

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin



Agronomická
fakulta

Mendelova
univerzita
v Brně



**Možnosti využití kompostu při rekultivacích ploch
kontaminovaných těžkými kovy**

Diplomová práce

Vedoucí práce:
Ing. Ivan Tůma, Ph.D.

Vypracovala:
Bc. Daniela Kubná

Brno 2015

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Možnosti využití kompostu při rekultivacích ploch kontaminovaných těžkými kovy vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....

podpis

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji Ing. Tůmovi, Ph.D. za vedení diplomové práce. Obzvláště bych chtěla poděkovat Ing. Elblovi za odborné připomínky a pomoc při přípravě a vyhodnocení laboratorního experimentu a při vypracování práce. Dále děkuji pracovníkům ústavu agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin za pomoc při prováděných analýzách, stejně jako pracovníkům institutu ISA Group v Lille.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá působením kompostu na půdy kontaminované těžkými kovy (Cd, Pb, Zn). Jsou zde teoreticky rozebrány kontaminace, jejich zdroje a vliv, a možnosti jejich remediací. Práce ověřuje předpoklad, že kompost působí pozitivně na snížení mobility těžkých kovů a jejich biologické dostupnosti pro rostlinu.

Ověření předpokladu je provedeno prostřednictvím nádobového experimentu, ve kterém byla indikační rostlina salát (*Lactuca sativa* L.) pěstována na půdách s různou koncentrací těžkých kovů. Vypěstovaná biomasa i půdy byly po experimentu podrobeny analýze a zjištěné koncentrace těžkých kovů potvrdily pozitivní vliv na imobilizaci kadmia a olova. Imobilizace zinku nebyla kompostem ovlivněna.

Klíčová slova: těžké kovy, kontaminace, bioremediací, kompost, mobilita, biologická dostupnost.

ABSTRACT

This diploma thesis deals with the effect of compost on heavy metal (Cd, Pb, Zn) contaminated soil. There are theoretically discussed contaminations, their sources and their impact as well as remediation possibilities. Work validates the assumption that compost has a positive effect on mobility reduction of heavy metals and their bioavailability.

Verification is performed by the pot experiment, where the indicator plant lettuce (*Lactuca sativa* L.) has been grown on differently contaminated soils. When the experiment was finished, the lettuce biomass and soils were analysed. Detected concentrations of heavy metals have confirmed a positive effect on Cd and Pb immobilization. The immobilization of zinc was not affected by compost.

Key words: heavy metals, contamination, bioremediation, compost, mobility, bioavailability.

OBSAH

1	Úvod.....	8
2	Cíl práce.....	9
3	Literární přehled	10
3.1	Kontaminace půd, těžké kovy	11
3.1.1	Mobilita rizikových prvků v půdě	11
3.1.2	Příjem a transport rizikových prvků v rostlině	13
3.1.3	Charakteristiky sledovaných těžkých kovů: Pb, Cd, Zn.....	15
3.2	Dekontaminace půd.....	19
3.2.1	Přístupy k bioremediaci zemin kontaminovaných těžkými kovy.....	20
3.2.2	Způsoby bioremediace těžkých kovů organickými přísadkami	21
3.2.3	Mechanismy bioremediace těžkých kovů v půdě	23
3.2.4	Účinnost organických přísadků na bioremediaci	24
3.2.5	Kompost jako remediační půdní přísadka	25
4	Materiál a metodika	27
4.1	Základní charakteristika a původ testovaných půd	27
4.2	Vlastnosti použitého kompostu	30
4.3	Monitorovací rostlina Locika setá (<i>Lactuca sativa</i> L.)	30
4.4	Schéma laboratorního experimentu.....	31
4.4.1	Sledování mobility dusíku	35
4.4.2	Měření kumulativní vodní infiltrace – stanovení nenasycené hydraulické vodivosti za účelem hodnocení míry půdní hydrofobicity	36
4.4.3	Sledování přítomnosti a četnosti arbuskulární mykorhizy	38
4.4.4	Bazální a substrátem indukovaná respirace	39
4.4.5	Měření obsahu těžkých kovů v půdě	40
4.4.6	Měření obsahu těžkých kovů v pletivech salátu	41
4.5	Statistická analýza.....	41

5	Výsledky a diskuse	42
5.1	Produkce rostlinné biomasy	42
5.2	Mobilita minerálního dusíku	42
5.3	Kumulativní vodní infiltrace	44
5.4	Kolonizace kořenů arbuskulární mykorrhizou.....	44
5.5	Bazální a substrátem indukovaná respirace	46
5.6	Těžké kovy v biomase rostlin	47
5.7	Vztah mezi koncentrací těžkých kovů v rostlinné biomase a kolonizací kořenů rostlin arbuskulární mykorrhizou.....	49
5.8	Obsah těžkých kovů v půdních vzorcích	50
5.8.1	Pseudo – totální koncentrace Cd, Pb, Zn	52
5.8.2	Koncentrace Cd, Pb, Zn získané sekvenční extrakcí	53
6	Závěr	58
7	Přehled použité literatury	60
8	Seznam obrázků.....	73
9	Seznam tabulek	74
10	Seznam zkratk	75

1 ÚVOD

Kontaminace složek životního prostředí je spojena s lidskou činností již mnohá desetiletí. Obavy ze zvyšujících se koncentrací cizorodých látek ve vodě, půdě, ovzduší i živých organismech vedou k rozvoji postupů a metod pro snižování a odstraňování kontaminace antropogenního původu z životního prostředí.

Půdní znečištění těžkými kovy má původ především v emisích, které se dostávají do atmosféry a kterým následují suché či mokré depozice na zemský povrch respektive na půdu. Těžké kovy, které se takto do půdy dostávají, v ní přetrvávají a mohou působit na růst rostlin či aktivitu půdních mikroorganismů, dále mohou být začleňovány do pletiv rostlin a potravním řetězcem ohrožovat zdraví člověka (Kleckarová et al., 2013). Souvislost atmosférických depozic těžkých kovů s jejich obsahem v rostlinách byla prokázána v práci Ugulu et al., 2012. Pro půdy kontaminované těžkými kovy jsou charakteristické tyto vlastnosti: nízká dostupnost živin, rozpad půdní struktury, nízký obsah organické hmoty, acidita a zasolenost (Adriano et al., 2001).

Kontaminované půdy, jež mají zemědělské využití, představují zdroj těžkých kovů, které rostliny mohou přijímat v různých koncentracích do svých pletiv a skrze potravní řetězec bezprostředně ohrožovat zdraví člověka. Snížení nebo úplné odstranění kontaminace těžkými kovy z půdní složky představuje obtížný úkol a vyžaduje studium a zkoumání metod, které lze k dekontaminaci využít. Mimo konvenční metody, které často zahrnují nákladné a energeticky náročné procesy, se jako nadějně jeví metody bioremediační. Bioremediace je přirozený proces, který využívá mikroorganismy i vyšší rostliny ke změně úrovně kontaminace a podmínek prostředí, jež jsou výsledkem normálních životních funkcí organismů, a který může být podpořen přidáním organického substrátu (Park et al., 2011). Přídavek organické hmoty ve formě zemědělských odpadů či kompostu může hrát roli v široké škále procesů vedoucích od zlepšení fyzikálně-chemických půdních vlastností a úrodnosti až po změnu distribuce těžkých kovů v půdě. Vysoce kvalitní kompost bohatý na stabilní humifikovanou organickou hmotu, nevykazující fytotoxicitu a s nízkým obsahem těžkých kovů může být nástrojem k remediaci kontaminovaných půd a napomoci snížení mobility a biologické dostupnosti těžkých kovů.

2 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce je literárně podchytit problematiku těžkých kovů v roli kontaminantů a přiblížit problematiku rekultivací kontaminovaných území se zaměřením na využití kompostu jako rekultivačního substrátu.

Ověření vhodnosti použití kompostu k rekultivaci je dále provedeno pomocí nádobového experimentu, kde se za laboratorních podmínek na půdách s různou koncentrací těžkých kovů (Cd, Pb, Zn) otestuje vliv přídavku kompostu na snížení biologické dostupnosti těžkých kovů v půdě a jejich obsah v indikační rostlině *Lactuca sativa* L. Mimo koncentrace těžkých kovů se sledují i jiné vybrané parametry. Následuje statistické vyhodnocení získaných výsledků a jejich zhodnocení vzhledem k vhodnosti využití kompostu k rekultivaci.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

Obsahy těžkých kovů v půdách, rostlinách a atmosféře jsou určovány přirozenými (geogenními) a antropogenními faktory. Mezi přirozené patří zvětrávání zemského povrchu a vulkanická činnost, které představují 80 % přírodních zdrojů těchto kovů, dále lesní požáry spolu s biogenními zdroji, které představují každý po 10%. Přirozené emise šesti významných těžkých kovů jsou přibližně 12000 (Pb), 45000 (Zn), 1400 (Cd), 43000 (Cr), 28000 (Cu) a 29000 (Ni) tis. kg ročně (Nriagu, 1990).

Mezi nejvýznamnější antropogenní faktory patří těžba uhlí a hutní průmysl. Při hornické činnosti se kovy uvolňují do říčního prostředí, v haldách a do atmosféry jako kovem obohacený prach (Adriano, 2001). Tab. 1 uvádí světovou produkci kovů a emisí v sedmdesátých a osmdesátých letech.

Tab. 1 *Světová produkce a emise šesti těžkých kovů v mil. kg v období 70. a 80. let, (Callender, 2005)*

Kov	Produkce kovů		Emise do ovzduší		Emise do půdy	Emise do vody
	1970s	1980s	1970s	1980s	1980s	1980s
Pb	3400	3100	449	332	796	138
Zn	5500	5200	314	132	1372	226
Cd	17	15	7,3	7,6	22	9,4
Cr	6000	11250	24	30	896	142
Cu	6000	7700	56	35	954	112
Ni	630	760	47	56	325	113

Z tabulky vyplývá, že atmosférické emise způsobené činností člověka jsou přibližně dvojnásobné pro měď a nikl, pětinasobné pro zinek a kadmium a až 33 násobné pro olovo oproti přirozeným emisím.

Dalším významným zdrojem kovů v atmosféře je spalování fosilních paliv, odpadů a výroba cementu. Do terestrických a vodních ekosystémů se pak kovy mohou také dostávat z kalů a při používání minerálních hnojiv, pesticidů atd. Dle Tab. 1 jsou hodnoty emisí do půdy několikanásobné oproti emisím do ovzduší, z čehož lze usuzovat, že ukládání důlních odpadů, chemických odpadů, strusky a komunálních odpadů má pro tyto hodnoty velmi významnou roli (Nriagu and Pacyna, 1988).

3.1 Kontaminace půd, těžké kovy

Kontaminace půd se spolu s větrnou a vodní erozí, záborem půdy, degradací půdy, úbytkem půdní organické hmoty a acidifikací řadí k procesům, které ohrožují produkční a ekologické funkce půdy.

Na kontaminaci půd se podílí celá řada organických i anorganických látek. Rizikové prvky pocházející z antropogenní činnosti patří mezi nejčastěji a nejdéle působící kontaminanty životního prostředí (ŽP). Pokud se dostanou do půdy, mohou v ní přetrvávat tisíce let a je velmi obtížné eliminovat jejich účinky na rostliny a na půdní úrodnost (Alloway, 1990). V České republice jsou povolené limity rizikových prvků v půdě upraveny legislativními předpisy (vyhláška 13/1994 Sb.).

Těžké kovy (dále jen kovy) se převážně nacházejí ve formě iontové nežli ve formě elementární. Často bývají vysráženy na půdních částicích, vytvářejí složité komplexy s organickou půdní hmotou nebo jsou sorpčně vázány na půdní matici. Mobilita kovu v půdě je závislá na rozpustnosti kovu ve vodě, pevnosti sorpční vazby, redox potenciálu zeminy a hodnotě pH. Přítomnost jílu a organické hmoty v půdě hraje také významnou roli. Zejména oxidací a redukcí se mění rozpustnost kovů a jejich akutní toxicita (Horáková, 2006).

3.1.1 Mobilita rizikových prvků v půdě

Příjem kovů rostlinou není lineárně závislý na celkovém obsahu kovu v půdě, ale na jeho dostupnosti (Schwartz et al., 2001), ta je ovlivněna chemickými a mineralogickými charakteristikami půdy. Mobilita kovů v půdě klesá v pořadí $Cd > Ni > Zn > Cu > Pb$ (Hornburg a Brümmer, 1993).

Redox potenciál a hodnota pH patří mezi nejvýznamnější faktory ovlivňující rozpustnost a dostupnost rizikových prvků pro rostliny. Vliv těchto faktorů uvádí Tab. 2.

Koncentrace dostupných forem je u většiny rizikových prvků nižší u alkalických a neutrálních půd, než u lehkých půd při stejném celkovém obsahu. Prvky jsou pevněji vázány v těžkých neutrálních i alkalických půdách a mohou být rostlinami přijímány pozvolna. Lehké půdy mohou naopak být zdrojem snadno dostupných kontaminantů (Wenzel et al., 1999). Obecně platí, že při stejné koncentraci Cd a Pb (ale i Mn, Zn, Co a některých dalších prvků) v půdě jejich obsah v pletivech rostlin se vzrůstající hodnotou pH klesá (Mahler a Bingham, 1980). Podle Tlustoš et al. (2006) při změně

hodnoty pH kontaminované půdy z 5,7 na 7,3 poklesl podíl mobilního zinku v půdě o 70 %, kadmia o 50 % a olova o 20 %.

Tab. 2 *Vliv půdních podmínek na dostupnost prvků* (Kabata - Pendias a Pendias, 2001).

půdní podmínky	pH	dostupnost	
		snadná	střední
oxidační	< 3	Cd, Zn, Co, Cu, Ni	Mn, Hg, V
oxidační	> 5	Cd, Zn	Mo, Se, Sr, Te, V
oxidační (+Fe)	> 5	žádný	Cd, Zn
redukční	> 5	Se, Mo, As	Cd, Zn, Cu, Mn, Pb, Sr
redukční (+ H ₂ S)	>5	žádný	Mn, Sr

Vliv redox potenciálu je významný především u těch rizikových kovů, které se v půdě mohou vyskytovat ve více oxidačních stupních (Fe, Mn, As, Cu, Hg, a Pb). Uvolnění sorbovaného množství uvedených prvků do půdního roztoku při změně redoxních podmínek v půdě může způsobit redukce oxidů železa a manganu. Prvky jsou zpravidla méně rozpustné za vyššího oxidačního stupně (McBride, 1989).

Přítomnost **organických látek** v půdě ovlivňuje procesy vedoucí ke snížení koncentrace prvků v roztoku nescifickou či specifickou sorpcí, stejně jako tvorbu chelátu, které naopak brání před adsorpcí či vysrážením kovu (Tlustoš, 1999). Půdní organická hmota (SOM) zaujímá přibližně 6 hmotnostních procent půdy, nejčastěji se její obsah pohybuje v rozmezí 1,5 - 3,5 %. SOM v půdě působí jako zásobárna rostlinných živin, které jsou plynule uvolňovány do prostředí. Dále SOM představuje záchytnou síť – sorbent, který má schopnost imobilizovat různorodé látky. Mezi základní složky SOM řadíme humusové látky. Humusovou složku půdní organické hmoty tvoří stabilní huminy, huminové kyseliny a fulvokyseliny, tyto mají řadu funkčních skupin (především kombinace SH- a OH-), které umožňují tvorbu komplexů s řadou kationtů (Kabata-Pendias a Pendias, 2001; Valla et al., 1983). Vysokomolekulární huminové kyseliny fungují imobilizačně, zatímco fulvokyseliny a ostatní nízkomolekulární organické látky mohou s kovy tvořit rozpustné komplexy (Wenzel et al., 1999). Přídavek huminových kyselin do živného roztoku redukoval příjem Cd rostlinami podle prací Tyler, McBride, 1982; Cabrera a Young, 1988.

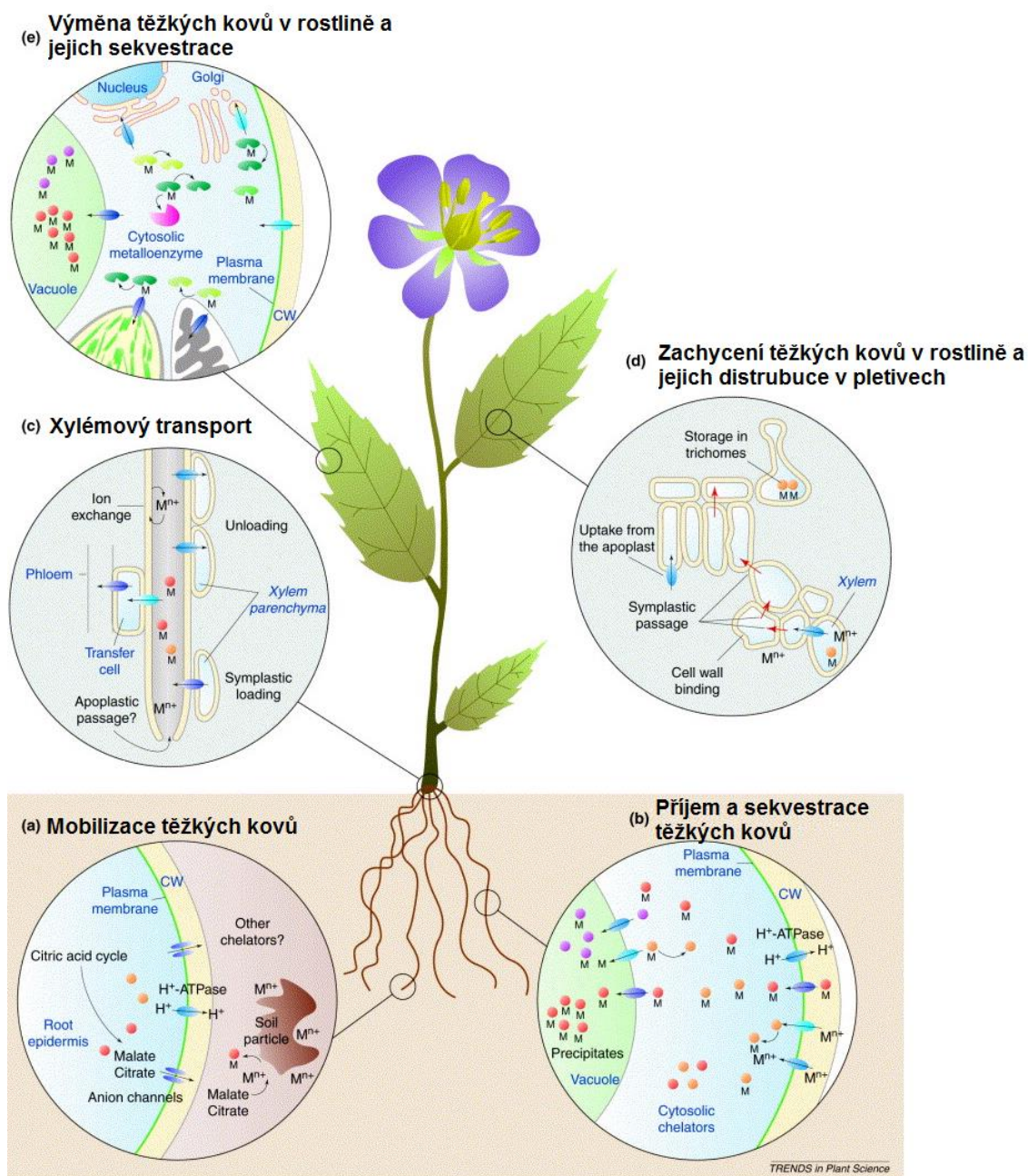
3.1.2 Příjem a transport rizikových prvků v rostlině

V ohrožování lidského zdraví těžkými kovy přes potravní řetězec, představuje rostlina zásadní mezičlánek. Vstup rizikových prvků do rostliny není ovlivněn pouze půdními podmínkami, ale i rostlinou samotnou. Dostupnost kovů pro rostlinu je dána jejich vazbou na půdní složky, přičemž nejnáze je přijme rostlina ve formě iontů či chelátů, popřípadě organických sloučenin. Biologickou dostupnost jednotlivých kovů lze určit, s ohledem na vysokou možnost odchylek díky působení mnoha faktorů, takto: $Zn > Cd > Ni > Cr > Pb$ (někdy $Cd > Zn$) (Harrison a Chirgawi, 1989).

Oblast, kde dochází ke kontaktu kořenů rostlin s půdou, a která významně ovlivňuje příjem prvků rostlinou, je rhizosféra. Jedná se o tenkou vrstvu půdy ve vzdálenosti několika milimetrů od kořenů, jejíž vlastnosti jsou ovlivněny kořenovou aktivitou. Vlastnosti rhizosféry se výrazně liší od okolní půdy a hranice mezi nimi je velice obtížné jednoznačně stanovit (Gobran et al., 2001). Do rhizosféry pak rostlina uvolňuje kromě odumřelých buněk s lyzáty slizové polymerní látky, jako jsou polysacharidy a kyselina polygalakturonová, a dále látky s nízkou molekulovou hmotností, jako jsou cukry, organické kyseliny, aminokyseliny a fenolické látky, které lze souhrnně nazývat exudáty (Marschner a Römheld, 1996). Tyto exudáty ovlivňují v rhizosféře rozpustnost a příjem prvku rostlinou.

Příjem prvku kořeny může probíhat pasivně a aktivně (metabolicky) a je přímo závislý na množství prvků na povrchu kořenů, tato koncentrace prvků může být ovlivněna i aktivitou mykorrhizy, která také zpřístupňuje prvky rostlině (Salisbury a Ross, 1992). Další podíl na příjmu rizikových prvků kořeny má jejich morfologická stavba. Rostliny s velkým počtem jemných kořenových vláken akumulují těžké kovy lépe (Das et al., 1997). U rostlin, které nepatří mezi dobře akumulující těžké kovy, bývá jejich obsah v nadzemní biomase nižší než v kořenech. Oproti tomu hyper akumulátory translokují prvky i do nadzemních částí (Baker et al., 2000). Mobilita kovů v rostlině je ovlivněna pH, oxidačně - redukčním stavem, hydrolýzou, chelatací, polymerací, tvorbou nerozpustných solí a kompeticí iontů. Kovové ionty, jako např. Pb^{2+} , Cu^{2+} a Cd^{2+} , musí soutěžit při kationtové výměně s mnohem vyšším nadbytkem Ca^{2+} a Mg^{2+} , které jsou silně elektrostaticky vázány na místa výměny (Ross a Kaye, 1994). Wang et al. (2006) zjistili, že listová zelenina akumuluje v nadzemní biomase, ve srovnání s plodovou zeleninou, více Cd a Pb, a zároveň potvrdili, že Cd je snadněji přijímáno a transportováno do nadzemních částí rostlin než Pb.

