dosáhnout podpory růstu rostlin, měli bychom aplikovat takové množství hnojiva, které jsou mikroorganismy přítomné v půdě a rostliny schopné spotřebovat, aby nedocházelo ke kontaminaci vod dusíkem, které mohou být využívány jako zdroje pitné vody. Eutrofizace způsobená lidskou činností také významně zasahuje do fungování půdních i vodních ekosystémů tím, že mění a snižuje druhovou diverzitu organismů obývajících tato prostředí. Eutrofizace tak omezuje služby, které může vodní prostředí člověku poskytovat, s čímž souvisí i velké ekonomické škody a finanční náklady na odstraňování těchto negativních jevů.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Vliv eutrofizace životního prostředí na přeměny a vyplavování dusíku z půdy do vod“ vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě Zdravotně sociální fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným stanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu práce a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátu.

V Českých Budějovicích dne

.....
Bc. Iveta Kofroňová

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala lidem, díky kterým mohla vzniknout tato práce. Především děkuji vedoucímu práce Ing. Tomášovi Pickovi, Ph.D. a mé konzultantce Mgr. Evě Kaštovské, Ph.D. za věcné rady a pomoc v laboratoři. Dále děkuji dalším zaměstnancům Katedry biologie ekosystémů Přírodovědecké fakulty Jihočeské univerzity za jejich ochotu a vstřícnost. Poděkování také patří Grantové agentuře ČR, která svým grantem podpořila vznik této práce.

Největší dík však patří příteli Michalovi a rodině za psychickou podporu a dobré zázemí nejen při studiu.

Děkuji.

Tento výzkum je podporován projektem s názvem „Význam nově asimilovaného uhlíku pro interakce rostlin s půdou v mokřadních travinných ekosystémech v proměnlivých podmínkách vnějšího prostředí“, Grantové agentury ČR (GAČR č. 526/09/1545), jehož řešitelem je Dr. Keith Edwards (Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita).

Obsah

Seznam použitých zkratk	12
Úvod	13
1. Současný stav	15
1.1 Půda	15
1.1.1 Půdotvorné faktory	15
1.1.2 Funkce půdy	16
1.1.3 Vlastnosti půdy	16
1.2 Voda	18
1.2.1 Funkce vody	18
1.2.2 Typy vod	19
1.2.3 Vlastnosti vody	20
1.3 Dusík a jeho cyklus	21
1.4 Dusík v půdě	23
1.4.1 Formy dusíku v půdě	23
1.4.2 Cyklus dusíku v půdě	24
1.5 Hnojení dusíkem	30
1.6 Vyplavování dusíku z půdy do vod	32
1.7 Dusík ve vodách	33
1.7.1 Eutrofizace povrchových vod	33
1.8 Dusičnany v lidském těle	38
1.8.1 Methemoglobinémie	39
1.8.2 Rakovina	40
1.8.3 Další účinky dusíku	41

1.9 Hygienické limity	41
2. Cíle práce a hypotézy	45
3. Popis metodiky.....	46
3.1 Mezokosmový pokus	46
3.2 Odběry a příprava půdních vzorků	49
3.3 Stanovení suché hmotnosti půdy	49
3.4 Stanovení koncentrace dusičnanových a amonných iontů	50
3.5 Stanovení rychlosti čisté nitrifikace	51
3.6 Statistické vyhodnocení výsledků	52
4. Výsledky	53
4.1 Koncentrace amonného N v půdách po odběru	53
4.2 Koncentrace dusičnanového N v půdách po odběru	54
4.3 Rychlost čisté nitrifikace	56
4.4 Vliv vegetace	58
4.5 Vliv hnojení	60
4.6 Vliv vlhkosti půdy	61
4.7 Vzájemný vliv hnojení, vegetace a vlhkosti půdy	63
5. Diskuze.....	66
5.1 Vliv hnojení na rychlost nitrifikace	66
5.2 Vliv vegetace na rychlost nitrifikace	66
5.3 Vliv vlhkosti půdy na rychlost nitrifikace	68
5.4 Další faktory ovlivňující rychlost nitrifikace	69
5.5 Zdravotní rizika dusíku	70
6. Závěr	73
7. Seznam použité literatury.....	75
8. Klíčová slova.....	81
9. Přílohy	82

Seznam použitých zkratek

N	-	dusík
NH ₃	-	amoniak
NH ₄ ⁺	-	amonné ionty
NO	-	oxid dusnatý
NO ₂ ⁻	-	dusitanové ionty
NO ₃ ⁻	-	dusičnanové ionty
N ₂ O	-	oxid dusný
NPK	-	vícesložková hnojiva s obsahem dusíku, fosforu a draslíku

Úvod

Problémem dnešní doby je obohacování vod o živiny, zejména o dusík a fosfor – tzv. eutrofizace. Dusík se do vod dostává především z půdního prostředí. Kontaminace spodních a povrchových vod různými formami dusíku, zejména dusičnany, je důsledkem hnojení zemědělských ekosystémů. Negativními dopady dusíkatých látek ve vodním prostředí je pak eutrofizace vod, která vede k poruše biologických a chemických cyklů v prostředí a následné změně jakosti vod.

Cílem této diplomové práce je sledovat určité formy dusíku a jejich přeměny v modelovém lučním ekosystému (mezokosmový pokus), který je ovlivněn různou dávkou dusíkatého hnojení, různou vlhkostí půdy a přítomností či nepřítomností vegetace. Práce sleduje koncentrace dostupných iontů NO_3^- a NH_4^+ v různých variantách půdy, které jsou ovlivněny výše uvedenými faktory. Půdní vzorky budou po odběru zhomogenizovány, inkubovány a analyzovány v laboratoři. Z naměřených hodnot se pak vypočítají rychlosti přeměn dusíku (čistá nitrifikace) a budou tak odhadnuty potenciální rychlosti vyplavování těchto forem dusíku do povrchových a spodních vod.

Přeměny a toky dusíku v půdním ekosystému je důležité sledovat, aby bylo možné zabránit následnému vyplavování a kontaminaci vod. Ze získaných výsledků bude možné vyvodit závěry, za jakých podmínek dochází k vyluhování dusíku do vod a jak tomu zabránit.

Dílčím cílem je shrnout zdravotní problémy, které vyplývají z kontaminace vod dusíkem. Kontaminace vod může být pro člověka za určitých podmínek toxikologicky nebezpečná. Důsledkem eutrofizace je např. vysoká koncentrace dusičnanů ve zdrojích pitné vody, nárůst sinic, které mohou ve zvýšené míře produkovat pro člověka nebezpečné toxiny nebo vytvářet anoxické prostředí, které může být fatální pro ryby a bezobratlé živočichy.

Člověk využívá vodu k pitným, hygienickým a rekreačním činnostem. Běžná lidská populace přichází ke styku s vodou každý den. Zdravotně nezávadná voda je předpokladem pro správné fungování a vývoj organismu. V diplomové práci jsou také

uvedena opatření, která minimalizují negativní dopady dusíkatých látek ve vodním prostředí (např. hygienické limity pro koncentrace dusitanů a dusičnanů v pitné vodě, hodnocení výskytu sinic v přírodních koupalištích a podávání aktuálních informací veřejnosti o kvalitě vody ke koupání).

1. Současný stav

1.1 Půda

Půda je jednou ze složek životního prostředí, které vymezuje zákon č. 17/1992 Sb., o životním prostředí. Životní prostředí je tímto zákonem definováno jako: „*Vše, co vytváří přirozené podmínky existence organismů včetně člověka a je předpokladem jejich dalšího vývoje.*“ (65).

Půda je přírodní útvar, který vzniká a vyvíjí se pomocí půdotvorných faktorů z povrchové zvětralé zemské kůry a organických zbytků (52).

Půda představuje aktivní složkou životního prostředí, vyvíjí se a prochází změnami, které jsou životně důležité pro organismy, tedy i pro člověka. Vytváří prostředí s podmínkami pro přirozený život a činnosti člověka (60).

Na Zemi je k dispozici přibližně 87 miliónů km² půdy, to představuje 67 % povrchu kontinentů (bez Arktidy a Antarktidy). V České Republice je přibližně 43 000 km² zemědělské půdy, které představují 55,4 % výměry státu. Plocha zemědělských ploch se však snižuje v důsledku staveb sídel, komunikací, průmyslových podniků a dalších objektů (52).

1.1.1 Půdotvorné faktory

Existuje pět základních faktorů, které podmiňují tvorbu půdy. Jsou to matečná hornina, podnebí, biota, topografie a čas (7).

Výchozím materiálem pro vznik půdy je matečná hornina. Je to pevná, přírodními činiteli nenarušená hornina magmatického, metamorfovaného nebo sedimentárního původu, která se chemickým a mechanickým zvětráváním mění na půdotvorný substrát (regolit) (60).

Podnebí se považuje za nejvlivnější faktor působící na matečnou horninu, protože určuje povahu a intenzitu zvětrávání. Hlavními klimatickými procesy, které ovlivňují tvorbu půdy, jsou srážky a teplota (7).

Biologické půdotvorné faktory zahrnují vegetaci a půdní organismy. Jsou dodavateli organické hmoty a vytváří výchozí materiál pro tvorbu humusu. Mají vliv na mikrobiální život a ovlivňují hospodaření s živinami.

Podmínkami půdotvorného procesu jsou reliéf a čas. Reliéf terénu ovlivňuje ostatní půdotvorné činitele např. v závislosti na rozdílném podnebí či nadmořské výšce. Čas ovlivňuje dobu uplatnění všech půdotvorných pochodů.

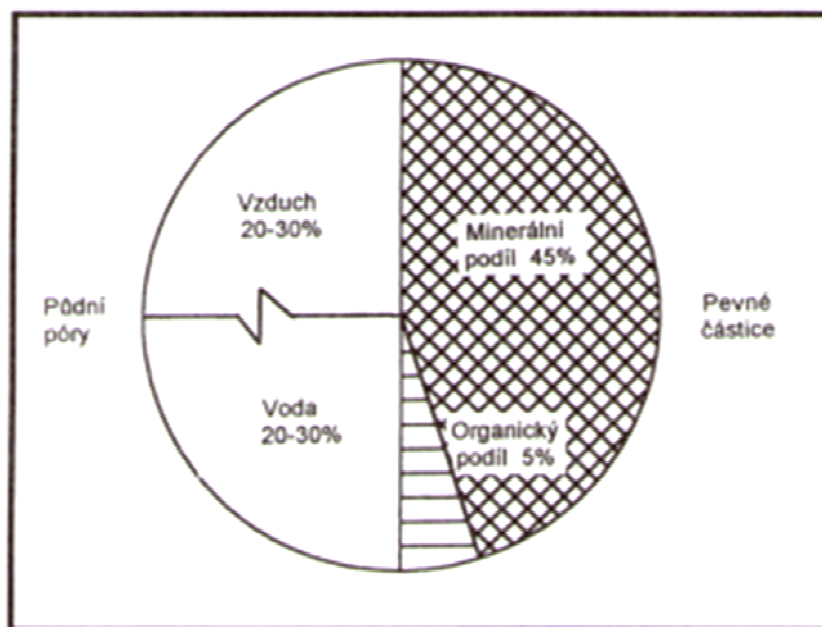
Dalším půdotvorným faktorem je antropogenní činnost, která může mít příznivé i nepříznivé působení. Kladným zásahem člověka je např. zvýšení hloubky humózní vrstvy, nebo zlepšení fyzikálních, fyzikálně-chemických a biologických vlastností půdy. Nepříznivým působením je např. úbytek humusu vlivem kultivace, zvýšená eroze, nebo kontaminace půd cizorodými látkami (60).

1.1.2 Funkce půdy

Půda má několik důležitých funkcí, jedná se o funkce ekologické (tvoří prostředí pro růst a produkci rostlin, tvoří životní prostředí pro organismy (kořeny rostlin, půdní živočichy a mikroorganismy), poskytuje jim prostor, vodu a živiny, dále je půda filtračním prostředím pro vodu a další. Nezastupitelnou funkci půda zastává tím, že poskytuje prostředí a zdroje pro rozklad organického materiálu zpět na minerální živiny a umožňuje tak jejich návrat do koloběhu. Dalšími funkcemi půdy jsou funkce bezprostředně spjaté s člověkem (vytváří místo pro výstavbu budov, silnic, je zdrojem surovin atd.) (52). Půdu je možné opakovaně využívat, je nenahraditelným přírodním zdrojem, tvoří základ potravního řetězce člověka, je zásobárnou živin, má samočisticí schopnosti a další (60).

1.1.3 Vlastnosti půdy

Půda je složena ze třech základních fází (obr. 1): fáze pevná (minerální a organická složka), kapalná (půdní roztok) a plynná (půdní vzduch) (20). Minerální složku tvoří různé anorganické sloučeniny a částice různé velikosti – velké úlomky hornin až po mikroskopické koloidní částice. Organická složka půdy zahrnuje rostlinné a živočišné zbytky a odumřelé buňky mikroorganismů, které jsou rozkládány až na minerální živiny. Kapalná fáze půdy představuje vodní roztok různých minerálních a organických látek, které zabezpečují zásobování rostlin vodou a živinami. Plynnou fází je půdní vzduch, nachází se v půdních pórech, které nejsou zaplněny půdní vodou (52)



Obr. 1. Průměrné zastoupení složek minerální půdy. Zdroj: Šimek, 2007

Vlastnosti půd můžeme dělit na vlastnosti fyzikální, chemické a biologické. Do fyzikálních vlastností můžeme zařadit texturu (zrnitostní složení), strukturu (prostorové uspořádání částic v půdě), specifickou hmotnost půdních částic, barvu, teplotu, dále vlhkost půdy, pohyb vody půdou (hydraulická vodivost) a provzdušněnost půdy (52). Reziduální póry půdy (póry menší než 500 nm v průměru) jsou póry, které pevně drží vodu. Tato voda není odváděna pryč z vodního prostředí, ale zároveň je nepřístupná pro kořeny rostlin. Zásobní póry (póry s velikostí 500 nm – 50 μ m v průměru) jsou póry, které zadržují vodu tak, aby na vodu nepůsobila gravitační síla. Tato voda se udržuje v půdě a je využívána kořeny rostlin. Třetím typem jsou póry velké (póry s velikostí větší než 50 μ m v průměru), které se naplňují vodou po deštích nebo záplavách. Ve velkých pórech působí na vodu gravitační síla, voda je z půdy touto silou odváděna a prostory pórů jsou následně vyplněny vzduchem. Vzduch v půdě je potřebný pro dýchání mikroorganismů, kořenů rostlin a půdní fauny (56). Chemickými vlastnostmi půdy je např. elementární složení půdy, minerální složení, složení půdního roztoku a vzduchu, dále obsah a složení organické hmoty v půdě a stav půdních koloidů a sorpčního komplexu. Do biologických vlastností řadíme různé charakteristiky

společenstev půdních organismů a biologických procesů (např. početnost, množství biomasy, aktivita půdních organismů, respirace, rychlost přeměn sloučenin, enzymatická aktivita a další) (52). Půdní makroorganismy (např. hmyz, hlodavci) požírají organické zbytky a svým pohybem v půdě půdu mechanicky rozrušují, provzdušňují. Mikroorganismy mají v půdě větší význam než makroorganismy, protože se přímo podílejí na rozkladných procesech, které v půdě probíhají (60).

Podle obsahu minerálních a organických složek dělíme půdy taktéž na půdy minerální a organické. V minerálních půdách je podíl organické složky menší než 20-30 % hmotnosti a půda je méně než 30 dní v roce nasycená vodou. Tyto půdy mají vyšší objemovou hmotnost a nižší pórovitost než půdy organické. Organické půdy mají podíl organické složky větší než 20-30 % hmotnosti a bývají většinou nasyceny vodou více jak 30 dní v roce. Pórovitost u organických půd je vysoká a objemová hmotnost nízká. Organická půda má v porovnání s minerální půdou tmavší zabarvení (7).

1.2 Voda

Voda je také jako půda jednou ze složek životního prostředí, které vymezuje zákon č. 17/1992 Sb., o životním prostředí (65).

Množství vody na Zemi se odhaduje na 1,38 miliard km³. Více než 97 % představují moře a oceány, 2 % ledovce a 0,001 % tvoří voda atmosférická. Na podzemní vodu, půdní vodu, jezera a toky připadá přibližně 0,6 % z celkového množství vody na Zemi (20).

1.2.1 Funkce vody

Voda je považována za základní látku, bez které by společnost, flóra i fauna nemohly existovat. Má nezastupitelnou roli v přenosu energie a látek, účastní se podstatných biologických procesů, fyzikálních a chemických pochodů a má významný vliv na klima (1).

Voda je člověkem využívána především jako zdroj tekutin v podobě pitné vody. Člověk by měl denně přijmout alespoň 2 litry vody denně, aby zajistil dostatečné množství tekutin pro fyziologickou potřebu organismu. Voda tvoří prostředí, ve kterém

probíhají různé biochemické reakce, je metabolitem, který se účastní látkové výměny, nebo je např. zdrojem důležitých minerálů (60). Vodním zdrojem pro uspokojování potřeb člověka, zejm. pro pitné účely, jsou vody povrchové nebo podzemní (66).

Voda je také surovinou, která se využívá k zajištění osobní a veřejné hygieny. Používá se k mytí, čištění, vytápění, klimatizaci a dalším aktivitám spojených s člověkem. Vodu mohou lidé využívat také k rekreačním činnostem nebo k provozování vodních sportů (1).

1.2.2 Typy vod

Veškeré pevninské vodstvo z hlediska typu, stability a periodicity dělíme na vody podzemní a povrchové. Existují dva typy vod povrchových. Jedním jsou vody tekoucí, do kterých řadíme např. prameny, pramenné stružky, horské potoky, řeky, veletoky a další. Druhým typem povrchových vod jsou vody stojaté. Těmito vodami jsou např. jezera, rybníky, nádrže, ale i dešťové louže, tůně, tůňky, močály nebo rašeliniště. Podzemní vody mohou být puklinového nebo průlinového původu (30). Tyto vody představují část hydrosféry, která se nachází pod zemským povrchem a jsou významným předpokladem pro život rostlin a zdrojem pitné vody (28).

Podle úživnosti (trofie) dělíme vody na oligotrofní, mezotrofní a eutrofní. Oligotrofní vody jsou vody obsahující málo nutrientů. V těchto vodách se vyskytuje méně živočišných a rostlinných druhů i jejich celková početnost oproti vodám nutričně bohatým (eutrofní, hypertrofní) (18).

Vodu můžeme také dělit podle využití na pitnou, užitkovou a provozní. Pitná voda je voda zdravotně nezávadná. Při její trvalé konzumaci se nedostávají zdravotní potíže vyplývající z přítomnosti mikroorganismů nebo nežádoucích látek. Pitná voda má stanovené hygienické limity mikrobiologických, biologických, fyzikálních, chemických a organoleptických ukazatelů. Užitková voda je voda, která nesmí být používána k pití, je však mikrobiologicky nezávadná a využívá se např. praní prádla, zalévání rostlin atd. Provozní voda se využívá při výrobní činnosti v průmyslu a zemědělství (39).

1.2.3 Vlastnosti vody

Voda se na Zemi vykytuje ve všech fyzikálních skupenstvích (v plynné, pevné a kapalné formě). Je obsažena ve všech přírodních hmotách – v minerálech, horninách a živé hmotě (28).

Voda nezůstává na jednom místě, podléhá cyklu v celém prostředí a neustále se pohybuje z jednoho místa na jiné. Voda se odpařuje z oceánů a povrchu Země do atmosféry, kde je jen na krátkou dobu (průměrně 7 dní). Poté spadne zpět na povrch ve formě atmosférických srážek (5). Část dopadajících srážek se může zadržovat na povrchu vegetace a půdy, nebo se do půdy vsakovat, případně i vypařovat zpět do ovzduší (28). Zbylá voda stéká spádem jako povrchový odtok do zdrojů podzemních vod a společně vytváří vodní toky (30).

Srážková voda, která dopadá na povrch půdy je na ni bezprostředně vázaná, pokud srážky převažují nad vsakem, hromadí se v terénních mikrosníženinách. Množství zadržované srážkové vody na povrchu půdy je přibližně okolo 1 – 7,5 mm (28).

Voda je dynamické médium, v porovnání se složkami půdy se její složky mohou pohybovat rychleji a na delší vzdálenosti (43).

Primárním zdrojem půdní vody jsou srážky. Celkový obsah vody v půdě vyjadřujeme hmotnostně nebo objemově. Hmotnostní obsah vody vyjadřuje hmotnost vody na jednotku hmotnosti půdy. Jednotkami jsou g.g^{-1} , g.kg^{-1} nebo hmotnostní % (g vody na 100g suché půdy). Objemový obsah vody udává objem vody v jednotkovém objemu půdy a jeho jednotkami jsou $\text{m}^3.\text{m}^{-3}$ nebo také objemová %. Čím vyšší je obsah vody v půdě, tím se snadněji uvolňuje z půdy odtékáním nebo přijímáním vody vegetací (52).

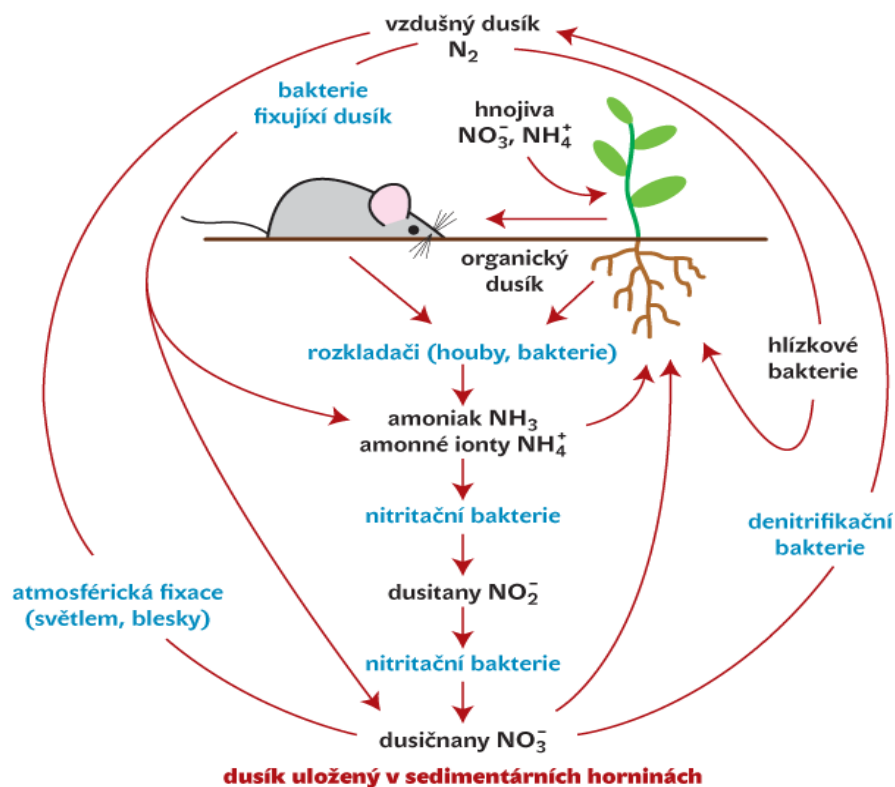
Infiltrace neboli pronikání srážkové nebo uměle dodávané vody z povrchu půdy do jejích hlubších vrstev je velice složitý děj, který je ovlivněn řadou faktorů, zejména intenzitou srážek a půdními vlastnostmi jako je např. počáteční vlhkost půdy, obsah vzduchu v půdě, který uzavírá vsakující se voda, objem volných pórů a další (28).

