Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



Česká zemědělská univerzita v Praze

Vliv Cd na půdní mikroorganismy - od pedonu po půdní agregát

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Pavla Vojtová Obor studia: Technologie zpracování a využití odpadů

Vedoucí práce: doc. RNDr. Markéta Marečková, Ph.D.

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv Cd na půdní mikroorganismy - od pedonu po půdní agregát " jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 22.7.2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí diplomové práce doc. RNDr. Markétě Marečkové, Ph.D. za trpělivost, ochotu a odborné vedení; RNDr. Václavu Tejneckému, Ph.D. za pomoc v roli konzultanta; Ing. Janu Kopeckému, Ph.D. za trpělivost při zpracovávání taxonomického řazení, a v neposlední řadě mé rodině a přátelům za podporu a velkou dávku porozumění během mých studií, hlavně v posledních měsících.

Vliv Cd na půdní mikroorganismy – od pedonu po půdní agregát

Souhrn

Diplomová práce se zabývala zkoumáním půdních vzorků z oblasti Praha-Vinoř. Na dvě parcely v této oblasti byl v 80. letech navezen rybniční sediment z místních rybníků Velké a Malé Obůrky, který byl kontaminovaný potenciálně rizikovými kovy, převážně kadmiem. Do rybníků se tato kontaminace dostala vyplavováním z nedaleké opravny leteckých motorů.

Půdní vzorky byly odebrány podle odběrové sítě, která byla navržena tak, aby postihovala celé kontaminované území. Odběry probíhaly povrchově v kopaných sondách (<u>s</u>-surface a <u>d</u>-depth), i hloubkově ve dvou vrtaných sondách pomocí vrtné soupravy (sonda A-odběrové místo 6 a sonda B-odběrové místo14). Půdní vzorky byly také zpracovány odlišně. Zatímco z kopaných sond se odebíral směsný půdní vzorek, z vrtaných sond byly odebrány půdní agregáty. Z plochy bylo odebráno 30 vzorků, v případě sond se jednalo o 11 vzorků pro sondu A a 10 pro sondu B z různých hloubek. Celkem bylo tedy odebráno 51 vzorků půdy z 20 odběrových míst. Tyto půdní vzorky byly podrobeny fyzikálně-chemickým analýzám: pH; organický uhlík (Cox); oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al (Fe_{ox}, Al_{ox}, Mn_{ox}); kationtová výměnná kapacita (KVK); pseudototální obsahy rizikových prvků (Cd_{aq}; Zn_{aq}) a fyzikální vlastnosti dle Kopeckého válečků. U všech vzorků bylo také stanoveno složení bakteriálního společenstva pomocí molekulárních metod.

Pro stanovení bakteriálního společenstva bylo třeba extrahovat DNA z půdy, provést polymerázovou řetězovou reakci (PCR) s primery pro prokaryota a sekvenování v servisní laboratoři. U vzorků z plochy byla extrakce prováděna z navážky jemnozemě (0,5 g). Tuto extrakci a PCR prováděli pracovníci VÚRV,v.v., Praha. Autorka práce prováděla extrakci DNA a následné PCR pro agregáty sond A a B a dále také provedla taxonomické zařazení dle databáze a zobrazení složení společenstev v tabulkách a grafech pro vzorky z plochy i agregátů.

Fyzikálně-chemické analýzy byly propojeny složením mikrobiálních společenstev tak, aby bylo možné zjistit vliv úrovně kontaminace. Hodnocen byl jak vliv na složení bakteriálního společenstva, tak i uspořádání studovaných společenstev v prostoru. Dále byla zjišť ována vazba kadmia na fyzikálně-chemické vlastnosti a jeho mobilita.

Pro další statistické analýzy byly výsledky analýz vzorků rozděleny na základě úrovně kontaminace na Vysokou, Střední a Nízkou kontaminaci v případě vzorků z plochy a pro sondu B, na Velmi vysokou, Vysokou, Střední a Nízkou kontaminaci pro sondu A. Složení společenstev bylo zobrazeno pomocí diagramu neparametrického vícerozměrného rozdělení (NMDS), ale toto zobrazení bylo do výsledků zařazeno pouze pro vzorky z plochy, jelikož jinde nebyla zjištěna statistická významnost.

Výsledky této práce by mohly přispět k nalezení vhodného řešení remediace.

Klíčová slova: kadmium, agregáty, molekulární metody

The infuence of Cd on soil microorganisms

Summary

The diploma thesis dealt with the examination of soil samples from the area of Praha-Vinoř. In the 1980s pond sediment from the local ponds of Velká and Malá Obůrka was extracted and spread out over two land properties in this area. It was later found that the sediment was contaminated with toxic metals mainly cadmium. This contamination got to the ponds by leaching from a nearby aircraft engine repair company.

Soil samples were taken according to a grid of 30 sampling points designed to cover the entire contaminated area. One set of samples was collected on the surface in probes of two depths (s-surface and d-depth), the second set of samples was taken from two drilled cores using a drilling rig (probe A-sampling point 6 and probe B-sampling point14). Samples were processed differently, a mixed soil sample was used from the surface probes while soil aggregates were extracted from the drilled probes.

A total of 51 soil samples were collected at 20 different testing sites, 30 of them were surface samples, 10 were deep probes at location A and 11 were also deep probes at location B. All of the soil samples were subjected to physicochemical analyzes: pH; organic carbon (Cox); oxalate exchange forms of Fe, Mn, Al (Feox, Alox, Mnox); cation exchange capacity (KVK); pseudototal contents of risk elements (Cdaq; Znaq) and physical properties according to Kopecký rollers. The composition of the bacterial community was also determined for all samples using molecular methods.

To determine the bacterial community, DNA was extracted from the soil, followed by polymerase chain reaction (PCR) with primers for prokaryotes and amplicon Illumina sequencing in a service laboratory. For surface samples, extraction was performed from a fine earth batch (0.5g). This extraction and PCR was performed by the staff of VÚRV, v.v., Praha. The author of the thesis performed DNA extraction and subsequent PCR for samples of soil aggregates from cores A and B. She also performed a taxonomic classification according to the database and prepared tables and graphs of the composition of communities for both surface samples and for aggregates.

Physicochemical analyzes were linked with the composition of bacterial communities so that the effect of the level of contamination could be demonstrated. Both the influence on the composition of the bacterial community and the distribution of the studied communities in space were evaluated. Furthermore, the binding of cadmium to physicochemical properties and its mobility was determined.

For further statistical analyzes, the sample analysis results were divided based on the level of contamination into High, Medium and Low contamination for Core B and surface samples and for Very High, High, Medium and Low contamination for Core A. The composition of the communities was plotted using a nonparametric multidimensional distribution (NMDS) diagram, but this plot was included in the results only for surface samples, as no statistical significance was found elsewhere.

The results of this thesis could contribute to finding a suitable solution for remediation.

Keywords: cadmium, aggregates, molecular methods

Obsah

1	Úvod		
2	Vědecká hypotéza a cíle práce10		
	2.1	Cíl práce	10
	2.2	Hypotézy práce	10
3	Litord	ární ročarča	11
3	3 1	Kontaminace nůdv	
	3.2	Půda	11
	3.2	1 Zrnitost	12
	3.2.	2 Struktura půdy	
	3.3	Degradace půdy	
	3.3.	1 Utužení půdy	
	3.3.	2 Acidifikace	
	3.3.	3 Eroze půdy	
	3.3.	4 Ztráta organické hmoty	17
	3.3.	5 Ztráta biodiverzity	
	3.3.	.6 Kontaminace potenciálně rizikovými prvky	19
	3.4	Mikroorganismy v kontaminované půdě	
	3.4.	1 Bakterie a jejich chování v kontaminované půdě	
	31	2 Viry v půdě	22
	5.4.	viry v pude	
4	Loka	lita a odběr	
4	Loka 4.1	lita a odběr	25
4	Lokal 4.1 4.2	lita a odběr Pracovníci Chemikálie	25 25 27 28
4	Lokal 4.1 4.2 4.3	lita a odběr Pracovníci Chemikálie Metodika fyzikálně-chemických analýz	25 25 27 28 29
4	Lokal 4.1 4.2 4.3 4.3.	lita a odběr Pracovníci Chemikálie Metodika fyzikálně-chemických analýz 1 Pseudototální obsah rizikových prvků	23 25 27 28 28 29 29
4	Loka 4.1 4.2 4.3 4.3. 4.3.	 lita a odběr Pracovníci Chemikálie Metodika fyzikálně-chemických analýz 1 Pseudototální obsah rizikových prvků 2 Půdní reakce 	23 25 27 28 29 29 29
4	Lokal 4.1 4.2 4.3 4.3. 4.3. 4.3.	 lita a odběr Pracovníci Chemikálie Metodika fyzikálně-chemických analýz 1 Pseudototální obsah rizikových prvků 2 Půdní reakce 3 Organický uhlík 	23 25 27 28 29 29 29 29 29 23
4	Loka 4.1 4.2 4.3 4.3. 4.3. 4.3. 4.3.	 lita a odběr Pracovníci Chemikálie Metodika fyzikálně-chemických analýz 1 Pseudototální obsah rizikových prvků 2 Půdní reakce 3 Organický uhlík 4 Kationtová výměnná kapacita 	23 25 27 27 28 29 29 29 29 29 23
4	Lokal 4.1 4.2 4.3 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3.	 lita a odběr Pracovníci Chemikálie Metodika fyzikálně-chemických analýz 1 Pseudototální obsah rizikových prvků 2 Půdní reakce 3 Organický uhlík 4 Kationtová výměnná kapacita 5 Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al 	23 25 27 28 29 29 29 29 29 29 29 23
4	Lokal 4.1 4.2 4.3 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3.	 lita a odběr Pracovníci Chemikálie Metodika fyzikálně-chemických analýz 1 Pseudototální obsah rizikových prvků 2 Půdní reakce 3 Organický uhlík 4 Kationtová výměnná kapacita 5 Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al 6 Fyzikální vlastnosti dle Kopeckého válečků 	23 25 25 27 28 29 29 29 29 29 30 30 32
4	Lokal 4.1 4.2 4.3 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.4	 lita a odběr Pracovníci Chemikálie Metodika fyzikálně-chemických analýz 1 Pseudototální obsah rizikových prvků 2 Půdní reakce 3 Organický uhlík 4 Kationtová výměnná kapacita 5 Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al 6 Fyzikální vlastnosti dle Kopeckého válečků 	23 25 27 28 29 29 29 29 29 29 29 29 29 29 29 29 29 29 29 29 29 29 30 30 30 32 33
4	Loka 4.1 4.2 4.3 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3 . 4.4	 lita a odběr Pracovníci Chemikálie Metodika fyzikálně-chemických analýz 1 Pseudototální obsah rizikových prvků 2 Půdní reakce 3 Organický uhlík 4 Kationtová výměnná kapacita 5 Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al 6 Fyzikální vlastnosti dle Kopeckého válečků 1 Extrakce DNA z půdy 	23 25 27 28 29 29 29 29 29 29 29 29 29 29 30 30 32 33 33
4	Lokal 4.1 4.2 4.3 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4	 lita a odběr Pracovníci Chemikálie Metodika fyzikálně-chemických analýz 1 Pseudototální obsah rizikových prvků 2 Půdní reakce 3 Organický uhlík 4 Kationtová výměnná kapacita 5 Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al 6 Fyzikální vlastnosti dle Kopeckého válečků 1 Extrakce DNA z půdy 2 Elektroforéza 	23 25 25 27 28 29 29 29 29 30 30 30 32 32 33 33 35
4	Lokal 4.1 4.2 4.3 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3 . 4.4 4.4. 4.4. 4.4.	 lita a odběr Pracovníci Chemikálie Metodika fyzikálně-chemických analýz 1 Pseudototální obsah rizikových prvků 2 Půdní reakce 3 Organický uhlík 4 Kationtová výměnná kapacita 5 Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al 6 Fyzikální vlastnosti dle Kopeckého válečků 1 Extrakce DNA z půdy 2 Elektroforéza 3 Polymerázová řetězcová reakce a sekvence metodou Illumina 	23 25 27 28 29 29 29 29 29 29 30 30 32 33 33 33 35 35
4	Lokal 4.1 4.2 4.3 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.4 4.4. 4.4. 4.4. 4.4.	 lita a odběr Pracovníci Chemikálie Metodika fyzikálně-chemických analýz 1 Pseudototální obsah rizikových prvků 2 Půdní reakce 3 Organický uhlík 4 Kationtová výměnná kapacita 5 Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al 6 Fyzikální vlastnosti dle Kopeckého válečků 1 Extrakce DNA z půdy 2 Elektroforéza	23 25 27 28 29 29 29 29 29 29 29 29 30 30 30 32 33 33 35 35 39
4	Lokal 4.1 4.2 4.3 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4	Iita a odběr Pracovníci Chemikálie Metodika fyzikálně-chemických analýz 1 Pseudototální obsah rizikových prvků 2 Půdní reakce	23 25 25 27 28 29 29 29 29 30 30 30 30 32 32 33 35 35 39 39
4	Lokal 4.1 4.2 4.3 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4	lita a odběr Pracovníci Chemikálie Metodika fyzikálně-chemických analýz 1 Pseudototální obsah rizikových prvků 2 Půdní reakce. 3 Organický uhlík 4 Kationtová výměnná kapacita. 5 Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al 6 Fyzikální vlastnosti dle Kopeckého válečků 1 Extrakce DNA z půdy. 2 Elektroforéza. 3 Polymerázová řetězcová reakce a sekvence metodou Illumina. 4 Složení bakteriálního společenstva 5 Statistické šetření	23 25 25 27 28 29 29 29 30 30 30 30 32 33 33 35 35 39 39 39
4	Lokal 4.1 4.2 4.3 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4.3. 4	Iita a odběr Pracovníci Chemikálie Metodika fyzikálně-chemických analýz 1 Pseudototální obsah rizikových prvků 2 Půdní reakce 3 Organický uhlík 4 Kationtová výměnná kapacita 5 Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al 6 Fyzikální vlastnosti dle Kopeckého válečků 1 Extrakce DNA z půdy 2 Elektroforéza 3 Polymerázová řetězcová reakce a sekvence metodou Illumina 4 Složení bakteriálního společenstva 5 Statistické šetření	23 25 27 28 29 29 29 29 30 30 30 32 33 33 33 35 35 35 39 39 41 41

	5.1.2	Půdní reakce (sonda A)				
	5.1.3	Organický uhlík (sonda A)				
	5.1.4	Kationtová výměnná kapacita (sonda A)				
	5.1.5	Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al				
	5.1.6	Fyzikální vlastnosti dle Kopeckého válečků (sonda A)				
	5.1.7	Pseudototální obsah Cd a Zn (sonda B)				
	5.1.8	Půdní reakce (sonda B)				
	5.1.9	Organický uhlík (sonda B)	47			
	5.1.10	Kationtová výměnná kapacita (sonda B)	47			
	5.1.11	Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al (sonda B)				
	5.1.12	Fyzikálné vlastnosti dle Kopeckého válečků (sodna B)				
	5.1.13	Korelace fyzikálně-chemickcých vlastností				
	5.1.14	Extrakce DNA a PCR				
	5.1.15	Složení bakteriálního společenstva	50			
	5.2 Výs	sledky-plocha				
	5.2.1	Pseudototální obsah Cd a Zn				
	5.2.2	Půdní reakce	53			
	5.2.3	Organický uhlík	54			
	5.2.4	Kationtová výměnná kapacita	54			
	5.2.5	Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al	55			
	5.2.6	Korelace fyzikálně-chemických vlastností	55			
	5.2.7	Složení bakteriálního společenstva	55			
	5.2.8	Statistické šetření	56			
6	Diskuze		59			
v	6.1 Fvz	zikálně-chemické narametry				
	6.2 Půc	Iní společenstva				
_		F	()			
7	Zaver					
8	5 Literatura64					
9	9 Seznam obrázků					
10	10 Seznam příloh83					
11	11 Seznam rovnic					
12	12 Seznam tabulek					
13	13 Samostatné přílohyI					

1 Úvod

Půda je neustále se vyvíjející živý systém, který má mnoho funkcí a využití. Hodnocení významu půdy ovšem závisí na účelu, ke kterému se vydává. Jinou prioritu bude mít pro stavebnictví, archeologii, potravinářství nebo ekologii. Obecně lze půdní funkce rozdělit do tří oblastí: produkční, kulturní a biologickou (ekologickou) (Ministerstvo zemědělství 2015).

Produkční funkce představuje půdu jakožto výrobní prostředek. Zabezpečuje plochu pro růst lesnických a zemědělských plodin. Dále zajišťuje místo pro hospodářské a stavební využití, pro rekreaci, infrastrukturu a je zdrojem surovin, jako je štěrk, písek apod. (Novák 2001).

Kulturní funkce znamená místo pro rekreaci a aktivity obyvatel (sport, relaxace apod.), a také prostor, kde se nachází archeologická naleziště (Ministerstvo zemědělství 2015).

Biologická nebo ekologická (mimoprodukční) funkce půdy zahrnuje mnoho podfunkcí. Jsou jimi: filtrace vody (přídavek minerálních látek do vody, zachycení kontaminantů), akumulace a zadržování vody, prostředí pro půdní organismy, ukládání živin (ochrana toků před eutrofizací, zásobárna živin pro rostliny), transportní funkce (pohyb látek v krajině, mezi sférami i v půdě) apod. (Ministerstvo zemědělství 2015; Vopravil 2016).

Biologické vlastnosti půd se nejčastěji hodnotí pomocí rozmanitých druhů půdních organismů (Šimek et al. 2019). Dá se říci, že nikde na planetě není větší biodiverzita, než právě v půdě (Kutílek a Nielsen 2015). Biodiverzita působí zpětně k udržování stabilního klimatu, čistoty vody, vodního režimu, úrodnosti půdy a i složení vzduchu (Moldan 2015). Rozmanitost a aktivita půdních organismů, je ovlivňována biotickými a abiotickými faktory (vlhkost, teplota, klima, struktura půdy, pH, kontaminace, apod.) (Gislin et al. 2018). V případě ztráty biodiverzity pak dochází k narušení funkcí ekosystému, a to i narušení cyklování živin, rozmanitosti rostlin a živočichů (Wagg et al. 2014). Společná zemědělská politika Evropy, má proto snahu zohlednit biologickou rozmanitost a navrhuje různá agroenviromentální opatření, která zmírňují dopady půdní degradace (Plaas et al. 2019).

Půda je zvláště ovlivněna kontaminací cizorodými látkami, které se do půdy dostávají lidskou činností. Mezi tyto kontaminanty patří těžké kovy¹/potenciálně rizikové prvky², desinfekční prostředky, pesticidy, ale i antibiotika (Reddy a Dubey 2019; Subirats et al. 2016). Potenciálně rizikové prvky představují zvláštní skupinu kontaminantů, protože jsou nerozložitelné a v půdě již navždy zůstávají, pokud se neprovede umělé odstranění pomocí různých technologií jako je fytoremediace nebo využití čistících a chelatačních procesů (Thakur et al. 2016; Wang et al. 2018a). Kontaminace silně ovlivňují půdní funkce, zvláště biologické procesy. Toxicita kovů se projevuje především tím, že se (i) zamění kovy ve vazebných místech různých enzymů (ii) poškodí buněčné membrány, (iii) změní enzymové specificity, narušením buněčné funkce, modifikací struktury DNA atd.(Bruins et al. 2000).

¹ Těžkými kovy bývají často nepřesně označovány skupiny kovů (metaloidů), které jsou spojeny s kontaminací či potenciální toxicitou (Pourret a Bollinger 2018). V této práci je používán pojem "potenciálně rizikové prvky", aby se předešlo případným nepřesnostím.

² Potenciálně rizikové prvky jsou skupina, do níž patří metaloidy a kovy, které u živých organismů mohou vyvolávat projevy chronické nebo akutní toxicity (Ministerstvo zemědělství nedatováno).

Může se projevit i zrychlením přenosu genů v bakteriích i u bakteriofágů (Reddy a Dubey 2019) a tím dochází i k ovlivnění vztahů patogen/hostitel.

Zkoumání půdních procesů lze zpětně použít pro hodnocení míry zasažení a vážnosti kontaminace. Souhrnem informací o dané lokalitě a míře kontaminace lze laboratorními rozbory nastínit "zdravotní stav" půdy daného území a také navrhnout vhodná řešení daného problému (Šimek et al. 2019).

Autorka práce studuje obor Technologie zpracování a využití odpadů. Kontaminace půdy představuje typy odpadu, jejichž dopad na prostředí a zvláště mikroorganismy se dlouhodobě nehodnotil, a to i přes to, že je odstraňování půdních kontaminací součástí European Soil Framework Directive. Práce proto přispívá k pochopení vlivu kontaminace kadmiem a tím umožňuje navržení a realizaci přesně zaměřených remediačních opatření.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

2.1 Cíl práce

Cílem práce je stanovení vztahu mezi složením mikrobiálního společenstva a úrovní kontaminace půdy kadmiem. Důležitou součástí práce je také propojit mikrobiální a půdní analýzy v závislosti na prostorovém uspořádání půdních částic a mikroorganismů v půdních agregátech. Tyto souvislosti budou vyhodnoceny především z hlediska změn týkajících se rozkladu organické hmoty.

2.2 Hypotézy práce

1)V závislosti na kontaminaci, se mění složení bakteriálního společenstva.

2)Dochází ke změnám půdních vlastností, především týkajících se rozkladu organické hmoty.3)Uspořádání mikroorganismů a půdních částic je ovlivněno kontaminací.

3 Literární rešerše

3.1 Kontaminace půdy

Kontaminace půdy představuje hlavní antropogenní zatížení (Němeček et al. 2010). Do půdy vstupuje velké množství látek, které ji kontaminují (polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH), pesticidy, ropa a její produkty, potenciálně rizikové prvky apod.), a dále se uvolňují do ostatních složek životního prostředí (Chen et al. 2015). Tyto kontaminace jsou způsobené převážně činností zemědělství, lékařství a průmyslu (Chen et al. 2016; Fang et al. 2018; Garner et al. 2019; Jiao et al. 2018). Míru půdní kontaminace není možné shrnout hodnotami celkových obsahů škodlivin, a proto je obtížné kontaminaci správně ohodnotit. Míra rizika je tedy stanovována pomocí ohodnocení ekotoxicity a humanotoxicity. (Němeček et al. 2010). Pro svou vysokou citlivost, se užívají jako jeden z ukazatelů kontaminace životního prostředí půdní mikroorganismy (Tang et al. 2019). Kontaminace bývají způsobeny zejména organickými polutanty nebo potencionálně rizikovými prvky. Pro většinu prvků, které jsou potenciálně toxické, jsou stanoveny hraniční limity. Tyto limity se v různých zemích liší (Šarapatka 2014). Pro Českou republiku platí hodnoty psané ve Vyhlášce MŽP 135/2016 Sb.(AION CS s.r.o. 2019).

Z hlediska kontaminace půd, se často jedná o historické kontaminace. V dřívějších dobách totiž ještě nebyly vstupy do půdy řízeny legislativou, ani nebyla půda legislativně chráněna (Němeček et al. 2010). Často tak docházelo k zanášení nežádoucích látek a k nevhodnému zacházení se zemědělskou půdou. Dnes upravuje ochranu zemědělské půdy legislativa. Zákon č. 334/1992 Sb., o ochraně zemědělského půdního fondu, pojednává o vymezení zemědělského půdního fondu, o jeho ochraně aj. Ve Vyhlášce č. 153/2016 Sb., o stanovení podrobností ochrany kvality zemědělské půdy, jsou mj. stanoveny preventivní obsahy rizikových prvků a látek, indikační hodnoty obsahů rizikových prvků a látek v zemědělské půdě. Vyhláška č. 257/2009 Sb., o používání sedimentů na zemědělské půdě, stanovuje, jaké množství sedimentů je možno na půdu aplikovat a za jakých podmínek (AION CS s.r.o. 2019).

Na evropské úrovni ochranu půdy stanovuje platná Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2004/35/ES, o odpovědnosti za životní prostředí v souvislosti s prevencí a nápravou škod na životním prostředí. V tomto dokumentu pojednává o půdních kontaminacích, které představují riziko pro lidské zdraví přímo nebo nepřímo ovlivněné zavedením škodlivin různé podoby (potenciálně rizikové prvky, přípravky, organismy) do/na půdu, či pod její povrch, a zároveň ošetřuje nápravná opatření (EUR-Lex nedatováno).

3.2 Půda

Půda vzniká z organických zbytků a povrchových zvětralin zemské kůry, a to působením půdotvorných faktorů za určitých podmínek. Mezi půdotvorné faktory patří mateřská hornina, klima, organismy a podzemní voda, mezi půdotvorné podmínky se řadí reliéf terénu a čas (Šarapatka 2014).

3.2.1 Zrnitost

Zrnitost půdy (textura) patří mezi klíčové vlastnosti v určování tepelného a vodního režimu, růstu rostlin, půdní struktury a rozmanitosti živých organismů, obecně tedy v určování kvality půdy (Coblinski et al. 2020).

Metod zjišťování zastoupení jednotlivých frakcí je více (Pavlů 2018). Konvenčně to bývá hustoměrná metoda, kde je zjišťováno procentuální zastoupení zrnitostních frakcí, prachu, písku a jílu, pomocí hustoměru (Barman a Choudhury 2019). Dle zastoupení zrnitostních frakcí (Tabulka 1) je určen půdní druh. Metod určení půdního druhu je více, nejznámější je v České republice klasifikační systém dle Nováka (Tabulka 2), který určuje půdní druh pouze na základě kategorie I (Pavlů 2018). Dále se hojně využívá metoda trojúhelníkového diagramu (Obrázek 1) využívající všechny 3 frakce (Barman a Choudhury 2019).



Obrázek 1: Trojúhelníkový diagram Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af291projekty2/vseo/print.php?page=3416&typ=html

Textura nebývá konstantní. Mění se s hloubkou a v prostoru (Coblinski et al. 2020). Napovídá o vlastnostech půdy, jako je náchylnost ke zhutnění, retenci vody a živin, výměna kationtů, plasticita, soudržnost aj. (Eldor 2014; Hillel 2013b). Jílovité půdy, bývají těžko obdělávatelné, hutné a soudržné, absorbují a zadržují více vody, říká se jim proto půdy těžké. Písčité půdy, tedy půdy lehké, naopak zadržují méně vody, jsou více provzdušněné a lehce obdělávatelné (Hillel 2013a). Tím, že půdní zrnitost ovlivňuje vlastnosti, které souvisejí s kvalitou životních podmínek mikroorganismů, se významně podílí i na tvorbě půdní mikrobiální biomasy (Meliani et al. 2012). Půdní textura a biomasa mikroorganismů jsou důležitými faktory při vytváření půdních agregátů. V půdě, obsahující více jílnatých částic, organických zbytků a vyšší mikrobiální biomasy, se tvoří snáze a to díky jejich elektronegativnímu náboji, velké ploše povrchů a vláknité struktuře některých organismů rozkládajících organickou hmotu. Oproti tomu půdy písčité bývají pouze slabě agregovány (Eldor 2014).

Název frakce	Velikostní průměr (mm)	Kategorie	
Koloidní jíl	<0,0001		
Fyzikální jíl	0,0001 - 0,002 (1)	I. kategorie	
Jemný prach	0,002 (1) - 0,01		
Prach	0,01 - 0,05	II. kategorie	
Práškový písek	0,05 - 0,1	III. Kategorie	
Písek	0,1 - 2	IV. Kategorie	
Hrubý písek	2 - 4		
Štěrk	4 - 30	skelet	
Kamení	>30		

Tabulka 1: Zrnitostní frakce a kategorie (Pavlů 2018)

Tabulka 2: Půdní druh dle Nováka (Pavlů 2018)

Půdní druh	Obsah I. kategorie		
Písčitá	< 10 %	Lahká půdy	
Hlinitopísčitá	10 - 20 %	Lenke pudy	
Písčitohlinitá	20 - 30 %	Střadně těřleá půdy	
Hlinitá	30 - 45 %	Streame tezke pudy	
Jílovitohlinitá	45 - 70 %		
Jílovitá	60 - 75 %	Těžké půdy	
Jíl	> 75 %		

3.2.2 Struktura půdy

Struktura půdy je založena na uskupení elementárních půdních částic do agregátů (Šarapatka 2014). Agregáty mohou být dvou povah. Ty, které jsou tvořené přirozeně, se nazývají pedy. Tzv. hrudky, tedy agregáty "umělé", jsou tvořeny obděláváním půdy nebo jinou manipulací. V půdě se obvykle nachází směs těchto dvou skupin agregátů (Whalen a Sampedro 2010). Vznik agregátu závisí na půdní zrnitosti, vlhkosti a chemickém složení, protože těmito vlastnostmi se odlišují procesy působící vznik agregátů. Koherentní procesy působí vznik souvislých, relativně pevných a podobně velkých agregátů, které jsou spojeny jíly, kyselinou křemičitou a hydroxidy hliníku a železa. A konečně agregátové procesy vytvářejí půdní částice stmelené humusovými látkami, organo-minerálními sloučeninami a jílem (Šarapatka 2014).