Základní molekulární mechanismy příjmu těžkých kovů rostlinou jsou uvedeny na Obr. 1: (a) mobilizace těžkých kovů – ionty jsou mobilizovány za pomoci sekrece chelatačního činidla a okyselením rhizosféry; (b) příjem a sekvestrace těžkých kovů – příjem hydratovaných iontů těžkých kovů nebo chelátových komplexů s ionty těžkých kovů skrze plazmatickou membránu a následný transport do vakuoly. Elektrický náboj brání iontům kovů volně difundovat přes lipofilní buněčné membrány do cytosolu, a proto musí být transport iontů do buněk řízen membránovými proteiny s transportními funkcemi. Transmembránové přenašeče vlastní extracelulární vazebnou doménu, ke které se ionty připojí těsně před transportem, a transmembránovou strukturu, která spojuje intracelulární a extracelulární prostředí. Vazebná doména je receptivní jen k určitým iontům, a tak je zodpovědná za specifitu přenašečů. Transmembránová struktura usnadňuje převod navázaných iontů z extracelulárního prostoru přes hydrofobní prostředí membrány do buňky (Lasat, 2002). Kompartmentace kovů ve vakuole je proces, který zabraňuje volným iontům kovů, aby se volně vyskytovaly v cytosolu a zatlačuje je do omezeného prostoru; (c) xylémový transport – transport těžkých kovů ve formě hydratovaných iontů nebo chelátových komplexů z kořenů rostliny uvnitř xylému. Transport v xylému směřuje z kořenů do nadzemních částí rostlin v transpiračním proudu, zatímco transport floémem probíhá z horních částí směrem dolů a je více selektivní. Rozpuštěné látky mohou být selektivně převedeny z xylému do floému a odvedeny směrem dolů; (d) zachycení těžkých kovů v rostlině a jejich distribuce v pletivech – těžké kovy jsou transportovány do listů za využití v mikropilárního prostoru (apoplast) v buněčných stěnách a následně jsou transportovány do jednotlivých buněk za využití plazmodezmy, sekvestrace těžkých kovů je realizována například v trichomech; (e) výměna těžkých kovů v rostlině a jejich sekvestrace – příjem těžkých kovů do listových buněk je katalyzován různými druhy přenašečů neboli transportérů na bázi proteinových transportérů. Tyto transportéry jsou lokalizované v endomembránách (Clemens et al., 2002).



Obr. 1 Schéma příjmu, akumulace a transportu těžkých kovů v rostlině; CW – buněčná stěna, M – ionty těžkých kovů, vyplněné kruhy – chelatační činidla, vyplněné ovály – transportéry (Clemenés et al., 2002).

3.1.3 Charakteristiky sledovaných těžkých kovů: Pb, Cd, Zn

Olovo

Průměrný obsah olova v půdách je $5 - 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Za přirozený obsah se považuje $2 - 300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Běžně se vyskytuje v rozmezí $10 - 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Olovo se vyznačuje výraznými chalkofilními vlastnostmi, a proto se v přírodních podmínkách vyskytuje zejména v galenitu - PbS. Kromě běžnějšího oxidačního stupně Pb^{2+} se v některých minerálech vyskytuje i jako Pb^{4+} , ty jsou však ve vodě nerozpustné. Přirozený obsah olova v půdě závisí na matečné hornině. Během zvětrávání jsou sulfidy olova oxidovány a uvolněné olovo je dále schopné reagovat za vzniku uhličitanů ($PbCO_3$, $Pb(HCO_3)_2$). Dále má olovo schopnost vázat se s jílovými minerály, na Fe, Mn hydroxidy a na půdní organickou hmotu. Formy olova, které se do půdy dostávají z průmyslových emisí, jsou především oxidy, sulfidy a sírany (Kabata-Pendias a Pendias, 2001). Nejvíce je olovo zastoupeno v kyselých vyvěřelých horninách ($10 - 30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), směrem k ultrabazickým horninám jeho obsah klesá (Richter, 2004).

V půdě je olovo málo pohyblivé. Je to dáno tím, že soli olova jsou většinou málo rozpustné a kromě toho je olovo dobře poutáno jílovými minerály i humusovými látkami (Beneš, 1994; Bartošová, 1995). Olovo se hromadí převážně v humusovém horizontu (Kozák, 1991). Na sloučeniny olova je nejbohatší vrchní padesátimilimetrová vrstva půdy a s přibývajícím hloubkou obsah Pb klesá. Sorpce olova humusem je pevnější než jílovými minerály. Přesto imobilitu olova nelze přeceňovat, protože za přítomnosti chelátů, které vytváří olovo při reakci s fulvokyselinami, jako transportních systémů může pohyblivost olova narůstat (Vostal a Penk, 1989). Olovo je rozpustné v kyselém prostředí, při zvyšování pH (po vápnění) se jeho rozpustnost snižuje, protože se sráží ve formě hydroxidu, fosforečnanu nebo uhličitanu. V těchto podmínkách olovo také tvoří organické komplexy (Kabata-Pendias a Pendias, 2001). Vysoké koncentrace olova v půdě snižují biologickou aktivitu půd (Tlustoš et al., 2007).

Olovo není esenciálním ani rostlině prospěšným prvkem. Působí toxicky na fotosyntézu, respiraci, mitózu a příjem vody. Fotosyntézu a respiraci inhibuje již tehdy, když je jeho obsah v mitochondriích $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Antagonické působení bylo prokázáno s Ca, P a S. Významná je interakce olova s vápníkem, protože Pb může napodobit fyziologické vlastnosti Ca a inhibovat některé enzymy (Kabata-Pendias a Pendias, 2001).

Rostliny zpravidla výrazně olovo neakumulují kvůli jeho afinitě tvořit v rhizosféře nerozpustné sulfáty, čímž se snižuje možnost příjmu a transportu do rostlin (Baker a Brooks, 1989). Z půdy je Pb přijímáno kořeny v lineární závislosti na jeho koncentraci v půdním roztoku. Při příjmu převažuje příjem extracelulární, tedy pohyb pasivní, založený na iontové výměně a tvorbě komplexů s ligandy buněčné stěny

(Domažlická, 1991). Vzhledem k nízké mobilitě olova v půdě se ukazuje významným mimokořenový příjem, zejména ve znečištěných oblastech. Pokud kořenový příjem převažuje, je olovo nejvíce kumulováno právě v kořenech a translokace do nadzemních částí je minimální. Hlavní vliv na akumulaci olova v kořenových pletivech má tvorba Pb difosfátů. Olovo se ukládá ve formě sraženin a krystalků podél buněčných stěn kořene (Kabata–Pendias a Pendias, 2001). Přestože rostliny mohou obsahovat poměrně značné množství olova, často intoxikaci nesignalizují ani změnou habitu, ani snížením výnosu (Domažlická, 1991, Eltrop et al., 1991).

Kadmium

Kadmium se v přírodě vyskytuje jako součást minerálů, dále v organických sloučeninách, vázané (sorbované) na půdní koloidy a ve vodorozpustném stavu jako součást půdního roztoku. V půdách se nachází v nízkých koncentracích a v geologických strukturách doprovází hlavně zinek a olovo (Friberg et al., 1986). Průměrný obsah kadmia v půdě v přirozených podmínkách se nejčastěji pohybuje v rozmezí 0,01 - 1,1 mg·kg⁻¹. Za posledních 150 let se podle literárních údajů zvýšil obsah kadmia v půdách o 27 – 55 %. Kadmium se v půdě kumuluje nejvíce ve vrstvě 0-5 cm a s přibývajícím hloubkou jeho koncentrace klesá podobně jako u olova (Richter, 2004).

Kadmium je sorbováno (imobilizováno) jílovými minerály a mnohem více huminovými kyselinami (HK). K sorpci dochází při pH > 6 (Kabata-Pendias a Pendias, 2001). Protože však s fulvokyselinami (FK) tvoří rozpustné cheláty, je mobilita Cd v půdě dána poměrem HK:FK (Beneš, 1994). S huminovými kyselinami vytváří Cd komplexy, které jsou však méně stabilní jako komplexy těchto kyselin s Cu a Pb. Ve srovnání s ostatními rizikovými prvky je mobilita Cd v půdě mnohem vyšší (Alloway, 1990). V silně oxidačních podmínkách je kadmium schopno tvořit stálé minerály (CdO, CdCO₃) a hromadit se ve fosfátech a biogenních usazeninách. Zvýšený obsah Cd snižuje schopnost mikroorganismů rozkládat organickou hmotu, dochází k poškození půdní mikroflóry. Dále má negativní vliv na fixaci vzdušného N, zpomaluje mineralizaci (Tlustoš et al., 2007). Přítomnost Cu, Se, Mn a Ca v půdě snižuje příjem Cd rostlinami vzájemnou kompeticí těchto prvků. Také zinek má při nízkých koncentracích Cd v půdě antagonický vliv na příjem kadmia rostlinami, ale při vysokých koncentracích Cd je jeho působení synergické nebo nemá žádný vliv (Alloway, 1990).

Rostliny přijímají kadmium převážně pomocí kořenů. Na přítomnost jeho rozpustných forem reaguje rostlina tvorbou exudátů, dochází k chelataci a urychluje se příjem prvku (Mullins a Sommers, 1986). Příjem kadmia rostlinou je lineární v závislosti na koncentraci Cd^{2+} v roztoku. Nejvyšším obsahem kadmia se vyznačují zpravidla pletiva kořenů. Při zvýšeném obsahu Cd v pletivech rostlin dochází k retardaci růstu, poškození kořenů, chlorózám listů a červeno-hnědým skvrnám na listech a žilnatině. Dále dochází k inhibici fotosyntézy, porušení transpirace a fixace CO_2 a změnám permeability buněčných membrán. Přítomnost kadmia v půdě negativně ovlivňuje klíčení rostlin (An, 2004). Rostliny v kontaminovaném prostředí lze považovat za rezervoár kadmia na jeho cestě potravním řetězcem do těla zvířat a lidí (Kabata-Pendias a Pendias, 2001).

Zinek

V půdě se zinek vyskytuje převážně v jednoduchých sulfidech i silikátech díky substituci za Mg^{2+} . Průměrný obsah zinku v půdě se pohybuje okolo $80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Callender, 2005). Zvláště v kyselých a oxidačních podmínkách biologická dostupnost zinku rostlinám stoupá. Obdobně jako Pb a Cd, zinek snadno adsorbuje na minerální i organickou složku půdy a akumuluje se ve svrchním horizontu. Mobilita zinku klesá již při $\text{pH} > 4,5$ (Balík et al., 1998). V kyselém prostředí vzniká polarizovaný Zn^{2+} , který se při zvyšování pH sráží na málo rozpustný $\text{Zn}(\text{OH})_2$. Nejsilněji pak probíhá imobilizace v půdách bohatých na Ca a P (Beneš, 1994). Vysoká koncentrace mobilního fosforu v půdě může omezit příjem zinku rostlinami (Alloway, 1990).

Dvojitá role zinku v systému půda - rostlina spočívá v jeho vlastnostech esenciálních pro růst a vývoj rostliny, naproti kterým působí ve vysokých koncentracích pro rostlinu toxicky. V listových pletivech je jeho normální obsah $26 - 150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $150 - 400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ je nadnormální a více než $400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ je považován za toxický (Alloway, 1990). Symptomy toxicity jsou chlorózy a nekrózy listových vrcholků. Projev toxicity závisí na druhu a genotypu rostlin a jejich růstové fázi (Kabata-Pendias a Pendias, 2001). Jeho vysoký obsah v půdě inhibuje příjem Fe, Mn a Cu a může způsobit deficit těchto prvků v rostlině (Olsen, 1972; Imtiaz et al., 2003).

3.2 Dekontaminace půd

Pro dekontaminaci půd se obecně přistupuje častěji ke konvenčním metodám, které se provádějí *ex situ* a tedy vyžadují vytěžení kontaminované zeminy. Mezi takové mohou patřit:

Termické metody – patří ke klasickým metodám odstranění odpadu, nejedná se o snahu navrátit kontaminovanou půdu do původního stavu, pouze převádí kontaminanty na jiný, lépe kontrolovatelný nosič (Horáková, 2006).

Pračky zemin – tato metoda se řadí mezi velmi nákladné. Pračka je tvořena členěným rotačním bubnem, ve kterém se kontaminovaný materiál propírá příslušnými roztoky. Výstupem je kal, který obsahuje kontaminanty a který musí být dále zpracován (zneškodněn). Využití této technologie je problematické především u jílovitých půd (Horáková, 2006).

Elektroreklamační metoda – náleží k metodám *in situ* a vychází z elektrokinetiky, z účinků stejnosměrného proudu. Na kontaminované území se umisťují soubory elektrod. Elektrických jevů, především elektrolýzy, se využívá k pohybu iontů kovů směrem k elektrodám. Koncentrované kationty kovů v okolí katody se vytěží (Jizba, 1995).

Takovéto konvenční metody vyžadují vysoké náklady a mohou s sebou nést rizika vedlejších vlivů na složky životního prostředí. Především z těchto důvodů je trendem obracet se k bezpečnějším a výrazně méně nákladným metodám biologické remediace, jejichž účinnost byla prokázána a používají se jako účinný prostředek pro snižování kontaminace (Park, 2010). K takovým metodám se řadí:

Fytoremediace – kde se pro dekontaminaci využívají vyšší rostliny, které mají schopnost ve svých pletivech akumulovat vysoké koncentrace těžkých kovů tzv. hyperakumulátory (Chaney et al., 1997). Kritériem, kterým lze hodnotit schopnost rostlin odebírat z půdy rizikové prvky a transportovat je do nadzemních částí, je transferfaktor (Tf). Ten udává poměr obsahu kovu v rostlině a jeho celkového obsahu v půdě.

Bioremediace – využívá pro dekontaminaci mikroorganismy, především bakterie a houby, které mají schopnost rizikový prvek imobilizovat a tím snížit jeho biologickou dostupnost. Biologická dostupnost kovů je zde definována jako takový podíl celkového obsahu kovu v půdě, který je dostupný pro organismy (Naidu et al., 2008) nebo také jako množství, které je přijímáno z abiotického prostředí v takové míře, že se zapojuje

do metabolismu organismů (Vangronsveld, 1998). Procesy bioremediace snižují rizika nežádoucí přirozené transformace a perzistence kontaminantů. Ke snížení biologické dostupnosti pro zemědělské plodiny a tím zabránění jejich dalšího postupu v potravním řetězci až k člověku, se volí dva základní postupy:

- fertilizace – bioremediační metoda, která spočívá v akceleraci již probíhajících pomalých bioremediačních procesů, které jsou uskutečňovány přirozeně se vyskytující mikroflórou. Spočívá ve stimulaci růstu vhodných mikroorganismů (MO) přidávkem zdrojů živin, popřípadě růstových faktorů.
- seeding – spočívá v obohacení kontaminovaného prostředí MO se známým katabolickým potenciálem. Nejčastěji jde o MO izolované z přirozeného prostředí (Horáková, 2006).

Experiment, řešený v této práci ověřuje i metodu fertilizace. Vychází se z předpokladu, že obohacení kontaminované půdy vysokomolekulárními humusovými látkami ve formě kompostu přispěje k imobilizaci těžkých kovů a sníží jejich biologickou dostupnost pro rostliny.

3.2.1 Přístupy k bioremediaci zemin kontaminovaných těžkými kovy

Na rozdíl od organických polutantů, kovy neprocházejí mikrobiální degradací, proto jsou při snižování jejich dopadu na životní prostředí voleny dva základní přístupy: imobilizace a mobilizace, pomocí kterých se dosahuje kontroly nad jejich biologickou dostupností (Park, 2011).

V případě imobilizace je biologická dostupnost minimalizována reakcí polutantu s půdou, či přidávkem zaváděným do půdy. Hlavním cílem této techniky je snížení rizika vstupu těžkých kovů do potravního řetězce a šíření kontaminace vyplavováním či erozí (Ownby, 2005).

V případě mobilizace se biologická dostupnost kovů zvyšuje transformací z pevné fáze půdního roztoku pomocí přísad jako je například EDTA (kyselina ethylendiamintetraoctová) nebo biodegradabilní EDDS (kyselina ethylendiamindisukcinová), které sice zvýší rozpustnost kovů a jejich příjem rostlinami, zároveň však vykazují nebezpečí kontaminace spodních vod (Eshan et al., 2007). Mobilizované kovy jsou následně z půdy dostávány vypíráním nebo jejich přijímáním rostlinami (fytoremediace) (Moutsatsou, 2006; Blaylock, 1997). Využití fytoremediace s následným bezpečným zneškodněním rostlin je atraktivní způsob, avšak pokud není

možný, je nejschůdnějším řešením imobilizace toxikantu organickými půdními přídávky.

3.2.2 Způsoby bioremediace těžkých kovů organickými přídávky

Přídávky organických látek do půdy zefektivňují bioremediaci pomocí procesů zahrnujících imobilizaci a rhizosféru modifikaci. Redukce a volatilizace jsou významnými procesy především při bioremediaci As a Hg méně významné jsou pak pro kovy rozebírané v této práci, tedy Pb, Cd a Zn.

Imobilizace

Bylo prokázáno, že organické přídávky do půdy zvyšují imobilizaci kovů (Tab. 3) díky adsorpci, což je přičítáno zvětšení záporně nabitých ploch a přítomností funkčních skupin. Tyto poznatky vedly k provedení experimentální části této práce.

Tab. 3 Vybrané výsledky vlivu organických přídávků na imobilizaci těžkých kovů (Farrel et al., 2010; Liu et al., 2009; Herwijen et al., 2007)

Přídavek	Substrát	Kov(y)	Výsledky
Kompost z komunálního a biologicky rozložitelného odpadu	Kyselá půda kontaminovaná As, Cu, Pb, Zn	As, Cu, Pb	Aplikace v poměru 10 % a 20 % prokazatelně redukovala dostupnost Pb, Cu, Zn rostlinám.
Kompost	Půda kontaminovaná Cd	Cd	Aplikace snížila dostupné Cd o 70 %.
Odpad biologicky rozložitelného odpadu	Půda z oblasti zinkové huti	Zn, Cd	Kompost zredukoval vyplavování Zn a Cd o 48 %.

Například bioremediace kompostem v italské těžební oblasti zlepšila půdní vlastnosti jako je velikost vytvářených půdních agregátů a pórovitost. Zlepšení půdních vlastností může působit jako prevence rozptýlení kontaminantů, protože přídavek kompostu zvyšuje odolnost půdních agregátů vůči erozním jevům. Přídavek kompostu zvýšil půdní úrodnost, což se projevilo na růst jílku vytrvalého (*Lolium perenne*) a kostravy luční (*Festuca pratensis*) a dále vedl ke snížení obsahu Zn a Pb v jejich stoncích a listech (Rizzi et al., 2004).

Rhizosférní modifikace

Organické přídatky v půdě prokazatelně ovlivňují chemické (pH, organické kyseliny, složení půdního roztoku) a biologické (mikrobiální komunita) ukazatele. Změny v chemických parametrech půdy způsobené organickým přídatkem či rostlinou mohou ovlivnit transformaci, mobilitu a biologickou dostupnost kovů (Perez et al., 2006; Caravaca et al., 2005; Santibanez, 2008).

Aplikace organických přídatků mohou často snižovat pH v rhizosféře. Toto okyselení lze přisoudit kombinaci mechanismů: rovnováha iontové výměny, uvolnění organických kyselin, vypouštění kořenových exudátů a respirace, oxidačně redukční procesy zahrnující změny v oxidačním čísle Fe, Mn a N (Hinsinger et al., 2003).

„Rhizodepozice“ je označení pro zavádění uhlíkatých sloučenin a živin ve formě rozpustných exudátů, sekretů, lyzátů, plynů a slizů do rhizosféry kořeny rostlin (Grayston et al., 1997). Organické sloučeniny jako jsou sacharidy, karboxylové kyseliny a aminokyseliny přitahují MO a hrají tak hlavní roli v růstu MO v rhizosféře (Lynch a Whipps, 1990). Vyměšování uhlíkatých sloučenin může ovlivnit chování těžkých kovů (Tao et al., 1990). Některé nízkomolekulární sloučeniny uvolňované kořeny (AK, karboxylové kyseliny, cukry atd.) mohou utvářet s kationty kovů stabilní komplexy a přímo tak ovlivňovat dostupnost kovů v rhizosféře. Rostlina vyměšuje kořenové exudáty při stresu z nedostatku minerálů a z toxikantů (Johnes, 1998).

Vzhledem k tomu, že mikrobiální rhizosférní společenstva jsou silně ovlivněna rostlinnými výměškami, lze předpokládat, že si rostliny dle potřeby vybírají společenstvo ve své rhizosféře (Singh et al., 2007). Bylo prokázáno, že na vegetací osázených půdách oproti těm bez vegetace, je vyšší koncentrace rozpustných forem Cu, Zn a Pb, které mohou způsobovat rozpustné komplexy, které prvky vytvářejí s organickými exudáty nebo sdruženými MO. Vyplývá z toho, že kořeny rostlin ve spolupráci s půdními mikroby mohou biologickou dostupnost těžkých kovů zvyšovat.

Některé prokaryotické i eukaryotické organismy dokáží produkovat extracelulární polymerní látky typu polysacharidů, glykoproteinů, sideroforů, lipopolysacharidů, peptidů atd., které disponují značným množstvím funkčních skupin reagujících s kovy (Park, 2010).

Pro fytořemediaci jsou limitujícími faktory hlavně špatný růst a vývoj kořenů v kontaminované půdě. Překonání těchto problémů lze řešit podporou mikrobiální aktivity v rhizosféře organickými přídatky. Výsledky prací Rajkumar et al., 2006;

Ma et al., 2009 prokazují, že inokulace bakterií podporujících svými výměškami růst rostlin usnadnila růst a zvýšila příjem kovů rostlinou.

V půdě mohou mít těžké kovy dlouhodobé toxické vlivy na funkci ekosystémů. Je známo, že akumulace kovů redukuje množství mikrobiální biomasy a různé enzymatické aktivity vedoucí ke snižování rozmanitosti půdních ekosystémů a změnám struktury mikrobiálních společenstev. Navzdory tomu vede expozice těchto toxikantů v půdě k rozvoji MO tolerantních k těžkým kovům (Ellis et al., 2003).

3.2.3 Mechanismy bioremediace těžkých kovů v půdě

Adsorpce a komplexace

Sorpce je významným procesem, který ovlivňuje biologickou dostupnost. Adsorpce označuje druh sorpce, při které dochází k tvorbě komplexů a jinak přitahovaných látek na povrchu částice. Adsorpci lze rozdělit na specifickou a nespecifickou. Nespecifická adsorpce je proces, při kterém jsou ionty kovů přitahovány elektrostaticky k opačně nabitým částicím a nahrazují stejně nabité ionty. Specifická adsorpce spočívá ve tvorbě chemických vazeb mezi kontaminantem a funkčními skupinami, kterými disponuje povrch půdní částice (Sposito, 1984). Adsorpce těžkých kovů závisí především na pH, dále na zastoupení půdních složek, kam patří jíly, organická hmota a oxidy železa a manganu (Merdy et al., 2009). S rostoucím pH půdy, H^+ ionty disociují z funkčních skupin (karboxylové, hydroxylové, karbonylové atd.) čímž zvýší afinitu ke kationtům kovů. Půdní organická hmota má vysokou afinitu pro kovové kationty díky přítomnosti ligandů a funkčních skupin na svém povrchu (Harter et al., 1995). Afinita kovů k organické hmotě je následující $Cu^{2+} > Hg^{2+} > Cd^{2+} > Fe^{2+} > Pb^{2+} > Ni^{2+} > Co^{2+} > Mn^{2+} > Zn^{2+} > As^{(V)} > As^{(III)}$ (Takamatsu et al., 1983).

Biosorpce je termín spojovaný se sorbováním těžkých kovů na povrchu MO či rostlinných pletiv. Jedná se o rychlý remediační proces, který nevyžaduje energetickou stimulaci a je tedy nezávislý na metabolismu MO. Uskutečňuje se především komplexací povrchových struktur buňky, iontovou výměnou a mikroprecipitací. Buněčná stěna tady funguje jako komplexní iontoměnič, její složení se u různých skupin MO liší a liší se také množství sorbovaných kovů (Horáková, 2006).

Precipitace

Precipitace neboli srážení je důležitý proces při imobilizaci těžkých kovů za přítomnosti aniontů, jako je síran, uhličitán, hydroxid a fosfát, při vysokém pH a vysoké

koncentraci polutantu (Adriano, 2001). Stejně tak i ko-precipitace ve formě solí, obzvláště za přítomnosti Fe a Al hydroxidů. Srážení s hydroxidy patří k nejvíce využívaným a účinným metodám odstraňování kontaminace těžkými kovy (Tunay et al., 1994).