1.3 Dusík a jeho cyklus

Dusík představuje živinu potřebnou nejen pro rostliny, ale i pro tvorbu biomasy a funkci buněk všech ostatních organismů. Po uhlíku, kyslíku a vodíku je dusík nejčastější složkou rostlin a mikroorganismů. Je nedílnou součástí důležitých biomolekul, všech aminokyselin, které jsou stavebními kameny bílkovin, tvoří důležitou složku nukleových kyselin, chlorofylu a mnoha dalších organických sloučenin.

Většina dusíku na Zemi (98 %) se nachází v litosféře, avšak největším aktivním rezervoárem je atmosféra (53). Globální cyklus dusíku (obr. 2) zahrnuje přenos jeho forem mezi litosférou, pedosférou, atmosférou a hydrosférou. Dusík je prvek velmi dynamický, v prostředí podléhá mnoha biologickým a fyzikálně chemickým přeměnám. Na většině těchto přeměn, které probíhají převážně v biosféře, se přímo podílí mikroorganismy. Biogeochemickým cyklem rozumíme soubor reakcí, kterými je prvek nebo sloučenina přeměňován a transportován v určitém systému včetně jeho přechodů mezi plynnou, kapalnou a pevnou fází (51). Formy dusíku převažující v atmosféře jsou především vzdušný N_2 , v menší míře oxid dusný (N_2O) a plynný amoniak (NH_3). V suchozemských a vodních ekosystémech se dusík vyskytuje především v organických sloučeninách a amonných a dusičnanových iontech (53).

Ve srovnání s ostatními prvky je cyklus dusíku složitý. Činnost živých organismů v rámci cyklu v půdě a vodě, je tím nejvýznamnějším činitelem. Půdní mikroorganismy a rostliny přijímají dusík ve formě dusičnanových (NO_3^-), dusitanových (NO_2^-) nebo amonných iontů (NH_4^+), činností půdních mikroorganismů je dusík v organické hmotě mineralizován zpět na minerální formy a fixace atmosférického dusíku je umožněna některými půdními bakteriemi a sinicemi (46).



Obr. 2. Globální cyklus dusíku. Zdroj: www.vesmir.cz/clanek/jak-ekosystem-k-dusiku-prisel

V cyklu dusíku rozeznáváme vstupy, vnitřní přeměny a ztráty. Do vstupů dusíku v ekosystémech patří suchý a mokrá spád (depozice), který představuje řada dusíkatých organických i anorganických látek v ovzduší. Dalším vstupem dusíku do ekosystému je fixace molekulárního dusíku. Fixace představuje proces redukce molekulárního dusíku na amoniak. Hlavním mechanismem fixace dusíku je fixace biologická, kterou provádějí prokaryotické mikroorganismy vybavené enzymem nitrogenázou. Fixátory mohou být bakterie (např. *Azotobacter*, *Clostridium*, *Rhizobium*), aktinomycety (*Frankia*) a sinice (např. *Nostoc*, *Ananbeana*). Za významný vstup dusíku se často považuje hnojení anorganickými a organickými hnojivy. K hlavním procesům vnitřních přeměn dusíku řadíme mineralizaci organické hmoty, při které dochází k rozkladu na jednoduché minerální formy dusíku, asimilaci dusíku organismy, kterou rozumíme příjem živin rostlinami a půdními mikroorganismy v obou hlavních minerálních formách (amoniakální - NH_4^+ a nitrátovou - NO_3^-), dále nitrifikaci, kdy se amonná

forma dusíku oxiduje na nitrit a nitrát. Nitrifikace je zprostředkována nitrifikačními bakteriemi (např. rodu *Nitrosomonas*, *Nitrosobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrobacter*). Do ztrát dusíku z ekosystémů patří především vyplavování dusíkatých látek z půd, které mohou vést k eutrofizaci vod, odnos dusíku v biomase rostlin a erozí a dále emise plyných sloučenin dusíku - volatilizace amoniaku, kdy plyný amoniak těká z půdy a vody do atmosféry a denitrifikace, při níž dochází k redukci oxidovaných forem dusíku (NO_3^- , NO_2^-) na plyné dusíkaté sloučeniny (NO , N_2O , N_2). Na denitrifikaci se podílejí denitrifikační bakterie (např. rodu *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Flavobacterium*) (51).

1.4 Dusík v půdě

Zásobárnu dusíku v půdě je především dusík v organické hmotě (např. mikrobi, metabolity organismů žijících v půdě, rostlinné a živočišné zbytky, stabilní organické sloučeniny atd.), která je součástí půdy a ve většině ekosystémů tvoří hlavní zdroj dostupného dusíku (4). Celkový dusík v půdě se může lišit jak v jednotlivých oblastech, tak i v jednotlivých půdních horizontech. Rozdíl může být způsoben různým typem půdy, teplotou půdy, různou vegetační formací, topografií a dalšími faktory (56).

1.4.1 Formy dusíku v půdě

Nejvíce dusíku se nachází v půdě, více než 90 % je zde vázáno v organické hmotě (23). Půdní organická hmota představuje hlavní zásobárnu dusíku pro půdní mikroorganismy a rostliny. Dusík je zde obsažen např. v bílkovinách, nukleových kyselinách, chitinu, peptidoglykanech,minosacharidech, humusových látkách atd. (51).

Minerální a jednoduché organické sloučeniny dusíku jsou zdrojem živin pro většinu složek půdní bioty, především pro kořeny rostlin a volně žijící půdní mikroby (23). V půdě se vyskytují tyto formy minerálního N: plyné – N_2 , N_2O , NO , NO_2 , NH_3 a iontové NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- (56). Amonné a nitrátové formy dusíku označujeme souhrnně jako minerální dusík (N_{min}). Minerální dusík podléhá velké sezónní variabilitě. Na jaře (duben, květen) dochází k oteplování půdy, tím se zvyšuje činnost mikroorganismů a obsah minerálního dusíku na maximum. Naopak v létě je minimální, protože jsou

minerální formy dusíku odebírány rostlinami a tento poměrně stabilní stav trvá do konce vegetační sezóny. Na podzim ke konci vegetační sezóny vstupuje do půdy velké množství odumřelého rostlinného opadu, což v kombinaci s příznivou vlhkostí a teplotními podmínkami vede ke zvýšení mineralizace. V zimě se v důsledku nízkých teplot opět aktivita mikroorganismů snižuje (4).

1.4.2 Cyklus dusíku v půdě

Procesy přeměn dusíku v půdě mají často odlišné nároky na podmínky prostředí, přesto však mohou díky vysoké heterogenitě podmínek v půdě probíhat současně. Fixace je proces vstupu plynného N_2 do půdy, kdy je molekulární dusík redukován na NH_4^+ . Naprostá většina N_2 je fixována mikrobiálním procesem katalyzace enzymem nitrogenázou. Amonná forma dusíku se pak v různých sloučeninách zabudovává do biomasy, po odumření biomasy se NH_4^+ z organických vazeb uvolňuje. Ten pak může opět sloužit jako živina, fixovat se v půdě, volatilizovat do atmosféry nebo být nitrifikací převeden na nitrátovou formu. Nitrátová forma dusíku může být využita jako živina, redukována na amoniak, vyplavena z půdy, nebo procesem denitrifikace převedena na plynný dusík v podobě oxidu dusného (N_2O), či molekulárního dusíku (N_2) a uvolněna do atmosféry (51).

Přeměny dusíku v půdě se dají rozlišit s ohledem na odlišné reakční systémy na přeměny biologické a chemické a fyzikální. Do biologických přeměn řadíme fixaci atmosférického dusíku organismy, amonifikaci, nitrifikaci, denitrifikaci, imobilizaci dusíku do biotických složek a stabilizaci dusíku do půdní organické hmoty. Chemickými a fyzikálními reakčními systémy pak jsou fixace amoniakálního dusíku jílovitými minerály, volatilizace dusíku, fixace amonného dusíku aromatickými a organickými sloučeninami půdní organické hmoty, redukce nitrátů (chemodenitrifikace), vyplavování nitrátů a difúze a tok dusíkatých látek půdou (56).

Fixace dusíku

Tato atmosférická fáze představuje důležitou část cyklu, při níž se dusík dostává pomocí různých organismů (tzv. fixátorů) do půdy ze vzduchu. Tímto způsobem se fixuje až 96 % veškerého dusíku (9). Literatura uvádí, že biologická fixace je po

fotosyntéze druhým nejdůležitějším biologickým přirozeným procesem na Zemi, protože je jím převáděna nedostupná forma dusíku - N_2 na minerální formu dusíku, kterou jsou schopny metabolizovat všechny rostliny a mikroorganismy (51).

Půdními fixátory dusíku mohou být volně žijící bakterie, které fixují dusík za anaerobních podmínek (*Bacillus*, *Klebsiella*), dále bakterie rodu *Rhizobium*, které fixují dusík v symbióze s kořeny bobovitých rostlin (např. hrách setý, jetel luční, fazol obecná podzemnice olejná), aktinomycety rodu *Frankia*, které fixují dusík v symbióze s kořeny nebobovitých rostlin (např. olše lepkavá, rakytník řešetlákový, dryádka horská), volně žijící sinice na povrchu půdy (*Nostoc*, *Anabeana*), sinice symbiotizující s lišejníky a další bakterie volně spojené s kořeny některých rostlin (*Azotobacter*, *Azospirillum*) (23). V porovnání s volně žijícími fixátory je v našich podmínkách významnější fixace symbiotickými bakteriemi v symbióze s bobovitými rostlinami (4).

Fixace dusíku je komplex dějů, který ovlivňují různé faktory. Nejvýznamnějším faktorem, který ovlivňuje formu a míru fixace je pH půdy. Druhým významným faktorem ovlivňující fixaci N_2 v půdě je dodávka dostupného uhlíku, protože volně žijící fixátoři (s výjimkou sinic) jsou heterotrofní. Třetím determinantem je kyslíkový stav, někteří z nesymbiotizujících fixátorů dusíku jsou anaerobní (např. rod *Clostridium*), tyto organismy jsou často aktivní zejména v malých půdách. Čtvrtým faktorem, který má vliv na fixaci N_2 je dodávka dostupného dusíku. U půd s dostatkem dostupného dusíku nebude míra fixace vysoká, protože je to energeticky náročný děj a pro mikroorganismy je příjem dostupného dusíku z půdy výhodnější (23).

Jak již bylo psáno výše, převážná většina dusíku je fixována mikrobiologickým procesem. Fixace však může také probíhat v atmosféře prostřednictvím elektrických výbojů a působením slunečního záření, nebo fixací průmyslovou. Při průmyslově využívaném Haberově procesu probíhá syntéza amoniaku z N_2 a H_2 za vysoké teploty ($450^\circ C$) a tlaku (20 MPa). Takto vzniklý amoniak se pak využívá k výrobě dusíkatých hnojiv (51).

Mineralizace dusíku

Mineralizace organických látek, probíhá ve všech půdách prostřednictvím mikroorganismů a extracelulárních enzymů mikrobiálního, rostlinného nebo

živočišného původu. Rychlost a snadnost rozkladu určuje struktura organických látek. Např. bílkoviny přetrvávají v prostředí delší dobu, pokud jsou chráněny např. vazbou na jílové minerály, nebo se nacházejí v místech, která jsou špatně dostupná pro mikroorganismy (mikropóry). Tento proces, který zahrnuje velké množství dalších procesů, je hlavním zdrojem živin pro mikroorganismy a rostliny v přirozených a jiných nehnojených systémech.

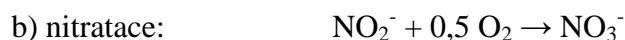
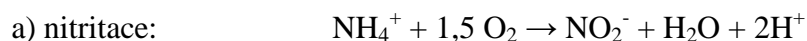
Výsledkem mineralizace dusíkatých látek (amoniifikace) je rozklad složitých i jednodušších organických látek na jednoduché minerální sloučeniny dusíku (především amonné ionty) (51). Tímto procesem vzniklý amonný dusík může být imobilizován do biotických složek a znovu se tak přeměnit v dusík organický, nebo se může fixovat v jílových minerálech nebo půdní organické hmotě, dále se může vázat na sorpční komplex, volatilizovat v plynné formě do vzduchu, nebo může vstoupit do procesu nitrifikace (56).

Amonifikaci ovlivňuje řada faktorů. Nejvýznamnějšími faktory jsou teplota a vlhkost, dalším významným faktorem je imobilizace NH_4^+ , dostupnost organické hmoty a její složení. Poměr uhlíku a dusíku vyjadřuje kvalitativní složení humusu a je ukazatelem množství uhlíku ve vztahu k obsahu dusíku v organickém materiálu. Cyklus těchto prvků se vzájemně ovlivňuje. Je-li do půdy dodána organická hmota bohatá na dusík (je-li poměr C:N nízký), dochází k podpoře mineralizačních procesů, pokud je dodána organická hmota chudá na dusík (poměr C:N je vysoký), dochází naopak k podpoře imobilizace (51).

Nitrifikace

Nitrifikací rozumíme dvoufázovou biochemickou reakci, při níž se oxiduje amonný dusík na dusitany až dusičnany (38). První fázi nazýváme nitritace, v této fázi se amoniakální dusík oxiduje na dusitany, druhou fázi nazýváme jako nitrataci, při ní dochází k oxidaci vzniklých dusitanů na dusičnany (55). Nitrity jako primární přechodné produkty nitrifikace se vyskytují v půdě většinou jen v malých koncentracích a většinou se rychle oxidují na nitráty. Nitráty se v různých půdách vyskytují jak v malém, tak i velkém množství, jednak jako definitivní produkty nitrifikace a jako složka minerálních hnojiv (56).

Nitrifikaci lze znázornit těmito rovnicemi:



Nitrifikace se vyskytuje ve všech půdách. Někdy se mylně předpokládá, že k nitrifikaci nedochází z důvodu nepřítomnosti dusičnanů v půdě. V půdách převažuje chemoautotrofní nitrifikace, kterou vykonávají gramnegativní bakterie rodu *Nitrosomonas* a *Nitrobacter*. Nitrifikace probíhá ve dvou fázích, nejprve se za činnosti bakterií rodu *Nitrosomonas* mění oxidační stav dusíku z -3 na +3, poté činností bakterií rodu *Nitrobacter* z +3 na +5. Generační čas nitrifikačních bakterií se pohybuje v rozmezí 20-40 hodin. Tento fakt a jejich malé množství ve většině půd může budít klamný dojem o jejich důležitosti v globálním cyklu dusíku (23). Přehled hlavních zástupců nitrifikačních bakterií uvádí tabulka 1.

Tabulka 1. Základní charakteristiky nitrifikačních bakterií. Zdroj: Šimek, 2003

skupina	výskyt	tvár buněk	velikost buněk (μm)
bakterie oxidující amoniak (<i>nitroso</i> - bakterie):			
<i>Nitrosomonas</i>	půda, voda	rovné tyčinky	0,7-1,5 x 1,0-2,4
<i>Nitrosococcus</i>	voda (mořská)	kulovité nebo elipsoidní	1,5-1,8 x 1,7-2,5
<i>Nitrosospira</i>	půda, voda (sladká)	spirální	0,3-0,8 x 1,0-8,0
<i>Nitrosolobus</i>	půda	pleimorfnní lalokové	1,0-1,5 x 1,0-2,5
<i>Nitrosovibrio</i>	půda	zakřivené tyčinky	0,3-0,4 x 1,1-3,0
bakterie oxidující nitrit (<i>nitro</i> - bakterie):			
<i>Nitrobacter</i>	půda, voda (mořská)	pleimorfnní tyčinky	0,5-0,8 x 1,0-2,0
<i>Nitrococcus</i>	voda (mořská)	kulovité	1,5
<i>Nitrospira</i>	voda (mořská)	spirálovité	0,3-0,4 x 0,8-1,0
<i>Nitrospina</i>	voda (mořská)	tenké tyčinky	0,3-0,4 x 1,7-6,6

Proces nitrifikace je klíčovým procesem, protože přeměňuje relativně nepohyblivou formu (NH_4^+) na velmi pohyblivou formu dusíku (NO_3^-). Dusík je tak v této formě snadno přístupný, vytváří se však předpoklady i pro jeho ztráty vyplavováním do vod nebo denitrifikací, kdy se dusičnany redukují opět na amoniak až elementární dusík nebo jeho oxidy (51).

Nitrifikace je ovlivňována mnoha faktory prostředí (viz příloha č. 1), intenzita je závislá na dostupnosti NH_4^+ a především na dostatečném přísunu kyslíku. Její průběh určuje rovnováha mezi obsahem vody a vzduchu v půdě. Nízký obsah vody v půdě znamená dobrou aeraci, při vysychání se však ztenčuje film na povrchu půdních částic, čímž se pak komplikuje difúze molekul v půdním prostředí. Malý obsah vody v půdě také inhibuje aktivitu mikroorganismů, protože se snižuje vnitrobuněčný vodní potenciál a redukuje hydratace, čímž i aktivita enzymů. Naopak vysoký obsah vody v půdě usnadňuje pohyb molekul v půdním roztoku, ale snižuje tak dostupný O_2 pro nitrifikátory a zpomaluje výměnu plynů. Aerační stav půdy je také ovlivněn teplotou, nikoliv jen obsahem vody v půdě a strukturou a texturou půdy (51). Proto je činnost nitrifikačních bakterií také citlivá na teplotu půdy, při nízkých teplotách může dojít k podstatnému snížení nitrifikace. Dalším významným faktorem ovlivňujícím nitrifikaci je pH. Nitrifikace stoupá v půdách s pH 6,6 – 8, naopak v půdách s pH pod 4,5 nitrifikační aktivita klesá (15).

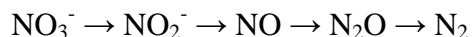
Nitráty vzniklé biologickými přeměnami spolu s nitráty vnášenými do půdy hnojením se mohou stát polutanty. Pokud je rostliny a mikroorganismy nestačí spotřebovávat, dochází k přesycení ekosystému dusíkem (51).

Denitrifikace

Nejvýznamnějším procesem tvorby plyných dusíkatých metabolitů v půdě je proces denitrifikace (51). Tento proces probíhá za anaerobních podmínek. Dochází při něm k redukcí dusičnanů a dusitanů na elementární dusík nebo oxidy dusíku, především N_2O a někdy NO . Produkce elementárního dusíku však zcela převažuje (38). Produkce oxidů dusíku je nežádoucím jevem, protože se podílejí na tvorbě kyseliny dusičné, která je jedním z hlavních složek kyselých srážek, dále se podílejí na vzniku fotochemického smogu, N_2O je účinným skleníkovým plynem, který absorbuje záření, nebo při jeho

redukci ve stratosféře vzniká radikál NO, který představuje katalyzátor destrukce ozonu. Oxidy dusíku všeobecně mohou způsobit při vyšší koncentraci ve vnitřních prostorách, obytných místnostech a průmyslových podnicích vážné zdravotní obtíže (51).

Denitrifikaci lze znázornit následujícím schématem:



Denitrifikačními bakteriemi jsou heterotrofní bakterie rodu *Pseudomonas* a *Alcaligenes*. V důsledku denitrifikace dochází k největším ztrátám dusíku z půdy v podobě dominujícího plynného N_2 a N_2O (23). Denitrifikační bakterie využívají k respiraci dusík vázaný v nitrátech a dusík slouží jako akceptor vodíku (místo O_2). Při respiraci těchto bakterií vznikají výše uvedené plyny, které pak odcházejí z půdy do atmosféry (56).

Denitrifikace je ovlivněna aktivitou denitrifikačních bakterií. Ta je ovlivňována základními faktory jako je složení a množství půdní organické hmoty jako zdroj energie, koncentrace nitrátů v půdě, aerační a vodní status půdy, pH a teplota (51).

Aktivita denitrifikačních a nitrifikačních bakterií je využívána např. při čištění odpadních vod v čistírnách odpadních vod (ČOV) s cílem odstranit z čištěné vody sloučeniny dusíku. Jedná se o biologický postup odstraňování dusíku z odpadních vod (55).

Imobilizace do biotických složek

Dusík je nezastupitelným prvkem ve všech metabolických procesech, v buněčných strukturách a i genetickém materiálu. Je důležitý pro růst a vývoj všech organismů. Rostliny mohou přijímat dusík především ve formě NH_4^+ , NO_3^- , přičemž u některých rostlin byla dokázána schopnost přijímat i velmi jednoduché organické látky (56). Aby mohly rostliny minerální formy dusíku využívat, musí nejprve organický materiál podstoupit amonifikaci. Část vzniklého amonného dusíku se váže na půdní částice, proto se nevyplavuje do vod (29).

Imobilizací rozumíme proces, při kterém dochází ke spotřebování minerálního N rostlinami nebo organismy a zabudování do biomasy. Na tomto procesu se podílejí kořeny rostlin a půdní mikroorganismy.

Půdní mikroorganismy mohou spotřebovávat jak anorganické, tak i organické formy dusíku, koncovým produktem některých mikroorganismů mohou být i samotný amoniak a nitráty. Půdní živočichové neumějí asimilovat amonný dusík, při konzumaci organické hmoty, ve které se váže dusík, jej částečně zabudují do svého těla a částečně vyloučí v exkrementech (amoniak, močovina).

Amonné ionty jsou zabudovávány přímo do aminokyselin, tento děj je energeticky výhodný. Naopak asimilace nitrátových iontů je energeticky méně výhodná, protože jsou nitrátové ionty nejprve redukovány za spotřeby energie na amonné ionty a poté se mohou zabudovat do aminokyselin (46).

Minerální formy dusíku jsou spotřebovány rostlinami nebo mikroorganismy, zatímco organické formy mohou být spotřebovány pouze živočichy. Dusík zabudovaný v rostlinách a mikroorganismech může být živočichy požírán a časem se tak vracet zpět do půdy v podobě mrtvé organické hmoty (15).

1.5 Hnojení dusíkem

Hnojení dusíkatými hnojivy slouží k podpoře růstu rostlin a zvýšení výnosů, protože většina primární produkce v terestrických ekosystémech je limitována dusíkem. Za hnojivo považujeme tedy takovou látku, která vyživuje rostliny nad rámec přirozeně dostupných živin, zlepšuje symbiózu půdních organismů, a tím obecně zvyšuje úrodnost půdy. Zelené rostliny přijímají a transportují živiny většinou ve vodorozpustné formě. Dávka přijaté vody rostlinou závisí na dynamice kořenového růstu, kterou ovlivňuje dostupnost vody v půdě. Příjem je také ovlivněn odrůdou, druhem, fází růstu a místními hydrologickými a klimatickými podmínkami. K prvním aplikacím hnojiv docházelo již v 1. století před naším letopočtem. Nejprve se používal zvířecí trus, později statková hnojiva (22).