Půdní struktura má velký vliv na fyzikální, chemické a biologické procesy v půdě, jako jsou eroze, infiltrace, zadržování vody, pronikání kořenů (Kay a Angers 2002). Je zásadní pro vytváření životního prostředí pro mikroorganismy, živočichy a rostliny (Pavlů 2018). Půdní mikroorganismy ale působí i zpětně na tvorbu agregátů, protože vážou půdní částice k sobě pomocí adsorpce, cementace, obalením či zapletením do agregátů, nebo i vylučováním různých produktů (polysacharidy, hemicelulosy, uronidy apod.) (Hillel 2013a).

Podobně jako ostatní biomy nebo ekosystémy, strukturu půdy lze posuzovat z hlediska stability, odolnosti, formy a zranitelnosti (Kay 2018). Právě u stability hraje roli i velikost agregátů, které dělíme na mikroagregáty (menší než 0,25 mm) a makroagregáty (větší než 0,25 mm) (Šarapatka 2014). Agregáty tvoří systém pórů, který je zásadní pro pohyb

a infiltraci vody. Jejich stabilita a struktura ovlivňuje půdní erozi, výměnu plynů, ovlivňuje růst rostlin a biologickou aktivitu (Menon et al. 2015).

Makroagregáty se skládají z mikroagregátů, které jsou stabilnější, méně ovlivněné půdní organickou hmotou a řízením mikroorganismů (Oades 1984; Verchot et al. 2011). Na stabilní struktuře půdy se na úrovni mikroagregátů podílí rostlinná, živočišná a bakteriální pojiva, flokulace jílu a cementace dispergovaného jílu (Jensen et al. 2020). Na úrovni makroagregátů se pro změnu na stabilitě podílejí zejména houbové hyfy a kořeny rostlin (Miller a Jastrow 1990). Stabilita makroagregátů je více ovlivněna řízením mikroorganismů a množstvím půdní organické hmoty (Oades 1984). Makroagregáty jsou také méně erodovatelné (Acosta-Martínez et al. 2015). Čím vyšší je zastoupení makroagregátů, tím je lepší půdní struktura (Menon et al. 2015).

Elementární procesy zabraňují vzniku agregátů, protože půda je písčitá a suchá a půdní částice nemohou být stmeleny. Stabilita agregátů je ovlivňována kultivací příliš mokré nebo suché půdy, protože dochází k jejich rozpadání. Také mikroorganismy se podílejí na destabilizaci půdních agregátů tím, že rozkládají organickou hmotu, která drží agregáty pohromadě a působí tak jejich rozpad (Hillel 2013a).

Půdní agregáty se také dělí podle velikosti a tvaru (Obrázek 2):

1) Kulovité nebo mnohostěnné agregáty, které tvoří drobtovitou strukturu půdy. Tento typ je běžný u povrchových půd (travnaté porosty, lesy, agroekosystémy). Na jejich vytváření se podílejí zbytky organické hmoty, ale také působení žížal nebo kultivace. Tato půda má dobrou pórovitost, díky níž je dobře propustná pro vodu a vzduch. Půdy této struktury jsou dobře kultivovatelné, strukturu lze udržovat přidáváním organického opadu, slámy a dalších rostlinných zbytků.

2) Deskovité agregáty (lístkovitá struktura), které se nacházejí v podpovrchových horizontech. Tenké destičky půdy ležící vodorovně na sobě mohou být známkou zhutňování půdy strojní technikou nebo dobytkem na pastvinách. Destičky se často překrývají, tím zhoršují propustnost, a tím blokují růst kořenů a vsakování vody.

3) Polyedrické agregáty, jsou blokovité pedy různých tvarů. Nejčastěji se nacházejí v horizontu B, ale lze se s nimi setkat i v povrchových půdách s vysokým obsahem jílu. Tato bloková struktura se tvoří v důsledku bobtnání a smršťování jílových minerálů.

4) Sloupkovitá struktura se skládá ze sloupovitých pedů se zaoblením horní části. Typická struktura pro horizont B v půdách s vysokým obsahem sodíku. Tato struktura bývá velmi hutná a její vlastnosti se těžce zlepšují i hloubkovým kypřením.

5) Prismatické agregáty vypadají jako sloupcovité, ale bez zaoblení horní části. Stěny jsou rovné a dlouhé. Nacházejí se v horizontu B, ale i v podpovrchových vrstvách. Dochází mezi nimi k vertikálnímu praskání, které umožňuje pronikat vodě a kořenům. (Šarapatka 2014; Whalen a Sampedro 2010)



Obrázek 2: Typy struktury dle tvaru Dostupné z: www.google.struktura.cz

3.3 Degradace půdy

V současné době patří mezi hlavní světové problémy životního prostředí právě degradace půdy (Lasanta et al. 2019). Dochází k ní v důsledku sociálně-ekonomických a přírodních faktorů (Sklenicka et al. 2019). Pokud je půda degradovaná, dochází u ní následně k znehodnocení fyzikálních, chemických a biologických vlastností (Šarapatka 2014). V České republice dochází k různým formám degradace půdy. Patří mezi ně utužení (ornice i podorničí), acidifikace, eroze, kontaminace půdy, ztráta organické hmoty a biologické diverzity a další. Vlivem klimatických změn lze předpokládat, že v budoucnu budou přibývat další formy (Šarapatka 2014; Vopravil et al. 2010).

3.3.1 Utužení půdy

Degradace způsobena zhutňováním/utužením půdy je velice rozšířený jev (Alaoui a Diserens 2018). Utužení je způsobeno buď přirozeně, nebo antropogenně. Přirozené je způsobeno půdotvornými procesy a antropogenní mechanizací (Šarapatka 2014). Hargreaves et al. (2019) uvádí, že odhadem je v Evropě utužením degradováno přibližně 33 mil. ha půdy. V České republice se jedná zhruba o polovinu zemědělských půd (Šarapatka 2014). Zhutnění poškozuje fyzikální, chemické a biologické vlastnosti půdy (Carlesso et al. 2019). Dochází k zhoršení půdní struktury a stavu půdních agregátů, které se vlivem hutnění rozpadají (Zheng et al. 2018). Dále se snižuje objem dostupných pórů, které obsahují vodu. Mění se uspořádání částic v půdě, tudíž i geometrie pórů (Keller et al. 2013). Dochází ke změně poměru interpórů a intrapórů tak, že se snižuje objem interpórů a zvyšuje se objem intrapórů. To má vliv i na zásadní snížení průtoku vody, a tím se zvyšuje riziko eroze. Projevuje se také změna vlhkosti půdy, které má značný vliv na efekt hutnění. Mírně vlhká půda má vyšší sílu povrchového napětí a tedy vyšší stabilitu agregátů (Menon et al. 2015). Hutnění má vliv i na ztrátu dusíku. A to zrychlenou produkcí skleníkových plynů prostřednictvím denitrifikace v anaerobních podmínkách (Keller et al. 2013).

Omezit hutnění lze např.: vhodnou agrotechnikou, vhodným organickým hnojením a vápněním, vhodným výběrem plodin, omezením přejezdů po parcelách (Šarapatka 2014).

3.3.2 Acidifikace

Při acidifikaci (okyselování půd) dochází k vytěsnění kladných bazických iontů ze sorpčního komplexu, které jsou nahrazeny H^+ (VÚMOP v.v.i. 2013). Projevem jsou změny pH, tedy změny půdní reakce (Šarapatka 2014). Rychlost acidifikace závisí především na pufrační kapacitě a vlastnostech dané půdy (struktura, KVK apod.) (Emamgolizadeh et al. 2015; Yang et al. 2012). Okyselení je způsobeno řadou faktorů, které lze rozdělit na antropogenní a přirozené procesy (Goulding 2016; Šarapatka 2014). Mezi přirozené lze zařadit podzolizaci či ilimerizaci (Šarapatka 2014). Mezi antropogenní pak např. kyselé deště, vylučování plynů (oxid siřičitý) a aplikace kyselých hnojiv (močovina, hnojiva na bázi síry apod.) (Goulding 2016; Šarapatka 2014). V dnešní době je ovšem stále největším problémem okyselování z intenzivního zemědělství (Yan et al. 2020).

Acidifikace způsobuje pokles výnosu plodin, ztrátu základních kationtů a zvýšení saturace hliníku (Goulding 2016). Dále je snižována neutralizační kapacita, obsah uhličitanů, případně můžou být akumulovány sírany a kyseliny (Fe^{3+,} Al³⁺) (Šarapatka 2014). Existuje silná závislost vyluhování potenciálně rizikových prvků (Cd, Zn, Pb, aj.) na pH (Król et al. 2020). Hodnota pH je uznávána jako klíčový faktor v regulaci chování potenciálně rizikových prvků. Ovlivňuje jejich toxicitu, mobilitu i biologickou dostupnost (Xu et al. 2017). Čím kyselejší je prostředí, tím mobilnější, a proto i toxičtější, rizikové prvky jsou (Król et al. 2020). Při vysokém okyselení může také docházet k rozpouštění jílových minerálů a redukci kationtové výměnné kapacity, která je doprovázena i poškozením struktury půdy (Goulding 2016). Míra kyselosti ovlivňuje i půdní mikroorganismy. Ovlivňuje strukturu, složení i rozmanitost (Kaminsky et al. 2017). Jelikož agregáty vznikají především interakcí mezi mikroorganismy, organickou hmotou a jílovými částicemi, je jejich vytváření ovlivněno i kyselostí (Šantrůčková 2014).

3.3.3 Eroze půdy

Eroze se dělí na větrnou a vodní. Jsou částečně přirozené, ale častěji zrychlené, způsobené člověkem (Šarapatka 2014). Půdní eroze může zásadně měnit fyzikálně-chemické vlastnosti půdy a tím také půdní mikroorganismy (Xiao et al. 2017). Způsob obdělávání půdy, morfologické, geologické, půdní, hydrologické, klimatické a vegetační podmínky, jsou faktory, které vodní erozi značně ovlivňují (Šarapatka 2014).

Eroze větrná je problémem především v aridních oblastech s písčitou půdou, kde je větrem odnášena část úrodného podílu půdy, i živin, a také omezuje rozvoj vegetace (Abdourhamane Touré et al. 2019). Pro ochranu takto degradovaných půd, je potřeba zlepšit odolnost půd (větrolamy, různě vysoká vegetace, mulčování, apod.) (Šarapatka 2014).

Vodní eroze je významnější v našich podmínkách. Negativně ovlivňuje obsah organických látek a živin, dále může docházet k rozpadu struktury a snížení schopnosti zadržovat vodu v půdě (Bosco et al. 2015). Má také negativní dopad na celkovou funkci ekosystému, růst rostlin, ale i na zásoby pitné vody (Panagos et al. 2015).

Erozí ovlivněné přerozdělení dostupného fosforu, draslíku, půdní vlhkosti a organické hmoty hraje důležitou roli ve struktuře bakteriálního společenstva. Diferenciace bakteriálního společenstva se zvyšuje se svažitostí erodovaného terénu (Du et al. 2020). Bakteriální společenstvo se podél erodujících svahů homogenizuje (Xiao et al. 2017). U svažitého terénu

se nachází nižší množství *Proteobactera*, ale například *Nitrosospirae* vykazuje vyšší zastoupení u erodujících svahů (Du et al. 2020). U větrné eroze se zastoupení odvíjí od síly větru a velikosti částic. Záleží, jakým částicím dávají mikroorganismy přednost, tak se mění i vzdálenost jejich potenciálního transportu. Ty, které preferují menší částice, mají vyšší možnost transportu na větší vzdálenost, než ty, které preferují hrubší částice. Velikost částic tedy silně ovlivňuje vzdálenost, na kterou mohou být mikrobiální komunity přenesené, zdali v rámci polí nebo třeba i mezikontinentálně (Acosta-Martínez et al. 2015). *Bacteroides, Firmicutes* a *Chloroflexi* preferují spíše jemné částice a *Proteobacteria* a *Acidobacteria* spíše hrubší částice (Gardner et al. 2012). Dále působením eroze také dochází ke štěpení agregátů. Lehké, jemné částice jsou transportovány společně s labilními organickými frakcemi (Lal 2003; Müller-Nedebock et al. 2016). Společně s aktivními labilními organickými částicemi odcházejí i důležité mikroorganismy, které jsou na ně vázané (Gardner et al. 2012). Organické látky jsou výsledkem rozkladných procesů bakterií a hub. Ztrátou nebo porušením těchto mikroorganismů tak dochází k snížení stability agregátů a snížení schopnosti zadržovat vodu (Acosta-Martínez et al. 2015).

3.3.4 Ztráta organické hmoty

Organická hmota ovlivňuje půdní strukturu, retenční vlastnosti, kationovou výměnnou kapacitu, je zdrojem živin a zásobuje energií heterotrofní rozkladné mikroorganismy. (Šarapatka 2014). Půdní organická hmota je také zdrojem půdního organického uhlíku, který zastupuje cca 60% její hmotnosti (Dhaliwal et al. 2019). Organická hmota se sestává ze zbytků látek živočišného, rostlinného i mikrobiálního původu. Organickými kyselinami, polysacharidy a látkami bílkovinné povahy je tvořeno až 30% půdní organické hmoty (Jeřábková 2019). V půdě tyto látky podléhají přeměnám, kterými jsou mineralizace, karbonizace, humifikace a ulmifikace. Ztráta organické hmoty může být signalizována snížením retenční schopnosti, zvýšenou náchylností k erozi, snížením funkcí půdních organismů, ovlivněním výnosů, snížením pufračních schopností, ale také rozpadáním půdních agregátů (Šarapatka 2014).

Zejména organický uhlík je velice důležitou složkou půdy zlepšující její kvalitu, jelikož kladně ovlivňuje fyzikální, chemické a biologické vlastnosti (Dhaliwal et al. 2019). V půdě je ho ovšem akumulováno pouze 10 - 30 %, zbytek uhlíku je mineralizován a ve formě CO₂ uvolňován do ovzduší (Jeřábková 2019).

Organický uhlík v půdě zvyšuje makroagregaci a zvyšuje hojnost a rozmanitost mikroorganismů v půdě (Wang et al. 2017), které jsou hlavními rozkladately čerstvé organické hmoty (Martínez-García et al. 2018) a obecně se zásadně podílejí na funkcích ekosystému (Yan a Liu 2020). Proto půdní mikroorganismy pozitivně korelují s obsahem organické hmoty, dusíku a fosforu (De Mastro et al. 2020).

Zdrojem uhlíku je pro mikrobiální systémy právě organická hmota. Ovlivňuje množství i aktivitu půdních mikroorganismů. Aktivní organický uhlík obsažený v půdní organické hmotě je velmi nestabilní. Je snadno oxidovatelný a mineralizovatelný, tedy dostupný mikroorganismům a rostlinám (Yan a Liu 2020).

Množství organické hmoty ovlivňují také krycí plodiny. Navyšují množství půdní organické hmoty a ovlivňují i mikrobiální komunitu, nejen svým příspěvkem organické

hmoty, ale i sekundárními metabolity. Většinou dochází k navýšení množství bakteriální komunity, ke změně struktury a aktivitě mikrobiálního společenstva (Buyer et al. 2010).

Přidání různých typů organických látek může mít dlouhodobý účinek na strukturu mikrobiální komunity a to i na poměr mezi bakteriemi a houbami v půdě. Také dochází k ovlivnění katabolické aktivity (Martínez-García et al. 2018). Půdy s vyšším množstvím dostupného organického uhlíku mají i vyšší katabolickou aktivitu mikroorganismů (Lagomarsino et al. 2012).

Zásadní faktor, který má vliv na účinnost a rychlost štěpení organické hmoty pomocí mikroorganismů, tudíž i tvoření půdní organické hmoty, je chemické složení organické hmoty vstupující do půdy (Bending et al. 2002). V ekologickém zemědělství je mikrobiální biomasa uhlíku, dusíku, fosfolipidových mastných kyselin a dehydrogenázové, proteázové a ureázové aktivity vyšší o 32 až 84 %, v porovnání s konvenčním zemědělstvím (Lori et al. 2017). Na zemědělské plochy je proto potřeba přidávat organické látky v podobě hnojiv nebo jiných zlepšujících prostředků. Jednou z možností zvyšování množství uhlíku v půdě, je přidáváním biouhlu. Zvyšuje se tím zásoba uhlíku, dochází k vyšší retenci vody a zvýší se porozita, tím se zvyšuje i počet půdních mikroorganismů a mění se složení mikrobiální komunity (Gomez et al. 2014; Yan a Liu 2020).

Vyšší diverzita mikroorganismů posiluje rozklad organické hmoty. Zejména pak u složitějších procesů, jako je rozklad chitinu. Jedná se o nejhojnější polymer, který se nachází v přírodě. Interaguje s dusíkovými i uhlíkovými cykly. Na jeho rozkladu se podílejí bakterie i houby (Beier a Bertilsson 2013). Na stabilizaci a sekvestraci uhlíku mají zásadní vliv houby (arbuskulární mykorhizní a saprofní) (Martínez-García et al. 2018).

Půdní organická hmota je považována za hlavní pojivo ve stabilizaci půdních agregátů (Novelli et al. 2017). Častým obděláváním půdy, dochází k narušování stability agregátů a tím je zvýšena možnost degradace i půdní organické hmoty (Rong et al. 2017). Může také přímo nebo nepřímo ovlivňovat mobilitu a dostupnost potenciálně rizikových prvků. Mezi tyto procesy lze zařadit sorpci, chelaci a srážení (Huang et al. 2017). Kvalita organické hmoty také ovlivňuje podíl tvorby makroagregátů, které zlepšují provzdušňování, uvolňování živin, zvyšují infiltraci do půdní vody a příznivě ovlivňují aktivity a mikrobiální růst (Nyawade et al. 2019).

3.3.5 Ztráta biodiverzity

Půdy vytvářejí prostředí pro velkou část života na Zemi a zároveň podporují i veškerou suchozemskou vegetaci (Geisen et al. 2019). Půda je systém velmi různorodý, ve kterém působí mnoho faktorů prostředí, ale také klima a místní historie. Nesčetné kombinace těchto faktorů pak vytvářejí mnoho životních nik podporujících obrovskou rozmanitost půdních organismů (Vopravil et al. 2010). Mikroorganismy jsou hlavními rozkladači a jsou zastoupeny především houbami a bakteriemi, ale patří sem i archaea a protista (Naresh et al. 2017).

Houby mají důležitou funkci v biochemických cyklech (Yang et al. 2020). Ve všech suchozemských ekosystémech jsou široce rozšířeny (Tedersoo et al. 2014). Mohou být jednobuněčné (kvasinky), ale i komplexní a vláknité (Patterson a Sutton 2018). Dělí se do čtyř oddělení: *Oomycota, Myxomycota, Eumycota* a *Chytridiomycota* (Šarapatka 2014).

Mykorhiza je významný mutualistický vztah mezi houbou a rostlinou. Tento vztah může být dělen do dvou základních typů: arbuskulární a ektomykorhizní (Šarapatka 2014). Houby tvořící arbuskulární mykorhizní vztah, jsou zásadní při tvorbě a stabilizaci půdních agregátů (Leifheit et al. 2014). Tento vztah je velice citlivý na chemické, biologické a fyzikální změny způsobené lidskou činností (Verzeaux et al. 2017) Houby jsou stabilnější vůči kontaminacím potenciálně rizikových prvkům ve srovnání s bakteriemi (Njoku et al. 2020).

V půdě ale působí také větší organismy, *zooedafon*. Tyto živočichové se nejčastěji dělí podle velikosti: mikrofauna, mezofauna, makrofauna a megafauna. Do kategorie mikrofauna spadají mj. drobní roztoči, hlístice a korýši. Do mezofauny larvy hmyzu, roztoči, chvostoskoci, vířníci, nebo malí pavouci. Do makrofauny patří plži, některé žížaly, většina hmyzu. A do poslední kategorie megafauny se řadí žížaly, hlemýždi a drobní hlodavci (Menta 2012). Charakteristika zooedafonu souvisí s kvalitou půdy, ale v tomto případě není efektivní ji používat jako ukazatel kvality. Metody hodnocení zástupců fauny jsou totiž složité a taxonomické členění a identifikace zástupců jsou časově náročné (Yan et al. 2012).

Půdní živočichové ovlivňují provzdušněnost, pórovitost, infiltraci a dostupnost organické hmoty (Menta 2012). Zpracovávají organické zbytky v půdě. Během průchodu tělem živočicha, dochází k fragmentaci, změně pH, snížení množství rozpustných polyfenolů a změně poměrů uhlíku a dusíku (Frouz 2018). Tím podstatně přispívají k vytváření agregátů, ale také se podílejí na jejich stabilitě (Berner et al. 2013).

Jedním z procesů, kterým ovlivňují půdní prostředí, se nazývá bioturbace, tedy přeměna půdního materiálu pomocí organismů (Tuma et al. 2019). Jedná se o tvoření chodbiček, hrabání, nebo zavrtávání, kterým dochází k transportu částic, změně uspořádání a tím i pórovitosti, průtoku vody, propustnosti i velikosti zrn (Shull 2009). Ukázalo se, že dlouhodobá bioturbace je způsobena převážně mravenci, zatímco ta krátkodobá žížalami (Tuma et al. 2019). Žížaly kladně ovlivňují agregaci a přispívají k tvorbě makroagregátů. Také nepřímo ovlivňují mikrobiální společenstva. Mění totiž architekturu v půdě, a tak ovlivňují i zásobování živinami (Gong et al. 2019). Také dále začleňují organickou hmotu do agregátů, čímž ji v půdě stabilizují (Schomburg et al. 2018). Při průchodu organických zbytků trávicím traktem dochází k uvolnění polysacharidů a obalení organických zbytků půdní hmotou (Frouz 2018). Agregáty tvořené žížalami jsou stabilnější, lépe tak chrání uhlík před rozkladem mikroorganismů a tím i snižují náchylnost k zhutnění půdy a erozi (Lipiec et al. 2015).

3.3.6 Kontaminace potenciálně rizikovými prvky

Potenciálně rizikové prvky znečišťují životní prostředí, tedy i půdy. Jedná se o vážný problém vzhledem k jejich biologicky nerozložitelné povaze, perzistenci v životním prostředí a s tím související akumulaci na toxickou úroveň (Tang et al. 2019). Jedná se o nepohyblivé a neškodné látky, pokud jsou v pevném stavu (Adewumi a Ajibade 2015; Ogundiran a Osibanjo 2009).

V zemské kůře se v pevném stavu vyskytují přirozeně a jsou za běžných podmínek uvolňovány pouze v malém množství (Yuanan et al. 2020). V případě, že jsou ve formě roztoku, stávají se toxické. Jejich nepříznivý účinek tedy souvisí právě s dostupností v půdě (Adewumi a Ajibade 2015; Ogundiran a Osibanjo 2009). Pak mohou mít subletální, ale i letální účinky na všechny organismy (Boyd 2010). Vliv na jejich dostupnost a mobilitu má zrnitostní složení, obsah organických látek, pH, sorpční kapacita, obsahy oxidů manganu a železa a formy dalších kovů (Wyszkowska et al. 2013). Kadmium se ve vodném roztoku obvykle vyskytuje jako Cd²⁺ (Kubier et al. 2019).

Některé z potenciálně rizikových prvků jsou ve stopové koncentraci dokonce živinami (zinek, železo, apod.) pro organismy (Akinbile et al. 2016). Naproti tomu jiné (rtuť, kadmium, apod.) jsou pro organismy škodlivé a to i v nízkých koncentracích (Hughes a Poole 1989). Vyšší biologická dostupnost potenciálně rizikových prvků se objevuje u půd s nízkým obsahem humínových kyselin (Wyszkowska et al. 2013). Naopak u rostlin mohou podporovat obranu proti některým škůdcům (Boyd 2010).

Koncentrace kovů v půdě je silně vázána na velikost půdních agregátů (Huang et al. 2017; Xiao et al. 2016). Jemné částice, které jsou na povrchu půdy, vykazují vyšší koncentrace potenciálně rizikových prvků. To je způsobeno tím, že obsahují větší množství organických látek a jílu, přítomností oxidů Fe-Mn a větší povrchovou plochu (Xiao et al. 2016).

Pro včasné odhalení kontaminace potenciálně rizikovými prvky, je důležité vybrat vhodné diagnostické ukazatele (Tang et al. 2019). Pro suchozemská mikrobiální společenstva představují významný environmentální stresor (Singh et al. 2014). Jednou z možností proto je využít ukazatele mikrobiologické. Těmi je zjišťována struktura, hojnost a rozmanitost mikrobiálního společenstva, ale také jeho aktivita (Tang et al. 2019). Kadmium je významné, protože je z potenciálně rizikových prvků nejmobilnější a nejsnadněji přestupuje i do rostlin (Němeček et al. 2010), a proto je zvláště toxické pro lidi a živočichy (Checconi et al. 2013). Množství oxidů vodíku, organických látek a jílových minerálů podporuje sorpci kadmia. Což u většiny potenciálně rizikových prvků vede ke snižování koncentrace ve vodě. Jenže důvod toho, proč se řadí mezi nejmobilnější je, že je schopné zůstat v roztoku v podobě ve vodě rozpustných komplexů s anionty (Kubier et al. 2019).

Kadmium se vyskytuje s celosvětovou průměrnou hodnotou 0,36 mg/kg půdy, běžně to bývá 0,01 až 1 mg/kg půdy (Kubier et al. 2019). Kadmium společně s dalšími potenciálně rizikovými prvky ovlivňuje také homeostázi půdy. Dochází k tomu narušením mikrobiálních procesů, protože inhibuje aktivitu enzymatických proteinů tedy i procesy jako je nitrifikace a amonifikace (Wyszkowska et al. 2013).

3.4 Mikroorganismy v kontaminované půdě

Mikroorganismy se podílejí na živinových cyklech, ale i na cyklech některých kovů. Významně také působí v zajištění ekologické perzistence, protože mají velkou schopnost adaptace včetně resistence k potenciálně rizikovým prvkům (Lin et al. 2019). Přesto je kontaminace potenciálně rizikovými prvky důležitým omezujícím faktorem mikrobiologických procesů (Singh et al. 2016).

Zvýšená koncentrace těžkých kovů inicijuje stresové procesy, které jsou často vyvolány prostřednictvím interference kovů s enzymy nebo s nukleovými kyselinami (DNA či RNA) (Boyd a Rajakaruna 2013; Jaishankar et al. 2014). Způsobují poškození metabolických drah a může docházet k apoptóze buněk. Na základě toho je negativně

ovlivněna druhová rozmanitost a počet mikroorganismů. Nepříznivý vliv na mikroorganismy lze zmírnit aplikací přírodních a organických hnojiv (Wyszkowska et al. 2013).

Mikroorganismy mají velký specifický povrch a vysokou metabolickou aktivitu. Proto jsou velmi citlivé na přítomnost potenciálně rizikových prvků. Jako obranné mechanismy proti jejich vlivu využívají jejich fixaci, kompletaci a adsorpci. (Vodyanitskii a Plekhanova 2014). Některé mikroorganismy jsou vůči toxicitě potenciálně rizikových prvků tolerantnější oproti jiným a dokážou se adaptovat na kontaminované půdy (Boyd a Rajakaruna 2013). Adaptace na přítomnost potenciálně rizikových prvků zahrnují například vytváření bariér zabraňujících pohybu a dostupnosti v buňkách, regulační transport z a do jejich buněk, často s využíváním efluxové pumpy a vytváření siderofórů (Boyd a Rajakaruna 2013; Schalk et al. 2011).

Siderofóry jsou sekundární metabolity různých organismů (bakterie, houby, rostliny) (Albelda-Berenguer et al. 2019; Poggenburg et al. 2018). Jedná se o nízkomolekulární organické látky, které vážou železo i jiné prvky z okolního prostředí (Ghosh et al. 2020). Během vylučování dochází ke vzniku komplexů kovů, které jsou rozpustné. Tyto komplexy mohou absorbovat organismy (Albelda-Berenguer et al. 2019).

Efluxové pumpy jsou membránové proteiny, které se nacházejí v cytoplazmatické membráně eukaryotických a prokaryotických buněk (Spengler et al. 2017). Vytlačují toxické látky aktivně z periplazmy nebo/a cytoplazmy. Tento způsob rezistence slouží také k odolnosti vůči antibiotikům a vůči salinitě. Efluxní bakteriální pumpy se řadí do pěti rodin podle jejich zdroje živin, preferencí substrátu a transmembránových oblastí (Pal et al. 2020).