Methylace

Methylace je považována za hlavní proces volatilizace (uvolnění látky z pevné nebo kapalné fáze do fáze plynné) arsenu a rtuti, což vede k uvolnění toxických plynů do atmosféry. Mimo to je methylace významným procesem detoxikace těžkých kovů. Podstatou methylace je schopnost některých MO syntetizovat alky- a arylalkylsloučeniny (Tesařová et al., 2010). Ačkoliv k methylaci dochází chemickou i biologickou cestou, za dominantní je považována biologická methylace. Thayer a Brickham (1982) rozdělují biomethylaci na transmethylaci a na štěpení. U transmethylace je přenesen neporušený methyl z methylového donoru na jinou sloučeninu, zatímco u štěpení se převádí molekuly jako formaldehyd či kyselina mravenčí ze zdroje methylu na jinou sloučeninu a poté se získaná skupina redukuje na methylovou.

Bioakumulace

Neboli také vnitrobuněčná akumulace je schopnost organismů, rezistentních k vysokým koncentracím těžkých kovů, akumulovat je ve svém těle. Je to proces závislý na metabolické aktivitě buněk. Při tomto ději dochází nejprve k přichycení kovu na strukturu buněčné stěny a následuje jeho transport dovnitř buňky za spotřeby energie, kde se dále váže na vnitrobuněčné struktury, dojde k precipitaci či methylaci. MO i některé vyšší organismy reagují na zvýšenou koncentraci kovů v prostředí syntézou metalothioneinů (polypeptid) nebo proteinů bohatých na cystein, na jehož skupinu SH se kationty kovů vážou. Vazba na vnitrobuněčné sloučeniny probíhá nejčastěji na biomembránách, proto je tento proces efektivnější u eukaryontních organismů než u prokaryontních. Pokud dochází k precipitaci, nacházejí se kovy v cytoplasmě ve formě sraženin (Horáková, 2006; Tesařová et al., 2010).

3.2.4 Účinnost organických přídatků na bioremediaci

Aplikace vedlejších komunálních a průmyslových produktů opakovaně prokázaly zlepšení půdní úrodnosti a dalších půdních podmínek (Brown et al., 2000). Organické přídatky byly výhodné především pro rostliny a MO na kyselých půdách a na půdách

chudých na živiny (Gallardo-Lara, 1987), ale byla prokázána zvýšená produktivita i na alkalických zasolených či vápnatých půdách po aplikaci organické hmoty (Casado-Vela et al., 2006). Organické přídatky jsou zdrojem mikronutrientů a často mají střední až vysokou pufrací schopnost. Snížení dostupnosti olova kompostem nebo stabilizovaným organickým odpadem bylo prokázáno v několika případech (Farfel et al., 2005; Ryan et al., 2004).

Navzdory prokázaným úspěchům, přetrvává problém spojený s dlouhodobou imobilizací organickými přídatky, které podléhají rozkladu. Literatura opakovaně uvádí, že při rozkladu organického materiálu mohou být imobilizované anorganické polutanty znovu mobilizovány (McBride, 2003). Míra rozkladu organických přídatků závisí na původu a zpracování materiálů před jejich aplikací na kontaminované oblasti. Kompostování je běžně využívaná metoda k rozkladu organické hmoty a zvýšení její humifikace. Právě úroveň humifikace byla prokázána jako hlavní faktor dlouhodobé stability organických odpadů a v některých případech i sorpce kovů (Francou et al., 2008; Han a Thomson, 1999).

3.2.5 Kompost jako remediační půdní přídatek

V námi řešeném experimentu je jako organický přídatek zvolen kompost. Kompost je produktem aerobního procesu, při kterém je organický materiál z části mineralizován až na oxid uhličitý a vodu a zároveň dochází k jeho humifikaci, tedy syntéze makromolekulárních organických látek a jejich následné polykondenzaci. Výsledné humusové látky jsou tvořeny především huminovými kyselinami a fulvokyselinami. Molekulová hmotnost huminových kyselin se pohybuje okolo 50000 – 300000, nejsou pohyblivé v půdním profilu a prakticky nerozpustné. Jejich přítomnost podmiňuje záporný náboj, který umožňuje poutání kationtů těžkých kovů. Huminové kyseliny se aktivně spoluúčastní na stavbě půdního sorpčního komplexu a vytváření půdních agregátů. Fulvokyseliny se na rozdíl od huminových vyznačují světlejší barvou, molekulovou hmotností 200 – 50000 a jsou rozpustné a pohyblivé. S těžkými kovy vytvářejí pohyblivé cheláty (Tesařová et al., 2010; Jandák, 2001).

Proces kompostování, jehož výsledným produktem je dále využitelný substrát ve formě kompostu, musí probíhat za určených podmínek, jejichž dodržení musí být monitorováno. Nezbytnou podmínkou pro hygienizaci kompostu je udržování teploty 55 – 60 °C po dobu 3 – 5 dnů, aby došlo k trvalé inaktivaci patogenních MO, ale

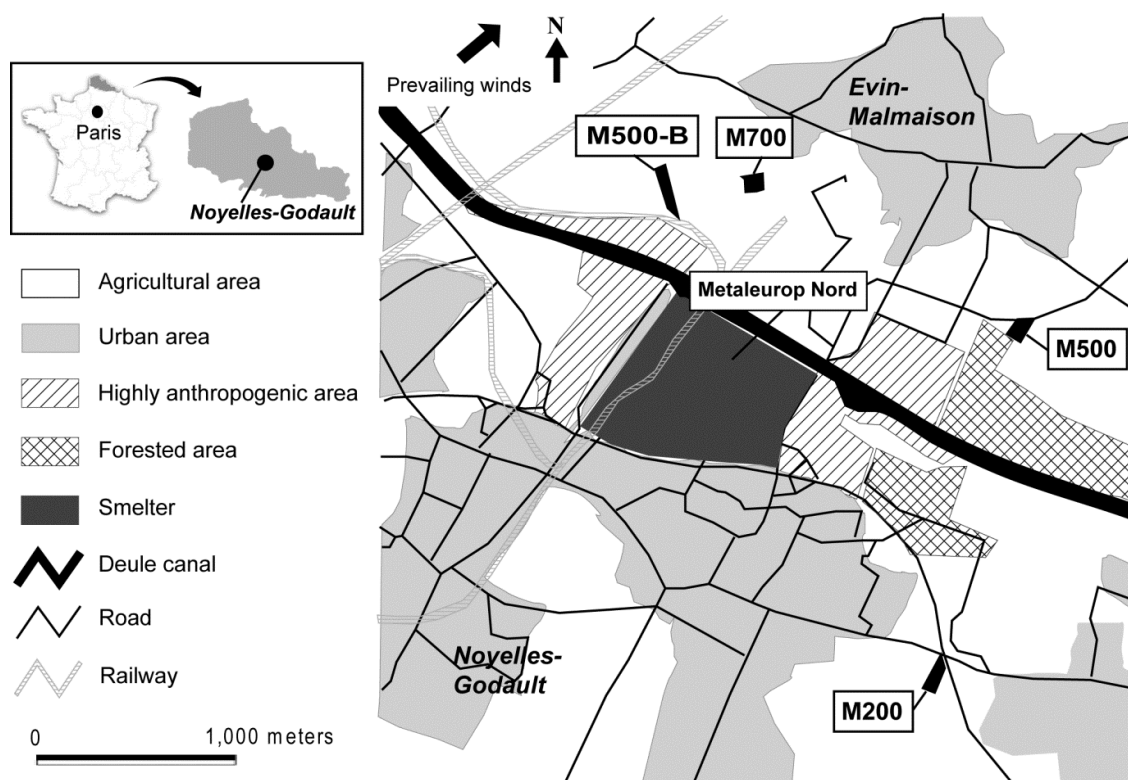
i vajíček škůdců a semen plevelů. Pravidelné překopávání zajišťuje promíchání a provzdušnění, které MO zprostředkovává dostatek kyslíku, a zároveň jsou odváděny plyny, které mohou vznikat při anaerobních procesech. Vlhkost kompostovaného materiálu by se po celý průběh kompostovacího procesu měla pohybovat okolo 50 - 60 %.

Výsledné charakteristiky, které musí kompost splňovat, vychází z normy ČSN 46 5735/1991. Ty udávají, že vlhkost kompostu se musí pohybovat v rozmezí 40 – 65 %, celkový obsah spalitelných látek musí být minimálně 25 %, minimální obsah dusíku 0,6 % a poměr C:N nesmí přesáhnout 30:1. Neutrální pH 6,0 – 8,0 je další požadavkem, který musí vyzrálý kompost splnit, stejně jako maximální zastoupení nerozložitelných příměsí, které nesmí přesáhnout 2 %. Kritérium, které musí výsledný kompost bezvýhradně splňovat, jsou maximální přípustné počty patogenních a potencionálně patogenních MO. Nejsou přípustné žádné bakterie rodu *Salmonella* a celkové počty enterokoků a koliformních bakterií nesmí přesáhnout 10^3 KTJ v 1g kompostu.

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Základní charakteristika a původ testovaných půd

K nejčastěji kontaminovaným půdám patří ty z okolí hutí a vysokých pecí. K takovým se řadí i půdy, které byly předmětem našeho experimentu. Půdy pocházejí z oblasti Noyelles-Godault v severní Francii, kde byly od roku 1894 vystavovány depozicím atmosférických emisí pocházejících z huti na výrobu olova a zinku jménem Metaleurop. Kromě prachu odcházejícího z výroby, byla zdrojem emisí také struska, která byla hromaděna vedle huti a po dosažení výšky 50 m byla překryta vrstvou zeminy, aby došlo k snížení větrné eroze.



Obr. 2 Lokalizace zemědělských parcel, ze kterých byly odebrány vzorky (Nsanganwimana F., 2014), (agricultural area – zemědělská plocha; urban area – městská plocha; highly antropogenic area – silně antropogenizovaná plocha; forested area – lesní plocha; smelter – huť; Deule canal – kanál Deule; road – silnice; railway – železnice)

Hlavními polutanty okolních půd byly Pb, Cd a Zn. V menší míře se na kontaminaci podílely také prvky: Ag, As, Bi, Cu, Hg, In, Ni, Sb, Se, Sn a Tl. Poté co byla v březnu roku 2003 huť uzavřena, přetrvával jako zdroj kontaminace vrcholek struskové haldy, který nebyl kompletně zakryt ochrannou vrstvou zeminy (Douay, 2008).

Vzorky byly odebírány ze zemědělských půd v rozdílných vzdálenostech od zdroje kontaminace. Výběr lokalit pro odběr vzorků byl volen tak, aby byla reprezentována co nejširší stupnice kontaminace těžkými kovy. Na Obr. 2 jsou vyznačena odběrová místa s označením M200, M500 a M700, přičemž číslo vzorku představuje úroveň kontaminace Pb v $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Postup odběru vzorků byl proveden dle normy ISO 10381. Odběr vzorků a stanovení půdních parametrů bylo provedeno zaměstnanci ISA Group (laboratoř Equipe Sols et Environment – Génie Civil et géoEnvironnement) v Lille.

Experimentu byly podrobeny vzorky 4 půd:

- 1) M2007 – nekontaminovaný kontrolní vzorek
- 2) M200 – půda kontaminovaná cca $200 \text{ mg Pb} \cdot \text{kg}^{-1}$
- 3) M500 – půda kontaminovaná cca $500 \text{ mg Pb} \cdot \text{kg}^{-1}$
- 4) M700 – půda kontaminovaná cca $800 \text{ mg Pb} \cdot \text{kg}^{-1}$

Vzorky byly odebírány z povrchové vrstvy (0 – 25 cm). Odběrům následovalo sušení za pokojové teploty a dále byly půdy prosety 10 mm sítí. Před dalším použitím byly půdy uloženy do plastových nádob a umístěny v suché komoře.

Výchozí parametry vzorků jsou uvedeny v Tab. 4. Vzorky byly připraveny dle normy ISO 11464. Parametry byly zjišťovány dle metodik akreditovaných francouzských laboratoří a dle norem ISO.

Tab. 4 Parametry půdních vzorků

Parametry	Jednotka	Půdní vzorky			
		M2007	M200	M500	M700
Granulometrie					
Jíl	$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$199,70 \pm 32,40^b$	$212,70 \pm 47,20^b$	$311,00 \pm 19,31^a$	$195,33 \pm 20,43^b$
Jemný prach	$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$265 \pm 0,00^a$	$177,30 \pm 18,50^b$	$183,00 \pm 20,80^b$	$180,33 \pm 3,21^b$
Hrubý prach	$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$425 \pm 13,07^a$	$321,00 \pm 70,53^b$	$338,70 \pm 17,60^b$	$350,33 \pm 22,20^b$
Jemný písek	$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$104,7 \pm 17,93^c$	$259,00 \pm 34,51^a$	$146,70 \pm 46,23^{bc}$	$234,00 \pm 10,44^a$
Hrubý písek	$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$5,70 \pm 1,53^c$	$30,00 \pm 7,81^{ab}$	$20,70 \pm 6,10^b$	$40 \pm 3,00^a$
Agromické ukazatele					
Organický C	$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$8,90 \pm 5,60^c$	$16,40 \pm 1,84^b$	$35,00 \pm 1,61^a$	$18,23 \pm 0,35^b$
SOM	$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$15,02 \pm 9,72^c$	$28,30 \pm 3,16^b$	$61,70 \pm 2,90^a$	$31,60 \pm 0,70^b$
Dusičnanový N	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$2,04 \pm 0,86$	$1,09 \pm 0,66$	$1,77 \pm 0,39$	$3,27 \pm 0,96$
Amoniakální N	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$2,59 \pm 1,58$	$1,32 \pm 0,13$	$< 0,64$	$< 0,62$
Celkový N	$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$0,90 \pm 0,53^b$	$1,22 \pm 0,08^b$	$2,8 \pm 0,15^a$	$1,20 \pm 0,03^b$
C/N		$9,30 \pm 0,91^c$	$13,40 \pm 0,70^b$	$12,83 \pm 0,12^b$	$15,23 \pm 0,40^a$
pH/H ₂ O		$6,13 \pm 0,62^b$	$7,76 \pm 0,50^a$	$7,96 \pm 0,03^a$	$8,20 \pm 0,08^a$
CaCO ₃	$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\leq 1,10^c$	$7,73 \pm 7,91^{bc}$	$22,73 \pm 2,80^a$	$10,15 \pm 3,32^b$
P ₂ O ₅	$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$0,13 \pm 0,05^{ab}$	$0,16 \pm 0,02^a$	$0,11 \pm 0,03^b$	$0,16 \pm 0,01^a$
KVK	$\text{cmol}^+ \cdot \text{kg}^{-1}$	$10,00 \pm 2,33^c$	$16,33 \pm 4,00^b$	$32,83 \pm 1,33^a$	$14,90 \pm 1,60^b$
Ca ²⁺	$\text{cmol}^+ \cdot \text{kg}^{-1}$	$9,97 \pm 2,60^c$	$17,16 \pm 3,50^b$	$33,93 \pm 1,15^a$	$16,63 \pm 1,50^b$
Mg ²⁺	$\text{cmol}^+ \cdot \text{kg}^{-1}$	$0,50 \pm 0,12^c$	$0,72 \pm 0,27^{ab}$	$1,00 \pm 0,22^a$	$0,61 \pm 0,07^{bc}$
Na ⁺	$\text{cmol}^+ \cdot \text{kg}^{-1}$	$0,06 \pm 0,02^{ab}$	$0,04 \pm 0,01^c$	$0,07 \pm 0,02^a$	$0,08 \pm 0,02^a$
K ⁺	$\text{cmol}^+ \cdot \text{kg}^{-1}$	$0,26 \pm 0,04^c$	$0,75 \pm 0,10^a$	$0,63 \pm 0,17^{ab}$	$0,60 \pm 0,04^b$
Volné Fe	$\text{cmol}^+ \cdot \text{kg}^{-1}$	$0,01 \pm 0,01^a$	$0,01 \pm 0,00^a$	$0,01 \pm 0,00^a$	$0,01 \pm 0,00^a$
Mn ²⁺	$\text{cmol}^+ \cdot \text{kg}^{-1}$	$0,04 \pm 0,02^a$	$\leq 0,02^b$	$\leq 0,01^b$	$\leq 0,01^b$
Al ³⁺	$\text{cmol}^+ \cdot \text{kg}^{-1}$	$0,20 \pm 0,20^a$	$0,03 \pm 0,01^a$	$0,03 \pm 0,00^a$	$0,04 \pm 0,01^a$
Koncentrace rizikových prvků					
Pb total	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$20,10 \pm 3,02^d$	$214,50 \pm 23,53^c$	$531,6 \pm 45,70^b$	$730,60 \pm 67,40^a$
Cd total	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$0,22 \pm 0,06^d$	$3,80 \pm 0,55^c$	$9,70 \pm 0,70^b$	$14,13 \pm 1,40^a$
Zn total	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$61,50 \pm 1,60^d$	$330,30 \pm 43,32^c$	$583,50 \pm 49,30^b$	$999,76 \pm 87,80^a$
Cu total	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$15,80 \pm 1,07^c$	$19,4 \pm 1,14^b$	$35,23 \pm 1,60^a$	$36,83 \pm 1,12^a$
Cr total	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$60,3 \pm 8,3^b$	$62,0 \pm 8,4^b$	$72,7 \pm 2,2^a$	$61,1 \pm 3,06^b$
Co total	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$10,5 \pm 1,2^a$	$9,6 \pm 0,8^{ab}$	$10,7 \pm 0,8^a$	$9,3 \pm 0,7^b$
Ni total	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$24,2 \pm 4,6^{bc}$	$19,9 \pm 2,2^c$	$31,4 \pm 1,3^a$	$20,0 \pm 1,9^c$
Ti total	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$0,5 \pm 0,04^a$	$0,5 \pm 0,01^a$	$0,7 \pm 0,05^c$	$0,7 \pm 0,05^c$
Mo total	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$0,5 \pm 0,08^a$	$0,5 \pm 0,05^{ab}$	$0,7 \pm 0,05^b$	$0,5 \pm 0,01^a$

4.2 Vlastnosti použitého kompostu

Jako substrát použitý v experimentu byl zvolen kompost „Černý drak“ certifikovaný pro zemědělské použití (číslo registrace: 3372) podle zákona č. 156/1998 Sb., o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech), v platném znění.

Parametry kompostu jsou uvedeny v Tab. 5. Aktivní (H_2O) a potenciální ($CaCl_2$) pH bylo určeno dle ČSN ISO 10390. Obsah přístupných živin P, K, Ca a Mg byl určen podle metodiky Mehlich III. Stanovení organického uhlíku bylo provedeno podle NF X 31-109 a Cai et al. (2011) a celkový uhlík podle Nelson & Sommers (1996). Celkový obsah dusíku se stanovil dle Bremner (1996) a $CaCO_3$ podle ČSN ISO 10693. Obsahy vybraných těžkých kovů (Cd, Pb, Zn) v kompostu byly určeny, jako pseudo-totální koncentrace viz kapitola 4.4.5.

Tab. 5 Parametry kompostu

Kompost		
parametr	jednotka	hodnota
pH/ H_2O		8,06
pH/ $CaCl_2$		7,41
P	$mg \cdot kg^{-1}$	565,23
K	$mg \cdot kg^{-1}$	6422,00
Ca	$mg \cdot kg^{-1}$	11235,00
Mg	$mg \cdot kg^{-1}$	1255,00
C_{org}	$g \cdot kg^{-1}$	141,92
C_{tot}	$g \cdot kg^{-1}$	166,53
N_{tot}	$g \cdot kg^{-1}$	15,93
C/N		10,45
$CaCO_3$	$g \cdot kg^{-1}$	73,39
Cd	$mg \cdot kg^{-1}$	0,89
Pb	$mg \cdot kg^{-1}$	1,85
Zn	$mg \cdot kg^{-1}$	3139,06

4.3 Monitorovací rostlina Locika setá (*Lactuca sativa* L.)

Biologicky dostupné množství těžkých kovů je demonstrováno na monitorovací rostlině, již je salát Locika setá neboli salátová (*Lactuca sativa* L.) z čeledi

hvězdnicovitých (*Asteraceae*). Plodina patří mezi běžně pěstovanou listovou zeleninu, u které je sledována zvýšená akumulární schopnost těžkých kovů (Stauerbeck, 1991) a jejich translokace do nadzemních pletiv (Peijnenburg, 2000). Zároveň je volena i pro svůj krátký vegetační cyklus, proto byla vybrána jako indikační plodina pro náš krátkodobý experiment.

4.4 Schéma laboratorního experimentu

Experiment diplomové práce měl za cíl prověřit hypotézu, že aplikace kompostu povede ke snížení biologické dostupnosti těžkých kovů z kontaminované půdy do rostliny, která je určena k přímé konzumaci člověkem. Uvedená hypotéza byla testována za využití nádobového experimentu, ve kterém byl pěstován jako indikační plodina salát (*Lactuca sativa* L.) v kontaminovaných půdách s a bez přídavku kompostu a v kontrolní nekontaminované půdě.

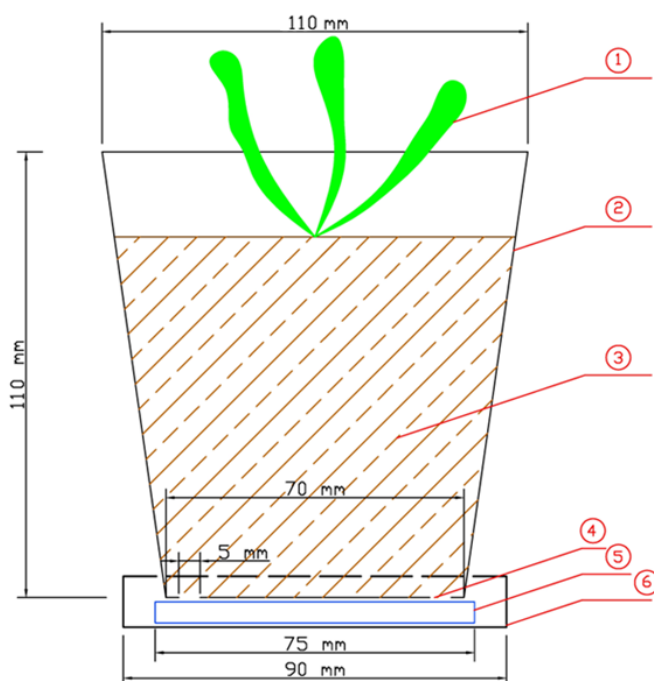
Celkem bylo připraveno 24 experimentálních nádob (viz Obr. 3), tři kontaminované půdy plus kontrola bez přídavku kompostu vždy ve třech opakováních a obdobně bylo založeno dalších 12 nádob s přídavkem kompostu. Dávka kompostu představovala běžně aplikované množství $5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$ do hloubky 15 cm (podle ČSN EN 46 5735 – průmyslové komposty). Pro náš případ byl květináč naplněn do výšky 9 cm a povrch činil 121 cm^2 . Přepočtená dávka kompostu tedy byla 36,3 g. Strukturu experimentu shrnuje Tab. 6.

Příprava půdy spočívala v jejím prosetí přes síto 5 mm a důkladné homogenizaci (Obr. 5). Následně byla umístěna do nádob opatřených geotextilií (Obr. 4). Schéma pokusné nádoby s rozměry uvádí Obr. 3. Pro varianty s kompostem bylo vždy naváženo stanovené množství daného vzorku půdy pro 3 nádoby a homogenizováno s trojitou dávkou kompostu. Připravený substrát byl poté rozdělen do 3 nádob.