Hnojiva obecně rozdělujeme na hnojiva organická a minerální (průmyslová). Organickým hnojivem je např. chlévská mrva, která je po správné fermentaci cenným hnojivem. Pokud jsou organická hnojiva správně skladována a používána v odpovídajícím množství, nepředstavují z ekologického hlediska žádné závažnější

riziko. Minerální průmyslová hnojiva jsou chemické prostředky používané k hnojení zemědělských plodin, které nepoškozují zdraví lidí svým složením (20). Dusíkatá hnojiva obsahují tyto formy dusíku: amonný iont (NH_4^+), dusičnanový iont (NO_3^-) a dusík vázaný v amidové skupině – močovina ($-\text{NH}_2$) (26).

Používání anorganických i organických hnojiv v zemědělství je hlavním zdrojem dusíku v zemědělských půdách a tento antropogenní zásah ovlivňuje globální cyklus dusíku (51). Faktory, které ovlivňují výživu a hnojení zemědělských rostlin jsou: půdní druh, druh pěstované plodiny, délka vegetace, technologie pěstování, klimatické podmínky a půdní vlastnosti (12). Negativně může působit hnojivo na půdu při aplikaci velmi vysokých dávek, kdy se zvyšuje koncentrace půdního roztoku. Pokud jsou však tyto živiny v půdě v nadbytku, mohou se stát toxickými složkami nejen pro rostliny, ale i pro jiné organismy (50). Dusík se pak může ve větším množství vyplavovat z půdního prostředí do vod (51).

Přehnojování půdy aplikací NPK hnojiv (vícesložková hnojiva s obsahem dusíku, fosforu a draslíku) vedlo v minulosti k její kontaminaci a ohrožování zdraví lidí kontaminovanou produkcí. Tato hnojiva jsou dobře rozpustná ve vodě, proto se mohou snadno vyplavovat do spodních a povrchových vod. Vyplaví se často až 90 % aplikovaného hnojiva (26). Z NPK hnojiv je za významný kontaminant považován právě dusík. Fosfor se v půdě málo pohybuje, škodí však tím, že jeho nepatrná koncentrace, která se z půdy vyplaví, postačuje společně s dusíkem k eutrofizaci vod. Draslík se v půdě pohybuje rychleji a je fixován, jeho vazba je velmi silná a často nevratná. Kontaminujícími složkami z dusíkatých hnojiv v půdě mohou být NO_3^- nebo NH_4^+ , který v půdě nitrifikuje na NO_3^- (20).

Použití minerálního dusíku v hnojivech v zemědělství členských států EU se od roku 1950 až do roku 2000 zvýšilo desetinásobně. Od roku 1980 zůstávají koncentrace dusičnanů v hlavních řekách EU konstantní. Neexistují důkazy, že by snižování aplikace dusíkatých hnojiv na zemědělských půdách vedlo k nižší koncentraci dusičnanů v řekách (62). Pokud nestačí denitrifikační proces při hnojení dusíkatými hnojivy udržovat rovnováhu, dochází tak ke stálému přebytku dusíku v prostředí (eutrofizaci) (41).

1.6 Vyplavování dusíku z půdy do vod

Vyplavování dusíkatých látek je jedním z mechanismů ztráty dusíku z půd. Vyplavují se zejména tyto formy dusíku: NO_3^- , rozpuštěný organický N a v menší míře pak NO_2^- a NH_4^+ . Většina kationtů je v půdě vázána půdním sorpčním komplexem na půdních koloidech, naopak anionty jsou v půdě velice pohyblivé (51).

Pokud je v půdě přítomna vysoká hladina dusičnanových iontů, přesahující potřeby rostlin a půdních mikroorganismů a dostatečná vlhkost, dochází k vyplavování dusíku z půdy (9). Koncentrace dusičnanových iontů narůstá s aplikací hnojiv, pokud nestačí její podíl mikroflóra zpracovat, mohou se tyto ionty vyplavit do spodních vod. Vyplavování dusíkatých látek z půdy do vod je během vegetačního období nepravidelné, periodické, závislé na úhrnu srážek (56).

Dusičnanové ionty se pohybují směrem dolů volně s drenážní vodou. Ztráta dusíku tímto způsobem představuje dva hlavní problémy. Jedním z nich je ochuzování ekosystému o živiny a druhým jsou příčiny několika vážných environmentálních problémů spojených s užíváním vody pro člověka především jako zdroje pitné vody (7).

Jedním ze způsobů jak zabránit přebytku vyplavování dusíku z půdy do vod je šetrné a správné zacházení s hnojivy. Důležité je určit, zda jsou daná hnojiva pro dané účely vhodná, dále je třeba si uvědomit, že zónová aplikace hnojiv (např. pod semena nebo sazenice při setí, přihnojování radličkami) je úspornější než aplikace plošná a nezbytné je také hnojení dobře načasovat a používat protierozní opatření (9). Eroze významně ochuzuje zemědělské půdy, dochází při ní k odnosu dusíku z půdy spolu se zeminou do vodních toků (29).

Dusitany (NO_2^-) jsou ve vodě jako meziproduct přeměn dusíku velice nestabilní a poměrně rychle se oxidují nebo redukují. Naopak koncentrace dusičnanů (NO_3^-) se v přírodních vodách neustále zvyšuje, protože vzrůstají zemědělské činnosti spojené s aplikací hnojiv a vzrůstá i počet obyvatel, kteří produkují více splaškových odpadních vod s různými formami anorganického i organického dusíku (38).

1.7 Dusík ve vodách

Vyplavováním dusíkatých látek z půdy do povrchových i podzemních vod dochází k eutrofizaci vod povrchových a následnému znečišťování zdrojů pitné vody (60).

Účinky eutrofizace životního prostředí mohou mít škodlivé důsledky pro zdraví exponovaných populací zvířat a lidí. Specifická zdravotní rizika se mohou objevit po extrahování vod z eutrofních oblastí, které se využívají pro výrobu pitné vody (62).

Velké přebytečné množství dusíku ve vodě i půdě může také představovat příčinu zvýšení emisí plynných sloučenin dusíku, které vede k podpoře tvorby fotochemického smogu a odbourávání ozonu ve stratosféře (51).

1.7.1 Eutrofizace povrchových vod

Eutrofizací vod se rozumí obohacování vod o živiny, zejména o dusík (např. ve formě dusičnanů) a fosfor (např. fosforečnany), které vede k nežádoucímu porušení rovnováhy biologických a chemických cyklů v těchto vodách, které může vést až ke změně jakosti těchto vod (62).

Dusík spolu s fosforem představují prvky potřebné pro růst sinic a řas. Pokud je at' už obou nebo jen některého z nich ve vodách nedostatek, růst sinic a řas je limitován (43). Při zvýšené nabídce těchto živin se může zvýšit produkce autotrofních organismů vodních společenstev. Projevem tohoto zvýšení může být vegetační zákal nebo vodní květ (2).

Řasy i sinice jako takové nejsou kromě alergických reakcí pro člověka nebezpečné. Za určitých podmínek ale mohou produkovat nebezpečné toxiny (41). Toxiny produkované sinicemi a řasami různého tvaru a velikosti souhrnně nazýváme fykotoxiny (13).

V jarním planktonu eutrofních jezer mírného pásu dominují rozsivky druhu *Stephanodiscus*, které vrcholí i počátkem léta. Dalšími organismy jsou bičíkovci rodu *Chlamydomonas* a *Pandorina*. V pozdním létě jsou charakteristické vodní květy tvořené sinicemi *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix* a *Gleotrichia*. V eutrofní vodě našich nádrží dominují sinice druhu *Microcystis*. V eutrofních rybnících, které představují nejpočetnější biotop stojatých vod u nás, nalezneme zelené řasy *Scenedesmus* a

Pediastrum. Dále sinice druhu *Aphanizemon*, *Microcystis* a *Planktothrix* (41). V našich rybnících jsou častou složkou fytoplanktonu také rozsivky a zlativky (21).

Nadměrná přítomnost sinic a řas ve vodě narušuje kyslíkový a uhličitánový režim. Během fotosyntézy dochází při hladině k přesycení kyslíkem, úbytku oxidu uhličitého ve vodě a následnému narůstání pH. Se zvyšujícím se pH se zvyšuje i koncentrace NH_4^+ a NH_3 ve vodě (3). V noci a ranních hodinách v důsledku respirační aktivity sinic a řas dochází k poklesu rozpuštěného kyslíku (25). Ke snížení koncentrace kyslíku dochází také zejména při rozkladu odumřelé biomasy sinic, při které kyslík spotřebovávají bakterie při rozkladných procesech. Anoxické prostředí může vést až k úhynu některých ryb a bezobratlých živočichů (9).

Fosforečnany se zabudovávají do dnových sedimentů vod. Zabudované fosforečnany se mohou za určitých podmínek uvolňovat zpět do vodního prostředí a následkem je pak zvýšená koncentrace fosforečnanů ve vodách a opětovný rozvoj sinic a řas (25).

Nejúčinnějším řešením eutrofizace životního prostředí jsou preventivní opatření, která předchází vlastnímu znečištění dusíkem a fosforem. Měl by se zamezit vstup živin do prostředí – vymývání živin z intenzivně hnojených půd a volba vhodných hnojiv, omezení vypouštění nevyčištěných splašků, spady z ovzduší a další (9).

Sinice

Na povrchu eutrofních vod se může shlukovat biomasa složená ze stárnoucích, limitovaných v růstu a odumírajících buněk sinic a utváří tak vodní květ (41). Vodní květ vytváří druhy sinic, které se hromadně vyskytují a kumulují při hladinách vod (obr. 3 a 4).

Buňky většiny sinic vodního květu obsahují plynové měchýřky, které usnadňují jejich vznášení, sinice se pak vznášejí a hromadí při hladinách vod a vytváří tak okem viditelné shluky (21).



Obr. 3. Vodní květ na přehradě Orlík v roce 2013. Zdroj: Doc. RNDr. Jan Kaštovský, Ph.D, Katedra botaniky PřF JU v ČB, soukromý archiv



Obr. 4. Mikroskopická fotografie směsi druhů sinic tvořících vodní květ na přehradě Orlík v roce 2013. Zdroj: Doc. RNDr. Jan Kaštovský, Ph.D, Katedra botaniky PřF JU v ČB, soukromý archiv

Mnoho sinic vytvářejících vodní květ produkují biologicky aktivní sekundární metabolity, tzv. cyanotoxiny. Toxiny sinic vyvolávají obecně několik skupin onemocnění, mohou např. oslabit imunitní systém, způsobit malátnost a celkovou slabost, zvracení a zažívací potíže, vyvolávat kožní alergické reakce a kontaktní dermatitidy, respirační obtíže zahrnující záchvaty kašle až dušení, dále mohou způsobit poruchu funkce ledvin, srdce a jater, karcinomy jater a další (33).

Podle toxikologického hlediska můžeme cyanotoxiny dělit na neurotoxiny, hepatotoxiny, cytotoxiny a dermatotoxiny a další (37). Neurotoxicky účinné cyanotoxiny produkují sinice rodu *Anabaena*, *Aphanizemon* a *Planktothrix*. Nejvýznamnějšími neurotoxiny je skupina anatoxinů, která zahrnuje anatoxin-a, homoanatoxin-a a anatoxin a(s) (33). Hepatotoxiny mohou produkovat sinice rodu *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizemon* a *Planktothrix* (14). Nejvýznamnějšími hepatotoxiny je skupina microcystinů a cylindrospermopsin. Cytotoxické účinky vykazuje většina sinic, znalost jejich mechanismu je ale nedostačující. Pro cytotoxické účinky jsou sinice zařazeny mezi biotechnologicky zajímavé organismy z pohledu farmaceutických výzkumů. Dermatotoxiny produkují např. sinice druhu *Anabaena*, *Aphanizemon* a *Planktothrix*. Při požití mohou vyvolat záněty zažívacího traktu a průjemy, nebo při přímém kontaktu s kůží kontaktní dermatitidy a alergické podráždění očí a sliznic (33). Za nejstudovanější a nejnebezpečnější cyanotoxiny se považují neurotoxiny a hepatotoxiny. Sinice mohou produkovat i další toxiny, např. imunotoxiny, mutageny a genotoxiny, embryotoxiny, lipopolysacharidy způsobující průjemy, zvracení a bolesti břicha, alergeny atd. (32).

Přehled nevýznamnějších cyanotoxinů, jejich působení a původ zobrazuje tabulka 2 (64).

Tabulka 2. Přehled nevýznamnějších cyanotoxinů, jejich působení a původ. Zdroj: WHO, 1999

Skupina toxinů	Cílový orgán u savců	Rod sinic
Cyklické peptidy		
microcystin	játra	<i>Microcystis, Anabaena Planktothrix (Oscillatoria), Nostoc, Hapalopsiphon, Anabaenopsis</i>
nodularin	játra	<i>Nodularia</i>
Alkaloidy		
anatoxin-a	nervová zakončení	<i>Anabaena Planktothrix (Oscillatoria), Aphanizomenon</i>
anatoxin-a(S)	nervová zakončení	<i>Anabaena</i>
aplysiatoxin	kůže	<i>Lyngbya, Achizothrix, Planktothrix (Oscillatoria)</i>
cylindrospermopsin	játra	<i>Aphanizomenon, Cylindropermopsis, Umezakia</i>
lyngbyatoxin-a	gastro-intestinální trakt, kůže	<i>Lyngbya</i>
saxitoxin	nervové axony	<i>Lyngbya, Aphanizomenon, Cylindropermopsis, Anabaena</i>
Lipopolysacharidy (LPS)	vliv na nespecifickou imunitní odezvu	Všechny G-bakterie včetně sinic

Riziko působení toxinů sinic nastává při pravidelném požívání pitné vody, která je vyrobená ze zdroje s masivním přemnožením sinic. Dalším rizikem je přímý kontakt s vodou, v níž je přítomný vodní květ, zejména při rekreaci. Při koupání může člověk nechtěně vypít až 2 dcl vody a s ní i přítomné sinice. Riziko se zvyšuje u dětí, protože vody vypijí více a je nutno zohlednit jejich menší tělesnou hmotnost (45).

Existují epidemiologické důkazy včetně otrav lidí a toxikologické studie, které svědčí o nepříznivých efektech cyanotoxinů pro lidské zdraví. Např. v Brazílii roku 1988 bylo během 42 dnů zaznamenáno cca 2000 případů gastroenteritid (z toho 88 úmrtí). Infekční patogeny byly vyloučeny, naopak byly zjištěny vysoké koncentrace toxických cyanobakterií (*Anabaena* a *Microcystis*) ve zdrojích pitné vody v postižených

oblastech. Tento případ a další kauzy jsou podrobněji popsány v příloze č. 2 této práce (6).

Ukazuje se, že problémy s přemnoženými sinicemi nelze řešit izolovaně, ale v rámci celých povodí evropských řek. V novele vodního zákona č. 20/2004 Sb. je ukotven komplexní přístup EU týkající se všech vodních zdrojů Evropské Unie, který má za cíl dosáhnout "dobrého stavu" evropských vod do roku 2015. Také Evropská směrnice Nitrates Directive 91/676/EEC se snaží regulovat používání dusíkatých hnojiv, udává maximálně 170 kg na 1 hektar, snaží se tak snižovat eutrofizaci povrchových vod a znehodnocování vodních zdrojů (40).

Řasy

Řasy produkující toxiny nejsou běžnou součástí společenstev sladkovodních vod, většinou jsou to řasy mořské. Řasy v našich vodách jsou i přesto nežádoucím jevem, protože zhoršují vlastnosti vody (21). Eukaryotické řasy mohou vytvářet vegetační zákal, který se projevuje sníženou průhledností vody a může zhoršovat organoleptické vlastnosti pitných vod (41). Do organoleptických vlastností vody obecně řadíme teplotu, barvu, zákal, pach a chuť. Zhoršení organoleptických vlastností pitné vody (nikoliv překročení limitů) by nemělo zabraňovat její konzumaci, jelikož je zdravotně nevýznamné (44).

Např. krásnoočka (*Euglena sp.*) - jednobuněční bičíkovci zařazení mezi řasy se především vyskytují v mělkých eutrofizovaných vodách nebo ve vodách znečištěných odpadními vodami (21). Na hladinách těchto vod mohou vytvářet povrchovou zelenou nebo červenou blanku. Neprodukují však pro člověka nebezpečné toxiny (10). Také při přemnožení zlativek ve vodárenských nádržích dochází ke zhoršení kvality pitné vody, která zapáchá po rybím tuku (21).

1.8 Dusičnany v lidském těle

Běžnou součástí pitné vody je i určitá koncentrace dusičnanů. Často dochází k překročení přípustné koncentrace a následnému negativnímu působení na lidský organismus (29). Hlavními vstupy nitrátů do potravních řetězců jsou pitná voda, dále

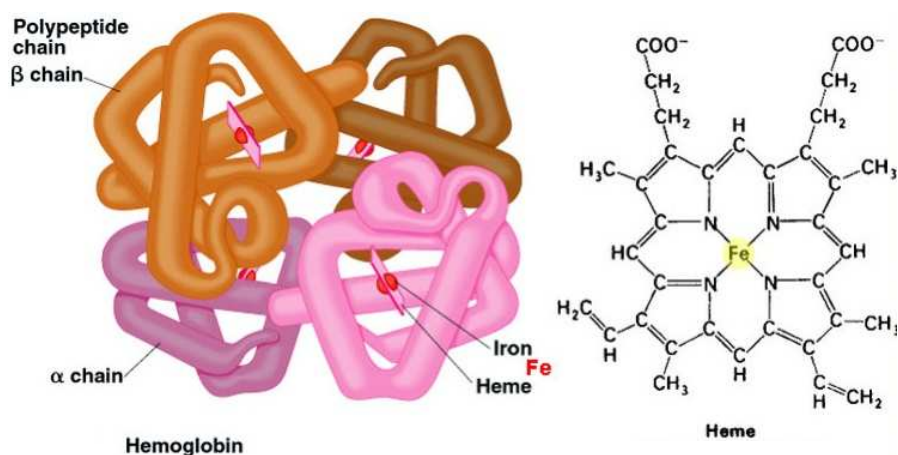
pak potraviny, zejména tzv. rychlená zelenina, která je pěstována na velmi hnojených půdách (51). Dalším možným zdrojem dusičnanů v potravinách může být také maso a masné výrobky, ryby, rybí výrobky, konzervy a tvrdé sýry, do kterých se dusičnany (zejm. dusičnan sodný a draselný) přidávají jako aditiva. Dusičnany se do potravin přidávají z technologických důvodů, které mají za cíl např. prodloužit trvanlivost, ochránit před působením některých bakterií (*Clostridium botulinum*), pomoci udržet stálou barvu a další (11).

Je známo několik mechanismů účinků dusičnanů v lidském těle. Jedním je vznik methemoglobinu, dalším je např. tvorba karcinogenních a teratogenních N-nitroso sloučenin (61).

1.8.1 Methemoglobinémie

Pokud je lidský organismus vystaven dusitanu nebo dusičnanu, může u něj dojít ke vzniku methemoglobinémie (34).

Hemoglobin je červené barvivo červených krvinek, jehož základní funkcí je transport kyslíku. Hemoglobin se skládá ze 4 podjednotek – ze dvou α a dvou β . Každá podjednotka má 2 části. První část tvoří nebilkovinný hem (sloučenina obsahující dvojmocné železo) a bílkovinný globin (obr. 5). Kyslík se pak váže v erytrocytu na dvojmocné železo hemu (47).



Obr. 5. Stavba hemoglobinu a hemu. Zdroj: www.pharamcytimes.com/category/human-anatomy-physiology/the-blood

Pokud dojde k oxidační reakci a změně dvojmocného železa na trojmocné, ztrácí hemoglobin schopnost transportu kyslíku a vzniká methemoglobin (24). Methemoglobinémií se pak nazývá stav, jehož důsledkem je hypoxie tkání a látková acidóza. Dalšími příznaky mohou být bolesti hlavy, závratě, zmatenost a u závažnějších forem respirační deprese, setrvání ve strnulých a nepřírozených polohách (tzv. stupor), kóma až smrt (16). Při podílu methemoglobinu větším než 20 % z celkového obsahu hemoglobinu dochází k šedavému zabarvení kůže, při podílu vyšším než 50 % může být lidský život ohrožen (35).

Methemoglobinémií můžeme najít v literatuře také pod názvem „Blue Baby Syndrome“ – cyanotické dítě (24). Dětské období je charakteristické nevyzrálostí některých metabolických dějů. Jedním z nich je i nedostatečný erytrocytární mechanismus. Enzym methemoglobin reduktáza, který redukuje methemoglobin zpět na hemoglobin, je u kojenců málo aktivní a hemoglobin je tak u nich v oxidované formě udržován ve vyšších hodnotách (35).

K otravám může docházet např. při konzumaci pitné vody s vyšším obsahem nitrátů. Proto musí být kojenecká voda upravována a sledována tak, aby se vzniku methemoglobinémie zamezilo (24).

1.8.2 Rakovina

Dusičnany se ze zdravého dospělého člověka vylučují rychle močí a v běžných koncentracích pro něj nejsou nebezpečné. Riziko hrozí při přeměně dusičnanů na dusitany. Dusitany mohou za určitých podmínek reagovat v žaludku se sekundárními aminy za vzniku nitrosaminů (54). Sekundární aminy pocházejí z potravy, především z piva a vína, dále z některých léků nebo tabákového kouře. Na reakci může mít vliv i kyselé pH, které je pro tuto reakci ideální (11). Nitrosaminy jsou látky s průkazným karcinogenním, teratogenním a mutagenním účinkem (54). Nitrosaminy mohou způsobovat nádorová onemocnění žaludku, jater, tlustého střeva nebo močového měchýře (11). U mnohých N-nitroso sloučenin byla karcinogenita prokázána u všech testovaných zvířat. Dostupná data epidemiologických studií však lidskou karcinogenitu těchto látek zatím neprokázala (63).

1.8.3 Další účinky dusíku

Vyšší konzumace dusičnanů z pitné vody může mít vliv na trávení a vstřebávání živin, metabolismus vitamínu A, funkci štítné žlázy či může způsobovat poruchy mozku a srdce (11). S vyšším obsahem dusičnanů v pitné vodě se také spojuje vznik reprodukčních a vrozených vad, studie však také nejsou průkazné (36).

1.9 Hygienické limity

U dusičnanů i dusitanů je hygienickým limitem nejvyšší mezní hodnota. Je to hodnota zdravotně závažného ukazatele jakosti pitné vody. Překročení této hodnoty vylučuje použití vody jako vody pitné, neurčí-li orgány ochrany veřejného zdraví jinak. Vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody, stanovuje nejvyšší mezní hodnotu pro dusičnany v pitné vodě na 50 mg/l a pro dusitany na 0,50 mg/l (58). Příslušná vyhláška se již nevěnuje kojeneckému limitu dusičnanů, který dříve činil 0,15 mg/l. Nynější hodnota 50 mg/l je stanovena s ohledem na prevenci methemoglobinémie i u kojenců. Vývoj hygienických limitů pro dusičnany v jednotlivých předpisech je chronologicky znázorněn v tabulce 3 (27).