Sekrece viskózních, lepkavých a negativně nabitých extracelulárních polymerních látek také zvyšuje odolnost bakterie proti různým toxickým látkám (Mohapatra et al. 2020).

3.4.1 Bakterie a jejich chování v kontaminované půdě

Jedná se o nejhojnější organismy v půdě (Khan a Rao 2019). V půdě se vyskytují ve společenstvech, která pokrývají pevné půdní částice (Kutílek a Nielsen 2015). Podle typu půdy, se v jednom gramu můžou nacházet statisíce až miliardy bakterií (Khan a Rao 2019). Taxonomické a funkční složení půdních bakterií se používá jako indikátor chemických a fyzikálních vlastností půdy, ale především půdní kvality a zdraví (Šarapatka 2014).

Bakterie mají široké rozpětí odolnosti k podmínkám prostředí. Zatímco některé druhy bakterií usmrtí malé změny, jiné jsou naopak velice rezistentní a jsou schopny přežít extrémní podmínky (silný chlad, teplo, sucho, kontaminace toxickými látkami, potenciálně rizikovými prvky) (Khan a Rao 2019). Dle podmínek prostředí, jsou ve většině případů schopné přizpůsobit aktivity i rychlost reprodukce (Šarapatka 2014).

Potenciálně rizikové prvky mají velký vliv na složení a funkce bakteriálních společenstev. Bylo zjištěno, že koordinace exprese genů bakterií podle hustoty populace, vytváří cestu pro vstup kovů. Ty pak ovlivňují interakce mezi samotnými bakteriemi, i mezi bakteriemi a jinými organismy (Boyd 2010). Působením potenciálně rizikových prvků dochází k ztrátě diverzity (Singh et al. 2014). Diverzita bakterií zvyšuje stabilitu společenstva a odolnost k abiotickým a biotickým vlivům (Eisenhauer et al. 2012). Ztráta diverzity může být vyrovnávána imigrací organismů, adaptací na místní prostředí a horizontálním přenosem genů. V případě adaptace na kontaminace potenciálně rizikovými prvky především přenosem

mechanismů rezistence (Epelde et al. 2015). Kromě diverzity, se také vlivem kontaminace mění složení bakteriálního společenstva (Luo et al. 2019) a další parametry diverzity jako je druhová vyrovnanost, která se s kontaminací zvyšuje, zatímco bohatost se snižuje (Epelde et al. 2015).

V půdách znečištěných potenciálně rizikovými prvky se často mění poměrné zastoupeni kmenů *Actinobacteria a Proteobacteria* (Margesin et al. 2011). Jako tolerantní ke kontaminacím se uvádějí i kmeny *Bacteroides, Acidobacteria* a *Chloroflexi* (Lin et al. 2019). Odolné druhy mohou pak kompenzovat ztrátu citlivých druhů, a tím zajistit i stabilitu funkcí v mikrobiálním společenstvu. Vliv tolerantních druhů bakterií, je vyšší při vyšší úrovni druhové rozmanitosti (Awasthi et al. 2014). Kontaminace potenciálně rizikovými prvky také mění strukturu a funkci společenstva (Griffiths a Philippot 2013; Luo et al. 2019).

Kadmium negativně ovlivňuje společenstvo mikroorganismů (Harichová et al. 2012). Zajímavé je zjištění, že bakteriální rozmanitost se liší v závislosti, zdali se jedná o dlouhodobou kontaminaci kadmiem, nebo jenom o stopové znečištění (Luo et al. 2019). Ukázalo se, že půdy dlouhodobě kontaminované kadmiem přizpůsobují své bakteriální společenstvo a za běžných podmínek mají funkce zachovány, i když složení společenstva se změní a dominují v něm *Actinobacteria*. Funkce společenstva jsou ale narušeny pokud se přidá další faktor, kterým může být i nový zdroj uhlíku. Narušené společenstvo má potom menší resilienci (Madrova et al. 2018).

Bakterie produkují rozmanité sekundární metabolity (Tyc et al. 2017). Patří mezi ně i antibiotika, kterými ovlivňují okolní organismy (v závislosti na pH, obsahu humusu, dostupnosti živin, apod.)(Gislin et al. 2018). Existuje značná pozitivní korelace mezi rezistencí k antibiotikům a rezistencí ke kovovým iontům (Reddy a Dubey 2019). Oba typy rezistence se totiž mohou nacházet na stejných plasmidech, a proto také šířit za podobných podmínek. Na základě toho lze předpokládat, že vlivem vyvíjení rezistence na těžké kovy/potenciálně rizikové prvky, dochází i k nepřímému ovlivnění rezistence na antibiotika (de Lima e Silva et al. 2012).

V posledních letech jsou rozšířeny poznatky o bioremediaci pomocí bakterií (Tabulka 3) a hub na půdách, které jsou kontaminovány potenciálně rizikovými prvky a polycyklickými aromatickými uhlovodíky (PAH) (Liu et al. 2017). Může k ní docházet i prostřednictvím bioprecipitace, tedy nepřímo. Bakterie, které redukují sírany (např. *Desulfovibrio desulfuricans*) bioprecipitací přeměňují síran na hydrogensíran, a ten reaguje s kovy za vzniku nerozpustných sulfidů kovů (Kaushik et al. 2020). Bioremediaci kontaminovaných půd silně ovlivňuje i pohyb a přemísťování bakterií v půdě (Yang a van Elsas 2018).

	Destaurs / ferrare	Dedalaren (franse	Bioremediace těžkých
Prvek	Dostupny forma	Kedukovana forma	kovů pomocí mikrobů
		Cr. (III) noní toviolví oni	Bacillus subtilis
Cr	Cr (VI)-loxicky a vysoce	Cr (III)-není toxicky ani	Pseudomonas putida
	Tozpusuty	Tozpusuty	Enterobacter cloacae
			Bacillus thuringiensis
Cd	Nerozpustný	Rozpustné Cd-sulfidy	Desulfovibrio
			desulfuricans
			Bacillus thuringiensis
Zn	Nerozpustný	Rozpustné Zn-sulfidy	Desulfovibrio
			desulfuricans
Se	Selenáty a selenity	Elementární Se	Bacullus coagulans
Ac	Arconity	Argonáty	Desulfotomaculum
AS	Arsenity	Alsenaty	auripigment
CN	Kyanidy	Ammonium	Pseudomonas
NO ₃	Nitráty	N_2	Denitrifying bacteria
			Clostridium spp.
U	U (VI)	U (IV) (nerozpustný)	Desulfovibrio
			desulfuricans
U	U (VI)	U (III)	Clostridium spp.
Se	Selenáty: Se (VI)	Elementární forma	Thauera selenatis
Se	Selenity: Se (IV)		Denitrifying bacteria

Tabulka 3: Bioremediace těžkých kovů pomocí mikrobů (Kaushik et al. 2020)

Tabulka 4: Možnosti bioremediace kovů a mataloidů (Kaushik et al. 2020)

Mechanismus	Kov a metaloidy
Biosorpce	Co, Ni, Cu, Hg, Th, Zn, Cs, Au,
	Ag, Sn, Mn, U, Zn, Pb, Cd
Mikrobiální redukce	V, Te, S, Mo, As
Enzymatická redukce	Ru, Os, Au, Ag, As, Pb, Cu, Mo, U, Se, Bi, Te, Va, Fe
Solubilizace/oxidace	Al, Ag, Ni, Pb, Se, Hg, Cd
Precipitace	Sulfidy: Fe, Cu, Zn, Pb, Ni, Cr, Cd, fosfáty: U, Pb
Methylace	Se

3.4.2 Viry v půdě

Viry v půdě formují mikrobiální společenstva a související procesy (Liang et al. 2019). Mezi nejvýznamnější druhy virů v půdě patří bakteriofágové (fágové) (Kutílek a Nielsen 2015). Bateriofágové rozpoznávají hostitelské buňky pomocí proteinů, které mají na svých krčcích. Ligandy, se kterými se mohou vlákna krčku a špičky vázat, jsou primárním faktorem pro infikování hostitele. Je předpoklad, že ty fágové, kteří mají více vláken na krčku, mají i více možností potenciálních hostitelů (Obrázek 3) (Plattner et al. 2019).



Většina půdních bakterií je infikována fágy, proto mívají krátkou životnost (Kuzyakov a Mason-Jones 2018). Aktivitu a přežití bakteriofágů ovlivňují faktory půdy jako teplota půdy, vlhkost, pH, obsah jílu, složky živin apod. (Ye et al. 2019). Bylo zjištěno, že bakteriofágové představují větší rezervoár genů kódujících rezistence na antibiotika a na kovové ionty než samotné bakterie (Subirats et al. 2016). Horizontální přenos je zprostředkován transformací, konjugací nebo transdukcí pomocí fágů (Wang et al. 2018b).



Obrázek 4: Přesun DNA mezi bakterií a fágem Dostupné z: https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004219.g001

4 Lokalita a odběr

Vzorky byly odebrány dne 30. 5. 2018 ve Středočeském kraji ČR, v lokalitě Praha –Vinoř na dvou parcelách o velikosti 1000 m² a 7362 m². Parcely spadají do kategorie orná půda. Na tyto parcely byl v 80. letech navezen sediment z místních rybníků Velké a Malé Obůrky. Následně bylo rozbory zjištěno, že se jedná o sediment kontaminovaný kovy, zejména kadmiem. Kovy se tam dostaly vyplavením z blízké opravny leteckých motorů (Stella nedatováno).

Na základě Spatial coverage sample (CSC) podle Brus et al. (2006), byla navržena síť pro odběrová místa (Obrázek 5). Tento způsob byl vybrán, protože optimalizuje rozvržení na ploše, aby bylo pokrytí plochy co nejrovnoměrnější.



Obrázek 5: Síť odběrových míst (RNDr. Václav Tejnecký, Ph.D.)

Odběry vzorků půdy byly provedeny povrchově v horizontu <u>s</u> (surface, 0-20 cm) a <u>d</u> (deep, 40-60 cm). Z každého odběru bylo odebráno pomocí půdního vrtáku (pro <u>d</u>) a rýče (pro <u>s</u>) zhruba 0,5 kg půdy. 10 vzorkovacích míst bylo odebráno pouze v horizontu <u>s</u> (povrchově) a 10 v horizontu <u>s</u> a <u>d</u> (povrchově i hloubkově). Celkem bylo odebráno 51 vzorků z 20 míst (Tabulka 5).

	ový bod	ka [cm]	í u grafů	orek	lizace	ový bod	ka [cm]	í u grafů	orek	lizace
	Odběr	Hloub	Značen	Vzo	Loka	Odběr	Hloub	Značen	Vzc	Loka
10		0-20	10s	Cd 10s	S	14	60-70	B70	Cd 14 70	sonda B
10		40-60	10d	Cd 10d	d	14	50-60	B60	Cd 14 60	sonda B
9		0-20	9s	Cd 9s	S	14	40-50	B50	Cd 14 50	sonda B
1		0-20	1s	Cd 1s	S	14	35-40	B40	Cd 14 40	sonda B
16		0-20	16s	Cd 16s	S	14	30-35	B35	Cd 14 35	sonda B
16		40-60	16d	Cd 16d	d	14	25-30	B30	Cd 14 30	sonda B
11		0-20	11s	Cd 11s	S	14	20-25	B25	Cd 14 25	sonda B
14		0-20	14s	Cd 14s	S	14	15-20	B20	Cd 14 20	sonda B
14		40-60	14d	Cd 14d	d	14	7,5-15	B15	Cd 14 15	sonda B
19		0-20	19s	Cd 19s	S	14	0-7,5	B5	Cd 14 5	sonda B
20		0-20	20s	Cd 20s	S	6	80-95	A80	Cd 6 80	sonda A
20		40-60	20d	Cd 20d	d	6	70-80	A70	Cd 6 70	sonda A
12		0-20	12s	Cd 12s	S	6	50-60	A60	Cd 6 60	sonda A
12		40-60	12d	Cd 12d	d	6	50-60	A50	Cd 6 50	sonda A
5		0-20	5s	Cd 5s	S	6	40-50	A40	Cd 6 40	sonda A
7		0-20	7s	Cd 7s	S	6	30-35	A30	Cd 6 30	sonda A
13		0-20	13s	Cd 13s	S	6	25-30	A25	Cd 6 25	sonda A
3		0-20	3s	Cd 3s	S	6	20-25	A20	Cd 6 20	sonda A
2		0-20	2s	Cd 2s	S	6	10-15	A15	Cd 6 15	sonda A
2		40-60	2d	Cd 2d	d	6	2-10	A10	Cd 6 10	sonda A
8		0-20	8s	Cd 8s	S	6	0-5	A5	Cd 6 5	sonda A
8		40-60	8d	Cd 8d	d					
17		0-20	17s	Cd 17s	S					
15		0-20	15sk	Cd 15s	S					
6		0-20	6s	Cd 6s	s					
6		40-60	6d	Cd 6d	d					
4		0-20	4s	Cd 4s	S					
4		40-60	4d	Cd 4d	d					
18		0-20	18sk	Cd 18s	S					
18		40-60	18d	Cd 18d	d					

Tabulka 5: Seznam vzorků

Na základě vysokého obsahu kadmia (Cd) určeném v terénu pomocí přístroje X-ray fluorescence (XRF) (Delta Premium XPD 6000, OLYMPUS INNOV-X, Massachusetts, USA), byla vybrána 2 odběrová místa pro sondy. Jedno místo bylo vybráno z oblasti travní vegetace a druhé z pole. Na místech 6 (sonda A) a 14 (sonda B) tedy byly vykopány půdní sondy o hloubce 100 cm. Ze sond bylo odebráno každých cca 10 cm asi 10 půdních agregátů o hmotnosti kolem 0,15 g. Tyto agregáty byly použity pro DNA extrakci na stanovení mikrobiálních společentev. Ze sond byly také odebírány vzorky pomocí Kopeckého válečků k určení fyzikálních vlastností půd.

4.1 Pracovníci

Tabulka 6: Seznam prováděných analýz a pracovníci, kteří je prováděli

Metoda	Pracovník	
	RNDr. Václav Tejnecký, Ph.D.	
Odběr vzorků	doc. Ing. Ondřej Drábek, Ph.D.	
	doc. RNDr. Markéta Marečková, Ph.D.	
	Ing. Jan Kopecký, Ph.D.	
Tvorba mapové sítě odběrů	RNDr. Václav Tejnecký, Ph.D.	
Analýza půdního pH	Bc. Pavla Vojtová	
Izolace DNA, elektroforéza, PCR (sondy)	Bc. Pavla Vojtová	
Izolace DNA, elektroforéza, PCR (plocha)	Pracovníci VÚRV, v. v., Praha	
Illumina sekvence	Universita of Illinois (Chicago, USA)	
Pseudototální obsahy prvků (obrácená	doc Mar Martina Vítková Ph D	
lučavka královská)	doe. wigi. wiaitina vitkova, i n.D.	
Obsah organického uhlíku	Bc. Pavla Vojtová	
Fyzikální analýza pomocí Kopeckého válečků	RNDr. Václav Tejnecký, Ph.D.	
Příprava oxalátových forem Fe, Mn, Al,		
pomocí šťavelanu amonného	Bc. Pavia vojtova	
Měření oxalátových forem Fe, Mn, Al	doc Ing Ondřej Drábek Ph D	
pomocí ICP-OES	doe. mg. ondrej Drabek, 1 n.D.	
Kationtová výměnná kapacita příprava a	Bc Payla Voitová	
výpočty		
Kationtová výměnná kapacita měření	doc Ing Ondřej Drábek Ph D	
pomoci ICP-OES	use. Ing. Ondrej Diuber, I ind.	
Vyhodnocení výsledků, grafy a statistická	Bc. Pavla Voitová	
analyza v programu Statistica		
Statistické analýzy v programu R	Ing. Jan Kopecký, Ph.D.	

4.2 Chemikálie

Tabulka 7: Seznam použitých chemikálií

Chemikálie/Komerční sada	Dodavatel/Výrobce
Isoamylalkohol	Penta, Česká republika
Chloroform	Lach-Ner, Česká republika
Fenolftalein	Lachema, Česká republika
Síran amonno-železnatý hexahydrát (Mohrova sůl)	Lachema, Česká republika
Fenol	MP Biomedicals, Kalifornie, USA
Kyselina sírová	Lach-Ner, Česká republika
Kyselina chlorovodíková	Lach-Ner, Česká republika
Kyselina dusičná	Lach-Ner, Česká republika
Dihydrogenfosforečnan sodný	Penta, Česká republika
Kyselina šťavelová dihydrát	Lach-Ner, Česká republika
Chlorid hořečnatý	Invitrogen, Kalifornie, USA
Šťavelan diamonný	Lach-Ner, Česká republika
Hydroxid draselný	Penta, Česká republika
Chlorid sodný	Penta, Česká republika
Kyselina 4-(2-hydroxyetyl)-1- piperazinetansulfonová (Hepes)	Sigma-Aldrich, Missouri, USA
Agarosa	Sigma-Aldrich, Missouri, USA
Hexadecyltrimetylamoniumbromid (CTAB)	Sigma-Aldrich, Missouri, USA
Dichroman draselný	Lach-Ner, Česká republika
Octan sodný	Sigma-Aldrich, Missouri, USA
Chlorid barnatý	Lach-Ner, Česká republika
Isopropanol	Penta, Česká republika
Etanol	Penta, Česká republika
Chlorid vápenatý	Penta, Česká republika
Dimetylsulfoxid (DMSO)	Sigma-Aldrich, Missouri, USA
Dodecylsíran sodný (SDS)	Sigma-Aldrich, Missouri, USA
dNTP	Thermo Fischer Scientific, Massachusetts, USA
Tris hydrochlorid (Tris-HCl)	Sigma-Aldrich, Missouri, USA
Tris-acetát	Sigma-Aldrich, Missouri, USA
Kyselina etylendiamintetraoctová (EDTA)	Sigma-Aldrich, Missouri, USA
Yellow load pufr	Top-Bio, Česká republika
GeneRulerTM 1kb Plus DNA Ladder	Thermo Fischer Scientific, Massachusetts, USA
SYBR Safe DNA Gel Stain	Invitrogen, Kalifornie, USA
AccuPrime [™] Taq DNA Polymerase Systém	Carlsbad, Kalifornie, USA
GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase	Promega, Wisconsin, USA
GoTaq® Hot Start Polymerase	Promega, Wisconsin, USA
Primer CS1 515pF (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3')	Sigma-Aldrich, Missouri, USA
Primer CS2 806aR (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3')	Sigma-Aldrich, Missouri, USA

4.3 Metodika fyzikálně-chemických analýz

Fyzikální a chemické vlastnosti půd byly stanovovány na Katedře pedologie a ochrany půd (Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů) a extrakce pomocí obrácené lučavky královské na Katedře geoenvirometnlních věd (Fakulta životního prostředí) České zemědělské univerzity v Praze. Mezi prováděná měření patří: půdní reakce; kationová výměnná kapacita; obsah organického uhlíku; oxalátově výměnné formy železa, hliníku, manganu; pseudototální obsah rizikových prvků po extrakci obrácenou lučavkou královskou a fyzikální vlastnosti pomocí Kopeckého válečků.

Před analýzami byly vzorky vysušeny v sušárně (Memmert, Německo) při teplotě 40 °C a přesáty přes 2 mm síto (jemnozem I). Pro pedologické analýzy bylo nutno přesát půdu přes síto s 0,25 mm oky (jemnozem II – analytická jemnost). V případě, že byla používaná deionizovaná voda, měla konduktivitu <0,055 μ S·cm–1, Crystal Adrona a současně < 2 ng·L–1 TOC (TOC = celkový organický uhlík).

4.3.1 Pseudototální obsah rizikových prvků

Pseudototální obsah rizikových prvků byl proveden pomocí extrakce obrácenou lučavkou královskou (1 díl HCl a 3 díly HNO₃) za horka. Postup byl proveden podle metodiky popsané v Borůvka et al. (2015).

Do teflonových zkumavek byly naváženy 0,25 g vzorku půdy. Přidáním 2-3 ml deionizované vody byla půda ovlhčena. Následně byla postupně přilita směs obrácené lučavky královské (2,5 ml HCl + 7,5 ml HNO₃). Zkumavky byly ponechány alespoň 15 minut v klidu v digestoři pro proběhnutí počáteční reakce. Následně byly uloženy do rotoru mikrovlnného reakčního systému SOLV (Multiwave PRO, Anton Paar, Rakousko) a zvolen program pro digesci metodou 3501A (předinstalovaná metoda v přístroji). Ta proběhla při 170°C a po 15 minutách klesla na 70 °C. Extrakt byl následně zfiltrován pomocí membránového filtru (póry < 0,45 µm) do zkumavek o objemu 50 ml. Zkumavky byly doplněny demineralizovanou vodou po rysku. Poté byly vzorky naředěny v poměru 1v:9v deionizovanou vodou. Poté byl změřen pseudototální obsah prvků pomocí ICP-ES (Agilent 730, Agilent Technologies, USA) a Cd pomocí ICP-MS (iCap Q, Thermo Scientific, Massachusetts, USA).

4.3.2 Půdní reakce

Aktivní půdní reakce (pH_{H2O}) i výměnná (pH_{BaCl2}) byla měřena potenciometricky podle návodu popsaném v Cools a De Vos (2016). Příprava a měření pH_{BaCl2} popsáno v kapitole Kationtová výměnná kapacita.

Pro pH_{H2O} bylo naváženo 5 g půdy a zalito 25 ml destilované vody. Měřeno pH-metrem (Multi3620 IDS, WTW, Německo).

K hodnocení pH byla využita tabulka z Vyhlášky č. 275/1998 Sb. Ministerstva zemědělství.

4.3.3 Organický uhlík

Pro stanovení množství organického uhlíku byla použita modifikovaná Tjurinova metoda (Pospíšil 1964).

Bylo naváženo 0,2-0,4 g půdy analytické jemnosti do skleněných kádinek o objemu 50 ml a zalito 10 ml 0,0667 M chromsírové směsi (ve 400 ml destilované vody rozpuštěno 19,6148 g K₂Cr₂O₇ a přidáno 500 ml koncentrované H₂SO₄, směs doplněna destilovanou vodou na množství 1 l). Ve dvou kádinkách byl připravený slepý vzorek (k určení faktoru Mohrovy soli), tedy pouze 10 ml chromsírové směsi bez půdního vzorku. Všechny kádinky byly zakryty hodinovým sklíčkem a dány do sušárny na 45 minut při 125 °C. Po zchladnutí bylo opláchnuto hodinové sklíčko i stěny kádinky destilovanou vodou. Následně byla kádinka položena na magnetické míchadlo, vložena Pt – elektroda a za stálého míchání proběhla titrace 0,1 M Mohrovou solí (39,21 g Fe(NH₄)₂(SO₄)₂.6H₂O rozpuštěnou v 300 ml destilované vody okyselené koncentrovanou H2SO4, doplněno destilovanou vodou na množství 1 1 do bodu ekvivalence). Bod ekvivalence byl patrný trvalou výchylkou na ukazateli galvanometru, což bylo doprovázeno změnou barvy na modro-zelenou. Spotřeba Mohrovy soli byla zapsána u každého vzorku pro pozdější výpočty. Na základě titrace slepých vzorků byl zjištěn faktor Mohrovy soli tak, že byly titrovány Mohrovou solí do změny barvy na modrozelenou a trvalé výchylky na ukazateli galvanometru. Z toho byl vypočten faktor na základě Rovnice 1. Posléze byl spočítán obsah oxidovatelného uhlíku Rovnice 2 a (orientační obsah humusu podle Rovnice 3).

Rovnice 1: Faktor Mohrovy soli

$$f = \frac{40}{a}$$

f - faktor Mohrovy soli

a – spotřeba Mohrovy soli při titraci slepého vzorku

Rovnice 2: Obsah oxidovatelného uhlíku

$$Cox = (12 - 0.3 * S * f) * \frac{100}{N}$$

f - faktor Mohrovy soli

s – spotřeba Mohrovy soli při titraci vzorku (ml)

n – navážka vzorku (mg)

Rovnice 3: Obsah humusu

1,724 – Welteho koeficient Cox (%) – obsah oxidovatelného uhlíku

4.3.4 Kationtová výměnná kapacita

Kationtová výměnná kapacita (KVK) byla měřena dle Mezinárodního programu spolupráce v oblasti hodnocení a monitorování účinků znečištění ovzduší na les (ICP-Forest) (Cools a De Vos 2016).

Bylo naváženo 2,5 g vzorku a přilito 30 ml 0,1 M BaCl₂ (25 g BaCl₂ . 2H2O + 1 l destilované vody). Vzorky byly 2 hodiny třepány 150 kmitů/min (GFL 3006, GFL, Německo), centrifugovány 10 minut při 4000 rpm/min (Eppendorf AG 5810, Eppendorf, Německo) a následně filtrovány pomocí filtračního papíru (Filtrak, Německo). Poté byly změřeny volné vodíkové ionty pomocí pH-metru (Multi3620 IDS, WTW, Německo), hodnoty byly využity pro výměnné pH_{BaCl2}. Změřený roztok byl před samotnou prvkovou analýzou 10x zředěn a zfiltrován přes nylonový stříkačkový membránový filtr (póry menší 0,45 μ m) (MERCI, s. r. o., Česká republika). Stanovení prvků bylo provedeno optickým emisním spektrometrem s indukčně vázaným plazmatem ICP-OES (iCAP 7000, Thermo Scientific, Massachusetts, USA) a následně přepočítáno podle následujících rovnic:

Rovnice 4: Výpočet iontového ekvivalentu

$$IE = \frac{c * V}{m * EQ * 10}$$

IE - iontový ekvivalent (cmol + kg⁻¹) c - koncentrace prvku v roztoku v mg L⁻¹ V - objem přidaného roztoku v ml m - navážka vzorku půdy v g EQ - ekvivalent prvku v g mol⁻¹ EQ = M/z (M - molární hmotnost prvku v g mol⁻¹, z - náboj prvku) EQ pro sledované prvky: $Ca^{2+} = 20,04$; Mg²⁺ = 12,16; K⁺ = 39,10; Na⁺ = 22,99; Al³⁺ = 8,99 Fe³⁺ = 18,62; Mn²⁺ = 27,47; H⁺ = 1,01

Rovnice 5: Výpočet H+

$$H^{+} = 10^{-1} * \frac{(10^{-pHp} - 10^{-pH0}) * V * 1000}{m * 0.88} - \frac{c(Al) * V}{m * M(Al) * (1 + \frac{10^{-pHp}}{10^{-5.85}})}$$

$$\begin{split} &H^{+} - volný \ H \ (cmol + kg^{-1}) \\ &pH_{p} - hodnota \ pH \ BaCl_{2} \ roztoku \ po \ extrakci půdy \\ &pH_{0} - hodnota \ pH \ připraveného \ roztoku \ BaCl_{2} \\ &V - objem \ přidaného \ roztoku \ v \ ml \\ &m - navážka \ vzorku \ půdy \ v \ g \\ &c(Al) - koncentrace \ Al \ v \ roztoku \ BaCl_{2} \ v \ mg \ L^{-1} \\ &M(Al) - molární \ hmotnost \ Al \ v \ g \ mol^{-1} \end{split}$$

Rovnice 6: Výpočty KVK; BA; BC a saturace bází KVK (cmol + kg⁻¹) = BC + EA KVK = Ca²⁺ + Mg²⁺ + K⁺ + Na⁺ + Al³⁺ + Fe³⁺ + Mn²⁺ + H⁺ BC = Ca²⁺ + Mg²⁺ + K⁺ + Na⁺ EA = Al³⁺ + Fe³⁺ + Mn²⁺ + H⁺ Saturace bází = BC/KVK * 100

KVK - kationtová výměnná kapacita (cmol + kg⁻¹) Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺, Al³⁺, Fe³⁺, Mn²⁺, H⁺ - iontový ekvivalent (IE, cmol + kg⁻¹) BC - bazické kationty (cmol + kg⁻¹) EA – výměnná acidita (cmol + kg⁻¹) Saturace bází - nasycenost sorpčního komplexu bazickými kationty (%)

4.3.5 Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al

Extrakce proběhla za temna kyselým šťavelanem amonným pro amorfní a špatně krystalické oxidy a hydroxidy podle Courchense a Turmel (2008); McKeague a Day (1966).