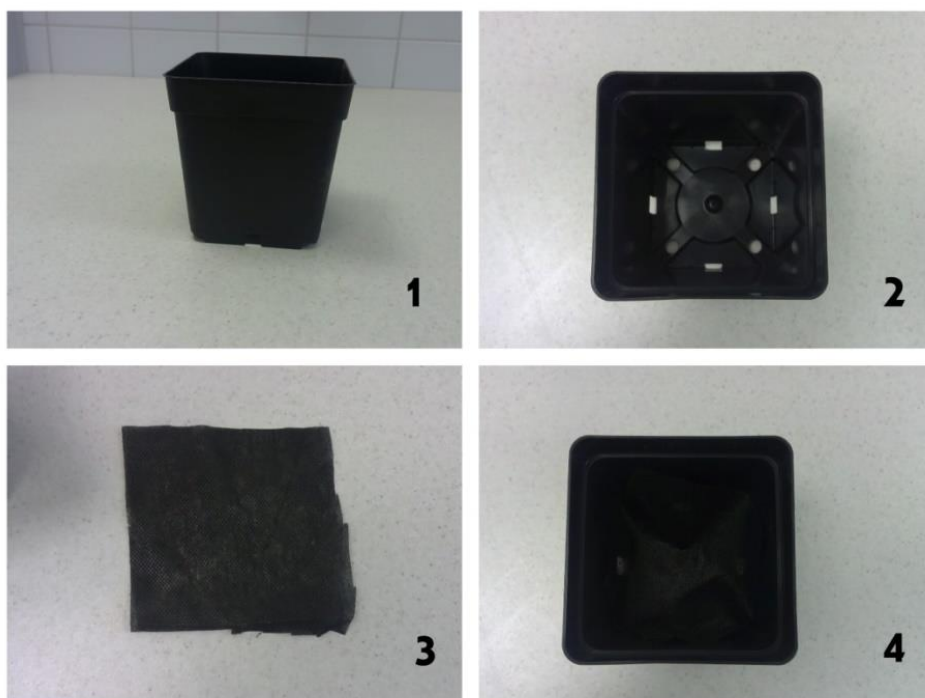
Každá nádoba byla naplněna půdou, nasycena vodou (250 ml) a bylo do ní zaseto přibližně 10 semen salátu (Obr. 5).

Tab. 6 *Varianty experimentu*

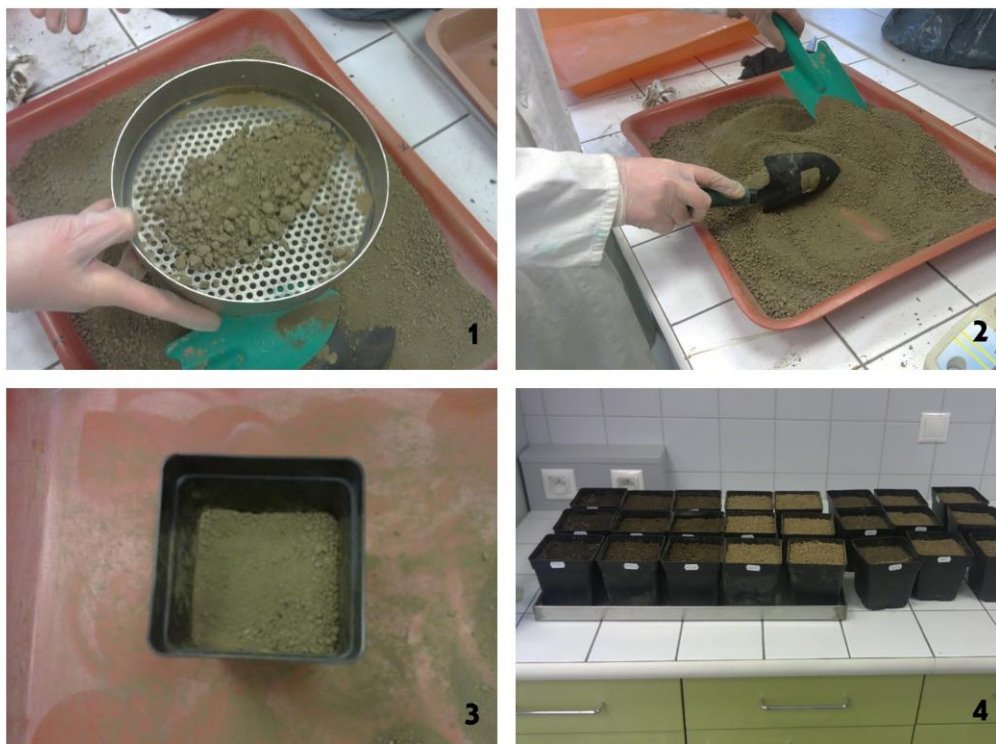
Druh půdy	charakteristika	počet	množství substrátu v nádobě (půda + kompost)
M2007	nekontaminovaný, kontrolní vzorek	3x	900 g
M2007 + K	kontrolní vzorek s přidavkem kompostu (5 kg · m ⁻²)	3x	863,7 + 36,3 g
M200	půda kontaminovaná cca 200 mg Pb · kg ⁻¹	3x	900g
M200 + K	kontaminace 200 mg Pb · kg ⁻¹ s přidavkem kompostu (5 kg · m ⁻²)	3x	863,7 + 36,3 g
M500	půda kontaminovaná cca 500 mg Pb · kg ⁻¹	3x	900g
M500 + K	kontaminace 500 mg Pb · kg ⁻¹ s přidavkem kompostu (5 kg · m ⁻²)	3x	863,7 + 36,3 g
M700	půda kontaminovaná cca 800 mg Pb · kg ⁻¹	3x	1000g
M700 + K	kontaminace 800 mg Pb · kg ⁻¹ s přidavkem kompostu (5 kg · m ⁻²)	3x	963,7 + 36,3 g



Obr. 3 *Pokusná nádoba* (upraveno podle: Elbl et al., 2014a): 1 – indikační rostlina (salát setý, *Lactuca sativa* L.); 2 – plastový kontejner (PVC); 3 – půdní vzorek; 4 – výtokové otvory; 5 – plastový disk s IER; 6 – skleněná petriho miska

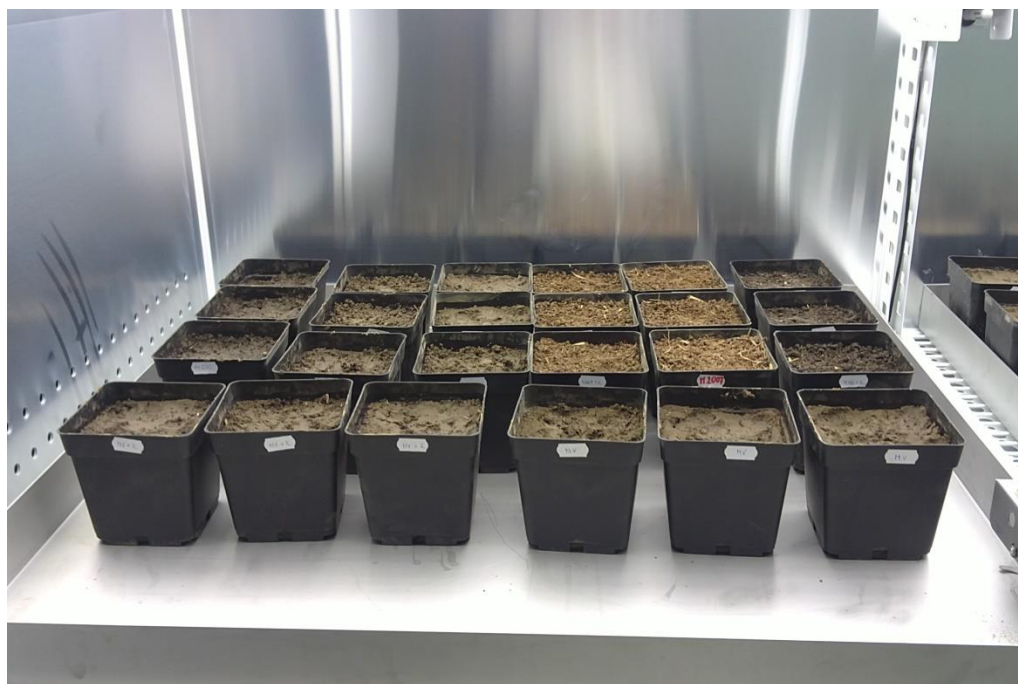


Obr. 4 *Pokusná nádoba*: 1 – pohled zepředu; 2 – pohled shora; 3 – geotextilie; 4 - nádoba s geotextilií



Obr. 5 *Příprava půdy*: 1 – prosévání; 2 – homogenizace; 3 – plnění nádob; 4 – nádoby připravené k osetí indikační plodinou

Po zasetí byly nádoby umístěny do růstové komory neboli fytotronu (Obr. 6), kde byly za stanovených podmínek: denní režim 12 hodin; začátek dne 6:00; konec dne 18:00; teplota přes den 20 °C; vlhkost přes den 67 %; intenzita světla 380 mmol/m·s; teplota v noci 18 °C; vlhkost v noci 71 %, ponechány 7 týdnů. Květináče byly zalévány 3x týdně cca 60 ml demineralizované vody.



Obr. 6 Nádoby experimentu uložené ve fytotronu

Kromě **obsahu těžkých kovů v půdách a rostlinné biomase** (po ukončení experimentu) byl sledován také **únik minerálního dusíku** (N_{\min}) pomocí iontoměničových disků umístěných pod pokusnými nádobami po celý průběh experimentu. Velikost úniku N_{\min} má sloužit jako ukazatel úrovně vyplavování dusíku vzhledem k přidavku kompostu. Dále byla měřena kumulativní vodní **infiltrace** pro každou experimentální nádobu, která soužší jako přímý ukazatel úrovně půdní hydrofobicity .

Po uplynutí 7 týdnů byl experiment ukončen. Půdní vzorky byly vyjmuty z pokusné nádoby, byla vyňata podzemní a nadzemní biomasa, která byla v papírových vzorkovnicích usušena v laboratorní sušárně. Podzemní biomasa – kořeny byly promyty na sítu a zbaveny substrátu. Z každého vzorku byly před sušením odebrány vlásečnicové kořeny pro **sledování mykorrhizy**. Substrát (půdní vzorek) byl v

množství cca 500 g uložen v PE sáčcích do lednice (Obr. 7). U **nadzemní i podzemní biomasy** byla určena její hmotnost. Zemina byla podrobena testu **bazální a substrátem indukované respirace**.



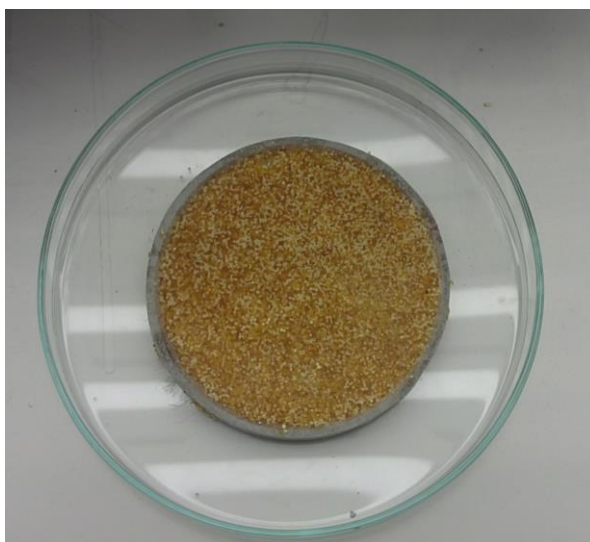
Obr. 7 *Rozebírání pokusných nádob* (1 - vyklopený obsah nádoby; 2 - uložení a označení biomasy; 3 - uložení a označení zeminy)

4.4.1 Sledování mobility dusíku

Pro stanovení pohybu amonného ($\text{NH}_4^+ - \text{N}$) a nitrátového ($\text{NO}_3^- - \text{N}$) dusíku byly pod nádoby umístěny disky (Obr. 8) s průměrem 75 mm a výškou 5 mm potažené polyamidovou síťovinou, které byly naplněny iontoměničovou směsí katexu (-) a anexu (+) (1:1), tj. pryskyřicovými zrny s aktivním povrchem, která mají schopnost vázat sledované ionty a jsou vyráběny společností Purolite Company: Anex (AER) má schopnost vázat záporně nabitě ionty např. NO_3^- , protože funkční skupina anexu má kladný náboj. Aby mohl přijmout anex iont, musí ze své struktury uvolnit jiný. Nejčastějšími uvolňovanými ionty (tzv. proti-ionty) ze struktury anexu jsou hydroxidové (OH^-) nebo chloridové (Cl^-) anionty. V experimentu byla použita makroporézní silně zásaditá pryskyřicová zrna AER – A520E s celkovou kapacitou

0,9 eq/l. Katex (CER) má schopnost vázat kladně nabitě ionty, protože jeho funkční skupina má záporný náboj. Pro přijetí kladně nabitého iontu např. NH_4^+ , musí katex ze své struktury uvolnit jiný kladně nabitý proti-iont, například vodíkový (H^+) nebo sodíkový kation (Na^+). CER využitý v experimentu tvořila gelová silně kyselá zrna – C100E s celkovou kapacitou 1,9 eq/l (Elbl et al., 2013).

Směs iontoměničů byla kondiciována 10% roztokem NaCl, aby získala proti-ionty, které dále mohly být vytěsňovány ionty NH_4^+ a NO_3^- z roztoku opouštějícího pokusnou nádobu. Disky byly umístěny pod nádoby do petriho misky, což je schematicky zobrazeno na Obr. 3.



Obr. 8 *Iontoměničový disk v petriho misce*

Po skončení pokusu byly disky rozloženy na filtrační papír, po dobu 7 dnů byly ponechány k vyschnutí za pokojové teploty 18 °C. Zachycené amonné a nitrátové ionty byly extrahovány vytřepáním v roztoku 1,7 M NaCl. Takto extrahovány byly stanoveny destilačně titrační metodou podle Poeples et al. (1989).

4.4.2 Měření kumulativní vodní infiltrace – stanovení nenasycené hydraulické vodivosti za účelem hodnocení míry půdní hydrofobicity

Měření kumulativní infiltrace bylo prováděno za využití Mini-disk infiltrometru (Obr. 9). Samotný princip měření a výpočet popisuje Elbl (2014): „Hodnocení míry půdní hydrofobicity je prováděno porovnáním hodnot nenasycené hydraulické vodivosti, které byly vypočítány podle vztahu (1) na základě hodnot kumulativní vodní infiltrace.

Infiltrace byla měřena podle Robichaud et al. (2008) za využití kruhového (diskového) infiltrometru (typ: Mini Disk Infiltrometer Decagon Devices, Inc.). Právě hydraulická vodivost může být použita jako hlavní indikátor půdní hydrofobicity, což potvrzují různé vědecké práce Wahl et al. (2003), Robichaud et al. (2008). Hlavní důsledek vysoké hydrofobicity je vliv na infiltraci a zadržení vody v půdním prostředí. Vysoká půdní hydrofobicita znemožňuje infiltraci - hydraulická vodivost je nižší a naopak. Uvedený jev byl prokázán a popsán například v pracích Lichner et al. (2007a, 2007b) a Robichaud et al. (2008)“.

Výpočet nenasyčené hydraulické vodivosti, který uvádí Elbl (2014):

$$K = C_1/A \quad (1)$$

Kde: C_1 je úhel sklonu křivky kumulativní infiltrace a druhé odmocniny času, hodnota A vychází z van Genuchtenových parametrů. Výpočet byl ověřen v pracích Lichner et al. (2007a, 2007b) a publikován Elbl et al. (2014a, 2014b).

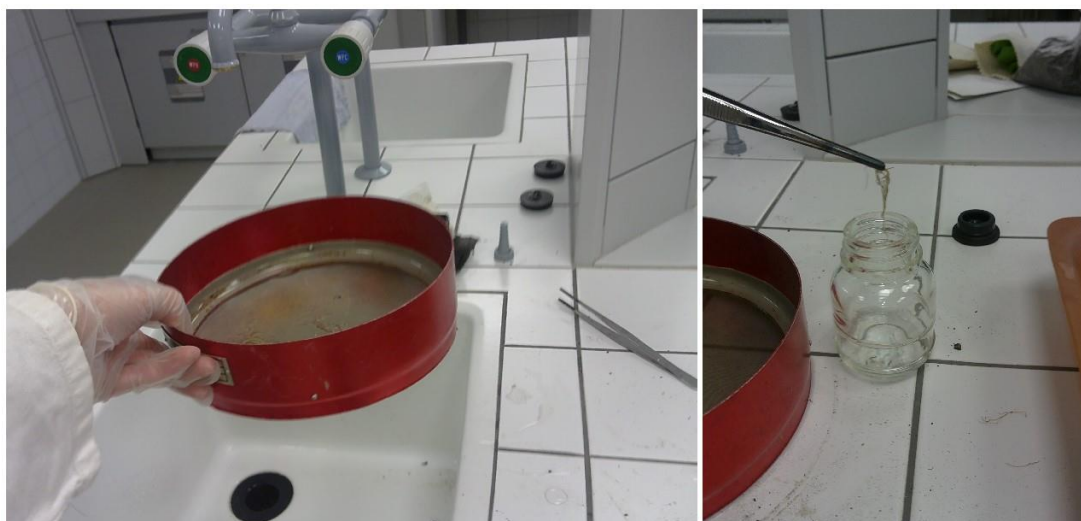


Obr. 9 Měření infiltrace

Hydrofobicita má přirozený vliv na půdní strukturu, stabilitu půdních agregátů a dostupnost živin/polutantů pro rostliny. Existuje tak předpoklad, že zvýšená míra půdní hydrofobicity způsobená aplikací kompostu by mohla ovlivnit příjem živin a především těžkých kovů rostlinou, proto byla její úroveň sledována v průběhu experimentu.

4.4.3 Sledování přítomnosti a četnosti arbuskulární mykorhizy

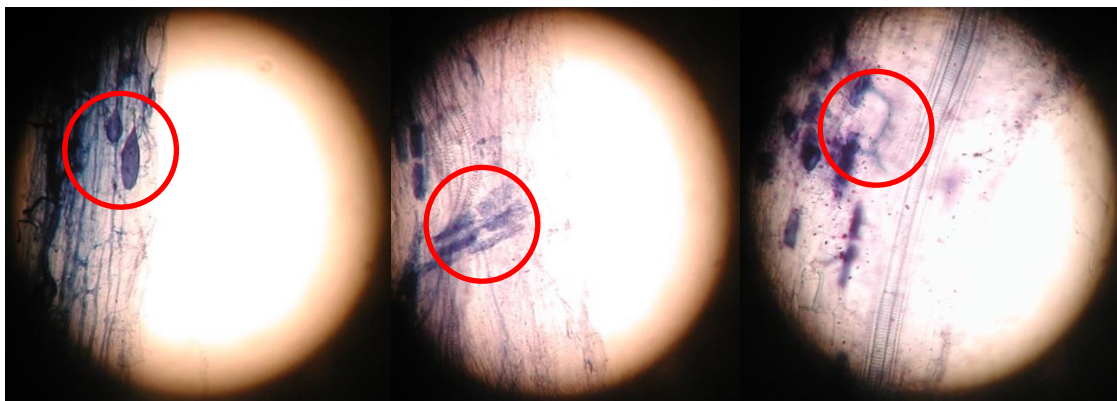
Procento mykorrhizní kolonizace bylo sledováno na vzorcích kořenů, které byly odebrány při rozebírání pokusných nádob. Vzorek kořene, přibližně 3 g, byl promyt vodou z kohoutku a před dalším zpracováním uložen do roztoku FAA (50% etanol, kyselina octová, formaldehyd) (Obr. 10).



Obr. 10 Promývání kořínků a ukládání do FAA roztoku

Následovalo promytí vzorků a projasnění v 10% roztoku KOH při 90 °C po dobu 60 minut, okyselení 1% HCl po dobu 60 minut a obarvení 0,05% trypanovou modří v laktoglycerolu při 90 °C a po dobu 60 minut dle Koske a Gema, (1989). Obarvené kořínky byly rozřezány na 1,5 cm segmenty, které byly vždy po deseti od každé varianty zafixovány na podložní sklíčko glycerolovou želatinou a vyhodnoceny mikroskopicky při 200x zvětšení. Každý segment byl prohlížen v deseti zorných polích, kde se zjišťovala přítomnost mykorrhizních znaků, arbuskul, vesikul a hyf (Obr. 11) (Giovanneti a Mosse, 1980). Při nalezení některého z těchto znaků bylo zorné pole zaznamenáno pozitivně (+M), nebyly-li znaky přítomny, byly označeny negativně (-M). Četnost mykorhizy byla vyjádřena procenty ze vztahu (2):

$$\%C = \frac{\Sigma(+M)}{\Sigma(+M)+\Sigma(-M)} \cdot 100 \quad (2)$$



Obr. 11 Mykorrhizní znaky: vezikuly - arbuskuly – hyfa

4.4.4 Bazální a substrátem indukovaná respirace

Bazální respirace byla určena měřením produkce CO_2 z půd, které byly inkubovány ve vzduchotěsných lahvičkách po dobu 24 hodin. Do každé láhve (120 ml) bylo naváženo 15 g půdy. Láhve byly utěsněny pryžovou zátkou a inkubovány při teplotě 25 °C. Po 2 a 24 hodinách byl 0,5 ml vzorek vnitřní atmosféry analyzován plynovou chromatografií (Agilent Technologies 7890A, vybaven detektorem tepelné vodivosti). Respirace byla vypočítána ze zvyšující se produkce CO_2 během 22 hodinového intervalu (24h – 2h). Po ukončení všech měření byly určeny celkové objemy vnitřní atmosféry každé lahvičky pomocí zjištění objemu vody, kterou byly naplněny. Naměřená produkce CO_2 je vyjádřena pro gram sušiny půdy za hodinu.

Substrátem indukovaná respirace (SIR) byla určena měřením CO_2 vyprodukovaného půdou, která byla inkubována ve vzduchotěsných lahvičkách po dobu 3 hodin poté, co byla obohacena glukózou. Obdobně jako u výše popsané bazální respirace, byly vzorky všech variant půd naváženy do lahviček, navíc byly do každé lahvičky přidány 2 ml glukózy ($4 \text{ mg C} \cdot \text{g}^{-1}$ půdní sušiny). Poté byly lahvičky utěsněny pryžovou zátkou a inkubovány při teplotě 25 °C. Vzorek vnitřní atmosféry lahviček byl odebrán v objemu 0,5 ml v čase 0 a po 3 hodinách. Analýza byla provedena na plynovém chromatografu stejně jako u bazální respirace uvedené v předchozím odstavci. SIR byla vypočtena na základě zvyšující se produkce CO_2 v průběhu tříhodinové inkubace. Objem jednotlivých lahviček se zjišťoval stejně jako u bazální respirace (Elbl et al., 2014b).

4.4.5 Měření obsahu těžkých kovů v půdě

Vzorky půd byly vysušeny v pokojové teplotě, rozemlety s použitím mlýnu (ZM200, Retsch) a prosáty přes 2 mm a 250 μm síta. Dále byly skladovány v polypropylenových lahvích. Obsah těžkých kovů ve vzorcích byl stanoven ukazateli: Pseudo-totální koncentrace a koncentrace jednotlivých kovů v půdních frakcích – sekvenční extrakce.

A. Pseudo – totální koncentrace těžkých kovů

Pseudo – totální koncentrace Cd, Pb a Zn byly stanoveny po kyselé digesci 300 mg půdního vzorku lučavkou královskou (HCl: HNO₃, 3 : 1 v/v, 6 ml) zahříváného v blokovém termostatu při teplotě 95 °C po dobu 75 minut. Po ochlazení byl objem doplněn na 25 ml destilovanou vodou a celý roztok byl přefiltrován (0,45 μm acetátový membránový filtr, Minisart). Samotné koncentrace byly měřeny plamenovým atomovým absorpčním spektrometrem (AAS-6800, Shimadzu). Kalibrační rozsahy byly vytvořeny podle certifikovaných roztoků s předdefinovanými koncentracemi jednotlivých prvků (CPA Chem, ASD Group).

B. Sekvenční extrakce

Sekvenční extrakce vede k zjištění koncentrací Cd, Pb a Zn ve 4 frakcích:

(A) frakce – těžké kovy obsažené ve vodní fázi, výměnné a rozpustné v kyselině

(B) frakce – těžké kovy vázané na půdní Fe a Mn oxidy/hydroxidy

(D) frakce – těžké kovy vázané na organickou hmotu a sulfidy

(R) frakce – těžké kovy vázané na půdní krystalický matrix.