Tabulka 3. Hygienické limity dusičnanů v historii. Zdroj: Kožíšek 2005

Předpis	Platnost	Limity pro obsah dusičnanů
ČSN 56 7900 Pitná voda	1959 - 1964	35 mg/l 15 mg/l u zdrojů zásobující kojenecká zařízení
ČSN 83 0611 Pitná voda	1964 - 1974	50 mg/l 15 mg/l k umělé výživě kojenců
ČSN 83 0611 Pitná voda	1975 - 1990	hodnota (50mg/l) přesahuje obsah dusičnanů ve vodě, která smí být používána k umělé výživě kojenců
ČSN 75 7111 Pitná voda	1991 - 2000	mezná hodnota 50 mg/l doporučená hodnota pod 15 mg/l
Vyhláška č. 376/2000 Sb.	2001 - 2004	mezná hodnota 50 mg/l 15 mg/l pro přípravu kojenecké vody a nápojů
Vyhláška č. 252/2004 Sb.	2004 - dnes	50 mg/l žádná zmínka o kojeneckých limitech

Limity dusičnanů a dusitanů jsou stanoveny i pro balené vody. Vyhláška č. 275/2004 Sb., o požadavcích na jakost a zdravotní nezávadnost balených vod a o způsobu jejich úpravy, rozděluje balené vody na přírodní minerální vodu, pramenitou vodu, kojeneckou vodu a pitnou vodu. Balená přírodní minerální voda je výrobkem z přírodní minerální vody získané ze zdroje přírodní minerální vody, o kterém bylo vydáno osvědčení. Pro tyto vody je stanovena nejvyšší mezní hodnota dusičnanů na 50 mg/l a dusitanů na 0,1 mg/l. Balená pramenitá voda je výrobkem z kvalitní vody z chráněného podzemního zdroje, která může být určitým způsobem upravována a je vhodná k trvalému přímému požívání dětmi i dospělými. Pro balené pramenité vody platí mezní hodnota 25 mg/l dusičnanů a 0,02 mg/l dusitanů. Balená kojenecká voda je taktéž výrobkem z kvalitní vody z chráněného podzemního zdroje, která však nesmí být upravována žádným způsobem, s výjimkou ozařování UV zářením. Tato voda je vhodná pro přípravu kojenecké stravy a k trvalému přímému požívání všemi skupinami obyvatel. Mezní hodnoty dusičnanů jsou stanoveny na 10 mg/l a dusitanů na 0,02 mg/l. Balená pitná voda je výrobkem, který splňuje požadavky na pitnou vodu podle vyhlášky č. 252/2004 Sb. (viz výše) (59)

Výskyt sinic je ve veřejných přírodních koupalištích monitorován. Pokud dojde k překročení vyhláškou daných limitů, může být vydán zákaz koupání. Porušení tohoto zákazu může vyvolat vážné zdravotní následky (41). Aktuální informace ke kvalitě vody ke koupání jsou zveřejňovány online na internetových stránkách Ministerstva zdravotnictví ČR v sekci Veřejné zdraví (www.mzcr.cz/verejne/obsah/koupani-v-prirode-aktualni-kvalita-vody_1073_5.html) (31). Hodnocení výskytu sinic se provádí podle přílohy č. 4 vyhlášky č. 238/2011 Sb., o stanovení hygienických požadavků na koupaliště, sauny a hygienické limity písku v pískovištích venkovních hracích ploch. Přírodní koupaliště se zvýšenou pravděpodobností rozmnožení sinic se třídí dle stupnice 0-3 (tabulka 4). U stupně 0 nejsou sinice pouhým okem pozorovatelné, při 1. stupni (pozorovatelný) jsou ve vodě zjizvitelné ojedinělé zelené vločky, kolonie nebo jednotlivá vlákna, limitní hodnota je 20 000 buněk sinic v 1 ml vody, nebo 10 µg chlorofylu-a na 1 l vody, u 2. stupně (hojný) se při břehu vyskytují slabší příhlinové shluky sinic nebo je ve vodním sloupci rozptýleno větší množství kolonií nebo

jednotlivých vláken sinic, limitní hodnota je 100 000 buněk sinic v 1 ml vody, nebo 50 µg chlorofylu-a na 1 l vody, 3. stupeň (masový) znamená výskyt silných příhladinových květů velkého rozsahu a na břehu může být naplaveno větší množství zeleného kašovitého materiálu, limitní hodnota je 250 000 buněk sinic v 1 ml vody, nebo 100 µg chlorofylu-a na 1 l vody. Každý rozbor vody ke koupání vede k těmto závěrům (s ohledem na sinice): 1. voda vhodná ke koupání (značka 😊) – výskyt sinic nedosahoval při posledním odběru hodnot pro 1. stupeň, 2. voda vhodná ke koupání s mírně zhoršenými vlastnostmi (značka 😊) – výskyt sinic taktéž nedosahovali při posledním odběru hodnot pro 1. stupeň, mírně zhoršené mohou být jiné mikrobiologické ukazatele, 3. zhoršená jakost vody (značka 😊) - nálezy sinic a chlorofylu-a z posledního rozboru překročily limity 1. stupně, 4. voda nevhodná ke koupání (značka 😞) - nálezy sinic a chlorofylu-a z posledního rozboru překročily limity 2. stupně, 5. voda nebezpečná pro koupání, zákaz koupání (značka ☹️) - při posledním odběru došlo k překročení limitních hodnot III. stupně (57).

Tabulka 4. Ukazatele znečištěné vody a jejich limitní hodnoty pro přírodní koupaliště se zvýšeným rizikem vzniku masového rozvoje sinic

	Ukazatel	Jednotka	I. stupeň	II. stupeň	III. stupeň	Vysvětlivky
1a	sinice	buňky/ml	20 000	100 000	250 000	1,5
1b	sinice	mm ³ /l	2	10	20	1,5
2	chlorofyl-a	µg/l	10	50	100	2,5
3	vodní květ	stupeň			2	3
4	mikroskopický obraz					4

Vysvětlivky:

1. Stačí vyjádření pouze jedním způsobem (buňky/ml nebo jako buněčný objem). Je-li nutné zahuštění vzorku, provádí se membránovou filtrací.
2. Pokud je stanovení chlorofylu-a provedeno pomocí metody, která umožňuje odlišení sinic od řas (fluorometrie, HPLC), není nutno provádět mikroskopickou kvantifikaci sinic a postačí stanovení ukazatele „Mikroskopický obraz“.
3. Stanovení se provádí dle popisu výskytu (žádný, pozorovatelný, hojný, masový).
4. Ukazatel „Mikroskopický obraz“ obsahuje slovní popis, ve kterém jsou uvedeny především dominantní taxony sinic, dále dominantní zástupci fytoplanktonu a jakékoli další informace, které mohou přispět k interpretaci výsledků.

5. *Limity pro III. stupeň se týkají sinic, které tvoří výrazné vodní květy typicky Planktothrix agardhii. Pokud jsou dominantní druhy nanoplanktonní vláknité sinice (typicky z rodů Pseudanabaena, Limnothrix) je nutno stanovit sinice jako objemovou biomasu (ukazatel 1b).*

Podmínky a povinnosti týkající se pitné vody a přírodních koupališť kontrolují krajské hygienické stanice. V případě ohrožení zdraví mohou orgány ochrany veřejného zdraví dle platné legislativy užívání těchto vod omezit nebo zakázat (25). Krajské hygienické stanice jsou správními úřady, které spravuje Ministerstvo zdravotnictví České republiky, a jsou pověřeny výkonem státní správy v oblasti ochrany veřejného zdraví. Každá krajská stanice má několik územních pracovišť v bývalých okresních městech. Úkolem těchto stanic je nařizovat, organizovat, třídit a provádět opatření k předcházení vzniku a zamezení šíření infekčních onemocnění, dále poskytovat informace o zdravotních rizicích, vykonávat státní zdravotní dozor apod. (17). Povinností zaměstnanců orgánů ochrany veřejného zdraví je prokazovat se služebním průkazem, zaměstnanci mají oprávnění vstupovat do provozů, staveb, jiných zařízení a vyžadovat příslušné dokumentace. O každém šetření, které bylo zaměstnanci krajských hygienických stanic provedeno, se zřizují zápisy do protokolů o výsledcích kontroly (39).

Provozovatelé vodáren, vodovodů, veřejných studní, rekreačních zařízení a koupališť jsou ze zákona povinni sledovat kvalitu vody pravidelnými rozbory vzorků vody. Výsledky laboratorních analýz pak musí poskytovat hygienickým stanicím. Ke zjednodušení a využití dat slouží informační systém PiVo, který pomáhá pracovníkům hygienických stanic zpracovávat výstupy, posuzovat kvalitu vod a případně rozhodovat o nutných opatřeních (19).

2. Cíle práce a hypotézy

Cílem této diplomové práce je sledování forem dusíku a jejich přeměn v modelovém lučním ekosystému (mezokosmový pokus) ovlivněném různou dávkou dusíkatého hnojení a různou vlhkostí půdy. Dílčím cílem je shrnout zdravotní problémy vyplývající z kontaminace vod dusíkem, který se do vod dostává především z půdního prostředí (hnojení zemědělských ekosystémů).

Hypotézy:

- H1: Předpokládá se, že hnojení zvyšuje rychlost nitrifikace a tím koncentraci dusičnanů v půdě.
- H2: Vegetace odebírá z půdy mobilní formy dusíku, tím snižuje rychlost nitrifikace, koncentraci dusičnanů v půdě a následné vyluhování N z půdy do spodních a povrchových vod.
- H3: Vysoká vodní hladina nastolí v půdě anaerobní prostředí, čímž se snižuje rychlost nitrifikace.
- H4: Předpokládá se, že k nejrychlejší nitrifikaci dochází v půdním prostředí bez vegetace s aplikací hnojiva a s nízkou hladinou vody (vlhkostí).

3. Popis metodiky

V průběhu vegetační sezóny roku 2013 byly čtyřikrát odebrány půdní vzorky z mezokosmového pokusu (viz níže), které byly následně homogenizovány, inkubovány a analyzovány v laboratoři.

Z naměřených hodnot pak byly vypočítány koncentrace minerálních forem dusíku, rychlosti jejich přeměn a odhadnuto potenciální nebezpečí vyplavování nitrátů do povrchových a spodních vod.

3.1 Mezokosmový pokus

Mezokosmový pokus je experimentální prostředek, který umožňuje zkoumat separovaně malou část přírodního prostředí za kontrolovaných podmínek.

Mezokosmový pokus (modelový luční ekosystém) pro analýzu této práce je umístěn v areálu Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Výzkum je podpořen projektem s názvem „Význam nově asimilovaného uhlíku pro interakce rostlin s půdou v mokřadních travinných ekosystémech v proměnlivých podmínkách vnějšího prostředí“, Grantové agentury ČR (GAČR č. 526/09/1545), jehož řešitelem je Dr. Keith Edwards (Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita).









Mezokosmový pokus byl založen v červnu roku 2009 s cílem sledovat vliv čtyř různých faktorů (typ půdy, přítomnost/absence rostlin, výška vodní hladiny a hnojení NPK hnojivem) na rostlinnou biomasu a její kvalitu, fyzikálně-chemické vlastnosti půdy – především dostupnost živin a mikrobiální procesy v půdě. Půda byla umístěna do nádob o velikosti (40 cm šířka a délka, 50 cm výška) a tyto nádoby byly vloženy po 10 do větších bazénů (180 cm šířka, 110 cm délka a 60 cm výška), které umožňují regulovat vodní hladinu a tím i vlhkost půdy. Byly použity dva typy půd lišící se obsahem půdní organické hmoty, organická a minerální. Jejich základní fyzikálně-chemické parametry uvádí tabulka 5.

Tabulka 5. Základní fyzikálně-chemické parametry mezokosmových půd

Půda	minerální	organická	jednotky
Ctot	12,7 ($\pm 0,2$)	139 ($\pm 0,04$)	mg/g
Ntot	0,58 ($\pm 0,04$)	5,39 ($\pm 0,05$)	mg/g
Ptot	0,39 ($\pm 0,03$)	0,41 ($\pm 0,02$)	mg/g
C/N	22	26	
C/P	32	344	
pH - KCl	5,84 ($\pm 0,17$)	3,87 ($\pm 0,01$)	
pH - H ₂ O	6,08 ($\pm 0,01$)	4,46 ($\pm 0,04$)	

Polovina nádob s každou půdou byla osázena čtyřmi rostlinami ostřice štíhlé (*Carex acuta*), což je rostlina typická pro oligotrofní a mesotrofní mokré louky v České republice. V polovině bazénů byla udržována vysoká vodní hladina, která zajistila, že byla půda v nádobách saturována vodou. V ostatních bazénech byla hladina vody udržována 20 cm pod povrchem půdy tak, aby svrchní vrstva půdy byla aerovaná. Posledním sledovaným faktorem, je přídavek živin. Do nehnojené kontrolní varianty nebylo přidáváno žádné hnojivo, hnojené varianty obdržely dávku minerálního NPK hnojiva odpovídající 300 kg/ha/rok (v této dávce obsaženo 45 kg dusíku, 15 kg fosforu jako P₂O₅ a 15 kg draslíku jako K₂O). Jako hnojivo bylo použito NPK hnojivo Lovofert 15-15-15, které bylo aplikováno v šestitýdenních intervalech po dobu vegetačního období. Mezokosmový pokus je uspořádán tak, že každá varianta má dvě pravá opakování (dva bazény), v každém pak čtyři nepravá opakování. Celkem je zde 16 kombinací, které znázorňuje tabulka 6 (8 variant pro oba typy půd).

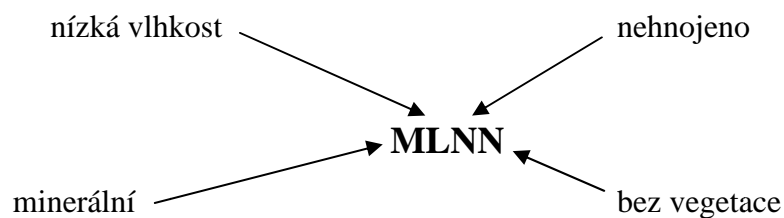
Tabulka 6. Schéma variant zkoumané půdy

VARIANTA	VODNÍ HLADINA	ROSTLINY	HNOJENÍ	SYMBOL
1	VYSOKÁ	ANO	NE	
2	VYSOKÁ	ANO	ANO	
3	NÍZKÁ	ANO	NE	
4	NÍZKÁ	ANO	ANO	
5	VYSOKÁ	NE	NE	
6	VYSOKÁ	NE	ANO	
7	NÍZKÁ	NE	NE	
8	NÍZKÁ	NE	ANO	

Pro jednotlivé varianty půd bylo použito následující značení:

P-M	-	peaty - mineral	-	rašelinná (organická) - minerální
L-H	-	low - high	-	nízká - vysoká vlhkost půdy
H-N	-	high - none	-	hnojeno - nehnojeno
P-N	-	plant - none	-	s vegetací - bez vegetace

ukázka:



3.2 Odběry a příprava půdních vzorků

Během vegetační sezóny 2013 byly čtyřikrát odebírány vzorky jednotlivých variant půd do uzavíratelných igelitových sáčků. Odběr v březnu reprezentoval stav půd před začátkem růstu rostlin, v květnu dosahoval růst rostlin maximální rychlosti, červenec představuje vrchol vegetační sezóny s nejvyšší rostlinnou biomasou a nejvyššími teplotami, zatímco v říjnu končí vegetační sezóna a dochází k odumírání rostlinné biomasy. Odběr půdních vzorků se prováděl pomocí ručních sondýrek o průměru 10 cm do hloubky 20 cm. Půdy byly následně ručně zhomogenizovány, zbaveny kamenů větších než 2 cm a uloženy ve 4°C do následných analýz.

3.3 Stanovení suché hmotnosti půdy

Všechny sledované parametry je nutné vyjádřit na suchou hmotnost půdy tak, aby bylo možné srovnat charakteristiky různě vlhkých půd. Sušina je bezrozměrné číslo, které udává suchou hmotnost půdy na 1 g půdy čerstvé. Při stanovení suché hmotnosti půdy se postupuje následujícím způsobem: na váženku (hliníková miska), která byla předem zvážena, se odměří lžíce čerstvé půdy a poté se opět zváží, následně se vzorek půdy ve váženke nechá vysušit v sušičce při teplotě 105°C po dobu 24 hodin, vysušený vzorek se pak opět zváží a z následujícího vztahu zjistíme výslednou sušinu:

$$\text{sušina} = \frac{m_s - m_{va}}{m_v - m_{va}}$$

m_ssuchá půda (g)

m_vvlhká půda (g)

m_{va}hmotnost váženky (g)

3.4 Stanovení koncentrace dusičnanových a amonných iontů

Následující den po odběru byly půdy naváženy (10 g půdy) do 120 ml skleněných uzavíratelných lahvíček, které byly utěsněny gumovými zátkami a vloženy do inkubátoru o teplotě 15°C. Každá varianta půdy byla navážena ve čtyřech opakováních (dvě pro čas T1 a dvě pro čas T2). Po týdenní inkubaci, kdy došlo k ustálení podmínek v půdě po navážení a změně teploty, proběhla extrakce NO_3^- a NH_4^+ v čase T1. Pro stanovení rychlosti čisté nitrifikace byla použita týdenní aerobní inkubace, po níž proběhla další extrakce NO_3^- v čase T2.

Extrakce dostupných dusičnanů a amonných iontů z půdy byla provedena následovně. Do inkubovaných půdních vzorků ve skleněné lahvičce bylo dávkovačem přidáno 40 ml 0,5 M K_2SO_4 , který byl předem připraven. Takto připravené lahvičky se pak následně nechaly třepat na horizontálním třepacím zařízení po dobu 60-ti minut při 200 otáčkách za minutu. Vytřepané vzorky se přelily do centrifugačních plastových zkumavek o objemu 50 ml a nechaly se odstředovat v centrifuze po dobu 10-ti minut při 4000 otáčkách za minutu. Zcentrifugované vzorky se pod tlakem přefiltrovaly přes skleněné filtry a nechaly se ve 20 ml plastových viálkách zamrazit. Koncentrace NO_3^- v extraktech byla stanovena spektrofotometricky pomocí automatického analyzátoru FIA (Flow Injection Analyzer, FIA Lachat QC8500, Lachat Instruments, USA).

Koncentrace dostupných iontů NO_3^- ve vzorku půdy se vypočítá ze vztahu:

$$C = \frac{(c \text{ NO}_3 - \text{blank}) \times ((1 - \text{sušina}) \times m) + V}{m \times \text{sušina}} \quad [\mu\text{g N/g suché půdy}]$$

blank.....koncentrace dusičnanů v extrakčním roztoku (mg/l)

c NO₃.....koncentrace dusičnanů v půdním extraktu (mg/l)

m.....hmotnost navážky půdy (g)

sušina.....podíl suché půdy v 1 g čerstvého vzorku

V.....objem extrakčního činidla (ml)

Koncentrace dostupných iontů NH_4^+ ve vzorku půdy se vypočítá ze vztahu:

$$C = \frac{(c \text{ NH}_4 - \text{blank}) \times ((1 - \text{sušina}) \times m) + V}{m \times \text{sušina}} \quad [\mu\text{g N/g suché půdy}]$$

blank.....koncentrace amonných iontů v extrakčním roztoku (mg/l)

c NH₄.....koncentrace amonných iontů v půdním extraktu (mg/l)

m.....hmotnost navážky půdy (g)

sušina.....podíl suché půdy v 1 g čerstvého vzorku

V.....objem extrakčního činidla (ml)

3.5 Stanovení rychlosti čisté nitrifikace

Rychlost čisté nitrifikace, tedy rychlost, se kterou přibývají dostupné dusičnany v půdě, se vypočítá z rozdílů koncentrací dusičnanů extrahovaných z půdy v časech T2 a T1, dělené inkubační dobou. Z tohoto vztahu lze odvodit průměrnou rychlost procesu, tedy množství dusičnanů vytvořených za den.

$$r = \frac{T2 - T1}{ID} \quad [\mu\text{g/g/den}]$$

T1.....koncentrace dusičnanů v čase T1 (μg/g)

T2.....koncentrace dusičnanů v čase T2 (μg/g)

ID.....inkubační doba (dny)

Je nutno zdůraznit, že v našem experimentu bude měřena pouze čistá nitrifikace. Pokud bychom měřili hrubou nitrifikaci, vypovídala by o skutečné rychlosti přeměny NH_4^+ na NO_3^- . Čistá nitrifikace představuje viditelný výsledek procesů přeměn dusíku v ekosystému. Hodnoty rychlostí čisté nitrifikace tedy vypovídají o potenciálním množství dusičnanů, které se může z půdy vyplavovat do povrchových a podzemních vod.

3.6 Statistické vyhodnocení výsledků

Statistické hodnocení dat bylo provedeno v programu STATISTICA for Windows 10.0 (Statsoft Inc.). Pro vyhodnocení koncentrací dusičnanových a amonných iontů a jednotlivých vlivů ovlivňujících rychlost nitrifikace byl použit jednofaktorový a vícefaktorový test analýzy variance (Factorial ANOVA). Byl sledován vliv hnojení, přítomnosti vegetace a vlhkosti půdy a interakce těchto faktorů. Hladina významnosti α byla stanovena na 0,05.

Grafy statistických ukazatelů byly vytvořeny v programu STATISTICA for Windows 10.0 (Statsoft Inc.) a grafy znázorňující proměnlivost rychlosti nitrifikace v tabulkovém procesoru Microsoft Office Excel 2007.

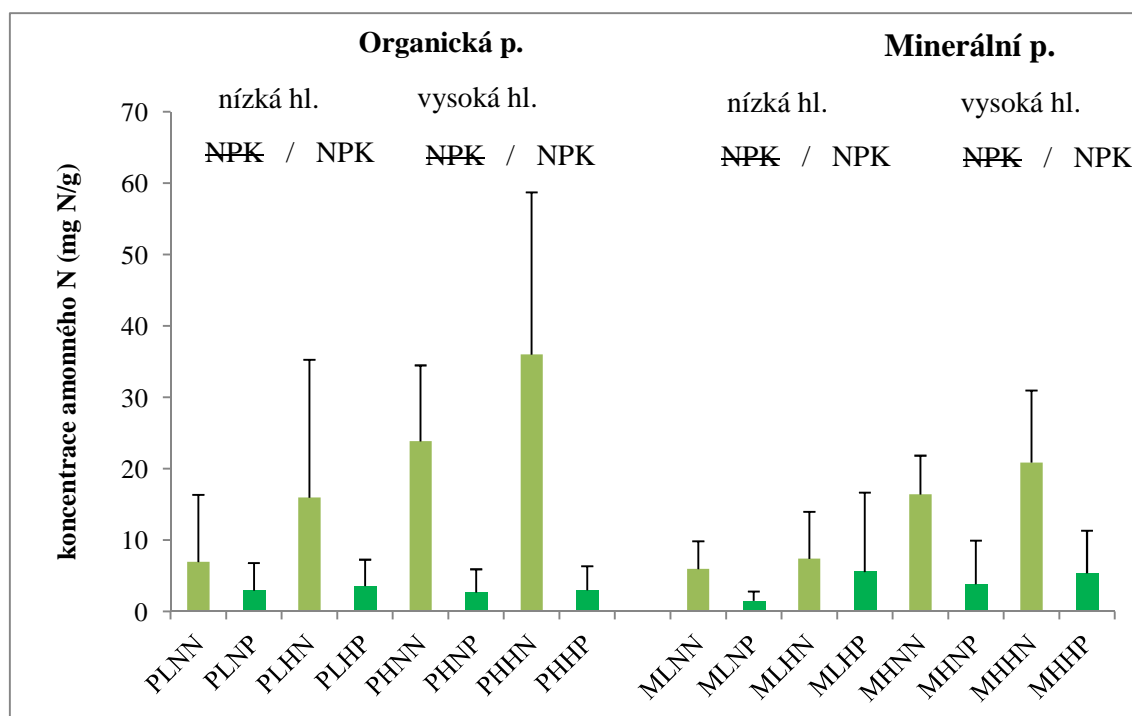
4. Výsledky

4.1 Koncentrace amonného N v půdách po odběru

Amonný N je substrátem pro nitrifikátory a jeho koncentrace v půdě může ukazovat na možnou rychlost nitrifikace.