Do polypropylenových lahviček (PE lahviček) o objemu 50 ml (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) bylo naváženo 0,5 g půdního vzorku (suchý, analytická jemnost). Přilito 20 ml roztoku 0,2 M šťavelanu amonného (pH 3) (700 ml 0,2 M $(NH_4)_2C_2O_4.H_2O + 535$ ml 0,2 M $H_2C_2O_4.2H_2O$). Lahvičky byly uzavřeny a třepány 150 kmitů/min (GFL 3006, GFL, Německo) po dobu 4 hodin v temnu a laboratorní teplotě 20 °C. Poté byly centrifugovány 10 minut při 4000 rpm/min (Eppendorf AG 5810, Eppendorf, Německo) a zfiltrovány přes skládaný filtrační papír (Filtrak, Německo) do nových PE lahviček.

Zfiltrovaný roztok byl naředěn 10x destilovanou vodou a zfiltrován přes jednorázový membránový stříkačkový filtr (póry menší než 0,45 μ m) (MERCI, s. r. o., Česká republika) do plastových jednorázových zkumavek se zátkou (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA). Následně byly extrahované prvky (Fe_{ox}, Al_{ox}, Mn_{ox}) stanoveny pomocí ICP-OES (iCAP 7000, Thermo Scientific, Massachusetts, USA).

4.3.6 Fyzikální vlastnosti dle Kopeckého válečků

Fyzikální vlastnosti byly zjišťovány z neporušeného půdního vzorku odebraného pomocí Kopeckého válečků o objemu (V) 100 cm³. U sondy B, bylo odebráno celkem 8 válečků a u sondy A válečků 7 (Tabulka 8).

Hloubka [cm]	Počet u sondy A	Počet u sondy B
0	2	2
20	2	2
40	2	2
60	-	2
95	1	-

Tabulka 8: Počty odebraných válečků v různých hloubkách pro sondy A a B

Na neporušených půdních vzorcích byla stanovena: momentální vlhkost, pórovitost, kapilární nasáklivost, maximální kapilární vodní kapacita a maximální vodní kapacita podle Nováka. Postup stanovení popsán v Valla et al. (2011).

Před samotným odběrem vzorků byly Kopeckého válečky zváženy (Gv). Vzorky byly při odběru zavíčkovány a do 4 hodin přemístěny do laboratoře. V laboratoři byly vzorky zváženy (Ga) a neprodleně odvíčkované postaveny na kruhový filtrační papír umístěný na hodinové sklo.

Poté byly Kopeckého válečky ponechány nasycení destilovanou vodou vzlínáním pomocí filtračního papíru. Vršky Kopeckého válečků byly zakryty hodinovými skly, aby bylo zamezeno výparu. Sycení probíhalo do druhého dne zhruba 12 hodin, než byly základny zcela nasyceny (bylo hodnoceno podle lesku horní základny vzorků). Zvážením byla zjištěna hmotnost kapilárně nasyceného vzorku (Gb).

Po zvážení byly Kopeckého válečky postaveny na čtyřnásobně skládaný filtrační papír, horní základny zakryty hodinovým sklem a ponechány 30 minut odsávat. Hmotnost po 30 minutách byla zapsána (Gc).

Kopeckého válečky byly opět položeny na suchý čtyřnásobně skládaný filtrační papír, svrchu zakryty hodinovým sklem a ponechány dalších 90 minut odsávat. Hmotnost těchto válečků byla zapsána jako hmotnost po 2 hodinách odsávání (Gd).

Po třetí byly Kopeckého válečky znovu položeny na čtyřnásobně skládaný filtrační papír se zakrytým vrchem a nechány dalších 22 hodin odsávat. Tato hmotnost byla zapsána jako hmotnost po 24 hodinách odsávání (Ge).

Poté byly válečky umístěny do sušárny na kulatém filtračním papíru s hodinovými skly (hmotnost zaznamenána), a vysušeny při 105 °C do konstantní hmotnosti. Po zchladnutí byla hmotnost zapsána (Gf), a použita ke stanovení hmotnosti sušiny (Gh).

Suchá zemina byla navážena po 10 g (Nz) do porcelánových misek s destilovanou vodou a 5 minut vařena. Do pyknometrů byla nalita destilovaná voda. Následně byly pyknometry i s vodou temperovány na 20 °C a zváženy (pH2O). Po vylití vody byly pyknometry naplněny suspenzí destilované vody se zeminou. Po vytemperování opět na 20 °C byly znovu zváženy (pz).

Následně proběhly výpočty (Příloha 2).

4.4 Metodika mikrobiologických analýz

Mikrobiologické analýzy byly provedeny na Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v. v., Praha-Ruzyně.

Na vzorcích z plochy i na vzorcích ze sond (odběrové místo 6 a 14), byly aplikovány molekulární metody pro zjištění taxonomického zastoupení bakteriální komunity. Konkrétně se jednalo o extrakci DNA (deoxyribonukleová kyselina), elektroforézu, polymerázovou řetězcovou reakci (PCR) a Illumina sekvenci.

4.4.1 Extrakce DNA z půdy

Na základě metody popsané v článku Sagova-Mareckova et al. (2008), byla extrahována DNA z půdy. Do 2 ml zkumavek se šroubovacím uzávěrem bylo přidáno 250 mg skleněných kuliček o průměru 0,1 mm a 250 mg o průměru 0,5 mm (BioSpeck, Oklahoma, USA). Bylo přidáno po jednom agregátu od každého vzorku (v případě vzorků odebíraných z plochy, bylo naváženo 0,5 g vzorku). Váha každého vzorku byla zapsána. Agregáty byly zakápnuty destilovanou vodou (př.: na 0,12 g přidáno 120 µl vody).

Následně bylo přidáno 600 μ l Müllerova extrakčního pufru (50 mM NaH₂PO₄ (pH 8) + 50 mM NaCl + 500 mM Tris-HCl (pH 8) + 5 % SDS) a 300 μ l fenolu:chloroformu:isoamylalkoholu (25v:24v:1v). Vzorky byly homogenizovány v mlýně (3110 BX Mini-BeadBeater-1, BioSpec, Oklahoma, USA) po dobu 90 sekund při 2500 otáčkách za minutu.

Poté byly vzorky centrifugovány (Centrifuge Eppendorf 5418, Eppendorf, Německo) po dobu 2 minut při 12000 rpm (otáčkách za minutu). Byl odebrán supernatant do nových 2 ml zkumavek s víkem (Eppendorf). Do původních zkumavek bylo ke vzorkům přidáno 300 µl Müllerova extrakčního pufru. Znovu homogenizováno (3110 BX Mini-BeadBeater-1, BioSpec, Oklahoma, USA) při 2500 rpm po dobu 30 sekund. Poté dáno do centrifugy odstředit na 2 minuty při 12000 rpm. Supernatant byl odebrán a přidán do zkumavek a smíchán s již odebraným supernatantem předchozího odstředění.

Do zkumavek byl přidán stejný objem fenolu:chloroformu (1v:1v), jako byl objem odebraného supernatantu. Zkumavky byly protřepány a vloženy do centrifugy na 5 minut při 6000 rpm. Supernatant byl odebrán a převeden do nových zkumavek.

Následně bylo přidáno stejné množství chloroformu, jako odebraného vzorku. Proběhlo znovu odstředění v centrifuze po dobu 5 minut při 6000 rpm.

Do nových zkumavek byl odebrán supernatant a krátce zahřátý na 65 °C v termobloku (Bio TDB-100, BIOSAN, Litva). Dále byl přidán 5M chlorid sodný na finální koncentraci 1,5 M (3/7 objemu vzorků bylo rovno objemu přidávaného chloridu sodného).

Poté byl přidán 10 % cetyl trimethylammonium bromide (CTAB) na finální koncentraci 1% (1/10 objemu vzorků se rovnala objemu přidávaného CTAB). Tato směs ve zkumavkách byla promíchána a vložena na 30 minut do termobloku (Bio TDB-100, BIOSAN, Litva) při 65 °C. Po zahřátí byly vzorky zchlazeny na 20 °C studenou vodou.

Do zchlazených zkumavek byl přidán stejný objem chloroformu jako vzorku. Směs byla promíchána a dána na 15 minut odstředit do centrifugy při 4500 rpm.

Supernatant byl odebrán do nových zkumavek o objemu 1,5 ml. Byla přidána 1/10 objemu 3M octanu sodného (pH 5) a 60 % objemu isopropanolu. Zkumavky byly důkladně protřepány a ponechány 20 minut stát v pokojové teplotě. Následně byly vloženy do centrifugy (Centrifuge 5415 R, Eppendorf, Německo) vychlazené na 4 °C a nechány 20 minut odstřeďovat při 10000 rpm.

Po vyndání z centrifugy, byl opatrně vylit obsah tak, aby na dně zůstaly peletky izolované DNA. Do zkumavek bylo nalito 50 μ l 70% vychlazeného etanolu a byly dány opět do centrifugy (Centrifuge 5415 R, Eppendorf, Německo) na 5 minut při 10000 rpm a 4 °C.

Líh byl odsán a zkumavky s peletkou DNA byly vysušeny ve vakuové odparce při 40 °C (CentriVap, Missouri, USA). Po vysušení bylo přidáno 30 µl destilované vody a necháno rozpouštět 1 hodinu při 65 °C v termobloku (Bio TDB-100, BIOSAN, Litva).

Následně proběhlo čištění DNA. Byla přidána 1/10 objemu směsi 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid (Hepes) a chloridu vápenatého (poměr 1mol:1mol). Směs byla ponechána v klidu při pokojové teplotě po dobu 15 minut. Dále byla k přečištění použita sada GeneRead Size Selection Kit (50) (QIAGEN, Německo). Kde byl použit přiložený návod komerční sady, který byl modifikovaný pro potřeby vzorků.

Byl přidán pufr SB1 v množství 4-násobku objemu vzorku. Směs vzorku s pufrem byla přendána do vychlazených zkumavek MinElute a centrifugována 1 minutu při 12000 rpm. Poté byla vylita tekutina odstředěná v dolní části zkumavek. Do stejných zkumavek bylo přilito 700 µl 70% vychlazeného etanolu a znovu odstředěno v centrifuze 1 minutu při 12000 rpm. Obsah tekutiny v dolní části zkumavek byl opět vylit.

Do stejných zkumavek bylo znovu nalito 700 µl 70% etanolu a znovu centrifugováno 1 minutu za stejných podmínek. Odstředěný etanol byl vylit. Vrchní část zkumavek MinElute byla přendána do nových zkumavek o objemu 1,5 ml. Do takto sestavených zkumavek bylo nalito 30 µl destilované vody ohřáté na 35 °C. Zkumavky byly ponechány v klidu 1 minutu.

Poté proběhla centrifugace po dobu 1 minuty při 12000 rpm. Vršek zkumavek s filtrem byl odejmut a spodní část s eluovanou DNA byla uchována pro další zpracování.

4.4.2 Elektroforéza

Ke zjištění úspěšnosti extrakce DNA, byla využita elektroforéza. Do zahřáté agarové směsi (0,5g agarozy + 50 ml TAE pufru) bylo po lehkém zchlazení napipetováno 5 μ l SYBR Safe DNA Gel Stain (v DMSO v poměru 1v:9v). Tato směs byla nalita do formy, kde se nechala ztuhnout (cca 30 minut při pokojové teplotě cca 20 °C). Následně byl gel vložen do aparatury pro elektroforézu, v níž byl nalit TEA pufr (40 mM Tris-acetátu + 1 mM Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA; pH 8) (EDTA (2 mM): 0,074 g Na₂EDTA.2H₂O + 50 ml dH₂O).

Do první jamky každého řádku bylo napipetováno 5 µl markeru GeneRulerTM 1kb Plus DNA Ladder, který sloužil k odečtení množství a velikosti vzorku. Do zbylých jamek byly napipetovány vzorky a to tak, že byly smíchány 2 µl DNA a 3 µl Yellow load pufru.

Poté byla spuštěna elektroforéza při napětí 95 mA a 100 V po dobu zhruba 20 minut. Po proběhnutí elektroforézy, byl gel vyfocen v UV transluminátoru pomocí programu GeneSnap 7.12, na němž bylo zjištěno, zda-li byla extrakce DNA úspěšná.

K odečtení sloužil GeneRulerTM 1kb Plus DNA na agarózovém Ladder jak pro extrakci DNA, tak i PCR.

4.4.3 Polymerázová řetězcová reakce a sekvence metodou Illumina

Tato část probíhala dle metodiky popsané v diplomových pracích Patrmannová (2019); Zývalová (2017) a práci Madrova et al. (2018).

Pro vzorky byla namíchána reakční směs ve sterilním prostředí. Pro úspěšné proběhnutí reakce bylo nutné optimalizovat množství přidané DNA. Zároveň byly testovány různé DNA polymerázy. Dle Tabulka 9 nebo Tabulka 10 bylo namícháno potřebné množství reakční směsi pro dávku na jeden vzorek 25 µl. Vzhledem k různé koncentraci DNA ve vzorku, bylo namícháno několik směsí. Směs byla měněna pouze množstvím přidávaného DNA, a to ubráním vody ve směsi a druhem použité polymerázy. Použití druhů polymeráz, váha agregátu a množství použité DNA do reakční směsi u jednotlivých vzorků je popsáno v Tabulka 13, Tabulka 14, Tabulka 15.

Polymerázy byly požívány tři a to: AccuPrime [™] Taq DNA Polymerase Systém, GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase a GoTaq® Hot Start Polymerase. Pro amplifikaci genu 16S rRNA pro prokaryota, byly použity universální primery s převisovými adaptéry CS1_515pF

5'-ACACTGACGACATGGTTCTACAGAGTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3'a CS2_806aR 5'-TACGGTAGCAGAGACTTGGTCTACGGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'.

Jednotlivé směsi s vzorky byly napipetovány do mikrozkumavek (Eppendorf) o objemu 0,2 ml v komoře vysvícené UV zářením. Jako pozitivní kontrola sloužila DNA ze *Streptomyces scabiei* DSM 41658. Jako negativní kontrola byla přidávána pouze dH₂O.

Amplifikace genu pro 16S rRNA proběhla v termocykléru (C1000[™] Thermal Cycler, Bio-Rad Laboratories, Kalifornie, USA). Podmínky reakcí byly optimalizovány podle použité polymerázy (Tabulka 11 a Tabulka 12). Úspěšnost byla zkontrolována pomocí elektroforézy, stejně jako po extrakci DNA.

Výsledné amplikony byly odeslány na Universitu of Illinois (Chicago, USA), kde byly oboustranně sekvenovány metodou MiSeq (Illumina, San Diego, USA). Obě sekvence z jednoho organismu byly spárovány, filtrovány a seřazeny s využitím databáze Silva jako reference. Chiméry byly kontrolovány pomocí nástroje Vsearch a to podle standardního postupu MiSeq v Mothur 1.44.1. Taxonomické zařazení proběhlo dle databáze Silva. Byly odstraněny sekvence mitochondrií, plastidů a sekvence neklasifikované v doméně *Bacteria*. Knihovna sekvencí pak byla seskupena do OTU a to pomocí Uparse v softwaru Usearch v10.0.240. Tabulka byla zpracovávána pomocí nástrojů v Mothur a následně v programu Excel.

Tabulka 9: Složení reakční směsi pro PCR (AccuPrime)

Složka	Množství pro 1 vzorek (μl)
10X Buffer II.	2,5
Přímý primer CS1F (ředěno 1v:9v dH2O)	0,5
Zpětný primer CS2R (ředěno 1v:9v dH2O)	0,5
Polymeráza	0,5
MgCl2	1,5
dH2O	17,25
DMSO	1,25
DNA	1
Celkový objem	25

Tabulka 10: Složení reakční směsi pro PCR (GoTaq)

Složka	Množství pro 1 vzorek (μl)
Buffer	5
Přímý primer CS1F (ředěno 1v:9v dH2O)	1
Zpětný primer CS2R (ředěno 1v:9v dH2O)	1
Polymeráza	0,125
dNTP	0,5
MgCl2	4
dH2O	11,125
DMSO	1,25
DNA	1
Celkový objem	25

Tabulka 11: Podmínky reakce PCR (AccuPrime)

Proces	Teplota (°C)	Čas	Opakování
Počáteční denaturace	95	5 min	1
Denaturace	95	30 s	
Nasedání primerů	55	45 s	29
Syntéza	68	30 s	
Závěrečná syntéza	68	7 min	1
Konec (udržovací teplota)	4		
Proces	Teplota (°C)	Čas	Opakování
---------------------------	--------------	-------	-----------
Počáteční denaturace	95	5 min	1
Denaturace	95	30 s	
Nasedání primerů	55	45 s	29
Syntéza	72	30 s	
Závěrečná syntéza	72	7 min	1
Konec (udržovací teplota)	4		

Tabulka 12: Podmínky reakce PCR (GoTaq)

Tabulka 13: Váha agregátu, množství použité DNA do reakční směsi PCR a druh použité polymerázy (opakování 1)

Značení u grafů	Vzorek	Lokalizace	Váha agregátu [g]	Množství DNA do premixu [µl]	Premix
A5a	Cd 6-5	sonda	0,27	1	AccuPrime
A10a	Cd 6-10	sonda	0,09	1	AccuPrime
A15a	Cd 6-15	sonda	0,14	1	AccuPrime
A20a	Cd 6-20	sonda	0,13	2	GoTaq Hot Start
A25a	Cd 6-25	sonda	0,15	2	GoTaq Hot Start
A30a	Cd 6-30	sonda	0,16	2	GoTaq Hot Start
A40a	Cd 6-40	sonda	0,07	1	AccuPrime
A50a	Cd 6-50	sonda	0,17	2	GoTaq Hot Start
A60a	Cd 6-60	sonda	0,15	1	AccuPrime
A70a	Cd 6-70	sonda	0,35	2	GoTaq Flexi
A80a	Cd 6-80	sonda	0,24	2	GoTaq Hot Start
B5a	Cd 14-5	sonda	0,12	2	GoTaq Hot Start
B15a	Cd 14-15	sonda	0,13	2	GoTaq Hot Start
B20a	Cd 14-20	sonda	0,23	2	GoTaq Hot Start
B25a	Cd 14-25	sonda	0,05	1	AccuPrime
B30a	Cd 14-30	sonda	0,12	2	AccuPrime
B35a	Cd 14-35	sonda	0,04	5	AccuPrime
B40a	Cd 14-40	sonda	0,2	1	AccuPrime
B50a	Cd 14-50	sonda	0,26	2	GoTaq Hot Start
B60a	Cd 14-60	sonda	0,14	1	AccuPrime
B70a	Cd 14-70	sonda	0,12	2	GoTaq Hot Start

Značení u grafů	Vzorek	Lokalizace	Váha agregátu [g]	Množství DNA do premixu [µl]	Premix
A5b	Cd 6-5	sonda	0,14	2	GoTaq Hot Start
A10b	Cd 6-10	sonda	0,09	1	AccuPrime
A15b	Cd 6-15	sonda	0,11	5	AccuPrime
A20b	Cd 6-20	sonda	0,1	1	AccuPrime
A25b	Cd 6-25	sonda	0,01	5	AccuPrime
A30b	Cd 6-30	sonda	0,27	2	GoTaq Hot Start
A40b	Cd 6-40	sonda	0,16	5	AccuPrime
A50b	Cd 6-50	sonda	0,09	5	AccuPrime
A60b	Cd 6-60	sonda	0,19	1	AccuPrime
A70b	Cd 6-70	sonda	0,09	2	GoTaq Hot Start
A80b	Cd 6-80	sonda	0,29	5	AccuPrime
B5b	Cd 14-5	sonda	0,15	2	GoTaq Hot Start
B15b	Cd 14-15	sonda	0,12	1	AccuPrime
B20b	Cd 14-20	sonda	0,22	2	GoTaq Hot Start
B25b	Cd 14-25	sonda	0,1	1	AccuPrime
B30b	Cd 14-30	sonda	0,13	2	GoTaq Hot Start
B35b	Cd 14-35	sonda	0,24	1	AccuPrime
B40b	Cd 14-40	sonda	0,19	1	AccuPrime
B50b	Cd 14-50	sonda	0,14	2	GoTaq Hot Start
B60b	Cd 14-60	sonda	0,16	5	AccuPrime
B70b	Cd 14-70	sonda	0,13	Х	x

Tabulka 14: Váha agregátu, množství použité DNA do reakční směsi PCR a druh použité polymerázy (opakování 2)

Tabulka 15: Váha a	gregátu, množstv	ví použité Dľ	NA do reakční směs	i PCR a druh	použité polymerázy	(opakování 3)

Značení u grafů	Vzorek	Lokalizace	Váha agregátu [g]	Množství DNA do premixu [µl]	Premix
A5c	Cd 6-5	sonda	0,15	1	AccuPrime
A10c	Cd 6-10	sonda	0,05	1	AccuPrime
A15c	Cd 6-15	sonda	0,04	1	AccuPrime
A20c	Cd 6-20	sonda	0,06	1	AccuPrime
A25c	Cd 6-25	sonda	0,01	1	AccuPrime
A30c	Cd 6-30	sonda	0,09	1	AccuPrime
A40c	Cd 6-40	sonda	0,19	1	GoTaq Hot Start
A50c	Cd 6-50	sonda	0,13	1	GoTaq Hot Start
A60c	Cd 6-60	sonda	0,15	1	AccuPrime
A70c	Cd 6-70	sonda	0,7	X	X
A80c	Cd 6-80	sonda	0,26	5	AccuPrime
B5c	Cd 14-5	sonda	0,11	2	GoTaq Hot Start
B15c	Cd 14-15	sonda	0,13	1	AccuPrime
B20c	Cd 14-20	sonda	0,19	2	GoTaq Hot Start
B25c	Cd 14-25	sonda	0,2	2	GoTaq Hot Start
B30c	Cd 14-30	sonda	0,26	1	AccuPrime
B35c	Cd 14-35	sonda	0,28	2	GoTaq Hot Start
B40c	Cd 14-40	sonda	0,31	1	AccuPrime
B50c	Cd 14-50	sonda	0,51	1	AccuPrime
B60c	Cd 14-60	sonda	0,13	1	GoTaq Flexi
B70c	Cd 14-70	sonda	0,12	Х	Х

4.4.4 Složení bakteriálního společenstva

Po Illumina sekvenaci proběhlo taxonomické zařazení dle databáze Silva. Následné grafické znázornění taxonomického členění bylo zpracováváno pomocí programu Excel. Stejný postup byl použit v případě sond i vzorků z plochy.

4.4.5 Statistické šetření

Statistické šetření fyzikálně-chemických vlastností probíhalo v programu Statistica. Jednalo se o zjištění korelací na hladině významnosti p < 0.05.

K analýze společenstev mikroorganismů ve vztahu k míře kontaminace byl využit program R. K zjištění rozdílností byla použita AMOVA s indexem podobnosti Bray Curtis a následně u vzorků z plochy nemetrické mnohorozměrné rozdělení (NMDS) – ordinační diagram.

V případě sondy A byly porovnávány skupiny: Nízká, Střední, Vysoká a Velmi vysoká kontaminace. U sondy B skupiny: Nízká, Střední a Vysoká kontaminace a u plochy skupiny: Nízká, Střední a Vysoká kontaminace, kde následně došlo

i k samostatnému porovnávání skupin: Nízká a Střední kontaminace; Střední a Vysoká kontaminace; Nízká a Vysoká kontaminace. Hladiny významnosti jsou pro jednotlivé skupiny uvedeny v tabulkách v kapitole Výsledky.

5 Výsledky

5.1 Výsledky-sondy

5.1.1 Pseudototální obsah Cd a Zn (sonda A)

Vzorky A5 až A25 mají vzestupnou tendenci obsahu Cd. Je patrné, že nejvíce Cd se nachází u vzorku A50, tedy hloubce 50-60 cm. Tento vzorek vykazuje hodnoty přes 70 mg/kg. Naopak nejnižších hodnot dosahuje A5 a A30 (Obrázek 6).



Obrázek 6: Pseudototální obsah Cd (sonda A)

Křivka obsahu Zn (Obrázek 7) je podobná křivce obsahu Cd. Nejvyšších hodnot opět dosahuje vzorek A50. Nejnižších naopak vzorek A5. V tomto případě je u vzorku A5 znatelně nižší množství Zn v porovnání s ostatními vzorky. V hloubkách 5 - 30 cm je patrná vzestupná tendence množství Zn a to u vzorků A5 až A30.



Obrázek 7: Pseudototální obsah Zn (sonda A)

5.1.2 Půdní reakce (sonda A)

Nejvyšší hodnota pH_{H2O} je u vzorku A15 a nejnižší u A50. Na tvaru křivky je patrno, že u vzorku A50 je pokles značný oproti jiným vzorkům. U pH_{BaCl2} dosahuje nejvyšších hodnot vzorek A20 a nejnižších opět A50 (Obrázek 8).



Obrázek 8: Aktivní a výměnné pH (sonda A)

5.1.3 Organický uhlík (sonda A)

Křivka nevykazuje žádnou tendenci. Nejvyšších hodnot dosahuje vzorek A5 s hodnotou kolem 3,4 %. A nejnižších hodnoty jsou patrny u A15 a A70, kde je hodnota pod 2 %. Vzorek A50 opět vybočuje a to náhlým vzestupem množství C_{ox} (Obrázek 9).



Obrázek 9: Množství organického uhlíku (sonda A)

5.1.4 Kationtová výměnná kapacita (sonda A)

Na grafu (Obrázek 10) je vidět, že nejvyšší hodnoty KVK dosahuje vzorek A10 Tento vzorek značně vystupuje oproti ostatním. Poté dochází ke značnému poklesu na hodnotu kolem 16 cmol+kg-1. Následující vzorky A20 až A60 se drží v rozmezí cca 13-15 cmol+kg-1. Nejnižší hodnoty jsou viditelné u vzorků A25 a A50.



Obrázek 10: Kationtová výměnná kapacita (sonda A)

5.1.5 Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al

Křivky Al_{ox} a Mn_{ox} , se ve směs kopírují, křivka Fe_{ox} vizuálně vypadá značně jinak, ovšem tendence je stejná jako u Al_{ox} a Mn_{ox} . V případě Al_{ox} a Mn_{ox} nejvyšší hodnoty dosahuje vzorek A50. Zbývající vzorky se drží v podobných hodnotách. Naproti tomu křivka Fe_{ox} má širší rozpětí hodnot a to od cca 3000 do 5200 mg/kg. Vrchol je vidět u vzorku A60 a naopak nejnižší hodnotu zaznamenává u vzorku A5 (Obrázek 11).



Obrázek 11: Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al (sonda A)

5.1.6 Fyzikální vlastnosti dle Kopeckého válečků (sonda A)

Neporušený půdní vzorek byl odebrán pouze v hloubkových sondách. Vzhledem k počtu měřených veličin, byla tabulka s výsledky dána do přílohy (Příloha 5).

Jelikož byly pro danou hloubku odebírány vždy 2 neporušené půdní vzorky (vyjma hloubky 95 cm sondy A), jsou v příloze uvedeny průměry těchto hodnot.

U sondy A je celková pórovitost kolem 50 %, trochu nižší je pouze v hloubce 95 cm (47,79 %). Objemová momentální vlhkost stoupá s hloubkou (18,52 % až 23,14 %). Objemová nasáklivost je nevyšší v hloubce 40 cm a nejnižší ve 20 cm. Objemová maximální kapilární kapacita roste s hloubkou (34,69 % až 44,82 %). Objemová retenční vodní kapacita také roste s hloubkou (28,77 % až 38,94 %).

5.1.7 Pseudototální obsah Cd a Zn (sonda B)

Na grafu (Obrázek 12) je vidět, že nejvyšší množství Cd má vzorek B35, tedy hloubka 30-35 cm a to množstvím přes 100 mg/kg. Tento vzorek značně vystupuje oproti ostatním vzorkům. Následně dochází k rychlému poklesu (vzorek B40) na hodnotu kolem 5 mg/kg. Nejnižší množství Cd je vidět u vzorků B50, B60 a B70.





Graf (Obrázek 13) vypadá velice podobně jako graf množství Cd. Opět nejvyšší hodnota je naměřená u B35. Hodnota zde dosahuje přes 400 mg/kg. Poté značný pokles na hodnotu kolem 100 mg/kg (vzorek B40). Vzorky B40 až B70 mají podobné hodnoty v rozmezí 75-100 mg/kg. Nejnižší množství Zn má vzorek B50 v hloubce 40-50 cm.



Obrázek 13: Pseudototální obsah Zn (sonda B)

5.1.8 Půdní reakce (sonda B)

Vyšších hodnot obecně dosahuje pH_{H2O} . Vyrovnanější křivka se jeví křivka pH_{BaCl2} (Obrázek 14). U té je nenižší hodnota vidět u B5 (pH_{BaCl2} 7,13) a v závěsu B25 (pH_{BaCl2} 7,15). Nevyšší hodnoty jsou u B40 a B60. Co se týče pH_{H2O} nejnižší hodnota je vidět u B5 a nejvyšší u B60. Tato křivka je viditelně rozkolísaná a drží se v hodnotách od 7,8 do 8,2.