Extrakce o 4 krocích byla provedena podle Waterlot (2012). V prvním kroku byla zjišťována frakce (A) přidáním 40 ml kyseliny octové (CH₃COOH, 0,11M) k 1 g vysušené půdy v polypropylenové lahvi. V druhém kroku byla zjišťována redukovatelná frakce (B), kdy bylo 40 ml roztoku hydroxylamin hydrochloridu (NH₂OH.HCl, 0,5M) okyseleného na pH = 1,5 kyselinou dusičnou (HNO₃, 65%) přidáno ke zbytku z prvního kroku. Třetí krok sestával z vlhké oxidace organické hmoty peroxidem vodíku při teplotě 85 °C pro získání oxidovatelné frakce (D), 10 ml peroxidu vodíku (H₂O₂, 8,8M) bylo přidáno ke zbytku z kroku 2 a celý krok dva byl zopakován. Po zchlazení bylo 50 ml 1M roztoku CH₃COONH₄ okyseleného na pH = 2 kyselinou dusičnou (HNO₃, 65%) přidáno k poměrnému množství. Ve čtvrtém kroku byla zjišťována zbytková frakce (R), v němž byl vysušený zbytek z předchozích kroků rozdrcen, ručně

homogenizován a štěpen v lučavce královské za stejných podmínek jako analýzy pseudo – totálních koncentrací TK.

Kvalita analytických dat pro sekvenční extrakci byla verifikována zavedením certifikovaných referenčních materiálů CRM BCR®-701 připravených ze sedimentu jezera Orta v Piemonte, Itálie. Pro určení koncentrací Cd, Pb a Zn ve frakcích A, B, D a R byl použit atomový absorpční spektrofotometr (AAS-6800, Shimadzu).

4.4.6 Měření obsahu těžkých kovů v pletivech salátu

V laboratoři byly nadzemní části rostlin promyty ve třech po sobě jdoucích lázních s osmotickou vodou. Přebytečná voda na povrchu pletiv byla odstraněna papírovou utěrkou, následovalo nařezání na menší části. Všechny vzorky se poté sušily při 40 °C a po vysušení byly namlety a prosety na velikost 250 µm s využitím nožového mlýnu (GM200, Retsch). Pro extrakci vzorků bylo použito 5 ml kyseliny dusičné (HNO₃, 70%, Intra-Baker Analyzed Reagent), která byla přidána k 300 mg prášku z rozemletých rostlin ve zkumavce. Zkumavka byla zakryta hodinovým sklíčkem a 1 hodinu zahřívána v blokovém termostatu při 80 °C. Po vychladnutí bylo přidáno 5 ml hydroxidu vodíku (H₂O₂, 30%, Baker Analyzed Reagent) a vzorky byly opět zahřívány při 80 °C po dobu 3 hodin. Po ochlazení se doplnil objem na 25 ml destilovanou vodou a směs byla přefiltrována (0,45 µm membránový filtr, Minisart). Před další analýzou byly filtráty uskladněny při teplotě 4 °C. Určení koncentrací Cd, Pb a Zn bylo realizováno atomovou absorpční spektrofotometrií s využitím plamene (FAAS-6800, Shimadzu) nebo grafitové pece (GFA-EX7-6800, Shimadzu) podle koncentrací těžkých kovů ve vzorcích. Kontrola kvality chemických extrakcí a štěpení byla provedena použitím certifikovaných (Polské tabákové listy Virginia, INCT-PVTL-6, Polsko) referenčních materiálů. Jejich míry shody byly v průměru 97,0 % (Cd), 107,3 % (Pb), 104,9 % (Zn).

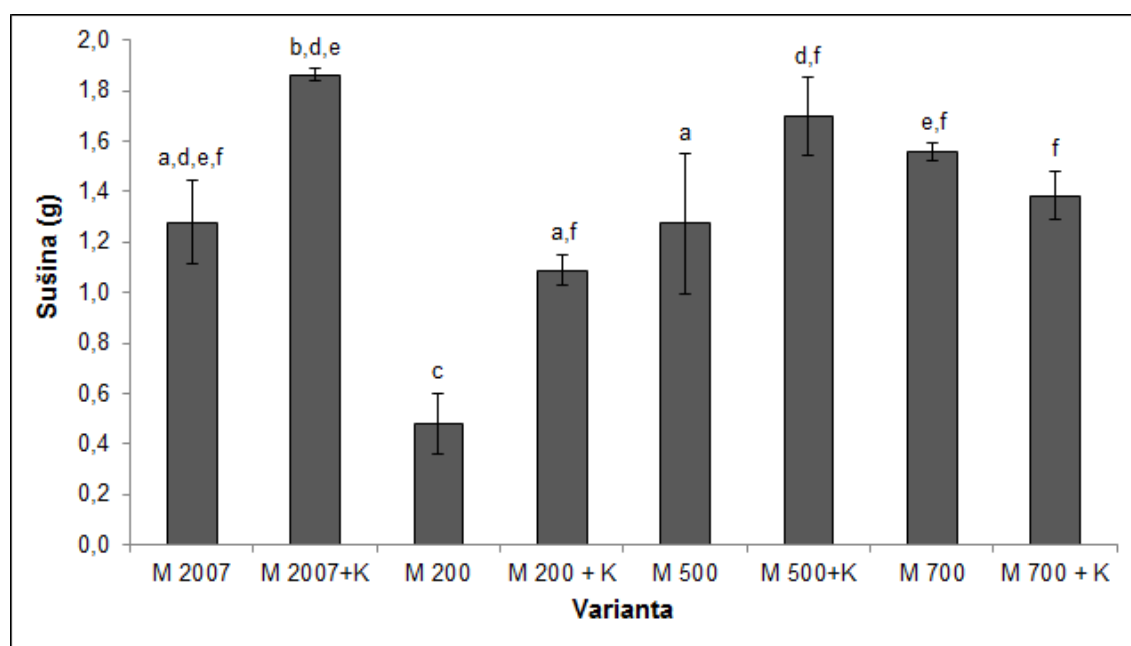
4.5 Statistická analýza

Výsledky výše popsaných měření a analýz byly podrobeny analýze rozptylu (ANOVA) doplněné Fisherovým testem LSD pro získání statisticky průkazných rozdílů. Využit byl software Statistica 10 CZ a další grafické zpracování proběhlo v programu Excel 2010.

5 VÝSLEDKY A DISKUSE

5.1 Produkce rostlinné biomasy

U vysušených vzorků nadzemní i podzemní biomasy salátu byla určena hmotnost na laboratorní váze (Kern). Předpoklad, že ve variantách s přidavkem kompostu, který pozitivně působí na rozvoj mikroorganismů i rostlin a zlepšuje půdní vlastnosti (Brown et al., 2000), bude produkce biomasy vyšší, se průkazně potvrdil u všech variant vyjma M700, tedy nejvíce kontaminované (Obr. 12). Nejvyšší produkce byla zaznamenána u kontrolní nekontaminované varianty obohacené o kompost, nejméně pak ve variantě M200. Se zvyšující se úrovní kontaminace byla také pozorovatelná vyšší produkce biomasy, z čehož lze usuzovat, že vyšší koncentrace těžkých kovů neinhibovala výrazně rozvoj rostliny.



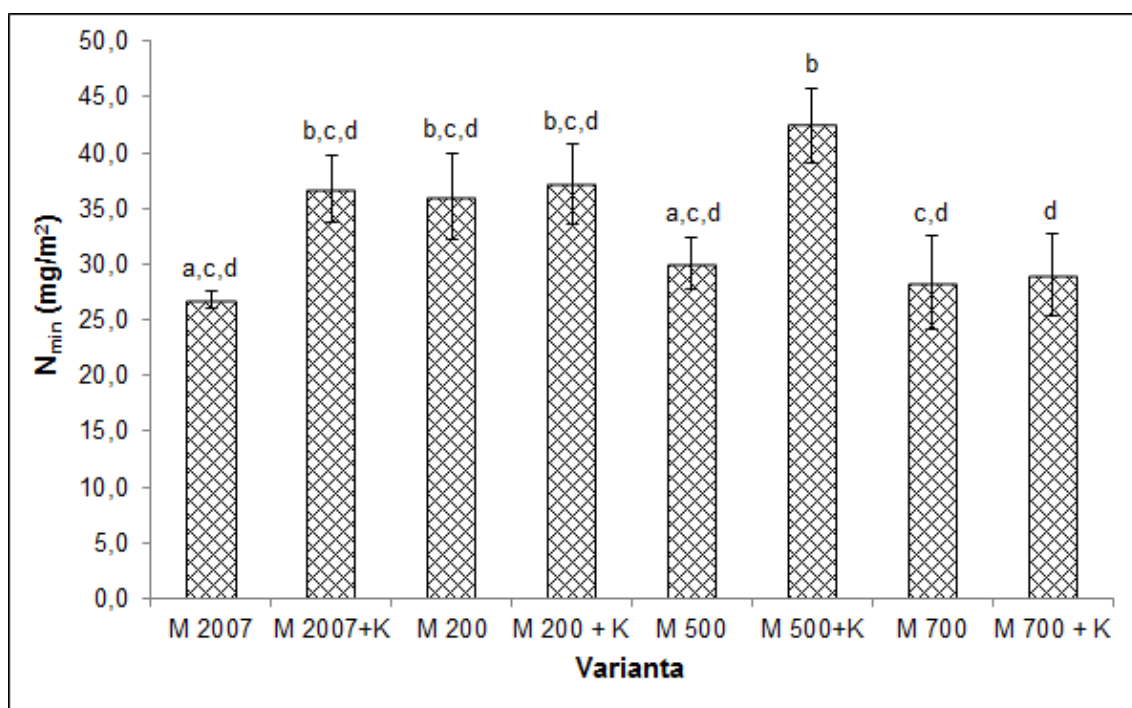
Obr. 12 Celková produkce biomasy

5.2 Mobilita minerálního dusíku

Dusík je klíčovým prvkem pro všechny živé organismy, protože je esenciální součástí aminokyselin a nukleových kyselin. Ačkoliv tvoří jeho dvouatomová molekula 78 % atmosféry Země, není v této formě pro většinu organismů přímo využitelný. Mezi reaktivní formy dusíku, který je většina organismů schopna využít, patří minerální dusík. Ten se v půdě vyskytuje v amonné a nitrátové podobě (Sutton, 2011). Amonný

(NH_4^+ - N) a nitrátový (NO_3^- - N) dusík je esenciální pro správné fungování půdního ekosystému, jelikož představuje základní prvek půdní úrodnosti. Jeho únik, především nitrátové složky z půdního profilu, je nežádoucí, obzvláště pokud dochází k úniku do vodních zdrojů. V experimentu byla sledována mobilita minerálního dusíku v souvislosti s přidavkem organické hmoty (SOM) ve formě kompostu, který podporuje mikrobiální aktivitu a půdní úrodnost vedoucí k vyššímu využití živin rostlinami, ale jehož nadbytek může vyplavování N_{\min} podporovat (Elbl et al., 2013). Mikrobiální aktivita podpořená přidavkem SOM zvyšuje účinnost zachycování N_{\min} v půdě (Galloway et al, 2002).

Získané výsledky představuje Obr. 13, průkazný rozdíl ve vyplavování N_{\min} oproti kontrole byl pozorován u varianty M200. Kompostem obohacené varianty vykazovaly výraznější únik N_{\min} , než varianty bez kompostu, což bylo zapříčiněno pravděpodobně nízkým obsahem dusíku v půdách (Tab. 4) než nadměrnou dávkou kompostu. Dále mohl mít na vyplavování vliv i závlahový režim, kdy mohl nadbytek vláhy způsobit umělé vyplavování. Působení TK na vyplavování N_{\min} se průkazně neprojevilo.

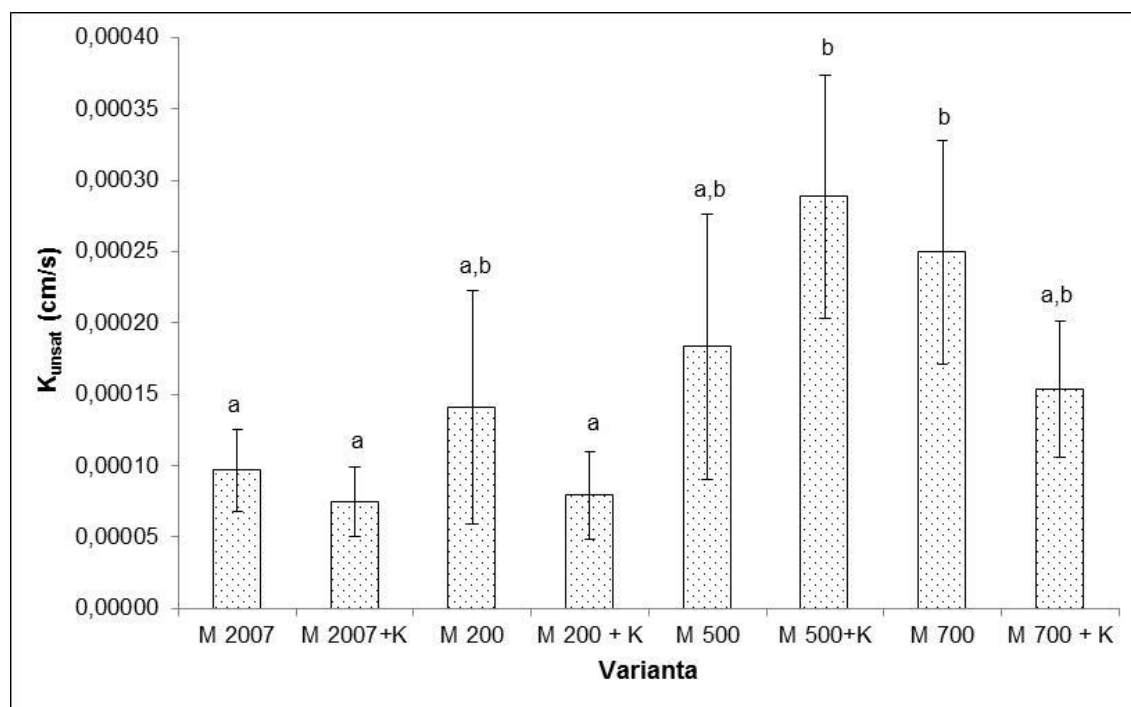


Obr. 13 Vyplavování dusíku (N_{\min}) u jednotlivých variant

5.3 Kumulativní vodní infiltrace

Vysoká úroveň hydrofobicity povrchu půdy znemožňuje infiltraci vody a její zadržení v půdním prostředí. Její princip spočívá ve vytváření hydrofobních povlaků, díky přítomnosti organické hmoty, na půdních agregátech a dochází k odpuzování vody a snížení smáčivosti půdy (Thompson & Goynes, 2012).

Hodnoty uvedené na Obr. 14 vykazují u všech variant s výjimkou varianty M500 nižší kumulativní vodní infiltraci (K_{unsat}) v kompostem obohacených nádobách, což potvrzuje předpoklad, že přidavek SOM zvyšuje hydrofobicitu substrátu. Dále je pozorovatelný růst K_{unsat} s rostoucí úrovní kontaminace. Vyšší koncentrace těžkých kovů, které vytváří částice nesoucí náboj, mohou vykazovat vyšší afinitu k molekulám vody (Johnston and Tombácz, 2002).



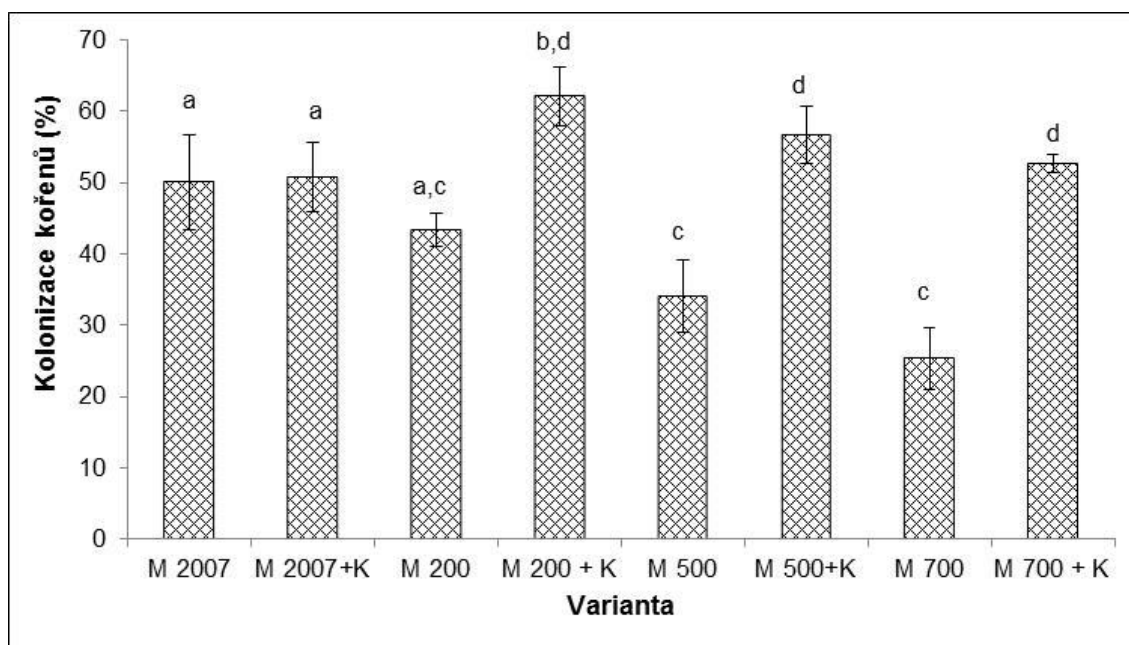
Obr. 14 Kumulativní vodní infiltrace (K_{unsat}) ve variantách

5.4 Kolonizace kořenů arbuskulární mykorrhizou

Arbuskulární mykorrhiza (AM) je důležitou symbiózou, která se utváří mezi kořeny rostlin a mykorrhizními houbami běžně se vyskytujícími ve většině půdních ekosystémů. Tuto symbiózu je možno sledovat u většiny plodin. Mykorrhiza může podporovat příjem nutrientů do rostliny a také usnadňovat příjem těžkých kovů. Mykorrhizní houby v půdách kontaminovaných těžkými kovy vytvářejí přímý kontakt

mezi kořeny a půdou. Rozšiřují povrch plochy, kterou je rostlina schopna látky přijímat a výměnou za uhlikaté látky rostlině prospívá příjmem esenciálních látek a živin. Pozitivní působení přídavku SOM formou kompostu by se mělo projevit na zvýšené kolonizaci kořenů arbuskulární mykorrhizou, která na jednu stranu usnadňuje přístup prvků do rostliny a může zvyšovat toleranci rostliny k toxickým prvkům (Barea et al., 2005) nebo vytvořit adaptační strategii pro rostlinu redukováním příjmu těžkých kovů. Snížený příjem kovů mohou způsobit interakce s mykorrhizní houbou, mezi které patří především povrchová adsorpce a uložení ve vakuolách hub (Vogel-Mikuš et al., 2006). Tato strategie je dále rozebrána v kapitole 5.7.

Kolonizace kořenů monitorovací rostliny AM byla pozorována ve všech variantách a procentuálně se pohybovala mezi 25 – 62 % (Obr. 15). Nejvyšší úroveň byla pozorována u varianty M200+K a nejnižší u varianty M700. Průkazné rozdíly jsou pozorovatelné mezi kompostem obohacenou a neobohacenou variantou všech kontaminovaných vzorků. Přídavek kompostu vedl k rozšíření kolonizace arbuskulární mykorrhizou. Dále lze také konstatovat, že se zvyšující se koncentrací kontaminantů kolonizace AM klesala, což mohlo být způsobeno citlivostí arbuskulárních hub na koncentraci těžkých kovů.



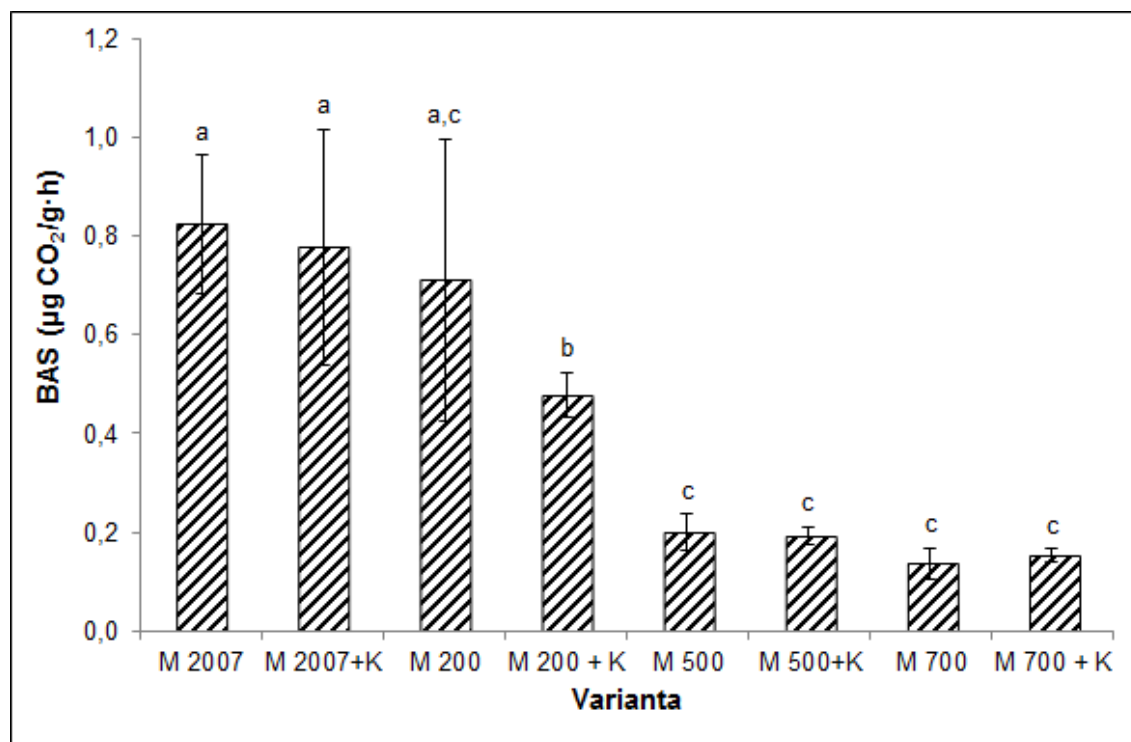
Obr. 15 Kolonizace arbuskulární mykorrhizou

5.5 Bazální a substrátem indukovaná respirace

Respirace je základním projevem živého systému. Organický uhlík představuje energii pro mikroorganismy, kterou využívají pro svůj rozvoj. Růst mikrobiální aktivity se odráží ve zvýšení jejich respirace. Respiraci půdy tedy využíváme jako indikátor aktivity mikroorganismů v ní obsažených.

Bazální respirace představuje aktuální stav společenstva mikroorganismů a je definována množstvím CO₂ vyprodukovaného za určitý časový úsek v našem případě 22 hodin. Výsledné hodnoty produkce uvedené v Obr. 16 jsou přepočteny na $\mu\text{g CO}_2/\text{g}\cdot\text{h}$. K nejvýznamnějším faktorům, které ovlivňují půdní produkci CO₂ patří obsah půdní vody, koncentrace kyslíku a biologická dostupnost uhlíku (Elbl et al., 2014b).