Koncentrace amonného N byla v průměru vyšší v organické než v minerální půdě (obrázek 6). Všechny sledované faktory (přítomnost rostliny, výška vodní hladiny a hnojení) ovlivnily více organickou než minerální půdu, avšak trendy byly v obou půdách podobné. Pro obě půdy pak byla vždy vyšší průměrná koncentrace amonného N v půdách bez přítomnosti rostlin než s rostlinami ($p < 0,001$), v půdách saturovaných vodou oproti půdám s nižší vodní hladinou ($p < 0,001$) a v hnojených půdách oproti nehnojeným ($p < 0,05$) (obrázek 6).

Nejvyšších koncentrací amonného N tak v obou půdách bylo dosaženo v hnojených variantách bez rostlin, s vysokou hladinou vody (obrázek 6).



Obr. 6. Průměrná koncentrace amonného dusíku v organické a minerální půdě, ovlivněné rozdílnou hladinou vody, přítomností rostlin a hnojením v roce 2013. Udán je vždy průměr a směrodatná odchylka ($n=16$).

Koncentrace amonného N se výrazně měnily v průběhu vegetační sezóny a největší vliv na jejich průběh měla přítomnost nebo nepřítomnost rostlin (tabulka 7).

Na jaře byly koncentrace ve všech variantách poměrně vyrovnané. V půdách s rostlinami během vegetační sezóny (květen–červenec) výrazně klesly a v říjnu došlo k jejich nárůstu. V půdách bez rostlin koncentrace amonného N ve vegetační sezóně stoupaly a dosáhly maxima v červenci a na podzim došlo k jejich poklesu (tabulka 7).

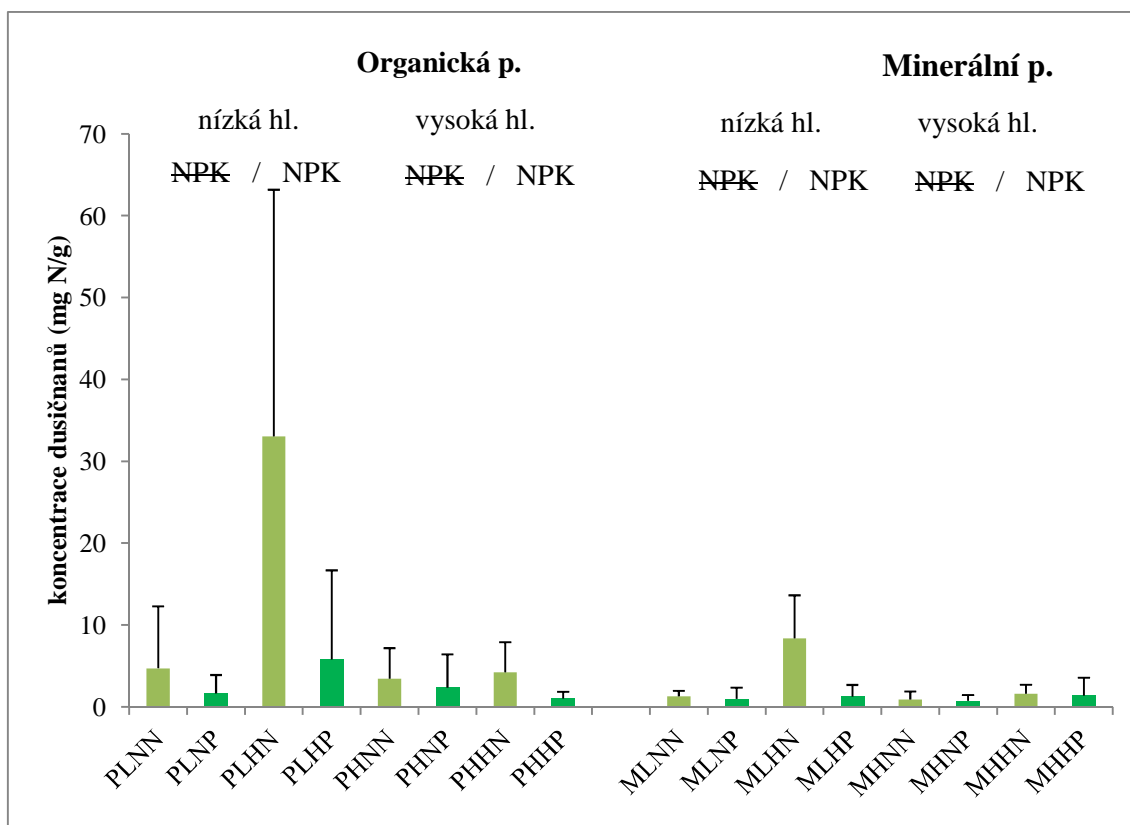
Tabulka 7. Koncentrace amonného N (mg N/g půdy) v průběhu vegetační sezóny 2013 v organické a minerální půdě, ovlivněné rozdílnou hladinou vody, přítomností rostlin a hnojením v roce 2013. Udán je vždy průměr (n=4).

Půda	hladina	hnojení	rostlina	kód	březen	květen	červenec	říjen
organická	nízká	N	P	PLNN	10,72	0,29	14,61	3,11
				PLNP	10,09	0,24	0,31	3,07
		F	P	PLHN	11,07	17,45	32,31	3,14
				PLHP	8,93	1,41	0,52	3,53
	vysoká	N	P	PHNN	25,02	18,30	35,71	16,49
				PHNP	7,89	0,27	0,09	2,66
		F	P	PHHN	13,51	30,18	66,43	33,98
				PHHP	8,03	0,15	0,15	3,78
minerální	nízká	N	P	MLNN	9,30	1,82	6,15	6,61
				MLNP	3,38	0,15	0,44	2,10
		F	P	MLHN	5,50	9,68	10,37	4,02
				MLHP	5,01	0,16	1,50	21,68
	vysoká	N	P	MHNN	15,47	15,81	19,34	15,03
				MHNP	11,74	0,31	0,38	2,99
		F	P	MHHN	13,11	16,01	32,56	21,88
				MHHP	12,84	0,26	5,52	2,94

4.2 Koncentrace dusičnanového N v půdách po odběru

Dusičnanový N je konečným produktem nitrifikátorů. Pokud není spotřebován organismy, pak zůstává v půdě a může z ní být vyplaven. Jeho koncentrace v půdě je výsledkem čisté nitrifikace v přírodních podmínkách.

Podobně jako v případě amonného N byla i u dusičnanů vyšší koncentrace nalezena v organické než v minerální půdě a v této půdě byly také nalezeny větší rozdíly mezi jednotlivými variantami (obrázek 7). V porovnání s koncentracemi amonného N byly ale koncentrace dusičnanů většinou nižší.



Obr. 7. Průměrná koncentrace dusičnanového dusíku v organické a minerální půdě, ovlivněné rozdílnou hladinou vody, přítomností rostlin a hnojením v roce 2013. Udán je vždy průměr a směrodatná odchylka (n=16).

V obou půdách byla průměrná koncentrace dusičnanů vyšší ve variantách bez rostlin než s rostlinami ($p < 0,001$), v půdách s nižší vodní hladinou oproti půdám saturovaným vodou ($p < 0,05$), a v půdách hnojených, a to zejména ve variantách s nízkou vodní hladinou ($p < 0,001$).

Nejvyšší koncentrace dusičnanového N v obou půdách byla nalezena ve hnojených variantách bez rostlin, s nízkou vodní hladinou (obrázek 7).

Během vegetační sezóny se koncentrace dusičnanového N významně měnily a největší vliv na jejich průběh měla opět přítomnost nebo nepřítomnost rostlin, ale také výška vodní hladiny (tabulka 8). V přítomnosti rostlin byla koncentrace dusičnanů udržována na nízkých hodnotách až do října nezávisle na výšce vodní hladiny, pouze na jaře byly zaznamenány vyšší hodnoty. V půdách bez rostlin s nízkou vodní hladinou koncentrace dusičnanů v sezóně narůstala, s maximy většinou v období května až července. V půdách bez rostlin s vysokou vodní hladinou byly koncentrace dusičnanů výrazně nižší (tabulka 8).

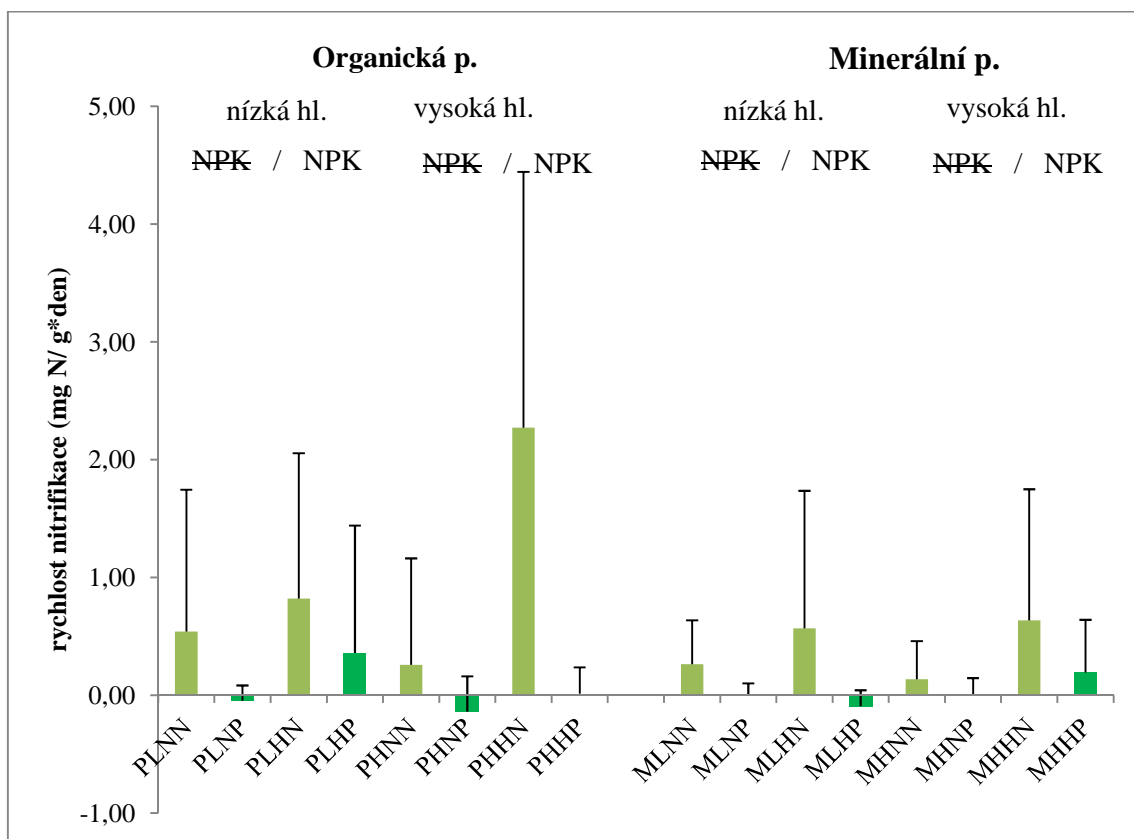
Tabulka 8. Koncentrace dusičnanového N (mg N/g půdy) v průběhu vegetační sezóny 2013 v organické a minerální půdě, ovlivněné rozdílnou hladinou vody, přítomností rostlin a hnojením v roce 2013. Udán je vždy průměr (n=4).

Půda	hladina	hnojení	rostlina	kód	březen	květen	červenec	říjen
organická	nízká	N		PLNN	1,35	2,27	12,76	2,46
			P	PLNP	5,69	0,41	0,49	1,01
		F		PLHN	5,11	69,47	50,07	7,54
			P	PLHP	17,82	3,59	0,41	1,31
	vysoká	N		PHNN	1,85	1,93	1,35	8,63
			P	PHNP	7,75	0,35	0,35	0,96
		F		PHHN	4,32	7,51	2,08	3,04
			P	PHHP	2,52	0,20	0,39	1,32
minerální	nízká	N		MLNN	1,16	0,62	1,25	2,08
			P	MLNP	2,80	0,21	0,22	0,58
		F		MLHN	4,35	8,45	14,58	6,11
			P	MLHP	2,80	0,18	1,30	0,64
	vysoká	N		MHNN	0,61	0,40	0,34	2,31
			P	MHNP	1,61	0,16	0,23	0,94
		F		MHHN	2,12	1,51	0,66	2,14
			P	MHHP	4,16	0,20	0,35	0,81

4.3 Rychlost čisté nitrifikace

Průměrná rychlost čisté nitrifikace byla obecně vyšší v organické než v minerální půdě (obrázek 8). V obou půdách se však výrazně měnila v závislosti na působících vlivech od pozitivní čisté nitrifikace, která značí vznik a hromadění dusičnanů v půdě

během laboratorní inkubace, až po zápornou čistou nitrifikaci, která ukazuje, že dusičnany byly během inkubace spotřebovány (obrázek 8).



Obr. 8. Průměrná rychlost čisté nitrifikace v organické a minerální půdě, ovlivněné rozdílnou hladinou vody, přítomností rostlin a hnojením v roce 2013. Udán je vždy průměr a směrodatná odchylka (n=16).

Rychlosti čisté nitrifikace se měnily v závislosti na sezóně, s nízkými až zápornými hodnotami na začátku a konci vegetační sezóny, v březnu a říjnu, a vyššími hodnotami v období květen – červenec (tabulka 9).

Vliv jednotlivých faktorů a jejich interakcí na čistou rychlost nitrifikace je popsán v následujících kapitolách.

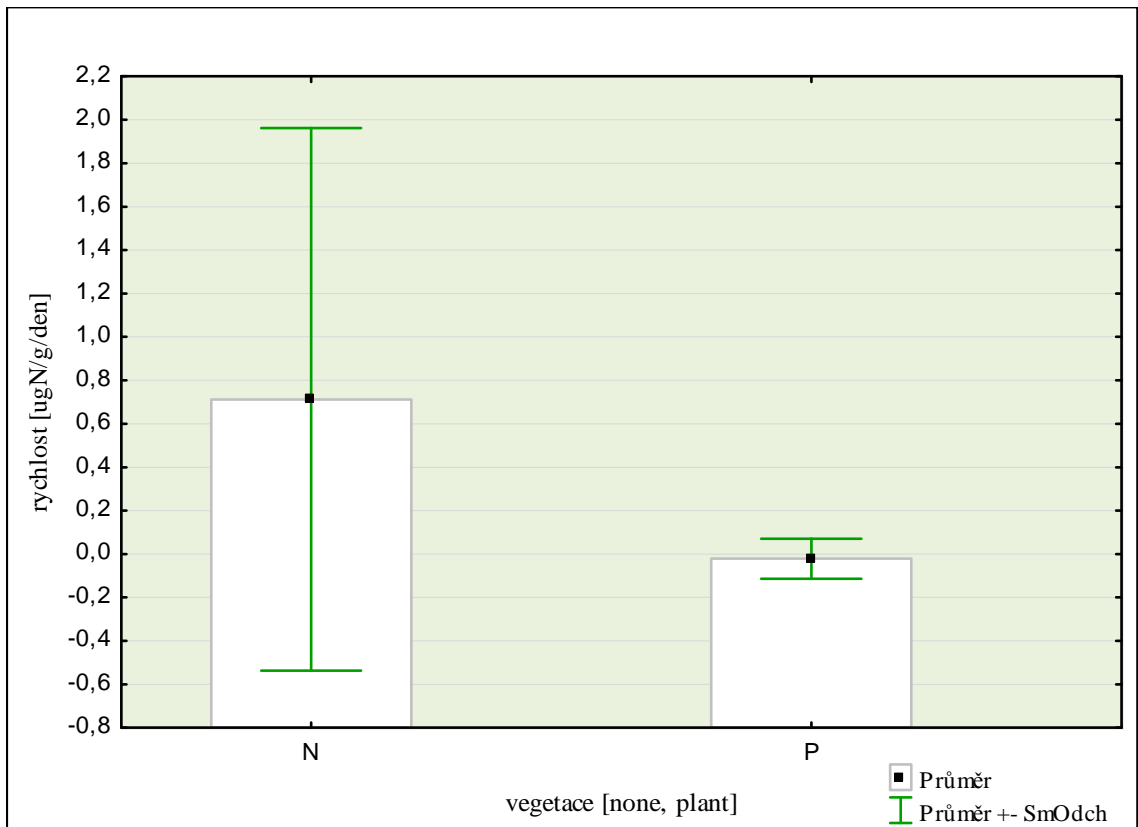
Tabulka 9. Rychlosti čisté nitrifikace (mg N/g půdy) v průběhu vegetační sezóny 2013 v organické a minerální půdě, ovlivněné rozdílnou hladinou vody, přítomností rostlin a hnojením v roce 2013. Udán je vždy průměr (n=4).

Půda	hladina	hnojení	rostlina	kód	březen	květen	červenec	říjen
organická	nízká	N	P	PLNN	0,18	0,14	1,90	-0,05
				PLNP	-0,23	0,02	0,07	-0,05
		F	P	PLHN	-0,23	2,21	1,08	0,21
				PLHP	1,36	-0,03	0,03	-0,09
	vysoká	N	P	PHNN	-0,10	1,47	0,36	-0,70
				PHNP	-0,56	0,04	0,02	-0,06
		F	P	PHHN	0,64	4,23	2,78	1,44
				PHHP	0,06	0,05	0,01	-0,07
minerální	nízká	N	P	MLNN	0,01	0,13	0,70	0,21
				MLNP	0,02	0,02	0,00	-0,03
		F	P	MLHN	-0,25	1,76	1,05	-0,30
				MLHP	-0,22	0,02	-0,12	-0,05
	vysoká	N	P	MHNN	0,01	0,04	0,06	0,44
				MHNP	0,01	0,02	0,01	-0,05
		F	P	MHHN	-0,20	0,23	1,59	0,91
				MHHP	0,53	0,03	0,08	-0,05

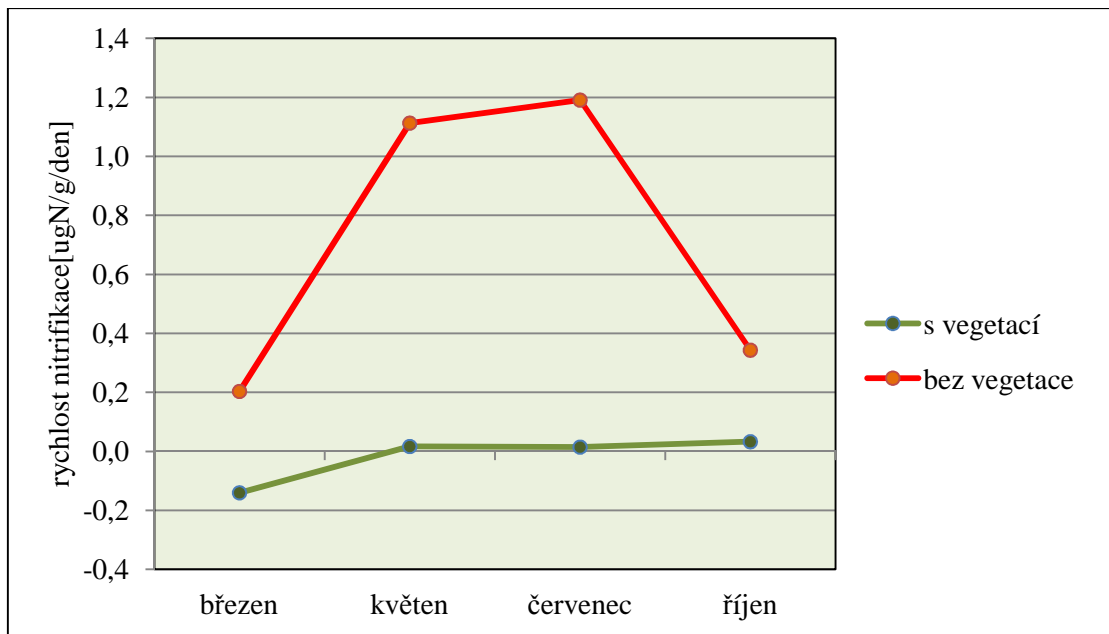
4.4 Vliv vegetace

Největší vliv na rychlost čisté nitrifikace má přítomnost vegetace, kdy v půdách bez vegetace je rychlost čisté nitrifikace výrazně vyšší než v půdách bez rostlin (obrázek 9). Tento vliv je vysoce průkazný ($p < 0,001$). Zatímco u půd s vegetací byla průměrná rychlost čisté nitrifikace blízka nule, u půd bez vegetace byla průměrná rychlost nitrifikace pozitivní a také více proměnlivá (obrázek 9).

Přítomnost vegetace výrazně ovlivnila i změny v rychlosti nitrifikace v průběhu sezóny. Zatímco v půdách s vegetací dochází pouze k malým změnám v rychlosti nitrifikace, kdy v březnu je mírně záporná a potom v průběhu sezóny blízka nule, v půdách bez vegetace je patrný jasný sezónní trend, kdy nitrifikace z nízkých jarních hodnot výrazně stoupá v letních měsících a na podzim opět klesá (obrázek 10).