Obrázek 14: Aktivní a výměnné pH (sonda B)

5.1.9 Organický uhlík (sonda B)

Na grafu (Obrázek 15) je vidět, že nejvyšší hodnotu má vzorek B5 a nejnižší B70. Je vidět, že směrem do hloubky klesá množství C_{ox} . Výjimku tvoří vzorek B35, kde dochází k navýšení množství C_{ox} a vzorek B60, kde také dochází k mírnému nárůstu.



Obrázek 15: Množství organického uhlíku (sonda B)

5.1.10 Kationtová výměnná kapacita (sonda B)

Tato křivka je velice nevyrovnaná bez jakékoli tendence klesání/stoupání s hloubkou. Nejvyšší hodnota je vidět u B35 a nejnižší u B60 (Obrázek 16).



Obrázek 16: Kationtová výměnná kapacita (sonda B)

5.1.11 Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al (sonda B)

Řady Al_{ox} a Mn_{ox} mají většinou tendenci s hloubkou dosahovat vyšších hodnot. Nejnižší hodnota je tedy v obou případech u B5 a nejvyšší u B70 v případě Al_{ox} a B60 v případě Mn_{ox} . V případě Fe_{ox} dosahuje nejvyšších hodnot vzorek B35 a nejnižších B70. Na počátku B5 až B35 je videt nárůst a poté razantní pokles u B40 (Obrázek 17).



Obrázek 17: Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al (sonda B)

5.1.12 Fyzikálné vlastnosti dle Kopeckého válečků (sodna B)

U sondy B se pohybuje celková pórovitost také kolem 50 %, ale hodnoty jsou zde rozkolísanější. Nejmenší pórovitost byla naměřena v hloubce 20 cm (49,53 %) a nejvyšší na povrchu (51,96 %). Objemová momentální vlhkost je nejvyšší v hloubce 60 cm (25,91 %) a nejnižší na povrchu (18,51 %). Objemová nasáklivost má nejvyšší hodnotu ve 20 cm (51,37 %) a nejnižší ve 40 cm (31,30 %). Objemová maximální kapilární kapacita je má stejný trend jako objemová nasáklivost, tedy nejvyšších hodnot dosahuje v hloubce 20 cm (43,92 %) a nejnižší ve 40 cm (27,23 %). Objemová retenční vodní kapacita je nejvyšší ve 20 cm (37,15 %), nejnižší ve 40 cm (24,03 %) (Příloha 6).

5.1.13 Korelace fyzikálně-chemickcých vlastností

U sondy A (Příloha 8) koreluje pozitivně obsah kadmia v roztoku obrácené lučavky královské (Cd_{aq}) s oxalátovými extrakty Al_{ox} (r = 0,680) a Mn_{ox} (r = 0,771) a se Zn_{aq} (r = 0,958). Oxalátově výměnné formy korelovaly negativně s pH_{H2O} (pro Al_{ox}: r = -0,765; pro Fe_{ox}: r = -0,762; pro Mn_{ox}: r = -0,614). Al_{ox} vykazuje také silnou korelaci s ostatními oxalátově výměnnými formami (pro Fe_{ox} r = 0,921; pro Mn_{ox}: r = 0,933). Fe_{ox} koreluje s Mn_{ox} (r = 0,820).

U sondy B (Příloha 9) je silná korelace obsahu Cd_{aq} s Fe_{ox} (r = 0,953) a Zn_{aq} (r = 0,996). S pH_{H2O} z oxalátově výměnných forem koreluje pouze Mn_{ox} (r = 0,690),

ale negativně koreluje s C_{ox} (r = -0,791) Oxalátové extrakty korelují s C_{ox} (pro Al_{ox} r = -0,816) (pro Mn_{ox} r = -0,931) a pozitivně s Fe_{ox} (r = 0,705). Al_{ox} koreluje s Mn_{ox} (r = 0,858); Fe_{ox} negativně s Mn_{ox} (r = -0,692).

5.1.14 Extrakce DNA a PCR

Na vybraném kontrolním gelu z elektroforézy je patrné, kde se přečištění DNA povedlo a kde nikoli. Podle množství vyextrahované DNA, je vidět také intenzita zbarvení DNA na gelu. Čím bělejší barva, tím větší množství vyextrahované DNA při porovnání se standardem (Obrázek 18). Vzorky A25a, A70a, B35a, A15b, A25c, A30b, A40b, A50b, A80b, B60c, byly vyhodnoceny jako nevydařené, a jejich přečištění bylo opakováno. Zbylé vzorky byly podrobeny PCR.



Obrázek 18: Kontrolní gel po přečištění extrahované DNA (Případná špatná čitelnost může být způsobena tiskem.)

Na vybraném agarózovém gelu výsledného PCR (Obrázek 19) je vidět úspěšnost proběhnuté reakce.

Podle intenzity odpovídajícího pruhu na gelu, je vidět různé množství amplikonu 16S rRNA. Čím znatelnější, tím lépe vydařená PCR.

Na gelu jsou vyznačena opakování od jednoho vzorku (A25a,b,c apod.). V případě tohoto gelu byly použity různé druhy polymeráz (Obrázek 19). Jako nejúspěšnější se u tohoto gelu jeví polymeráza GoTaq Hot Start. V celkovém využití polymeráz, byla však nejúspěšnější polymeráza AccuPrime.

Je patrné, že u 21 vzorků vše proběhlo v pořádku. Jako opravdu nezdařilé, se jeví vzorky A25b, A70c, A80b, A80c, B15b, B25b a B25c. Takové vzorky byly opakovány s jiným množstvím přidávané DNA nebo s jinou polymerázou. Celkově bylo extrahováno 63 vzorků. Extrakce DNA vyjma cca 10 vzorků proběhla bez potíží. Nevydařené vzorky byly extrahovány znovu z jiného agregátu.

Z celkového počtu vzorků se u poloviny vzorků PCR vydařila na první pokus, zbytek byl opakován, v některých případech i vícekrát. Nejprve bylo měněno množství DNA, v případě, že toto řešení nepomohlo, byla změněna polymeráza. Vždy byla nejprve použita

polymeráza AccuPrime, následně GoTaq Hot Start a potom GoTag Flexi. U vzorků B70b,c a A70c se i přes změny polymeráz i množství DNA nepodařilo úspěšně provést PCR.



Extrakce DNA a PCR i následné vyhodnocení probíhalo stejně i v případě vzorků odebraných z plochy. V případě plochy byla DNA extrahována z půdní navážky jemnozemě (0,5 g). Extrakce DNA v případě sond byla prováděna z půdních agregátů. Autorka práce pracovala pouze s půdními agregáty.

5.1.15 Složení bakteriálního společenstva

V rámci vzorků sondy A bylo získáno 1 557 757 sekvencí, které byly zařazeny do 33 608 OTU. U sondy B bylo získáno 848 559 sekvencí zařazených do 33 608 OTU.

U vzorků bylo 27 bakteriálních kmenů zastoupených nad 2 %. Ostatní kmeny byly sloučeny a označeny jako "others" (ostatní). U sond jsou nejvíce zastoupené kmeny (řazeno od nejvíce zastoupeného) *Proteobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobiota, Chloroflexi, Acidobacteria, Planctomycetes* a *Bacteroides*.

Porovnáním vzorků, je vidět rozdíl mezi vzorky A a B (Obrázek 20), které odpovídají odběrovým místům 6 a 14 na ploše. Největší rozdíl je v zastoupení *Verrumicrobia*. Zde je na první pohled vidět, že je zásadně menší zastoupení u vzorků B. Zastoupení *Proteobacteria* a *Acidobacteria* je vyrovnanější u vzorků A, u vzorků B značně kolísá. *Actinobacteria* a *Chloroflexi* vykazují vyšší zastoupení u vzorků B. *Acidobacteria* jsou ve větším zastoupení u vzorků A.





Obrázek 20: Složení bakteriálního společenstva na úrovni kmenů sond A a B

U vzorků A není vidět na první pohled příliš velké rozdíly mezi vzorky z jednotlivých hloubek, a také není vidět žádná zřetelná tendence úbytku/příbytku zastoupení jednotlivých kmenů s hloubkou. Nejvýraznější rozdíly jsou u *Verrucomicrobia* a *Chloroflexi*. *Verrucomicrobia* mají nejnižší zastoupení u A25, tedy v hloubce 25 cm, nejvyšší pak u A20 a A30. *Chloroflexi* se nejméně vyskytují u A20 a nejvíce u A25.

U vzorků B vykazuje největší rozdíly vzorek B5 oproti ostatním. Vzorek B5 má vysoké zastoupení *Proteobacteria*, minimum *Verrucomicrobia, Firmicutes* a *Acidobacteria*. Znatelně méně obsahuje i *Chloroflexi*. Vzorek B60 obsahuje vyšší množství *Actinobacterii*. V zastoupení *Bacteroides* a *Acidobacteria* jsou patrné značné rozdíly. Nejméně *Acidobacteria* vykazuje B5. *Bacteroides* je nejméně zastoupeno u B30 a B70, nejvíce u B5 a B35. Stejně jako u vzorků A, není patrná tendence úbytku/příbytku zastoupení kmenů s hloubkou půdy.

5.2 Výsledky-plocha

5.2.1 Pseudototální obsah Cd a Zn

Na grafu (Obrázek 21) je patrné, že nejvyšších hodnot dosahuje vzorek $2\underline{d}$ a to 38,32 mg/kg.

Naopak nejnižší množství Cd obsahuje vzorek 10<u>s</u>. Ve dvojicích menší množství většinou obsahují vzorky <u>d</u>, výjimku tvoří vzorky 2 a 4, kde vyšší množství zaznamenávají vzorky <u>s</u>. U vzorků 6 a 14, kde byly odebírány i sondy, je vidět, že vzorky 6 jsou vyrovnanější a mají větší množství Cd než vzorky 14. U vzorků 14 je vyšší zastoupení u vzorku <u>s</u>. U dvojic je vidět nejmenší množství Cd u vzorků 10, 16 a 20.



Pseudototální obsah Cd

Obrázek 21: Pseudototální obsah Cd (plocha)

Nejvíce Zn (Obrázek 22) obsahuje vzorek 12<u>s</u>, nejméně vzorek 16<u>d</u>. Porovnáním dvojic mívají vyšší zastoupení Zn vzorky <u>s</u>, výjimku tvoří vzorky 4, 2 a 10. Vzorky 14 a 6 mají podobnou tendenci jako v případě pseudototálního obsahu Cd. Vyšších

koncentrací nad 160 mg/kg dosahují vzorky 10<u>d</u>, 12<u>s</u>, 14<u>s</u>, 2<u>d</u>, 6<u>d</u>, 6<u>s</u> a 7<u>s</u>. Naopak nižší koncentrace pod 80 mg/kg mají vzorky 16<u>d</u>, 16<u>s</u>, 20<u>d</u> a 20<u>s</u>.



Pseudototální obsah Zn

5.2.2 Půdní reakce

Vyššího pH dosahuje aktivní pH_{H2O}. v tomto případě nejzásaditější je vzorek 16<u>d</u>. Nejnižší pH_{H2O} je patrno u 10<u>d</u>. U pH_{BaCl2} jsou hodnoty vyrovnanější. Nejvyšší hodnota je naměřena u 16<u>d</u>. Nejnižší u 10<u>s</u> (Obrázek 23).



Aktivní a výměnné pH

Obrázek 23: Aktivní a výměnné pH (plocha)

Obrázek 22: Pseudototální obsah Zn (plocha)

5.2.3 Organický uhlík

Na grafu (Obrázek 24) je vidět, že nejvíce oxidovatelného uhlíku bylo u vzorků10. Nejmenších hodnot dosahuje vzorek 16<u>d</u>, který s hodnotou 0,7 % vybočuje oproti ostatním. V případě dvojic mají menší zastoupení C_{ox} vzorky <u>d</u> oproti <u>s</u>.



Množství organického uhlíku

5.2.4 Kationtová výměnná kapacita

U vzorku 12<u>d</u> byla naměřena nejvyšší hodnota, nejnižší u vzorku 3<u>s</u>. Nejvyrovnanější dvojicí je dvojice 14, kde <u>s</u> a <u>d</u> nejsou příliš rozdílní. Nejrozkolísanější se jeví dvojice 12, kde <u>s</u> má znatelně nižší hodnoty, než <u>d</u> (Obrázek 25).



Kationtová výměnná kapacita

Obrázek 24: Množství organického uhlíku (plocha)

Obrázek 25: Kationtová výměnná kapacita (plocha)

5.2.5 Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al

Nejvyšší zastoupení má Fe_{ox}. Zde je nejvyšší hodnota naměřena u vzorku 14<u>s</u>, nejnižší u vzorku 5<u>s</u>. Zastoupení Mn_{ox} vykazuje nejnižší hodnoty u vzorku 2<u>d</u>. Nejvyšší koncentrace byla naměřena u 10<u>d</u>. Zastoupení Al_{ox} je nejvyšší u 10<u>d</u> a nejnižší u 2<u>s</u> (Obrázek 26).



Oxalátově výměnné formy Fe, Al, Mn

Obrázek 26: Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al (plocha)

5.2.6 Korelace fyzikálně-chemických vlastností

Korelace s Cd_{aq} v kladném směru je vidět u Fe_{ox} (r = 0,671) a Zn_{aq} (r = 0,757), záporná korelace u Al_{ox} (r = -0,644) a Mn_{ox} (r = -0,612). Korelace pH_{H2O} je záporná, středně silná s C_{ox} (r = -0,501) a Mn_{ox} (r = -0,419). Al_{ox} pozitivně koreluje s Mn_{ox} (r = 0,880) a negativně s Fe_{ox} (r = -0,414). Fe_{ox} negativně koreluje s Mn_{ox} (r = -0,379). Oproti sondě B, zde není vidět korelace C_{ox} s oxalátovými extrakty. Naopak pouze u plochy je vidět korelace Al_{ox} s KVK (r = 0,399) (Příloha 7).

5.2.7 Složení bakteriálního společenstva

U vzorků z plochy bylo získáno 1 557 757 sekvencí, které byly zařazeny do 13 427 OTU.

Ve vzorcích bylo zjištěno 19 prokaryotních kmenů zastoupených nad 2 %. Zbytek kmenů byl sloučen a označen jako others (ostatní).

U Plochy jsou nejvíce zastoupené kmeny bakterií: (řazeno od nejvíce zastoupených) *Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi, Planctomycetes, Bacteroides* a *Archaea: Thaumarchaeota*.

Na Obrázek 27 není patrna zásadní odlišnost některého vzorku. V případě dvojic <u>s</u> a <u>d</u> (povrch-surface, hloubka-depth vykazuje <u>s</u> ve většině případů vyšší zastoupení *Proteobacteria*. V případě *Actinobacteria* bývá jejich zastoupení u dvojic (<u>s</u> a <u>d</u>) podobné,

totéž lze říci i pro kmeny *Chloroflexi* a *Planctomycetes*. U *Bacteroides* je vidět větší rozdíl pouze v případě dvojice 8<u>s</u> a 8<u>d</u>.Větší rozdíly v zastoupení u jednotlivých dvojic jsou pozorovatelné v případě archaeálních *Thaumarchaeota* a bakterií *Gemmatimonadetes*.

Porovnáme-li mezi sebou povrchové odběry (<u>s</u>), nejvíce jsou patrny rozdíly u kmenů *Proteobacteria* a *Actinobacteria*. Vzorky 12<u>s</u>, 20<u>s</u> a 5<u>s</u> vykazují nejnižší množství *Proteobacteria*. *Actinobacteria* je nejméně u vzorků 4<u>s</u> a 1<u>s</u>. *Acidobacteria* a *Chloroflexi* jsou poměrně vyrovnané. Kolísání je viditelné u *Thaumarchaeota* a *Gemmatimonadetes*.

Co se týče vzorků <u>d</u>, nejvíce kolísá množství kmenů *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Planctomycetes*, *Verrumicrobia* a *Gemmatimonadetes*. *Acidobacteria* a *Chloroflexi* a *Bacteroides* jsou celkem vyrovnané. Nejmenší zastoupení *Proteobacteria* je vidět u 12<u>d</u>, naopak nejvyšší u 4<u>d</u>. *Actinobacteria* mají nejnižší zastoupení u 4<u>d</u>.



Obrázek 27: Složení bakteriálního společenstva na úrovni kmenů vzorků z plochy

5.2.8 Statistické šetření

Vzorky byly rozděleny do 3 skupin podle množství Cd: vysoký obsah Cd, střední obsah Cd a nízký obsah Cd. Na základě tohoto rozdělení (Příloha 3) bylo provedeno statistické srovnání pro dané skupiny.

Neparametrické mnohorozměrné rozdělení (NMDS) bakteriálních společenstev z plochy pole ukázalo, že vzorky s různou kontaminací Cd se rozdělí podle osy y (Obrázek 28). Složení bakteriálních společenstev ve vzorcích s vysokou kontaminací Cd korelují pozitivně s Cd_{aq}, Fe_{ox} a Zn_{aq}, zatímco vzorky se střední až nízkou kontaminací Cd korelují

s Mn_{ox} a Al_{ox} . Korelace s Cd_{aq} , Fe_{ox} , Mn_{ox} a Al_{ox} jsou silnější (p<0,001), se Zn_{aq} jsou slabší (p<0.01).



Obrázek 28: Neparamatrické mnohorozměrné rozdělení (NMDS) bakteriálních společenstev plochy rozdělených do skupin podle úrovně kontaminace Cd a vektory zobrazující vztahy s bakteriálními společenstvy (červená barva – vysoká kontaminace; šedá barva – střední kontaminace; zelená barva – nízká kontaminace)

Srovnání vzorků pomocí AMOVA ukázalo signifikantní odlišnosti ve složení bakteriálních společenstev mezi všemi třemi skupinami (p<0,001) (Tabulka 16), a pak mezi dvojicemi Vysoká kontaminace a Nízká kontaminace (p=0,002) (Tabulka 17); Vysoká kontaminace a Střední kontaminace (<0.001) (Tabulka 18). Střední a Nízká kontaminace se nelišily (Tabulka 19).

Zajímavé je, že vzorek 12<u>s</u>, ačkoli se řadí do skupiny vysoce kontaminované, se v grafu přibližuje spíše vzorkům střední kontaminace. Vzorky střední a nízké kontaminace, jsou v grafu značně promíchané, což souvisí se zmíněnou nízkou odlišností mezi těmito skupinami.

AMOVA pro bakteriální společenstva rozdělená podle stupně kontaminace Cd provedená pro vzorky ze sond neprokázala žádné signifikantní odlišnosti (Tabulka 20, Tabulka 21).

H-L-M	Among	Within	Total
SS	0.407211	2.13235	2.53956
df	2	26	28
MS	0.203605	0.0820133	
Fs	2.48259		

Tabulka 16: AMOVA vzorků z plochy pro skupiny Vysoká, Střední a Nízká kontaminace

p-value	<0.001*
---------	---------

Tabulka 17: AMOVA vzorků z plochy pro skupiny Vysoká a Nízká kontaminace

H-L	Among	Within	Total
SS	0.272473	1.58036	1.85283
df	1	19	20
MS	0.272473	0.0831768	
Fs	3.27583		
p-value	0.002*		

Tabulka 18: AMOVA vzorků z plochy pro skupiny Vysoká a Střední kontaminace

H-M	Among	Within	Total
SS	0.238173	1.52233	1.7605
df	1	19	20
MS	0.238173	0.0801224	
Fs	2.97261		
p-value	<0.001*		

Tabulka 19: AMOVA vzorků z plochy pro skupiny Nízká a Střední kontaminace

L-M	Among	Within	Total
SS	0.0678459	1.16201	1.22985
df	1	14	15
MS	0.0678459	0.0830004	
Fs	0.817417		
p-value	0.679		

Tabulka 20: AMOVA vzorků sondy A pro skupiny Velmi vysoká, Vysoká, Střední a Nízká kontaminace

a-b-c-d	Among	Within	Total
SS	0.276409	4.57804	4.85445
df	3	28	31
MS	0.0921364	0.163501	
Fs	0.563521		
p-value	0.95		

Tabulka 21: AMOVA vzorků sondy B pro skupiny Vysoká, Střední a Nízká kontaminace

a-b-c	Among	Within	Total
SS	0.308892	7.73775	8.04664
df	2	25	27
MS	0.154446	0.30951	
Fs	0.499001		
p-value	1		

6 Diskuze

6.1 Fyzikálně-chemické parametry

Hodnoty pH_{H2O} jsou u všech vzorků slabě alkalické až alkalické (Vyhláška č. 275/1998 Sb. Ministerstva zemědělství). Při pH nad 7,5 není Cd, které je absorbované v půdě, snadno mobilní (Kabata-Pendias 2010). Mobilita ovšem nezávisí pouze na pH, ačkoli mobilitu silně ovlivňuje.

U našich vzorků pH_{H2O} z plochy a sondy B koreluje s organickým uhlíkem a oxalátově výměnným Mn, zatímco u sondy A koreluje s oxalátově výměnným Al, Fe a Mn. Ve všech případech je silná vazba Zn na Cd. Společný výskyt Cd se Zn byl již prokázán v půdě i v rudách např. v Tlustoš et al. (2006). V mých vzorcích obsahy obou kovů navíc přesahují povolené koncentrace uváděné Vyhláškou 153/2016 Sb., neboť dosahují průměrně u plochy Cd_{aq} = 12,13 mg/kg, Zn_{aq} = 121 mg/kg; u sondy 6 Cd_{aq} = 31,36 mg/kg, Zn_{aq} = 200,01 mg/kg; u sondy 14 C_{aq} = 30,78 mg/kg, Zn_{aq} = 188,76 mg/kg.

Pseudototální obsah kadmia (Cd_{aq}) v případě plochy souvisí s oxyhydridy železa, podobně i u sondy B, zatímco vzorky ze sondy A vykazují pozitivní korelaci s oxalátově výměnnými formami Al a Mn. Oxalátově výměnné prvky, představují množství amorfních, organických a výměnných forem Fe, (Al, Mn). Adsorpce na tyto prvky probíhá v širokém rozmezí pH (pH 4-8) a koncentrací kadmia. Mechanismus, jakým dochází k vazbě, se liší na základě dostupnosti různých typů adsorpčního místa na povrchu minerálu (Randall et al. 1999). Se zvyšující hodnotou pH, se zvyšuje i adsorpce na Fe- Mn- oxyhydridy, ovšem zaleží na tom, jaká je počáteční koncentrace adsorbátu (Meng et al. 2019). U sondy B je průměrně vyšší hodnota pH a vyšší přítomnost oxyhydridů Fe, než je tomu u sondy A a plochy.

Vliv oxyhydridů Mn a Al se projevuje ale i u plochy, kde se vyskytují korelace těchto oxyhydridů se složením bakteriálních společenstev ze střední a nízké kontaminace Cd. Kovy a oxyhydridy podléhají společným interakcím na površích jílových minerálů a na částicích organické hmoty. Takto vázané kovy mají nízkou mobilitu, jsou těžko rozložitelné a tím, že se vážou na stejné půdní částice, mají i korelované koncentrace výskytu ve vzorku. Je také možné, že se kadmium váže na fosfáty a karbonáty, nebo i na mřížky silikátů a sulfidů. Z toho vyplývá, že rozklad těchto komplexů ovlivňuje mobilitu těžkých kovů (Hošek et al. 1992). Mobilita kovů dále ovlivňuje složení bakteriálních společenstev, protože se zvyšující se mobilitou se zvyšuje také jejich toxicita pro organismy i rostliny (Wyszkowska et al. 2013).

Mikroorganismy přispívají k mobilitě kovů tím, že rozkládají organickou hmotu, na které jsou potenciálně rizikové prvky navázány pomocí iontových vazeb (Vaněk et al. 2010). To je v našich vzorcích pravděpodobné, protože obsahují středně až velmi vysoký obsah organického uhlíku (Valla et al. 2011). Na sorpci Cd má ale vliv i koncentrace a povaha různých organických sloučenin, které jsou přítomné v organickém uhlíku, dále na pH, iontové síle apod. V rozpustném organickém uhlíku jsou přítomny také organické látky s nízkou molekulovou hmotností, které ale mohou mít velký vliv na sorpci kovů. Tyto látky bývají v půdě přítomny jenom krátkodobě, jelikož dochází k jejich rychlému rozkladu půdními mikroorganismy, ale jsou neustále doplňovány metabolismy mikroorganismů a kořeny rostlin (Loganathan et al. 2012). Signifikantní závislost Cd na organickém uhlíku, ale nebyla

v žádných vzorcích prokázána. Nižší sorpce Cd při pH >5 je způsobena silnou komplexací s oxalátově výměnnými látkami a snížením sorpce na povrch (Loganathan et al. 2012).

6.2 Půdní společenstva

Taxonomické složení bakteriálních společenstev ukázalo, že největší zastoupení ve vzorcích ze sond i plochy, má kmen Proteobacteria a následně Actinobacteria. Dále se ale zastoupení liší, u sondy A se pak řadí Verrucomicrobia, u sondy B ale Chloroflexi a u plochy Acidobacteria (řazeno podle zastoupení od nejvíce po nejméně zastoupený kmen). Nejvyšší zastoupení v běžných půdách mívají kmeny Proteobacteria, Actinobacteria a Acidobacteria (Elhottová et al. 2020), takže se základní zastoupení u našich kontaminovaných půd od běžných neliší. I v dalších pracích o kontaminovaných půdách (Zhang et al. 2018), které se také týkají říčního sedimentu jako důležitého místa ukládání potenciálně rizikových prvků, byly dominantními kmeny také právě Proteobacteria a Actinobacteria. Proteobacteria pak byla označena jako rezistentní a Actinobacteria jako tolerantní vůči vysokým antropogenním kontaminacím rizikovými prvky (Cd). Podobně bylo zjištěno, že Proteobacteria, Actinobacteria a Acidobacteria vykazují v rámci kmenů nejvyšší toleranci vůči potenciálně rizikovým prvkům (Pradhan et al. 2020). Stabilní jev významného zastoupení těchto kmenů v nekontaminované i kontaminované půdě souvisí s přítomností genů pro rezistenci k rizikovým prvkům. Kmeny Proteobacteria, Actinobacteria a Firmicutes nesou různé geny rezistence nejen na potenciálně rizikové prvky (těžké kovy), ale také na antibiotika, což umožňuje další adaptace kvůli společným vlastnostem obou resistenčních mechanismů (Li et al. 2017). Tyto společné resistence se vyskytují zejména u Enterobacteriaceae (kmen Proteobacteria), Mycrobacterium (kmen Actinobacteria) a Bacillales (kmen Firmicutes). Tyto taxonomické skupiny se nacházejí i v mých vzorcích, v některých případech i ve značném zastoupení (Bacillales). Bacillales se nacházejí ve větším zastoupení ve vzorcích d než s, a zdá se, že množství se u plochy lehce zvyšuje ve skupině Vysoká kontaminace. U sondy A se ve větším množství nacházejí v hloubce, což odpovídá skupině Vysoká kontaminace. U sondy B tento trend vidět není.

Bakterie řádů *Bacillales* a *Clostridiales* jsou schopné tvořit endospory. Endospory jim zaručují přežití i za značně nepříznivých podmínek (Elhottová et al. 2020), takže se zdá, že i vytváření spor přispívá k odolnosti těchto skupin. Další taxonomickou skupinou uváděnou jako tolerantní k výskytu kontaminujících kovů je kmen *Bacteroides*, který společně s proteobacteriemi a acidobacteriemi mají schopnost do určité míry metabolizovat rizikové prvky, a tím je neutralizovat, což přispívá ke zlepšení stavu půdního prostředí (Lin et al. 2019). *Bacteroides* se také významně podílí na složení mých vzorků. Nezdá se však, že by zastoupení tohoto kmene reflektovalo obsah Cd, což může opět souviset s jeho různou mobilitou.

Zvláštní je zastoupení *Verrucomicrobia*, které je v případě sond značně rozdílné. U sondy A je procentuální zastoupení verrucomicrobií podstatně vyšší než u sondy B. *Verrucomicrobia* se zdají být citlivá na obsah Cd v půdě a se zvyšujícím se množstvím se snižovalo jejich zastoupení (Luo et al. 2019).Ovšem naše výsledky toto tvrzení spíše vyvracejí. Tento závěr, by mohl znamenat, že Cd je zde málo mobilní, a proto nemusí *Verrucomicrobiota* zásadně ovlivňovat.