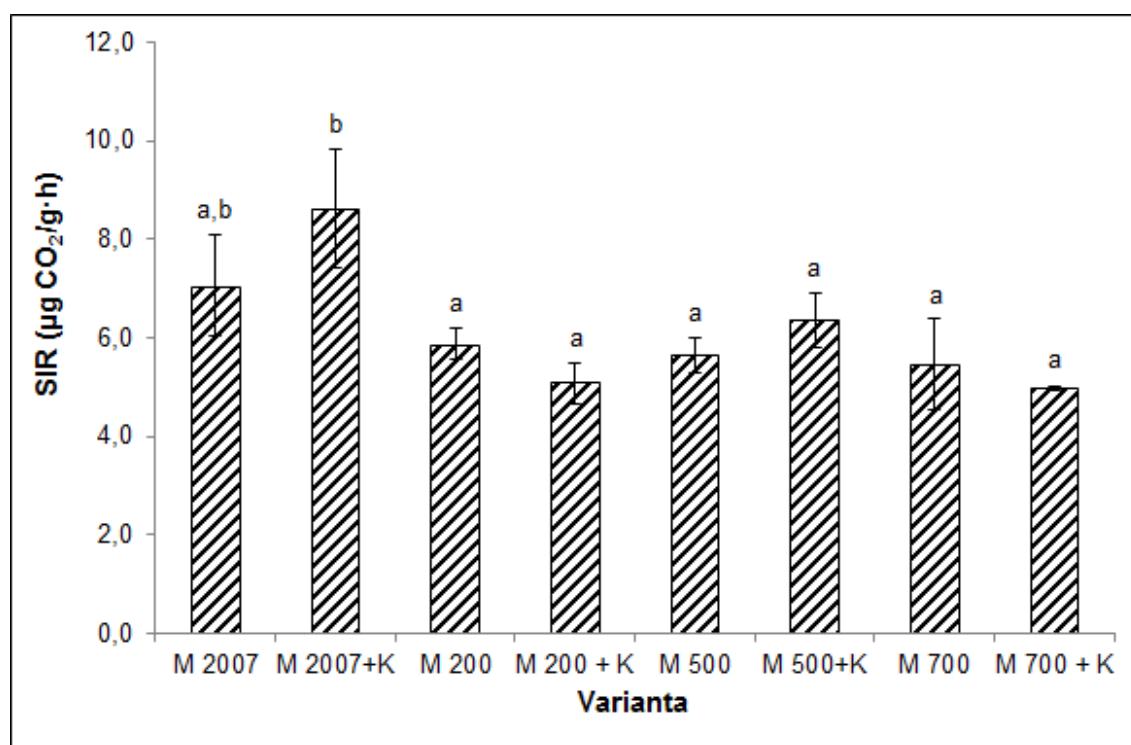
Obr. 16 ukazuje nejvyšší produkci CO₂ v kontrolním vzorku a mírně sníženou produkci u varianty M200, průkazné rozdíly oproti kontrole jsou pak pozorovatelné u všech zbývajících variant. Varianty s vyšší koncentrací těžkých kovů vykazují značný útlum mikrobiální aktivity oproti kontrole. Ve variantách M2007 a M200 přídavek kompostu nepodpořil mikrobiální aktivitu a u zbývajících variant nebyl pozitivní rozdíl průkazný.



Obr. 16 Bazální respirace

Substrátem indukovaná respirace slouží ke stanovení respirační aktivity mikroorganismů po přidání snadno využitelného substrátu (glukóza) oproti bazální respiraci ukazuje maximální možnou, substrátem nelimitovanou respirační aktivitu mikroorganismů. Slouží ke kvantifikaci mikrobiální biomasy (Elbl et al., 2014b).

Podle hodnot uvedených na Obr. 17 byl prokazatelný rozdíl pouze u varianty M2007 tedy kontroly obohacené o kompost. Ostatní varianty vykazovaly přibližně stejný obsah mikrobiální biomasy, což je pravděpodobně způsobeno zvýšenou koncentrací TK oproti kontrolní variantě. Obdobné výsledky uvádí také Kuperman a Carreiro, 1997.



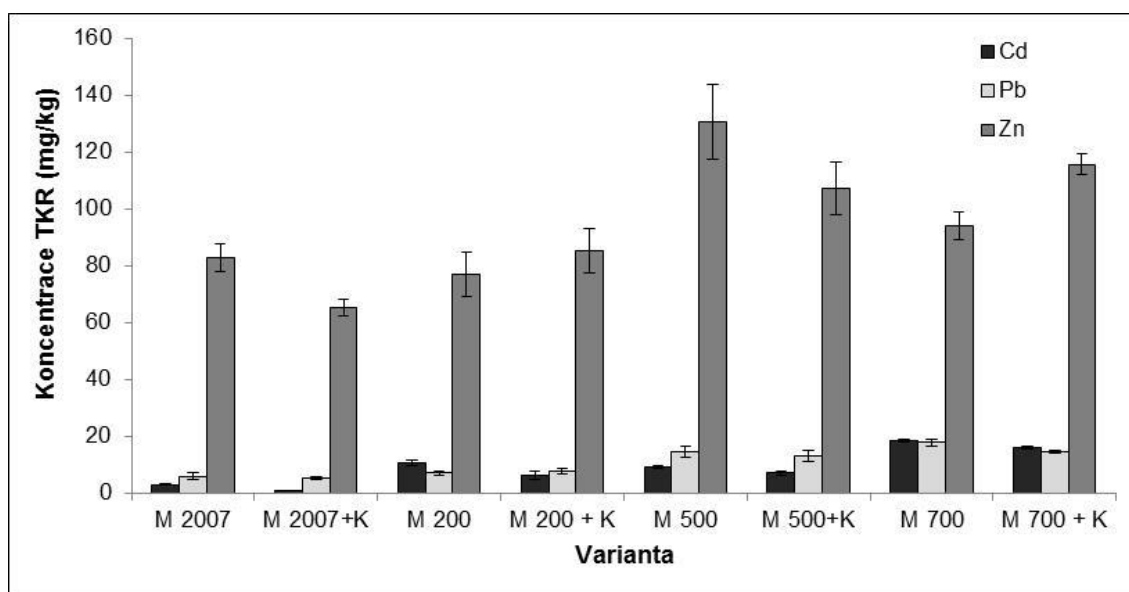
Obr. 17 Substrátem indukovaná respirace

5.6 Těžké kovy v biomase rostlin

Půda bezprostředně obklopující kořeny rostlin (rhizosféra) je mikrobiální a chemické prostředí upravené podle interakcí rostlina – půda – mikroorganismy. Změny v půdním chemismu způsobené přidáním kompostu a chováním rostliny mohou ovlivnit transformaci, mobilitu a biologickou dostupnost těžkých kovů (Park et al., 2011).

Výsledky v Tab. 7 a na Obr. 18 prezentují nižší příjem Cd a Pb ve variantách, do kterých byl přidán kompost oproti těm bez přidavku. Výjimku tvoří pouze příjem Pb ve

variantě M200+K. Oproti kontrolní variantě, je u zbývajících pozorovatelný průkazně vyšší příjem Cd a Pb, který rovněž roste s rostoucí koncentrací kovů v půdě. Nejvyšší příjem Cd a Pb byl zaznamenán u nejvíce kontaminované varianty M700. Příjem zinku se od kadmia a olova lišil. Především proto, že pro rostliny představuje esenciální prvek, se v rostlinné biomase vyskytuje v mnohonásobně vyšších koncentracích. Jeho příjem rostlinou je rovněž usnadněn jeho afinitou k tvorbě chelátů, které jsou pro rostlinu snadno dostupné. Jednoznačný vliv kompostu na jeho příjem nebyl pozorován.



Obr. 18 Koncentrace těžkých kovů v rostlinné biomase

Tab. 7 Koncentrace těžkých kovů v rostlinné biomase

Varianta	Cd			Pb			Zn		
	mg·kg ⁻¹	±SE	LSD	mg·kg ⁻¹	±SE	LSD	mg·kg ⁻¹	±SE	LSD
M2007	2,90	0,10	a	5,85	1,28	a	82,89	4,75	a,d,e
M2007+K	0,76	0,09	a	5,22	0,63	a	65,13	2,99	a,d
M200	10,63	1,07	b	7,02	0,83	a	76,96	7,85	a,d
M200+K	6,18	1,54	c,d	7,50	0,93	a	85,31	7,68	d,e
M500	8,96	0,54	b,d	14,32	1,91	b,c	130,66	13,32	b,f
M500+K	6,94	0,83	d	12,88	1,91	b	107,28	9,28	c,d,f
M700	18,54	0,50	e	17,79	1,23	c	93,99	5,05	e,f
M700+K	15,94	0,61	f	14,28	0,54	b	115,74	3,72	f

Parametr BCF (biokoncentrační faktor nebo-li výše zmíněný transfer faktor), který lze popsat jako tendenci rostlin akumulovat těžké kovy ve svých pletivech, je definován jako poměr mezi koncentrací kovů v rostlině a koncentrací kovů v půdě. Pro naši indikační rostlinu se potvrzuje předpoklad vyšší afinity k bioakumulaci kadmia, nejméně ochotně rostlina akumulovala olovo (Tab. 8).

Pro všechny kovy byl také pozorovatelný nejvyšší BCF u kontrolního nekontaminovaného vzorku a jeho pokles se zvyšující se koncentrací kovů v půdě. Kompostem obohacené varianty vykazovaly nižší BCF oproti neobohaceným variantám ve většině případů, z čehož lze usuzovat, že kompost má pozitivní vliv na snižování příjmu těžkých kovů rostlinou, v našem případě především kadmia.

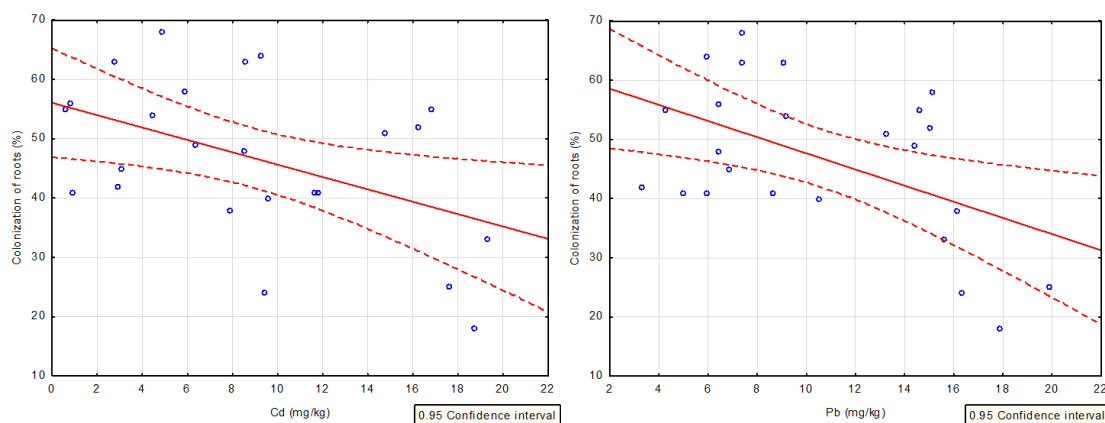
Tab. 8 *Biokoncentrační faktor*

Varianta	Biokoncentrační faktor		
	Cd	Pb	Zn
M 2007	8,48	0,26	1,70
M 2007+K	1,84	0,22	0,99
M 200	2,64	0,03	0,24
M 200+K	1,51	0,03	0,27
M 500	0,89	0,03	0,25
M 500+K	0,69	0,02	0,22
M 700	1,13	0,02	0,10
M 700+K	1,01	0,02	0,13

5.7 Vztah mezi koncentrací těžkých kovů v rostlinné biomase a kolonizací kořenů rostlin arbuskulární mykorrhizou

Vliv přidavku kompostu na snižování dostupnosti těžkých kovů rostlině, jehož ověření je předmětem tohoto experimentu, se projevuje i na celé řadě dalších faktorů. V kapitole 5.4 – *Kolonizace kořenů arbuskulární mykorrhizou* byl rozebrán vliv kompostu na rozvoj arbuskulární mykorrhizy. Zvýšená kolonizace kořenů arbuskulární mykorrhizou na jednu stranu může usnadnit přístup prvků do rostliny a může zvyšovat toleranci rostliny k toxickým prvkům (Barea et al., 2005) nebo vytvořit adaptační strategii pro

rostlinu redukováním příjmu těžkých kovů (Vogel-Mikuš et al., 2006). Podle koncentrací TK, které rostlina naakumulovala a úrovně kolonizace AM na jejich kořenech lze konstatovat, že byla prokázána korelace potvrzující adaptační strategii redukcující příjem Cd a Pb (Obr. 19).



Obr. 19 Korelace mezi AM a obsahu Cd a Pb v rostlině

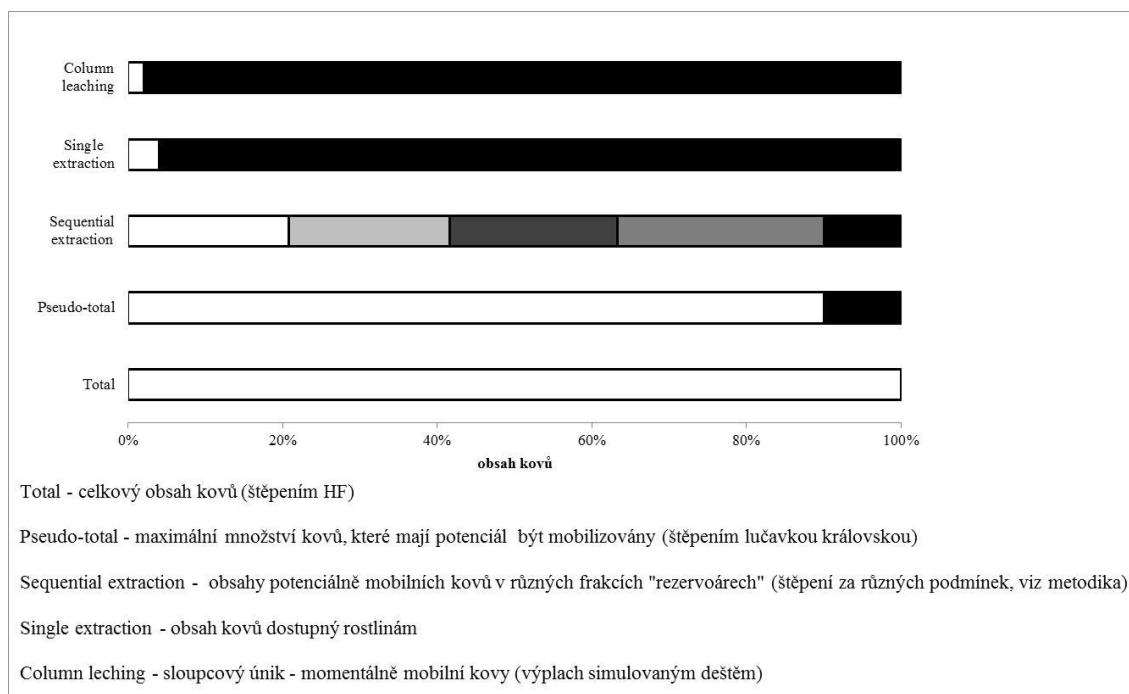
Pro kadmium a olovo byl statisticky prokázán vztah, popisující klesající koncentraci TK v pletivech rostliny s rostoucím stupněm kolonizace arbuskulární mykorrhizou. Snížený příjem TK rostlinou, obzvláště u silně kontaminovaných variant potvrzuje strategii, kterou vyšší úroveň AM podpořená přidávkem kompostu chrání rostlinu před zvýšeným příjmem TK. Stejnou strategii potvrzují i výsledky Alguacil et al. (2011), kde přidavek organické hmoty vedl nejen ke zvýšení kolonizace, ale také k zvýšení diverzity arbuskulárních hub, k čemuž pravděpodobně přispívá i zvýšený přísun nutrientů v SOM. Pro zinek nebyla pozitivní korelace průkazná, protože příjem Zn se od příjmu Pb a Cd lišil, viz kapitola 5.6.

5.8 Obsah těžkých kovů v půdních vzorcích

Těžké kovy se v půdě váží především na jílové minerály, organický uhlík a sulfidy, oxidy či hydroxidy železa a manganu.

Relevantní posuzování koncentrace těchto kontaminantů bývá prováděno měřením pseudo-totální koncentrace, kdy je půda rozložena lučavkou královskou. Pseudo-totální koncentrace těžkých kovů udává maximální obsah těžkých kovů, které mohou být potenciálně uvolnitelné z pevné frakce půdy. Těžké kovy nebývají obvykle ve velké

míře vázány na křemičitany. Obr. 20 graficky znázorňuje různé obsahy kovů v různých frakcích, podle cílených analýz.



Obr. 20 Různé přístupy stanovení a rozložení kovů v půdě (Relić et al., 2010)

Pseudo-totální koncentrace obecně tvoří přibližně 90 % celkové koncentrace. Součástí našich analýz bylo určení pseudo-totálních koncentrací vybraných těžkých kovů stejně jako stanovení jejich koncentrací pomocí sekvenční extrakce. Frakcionace těžkých kovů, kterou sekvenční extrakce umožňuje, je metodou pro odhalení distribuce kovů v půdě. Získané hodnoty představují koncentrace kovů v jednotlivých frakcích:

A) Výměnná frakce – formy kovů vázané na povrchu půdních částic slabými elektrostatickými vazbami. K prolomení vazeb dochází iontovou výměnou pomocí elektrolytů ve vodném roztoku.

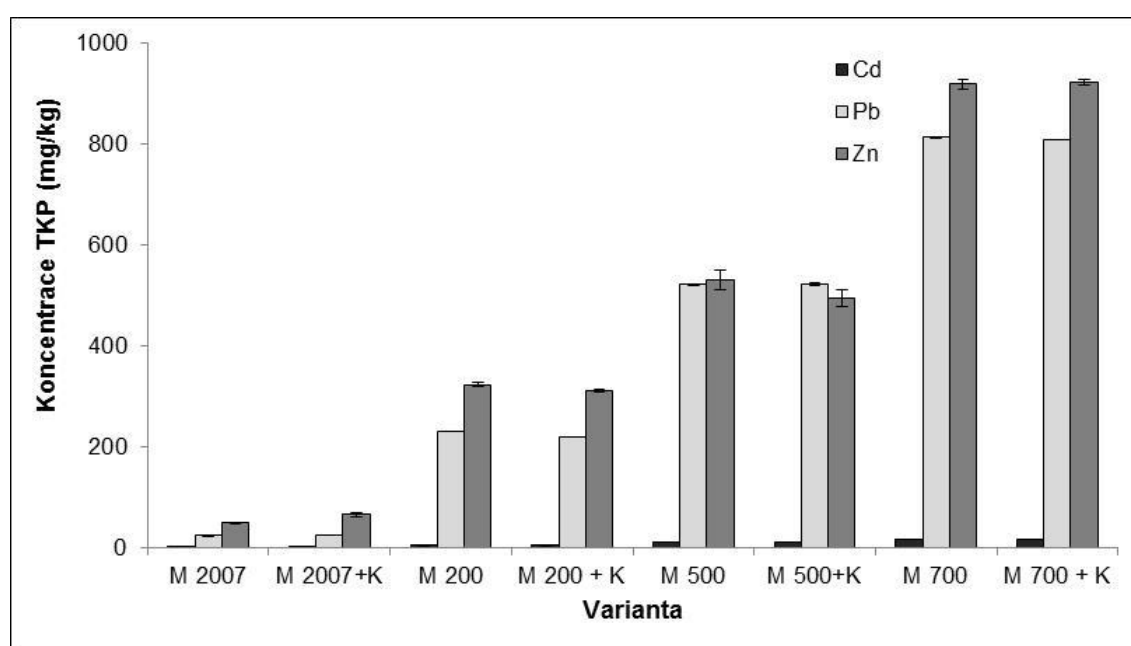
B) Frakce vázaná na oxidy a hydroxidy železa a manganu – kovy představují povlak na povrchu těchto oxidů nebo obdobných jemných oddělených částicích. Tato frakce je poutána kombinací precipitace, adsorpce, komplexace a iontové výměny.

D) Frakce vázaná na organickou hmotu a sulfidy – humusové látky a jiné uhlovodíky i těla mikroorganismů, představují matici, ve které je akumulací či komplexací zachycená tato oxidovatelná frakce těžkých kovů

R) Zbytková frakce – kovy vázané v krystalické struktuře (křemičitanový matrix), kterou lze prolomit působením silných kyselin, za přirozených podmínek však takto vázané kovy nepředstavují environmentální nebezpečí (Okoro et al., 2012).

5.8.1 Pseudo – totální koncentrace Cd, Pb, Zn

Zjištěné hodnoty pseudo – totálních koncentrací kovů v půdách korespondovaly se zjištěnými koncentracemi z analýz půd před experimentem. Koncentrace kovů se zvyšovala s rostoucí kontaminací jednotlivých variant (Obr. 21).



Obr. 21 Pseudo - totální koncentrace Cd, Pb, Zn

Jak uvádí Tab. 9 statisticky průkazné rozdíly mezi variantou s přidavkem a bez přidavku kompostu byly pozorovány pouze u varianty M700 pro Cd a variant M200 a M500 pro Zn, kde se koncentrace dostupného kovu s kompostem obohacené variantě snížila. Všeobecně však pseudo – totální koncentrace TK přidavkem kompostu nebyla ovlivněna ani u jednoho ze sledovaných kovů nebo variant.