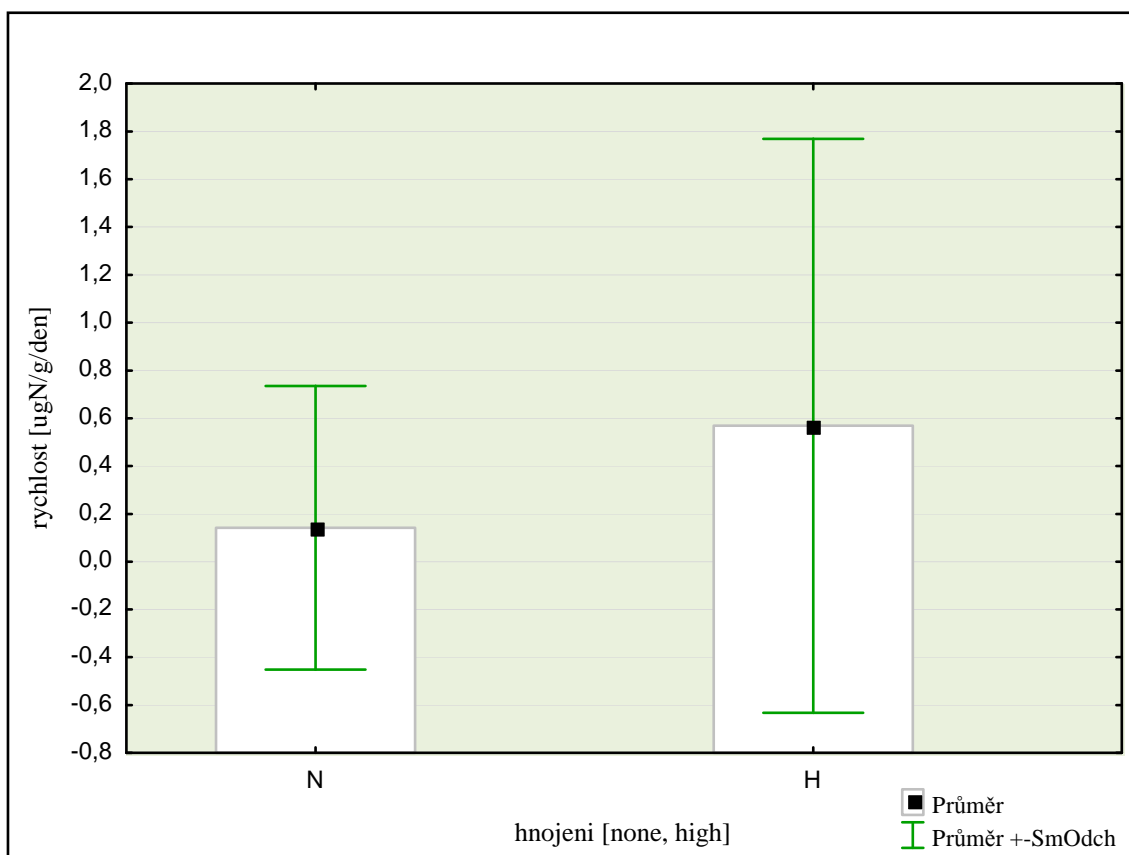
Obr. 9. Rychlost čistě nitrifikace v závislosti na přítomnosti vegetace



Obr. 10. Rychlost nitrifikace v průběhu vegetační sezóny pro půdy s vegetací a bez vegetace

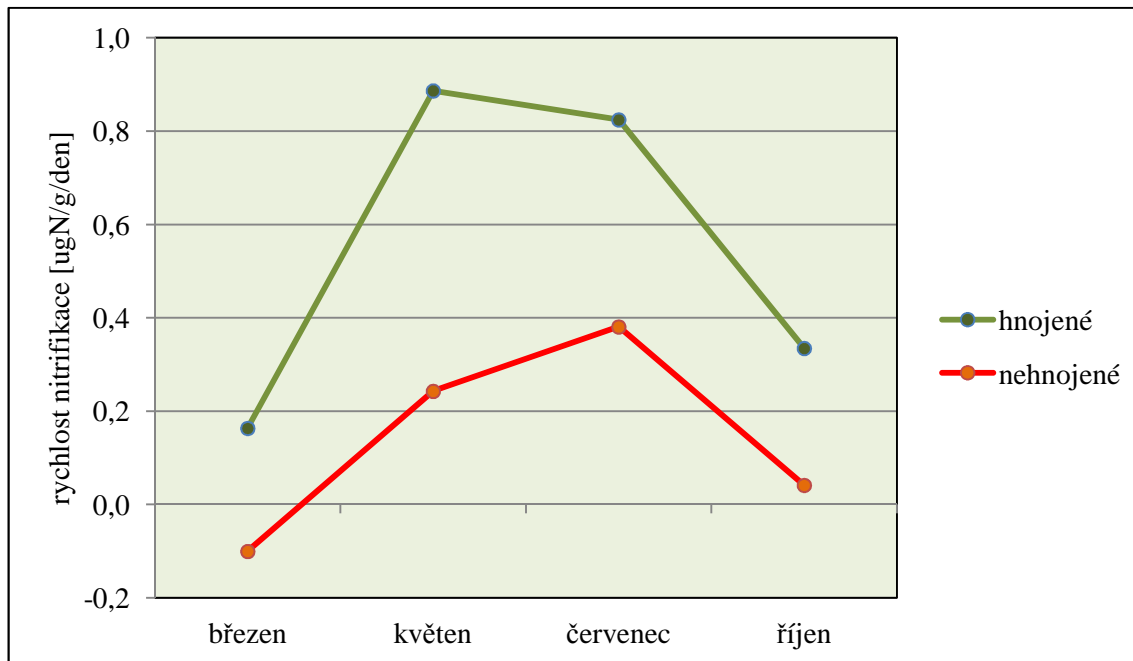
4.5 Vliv hnojení

Hnojení NPK hnojivem vedlo ke zvýšení rychlosti čisté nitrifikace a tento jev je průkazný ($p < 0,001$). Průměrná rychlost nitrifikace u hnojených půd byla $0,57 \pm 1,20$ $\mu\text{gN/g/den}$, zatímco u nehnojených půd byla až čtyřikrát nižší (obrázek 11).



Obr. 11. Rychlost nitrifikace v závislosti na hnojení

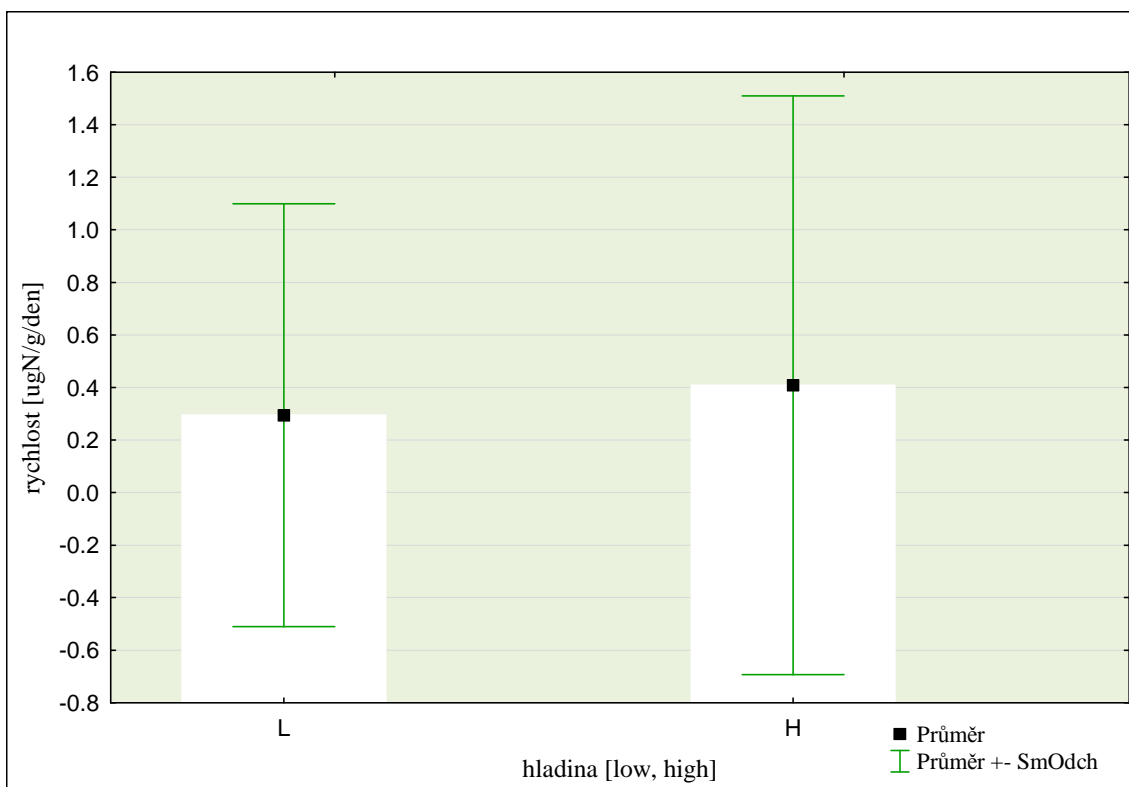
V hnojených i nehnojených půdách byly nejnižší hodnoty nitrifikace zaznamenány na jaře, významně stoupaly v letních měsících a poklesly na podzim. V hnojených půdách byl ale letní nárůst rychlostí nitrifikace výraznější než v nehnojených (obrázek 12).



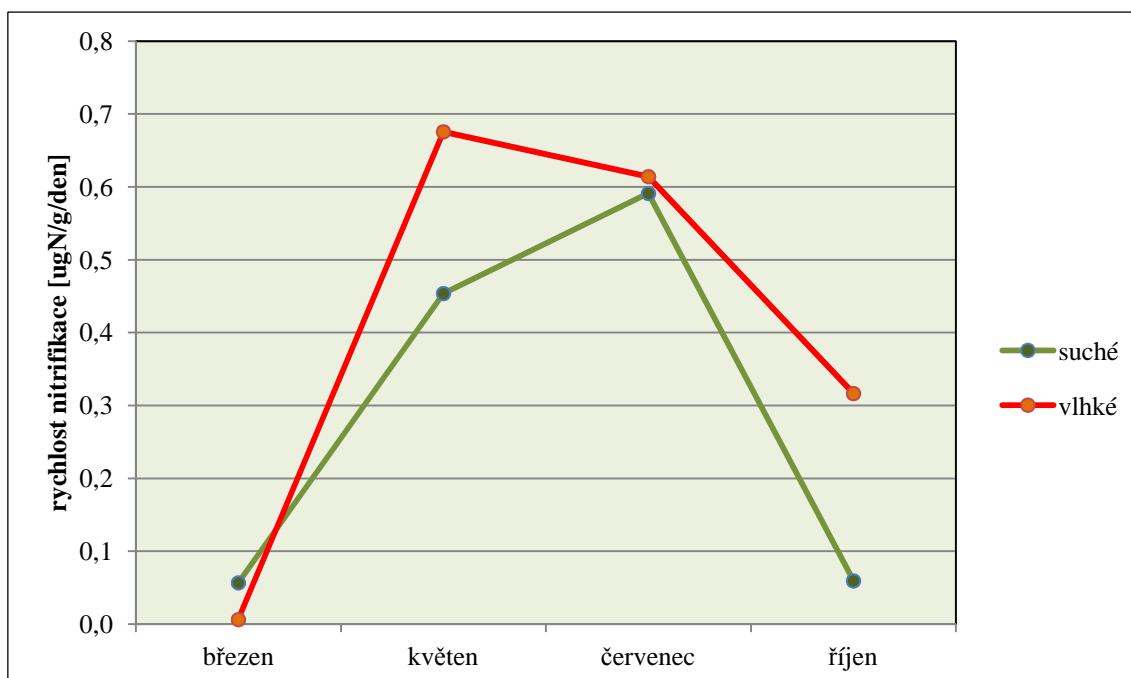
Obr. 12. Rychlost nitrifikace v průběhu vegetační sezóny pro hnojené a nehnojené půdy

4.6 Vliv vlhkosti půdy

Výška vodní hladiny průkazně neovlivnila rychlost čisté nitrifikace v půdách. Překvapivě jsou ale hodnoty rychlosti nitrifikace u vlhkých půd nepatrně vyšší než u sušších půd (obrázek 13). Obě varianty půd mají také podobný sezónní průběh nitrifikace (obrázek 14).



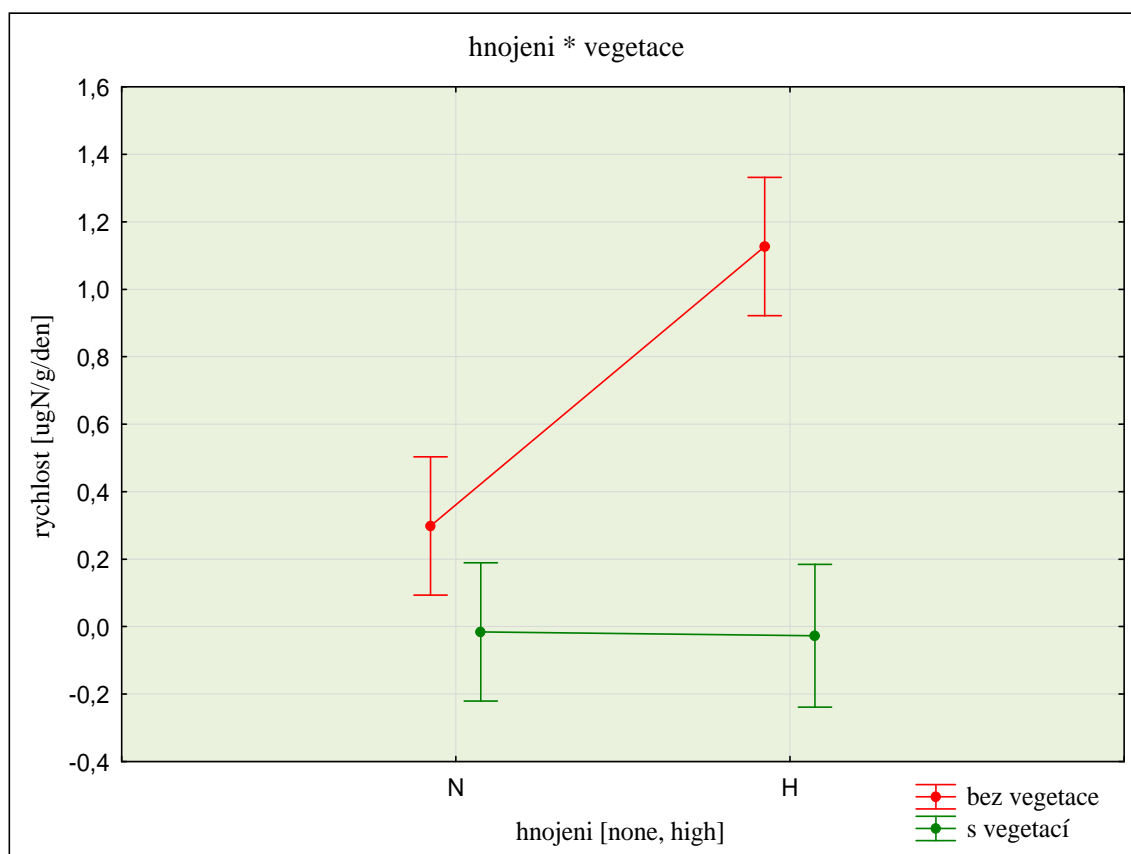
Obr. 13. Rychlost nitrifikace v závislosti na vlhkosti půdy



Obr. 14. Rychlost nitrifikace v průběhu vegetační sezóny pro suché a vlhké půdy

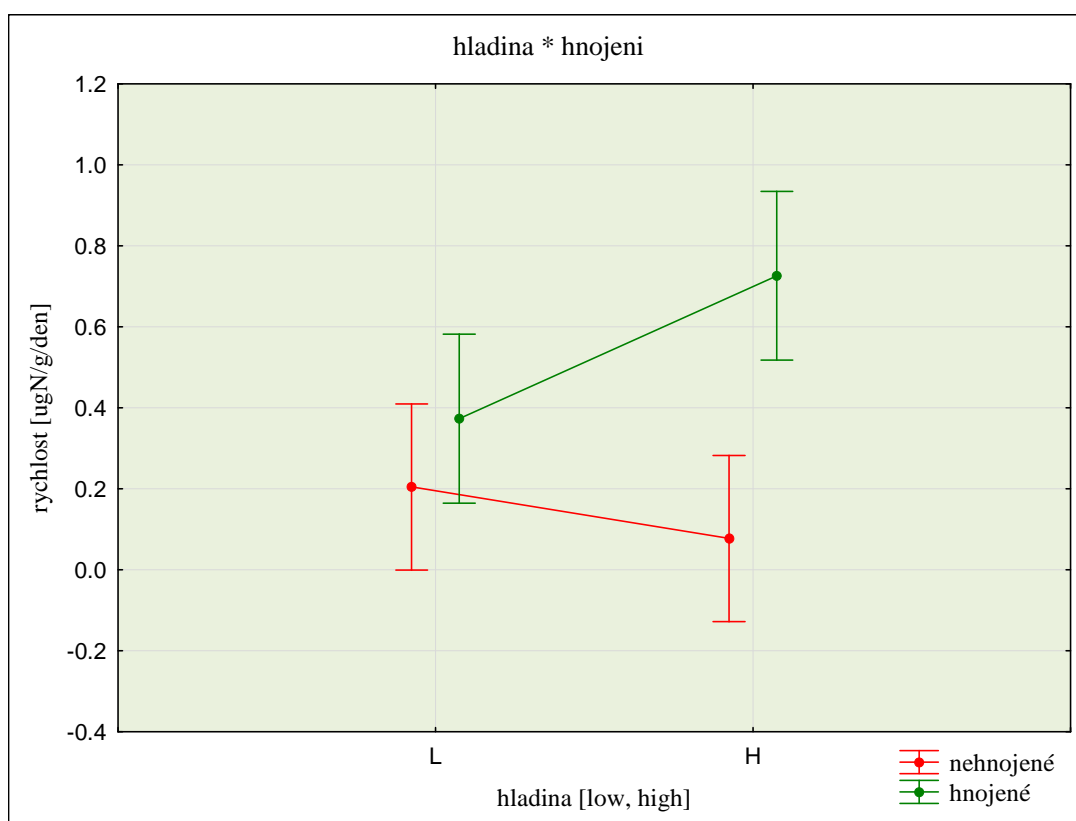
4.7 Vzájemný vliv hnojení, vegetace a vlhkosti půdy

Ze vzájemných kombinací faktorů byla statisticky významná kombinace hnojení a přítomnosti vegetace ($p < 0,001$), kdy přítomnost vegetace snižuje vliv hnojení. V hnojených půdách s vegetací pak nedochází k nárůstu rychlosti nitrifikace na rozdíl od hnojených půd bez vegetace (obrázek 15).



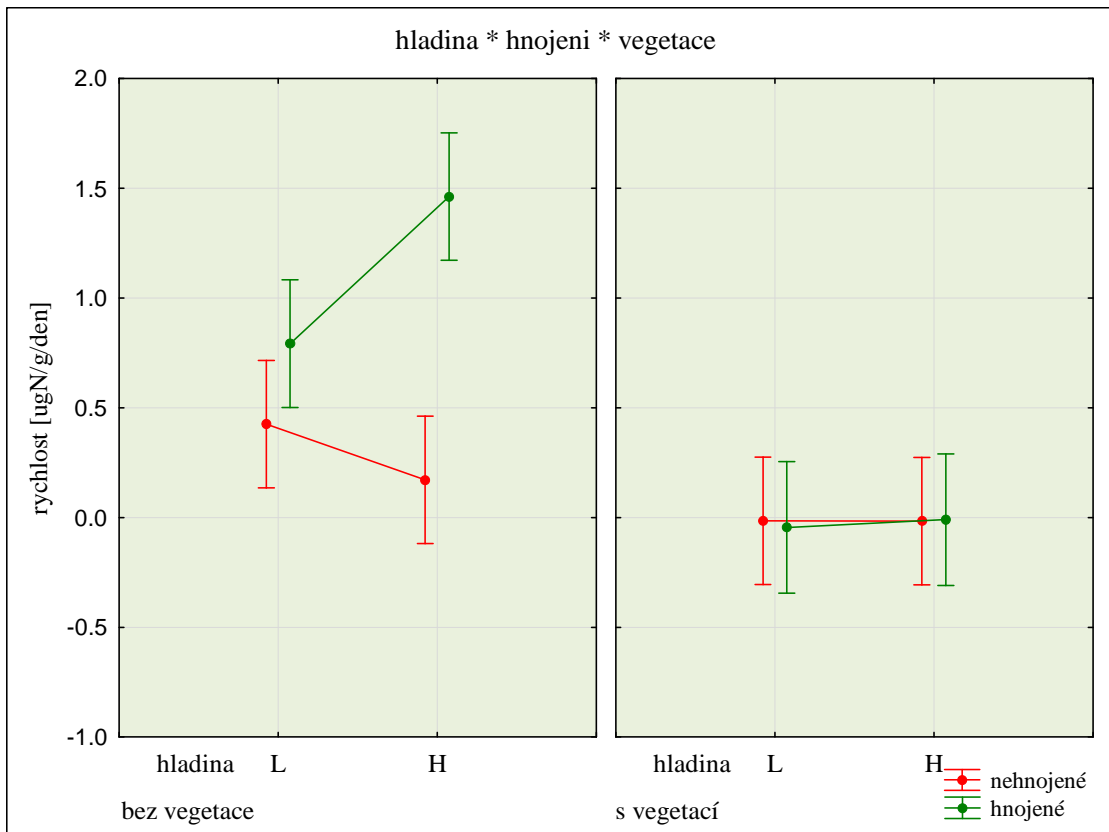
Obr. 15. Rychlost nitrifikace v závislosti na hnojení a přítomnosti vegetace

Také vliv interakce hnojení a vlhkosti půdy na rychlost nitrifikace je průkazný ($p < 0,05$), kdy hnojení způsobuje výraznější zvýšení rychlosti nitrifikace v půdách saturovaných vodou než v sušších půdách (obrázek 16).



Obr. 16. Rychlost nitrifikace v závislosti na vlhkosti půdy a hnojení

Průkazné bylo rovněž vzájemné působení všech tří sledovaných faktorů ($p < 0,05$), kde je patrné, že přítomnost vegetace má mnohem výraznější vliv na rychlost nitrifikace než oba další faktory. V přítomnosti vegetace jsou rychlosti nitrifikace srovnatelné nezávisle na aplikaci hnojiva nebo rozdílné výšce vodní hladiny (obr. 17). Nitrifikace se zvyšující se vlhkostí klesá. U hnojených půd bez vegetace rychlost nitrifikace naopak se zvyšující se vlhkostí stoupá.



Obr. 17. Rychlost nitrifikace v závislosti na vlhkosti půdy, hnojení a přítomnosti vegetace

5. Diskuze

5.1 Vliv hnojení na rychlost nitrifikace

Aplikace NPK hnojiva vedla k výraznému zvýšení koncentrací amonného i dusičnanového dusíku v půdě. Vedle samotného hnojiva, které obsahuje obě formy dusíku, je podle našich měření dalším zdrojem dusičnanů zvýšená nitrifikace a pravděpodobně také zvýšená dekompozice organické hmoty, produkující amonný dusík, který je zdrojem pro nitrifikátory. Urychlení procesů přeměn N vlivem hnojení je známo (56; 49). V důsledku přebytku dusíku v půdě je dominantním procesem přeměny dusíku ve hnojených půdách nitrifikace (49). Ze zvýšených koncentrací amonného i dusičnanového dusíku v hnojené půdě je zřejmé, že dusík z hnojiva a zrychlených přeměn N nedokážou půdní mikroorganismy a rostliny dobře využít a vzrůstá riziko jeho vyplavování do vod. Efektivita využívání dusíkatých hnojiv rostlinami je poměrně nízká. Existuje několik experimentů, které ukazují, že obilí je schopné využívat průměrně pouze 51 % hnojiva, které bylo do půdy aplikováno. (8) Jsou zaznamenány případy, kdy velké přehnojování půdy vedlo k následnému masivnímu vyplavování NO_3^- do spodních a povrchových vod. Často docházelo až k 90% ztrátám aplikovaného hnojiva. (26)

Obecně se vyšší koncentrace dusičnanů v půdě vyskytují zejména na pozdním jaře a počátkem léta, kdy dochází k aplikaci hnojiv v agrosystémech a rostliny nestačí živiny spotřebovávat. (56)

5.2 Vliv vegetace na rychlost nitrifikace

Byl jednoznačně prokázán přímý vliv přítomnosti vegetace na koncentrace amonného i dusičnanového dusíku v půdě a na rychlost nitrifikace v půdě. Rostliny potřebují pro svůj růst velké množství dusíku, který čerpají z půdy a imobilizují ve své biomase během vegetační sezóny (15). Rostliny mohou přijímat dusík především ve formě NH_4^+ , NO_3^- a některé i velmi jednoduché organické látky (56). Přítomnost rostlin tak snižuje koncentraci minerálních forem dusíku v půdě oproti půdám bez vegetace, jak bylo v našem experimentu zjištěno pro dusičnanový i amonný dusík. Také

průměrné rychlosti čisté nitrifikace jsou v půdách s vegetací nižší a méně proměnlivé než v půdách bez vegetace.