Výskyt tohoto kmene je ale silně ovlivněn charakteristikami prostředí. Tyto charakteristiky se mění v čase, s hloubkou půdy i s půdní historií. V souvislosti s tím bylo zjištěno, že rozdíly v četnosti Verrucomicrobia souvisí také s půdní vlhkostí (Buckley a Schmidt 2001), což podporuje vysvětlení rozdílů mezi oběma sondami. Sonda A pochází z oblasti husté travní vegetace na rozhraní lesa na dolním okraji pozemku, zatímco sonda B, byla odebírána ve výše položené oblasti pole. Tomu odpovídá i zjištění vyšší půdní vlhkosti z rozboru neporušeného půdního vzorku. Vliv na výskyt verrucomicrobií ale může mít i samotný travní porost, který zvyšuje oproti poli obsah organické hmoty (Bergmann et al. 2011). U našich vzorků se obsah organického uhlíku snižoval s hloubkou, v případě sondy B byl tento trend výraznější. V našich vzorcích ale obsah organického uhlíku, resp. vyšší hloubka neodpovídá procentu zastoupení Verucomicrobia, dokonce se ani neukazuje korelace s vysokým obsahem humusu obou sond v povrchové vrstvě (zjištěno přepočtem z Cox). V porovnání se sondami, vzorky, které byly odebrané z plochy, nemají v zastoupení Verucomicrobia patrny výrazné rozdíly mezi polem a travním porostem. Zdá se, že Verrucomicrobia také vykazují pozitivní korelaci s pH (Ouyang et al. 2020), ale tato závislost u mých vzorků není patrná, protože se pohybuje v poměrně vysokém pH u všech vzorků.

Kmen *Chloroflexi* je naopak více zastoupen u sondy B, a v porovnání s plochou je zastoupení vyrovnané. Zastoupení *Chloroflexi* se zvyšuje s koncentrací rizikových prvků (Epelde et al. 2015), proto je zvýšení u sondy B zvláštní, jelikož sonda B je kontaminovaná nevyrovnaně, takže trend kontaminace nereflektuje zastoupení *Chloroflexi*. Naopak u sondy A zastoupení *Chloroflexi* odráží obsah Cd.

Hodnocením rozdílů v celkovém složení bakteriálních společenstev na základě tří úrovní kontaminace kadmiem se prokázaly rozdíly při porovnání vzorků s vysokou a nízkou, ale také s vysokou a střední kontaminací, což napovídá určité skokové změně tolerance bakterií na úrovni mezi vysokou a střední kontaminací s tím, že střední a nízká už mají relativně stejné dopady na složení společenstev. Toxický účinek potenciálně rizikových prvků na strukturu mikroorganismů v půdě do značné míry ovlivňuje doba setrvání, druh a koncentrace kovů (Khan et al. 2010). Pouze dlouhodobý vliv kontaminace vede k přizpůsobení mikrobiálních komunit. Toto přizpůsobení probíhá pomalu a souvisí i s množstvím kontaminantu (Azarbad et al. 2016).

Rozdíly ve složení bakteriálních společenstev mezi třemi úrovněmi kontaminace Cd byly také vztaženy k dalším proměnným a to Zn_{aq}, Fe_{ox}, Mn_{ox}, Al_{ox}, které se spolu s obsahem Cd_{aq} signifikantně podílejí na jejich rozdělení. Vysoce kontaminované vzorky korelují s Cd_{aq}, Fe_{ox}, Zn_{aq}, zatímco ty se střední a nízkou kontaminací s Mn_{ox} a Al_{ox}. Při vynesení tohoto rozdělení vzorků do odběrové mapy se zdá, že nejvíce zasažena severovýchodní část. Toto rozmístění sleduje profil terénu, protože nejkontaminovanější vzorky se nacházejí v terénní depresi, zatímco méně kontaminované vzorky, které se také nejvíce odlišují od průměru, se nacházejí na výše položené části kontaminovaného území. To odpovídá zjištění, že kontaminace se přesouvá z vyšších partií do nižších, jak bylo ukázáno i v laboratorních experimentech při simulaci deště různé intenzity (Huang et al. 2019). Podle tohoto experimentu se na vyplavování podílí kromě intenzity deště a době trvání i velikost agregátů. V případě mých rozborů, byly odebírány agregáty o hmotnosti cca 0,15 g, nejmenší agregát měl hmotnost 0,04 g a největší 0,35 g. Rozměry měřeny nebyly, vyjma sondy B hloubky 35 cm, kde byly foceny vybrané agregáty digitálním mikroskopem (Příloha 4). Schopnost agregátů adsorbovat rizikové prvky, se odvíjí od jejich velikosti a tedy i různým fyzikálně-chemickým vlastnostem. Drobné agregáty mají vyšší schopnost vázat cizí materiály a vyšší mobilitu (Huang et al. 2017). V práci se částečně potvrzuje, že při nižší hmotnosti agregátu, bylo naměřeno vyšší množství Cd a Zn, ovšem na základě hmotnosti nelze směrodatně určit velikost. Distribuce a mobilita potenciálně rizikových prvků v půdě, je snadno ovlivněna mj. také hydrologickými procesy na půdním povrchu, mezi tyto procesy patří i eroze zapříčiněná srážkami, a menší částice jsou snadněji unášeny (Huang et al. 2019).

7 Závěr

- Hypotéza "V závislosti na kontaminaci, se mění složení bakteriálního společenstva" nebyla zamítnuta. Výsledky ukázaly, že kadmium má vliv na složení bakteriálního společenstva jak ve svrchních horizontech na celé ploše studovaného území, tak v hlubších vrstvách půdních sond v místech, kde se nachází kontaminovaný sediment. Změny nejsou velmi výrazné, protože se jedná o dlouhodobou kontaminaci. Statisticky významné změny byly zaznamenány v případě vzorků z plochy
- Hypotéza "Dochází ke změnám půdních vlastností, především týkajících se rozkladu organické hmoty" nebyla potvrzena. Do jisté míry dochází ke změně půdních vlastností, ovšem na základě výsledků nelze objektivně usoudit, jak výrazný byl vliv na rozklad organické hmoty.
- Hypotéza "Uspořádání mikroorganismů a půdních částic je ovlivněno kontaminací" nebyla zamítnuta. Uspořádání bakteriálních společenstev bylo ovlivněno kontaminací, zejména v případě vzorků z plochy. Změna v uspořádání bakterií v půdních agregátech nebyla statisticky prokázána, patrně kvůli velké variabilitě, která je pro půdní agregáty typická.

8 Literatura

ABDOURHAMANE TOURÉ, A., A. D. TIDJANI, J. L. RAJOT, B. MARTICORENA, G. BERGAMETTI, C. BOUET, K. J.M. AMBOUTA a Z. GARBA, 2019. *Dynamics of wind erosion and impact of vegetation cover and land use in the Sahel: A case study on sandy dunes in southeastern Niger* [online]. 1. červen 2019. B.m.: Elsevier B.V. ISSN 03418162. Dostupné z: doi:10.1016/j.catena.2019.02.011

ACOSTA-MARTÍNEZ, V., S. VAN PELT, J. MOORE-KUCERA, M. C. BADDOCK a T. M. ZOBECK, 2015. *Microbiology of wind-eroded sediments: Current knowledge and future research directions* [online]. 1. září 2015. B.m.: Elsevier. ISSN 18759637. Dostupné z: doi:10.1016/j.aeolia.2015.06.001

ADEWUMI, JR a FO AJIBADE, 2015. The Pollution Effects of Indiscriminate Disposal of Wastewater on Soil in Semi-Urban Area. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* [online]. B.m.: African Journals Online (AJOL), **19**(3), 412. ISSN 1119-8362. Dostupné z: doi:10.4314/jasem.v19i3.10

AION CS S.R.O., 2019. Zákony pro lidi [online]. Dostupné z: www.zakonyprolidi.cz

AKINBILE, Christopher O, Andrew E ERAZUA, Toju E BABALOLA a Fidelis O AJIBADE, 2016. Environmental Implications of Animal Wastes Pollution on Agricultural Soil and Water Quality. *Soil & Water Res* [online]. **11**(3), 172–180. Dostupné z: doi:10.17221/29/2015-SWR

ALAOUI, Abdallah a Etienne DISERENS, 2018. Mapping soil compaction – A review. *Current Opinion in Environmental Science & Health* [online]. B.m.: Elsevier BV, **5**, 60–66. ISSN 24685844. Dostupné z: doi:10.1016/j.coesh.2018.05.003

ALBELDA-BERENGUER, Magdalena, Mathilde MONACHON a Edith JOSEPH, 2019. Siderophores: From natural roles to potential applications. In: *Advances in Applied Microbiology* [online]. B.m.: Academic Press Inc., s. 193–225. ISBN 9780128169759. Dostupné z: doi:10.1016/bs.aambs.2018.12.001

AWASTHI, Ashutosh, Mangal SINGH, Sumit K. SONI, Rakshapal SINGH a Alok KALRA, 2014. Biodiversity acts as insurance of productivity of bacterial communities under abiotic perturbations. *ISME Journal* [online]. B.m.: Nature Publishing Group, **8**(12), 2445–2452. ISSN 17517370. Dostupné z: doi:10.1038/ismej.2014.91

AZARBAD, Hamed, Cornelis A.M. VAN GESTEL, Maria NIKLIŃSKA, Ryszard LASKOWSKI, Wilfred F.M. RÖLING a Nico M. VAN STRAALEN, 2016. *Resilience of soil microbial communities to metals and additional stressors: DNA-based approaches for assessing "stress-on-stress" responses* [online]. 14. červen 2016. B.m.: MDPI AG. [vid. 2020-07-02]. ISSN 14220067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms17060933

BARMAN, Utpal a Ridip Dev CHOUDHURY, 2019. Soil texture classification using multi

class support vector machine. *Information Processing in Agriculture* [online]. B.m.: China Agricultural University. ISSN 22143173. Dostupné z: doi:10.1016/j.inpa.2019.08.001

BEIER, Sara a Stefan BERTILSSON, 2013. *Bacterial chitin degradation-mechanisms and ecophysiological strategies* [online]. 14. červen 2013. B.m.: Frontiers Research Foundation. ISSN 1664302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2013.00149

BENDING, Gary D., Mary K. TURNER a Julie E. JONES, 2002. Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. B.m.: Pergamon, **34**(8), 1073–1082. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/S0038-0717(02)00040-8

BERGMANN, Gaddy T., Scott T. BATES, Kathryn G. EILERS, Christian L. LAUBER, J. Gregory CAPORASO, William A. WALTERS, Rob KNIGHT a Noah FIERER, 2011. The under-recognized dominance of Verrucomicrobia in soil bacterial communities. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. B.m.: Pergamon, **43**(7), 1450–1455. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2011.03.012

BERNER, Alfred, Herwart BÖHM, Robert BRANDHUBER, Josef BROUN, Uwe BREDE, Jean-Louis COLLING-VON-ROESGEN, Markus DEMMEL, Hansueli DIERAUER, Georeg DOPPLER, Bernd EWALD, Thomas FISEL, Andreas FLIESSBACH, Jacques FUCHS, Andreas GATTINGER, Hansueli HÄBERLI, Jürgen HESS, Kurt-Jürgen HÜLSBERGEN, Martin KÖCHLI, Hartmut KOLBE, Martin KOLLER, Paul MÄDER, Adrian MÜLLER, Peter NEESEN, Nikola PATZEL, Lukas PFIFFNER, Harald SCHMIDT, Stefan WELLER a Melanie WILD, 2013. Základy půdní úrodnosti - Utváření vztahu k půdě [online]. [vid. 2020-02-18].

z: https://aa.ecn.cz/img_upload/8d8825f1d3b154e160e6e5c97cf9b8b3/prirucka_zakladypudni-urodnosti-nahled-10.pdf

BORŮVKA, Luboš, Milan SÁŇKA, Vít ŠRÁMEK, Radim VÁCHA, Jarmila ČECHMÁNKOVÁ, Pavel ČUPR, Ondřej DRÁBEK, Věra FADRHONSOVÁ, Adéla FRAŇKOVÁ, Jakub HOFMAN, Jakub HOUŠKA, Viera HORVÁTHOVÁ, Pavel ROTTER, Ondřej SÁŇKA, Jan SKÁLA, Lucie ŠINDELÁŘOVÁ, Václav TEJNECKÝ, Jana VAŠÍČKOVÁ a Lucie JURKOVÁ, 2015. *METODIKA HODNOCENÍ KONTAMINACE LESNÍCH PŮD* [online]. Praha: Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i. [vid. 2020-03-04]. ISBN 9788074171000. Dostupné z: http://www.vulhm.cz

BOSCO, C., D. DE RIGO, O. DEWITTE, J. POESEN a P. PANAGOS, 2015. Modelling soil erosion at European scale: Towards harmonization and reproducibility. *Natural Hazards and Earth System Sciences* [online]. B.m.: Copernicus GmbH, **15**(2), 225–245. ISSN 16849981. Dostupné z: doi:10.5194/nhess-15-225-2015

BOYD, Robert S., 2010. Heavy Metal Pollutants and Chemical Ecology: Exploring New Frontiers. *Journal of Chemical Ecology* [online]. **36**(1), 46–58 [vid. 2019-10-13]. ISSN 0098-0331. Dostupné z: doi:10.1007/s10886-009-9730-5

BOYD, Robert S a Nishanta RAJAKARUNA, 2013. From the SelectedWorks of Nishanta Rajakaruna 2013 Heavy Metal Tolerance Heavy Metal Tolerance [online]. Dostupné z: https://works.bepress.com/nishanta_rajakaruna/1/

BRUINS, Mark R., Sanjay KAPIL a Frederick W. OEHME, 2000. *Microbial resistance to metals in the environment* [online]. březen 2000. B.m.: Academic Press. [vid. 2020-03-07]. ISSN 01476513. Dostupné z: doi:10.1006/eesa.1999.1860

BRUS, D. J., J. J. DE GRUIJTER a J. W. VAN GROENIGEN, 2006. *Chapter 14 Designing Spatial Coverage Samples Using the k-means Clustering Algorithm* [online]. 1. leden 2006. B.m.: Elsevier. ISSN 01660918. Dostupné z: doi:10.1016/S0166-2481(06)31014-8

BUCKLEY, Daniel H. a Thomas M. SCHMIDT, 2001. Environmental factors influencing the distribution of rRNA from Verrucomicrobia in soil. *FEMS Microbiology Ecology* [online]. B.m.: No longer published by Elsevier, **35**(1), 105–112. ISSN 01686496. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-6496(00)00122-7

BUYER, Jeffrey S., John R. TEASDALE, Daniel P. ROBERTS, Inga A. ZASADA a Jude E. MAUL, 2010. Factors affecting soil microbial community structure in tomato cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. B.m.: Pergamon, **42**(5), 831–841. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2010.01.020

CARLESSO, Lea, Andrew BEADLE, Samantha M. COOK, Jess EVANS, Graham HARTWELL, Karl RITZ, Debbie SPARKES, Lianhai WU a Phil J. MURRAY, 2019. Soil compaction effects on litter decomposition in an arable field: Implications for management of crop residues and headlands. *Applied Soil Ecology* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **134**, 31–37. ISSN 09291393. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsoil.2018.10.004

CHECCONI, Paola, Rossella SGARBANTI, Ignacio CELESTINO, Dolores LIMONGI, Donatella AMATORE, Alessandra IUVARA, Alessandro ALIMONTI, Enrico GARACI, Anna Teresa PALAMARA a Lucia NENCIONI, 2013. The environmental pollutant cadmium promotes influenza virus replication in MDCK cells by altering their redox state. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. B.m.: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), **14**(2), 4148–4162. ISSN 16616596. Dostupné z: doi:10.3390/ijms14024148

CHEN, Ming, Piao XU, Guangming ZENG, Chunping YANG, Danlian HUANG a Jiachao ZHANG, 2015. Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: Applications, microbes and future research needs. *Biotechnology Advances* [online]. B.m.: Elsevier Inc., **33**(6), 745–755 [vid. 2020-02-19]. ISSN 07349750. Dostupné z: doi:10.1016/j.biotechadv.2015.05.003

CHEN, Qinglin, Xinli AN, Hu LI, Jianqiang SU, Yibing MA a Yong Guan ZHU, 2016. Long-term field application of sewage sludge increases the abundance of antibiotic resistance genes in soil. *Environment International* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, **92–93**, 1–10. ISSN 18736750.

Dostupné z: doi:10.1016/j.envint.2016.03.026

COBLINSKI, João Augusto, Élvio GIASSON, José A.M. DEMATTÊ, Andre Carnieletto DOTTO, José Janderson Ferreira COSTA a Radim VAŠÁT, 2020. Prediction of soil texture classes through different wavelength regions of reflectance spectroscopy at various soil depths. *Catena* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **189**, 104485. ISSN 03418162. Dostupné z: doi:10.1016/j.catena.2020.104485

COOLS, Nathalie a Bruno DE VOS, 2016. Part X: Sampling and Analysis of Soil. In: UNECE ICP Forests Programme Coordinating Centre (ed.): Manual on methods and criteria for harmonized sampling, assessment, monitoring and analysis of the effects of air pollution on forests [online]. Eberswalde: Thünen Institute of Forest Ecosystems [vid. 2020-02-24]. ISBN 978-3-86576-162-0. Dostupné z: http://www.icp-forests.org/manual.htm]

COURCHENSE, F. a M. C. TURMEL, 2008. Extractable Al, Fe, Mn, and Si. In: *CARTER*, *M. R.; GREGORICH, E. G.: Soil sampling and methods of analysis.* 2. vyd. Boca Raton: CRC Press, s. 307–316. ISBN 0849335868.

DE LIMA E SILVA, Agostinho A., Márcia A. RIBEIRO DE CARVALHO, Sérgio A.L. L DE SOUZA, Patrícia M. TEIXEIRA DIAS, Renato G. DA SILVA FILHO, Carmen S. DE MEIRELLES SARAMAGO, Cleonice A. DE MELO BENTO a Ernesto HOFER, 2012. Heavy metal tolerance (Cr, Ag and Hg) in bacteria isolated from sewage. *Brazilian Journal of Microbiology* [online]. B.m.: SBM, **43**(4), 1620–1631. ISSN 15178382. Dostupné z: doi:10.1590/S1517-83822012000400047

DE MASTRO, Francesco, Andreina TRAVERSA, Gennaro BRUNETTI, Giambattista DEBIASE, Claudio COCOZZA a Franco NIGRO, 2020. Soil culturable microorganisms as affected by different soil managements in a two year wheat-faba bean rotation. *Applied Soil Ecology* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **149**, 103533. ISSN 09291393. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsoil.2020.103533

DHALIWAL, S.S., R.K. NARESH, Agniva MANDAL, Ravinder SINGH a M.K. DHALIWAL, 2019. Dynamics and transformations of micronutrients in agricultural soils as influenced by organic matter build-up: A review. *Environmental and Sustainability Indicators* [online]. B.m.: Elsevier BV, **1–2**, 100007. ISSN 26659727. Dostupné z: doi:10.1016/j.indic.2019.100007

DU, Lanlan, Rui WANG, Xin GAO, Yaxian HU a Shengli GUO, 2020. Divergent responses of soil bacterial communities in erosion-deposition plots on the Loess Plateau. *Geoderma* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **358**, 113995. ISSN 00167061. Dostupné z: doi:10.1016/j.geoderma.2019.113995

EISENHAUER, Nico, Stefan SCHEU a Alexandre JOUSSET, 2012. Bacterial diversity stabilizes community productivity. *PLoS ONE* [online]. B.m.: Public Library of Science, **7**(3). ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0034517

ELDOR, Paul A., 2014. *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry*. 4. vyd. B.m.: Academic Press. ISBN 9780123914118.

ELHOTTOVÁ, Dana, Alica CHROŇÁKOVÁ a Miloslav ŠIMEK, 2020. Živá půda 2. Půdní prokaryota - v jednoduchosti je síla [online]. 2020. B.m.: Academia. Dostupné z: www.ziva.avcr.cz

EMAMGOLIZADEH, S., S. M. BATENI, D. SHAHSAVANI, T. ASHRAFI a H. GHORBANI, 2015. Estimation of soil cation exchange capacity using Genetic Expression Programming (GEP) and Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS). *Journal of Hydrology* [online]. B.m.: Elsevier, **529**, 1590–1600. ISSN 00221694. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhydrol.2015.08.025

EPELDE, Lur, Anders LANZÉN, Fernando BLANCO, Tim URICH a Carlos GARBISU, 2015. Adaptation of soil microbial community structure and function to chronic metal contamination at an abandoned Pb-Zn mine. *FEMS Microbiology Ecology* [online]. **91**(1), 1–11 [vid. 2019-10-13]. Dostupné z: doi:10.1093/femsec/fiu007

EUR-LEX, nedatováno. *Evropské zákony a směrníce* [online] [vid. 2020-02-20]. Dostupné z: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=celex:32004L0035

FANG, Hua, Lingxi HAN, Houpu ZHANG, Zhengnan LONG, Lin CAI a Yunlong YU, 2018.
Dissemination of antibiotic resistance genes and human pathogenic bacteria from a pig feedlot to the surrounding stream and agricultural soils. *Journal of Hazardous Materials* [online].
B.m.: Elsevier B.V., 357, 53–62. ISSN 18733336. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2018.05.066

FROUZ, Jan, 2018. Effects of soil macro- and mesofauna on litter decomposition and soil organic matter stabilization. *Geoderma* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **332**, 161–172. ISSN 00167061. Dostupné z: doi:10.1016/j.geoderma.2017.08.039

GARDNER, Terrence, Veronica ACOSTA-MARTINEZ, Francisco J. CALDERÓN, Ted M. ZOBECK, Matthew BADDOCK, R. Scott VAN PELT, Zachary SENWO, Scot DOWD a Stephen COX, 2012. Pyrosequencing Reveals Bacteria Carried in Different Wind-Eroded Sediments. *Journal of Environmental Quality* [online]. B.m.: Wiley, **41**(3), 744–753. ISSN 1537-2537. Dostupné z: doi:10.2134/jeq2011.0347

GARNER, Emily, Mandu INYANG, Elisa GARVEY, Jeffrey PARKS, Caitlin GLOVER, Assumption GRIMALDI, Eric DICKENSON, Justin SUTHERLAND, Andrew SALVESON, Marc A. EDWARDS a Amy PRUDEN, 2019. Impact of blending for direct potable reuse on premise plumbing microbial ecology and regrowth of opportunistic pathogens and antibiotic resistant bacteria. *Water Research* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, **151**, 75–86. ISSN 18792448. Dostupné z: doi:10.1016/j.watres.2018.12.003

GEISEN, Stefan, Maria J.I. BRIONES, Huijie GAN, Valerie M. BEHAN-PELLETIER, Ville Petri FRIMAN, G. Arjen DE GROOT, S. Emilia HANNULA, Zoë LINDO, Laurent

PHILIPPOT, Alexei V. TIUNOV a Diana H. WALL, 2019. *A methodological framework to embrace soil biodiversity* [online]. 1. září 2019. B.m.: Elsevier Ltd. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2019.107536

GHOSH, Swapan Kr, Tanmay BERA a Ananda M. CHAKRABARTY, 2020. *Microbial siderophore – A boon to agricultural sciences* [online]. 1. květen 2020. B.m.: Academic Press Inc. ISSN 10499644. Dostupné z: doi:10.1016/j.biocontrol.2020.104214

GISLIN, Davis, Dorairaj SUDARSANAM, Gnanaprakasam ANTONY RAJ a Kathirvelu BASKAR, 2018. Antibacterial activity of soil bacteria isolated from Kochi, India and their molecular identification. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* [online]. B.m.: Academy of Scientific Research and Technology, **16**(2), 287–294. ISSN 20905920. Dostupné z: doi:10.1016/j.jgeb.2018.05.010

GOMEZ, J. D., K. DENEF, C. E. STEWART, J. ZHENG a M. F. COTRUFO, 2014. Biochar addition rate influences soil microbial abundance and activity in temperate soils. *European Journal of Soil Science* [online]. B.m.: John Wiley & Sons, Ltd, **65**(1), 28–39 [vid. 2020-03-02]. ISSN 13510754. Dostupné z: doi:10.1111/ejss.12097

GONG, Xin, Shuai WANG, Zhenwei WANG, Yuji JIANG, Zhengkun HU, Yong ZHENG, Xiaoyun CHEN, Huixin LI, Feng HU, Manqiang LIU a Stefan SCHEU, 2019. Earthworms modify soil bacterial and fungal communities through enhancing aggregation and buffering pH. *Geoderma* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **347**, 59–69. ISSN 00167061. Dostupné z: doi:10.1016/j.geoderma.2019.03.043

GOULDING, K. W. T., 2016. Soil acidification and the importance of liming agricultural soils with particular reference to the United Kingdom. *Soil Use and Management* [online]. **32**(3), 390–399 [vid. 2020-01-28]. ISSN 02660032. Dostupné z: doi:10.1111/sum.12270

GRIFFITHS, Bryan S. a Laurent PHILIPPOT, 2013. *Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community* [online]. 1. březen 2013. B.m.: Oxford Academic. ISSN 01686445. Dostupné z: doi:10.1111/j.1574-6976.2012.00343.x

HARGREAVES, P. R., K. L. BAKER, A. GRACESON, S. BONNETT, B. C. BALL a J. M. CLOY, 2019. Soil compaction effects on grassland silage yields and soil structure under different levels of compaction over three years. *European Journal of Agronomy* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **109**. ISSN 11610301. Dostupné z: doi:10.1016/j.eja.2019.125916

HARICHOVÁ, Jana, Edita KARELOVÁ, Domenico PANGALLO a Peter FERIANC, 2012. Structure analysis of bacterial community and their heavy-metal resistance determinants in the heavy-metal-contaminated soil sample. *Biologia (Poland)* [online]. B.m.: Springer, **67**(6), 1038–1048. ISSN 00063088. Dostupné z: doi:10.2478/s11756-012-0123-9

HILLEL, D., 2013a. *Introduction to Soil Physics* [online]. 1. vyd. B.m.: Academic press. ISBN 9780080918693. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=cfLJCgAAQBAJ

HILLEL, Daniel, 2013b. *Fundamentals of soil physics*. B.m.: Academic Press. ISBN 9780080918709.

HOŠEK, J., R. KOUFMAN, M. MIHALJEVIČ a O. ŠEBEK, 1992. Průzkum znečištění nivy Vinořského potoka toxickými kovy – návrhy sanačních opatření.

HUANG, Bin, Zhongwu LI, Dingqiang LI, Zaijian YUAN, Zhiliang CHEN a Jinquan HUANG, 2017. Distribution characteristics of heavy metal(loid)s in aggregates of different size fractions along contaminated paddy soil profile. *Environmental Science and Pollution Research* [online]. B.m.: Springer Verlag, **24**(30), 23939–23952. ISSN 16147499. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-017-0012-4

HUANG, Bin, Zaijian YUAN, Dingqiang LI, Xiaodong NIE, Zhenyue XIE, Jinyue CHEN, Chen LIANG, Yishan LIAO a Tong LIU, 2019. Loss characteristics of Cd in soil aggregates under simulated rainfall conditions. *Science of the Total Environment* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **650**, 313–320. ISSN 18791026. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2018.08.327

HUGHES, Martin N. (Martin Neville) a Robert K. POOLE, 1989. *Metals and micro-organisms*. B.m.: Chapman and Hall. ISBN 0412244004.

JAISHANKAR, Monisha, Tenzin TSETEN, Naresh ANBALAGAN, Blessy B. MATHEW a Krishnamurthy N. BEEREGOWDA, 2014. *Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals* [online]. 1. červen 2014. B.m.: Slovak Toxicology Society. ISSN 13379569. Dostupné z: doi:10.2478/intox-2014-0009

JENSEN, Johannes L., Per SCHJØNNING, Christopher W. WATTS, Bent T. CHRISTENSEN, Peter B. OBOUR a Lars J. MUNKHOLM, 2020. Soil degradation and recovery – Changes in organic matter fractions and structural stability. *Geoderma* [online]. **364**, 114181 [vid. 2020-01-24]. ISSN 00167061. Dostupné z: doi:10.1016/j.geoderma.2020.114181

JEŘÁBKOVÁ, Julie, 2019. Proč je důležitá organická hmota v půdě. *Biom.cz* [online] [vid. 2020-01-27]. Dostupné z: doi:ISSN: 1801-2655

JIAO, Wentao, Ruijun DU, Mao YE, Mingming SUN, Yanfang FENG, Jinzhong WAN, Yuanchao ZHAO, Zhongyun ZHANG, Duan HUANG, Daolin DU a Xin JIANG, 2018. 'Agricultural Waste to Treasure' – Biochar and eggshell to impede soil antibiotics/antibiotic resistant bacteria (genes) from accumulating in Solanum tuberosum L. *Environmental Pollution* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, **242**, 2088–2095. ISSN 18736424. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2018.06.059

KABATA-PENDIAS, Alina., 2010. *Trace elements in soils and plants*. 4. vyd. B.m.: CRC Press. ISBN 1420093703.