Tab. 9 Pseudo - totální koncentrace Cd, Pb, Zn

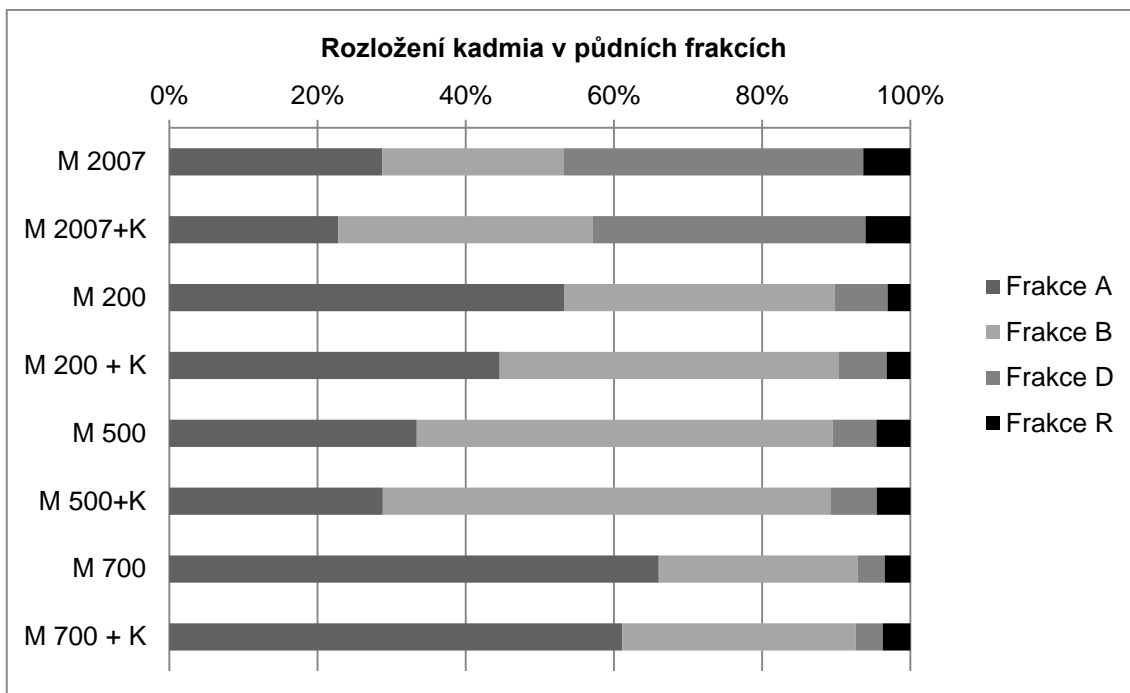
Varianta	Cd			Pb			Zn		
	mg·kg ⁻¹	±SE	LSD	mg·kg ⁻¹	±SE	LSD	mg·kg ⁻¹	±SE	LSD
M2007	0,35	0,05	a	22,98	0,10	a	48,94	1,14	a
M2007+K	0,42	0,03	a	24,22	0,98	a	65,91	4,13	a
M200	4,03	0,02	b	229,59	12,04	b	322,62	4,99	b
M200 + K	4,15	0,12	b	218,40	5,85	b	310,07	3,19	c
M500	10,03	0,10	c	520,96	3,49	c	530,60	19,74	d
M500+K	10,11	0,11	c	521,72	6,69	c	495,07	16,64	e
M700	16,42	0,29	d	812,54	2,43	d	917,72	10,67	f
M700 + K	15,84	0,23	e	807,77	2,78	d	920,89	5,94	f

5.8.2 Koncentrace Cd, Pb, Zn získané sekvenční extrakcí

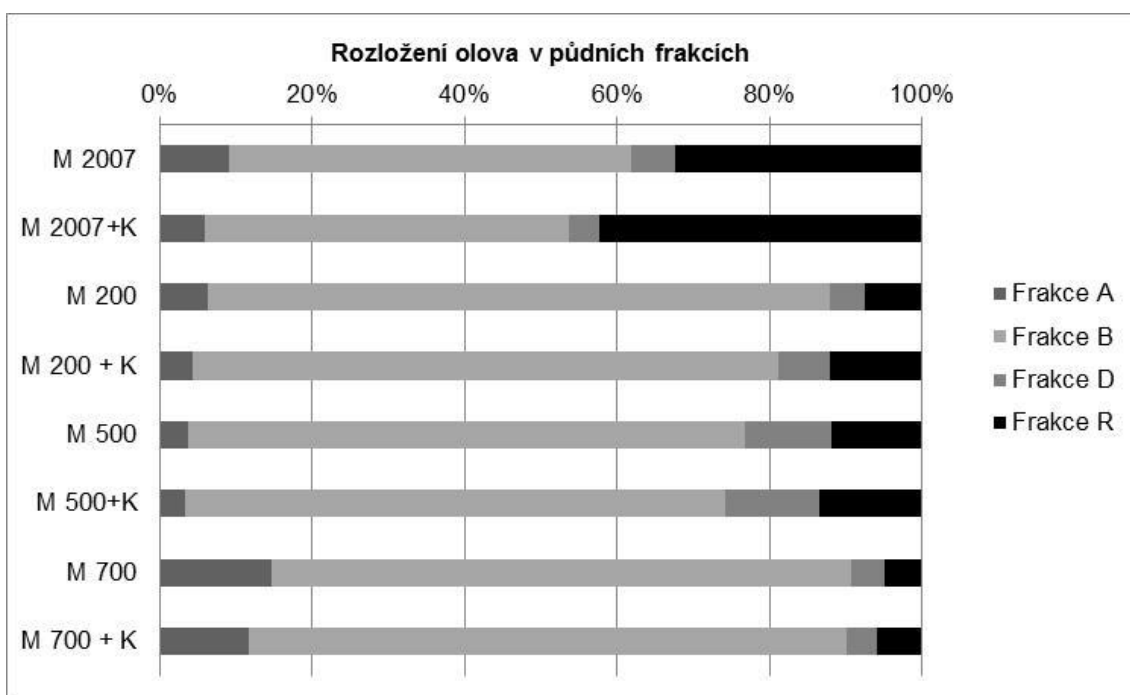
Rozvržení Cd v jednotlivých půdních frakcích uvádí

Obr. 22. Nejvýrazněji (průměrně v 42 %) bylo kadmium vázáno na frakci A, tedy výměnnou. Obdobně výrazně bylo vázáno ve frakci B, na oxidech a hydroxidech železa a manganu. Nejméně pak bylo vázáno ve frakci zbytkové, kterou představuje křemičitanový matrix. Ve variantě M700 výrazně převažovala frakce A (přes 60 %). Kontrolní vzorek M2007 naopak vykazoval nejvyšší zastoupení ve frakci D, tedy organické hmotě. Rovněž lze na kontrolní variantě pozorovat nejrovnoměrnější rozvržení Cd v jednotlivých frakcích. V kompostem obohacených variantách je pozorovatelný pokles ve frakci A vůči frakci B, což je nejspíš způsobeno výměnou iontů ve frakci A, kde kompost bohatý na Ca a Mg mohl způsobit soutěž jejich kationtů s kationty kovů (Ross a Kaye, 1994).

Faktor, který odráží relativní labilitu a dostupnost kovů v půdě – mobility faktor, jsme získali: $MF (\%) = (f_A / (f_A + f_B + f_D + f_R)) * 100$, kde f_A je výměnná frakce (Waterlot et al., 2013). U Cd se MF pohyboval mezi 24 – 66 % (Obr. 25) a nejvyšší úroveň dosáhl ve variantě M700. Ve variantách obohacených o kompost bylo pozorovatelné jeho snížení oproti neobohaceným, což může potvrdit funkci kompostu jako nástroje pro snížení biologické dostupnosti.



Obr. 22 Distribuce Cd v půdních frakcích



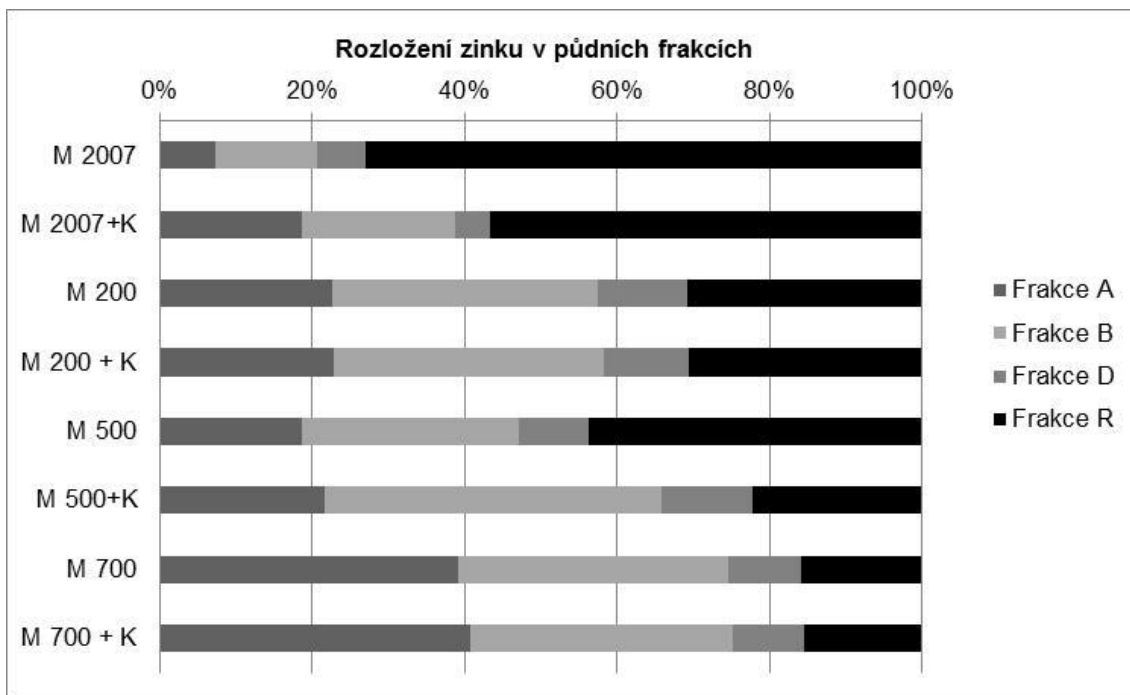
Obr. 23 Distribuce Pb v půdních frakcích

Olovo bylo průměrně v 70 % vázáno ve frakci B (Obr. 23), což poukazuje na jeho vlastnost nechat se snadno adsorbovat na oxidy a hydroxidy Fe a Mn. Vysoký podíl Pb

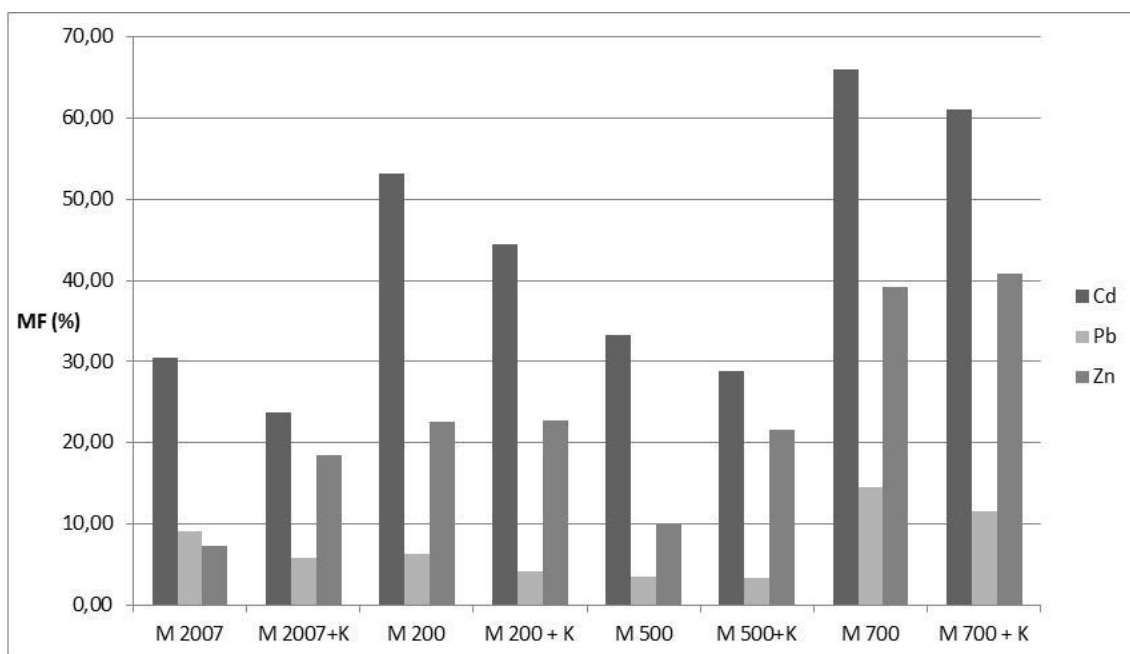
v této frakci potvrzuje výsledky předešlé studie (Waterlot et al., 2013), přičemž je potřeba brát na vědomí, že kyselé a redukční podmínky v půdě mohou vést k vysoké mobilizaci olova. Minimálně se pak Pb vyskytovalo ve frakcích A a D. U kontrolní varianty bylo ve větší míře (cca 40 %) vázáno ve frakci R. Přídavek kompostu představoval stejnou změnu jako u kadmia. Ve frakci R bylo olova oproti kadmiu více, naopak ve frakci A bylo více kadmia, obdobně jako Cd bylo i Pb ve frakci A nejvíce ve variantě M700, v nejvíce kontaminované, což může poukazovat na skutečnost, že při vysokých koncentracích se TK ochotně váží na snadno výměnná místa. Mobility faktor byl v případě Pb výrazně nižší oproti Cd (Obr. 25) a pohyboval se mezi 3 – 15 %. Stejně jako u kadmia znamenal přídavek kompostu snížení MF.

Rozložení zinku v jednotlivých frakcích bylo od předchozích kovů odlišné. Nejvíce se vyskytoval ve zbytkové frakci R (Obr. 24), kde v kontrolní variantě M2007 přesáhl 70 %. Přídavek kompostu oproti Pb snižoval podíl zinku ve frakci R a opačné chování oproti Cd i Pb lze pozorovat ve frakci A, kde po přidání kompostu podíl Zn mírně stoupl. Frakce B u všech kontaminovaných variant představovala přibližně stejné množství Zn (31 %) a po frakci R zde byl Zn nejvíce zastoupen. Pro zinek je se stoupající úrovní kontaminace pozorovatelný snižující se podíl ve frakci R a zvyšující ve frakci A. Mobility faktor se u zinku pohyboval mezi 7 – 41 %. Nejvyšší úroveň MF byla u varianty M700 a na rozdíl od Cd a Pb se ve variantách s přidáním kompostem MF zvýšil. Chování zinku se odlišuje ve většině ukazatelů od zbývajících kovů, což je nejpravděpodobněji způsobeno jeho esenciálností pro živé organismy.

Tab. 10 uvádí srovnání naměřených hodnot pseudo – totálních koncentrací těžkých kovů se součtem koncentrací TK v jednotlivých frakcích ze sekvenční extrakce. Míra pokrytí (%) = $((f_A+f_B+f_D+f_R)/(\text{pseudo} - \text{totální})) \cdot 100$ představuje, jak suma koncentrací v daných frakcích pokrývá hodnoty pseudo – totálních koncentrací. Pokrytí se pohybuje od 90 do 106 %. Vyhláška č. 13/1992 Sb., kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu, uvádí limity celkového obsahu kovů po štěpení lučavkou královskou: Cd = 1,0 mg·kg⁻¹, Pb = 140 mg·kg⁻¹, Zn = 200 mg·kg⁻¹. Tyto limity nepřekročil pouze kontrolní vzorek půdy. Všechny kontaminované vzorky ve variantě bez i s přídavkem kompostu limity českého předpisu nesplnily. Limit pro Cd byl ve variantě M700 překročen přibližně 15x, Pb přibližně 5,5x a Zn přibližně 4,5x.



Obr. 24 Distribuce Zn v půdních frakcích



Obr. 25 Mobility faktor

Tab. 10 Srovnání pseudo - totálních a sumy sekvenčních koncentrací

Varianty	Cd			Pb			Zn		
	A+B+D+R mg·kg ⁻¹	PT mg·kg ⁻¹	pokrytí %	A+B+D+R mg·kg ⁻¹	PT mg·kg ⁻¹	pokrytí %	A+B+D+R mg·kg ⁻¹	PT mg·kg ⁻¹	pokrytí %
M2007	0,36 ± 0,06	0,35 ± 0,05	102,86	23,68 ± 0,27	22,98 ± 0,10	103,05	45,92 ± 2,72	48,94 ± 1,14	93,83
M2007+K	0,38 ± 0,02	0,42 ± 0,03	90,48	25,75 ± 1,07	24,22 ± 0,98	106,32	63,45 ± 3,13	65,91 ± 4,13	96,27
M200	4,17 ± 0,17	4,03 ± 0,02	103,47	228,33 ± 10,87	229,59 ± 12,04	99,45	308,11 ± 12,54	322,62 ± 4,99	95,50
M200 + K	4,16 ± 0,17	4,15 ± 0,12	100,24	221,37 ± 8,92	218,40 ± 5,85	101,36	322,22 ± 12,03	310,07 ± 3,19	103,92
M500	9,72 ± 0,20	10,03 ± 0,10	96,91	514,42 ± 10,26	520,96 ± 3,49	98,74	514,83 ± 11,36	530,60 ± 19,74	97,03
M500+K	9,69 ± 0,14	10,11 ± 0,11	95,85	506,67 ± 3,61	521,72 ± 6,69	97,12	527,79 ± 4,64	495,07 ± 16,64	106,61
M700	14,89 ± 0,27	16,42 ± 0,29	90,68	769,23 ± 4,95	812,54 ± 2,43	94,67	843,65 ± 28,02	917,72 ± 10,67	91,93
M700 + K	14,94 ± 0,26	15,84 ± 0,23	94,32	748,38 ± 8,30	807,77 ± 2,78	92,65	892,27 ± 18,56	920,89 ± 5,94	96,89

6 ZÁVĚR

Zemědělská půda obklopující huť Metaleurop v blízkosti města Lille (Francie) byla po desetiletí vystavována depozicím těžkých kovů, které ve formě emisí opouštěly huť. Důsledkem depozic jsou zvýšené koncentrace těžkých kovů v půdě obklopující huť do vzdálenosti několika kilometrů. Pro riziko, které kontaminace představují pro lidské zdraví, existuje, nejen v této oblasti, snaha ho snížit či eliminovat. Tato práce se zabývala ověřením předpokladu bioremediačního účinku kompostu jako přídavku organické hmoty, který může snížit mobilitu těžkých kovů v půdě a jejich biologickou dostupnost rostlině.

V nádobovém experimentu ověřujícím tento předpoklad byly použity tři vzorky půd s různě vysokou úrovní kontaminace (podle vzdálenosti od zdroje znečištění) z okolí huti Metaleurop, ve kterých byly detekovány zvýšené koncentrace kadmia, olova a zinku. Koncentrace těchto tří kovů byly sledovány v analýzách půd po ukončení experimentu a v indikační rostlině *Lactuca sativa* L. Sledován byl také vliv koncentrace kontaminantů na: produkci rostlinné biomasy, mobilitu minerálního dusíku, kolonizaci kořenů arbuskulární mykorrhizou, půdní hydrofobicitu, mikrobiální aktivitu (prostřednictvím bazální a substrátem indukované respirace).

Produkce rostlinné biomasy vysokou koncentrací TK výrazně ovlivněna nebyla, kontaminace tedy neinhibovala růst rostliny a přídavek kompostu na růst působil pozitivně. Také se se zvyšující úrovní kontaminace projevila nižší hydrofobicita. Tedy vyšší schopnost kumulovat vodu v kontaminovaných variantách, přídavek kompostu tuto schopnost snižoval, což potvrdilo hydrofobní vlastnost organické hmoty. V případě mobility minerálního dusíku byl únik u všech variant srovnatelný a vliv kontaminace ani přídavku kompostu se výrazně neprojevil. Mikrobiální aktivita byla koncentrací kovů silně ovlivněna, když i přes kvantitativně srovnatelné množství mikroorganismů (SIR), byl pozorován její několikanásobný pokles u variant M500 a M700 (BAS) průkazně nezměnil ani přidaný kompost, ačkoliv bylo mírné zvýšení aktivity pozorovatelné. Opačně se však vliv kompostu projevil u varianty kontrolní a M200. Mykorrhizní kolonizace na kořenech indikační rostliny vliv kompostu odrážela ve všech obohacených variantách, kdy se statisticky průkazně její úroveň zvýšila a zároveň také klesala s rostoucí koncentrací TK. Sledován byl také vliv mykorrhizy na příjem TK do pletiv rostliny a pro Cd a Pb byla potvrzena adaptační strategie, kdy zvýšená mykorrhiza pozitivně korelovala s nižším příjmem kovu do rostliny. Z významné

korelace s mykorrhizou vyplývá, že přidavek kompostu vede k rozšíření více způsobů imobilizace těžkých kovů, mezi nimiž se vyjímá právě mykorrhizní kolonizace.

Rozbor půdy pseudo – totálních koncentrací po provedení experimentu nepodal průkazný důkaz o vlivu kompostu na množství potenciálně mobilních složek kovů obsažených v půdě. Avšak sekvenční extrakce, která umožňuje sledovat zastoupení kovů ve vybraných frakcích půdy, jisté změny způsobené přidavkem kompostu potvrdila. Pro kadmium přidavek kompostu ve všech variantách znamenal snížení jeho zastoupení ve výměnné frakci, která představuje povrch půdních částic s funkčními skupinami a vazebnými místy, ze kterých se kationty kovů nejsnáze odštěpují a stávají se mobilními. Rovněž hodnoty mobility faktoru, charakterizujícího biologickou dostupnost, potvrdily sníženou mobilitu Cd v kompostech obohacených variantách. Tendence olova srážet se na oxidech a hydroxidech Fe a Mn byla ze sekvenční extrakce zjevná, ve výměnné frakci bylo olovo obsaženo minimálně, ale přidavek kompostu i zde znamenal snížení mobility (Obr. 25). Ze všech tří sledovaných kovů bylo olovo nejméně mobilní. Zinek se lišil od kadmia i olova nejen zastoupením v jednotlivých frakcích půdy, ale také chováním po přidavku kompostu, kdy byla jeho mobilita zvýšena, což je pravděpodobně způsobeno i jeho vysokým zastoupením v kompostu (Tab. 5).

Přídavek kompostu snížil příjem Cd a Pb rostlinou, jak uvádí Tab. 8 a příjem Zn nebyl jednoznačně ovlivněn, což kromě jeho biogenní esenciality mohlo ovlivnit již zmíněné složení kompostu.

Kromě úrovně kontaminace těžkými kovy byl u většiny analýz pozorovatelný vliv zrnitostního složení půd. Varianta M500 obsahovala oproti ostatním nejvyšší podíly jemných částic, ostatní varianty byly oproti ní lehčí. Nejen viditelně nižší mobilita kovů v této variantě, ale i ve většině případů výrazný a očekávaný vliv kompostu byl pozorován u této varianty.

Závěrem lze tedy shrnout, že přidavek kompostu jakožto bioremediačního substrátu je možno využívat na zemědělské půdě s cílem snížit biologickou dostupnost těžkých kovů. Nutné je znát nejen přesné složení kompostu, ale i vlastnosti půdního prostředí a brát na vědomí, že se jednotlivé těžké kovy chovají různě a na jejich chování má vliv mnoho faktorů (fyzikální a chemické vlastnosti půdy, klima). Obecně byla naše hypotéza potvrzena pro těžší půdu kontaminovanou kadmiiem a olovem.

7 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

ADRIANO D. C., 2001: *Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risk of Metals*. second ed. Springer, New York, 871 s.

AKHTAR M., MALIK A., 2000: Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. *Bioresour. Technol.*, 74: 35–47.

ALGUACIL M. M., TORRECILLAS E., CARAVACA F., FERNÁNDEZ D. A., AZCÓN R., ROLDÁN A., 2011: The application of an organic amendment modifies the arbuscular mycorrhizal fungal communities colonizing native seedlings grown in heavy-metal-polluted soil, *Soil Biology and Biochemistry*, 43: 1498-1508.

ALLOWAY B. J., 1990: *Heavy Metals in Soils*. Blackie and Son Ltd., Glasgow and London, 339 s.

AN Y. J., 2004: Soil ecotoxicity assessment using cadmium sensitive plants. *Environ. Pollut.*, 127: 21-26.

BAKER A. J. M., BROOKS R. R., 1989: Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements: a review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, 1: 81-126.

BAKER A. J. M., McGRATH S. P., REEVES R. D., SMITH J. A. C., 2000: Metal Hyperaccumulator Plants: Review of the Ecology and Physiology of a Biological Resource for Phytoremediation of Metal-Polluted Soils, s 85-108. In: TERRY N., BAÑUELOS G., *Phytoremediation of Contaminated Soils and Water*. Lewis Publishers CRC, Boca Raton, Florida, USA, 381 s.

BALÍK J., TLUSTOŠ P., PAVLÍKOVÁ D., SZÁKOVÁ J., BLAHNÍK R., KAEWRAHUN N. S., 1998: Vliv čistírenských kalů na obsah zinku v půdě a rostlinách. *Rostl. Vým.*, 44: 457- 462.

BAREA J. M., POZO M. J., AZCÓN R., AZCÓN-AGUILOR C., 2005: Microbial co-operation in the rhizosphere, *J. Exp. Bot.*, 56: 1761-1778.

BARTOŠOVÁ M., 1995: Těžké kovy v nezemědělských půdách. *Úroda*, 9: 20-22.

BENEŠ S., 1994: *Obsahy a bilance prvků ve sférách životního prostředí (II. část)*. Ministerstvo zemědělství České republiky, Praha, 159 s.

BLAYLOCK M. J., SALT D. E., DUSHENKOV S., ZAKHAROVA O., GUSSMAN C., KAPULNIK Y., ENSLEY B. D., RASKIN I., 1997: Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil applied chelating agents, *Environ. Sci. Technol.*, 31: 860–865.

BREMER J. M., 1996: Nitrogen total, s. 1085-1121. In: SPARKS D. L. (ed.), *Methods of Soil Analysis, Part 3*. Soil Science Society of America: Madison, Wisconsin, 1309 s.

BROWN S. L., CHANEY R. L., 2000: Combining by-products to achieve specific soil amendment objectives, s. 343–360, In: POWER J. F., DICK W. A., *Land Application of Agricultural, Industrial, and Municipal By-products*, Soil Science Society of America Inc., Madison, 653 s.

CABRERA D., YOUNG S. D. L., 1988: The toxicity of cadmium to barley plants as affected by complex formation with humic acid. *Plant Soil*, 105: 195-204.