Vliv vegetace na procesy přeměny dusíku a koncentrace minerálního N v půdě je sezónní. Na počátku vegetační sezóny, ještě před tím, než rostliny začnou růst a spotřebovávají dusík z půdy, byla koncentrace minerálního N v půdě s vegetací vysoká. To je způsobeno tím, že od podzimu do jara dochází pouze k rozkladu rostlinného opadu a uvolňování minerálního N do půdy, kde se hromadí. S tímto faktem roste i potenciaální riziko vyplavování dusičnanů do spodních a povrchových vod, protože dusičnany přítomné v půdě nemohou být v tu dobu vegetací odčerpávány (51). V teplých letních měsících dochází sice k nárůstu rychlosti čisté nitrifikace, jak potvrzují naše výsledky, ale také k maximální rychlosti růstu rostlin. Vrcholí vegetační aktivita a rostliny spotřebovávají nejvíce živin. Dusík přijatý rostlinami je pak nezastupitelným prvkem v metabolických procesech, buněčných strukturách i genetickém materiálu těchto rostlin (56). Koncentrace dusičnanů v půdách je nízká a riziko jeho vyplavení z půdy s vegetací výrazně klesá. Nejvíce vyluhovaných dusičnanů v podzemních vodách z půdy proto bývá v mimovegetačním období, tedy v zimě a na jaře při tání sněhu a deštích. Naopak v létě, kdy vrcholí vegetační období, jsou dusičnany odčerpávány vegetací. Nedochozí tak k nadměrným koncentracím NO_3^- v půdě a následnému vyplavování do povrchových a podzemních vod (38).

Dalším obdobím rizikovým pro vyplavování dusičnanů z půdy je podzim. Naše výsledky ukazují, že rychlosti čisté nitrifikace sice klesají, ale koncentrace dusičnanů v půdách stoupá. Rostliny v tuto dobu již nerostou a neodčerpávají minerální dusík z půdy. Naopak jejich opad je rozkládán mikroorganismy a je dalším zdrojem dusíku v půdě.

Faktory, které souvisí s vlastnostmi rostlin a ovlivňují tak příjem živin těmito rostlinami jsou např. druh rostliny, délka vegetace nebo technologie pěstování plodin v zemědělství (12). Např. intenzivní opakované zemědělské pěstování rostlin, které jsou hnojené, mají krátké období růstu a mělce zakořeněné kořeny, přispívá k nízkému využití živin a jejich následnému vyluhování do spodních a povrchových vod (8). K takto rizikovým plodinám pěstovaným u nás patří např. kukuřice nebo řepka olejka.

5.3 Vliv vlhkosti půdy na rychlost nitrifikace

Průběh nitrifikace je ovlivňován obsahem vody a vzduchu v půdě. Nitrifikace je aerobní proces, při němž se spotřebovává kyslík. Nízká vlhkost půdy, tedy nízký obsah vody v půdě, představuje dobrou aeraci a dostupnost O_2 pro nitrifikační mikroorganismy (51). Vlhkost půdy však musí být dostatečná pro vytvoření roztoku s rozpuštěnými živinami a životní prostředí pro nitrifikátory a ostatní mikroorganismy (52).

Ve shodě s těmito fakty jsme našli vyšší koncentraci amonných iontů a nižší koncentraci dusičnanů v půdách saturovaných vodou než v půdě s nižší hladinou vody. To znamená, že v půdě saturované vodou se hromadí amonné ionty jako produkty rozkladu organické hmoty, ale kvůli převládajícímu anaerobnímu prostředí a nedostatku kyslíku téměř nedochází k jejich přeměně na nitráty (7). Amonný N není tak mobilní jako dusičnanový N a není tedy tak vysoké riziko jeho vyplavení z půdy (51). Mokřadní a jiné zaplavené půdy tedy nepřestávají významným zdrojem dusičnanů vyplavovaných do vod.

Při měření čisté nitrifikace v laboratoři jsme ale zjistili vyšší rychlost ve vodou saturovaných půdách než v sušších půdách, což je v rozporu s mojí hypotézou i nálezy přímo v mezokosmech. Vysvětlením je, že homogenizací půdy, která je před půdními analýzami běžně dělá a následnou inkubací v prostředí s přítomností kyslíku, jsme výrazně změnili podmínky ve vlhkých půdách. Při procesu homogenizace, kdy se z půdy odstraňovaly kořeny rostlin a kameny, došlo k provzdušnění půdy a půdní prostředí vzorků se tak stalo vhodným prostředím pro činnost aerobních nitrifikačních bakterií. Tyto půdy navíc obsahovaly vysoké koncentrace amonného N, která se zde hromadila z důvodu anoxie a který je zdrojem pro nitrifikaci. Tím jsme umožnili rychlý průběh nitrifikace.

Tento náš výsledek ukazuje, že mokřadní půdy jsou velmi citlivé ke kolísání vodní hladiny. Pokud je hladina vody vysoká a prostředí v půdě anaerobní, bude zde výrazně převládat amonný N s velmi malým podílem dusičnanů. Pokud ale bude hladina vody kolísat nebo půdy vyschnou, začne zde probíhat nitrifikace vysokou rychlostí kvůli velkým zásobám amonného N a půdy se pak mohou stát významným zdrojem

znečištění vod dusičnany (42). To také ukazuje, jak rizikové z hlediska znečištění vod může být například hnojení mokřých luk.

Ukázali jsme rovněž, že důležité je i vzájemné působení všech tří sledovaných faktorů. Obecně lze říci, že rychlost nitrifikace a tedy koncentrace dusičnanů v půdě s hnojením stoupá (49), s přítomností vegetace klesá (7) a s ubývající vlhkostí půdy stoupá (51). K nejrychlejší nitrifikaci by tedy mělo docházet ve hnojených sušších půdách bez vegetace. Tento fakt se shoduje s výsledky našeho výzkumu. Optimální zavlažování půdy, přiměřená aplikace hnojiv a vhodné načasování z hlediska růstu rostlin může snížit ztráty dusíku z půdy vyplavováním až na 5 % (8).

5.4 Další faktory ovlivňující rychlost nitrifikace

Naše výsledky dovolují alespoň částečně zhodnotit i vliv dalších důležitých faktorů, které ovlivňují rychlost nitrifikace, jsou to typ půdy a teplota půdy (51).

V mezokosmovém pokusu byly použity dva typy půdy, organická a minerální. V organických půdách je vyšší podíl organické hmoty než v půdách minerálních. Humifikace a mineralizace organického materiálu představuje zdroj živin pro mikrobiální společenstva, jejichž množství i aktivita s tímto faktem stoupají. V organických půdách je tedy veškerá aktivita půdních mikroorganismů včetně nitrifikačních bakterií zvýšena. (7) Toto tvrzení dokazuje fakt, že koncentrace minerálního dusíku a rychlosti nitrifikace byly průkazně vyšší v organické než v minerální půdě. Zároveň jsme zjistili, že všechny studované faktory (hnojení, přítomnost vegetace a výška vodní hladiny) měly výraznější vliv na koncentrace minerálního dusíku i rychlost nitrifikace v organické než v minerální půdě. To ukazuje, že organická půda je citlivější na možné změny v hospodaření, jako jsou aplikace hnojiv nebo změny ve vodním režimu. Takové zásahy provedené na organických půdách představují větší riziko pro vyplavování dusičnanů do vod.

Optimální teplota půdy pro činnost nitrifikačních bakterií se pohybuje mezi 25° a 30°. Při teplotách nižších než 5° stále k procesu nitrifikace dochází, je ovšem o mnoho pomalejší než při vyšších teplotách (8). Vliv teploty na rychlost nitrifikace jasně patrný

i na našich výsledcích. Obecně lze říci, že maximálních rychlostí bylo dosahováno ve všech variantách půdy v měsících květen a červenec, kdy byly teploty půdy výrazně vyšší než v ostatních měsících a došlo k namnožení půdních mikroorganismů a zvýšení jejich aktivity. Absolutního maxima rychlosti nitrifikace bylo dosaženo v červenci.

Dalším významným faktorem ovlivňujícím nitrifikaci je pH půdy (51). Aktivita nitrifikačních bakterií stoupá v půdách s pH 6,6 – 8, naopak v kyselých půdách s pH pod 4,5 nitrifikační aktivita klesá (15). Průměrné hodnoty pH zkoumaných půd se pohybovaly v průměru pH 5,7 ($\pm 0,42$) u všech variant půd, proto jsme nemohli vliv pH na rychlost nitrifikace hodnotit.

5.5 Zdravotní rizika dusíku

Dílčí cíl, jehož účelem bylo shrnout zdravotní problémy vyplývající z kontaminace vod dusíkem, který se tam dostává především vyplavováním z půdního prostředí, byl naplněn v teoretické části této práce.

Dusík a jeho riziková složka z hlediska působení na zdraví, dusičnanový dusík, je přirozenou složkou životního prostředí člověka. Lidé přicházejí do kontaktu s různými formami dusíku každý den. Dusík je součástí ovzduší, dusičnany se nachází ve vodě, která je lidmi využívána k pitným a rekreačním účelům, a v potravinách, především v rychlené zelenině a některém ovoci, do kterých se dusík zabudovává přímo z hnojených půd, nebo mase, sýrech a konzervách, do kterých jsou přidávány z technologických důvodů jako aditivum (11).

Eutrofizace, obohacování vod o živiny (zejména o dusičnany a fosforečnany), vede k porušení rovnováhy biologických a chemických cyklů ve vodách. Tato změna pak může vést ke změně jakosti těchto vod a následným specifickým zdravotním rizikům (62).

Voda kontaminovaná dusíkem (NO_3^-) představuje velké riziko zvláště pro malé děti, pro dospělé je riziko menší. Rizikem konzumace pitné vody s vyšším obsahem dusičnanů je vznik methemoglobinémie (především u malých kojenců) a vznik N-nitroso sloučenin, které vykazují karcinogenní a teratogenní účinky (61). I když jsou

nitrosaminy látky s prokázanou karcinogenitou u testovaných zvířat, epidemiologické studie uváděných dle WHO lidskou karcinogenitu dosud neprokazují (63). Dalšími možnými a též neprokázanými účinky dusičnanů jsou např. porucha funkce štítné žlázy, porucha srdce a mozku (11), nebo vznik reprodukčních a vývojových vad (36).

Při zvýšené nabídce živin (dusičnany, fosforečnany) ve vodním prostředí následkem eutrofizace se může zvýšit produkce sinic a řas (2). Sinice mohou produkovat cyanotoxiny vyvolávající několik skupin onemocnění, např. oslabení imunitního systému, malátnost a celková slabost, zvracení a zažívací potíže, kožní alergické reakce a kontaktní dermatitidy, respirační obtíže, porucha funkce ledvin, srdce a jater, karcinomy jater a další (33). Řasy našich vod neprodukují nebezpečné toxiny, ale svou přítomností zhoršují organoleptické vlastnosti těchto vod (41).

Jako preventivní opatření před specifickým působením eutrofizace životního prostředí na lidské zdraví jsou legislativně zavedeny určité limity. Evropská směrnice Nitrates Directive 91/676/EEC reguluje používání dusíkatých hnojiv, udává maximálně 170 kg na 1 hektar. Snaží se tak snižovat riziko vyplavování dusičnanů z půd, eutrofizaci vod a znehodnocování vodních zdrojů (40). Také výskyt sinic a organoleptické vlastnosti na veřejných přírodních koupalištích jsou sledovány. Hodnocení se provádí podle přílohy č. 4 vyhlášky č. 238/2011 Sb., o stanovení hygienických požadavků na koupaliště, sauny a hygienické limity písku v pískovištích venkovních hracích ploch, a výskyt sinic se dle této vyhlášky zařazuje do tří stupňů, přičemž 3. stupeň znamená masový výskyt silných příhladinových květů velkého rozsahu. Ministerstvo zdravotnictví ČR pak může na sledovaných veřejných přírodních koupalištích vydávat různá doporučení omezující či zakazující koupání (57). V ČR jsou stanoveny limity dusičnanů (50 mg/l) a dusitanů (0,5 mg/l) v pitné vodě (58), provozovatelé vodáren, vodovodů a veřejných studní jsou ze zákona povinni sledovat kvalitu vody pravidelnými rozbory vzorků vody (19), soukromým spotřebitelům vody z vlastních zdrojů (soukromá studna) se pravidelné rozbory vody doporučují (60). Dále jsou stanoveny limity dusičnanů pro listovou zeleninu dle ročního období (např. špenát 2000 – 3000 mg/kg, hlávkový salát 2500 – 4500 mg/kg, ledový salát 2000 – 2500 mg/kg) a nejvyšší povolené množství dusičnanů přidávaných do potravin jako aditivum,

které upravuje vyhláška č. 4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin (11).

Tato preventivní a omezující opatření, pokud jsou aplikována a dodržována, významně snižují riziko působení dusičnanů a s ním spojených negativních jevů – např. cyanotoxinů na lidské zdraví. Eutrofizace způsobená lidskou činností však významně zasahuje do fungování půdních i vodních ekosystémů tím, že mění a snižuje druhovou diverzitu organismů obývajících tato prostředí. Tím omezuje služby, které tyto systémy mohou člověku poskytovat, s čímž souvisí i velké ekonomické škody a náklady na odstraňování těchto negativních jevů. V důsledku pomnožení sinic a následné anoxie dochází k úhynu ryb a bezobratlých živočichů (9). Nebezpečné cyanotoxiny také způsobují smrtelné otravy volně žijících a hospodářských zvířat po požití vody obsahující sinice (48). Z rekreačních vod jsou s velkými finančními náklady odstraňovány vodní květy (Máchovo jezero, Brněnská přehrada) a jsou vynakládány velké finanční prostředky na výzkum a provedení omezení vlivů eutrofizace v celých povodích (Orlík apod.).

6. Závěr

Cílem této diplomové práce bylo sledování forem dusíku a jejich přeměn v modelovém lučním ekosystému (mezokosmový pokus) ovlivněném různou dávkou dusíkatého hnojení, různou vlhkostí půdy a přítomností či absencí vegetace. Dílčím cílem bylo shrnout zdravotní problémy vyplývající z kontaminace vod dusíkem. Zdravotní důsledky vyplavování dusičnanů z půdy do vod jsou uvedeny v literární rešerši této práce. Jedná se především o vznik methemoglobinémie, karcinogenních nitrosaminů a působení cyanotoxinů, které produkují namnožené sinice v eutrofních vodách. Teoretická část je zaměřena mimo zdravotních důsledků také na globální cyklus dusíku a cyklus dusíku v půdě.

Ve výzkumné části této práce jsou hodnoceny faktory, které ovlivňují rychlost nitrifikace a koncentrace dusičnanů v půdě. V průběhu vegetační sezóny roku 2013 byly čtyřikrát odebrány půdní vzorky z mezokosmového pokusu, které byly následně homogenizovány, inkubovány a analyzovány v laboratoři. Z naměřených hodnot pak byly vypočítány koncentrace NO_3^- , NH_4^+ , rychlosti čisté nitrifikace a odhadnuto potenciální nebezpečí vyplavování nitrátů do povrchových a spodních vod.

První hypotéza, která předpokládá, že hnojení zvyšuje rychlost nitrifikace a tím koncentraci dusičnanů v půdě, byla potvrzena. Vlivem hnojení jsou procesy přeměn dusíku urychlovány, přičemž je obecně ve hnojených půdách dominantním procesem nitrifikace. Zvýšenou koncentraci dusičnanových i amonných iontů ve hnojených půdách představují samotné produkty bakterií a především produkty aplikovaných dusíkatých hnojiv.

Druhá hypotéza, která tvrdí že, vegetace odebírá z půdy mobilní formy dusíku, tím snižuje rychlost nitrifikace, koncentraci dusičnanů v půdě a následné vyluhování N z půdy do spodních a povrchových vod, byla taktéž potvrzena. Absence vegetace představovala vhodné prostředí pro činnost nitrifikační bakterií, čímž se zvyšovala rychlost nitrifikace. Dusičnany a amonné ionty přítomné v půdách bez vegetace nemohou být vegetací spotřebovány, tím se jejich celková koncentrace v těchto půdách

zvyšuje. S tímto faktem roste i potenciaální riziko vyplavování dusičnanů do spodních a povrchových vod

Třetí hypotéza, která prohlašuje, že vysoká vodní hladina nastolí v půdě anaerobní prostředí, čímž se snižuje rychlost nitrifikace, nebyla potvrzena. Důvodem jsou neočekávaně vyšší koncentrace NO_3^- ve hnojených vlhkých půdách, které obecně zvedají průměrné rychlosti nitrifikace ve vlhkých půdách. Prekurzory nitrátů jsou amonné ionty, jejichž koncentrace byla očekávaně nejvyšší ve hnojených půdách s vysokou hladinou vody. Po provzdušnění těchto půd během homogenizace a aerobní inkubaci došlo ke změně podmínkám ve vzorcích a následné podpoře činnosti aerobních nitrifikačních bakterií. Vlhké a na živiny bohaté půdy jsou citlivé na kolísání hladiny vody a na časté střídání vlhka a sucha. Tento zásah jsme nechtěně simulovali při homogenizaci vzorků a dokázali, že hnojené vlhké půdy jsou zdrojem amoného dusíku a při kolísání vlhkosti v půdě se stávají významným zdrojem znečištění vod dusičnany.

I když nebyla předchozí hypotéza z vysvětlených důvodů potvrzena, má vzájemná kombinace všech tří sledovaných vlivů (hnojení, vegetace a vlhkost půdy) průkazný vliv na rychlost nitrifikace a poslední hypotéza, která předpokládá, že k nejrychlejší nitrifikaci dochází v půdním prostředí bez vegetace s aplikací hnojiva a s nízkou hladinou vody, byla potvrzena. Obecně lze říci, že rychlost nitrifikace s hnojením, s nepřítomností vegetace a s ubývajícím vlhkostí půdy stoupá.

Hnojení zvyšuje úrodnost půdy a výnosy nejen pro zemědělské podniky. Pokud chceme dosáhnout podpory růstu rostlin, měli bychom aplikovat takové množství hnojiva, které jsou mikroorganismy přítomné v půdě a rostliny schopné spotřebovat. Zavlažování by mělo být střídavé a takové, aby vytvořilo dostupný roztok s živinami pro kořeny rostlin, nikoliv aby vytvářelo v půdě anaerobní prostředí, ve kterém se pak hromadí NH_4^+ . Příjem živin rostlinami je ovlivněn druhem pěstované rostliny, vegetačním obdobím nebo hloubkou kořenů v půdě. Množství nespotřebovaných NO_3^- přítomných v půdě pak představuje riziko vyplavování těchto forem dusíku do podzemních a povrchových vod, které vede k následné eutrofizaci těchto vod a rizikům s eutrofizací spojených.

7. Seznam použité literatury

1. Asociace pro vodu v krajině České Republiky. *Technologická platforma pro udržitelné vodní zdroje*. Strategická výzkumná agenda. Praha: 2010. 100 s.
2. ADÁMEK, Z. *Aplikovaná hydrobiologie*. 2nd ed. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 2010. 350 s. ISBN: 978-80-87437-09-4
3. AMBROŽOVÁ, J. *Aplikovaná a technická hydrobiologie*. 2nd ed. Praha: VŠCHT, 2003. 226 s. ISBN: 80-7080-521-8
4. BALÍK, J., J. ČERNÝ AND M. KULHÁNEK. *Bilance dusíku v zemědělství (certifikovaná metodika)*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2012. 40 s. ISBN: 978-80-213-2329-2
5. BERNER, E. K. AND R. A. BERNER. *Global Environment: Water, Air, and Geochemical Cycles*. 2nd ed. New Jersey: Princeton University Press, 2012. 444 s. ISBN: 978-0-691-13678-3
6. BLÁHA, L., B. MARŠÁLEK AND P. BABICA. *Mechanismy toxicity cyanotoxinů a jejich vliv na zdraví obyvatel a vodní ekosystémy. Seminář „Cyanobakterie“ - 21. 1. 2004*. Brno: Botanický ústav AV ČR, 2004. 44-53 s. ISBN: 80-903203-8-4
7. BRADY, N. C. AND R. R. WEIL. *The Nature and Properties of Soil*. 14th ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2008. 965 s. ISBN: 0-13-016763-0
8. CAMERON, K. C., H. J. DI AND J. L. MOIR. Nitrogen losses from the soil/plant system: a review. *Annals of Applied Biology*. 2013, **162**(2), 145-173 p.
9. DAPHNE ČR. *Živiny v krajině*. České Budějovice: DAPHNE ČR - Institut aplikované ekologie, 2006. 16 s.
10. Fykologická laboratoř na katedře botaniky Přírodovědecké fakulty JU v Českých Budějovicích. Oddělení Euglenophyta. In: *Sinicearasy.cz* [online]. České Budějovice: Přírodovědecká fakulta JU, © 2003 - 2013 [cit. 6. 8. 2013]. Dostupné z www.sinicearasy.cz/134/Euglenophyta
11. FOREJT, M. Dusičnany v potravinách. *Medicína pro praxi*. 2008, **5**(9), 333-334 p.
12. HLUŠEK, J. *Základy výživy a hnojení zeleniny a ovocných kultur*. Praha: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR v Praze, 1996. 48 s. ISBN: 80-7105-111-X

13. HRDINA, V., J. PATOČKA, V. MĚRKA, et al. Kyselina domoová, nebezpečný neurotoxin. *Vojenské zdravotnické listy*. 2005, **74**(2), 53-59 p.
14. HUISMAN, J., H. C. P. MATTHIJS AND P. M. VISSER. *Harmful Cyanobacteria*. Dordrecht: Springer, 2005. 241 s. ISBN: 978-14020-3009-3
15. CHAPIN, F. S., A. P. MATSON AND A. H. MOONEY. *Principles of terrestrial ecosystem ecology*. 2nd ed. New York: Springer, 2002. 436 s. ISBN: 0-387-95443-0
16. JABOR, A. *Vnitřní prostředí: Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi*. Praha: Grada Publishing, 2008. 530 s. ISBN: 978-80-247-1221-5
17. JANEČKOVÁ, H. AND H. HNILICOVÁ. *Úvod do veřejného zdravotnictví*. Praha: Portál, 2009. 296 s. ISBN: 978-80-7367-592-9
18. KOČÍ, Vladimír, Jiří BURKHARD and Blahoslav MARŠÁLEK. Eutrofizace na přelomu tisíciletí. In: *Eutrofizace 2000: sborník semináře, Praha 10. 10. 2000*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2000, s. 3-13. ISBN 80-7080-396-7
19. Koordinační středisko pro resortní zdravotnické informační systémy. Registry hygienické služby. In: Ksrzis.cz [online]. Praha: KSRZIS, © 2010 [cit. 26. 9. 2013]. Dostupné z www.ksrzis.cz/dokumenty/pitna-voda-is-pivo_36_114_1.html
20. KALAČ, P. *Chemie životního prostředí*. 2nd ed. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 2010. 171 s. ISBN: 978-80-7394-232-8
21. KALINA, T. *Systém a vývoj sinic a řas*. 2nd ed. Praha: Karolinum, 1998. 165 s. ISBN: 80-7184-611-2
22. KALINOVÁ, J. *Půdní úrodnost, výživa a hnojení rostlin v ekologickém zemědělství*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 2007. 41 s. ISBN: 978-80-7394-029-4
23. KILLHAM, K. *Soil ecology*. Cambridge: Cambridge University Press, 1994. 242 s. ISBN: 0-521-43521-8
24. KITTNAR, O. *Lékařská fyziologie*. Praha: Grada Publishing a.s., 2011. 790 s. ISBN: 978-80-247-3068-4
25. KOČÍ, V., J. BURKHARD AND B. MARŠÁLEK. Eutrofizace na přelomu tisíciletí. Eutrofizace 2000: sborník semináře, Praha 10. 10. 2000. Praha: VŠCHT, 2000. 3-13 s. ISBN: 80-7080-396-7