KAMINSKY, Rachel, Blandine TROUCHE a Sergio E. MORALES, 2017. Soil classification predicts differences in prokaryotic communities across a range of geographically distant soils

once pH is accounted for. *Scientific Reports* [online]. B.m.: Nature Publishing Group, **7**. ISSN 20452322. Dostupné z: doi:10.1038/srep45369

KAUSHIK, B. D., Deepak KUMAR a Md. SHAMIM, 2020. *Biofertilizers and Biopesticides in Sustainable Agriculture*. B.m.: Apple Academic Press Inc. ISBN 9780429059384.

KAY, B.D., 2018. Soil Structure and Organic Carbon: A Review. In: *Soil Processes and the Carbon Cycle* [online]. B.m.: CRC Press, s. 169–197. Dostupné z: doi:10.1201/9780203739273-13

KAY, B.D. a D.A. ANGERS, 2002. Soil structure. Soil Physics Companion. 249–295.

KELLER, T., M. LAMANDÉ, S. PETH, M. BERLI, J. Y. DELENNE, W. BAUMGARTEN, W. RABBEL, F. RADJAÏ, J. RAJCHENBACH, A. P.S. SELVADURAI a D. OR, 2013. *An interdisciplinary approach towards improved understanding of soil deformation during compaction* [online]. 1. duben 2013. B.m.: Elsevier. ISSN 01671987. Dostupné z: doi:10.1016/j.still.2012.10.004

KHAN, Atif a Toleti Subba RAO, 2019. Molecular Evolution of Xenobiotic Degrading Genes and Mobile DNA Elements in Soil Bacteria. In: *Microbial Diversity in the Genomic Era* [online]. B.m.: Elsevier, s. 657–678. Dostupné z: doi:10.1016/b978-0-12-814849-5.00036-8

KHAN, Sardar, Abd El Latif HESHAM, Min QIAO, Shafiqur REHMAN a Ji Zheng HE, 2010. Effects of Cd and Pb on soil microbial community structure and activities. *Environmental Science and Pollution Research* [online]. B.m.: Springer, **17**(2), 288–296 [vid. 2020-07-04]. ISSN 09441344. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-009-0134-4

KRÓL, Anna, Kamila MIZERNA a Marta BOŻYM, 2020. An assessment of pH-dependent release and mobility of heavy metals from metallurgical slag. *Journal of Hazardous Materials* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **384**, 121502. ISSN 18733336. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2019.121502

KUBIER, Andreas, Richard T. WILKIN a Thomas PICHLER, 2019. Cadmium in soils and groundwater: A review. *Applied Geochemistry* [online]. B.m.: Pergamon, **108**, 104388 [vid. 2019-10-13]. ISSN 0883-2927. Dostupné z: doi:10.1016/J.APGEOCHEM.2019.104388

KUTÍLEK, Miroslav a Donald R. NIELSEN, 2015. *Soil: The Skin of the Planet Earth* [online]. B.m.: Springer. ISBN 978-94-017-9788-7. Dostupné z: doi:10.1007/978-94-017-9789-4

KUZYAKOV, Yakov a Kyle MASON-JONES, 2018. Viruses in soil: Nano-scale undead drivers of microbial life, biogeochemical turnover and ecosystem functions [online]. 1. prosinec 2018. B.m.: Elsevier Ltd. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2018.09.032

LAGOMARSINO, A., S. GREGO a E. KANDELER, 2012. Soil organic carbon distribution

drives microbial activity and functional diversity in particle and aggregate-size fractions. *Pedobiologia* [online]. B.m.: Urban & Fischer, **55**(2), 101–110. ISSN 00314056. Dostupné z: doi:10.1016/j.pedobi.2011.12.002

LAL, R., 2003. *Soil erosion and the global carbon budget* [online]. 1. červenec 2003. B.m.: Elsevier Ltd. ISSN 18736750. Dostupné z: doi:10.1016/S0160-4120(02)00192-7

LASANTA, Teodoro, José ARNÁEZ a Estela NADAL-ROMERO, 2019. Chapter Three -Soil degradation, restoration and management in abandoned and afforested lands. In: Paulo PEREIRA, ed. *Soil Degradation, Restoration and Management in a Global Change Context* [online]. B.m.: Elsevier, Advances in Chemical Pollution, Environmental Management and Protection, s. 71–117. ISSN 2468-9289. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/bs.apmp.2019.07.002

LEIFHEIT, Eva F., Stavros D. VERESOGLOU, Anika LEHMANN, E. Kathryn MORRIS a Matthias C. RILLIG, 2014. Multiple factors influence the role of arbuscular mycorrhizal fungi in soil aggregation-a meta-analysis. *Plant and Soil* [online]. **374**(1–2), 523–537. ISSN 0032079X. Dostupné z: doi:10.1007/s11104-013-1899-2

LI, Li Guan, Yu XIA a Tong ZHANG, 2017. Co-occurrence of antibiotic and metal resistance genes revealed in complete genome collection. *ISME Journal* [online]. B.m.: Nature Publishing Group, **11**(3), 651–662. ISSN 17517370. Dostupné z: doi:10.1038/ismej.2016.155

LIANG, Xiaolong, Regan E. WAGNER, Jie ZHUANG, Jennifer M. DEBRUYN, Steven W. WILHELM, Fang LIU, Lu YANG, Margaret E. STATON, Andrew C. SHERFY a Mark RADOSEVICH, 2019. Viral abundance and diversity vary with depth in a southeastern United States agricultural ultisol. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, **137**. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2019.107546

LIN, Yaoben, Yanmei YE, Yiming HU a Haokun SHI, 2019. The variation in microbial community structure under different heavy metal contamination levels in paddy soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [online]. B.m.: Academic Press, **180**, 557–564 [vid. 2020-02-13]. ISSN 01476513. Dostupné z: doi:10.1016/j.ecoenv.2019.05.057

LIPIEC, Jerzy, Marcin TURSKI, Mieczysław HAJNOS a Ryszard ŚWIEBODA, 2015. Pore structure, stability and water repellency of earthworm casts and natural aggregates in loess soil. *Geoderma* [online]. B.m.: Elsevier, **243–244**, 124–129. ISSN 00167061. Dostupné z: doi:10.1016/j.geoderma.2014.12.026

LIU, Shao Heng, Guang Ming ZENG, Qiu Ya NIU, Yang LIU, Lu ZHOU, Lu Hua JIANG, Xiao fei TAN, Piao XU, Chen ZHANG a Min CHENG, 2017. *Bioremediation mechanisms of combined pollution of PAHs and heavy metals by bacteria and fungi: A mini review* [online]. 1. leden 2017. B.m.: Elsevier Ltd. ISSN 18732976. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2016.11.095

LOGANATHAN, Paripurnanda, Saravanamuthu VIGNESWARAN, Jaya KANDASAMY a
Ravi NAIDU, 2012. Cadmium sorption and desorption in soils: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* [online]. **42**(5), 489–533. ISSN 10643389. Dostupné z: doi:10.1080/10643389.2010.520234

LORI, Martina, Sarah SYMNACZIK, Paul MÄDER, Gerlinde DE DEYN a Andreas GATTINGER, 2017. Organic farming enhances soil microbial abundance and activity—A meta-analysis and meta-Regression [online]. 1. červenec 2017. B.m.: Public Library of Science. ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0180442

LUO, L. Y., L. L. XIE, D. C. JIN, B. B. MI, D. H. WANG, X. F. LI, X. Z. DAI, X. X. ZOU, Z. ZHANG, Y. Q. MA a F. LIU, 2019. Bacterial community response to cadmium contamination of agricultural paddy soil. *Applied Soil Ecology* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **139**, 100–106. ISSN 09291393. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsoil.2019.03.022

MADROVA, Pavla, Tomas VETROVSKY, Marek OMELKA, Michal GRUNT, Yvona SMUTNA, Daria RAPOPORT, Marek VACH, Petr BALDRIAN, Jan KOPECKY a Marketa SAGOVA-MARECKOVA, 2018. A short-term response of soil microbial communities to cadmium and organic substrate amendment in long-term contaminated soil by toxic elements. *Frontiers in Microbiology* [online]. **9**(NOV), 1–12. ISSN 1664302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2018.02807

MARGESIN, Rosa, Grażyna A. PŁAZA a Stefanie KASENBACHER, 2011. Characterization of bacterial communities at heavy-metal-contaminated sites. *Chemosphere* [online]. B.m.: Pergamon, **82**(11), 1583–1588 [vid. 2020-02-21]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2010.11.056

MARTÍNEZ-GARCÍA, Laura B., Gerard KORTHALS, Lijbert BRUSSAARD, Helene Bracht JØRGENSEN a Gerlinde B. DE DEYN, 2018. Organic management and cover crop species steer soil microbial community structure and functionality along with soil organic matter properties. *Agriculture, Ecosystems and Environment* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **263**, 7–17. ISSN 01678809. Dostupné z: doi:10.1016/j.agee.2018.04.018

MCKEAGUE, J. A. a J. H. DAY, 1966. DITHIONITE- AND OXALATE-EXTRACTABLE Fe AND AI AS AIDS IN DIFFERENTIATING VARIOUS CLASSES OF SOILS. *Canadian Journal of Soil Science* [online]. B.m.: Canadian Science Publishing, **46**(1), 13–22 [vid. 2020-03-04]. ISSN 0008-4271. Dostupné z: doi:10.4141/cjss66-003

MELIANI, A., A. BENSOLTANE a K. MEDERBEL, 2012. Microbial Diversity and Abundance in Soil: Related to Plant and Soil Type. *American Journal of Plant Nutrition and Fertilization Technology* [online]. B.m.: Science Alert, **2**(1), 10–18. ISSN 17939445. Dostupné z: doi:10.3923/ajpnft.2012.10.18

MENG, Kaiyue, Xiaowen WU, Xiaoyan ZHANG, Shiming SU, Zhaohui HUANG, Xin MIN, Yan'Gai LIU a Minghao FANG, 2019. Efficient Adsorption of the Cd(II) and As(V) Using Novel Adsorbent Ferrihydrite/Manganese Dioxide Composites. *ACS Omega* [online]. B.m.: American Chemical Society, **4**(20), 18627–18636 [vid. 2020-07-02]. ISSN 24701343.

Dostupné z: doi:10.1021/acsomega.9b02431

MENON, M., X. JIA, G. J. LAIR, P. H. FARAJ a A. BLAUD, 2015. Analysing the impact of compaction of soil aggregates using X-ray microtomography and water flow simulations. *Soil and Tillage Research* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **150**, 147–157. ISSN 01671987. Dostupné z: doi:10.1016/j.still.2015.02.004

MENTA, Cristina, 2012. Soil Fauna Diversity - Function, Soil Degradation, Biological Indices, Soil Restoration. In: *Biodiversity Conservation and Utilization in a Diverse World* [online]. B.m.: InTech. Dostupné z: doi:10.5772/51091

MILLER, R. M. a J. D. JASTROW, 1990. Hierarchy of root and mycorrhizal fungal interactions with soil aggregation. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. B.m.: Pergamon, **22**(5), 579–584. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/0038-0717(90)90001-G

MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ, 2015. Situační a výhledová zpráva půda [Report on current and anticipated state of soil]. ISBN 9788074342523.

MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ, nedatováno. *Kontaminace půdy (Půda, eAGRI)* [online] [vid. 2019-10-16]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/mze/puda/ochrana-pudy-akrajiny/degradace-pud/kontaminace-pudy/

MOHAPATRA, Ranjan Kumar, Saroj Sekhar BEHERA, Jayanta Kumar PATRA, Hrudayanath THATOI a Pankaj Kumar PARHI, 2020. Potential application of bacterial biofilm for bioremediation of toxic heavy metals and dye-contaminated environments. In: *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Biofilms* [online]. B.m.: Elsevier, s. 267–281. Dostupné z: doi:10.1016/b978-0-444-64279-0.00017-7

MOLDAN, Bedřich, 2015. *Podmaněná planeta*. 2. vyd. Praha: Univerzita Karlovav Praze, Nakladatelství Karolinum. ISBN 978-80-246-2999-5.

MÜLLER-NEDEBOCK, Daniel, Pauline CHIVENGE a Vincent CHAPLOT, 2016. Selective organic carbon losses from soils by sheet erosion and main controls. *Earth Surface Processes and Landforms* [online]. B.m.: John Wiley and Sons Ltd, **41**(10), 1399–1408 [vid. 2020-02-18]. ISSN 01979337. Dostupné z: doi:10.1002/esp.3916

NARESH, RK, Jagadish TIMSINA, S BHASKAR, RK GUPTA, Ak SINGH, SS DHALIWAL, RS RATHORE, Vivak KUMAR, Prem SINGH, SP SINGH, Saurabh TYAGI, Sunil KUMAR a Nihal CHANDRA MAHAJAN, 2017. Effects of Tillage, Residue and Nutrient Management on Soil Organic Carbon Dynamics and its Fractions, Soil Aggregate Stability and Soil Carbon Sequestration: A Review. *EC Nutrition*. 53–80.

NĚMEČEK, Jan, Radim VÁCHA a Eliška PODLEŠÁKOVÁ, 2010. *Hondocení a kontaminace půd*. Praha: Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, v.v.i. ISBN 978-80-86561-02-4.

NJOKU, Kelechi L., Maryam O. ASUNMO, Emea O. UDE, Adeola A. ADESUYI a Ayodeji O. OYELAMI, 2020. The molecular study of microbial and functional diversity of resistant microbes in heavy metal contaminated soil. *Environmental Technology & Innovation* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **17**, 100606 [vid. 2020-02-19]. ISSN 23521864. Dostupné z: doi:10.1016/j.eti.2020.100606

NOVÁK, Pavel, 2001. Produkční a mimoprodukční funkce půdy a její ochrana. *Úroda* [online]. [vid. 2020-01-24]. Dostupné z: https://www.uroda.cz/produkcni-a-mimoprodukcni-funkce-pudy-a-jeji-ochrana/

NOVELLI, Leonardo E., Octavio P. CAVIGLIA a Gervasio PIÑEIRO, 2017. Increased cropping intensity improves crop residue inputs to the soil and aggregate-associated soil organic carbon stocks. *Soil and Tillage Research* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **165**, 128–136. ISSN 01671987. Dostupné z: doi:10.1016/j.still.2016.08.008

NYAWADE, Shadrack O., Nancy N. KARANJA, Charles K.K. GACHENE, Harun I. GITARI, Elmar SCHULTE-GELDERMANN a Monica L. PARKER, 2019. Short-term dynamics of soil organic matter fractions and microbial activity in smallholder potato-legume intercropping systems. *Applied Soil Ecology* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **142**, 123–135. ISSN 09291393. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsoil.2019.04.015

OADES, J. M., 1984. Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management. *Plant and Soil* [online]. B.m.: Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, **76**(1–3), 319–337. ISSN 0032079X. Dostupné z: doi:10.1007/BF02205590

OGUNDIRAN, M. B. a O. OSIBANJO, 2009. Mobility and speciation of heavy metals in soils impacted by hazardous waste. *Chemical Speciation and Bioavailability* [online]. B.m.: Taylor & Francis, **21**(2), 59–69. ISSN 09542299. Dostupné z: doi:10.3184/095422909X449481

OUYANG, Liao, Huirong CHEN, Xinyue LIU, Ming Hung WONG, Fangfang XU, Xuewei YANG, Wang XU, Qinghuai ZENG, Weimin WANG a Shuangfei LI, 2020. Characteristics of spatial and seasonal bacterial community structures in a river under anthropogenic disturbances. *Environmental Pollution* [online]. B.m.: Elsevier BV, **264**, 114818. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2020.114818

PAL, Srikanta, Arijit MISRA, Sohini BANERJEE a Bomba DAM, 2020. Adaptation of ethidium bromide fluorescence assay to monitor activity of efflux pumps in bacterial pure cultures or mixed population from environmental samples. *Journal of King Saud University - Science* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **32**(1), 939–945. ISSN 10183647. Dostupné z: doi:10.1016/j.jksus.2019.06.002

PANAGOS, Panos, Pasquale BORRELLI, Jean POESEN, Cristiano BALLABIO, Emanuele LUGATO, Katrin MEUSBURGER, Luca MONTANARELLA a Christine ALEWELL, 2015. The new assessment of soil loss by water erosion in Europe. *Environmental Science and Policy* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, **54**, 438–447. ISSN 18736416. Dostupné

z: doi:10.1016/j.envsci.2015.08.012

PATRMANNOVÁ, Tereza, 2019. *Geny sekundárního metabolismu v půdních bakteriálních společenstvech*. B.m. Univerzita Karlova.

PATTERSON, Thomas F. a Deanna A. SUTTON, 2018. Classification of Fungi. In: *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases* [online]. B.m.: Elsevier Inc., s. 1229-1231.e1. ISBN 9780323401814. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-40181-4.00242-5

PAVLŮ, Lenka, 2018. ZÁKLADY PEDOLOGIE A OCHRANY PŮDY. 1. vyd. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze. ISBN 9788021328761.

PLAAS, Elke, Friederike MEYER-WOLFARTH, Martin BANSE, Jan BENGTSSON, Holger BERGMANN, Jack FABER, Martin POTTHOFF, Tania RUNGE, Stefan SCHRADER a Astrid TAYLOR, 2019. Towards valuation of biodiversity in agricultural soils: A case for earthworms. *Ecological Economics* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **159**, 291–300. ISSN 09218009. Dostupné z: doi:10.1016/j.ecolecon.2019.02.003

PLATTNER, Michel, Mikhail M. SHNEIDER, Nikolay P. ARBATSKY, Alexander S. SHASHKOV, Alexander O. CHIZHOV, Sergey NAZAROV, Nikolai S. PROKHOROV, Nicholas M.I. TAYLOR, Sergey A. BUTH, Michela GAMBINO, Yilmaz Emre GENCAY, Lone BRØNDSTED, Elizabeth M. KUTTER, Yuriy A. KNIREL a Petr G. LEIMAN, 2019. Structure and Function of the Branched Receptor-Binding Complex of Bacteriophage CBA120. *Journal of Molecular Biology* [online]. B.m.: Academic Press, **431**(19), 3718–3739. ISSN 10898638. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmb.2019.07.022

POGGENBURG, Christine, Robert MIKUTTA, Patrick LIEBMANN, Markus KOCH a Georg GUGGENBERGER, 2018. Siderophore-promoted dissolution of ferrihydrite associated with adsorbed and coprecipitated natural organic matter. *Organic Geochemistry* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, **125**, 177–188. ISSN 01466380. Dostupné z: doi:10.1016/j.orggeochem.2018.09.004

POSPÍŠIL, F., 1964. Fractionation of humus substances of several soil types in Czechoslovakia. *Rostlinná výroba*. **10**, 567–580.

POURRET, Olivier a Jean Claude BOLLINGER, 2018. "Heavy metal" - What to do now: To use or not to use? *Science of the Total Environment* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **610–611**, 419–420. ISSN 18791026. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2017.08.043

PRADHAN, Sukanta Kumar, Nihar Ranjan SINGH, Upendra KUMAR, Samir R. MISHRA, Rajadurai Chinnasamy PERUMAL, Jubina BENNY a Hrudayanath THATOI, 2020. Illumina MiSeq based assessment of bacterial community structure and diversity along the heavy metal concentration gradient in Sukinda chromite mine area soils, India. *Ecological Genetics and Genomics* [online]. B.m.: Elsevier Inc, **15**, 100054. ISSN 24059854. Dostupné z: doi:10.1016/j.egg.2020.100054

RANDALL, S. R., D. M. SHERMAN, K. V. RAGNARSDOTTIR a Clare R. COLLINS, 1999. The mechanism of cadmium surface complexation on iron oxyhydroxide minerals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* [online]. B.m.: Pergamon, **63**(19–20), 2971–2987. ISSN 00167037. Dostupné z: doi:10.1016/S0016-7037(99)00263-X

REDDY, Bhaskar a Suresh Kumar DUBEY, 2019. River Ganges water as reservoir of microbes with antibiotic and metal ion resistance genes: High throughput metagenomic approach. *Environmental Pollution* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, **246**, 443–451 [vid. 2020-02-19]. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2018.12.022

RONG, Qiangqiang, Yanpeng CAI, Bing CHEN, Wencong YUE, Xin'an YIN a Qian TAN, 2017. An enhanced export coefficient based optimization model for supporting agricultural nonpoint source pollution mitigation under uncertainty. *Science of the Total Environment* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **580**, 1351–1362. ISSN 18791026. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2016.12.099

SAGOVA-MARECKOVA, Marketa, Ladislav CERMAK, Jitka NOVOTNA, Kamila PLHACKOVA, Jana FORSTOVA a Jan KOPECKY, 2008. Innovative methods for soil DNA purification tested in soils with widely differing characteristics. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **74**(9), 2902–2907. ISSN 00992240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.02161-07

ŠANTRŮČKOVÁ, Hana, 2014. *Základy ekologie půdy* [online]. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích [vid. 2020-02-18]. ISBN 9788073944803. Dostupné

z: http://kbe.prf.jcu.cz/sites/default/files/prednasky/skripta/skripta_puda_metody_final.pdf

ŠARAPATKA, B., 2014. *Pedologie a ochrana půdy* [online]. B.m.: Univerzita Palackého v Olomouci. Odborné publikace. ISBN 9788024437361. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=bUKJoAEACAAJ

SCHALK, Isabelle J., Mélissa HANNAUER a Armelle BRAUD, 2011. *New roles for bacterial siderophores in metal transport and tolerance* [online]. 1. listopad 2011. B.m.: John Wiley & Sons, Ltd. [vid. 2020-02-20]. ISSN 14622912. Dostupné z: doi:10.1111/j.1462-2920.2011.02556.x

SCHOMBURG, A., E. P. VERRECCHIA, C. GUENAT, P. BRUNNER, D. SEBAG a R. C. LE BAYON, 2018. Rock-Eval pyrolysis discriminates soil macro-aggregates formed by plants and earthworms. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, **117**, 117–124. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2017.11.010

SHULL, D. H., 2009. Bioturbation. In: *Encyclopedia of Ocean Sciences* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, s. 395–400. ISBN 9780123744739. Dostupné z: doi:10.1016/B978-012374473-9.00656-1

ŠIMEK, M., P. BALDRIÁN, M. BRYNDOVÁ, M. DEVETTER, D. ELHOTTOVÁ, L.

HÁNĚL, A. CHROŇÁKOVÁ, J. KOPECKÝ, A. KOUBOVÁ, Ľ. KOVÁČ, M. KYSELKOVÁ, A. LUKEŠOVÁ, M. MAREČKOVÁ, V. PIŽL, J. SCHLAGHAMERSKÝ, J. STARÝ, K. TAJOVSKÝ, E. TKADLEC, I.H. TUF a J. TŮMA, 2019. *Živá půda*. Praha: Academia. ISBN 978-80-200-2976-8.

SINGH, Brajesh K., Christopher QUINCE, Catriona A. MACDONALD, Amit KHACHANE, Nadine THOMAS, Waleed Abu AL-SOUD, Søren J. SØRENSEN, Zhili HE, Duncan WHITE, Alex SINCLAIR, Bill CROOKS, Jizhong ZHOU a Colin D. CAMPBELL, 2014. Loss of microbial diversity in soils is coincident with reductions in some specialized functions. *Environmental Microbiology* [online]. B.m.: Blackwell Publishing Ltd, **16**(8), 2408–2420 [vid. 2020-02-21]. ISSN 14622920. Dostupné z: doi:10.1111/1462-2920.12353

SINGH, Samiksha, Parul PARIHAR, Rachana SINGH, Vijay P. SINGH a Sheo M. PRASAD, 2016. *Heavy metal tolerance in plants: Role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics* [online]. 8. únor 2016. B.m.: Frontiers Media S.A. ISSN 1664462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2015.01143

SKLENICKA, Petr, Jan ZOUHAR, Kristina Janeckova MOLNAROVA, Josef VLASAK, Blanka KOTTOVA, Peggy PETRZELKA, Michal GEBHART a Alena WALMSLEY, 2019. Trends of soil degradation: Does the socio-economic status of land owners and land users matter? *Land Use Policy* [online]. 103992. ISSN 0264-8377. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2019.05.011

SPENGLER, Gabriella, Annamária KINCSES, Márió GAJDÁCS a Leonard AMARAL, 2017. New Roads Leading to Old Destinations: Efflux Pumps as Targets to Reverse Multidrug Resistance in Bacteria. *Molecules* [online]. B.m.: MDPI AG, **22**(3), 468 [vid. 2020-03-03]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules22030468

STELLA, David, nedatováno. Spolumajitel pozemků. In: . B.m.

SUBIRATS, Jéssica, Alexandre SÀNCHEZ-MELSIÓ, Carles M. BORREGO, José Luis BALCÁZAR a Pascal SIMONET, 2016. Metagenomic analysis reveals that bacteriophages are reservoirs of antibiotic resistance genes. *International Journal of Antimicrobial Agents* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **48**(2), 163–167. ISSN 18727913. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijantimicag.2016.04.028

TANG, Jiayi, Jiachao ZHANG, Liheng REN, Yaoyu ZHOU, Jun GAO, Lin LUO, Yuan YANG, Qinghui PENG, Hongli HUANG a Anwei CHEN, 2019. *Diagnosis of soil contamination using microbiological indices: A review on heavy metal pollution* [online]. 15. červenec 2019. B.m.: Academic Press. ISSN 10958630. Dostupné z: doi:10.1016/j.jenvman.2019.04.061

TEDERSOO, Leho, Mohammad BAHRAM, Sergei PÕLME, Urmas KÕLJALG, Nourou S. YOROU, Ravi WIJESUNDERA, Luis Villarreal RUIZ, Aí M. VASCO-PALACIOS, Pham Quang THU, Ave SUIJA, Matthew E. SMITH, Cathy SHARP, Erki SALUVEER, Alessro SAITTA, Miguel ROSAS, Taavi RIIT, David RATKOWSKY, Karin PRITSCH, Kadri PÕLDMAA, Meike PIEPENBRING, Cherdchai PHOSRI, Marko PETERSON, Kaarin PARTS, Kadri PÄRTEL, Eveli OTSING, Eduardo NOUHRA, André L. NJOUONKOU, R. Henrik NILSSON, Luis N. MORGADO, Jordan MAYOR, Tom W. MAY, Luiza MAJUAKIM, D. Jean LODGE, Su LEE, Karl Henrik LARSSON, Petr KOHOUT, Kentaro HOSAKA, Indrek HIIESALU, Terry W. HENKEL, Helery HAREND, Liang Dong GUO, Alina GRESLEBIN, Gwen GRELET, Jozsef GEML, Genevieve GATES, William DUNSTAN, Chris DUNK, Rein DRENKHAN, John DEARNALEY, André DE KESEL, Tan DANG, Xin CHEN, Franz BUEGGER, Francis Q. BREARLEY, Gregory BONITO, Sten ANSLAN, Sra ABELL a Kessy ABARENKOV, 2014. Global diversity and geography of soil fungi. *Science* [online]. B.m.: American Association for the Advancement of Science, **346**(6213). ISSN 10959203. Dostupné z: doi:10.1126/science.1256688

THAKUR, Sveta, Lakhveer SINGH, Zularisam Ab WAHID, Muhammad Faisal SIDDIQUI, Samson Mekbib ATNAW a Mohd Fadhil Md DIN, 2016. Plant-driven removal of heavy metals from soil: uptake, translocation, tolerance mechanism, challenges, and future perspectives. *Environmental Monitoring and Assessment* [online]. **188**(4). ISSN 15732959. Dostupné z: doi:10.1007/s10661-016-5211-9

TLUSTOŠ, Pavel, Daniela PAVLÍKOVÁ a Jiří BALÍK, 2006. *MECHANISMUS PŘÍJMU RIZIKOVÝCH PRVKŮ ROSTLINAMI A JEJICH HROMADĚNÍ V BIOMASE* [online]. [vid. 2020-06-13]. Dostupné z: http://www.phytosanitary.org

TUMA, Jiri, Susannah FLEISS, Paul EGGLETON, Jan FROUZ, Petr KLIMES, Owen T. LEWIS, Kalsum M. YUSAH a T. M. FAYLE, 2019. Logging of rainforest and conversion to oil palm reduces bioturbator diversity but not levels of bioturbation. *Applied Soil Ecology* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **144**, 123–133. ISSN 09291393. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsoil.2019.07.002

TYC, Olaf, Chunxu SONG, Jeroen S. DICKSCHAT, Michiel VOS a Paolina GARBEVA, 2017. *The Ecological Role of Volatile and Soluble Secondary Metabolites Produced by Soil Bacteria* [online]. 1. duben 2017. B.m.: Elsevier Ltd. ISSN 18784380. Dostupné z: doi:10.1016/j.tim.2016.12.002

VALLA, Miloš, Josef KOZÁK, Jan NĚMEČEK, Svatopluk MATULA, Luboš BORŮVKA a Ondřej DRÁBEK, 2011. *Pedologické praktikum*. Vydání 2. B.m.: ČZU. ISBN 978-80-213-0914-2.