CAI Y., PENG CH., QIU S., LI Y., GAO Y., 2011: Dichromate Digestion-Spectrophotometric Procedure for Determination of Soil Microbial Biomass Carbon in Association with Fumigation-Extraction. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 42: 2824-2834.

CALLENDER, E., 2005: Heavy metals in the environment – historical trends, s. 67–105. In: LOLLAR B. S. ed.: *Environmental geochemistry 9*; HOLLAND, H. D. – TUREKIAN, K. K. ed.: *Treatise on geochemistry*. Elsevier, Pergamon, Oxford.

CARAVACA F., ALGUACIL M. M., AZCON R., PARLADÉ J., TORRES P., ROLDAN A., 2005: Establishment of two ectomycorrhizal shrub species in a semiarid site after in situ amendment with sugar beet, rock phosphate, and *Aspergillus niger*, *Microb. Ecol.*, 49: 73–82.

CASADO-VELA J., SELLES S., NAVARRO J., BUSTAMANTE M. A., MATAIX J., GUERRERO C., GOMEZ I., 2006: Evaluation of composted sewage sludge as nutritional source for horticultural soils, *Waste Manage.*, 26: 946–952.

CLEMENS S., PALMGREN M. G., KRÄMER U., 2002: A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation: a review. *Trends in plant science*, 7: 309-315.

DAS P., SAMANTARAY S., ROUT G. R., 1997: Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environ. Pollut.*, 98: 29-36.

DOMAŽLICKÁ E., 1991: Kontaminace rostlin kadmíem, olovem a rtuťí, s. 75 – 121. In: CIBULKA J. a kol., *Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře*. Academia Praha, 432 s.

DOUAY F., ROUSSEL H., PRUVOT C., WATERLOT C., 2008: Impact of a Smelter Closedown on Metal Contents of Wheat Cultivated in the Neighbourhood. *Env Sci Pollut Res*, 15: 162–169.

EHSAN S., PRASHER S. O., MARSHALL W. D., 2007: Simultaneous mobilization of heavy metals and polychlorinated biphenyl (PCB) compounds from soil with cyclodextrin and EDTA in admixture, *Chemosphere*, 68: 150–158.

ELBL J., 2014: *Vliv sucha na mikrobiální aktivity v rhizosféřní a nerhizosféřní půdě*, autoreferát k disertační práci, Mendelova univerzita v Brně, 41 s.

ELBL J., KINTL A., LOŠÁK T., PLOŠEK L., POHANKOVÁ E., 2014a: Influence of different type of fertilization and rainfall variations on soil hydrophobicity and leaching of mineral nitrogen, s. 35-40. In: BADALÍKOVÁ B., *Proceedings from 7th International*

Conference "Soil management in sustainable farming system", Veverská Bitýška, Czech Republic: Research Institute for Fodder Crops Ltd., Troubsko, Czech Republic, 162 s.

ELBL J., PLOŠEK L., KINTL A., HYNŠT J., ZÁHORA J., JAVOREKOVÁ S., CHAROUSOVÁ I., KALHOTKA L., URBÁNKOVÁ O., 2014b: Effects of drought on microbial activity in rhizosphere, soil hydrophobicity and leaching of mineral nitrogen from arable soil depending on method of fertilization, *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 8: 741-747.

ELBL J., PLOŠEK L., KINTL A., ZÁHORA J., PŘICHYSTALOVÁ J., HYNŠT J., 2013: Effect of organic-waste compost addition on leaching of mineral nitrogen from arable land and plant production, *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 7: 2081-2086.

ELLIS R. J., MORGAN P., WEIGHTMAN A. J., FRY J. C., 2003: Cultivation-dependent and-independent approaches for determining bacterial diversity in heavymetal-contaminated soil, *Appl. Environ. Microbiol.*, 69: 3223–3230.

ELTROP L., BROWN G., JOACHIM O., BRINKMANN K., 1991: Lead tolerance of *Betula* and *Salix* in the mining area of Mechernich, Germany. *Plant Soil*, 131: 275-285.

FARFEL M. R., ORLOVA A. O., CHANEY R. L., LEES P. S. J., ROHDE C., ASHLEY P. J., 2005: Biosolids compost amendment for reducing soil lead hazards: a pilot study of Orgro® amendment and grass seeding in urban yards, *Sci. Total Environ.*, 340: 81–95.

FARRELL M., PERKINS W. T., HOBBS P. J., GRIFFITH G. W., JONES D. L., 2010: Migration of heavy metals in soil as influenced by compost amendments, *Environ. Pollut.*, 158: 55–64.

FRANCOU C., LINÈRES M., DERENNE S., VILLIO-POITRENAUD M. L., HOUOT S., 2008: Influence of green waste, biowaste and paper-cardboard initial ratios on organic matter transformations during composting, *Bioresour. Technol.*, 99: 8926–8934.

FRIBERG L., NORDBERG G. F., VOUK V. B., 1986: *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier North Holland, New York, 630 s.

GALLARDO-LARA F., NOGALES R., 1987: Effect of the application of town refuse compost on the soil-plant system: a review, *Biol. Wastes*, 19: 35–62.

GALLOWAY J., COWLING E. B., 2002: “Reactive nitrogen and the world”, *A Journal of the Human Environment*, 3: 64-71.

GOBRAN G. R., WENZEL W. W., LOMBI E., 2001: *Trace Elements in the Rhizosphere*. CRC Press, USA. 334 s.

GRAYSTON S. J., VAUGHAN D., JONES D., 1997: Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability, *Appl. Soil Ecol.*, 5: 29–56.

HAN N., THOMPSON M. L., 1999: Copper-binding ability of dissolved organic matter derived from anaerobically digested biosolids, *J. Environ. Qual.*, 28: 939.

HARRISON R. M., CHIRGAWI M. B., 1989: The assessment of air and soil as contributors of some trace metals to vegetable plants. I. Use of filtered air growth cabinet, II. Translocation of atmospheric and laboratory-generated cadmium aerosols to and within vegetable plants, III. Experiments with field grown plants. *Sci. Total Environ.*, 83: 13-62.

HARTER R. D., NAIDU R., 1995: Role of metal–organic complexation in metal sorption by soils, *Adv. Agron.*, 35: 219–263.

HERWIJNEN R. VAN, HUTCHINGS T. R., AL-TABBAA A., MOFFAT A. J., JOHNS M. L., OUKI S.K., 2007: Remediation of metal contaminated soil with mineral-amended composts, *Environ. Pollut.*, 150: 347–354.

HINSINGER P., PLASSARD C., TANG C., JAILLARD B., 2003: Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: a review, *Plant Soil*, 248:43–59.

HORÁKOVÁ D., 2007: *Bioremediace*. Masarykova univerzita, Brno, 83 s.

HORNBURG V., BRÜMMER G., 1993: Heavy metals in soils: 1. Experiments on heavy metal mobility. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenkd.*, 156: 467-477.

CHANEY R. L., MALK M., LI Y. M., BROWN S. L., ANGLE J. S., BAKER A. J. M., 1997: Phytoremediation of soil metals. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 8: 279-284.

IMTIAZ M., ALLOWAY B. J., SHAH K. H., SIDDIQUI S. H., MEMON M. Y., ASLAM M., KHAN P., 2003: Zinc nutrition of wheat: II: Interaction of zinc with other trace elements, *Asian J. Plant Sci.*, 2: 156-160.

JANDÁK J., 2001: *Půdoznalství*. Mendelova univerzita, Brno 140 s.

JIZBA J., 1995: Metoda odstraňování těžkých kovů z půdy. Biom. Sborník k česko-bavorskému semináři „Těžké kovy v zemědělské půdě a rostlinách“. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha.

JOHNSTON C.T., TOMBÁČZ E., 2002: Surface chemistry of soil minerals, s. 37-67. In: Dixon J.B., Schulze D.G., *Soil Mineralogy with Environmental Applications*. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA, 866 s.

JONES D. L., NGUYEN C., FINLAY R. D., 2009: Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil–root interface, *Plant Soil*, 321: 5–33.

KABATA-PENDIAS A., PENDIAS H., 2001: *Trace Elements in Soils and Plants*, 3rd ed., CRC Press, USA, 432 s.

KLECKEROVÁ A., DOČEKALOVÁ H., 2013: Dandelion Plants as a Biomonitor of Urban Area Contamination by Heavy Metals. *Int. J. Environ.*, 8: 157-164.

KOZÁK J., 1991: Těžké kovy v půdách, s. 62-104. In: CIBULKA J. a kol., 1991: *Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře*. Academia, Praha.

KUPERMAN R. G., CARREIRO M. M., 1997: Soil heavy metal concentrations, microbial biomass and enzyme activities in a contaminated grassland ecosystem, *Soil Biology and Biochemistry*, 29: 179 – 190.

LASAT, M. M., 2002: Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms, *Journal of Environmental Quality*, 31: 109-120.

LICHNER L., HALLET P., FEENEY D. S., ĎUGOVÁ O., ŠÍR M., TESAŘ M., 2007a: Field measurement of soil water repellency and its impact on water flow under different vegetation, *Biologia*, 5: 537-541.

LICHNER, L., ORFÁNUS T., NOVÁKOVÁ K., ŠÍR M., TESAŘ M., 2007b: The Impact of vegetation on hydraulic conductivity of sandy soil, *Soil and Water Research*, 2: 59-66.

LIU L., CHEN H., CAI P., LIANG W., HUANG Q., 2009: Immobilization and phytotoxicity of Cd in contaminated soil amended with chicken manure compost, *J. Hazard. Mater.*, 163: 563–567.

LYNCH J. M., WHIPPS J. M., 1990: Substrate flow in the rhizosphere, *Plant Soil*, 129: 1-10.

MA Y., RAJKUMAR M., FREITAS H., 2009: Improvement of plant growth and nickel uptake by nickel resistant-plant-growth promoting bacteria, *J. Hazard. Mater.*, 166: 1154–1164.

MAHLER R. J., BINGHAM F. T., 1980: Cadmium - enriched sewage sludge application to acid and calcareous soils: Relation between treatment, cadmium in saturation extracts and cadmium uptake. *J. Environ. Qual.*, 9: 359-364.

MARSCHNER H., RÖMHELD V., 1996: Root-Induced Changes in the Availability of Micronutrients in the Rhizosphere, s. 557-579. In: WAISEL Y., ESHEL A., KAFKAFI U., 1996: *Plants Roots: The Hidden Half*. 2nd ed., Marcel Dekker Inc., New York.

MCBRIDE M. B., 1989: Reaction controlling heavy metal solubility in soils. *Adv. Soil Sci.*, 10: 1-56.

MCBRIDE M. B., 2003: Toxic metals in sewage sludge-amended soils: has promotion of beneficial use discounted the risks, *Adv. Environ. Res.*, 8: 5–19.

MERDY P., GHARBI L. T., LUCAS Y., 2009: Pb, Cu and Cr interactions with soil: sorption experiments and modelling, *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Aspects*, 347: 192–199.

MOUSATSOU A., GREGOU M., MATSAS D., V. PROTONOTARIOS, 2006: Washing as a remediation technology applicable in soils heavily polluted by mining-metallurgical activities, *Chemosphere*, 63: 1632–1640.

MULLINS G. L., SOMMERS L. E., 1986: Characterization cadmium and zinc in four soils treated with sewage sludge, *J. ENVIRONM. QUAL.*, 15: 382-387.

NAIDU R., BOLAN N. S., MEGHARAJ M., JUHASZ A. L., GUPTA S. K., CLOTHIER B. E., SCHULIN R., 2008: Chemical bioavailability in terrestrial environments, *Dev. Soil Sci.*, 32: 1–6.

NELSON D. W, SOMMERS L. E., 1996: Total carbon, organic carbon, and organic matter, s. 961-1010. In: SPARKS D. L. (ed.), *Methods of Soil Analysis. Part 3*. Soil Science Society of America: Madison, Wisconsin, 1309 s.

NRIAGU J. O., PACYNA J. M., 1988: Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water, and soils by trace metals, *Nature*, 33: 134–139.

NRIAGU J. O., 1990: Global metal pollution. *Environment*, 32: 7 – 33.

OKORO H. K., FATOKI O. S., ADEKOLA F. A., XIMBA B. J., SNYMAN R. G., 2012: A Review of Sequential Extraction Procedures for Heavy Metals Speciation in Soil and Sediments, *Journal of Environmental and Analytical Toxicology*, 181: 2-10.

OWNBY D.R., GALVAN K.A., LYDY M.J., 2005: Lead and zinc bioavailability to *Eisenia fetida* after phosphorus amendment to repository soils, *Environ. Pollut.* 136: 315–321.

PARK J. H., LAMB D., 2011: Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal(loid) contaminated soils, *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 185: 549-574.

PEIJNENBURG W, BAERSELMAN R, DE GROOT A, et al., 2000: Quantification of metal bioavailability for lettuce (*Lactuca sativa* L.) in field soils, *Arch Environ Contam Toxicol*, 39: 420–430.

PEOPLES M. B., FAIZAH, A. W., RERKASEM B., HERRIDGE D. F., 1989. *Methods for evaluating nitrogen fixation by modulated legumes in the field*. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, 81 s.

PEREZ-DE-MORA A., BURGOS P., MADEJON E., CABRERA F., JAECKEL P., SCHLOTTER M., 2006: Microbial community structure and function in a soil contaminated by heavy metals: effects of plant growth and different amendments, *Soil Biol. Biochem.*, 38: 327-341.

RAJKUMAR M., NAGENDRAN R., LEE K. J., LEE W. H., KIM S. Z., 2006: Influence of plant growth promoting bacteria and Cr⁶⁺ on the growth of Indian mustard, *Chemosphere*, 62: 741–748.

RELIĆ D., ĐORĐEVIĆ D., POPOVIĆ A., 2011: Assessment of the pseudo total metal sediments from Danube River, Serbia, *Environ Earth Sci*, 63: 1303-1317.

RICHTER R., 2004: Agrochemie půdy, Multimediální texty z výživy rostlin, Mendelu Brno. Databáze online [cit. 2014-07-25] Dostupné na: http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/

RIZZI L., PETRUZZELLI G., POGGIO G., GUIDI G. V., 2004: Soil physical changes and plant availability of Zn and Pb in a treatability test of phytostabilization, *Chemosphere*, 57: 1039–1046.

ROBICHAUD, P. R., LEWIS S. A., ASHMUN L. E., 2008: *New procedure for sampling infiltration to assess post-fire soil water repellency*. Res. Note. RMRS-RN-33. Fort Collins, CO: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, 14 s.

ROSS S. M., KAYE K. J., 1994: The Meaning of Metal Toxicity in Soil-Plant System s. 27-43. In: ROSS, S. M.: *Toxic Metals in Soil-Plant System*. John Wiley & Sons Inc., London, 469 s.

RYAN J. A., SCHECKEL K. G., BERTI W. R., BROWN S. L., CASTEEL S.W., CHANEY R. L., HALLFRISCH J., DOOLAN M., GREVATT P., MADDALONI M., 2004: Peer Reviewed: reducing children's risk from lead in soil, *Environ. Sci. Technol.*, 38: 18–24.

SALISBURY F. B., ROSS C. W., 1992: *Plant Physiology*. 4. ed., Wadsworth Publishing Company, Belmont, California, USA. 682 s.

SANTIBÁNEZ C., VERDUGO C., GINOCCHIO R., 2008: Phytostabilization of copperminetailings with biosolids: implications for metal uptake and productivity of *Lolium perenne*, *Sci. Total Environ.*, 395: 1–10.

SAUERBECK D. R., 1991: Uptake and Availability of Heavy Metals, *Water Air Soil Pollution*, 57-58: 227-237.

SCHWARTZ C., GÉRARD E., PERRONNET K., MOREL J. L., 2001: Measurement of in situ phytoextraction of zinc by spontaneous metallophytes growing on a former smelter site. *Sci. Total Environ.*, 279: 215-221.

SINGH B. K., MUNRO S., POTTS J. M., MILLARD P., 2007: Influence of grass species and soil type on rhizosphere microbial community structure in grassland soils, *Appl. Soil Ecol.*, 36: 147–155.

SPOSITO G., 1984: *The Surface Chemistry of Soils*, Oxford University Press, New York, 91 s.

SUTTON M. A., 2011: *The European nitrogen assessment: sources, effects, and policy perspectives*. New York: Cambridge University Press, 612 s.

TAKAMATSU T., KUSAKABE R., YOSHIDA T., 1983: Analysis of metal-humic acid interaction by paper chromatography using humic acid-impregnated filter paper, *Soil Sci.*, 136: 371–381.

TAO S., LIU W. X., CHEN Y. J., XU F. L., DAWSON R.W., LI B. G., CAO J., WANG X. J., HU J. Y., FANG Y., 2004: Evaluation of factors influencing root-induced changes of copper fractionation in rhizosphere of a calcareous soil, *Environ. Pollut.*, 129: 5–12.

TESAŘOVÁ M., FILIP Z., SZOSTKOVÁ M., MORSHECK G., 2010: *Biologické zpracování odpadů*, Mendelova univerzita, Brně, 129 s.

THAYER J. S., BRINCKMAN F. E., 1982: The biological methylation of metals and metalloids, *Adv. Organometallic Chem.*, 20: 313–356.

THOMPSON A., GOYNE K. W., 2012: Introduction to the Sorption of Chemical Constituents in Soils, *Nature Education Knowledge*, 4: 7-9.

TLUSTOŠ P., 1999: *Mobilita arsenu, kadmia a zinku v půdách s možností omezení jejich příjmu rostlinami*. Habilitační práce, ČZU Praha, Praha, 191 s.

TLUSTOŠ P., SZÁKOVÁ J., KOŘÍNEK K., PAVLÍKOVÁ D., HANČ A., BALÍK J., 2006: The effect of liming on cadmium, lead, and zinc uptake reduction by spring wheat grown in contaminated soil, *Plant Soil Environ.*, 52: 16-24.

TLUSTOŠ P., SZÁKOVÁ J., ŠICHOROVÁ K., PAVLÍKOVÁ D., BALÍK J., 2007: *Rizika kovů v půdě v agrosystémech v ČR*. Vědecký výbor fytosanitární a životního prostředí, Praha, 32 s.

TUNAY O., ORHON D., KABDASLI I., 1994: Pretreatment requirements for leather tanning industry wastewaters, *Water Sci. Tech.*, 29: 121–128.

TYLER L. D., MCBRIDE M. B., 1982: Influence of Ca, pH and humic acid on Cd uptake. *Plant Soil*, 64: 259-262.

UGULU, I., DOGAN Y., BASLAR S. AND VAROL, O., 2012: Biomonitoring of trace element accumulation in plants growing at Murat Mountain. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 9: 527-534.

VALLA M., KOZÁK J., DRBAL J., 1983: Cvičení z půdoznalství II. Skriptum VŠZ v Praze, SPN Praha, 280 s.

VANGRONSVELD J., CUNNINGHAM S., 1998: Introduction to the concepts, s. 1–15. In: VANGRONSVELD J., CUNNINGHAM S. (Eds.), *In situ Inactivation and Phytoremediation of Metal Contaminated Soils*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg and R.G. Landes Company, Georgetown, 265 s.

VOGEL-MIKUŠ K., PONGRAC P., KUMP P. et al., 2006: Colonisation of a Zn, Cd and Pb hyperaccumulator *Thlaspi praecox* Wulfen with indigenous arbuscular mycorrhizal fungal mixture induces changes in heavy metal and nutrient uptake, *Env. Pol.*, 139: 362-371.

VOSTAL J., PENK J., 1989: *Hnojení, kvalita produkce a životní prostředí*. MZVŽ Praha, 151 s.

WAHL N. A., BENS O., SCHÄFE B., 2003: Impact of changes in land-use management on soil hydraulic properties: hydraulic conductivity, water repellency and water retention. *Physics and Chemistry of the Earth*, 33-36: 1377-1387.

WANG G., SU M. Y., CHEN Y. H., LIN F. F. LUO D., GAO S. F., 2006: Transfer characteristics of cadmium and lead from soil to the edible parts of six vegetable species in southeastern China, *Environ. Pollut.*, 144: 127-135.

WATERLOT C., BIDAR G., PELFRÊNE A., ROUSSEL H., FOURRIER H., DOUAY F., 2013: Contamination, Fractionation and Availability of Metals in Urban Soils in the Vicinity of Former Lead and Zinc Smelters, *Pedosphere*, 23: 143-159.

WATERLOT CH., BIDAR G., PRUVOT CH., DOUAY F., 2012: Effect of grinding and shaking on Cd, Pb and Zn distribution in anthropogenically impacted soils, *Talanta*, 98: 185 – 196.

WENZEL W. W., ADRIANO D. C., SALT D., SMITH R., 1999B: Phytoremediation: A Plant-Microbe-Based Remediation System, *Agronomy Monograph*, 37: 457-508.

WENZEL W. W., LOMBI E., ADRIANO D. C., 1999: Biogeochemical Processes in the Rhizosphere: Role in Phytoremediation of Metal-Polluted Soils, s. 273-303. In: PRASAD M. N. V., HAGEMeyer J., *Heavy Metal Stress in Plants*. Springer-Verlag, Berlin, 455 s.

8 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Schéma příjmu, akumulace a transportu těžkých kovů v rostlině.....	15
Obr. 2 Lokalizace zemědělských parcel, ze kterých byly odebrány vzorky	27
Obr. 3 Pokusná nádoba	32
Obr. 4 Pokusná nádoba	33
Obr. 5 Příprava půdy	33
Obr. 6 Nádoby experimentu uložené ve fytotronu.....	34
Obr. 7 Rozebírání pokusných nádob	35
Obr. 8 Iontoměničový disk v petriho misce	36
Obr. 9 Měření infiltrace	37
Obr. 10 Promývání kořínků a ukládání do FAA roztoku	38
Obr. 11 Mykorrhizní znaky: vezikuly - arbuskuly – hyfa	39
Obr. 12 Celková produkce biomasy	42
Obr. 13 Vyplavování dusíku (N_{min}) u jednotlivých variant	43
Obr. 14 Kumulativní vodní infiltrace (K_{unsat}) ve variantách	44
Obr. 15 Kolonizace arbuskulární mykorrhizou	45
Obr. 16 Bazální respirace	46
Obr. 17 Substrátem indukovaná respirace	47
Obr. 18 Koncentrace těžkých kovů v rostlinné biomase	48
Obr. 19 Korelace mezi AM a obsahu Cd a Pb v rostlině.....	50
Obr. 20 Různé přístupy stanovení a rozložení kovů v půdě	51
Obr. 21 Pseudo - totální koncentrace Cd, Pb, Zn.....	52
Obr. 22 Distribuce Cd v půdních frakcích	54
Obr. 23 Distribuce Pb v půdních frakcích	54
Obr. 24 Distribuce Zn v půdních frakcích	56
Obr. 25 Mobility faktor	56

9 SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Světová produkce a emise šesti těžkých kovů v mil. kg v období 70. a 80. let.....	10
Tab. 2 Vliv půdních podmínek na dostupnost prvků.....	12
Tab. 3 Vybrané výsledky vlivu organických přísad na imobilizaci těžkých kovů	21
Tab. 4 Parametry půdních vzorků.....	29
Tab. 5 Parametry kompostu.....	30
Tab. 6 Varianty experimentu	32
Tab. 7 Koncentrace těžkých kovů v rostlinné biomase	48
Tab. 8 Biokoncentrační faktor	49
Tab. 9 Pseudo - totální koncentrace Cd, Pb, Zn.....	53
Tab. 10 Srovnání pseudo - totálních a sumy sekvenčních koncentrací	57

10 SEZNAM ZKRATEK

AER – anex

AM – arbuskulární mykorrhiza

BAS – bazální respirace

BCF – biokoncentrační faktor

CER – katex

KVK – kationtová výměnná kapacita

MF – mobility faktor

MO – mikroorganismy

PT – pseudo – totální

SIR – substrátem indukovaná respirace

SOM – půdní organická hmota

TK – těžké kovy

ŽP – životní prostředí