26. KOLÁŘ, L. *Hygiena půd*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 1999. 153 s. ISBN: 80-7040-334-9
27. KOŽÍŠEK, F. Je vodovodní voda vhodná i pro kojence? *SOVAK Časopis oboru vodovodů a kanalizací*. 2005, **11**(14), 29-31 p.
28. KREŠL, J. *Hydrologie*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2001. 128 s. ISBN: 9788071575139
29. KVÍTEK, T. AND M. TIPPL. *Využití a ochrana vodních zdrojů*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 2005. 169 s. ISBN: 80-7040-773-5
30. LELLÁK, J. AND F. KUBÍČEK. *Hydrobiologie*. Praha: Karolinum, 1991. 257 s. ISBN: 80-7066-530-0
31. Ministerstvo zdravotnictví České republiky. Kvalita vody ke koupání. In: Mzcr.cz [online]. Praha: MZČR, © 2010 [cit. 19. 6. 2013]. Dostupné z www.mzcr.cz/verejne/obsah/koupani-v-prirode-aktualni-kvalita-vody_1073_5.html
32. MARŠÁLEK, B. *Víš, v čem se koupeš?* Brno: Sdružení Flos Aquae, 2005.
33. MÁTLOVÁ, J., V. KREJČÍ AND J. PATOČKA. Toxiny sinic (cyanotoxiny) a jejich účinky na lidské zdraví. *Kontakt*. 2004, **6**(1), 43-51 p.
34. NATIONAL-RESEARCH-COUNCIL. *Nitrate and Nitrite in Drinking Water*. Washington, DC: The National Academies Press, 1995. 78 s. ISBN: 978-0-309-08370-6
35. NEČAS, E. *Obecná patologická fyziologie*. Praha: Karolinum, 2002. 377 s. ISBN: 80-246-0051-X
36. NIELSEN, S. S., B. A. MUELLER AND C. M. KUEHN. An evaluation of semi-quantitative test strips for the measurement of nitrate in drinking water in epidemiologic studies. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*. 2007, **18**(2), 142-148 p.
37. PEARSON, L., T. MIHALI, M. MOFFITT, et al. On the Chemistry, Toxicology and Genetics of the Cyanobacterial Toxins, Microcystin, Nodularin, Saxitoxin and Cylindrospermopsin. *Marine Drugs*. 2010, **8**(5), 1650-1680 p.
38. PITTER, P. *Hydrochemie*. 4th ed. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2009. 579 s. ISBN: 978-80-7080-701-9

39. PODSTATOVÁ, H. *Základy epidemiologie a hygieny*. Praha: Galén, 2009. 157 s. ISBN: 978-80-7262-597-0
40. POLÁŠKOVÁ, A. *Úvod do ekologie a ochrany životního prostředí*. Praha: Karolinum, 2011. 283 s. ISBN: 978-80-246-1927-9
41. POULÍČKOVÁ, A. *Základy ekologie sinic a řas*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, 2011. 91 s. ISBN: 978-80-244-2751-5
42. PRICE, J. S., A. L. HEATHWAITE AND B. A. J. Hydrological processes in abandoned and restored peatlands: an overview of management approaches. *Wetland Ecology Management*. 2003, 65–83 p.
43. PROKEŠ, J. *Základy toxikologie: obecná toxikologie a ekotoxikologie*. Praha: Karolinum, 2005. 248 s. ISBN: 80-7262-301-X
44. PROVAZNÍK, K. AND L. KOMÁREK. *Faktory zevního prostředí, vliv na zdraví, prevence*. 2. díl. In: *Manuál prevence v lékařské praxi*. Praha: Fortuna, 2004. 733 s. ISBN: 80-7168-942-4
45. PUMANN, P. *Sinice a koupání v přírodě*. Praha: Státní zdravotní ústav, 2001.
46. RAJCHARD, J. *Ekologie III: Struktura a funkce ekosystému, produkční ekologie, biogeochemické cykly, chemické faktory prostředí, základy ekologie půdy, ekologie vodního prostředí, aktuální celosvětové ekologické problémy*. České Budějovice: KOPP, 2002. 197 s. ISBN: 80-7232-191-9
47. ROKYTA, R., D. DANA MAREŠOVÁ AND Z. TURKOVÁ. *Somatologie*. Praha: Wolters Kluwer ČR, 2009. 259 s. ISBN: 978-80-735-7454-3
48. STEWART, I., A. SEAWRIGHT AND G. SHAW. Chapter 28: Cyanobacterial poisoning in livestock, wild mammals and birds *H. Kenneth Hudnell: Proceedings of the Interagency, International Symposium on Cyanobacterial Harmful Algal Blooms*. In: *Experimental Medicine & Biology*. 2008, 613-637 p.
49. SUBBARAO, G. V., O. ITO, K. L. SAHRAWAT, et al. Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems – challenges and opportunities. *Critical Reviews in Plant Science*. 2006, **25**(4), 303-335 p.
50. ŠIMEK, M. *Základy nauky o půdě*. 4. Degradace půdy. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Biologická fakulta, 2004. 224 s. ISBN: 80-7040-667-4

51. ŠIMEK, M. *Základy nauky o půdě*. 3. Biologické procesy a cykly prvků. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Biologická fakulta, 2003. 151 s. ISBN: 80-7040-630-5
52. ŠIMEK, M. *Základy nauky o půdě*. 2nd ed. 1. Neživé složky půdy. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Biologická fakulta, 2007. 158 s. ISBN: 80-7040-747-6
53. ŠIMEK, M. AND J. E. COOPER. *Biogeochemical cycles of elements*. České Budějovice: University of South Bohemia, Faculty of Biological Sciences, 2004. 64 s. ISBN: 80-7040-668-2
54. ŠTEFAN, J. AND J. HLADÍK. *Soudní lékařství a jeho moderní trendy*. Praha: Grada Publishing, 2012. 437 s. ISBN: 978-80-247-3594-8
55. ŠVEHLA, P., P. JENÍČEK, J. HABART, et al. Využití akumulace dusitanů při biologickém čištění odpadních vod. *Chemické listy*. 2007, (101), 776-781 p.
56. ÚLEHLOVÁ, B. *Koloběh dusíku v travních ekosystémech*. Praha: Academia, 1989. 110 s. ISBN: 80-200-0192-1
57. Vyhláška č. 238/2011 Sb., o stanovení hygienických požadavků na koupaliště, sauny a hygienické limity písku v pískovištích venkovních hracích ploch, v platném znění
58. Vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody, v platném znění
59. Vyhláška č. 275/2004 Sb., o požadavcích na jakost a zdravotní nezávadnost balených vod a o způsobu jejich úpravy, v platném znění
60. VELIKOVSKÝ, Z. *Vybraná témata z hygieny životního prostředí*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta, 2007. 186 s. ISBN: 978-80-7040-945-9
61. WARD, M. H. Too Much of a Good Thing? Nitrate from Nitrogen Fertilizers and Cancer. *Rev Environ Health*. 2009, **24**(4), 357–363 p.
62. WHO. *Eutrophication and health*. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2002. 28 s. ISBN: 92-894-4413-4
63. WHO. *Nitrate and Nitrite in Drinking-water*. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Geneva: World Health Organization, 2011.

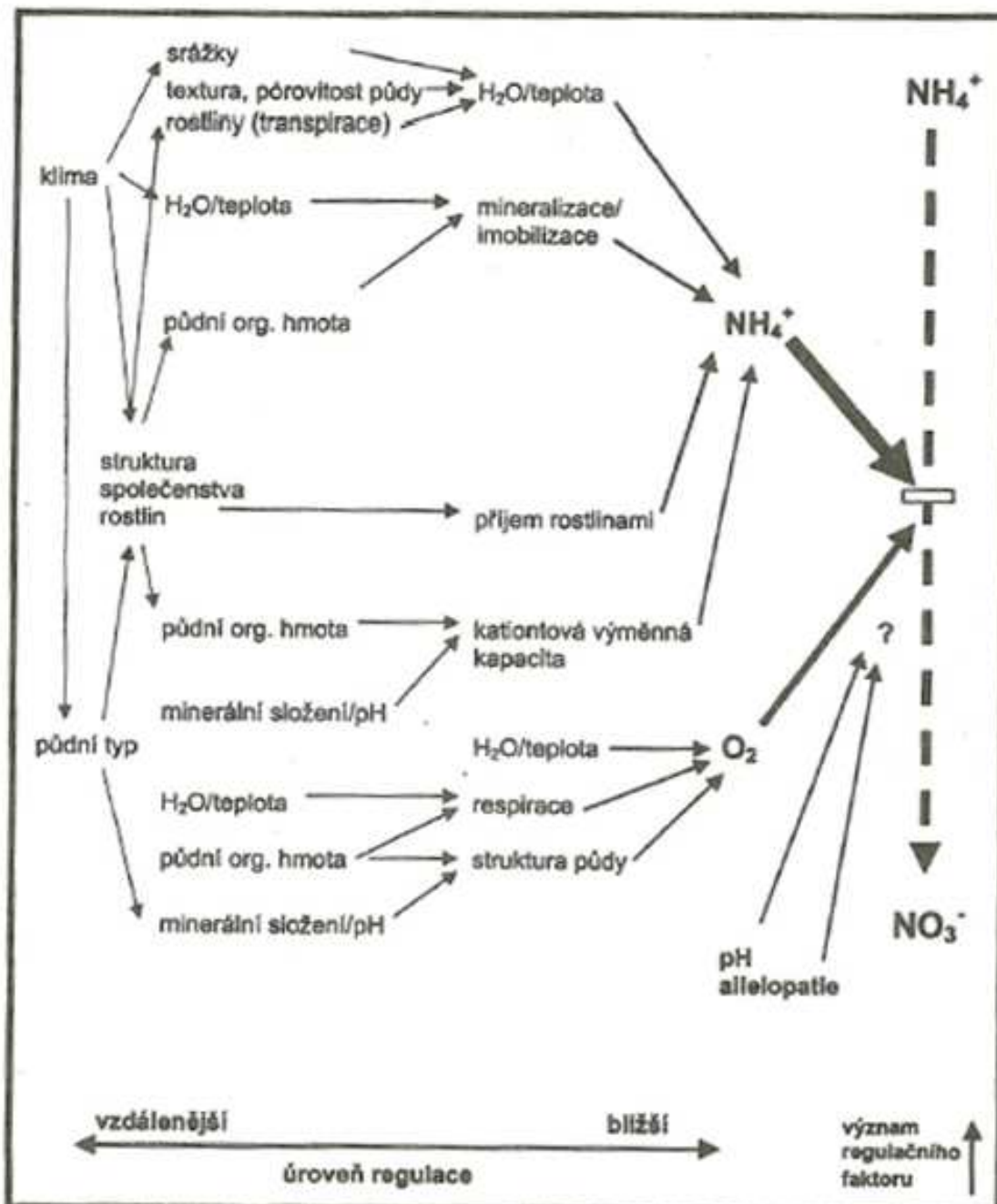
64. WHO. *Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*. London: World Health Organization, 1999. 413 s. ISBN: 0-419-23930-8
65. Zákon č. 17/1992 Sb., o životním prostředí, ve znění pozdějších předpisů
66. Zákon č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon), ve znění pozdějších předpisů

8. Klíčová slova

Půda	- soil
Voda	- water
Eutrofizace	- eutrophication
Cyklus dusíku	- nitrogen cycle
Dusičnany	- nitrates
Vyplavování dusíku	- leaching of nitrogen
Sinice a řasy	- cyanobacteria and algae

9. Přílohy

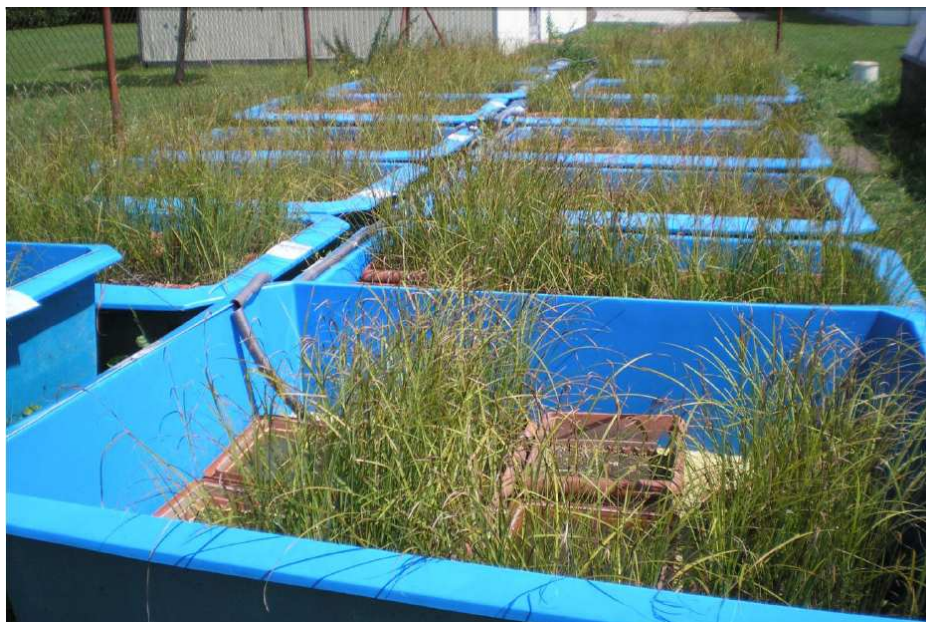
Příloha č. 1: Schéma faktorů ovlivňujících nitrifikaci (Šimek M., 2003)



Příloha č. 2: Přehled humánních intoxikací cyanotoxiny (Bláha, 2004)

Případy otrav spojené s cyanotoxiny v pitné vodě	
1931	USA: masivní vodní květy <i>Microcystis</i> v řekách Ohio a Potomac způsobily onemocnění 5000 – 8000 lidí (převážně gastroenteritidami) v řadě měst zásobovaných vodou z těchto řek
1960-1965	Zimbabwe, Harare: v části města zásobované vodou z nádrže s vodním květem <i>Microcystis</i> každoročně v době kolapsu vodního květu docházelo k rozvoji gastroenteritid u dětí. Děti ze čtvrtí s jiným zdrojem vody nebyly ovlivněny a nebyly identifikovány žádné infekční faktory.
1975	Pensylvánie, USA: akutní gastroenteritidy u 62% z 8000 lidí, konzumace vody z nádrže se sinicí <i>Schizotrix</i>
1975	USA: endotoxický šok 23 dialyzních pacientů ve Washingtonu související s rozvojem sinic ve vodárenské nádrži
1979	Austrálie: po algicidním zásahu proti vodnímu květu <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> ve vodárenské nádrži na Palm Island onemocnělo přes 140 obyvatel (převážně děti) těžkými hepatoenteritidami, které si vyžádaly hospitalizaci. Symptomy byly malátnost, nechutenství, zvracení, bolesti hlavy, zvětšení jater, zácpy následované krvavými průjmy, dehydratace. Rozbory moče prokázaly poškození ledvin a rozbory krve zvýšené hladiny jaterních enzymů indikující poškození jater.
1981	Austrálie, Armidale: epidemiologická studie ukázala signifikantní změny aktivity některých jaterních enzymů (zejména gama glutamyl transferázy) v krevním séru lidí během rozvoje a následné likvidace vodního květu <i>Microcystis</i> ve vodárenské nádrži
1988	Brazílie: po napuštění přehrady Itaparica v roce 1988 bylo během 42 dnů zaznamenáno na 2000 případů gastroenteritid, z nichž 88 skončilo úmrtím. Následující výzkumy potenciálních příčin této epidemie vyloučily infekční patogeny, naopak zjistily vysoké koncentrace toxických cyanobakterií (<i>Anabaena</i> a <i>Microcystis</i>) v přívozech pitné vody v postižených oblastech.
1991-1992	jih Austrálie: 26 případů kožních a systémových onemocnění spojených s expozicí (v některých případech konzumace) říční a dešťové vody skladované v otevřených nádržích s vodními květy <i>Anabaena</i>
1992	střední Austrálie: onemocnění „horečkou Barcoo“, nevolnosti a zvracení v souvislosti s konzumací vody obsahující hepatotoxiny
1993	Čína: podle epidemiologické studie četnost výskytu rakoviny jater souvisí mj. se zdroji pitné vody a je významně vyšší u populací používajících povrchovou vodu zamořenou sinicemi než u populací s podzemními zdroji pitné vody. Předpokládá se, že příčinou jsou microcystiny.
1994	Švédsko, 3 vesnice poblíž Malmö: po dobu několika hodin došlo k náhodnému míchání vodárensky neupravené říční vody s pitnou vodou. V řece v té době rostla hustě sinice <i>Planktothrix agardhii</i> produkující microcystiny. 121 obyvatel (z celkových 304) onemocnělo (nevolnosti, bolesti břicha, svalů, hlavy, zvracení, průjmy, horečky). Ovlivněna byla také domácí zvířata (psi a kočky).
Případy spojené s rekreační expozicí	
1959	Kanada, Saskatchewan: navzdory úhynům dobytka a varováním před rekreačním využitím plavali lidé v jezeře zamořeném sinicemi. 13 osob onemocnělo (bolesti hlavy, nevolnost, bolesti svalů, bolestivé průjmy). V exkrementech jednoho z pacientů, který náhodně požil asi 300ml vody, byly identifikovány sinice <i>Microcystis</i> a <i>Anabaena circinalis</i> .
1980-1981	Pensylvánie a Nevada, USA: u více než 100 osob podráždění očí, kůže, bolest uší, symptomy „senné rýmy“, akutní gastroenteritidy aj. po plavání a vodním lyžování v jezeře s <i>Aphanizomenon</i> a <i>Anabaena</i>
1989	Anglie: po plavání a jízdě na kanoích ve vodě se silným vodním květem sinic rodu <i>Microcystis</i> trpělo 10 z 20 branců zvracením, průjmy, bolestmi břicha, otoky rtů, bolestmi v krku. U dvou z nich se rozvinul silný zápal plic (zřejmě způsobený aspirací cyanotoxinů), který si vyžádal hospitalizaci. Zdá se, že závažnost onemocnění souvisela s jejich schopnostmi plavat a s množstvím polknuté vody.
1995	Austrálie: epidemiologické důkazy nepříznivých zdravotních efektů po kontaktu s cyanobaktériemi při rekreaci. Studie zahrnující 852 účastníků ukázala zvýšenou frekvenci kožních vyrážek, vředů v ústech, horeček, podráždění očí, uší a kůže, průjmů, zvracení, „syndromů chřipky“ během 2 – 7 dnů po expozici při koupání. Intenzita a četnost symptomů se významně zvyšovala v závislosti na době trvání koupání a na hustotě vodního květu.
Intoxikace jinými expozičními cestami	
1996	Brazílie, Caruaru: asi 85% z cca 130 pacientů místního hemodialyzního centra po rutinní renální dialýze trpělo poruchami zraku, nevolností, zvracením, svalovou slabostí a bolestivou hepatomegalií. U 100 z nich následně dochází akutnímu selhání jater a 56 umírá. Nejméně 44 obětí vykazovalo podobné symptomy (včetně jaterní histopatologie) jako zvířata exponovaná microcystiny v laboratorních pokusech. V krevním séru exponovaných pacientů a jaterní tkáni mrtvých byly stanoveny microcystiny. V nádrži sloužící také jako zdroj vody pro dialyzní centrum, byly poté identifikovány sinice rodu <i>Aphanizomenon</i> , <i>Oscillatoria</i> a <i>Spirulina</i> .

Příloha č. 3: Obrazová fotodokumentace mezokosmového pokusu a analýzy vzorků
(vlastní archiv)



Obr. 18. Uspořádání mezokosmového pokusu



Obr. 19. Velká nádoba regulující vodní hladinu, v níž jsou uloženy truhlíky s půdou



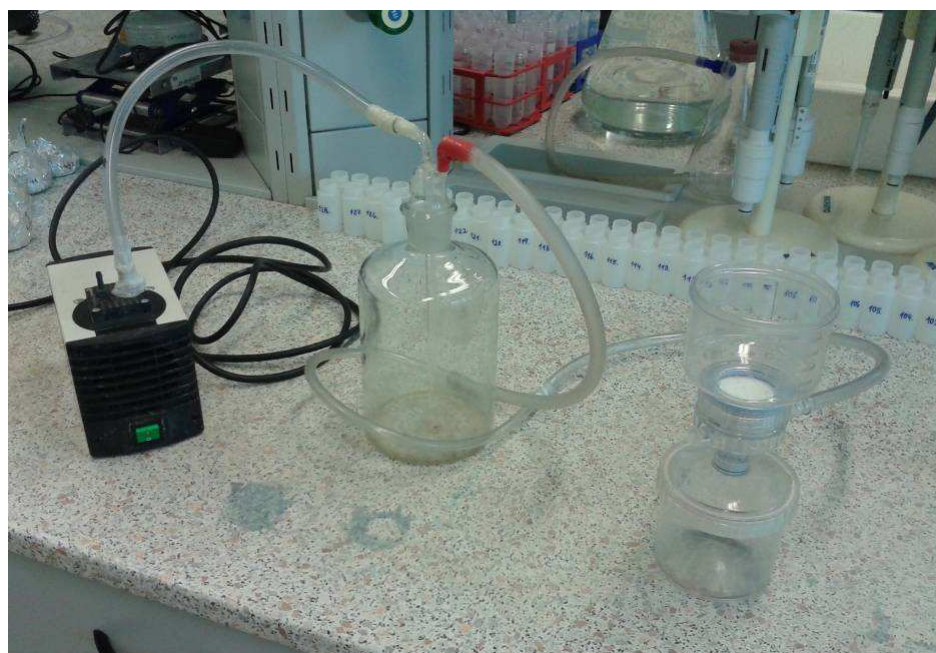
Obr. 20. Detail mezokosmového pokusu



Obr. 21. Vážení půdních vzorků do 120 ml skleněných uzavíratelných lahviček



Obr. 22. Třepací zařízení s upevněnými vzorky o otáčkách 200 za minutu



Obr. 23. Skleněné filtrační zařízení, v pozadí 20 ml viálky, ve kterých se vzorky nechaly zamrazit



Obr. 24. Filtrace vzorků po centrifugaci