VANĚK, Václav, Ladislav KOLÁŘ a Daniela PAVLÍKOVÁ, 2010. Úloha organické hmoty v půdě. Racionální použití hnojiv - sborník z konference. *Biom.cz* [online]. B.m.: CZ Biom - České sdružení pro biomasu [vid. 2020-06-14]. Dostupné z: https://biom.cz/cz/odborne-clanky/emise-metanu-ze-zemedelske-cinnosti

VERCHOT, Louis V., Laure DUTAUR, Keith D. SHEPHERD a Alain ALBRECHT, 2011. Organic matter stabilization in soil aggregates: Understanding the biogeochemical mechanisms that determine the fate of carbon inputs in soils. *Geoderma* [online]. B.m.: Elsevier, **161**(3–4), 182–193. ISSN 00167061. Dostupné z: doi:10.1016/j.geoderma.2010.12.017

VERZEAUX, Julien, Bertrand HIREL, Frédéric DUBOIS, Peter J. LEA a Thierry TÉTU, 2017. Agricultural practices to improve nitrogen use efficiency through the use of arbuscular mycorrhizae: Basic and agronomic aspects [online]. 1. listopad 2017. B.m.: Elsevier Ireland Ltd. ISSN 18732259. Dostupné z: doi:10.1016/j.plantsci.2017.08.004

VODYANITSKII, Yu N. a I. O. PLEKHANOVA, 2014. Biogeochemistry of heavy metals in contaminated excessively moistened soils (Analytical review). *Eurasian Soil Science* [online]. B.m.: Maik Nauka-Interperiodica Publishing, **47**(3), 153–161. ISSN 10642293. Dostupné z: doi:10.1134/S1064229314030090

VOPRAVIL, Jan, 2016. *Problematika půdy a její ochrany* [online]. [vid. 2020-01-20]. Dostupné

z: https://aa.ecn.cz/img_upload/410697af7dfcb092dfd4e3937dd69e3f/problematika-pudy-a-jeji-ochrany_zandov_jan-vopravil_prezentace.pdf

VOPRAVIL, Jan, Taťána VRABCOVÁ, Tomáš KHEL, Ivan NOVOTNÝ a Jana BANÝROVÁ, 2010. VÝVOJ A DEGRADACE PŮD V PODMÍNKÁCH OČEKÁVANÝCH ZMĚN KLIMATU. In: *Rožnovský, J., Litschmann, T. (ed): "Voda v krajině", Lednice*. s. 23–30. ISBN 978-80-86690-79-7.

VÚMOP V.V.I., 2013. *Encyklopedie RESTEP* [online] [vid. 2020-01-28]. Dostupné z: https://restep.vumop.cz/encyklopedie/index.php/Acidifikace

WAGG, Cameron, S. Franz BENDER, Franco WIDMER a Marcel G.A. VAN DER HEIJDEN, 2014. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. B.m.: National Academy of Sciences, **111**(14), 5266–5270. ISSN 10916490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1320054111

WANG, Guiyin, Shirong ZHANG, Qinmei ZHONG, Xiaoxun XU, Ting LI, Yongxia JIA, Yanzong ZHANG, Willie J.G.M. PEIJNENBURG a Martina G. VIJVER, 2018a. Effect of soil washing with biodegradable chelators on the toxicity of residual metals and soil biological properties. *Science of the Total Environment* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **625**(2018), 1021–1029. ISSN 18791026. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2018.01.019

WANG, Qiang, Xiangpeng ZENG, Qingxiang YANG a Chuanzhen YANG, 2018b. Identification of a bacteriophage from an environmental multidrug-resistant E. coli isolate and its function in horizontal transfer of ARGs. *Science of the Total Environment* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **639**, 617–623. ISSN 18791026. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2018.05.213

WANG, Ziting, Tong LI, Xiaoxia WEN, Yang LIU, Juan HAN, Yuncheng LIAO a Jennifer M. DEBRUYN, 2017. Fungal Communities in Rhizosphere Soil under Conservation Tillage

Shift in Response to Plant Growth. Frontiers in Microbiology [online]. B.m.: Frontiers MediaS.A.,8(JUL),1301[vid. 2020-03-02].ISSN 1664-302X.Dostupnéz: doi:10.3389/fmicb.2017.01301

WHALEN, J K a L SAMPEDRO, 2010. *Soil Ecology and Management*. Oxford: Oxford University Press. ISBN 9781845935634.

WYSZKOWSKA, Jadwiga, Agata BOROWIK, Mirosław KUCHARSKI a Jan KUCHARSKI, 2013. EFFECT OF CADMIUM, COPPER AND ZINC ON PLANTS, SOIL MICROORGANISMS AND SOIL ENZYMES. *Journal of Elementology* [online]. **18**(4), 769–796. ISSN 16442296. Dostupné z: doi:10.5601/jelem.2013.18.4.455

XIAO, Haibing, Zhongwu LI, Xiaofeng CHANG, Jinquan HUANG, Xiaodong NIE, Chun LIU, Lin LIU, Danyang WANG, Yuting DONG a Jieyu JIANG, 2017. Soil erosion-related dynamics of soil bacterial communities and microbial respiration. *Applied Soil Ecology* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **119**, 205–213. ISSN 09291393. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsoil.2017.06.018

XIAO, Rong, Mingxiang ZHANG, Xinying YAO, Ziwen MA, Feihai YU a Junhong BAI, 2016. Heavy metal distribution in different soil aggregate size classes from restored brackish marsh, oil exploitation zone, and tidal mud flat of the Yellow River Delta. *Journal of Soils and Sediments* [online]. B.m.: Springer Verlag, **16**(3), 821–830. ISSN 16147480. Dostupné z: doi:10.1007/s11368-015-1274-4

XU, Lei, Hongbiao CUI, Xuebo ZHENG, Jun ZHOU, Wenhui ZHANG, Jiani LIANG a Jing ZHOU, 2017. Changes in the heavy metal distributions in whole soil and aggregates affected by the application of alkaline materials and phytoremediation. *RSC Advances* [online]. B.m.: Royal Society of Chemistry, **7**(65), 41033–41042. ISSN 20462069. Dostupné z: doi:10.1039/c7ra05670b

YAN, Peng, Liangquan WU, Donghui WANG, Jianyu FU, Chen SHEN, Xin LI, Liping ZHANG, Lan ZHANG, Lichao FAN a Han WENYAN, 2020. Soil acidification in Chinese tea plantations. *Science of The Total Environment* [online]. 136963 [vid. 2020-01-28]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2020.136963

YAN, Shaokui, A. N. SINGH, Shenglei FU, Chonghui LIAO, Silong WANG, Yuanliang LI, Yang CUI a Lile HU, 2012. A soil fauna index for assessing soil quality. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. B.m.: Pergamon, **47**, 158–165. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2011.11.014

YAN, Shen a Guoshun LIU, 2020. Effect of increasing soil carbon content on tobacco aroma and soil microorganisms. *Phytochemistry Letters* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, **36**, 42–48. ISSN 18767486. Dostupné z: doi:10.1016/j.phytol.2020.01.011

YANG, Pu a Jan Dirk VAN ELSAS, 2018. *Mechanisms and ecological implications of the movement of bacteria in soil* [online]. 1. srpen 2018. B.m.: Elsevier B.V. ISSN 09291393.

Dostupné z: doi:10.1016/j.apsoil.2018.04.014

YANG, Yang, Huan CHENG, Yanxing DOU a Shaoshan AN, 2020. Plant and soil traits driving soil fungal community due to tree plantation on the Loess Plateau. *Science of the Total Environment* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **708**. ISSN 18791026. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2019.134560

YANG, Yuanhe, Chengjun JI, Wenhong MA, Shifeng WANG, Shaopeng WANG, Wenxuan HAN, Anwar MOHAMMAT, David ROBINSON a Pete SMITH, 2012. Significant soil acidification across northern China's grasslands during 1980s-2000s. *Global Change Biology* [online]. **18**(7), 2292–2300 [vid. 2020-01-28]. ISSN 13541013. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2486.2012.02694.x

YE, Mao, Mingming SUN, Dan HUANG, Zhongyun ZHANG, Hui ZHANG, Shengtian ZHANG, Feng HU, Xin JIANG a Wentao JIAO, 2019. *A review of bacteriophage therapy for pathogenic bacteria inactivation in the soil environment* [online]. 1. srpen 2019. B.m.: Elsevier Ltd. ISSN 18736750. Dostupné z: doi:10.1016/j.envint.2019.05.062

YUANAN, Hu, Kailing HE, Zehang SUN, Gang CHEN a Hefa CHENG, 2020. Quantitative source apportionment of heavy metal(loid)s in the agricultural soils of an industrializing region and associated model uncertainty. *Journal of Hazardous Materials* [online]. B.m.: Elsevier B.V., **391**, 122244. ISSN 18733336. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2020.122244

ZHANG, Hua, Zhiwei WAN, Mingjun DING, Peng WANG, Xiaoling XU a Yinghui JIANG,
2018. Inherent bacterial community response to multiple heavy metals in sediment from riverlake systems in the Poyang Lake, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [online].
B.m.: Academic Press, 165, 314–324. ISSN 10902414. Dostupné z: doi:10.1016/j.ecoenv.2018.09.010

ZHENG, Hongbing, Wuren LIU, Jinyu ZHENG, Yang LUO, Ruiping LI, Hao WANG a Hua QI, 2018. Effect of long-term tillage on soil aggregates and aggregate-associated carbon in black soil of northeast China. *PLoS ONE* [online]. B.m.: Public Library of Science, **13**(6). ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0199523

ZÝVALOVÁ, Jana, 2017. Vliv buku lesního a smrku ztepilého na zastoupení nízkomolekulárních organických kyselin a složení mikrobiálních společenstev v lesních půdách. B.m. Univerzita Karlova.

9 Seznam obrázků

Obrázek 1: Trojúhelníkový diagram	12
Obrázek 2: Typy struktury dle tvaru	15
Obrázek 3: Rozvětvený komplex bakteriofáfa CBA120	24
Obrázek 4: Přesun DNA mezi bakterií a fágem	24
Obrázek 5: Síť odběrových míst (RNDr. Václav Tejnecký, Ph.D.)	25
Obrázek 6: Pseudototální obsah Cd (sonda A)	41
Obrázek 7: Pseudototální obsah Zn (sonda A)	42
Obrázek 8: Aktivní a výměnné pH (sonda A)	42
Obrázek 9: Množství organického uhlíku (sonda A)	43
Obrázek 10: Kationtová výměnná kapacita (sonda A)	44
Obrázek 11: Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al (sonda A)	44
Obrázek 12: Pseudototální obsah Cd (sonda B)	45
Obrázek 13: Pseudototální obsah Zn (sonda B)	46
Obrázek 14: Aktivní a výměnné pH (sonda B)	46
Obrázek 15: Množství organického uhlíku (sonda B)	47
Obrázek 16: Kationtová výměnná kapacita (sonda B)	47
Obrázek 17: Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al (sonda B)	48
Obrázek 18: Kontrolní gel po přečištění extrahované DNA	49
Obrázek 19: Výsledný gel produktů PCR pro prokaryota	50
Obrázek 20: Složení bakteriálního společenstva na úrovni kmenů sond A a B	51
Obrázek 21: Pseudototální obsah Cd (plocha)	52
Obrázek 22: Pseudototální obsah Zn (plocha)	53
Obrázek 23: Aktivní a výměnné pH (plocha)	53
Obrázek 24: Množství organického uhlíku (plocha)	54
Obrázek 25: Kationtová výměnná kapacita (plocha)	54
Obrázek 26: Oxalátově výměnné formy Fe, Mn, Al (plocha)	55
Obrázek 27: Složení bakteriálního společenstva na úrovni kmenů vzorků z plochy	56
Obrázek 28: Neparamatrické mnohorozměrné rozdělení (NMDS) bakteriálních společenste	ev
plochy rozdělených do skupin podle úrovně kontaminace Cd a vektory zobrazující vztahy	S
bakteriálními společenstvy)	57

10 Seznam příloh

Příloha 1: Označení vlastností ve výpočtech pro fyzikální vlastnosti pomocí Kopeckého
válečkůI
Příloha 2: Tabulka výpočtů fyzikálních vlastností pomocí Kopeckého válečkůI
Příloha 3: Rozdělení vzorků podle úrovně konaminace CdII
Příloha 4: Vybraná fotografie řezem půdního agregátu sondy B hloubky 35 cmIII
Příloha 5: Výsledky fyzikálních vlastností dle Kopeckého válečků - sonda A IV
Příloha 6: Výsledky fyzikálních vlastností dle Kopeckého válečků - sonda B IV
Příloha 7: Výstup programu Statistica - korelace fyzikálně-chemických vlastností vzorků z
plochyV
Příloha 8: Výstup programu Statistica - korelace fyzikálně-chemickcýh vlastností sondy A V
Příloha 9: Výstup programu Statistica - korelace fyzikálně-chemických vlastností sondy B VI

11 Seznam rovnic

Rovnice 1: Faktor Mohrovy soli	
Rovnice 2: Obsah oxidovatelného uhlíku	
Rovnice 3: Obsah humusu	
Rovnice 4: Výpočet iontového ekvivalentu	
Rovnice 5: Výpočet H ⁺	
Rovnice 6: Výpočty KVK; BA; BC a saturace bází	

12 Seznam tabulek

Tabulka 1: Zrnitostní frakce a kategorie	13
Tabulka 2: Půdní druh dle Nováka	13
Tabulka 3: Bioremediace těžkých kovů pomocí mikrobů	23
Tabulka 4: Možnosti bioremediace kovů a mataloidů	23
Tabulka 5: Seznam vzorků	26
Tabulka 6: Seznam prováděných analýz a pracovníci, kteří je prováděli	27
Tabulka 7: Seznam použitých chemikálií	28
Tabulka 8: Počty odebraných válečků v různých hloubkách pro sondy A a B	32
Tabulka 9: Složení reakční směsi pro PCR (AccuPrime)	36
Tabulka 10: Složení reakční směsi pro PCR (GoTaq)	36
Tabulka 11: Podmínky reakce PCR (AccuPrime)	36
Tabulka 12: Podmínky reakce PCR (GoTaq)	37
Tabulka 13: Váha agregátu, množství použité DNA do reakční směsi PCR a druh použité	
polymerázy (opakování 1)	37
Tabulka 14: Váha agregátu, množství použité DNA do reakční směsi PCR a druh použité	
polymerázy (opakování 2)	38
Tabulka 15: Váha agregátu, množství použité DNA do reakční směsi PCR a druh použité	
polymerázy (opakování 3)	39
Tabulka 16: AMOVA vzorků z plochy pro skupiny Vysoká, Střední a Nízká kontaminace	57
Tabulka 17: AMOVA vzorků z plochy pro skupiny Vysoká a Nízká kontaminace	58
Tabulka 18: AMOVA vzorků z plochy pro skupiny Vysoká a Střední kontaminace	58
Tabulka 19: AMOVA vzorků z plochy pro skupiny Nízká a Střední kontaminace	58
Tabulka 20: AMOVA vzorků sondy A pro skupiny Velmi vysoká, Vysoká, Střední a Nízká	í
kontaminace	58
Tabulka 21: AMOVA vzorků sondy B pro skupiny Vysoká, Střední a Nízká kontaminace	58

13 Samostatné přílohy

Příloha 1: Označení vlastností ve výpočtech pro fyzikální vlastnosti pomocí Kopeckého válečků

Vlastnost	Označení	Jednotka
Objem válečku	V	cm ³
Hmotnost prázdného válečku	G _v	g
Hmotnost sklíčka	Gs	с D
Hmotnost při odběru (plný váleček)	Ga	gg
Hmotnost po sycení vodou (plný váleček + sklíčko)	G _b	gg
Hmotnost po 30 min na filtračním papíru (plný váleček + sklíčko)	Gc	gg
Po 2 hodinách na filtračním papíru (plný váleček + sklíčko)	G _d	an
Po 24 hodinách na filtračním papíru (plný váleček + sklíčko)	Ge	с D
Hmotnost po vysušení při 105°C (plná váleček + sklíčko)	G _f	с D
Čistá hmotnost vysušeného vzorku	G _h	g
Navážená jemnozem	Nz	g

Příloha 2: Tabulka výpočtů fyzikálních vlastností pomocí Kopeckého válečků (Valla et al. 2011)

Stanovení	Označení	Výpočet	Jednotka
Čistá hmotnost vysušeného vzorku	G _h	G_{f} - G_{v} - G_{s}	g
Specifická hmotnost	ρ_z	$N_z/(N_z+P_{H2O}-\rho_z)$	g/cm ³
Objemová hmotnost	ρ_d	G _h /V	g/cm ³
Celková pórovitost	Р	$(\rho_z - \rho_d) / \rho_z * 100$	%
Momentální objemová vlhkost	Θ_{MOM}	$(G_a-G_f)/V * 100$	%
Momentální hmotností vlhkost	W _{MOM}	$(G_a-G_f)/G_h * 100$	%
Momentální relativní vlhkost	W _{REL MOM}	Θ _{MOM} /P * 100	%
Objemová nasáklivost	$\Theta_{ m NS}$	$(G_b-G_f)/V * 100$	%
Hmotnostní nasáklivost	W _{NS}	$(G_b-G_f)/G_h * 100$	%
Relativní nasáklivost	W _{REL NS}	Θ _{NS} /P * 100	%
Objemová 30 min vlhkost	Θ_{30}	$(G_c-G_f)/V * 100$	%
Hmotnostní 30 min vlhkost	W ₃₀	$(G_c-G_f)/G_h * 100$	%
Relativní 30 min vlhkost	W _{REL 30}	Θ ₃₀ /P * 100	%
Maximální objemová kapilární kapacita	Θ_{MKK}	$(G_d-G_f)/V * 100$	%
Maximální hmotnostní kapilární kapacita	W _{MKK}	$(G_d-G_f)/G_h * 100$	%
Maximální relativní kapilární kapacita	W _{REL MKK}	Θ _{MKK} /P * 100	%
Retenční vodní objemová kapacita	$\Theta_{\rm RVK24}$	$(G_e-G_f)/V * 100$	%
Retenční vodní hmotnostní kapacita	W _{RVK24}	$(G_e-G_f)/G_h * 100$	%
Retenční vodní relativní kapacita	W _{REL RVK24}	Θ _{RVK24} /P * 100	%
Kapilární pórovitost	РК	$\Theta_{\rm RVK24}$	%
Semikapilární pórovitost	PS	Θ_{30} - Θ_{RVK24}	%
Nekapilární pórovitost	PN	$P-\Theta_{30}$	%

Vzorky z	Úroveň	Vzorky	Úroveň	Vzorky z	Úroveň
plochy	kontaminace	sondy B	kontaminace	plochy	kontaminace
10s	Nízká	B70a	Nízká	10s	Nízká
16d	Nízká	B60a	Nízká	16d	Nízká
10d	Nízká	B60b	Nízká	10d	Nízká
20d	Nízká	B60c	Nízká	20d	Nízká
16s	Nízká	B50a	Nízká	16s	Nízká
20s	Nízká	B50b	Nízká	20s	Nízká
1s	Nízká	B50c	Nízká	1s	Nízká
18sk	Nízká	B40a	Nízká	18sk	Nízká
9s	Střední	B40b	Nízká	9s	Střední
19s	Střední	B40c	Nízká	19s	Střední
5s	Střední	B35a	Vysoká	5s	Střední
13s	Střední	B35b	Vysoká	13s	Střední
11s	Střední	B35c	Vysoká	11s	Střední
12d	Střední	B30a	Vysoká	12d	Střední
3s	Střední	B30b	Vysoká	3s	Střední
7s	Střední	B30c	Vysoká	7s	Střední
2s	Vysoká	B25a	Vysoká	2s	Vysoká
14d	Vysoká	B25b	Vysoká	14d	Vysoká
8d	Vysoká	B25c	Vysoká	8d	Vysoká
17s	Vysoká	B20a	Střední	17s	Vysoká
4s	Vysoká	B20b	Střední	4s	Vysoká
8s	Vysoká	B20c	Střední	8s	Vysoká
4d	Vysoká	B15a	Střední	4d	Vysoká
12s	Vysoká	B15b	Střední	12s	Vysoká
15sk	Vysoká	B15c	Střední	15sk	Vysoká
14s	Vysoká	B5a	Střední	14s	Vysoká
6d	Vysoká	B5b	Střední	6d	Vysoká
6s	Vysoká	B5c	Střední	6s	Vysoká
2d	Vysoká	-	-	2d	Vysoká

Příloha 3: Rozdělení vzorků podle úrovně konaminace Cd



Příloha 4: Vybraná fotografie řezem půdního agregátu sondy B hloubky 35 cm (RNDr. Václav Tejnecký, Ph.D.)

navážka jemnozemě: 10g	Celková pórovitost	Kapilární pórovitost	Semikapilární pórovitost	Nekapilární pórovitost	Objemová momentální vlhkost	Hmotnostní momentální vlhkost	Relativní momentální vlhkost	Objemová nasáklivost	Hmotnostní nasáklivost	Relativní nasáklivost	Objemová 30ti minutová vlhkost	Hmotnostní 30ti munutová vlhkost	Relativní 30ti minutová vlhkost	Objemová maximální kapilární kapacita	Hmotnostní maximální kapilární kapacita	Relativní maximální kapilární kapacita	Objemová retenční vodní kapacita	Hmotnostní retenční vodní kapacita	Relativní retenční vodní kapacita	Objemová hmotnost
Sonda A	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	g cm-3
0 cm	50,76	28,77	9,44	12,55	18,52	14,98	36,48	46,23	37,41	91,10	38,21	30,91	75,32	34,69	28,08	68,33	28,77	23,27	56,71	1,24
20 cm	50,34	29,96	12,11	8,27	18,65	14,66	37,05	45,80	36,03	90,97	42,07	33,09	83,56	37,36	29,38	74,20	29,96	23,56	59,52	1,27
40 cm	50,76	35,47	11,89	3,41	19,28	15,17	37,98	52,63	41,42	103,68	47,36	37,27	93,28	43,54	34,26	85,77	35,47	27,91	69,86	1,27
95 cm	47,79	38,94	7,73	1,12	23,14	17,51	48,42	50,17	37,96	104,97	46,67	35,31	97,65	44,82	33,91	93,78	38,94	29,46	81,48	1,32

Příloha 6: Výsledky fyzikálních vlastností dle Kopeckého válečků - sonda B

navážka jemnozemě: 10g	Celková pórovitost	Kapilární pórovitost	Semikapilární pórovitost	Nekapilární pórovitost	Objemová momentální vlhkost	Hmotnostní momentální vlhkost	Relativní momentální vlhkost	Objemová nasáklivost	Hmotnostní nasáklivost	Relativní nasáklivost	Objemová 30ti minutová vlhkost	Hmotnostní 30ti munutová vlhkost	Relativní 30ti minutová vlhkost	Objemová maximální kapilární kapacita	Hmotnostní maximální kapilární kapacita	Relativní maximální kapilární kapacita	Objemová retenční vodní kapacita	Hmotnostní retenční vodní kapacita	Relativní retenční vodní kapacita	Objemová hmotnost
Sonda B	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	g cm-3
0 cm	51,96	36,12	7,26	8,57	18,51	14,45	35,65	49,58	38,71	95,46	43,39	33,87	83,57	41,40	32,32	79,72	36,12	28,21	69,55	1,28
20 cm	49,53	37,15	9,22	3,16	16,51	12,66	33,35	51,37	39,39	103,71	46,37	35,56	93,63	43,92	33,68	88,69	37,15	28,49	75,03	1,30
40 cm	50,56	24,03	4,15	22,38	16,90	12,94	33,42	31,30	23,97	61,88	28,18	21,57	55,70	27,23	20,85	53,83	24,03	18,40	47,51	1,31
60 cm	51,67	29,15	3,17	19,35	25,91	20,18	50,20	34,58	26,93	66,98	32,32	25,17	62,60	31,44	24,48	60,89	29,15	22,70	56,45	1,28

	Korelace fyzikálně-chemických vlastností vzorků z plochy												
	Označ. kore	lace jsou výzi	namné na hlad	. p < ,05000									
	N=29 (Celé případy vynechány u ChD)												
Proměnná	Průměry	Sm.odch.	pH (H2O)	Cox	KVK	Al ox	Fe ox	Mn ox	Cd aq	Zn aq			
pH (H2O)	7,909	0,3	1,000	-0,501	0,126	-0,311	0,048	-0,419	0,113	-0,265			
Cox	2,458	0,7	-0,501	1,000	-0,277	-0,072	0,082	0,145	0,129	0,399			
KVK	17,788	2,7	0,126	-0,277	1,000	0,399	-0,029	0,239	-0,099	0,038			
Al ox	582,652	169,6	-0,311	-0,072	0,399	1,000	-0,414	0,880	-0,644	-0,105			
Fe ox	2318,359	615,7	0,048	0,082	-0,029	-0,414	1,000	-0,379	0,671	0,493			
Mn ox	200,536	64,1	-0,419	0,145	0,239	0,880	-0,379	1,000	-0,612	-0,082			
Cd aq	12,127	10,4	0,113	0,129	-0,099	-0,644	0,671	-0,612	1,000	0,757			
Zn aq	121,398	38,4	-0,265	0,399	0,038	-0,105	0,493	-0,082	0,757	1,000			

Příloha 7: Výstup programu Statistica - korelace fyzikálně-chemických vlastností vzorků z plochy

Příloha 8: Výstup programu Statistica - korelace fyzikálně-chemickcýh vlastností sondy A

	Korelace fyzikálně-chemických vlastností sondy A													
	Označ. korelace jsou významné na hlad. p < ,05000													
	N=11 (Celé případy vynechány u ChD)													
Proměnná	Průměry	Sm.odch.	pH (H2O)	Cox	KVK	Alox	Fe ox	Mn ox	Cd aq	Zn aq				
pH (H2O)	8	0,3	1,000	-0,230	0,162	-0,765	-0,762	-0,614	-0,530	-0,591				
Cox	2	0,4	-0,230	1,000	0,198	0,010	-0,061	0,169	0,231	0,016				
KVK	17	4,4	0,162	0,198	1,000	-0,326	-0,315	-0,311	-0,357	-0,341				
Alox	593	104,8	-0,765	0,010	-0,326	1,000	0,921	0,933	0,680	0,775				
Feox	3717	727,3	-0,762	-0,061	-0,315	0,921	1,000	0,820	0,402	0,512				
Mn ox	155	21,2	-0,614	0,169	-0,311	0,933	0,820	1,000	0,771	0,792				
Cd aq	31	15,3	-0,530	0,231	-0,357	0,680	0,402	0,771	1,000	0,958				
Zn aq	200	59,7	-0,591	0,016	-0,341	0,775	0,512	0,792	0,958	1,000				

Příloha 9: Výstup programu Statistica - korelace fyzikálně-chemických vlastností sondy B

	Korelace fyzikálně-chemických vlastností sonda B Označ. korelace jsou významné na hlad. p < ,05000 N=10 (Celé případy vynechány u ChD)									
Proměnná	Průměry	Sm.odch.	pH (H2O)	Сох	KVK	Alox	Fe ox	Mn ox	Cd aq	Zn aq
pH (H2O)	8	0	1,000	-0,791	-0,261	0,446	-0,459	0,690	-0,404	-0,395
Сох	2	1	-0,791	1,000	0,364	-0,816	0,705	-0,931	0,584	0,580
KVK	18	2	-0,261	0,364	1,000	-0,164	0,434	-0,385	0,483	0,466
Alox	736	132	0,446	-0,816	-0,164	1,000	-0,368	0,858	-0,149	-0,156
Feox	3509	1452	-0,459	0,705	0,434	-0,368	1,000	-0,692	0,953	0,963
Mn ox	257	35	0,690	-0,931	-0,385	0,858	-0,692	1,000	-0,505	-0,514
Cd aq	31	31	-0,404	0,584	0,483	-0,149	0,953	-0,505	1,000	0,996
Zn aq	189	110	-0,395	0,580	0,466	-0,156	0,963	-0,514	0,996	1,000