

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



Utilizace pesticidů v životním prostředí
Diplomová práce

Autor práce: Bc. Filip Hamršmíd

Vedoucí práce: Ing. Michal Jakl, Ph.D.

2017

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Utilizace pesticidů v životním prostředí" jsem vypracoval 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 autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne _____

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval Ing. Michalovi Jaklovi, Ph.D. za odborné vedení a připomínky k diplomové práci. Dále mé díky patří mojí rodině, která mě všemožně podporovala v období celého studia i jeho závěru.

Souhrn

Tato diplomová práce se zabývá účinky triazolových fungicidů na růst a vývoj rostlin a přístupnost živin z půdy, s využitím případové studie s účinnou látkou penkonazolem (**Penk**). Pro tuto práci bylo ustanoveno několik dílčích cílů, které by měly vytvořit komplexní představu o potenciálním vlivu **Penk** na rostliny a půdu. Jako cíle práce byly určeny následující: zjistit, (I) jakým způsobem ovlivňuje přídavek **Penk** růst rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum L.*), výnosy a zdali má vliv na fotosyntézu, (II) zhodnotit vliv přídavku **Penk** na přístupnost živin ve třech odlišných typech půd, ve fluvizemi, modální černozemi a modální kambizemi, v průběhu inkubace a (III) analyzovat vliv různých dávek **Penk** na změny sorpce živin ve zkoumaných půdách.

Vegetační experiment (I) vykazoval rozdíly v nárůstu biomasy rajčete v závislosti na koncentraci přidaného **Penk**. Na všech půdách došlo k poklesu výnosu, a to úměrně s dávkou **Penk**. Při aplikaci vyšší dávky **Penk** na modální černozem došlo ke snížení výnosů oproti kontrolnímu vzorku přibližně o polovinu. Přídavek nižší i vyšší koncentrace **Penk** snížil výnosy rostlin pěstovaných na substrátu fluvizemě přibližně o jednu třetinu. Bylo prokázáno, že přídavek **Penk** nepříznivě ovlivňuje obsah chlorofylu *a* a *b*, avšak nemá signifikantní vliv na chlorofyl *c*.

V půdním inkubačním pokusu (II) bylo zjištěno, že v rozsahu 8 týdnů přídavek **Penk** ovlivňuje přístupnost některých živin (mikro- a makroprvků) z půdy pro rostliny, a to u všech sledovaných typů půd. Nicméně bylo také prokázáno, že po 4. týdnu inkubace dochází k jeho degradaci s následným zvýšením podílu přijatelných živin. Toto dokazuje, že **Penk** není v půdě persistentní a jeho použití je velmi pravděpodobně z dlouhodobého hlediska nezávadné.

Na základě krátkodobého sorpčního experimentu (III) bylo možné z pohledu fyzikálně-chemických interakcí odhadnout změny sorpce živin ve vybraných půdách na základě přídavků **Penk**. Tato diplomová práce prokázala, že má **Penk** vliv na přístupnost některých živin i v krátkodobém horizontu. Nejsignifikantnější vliv byl pozorován u železa, kdy jeho přístupnost strmě klesala se zvyšujícím se přídavkem **Penk**.

Byly prokázány jeho účinky na růst a vývoj rostlin a na obsah mikro- a makro prvků v nadzemní a kořenové části *Solanum lycopersicum L.* a na přístupnost živin z půdy v krátkodobém a dlouhodobém horizontu.

Klíčová slova: pesticidy, fungicidy, triazoly, penkonazol, přijatelnost a mobilita prvků

Summary

This thesis deals with the effects of triazole fungicides on plant growth and development and accessibility of nutrients from the soil, using case studies with the active substance penconazole (**Penk**).

For this work, it were established several objectives, which should create a comprehensive picture of the potential impact of **Penk**, triazole fungicide, on plants and soil. As the objectives of the work were determined as followings: find out (I) which affects the addition of **Penk** has to grow edible tomato (*Solanum lycopersicum* L.) yields and whether it has an effect on photosynthesis, (II) evaluate the effect of the addition of **Penk** to accessibility of nutrients in three different soil types, in fluvisols, modal cambisols and modal chernozem, during the incubation, and (III) to analyze the effect of different doses of **Penk** to changes in nutrient uptake examined soils.

Vegetation experiment (I) showed differences in the growth of the biomass tomato depending on the concentration of added **Penk**. In all soils were decreased nutrient intakes in proportion to the dose of **Penk**. When applying the higher dose of **Penk** modal chernozem had decreased nutrient intake over the control sample about half. Addition of lower and higher dose of **Penk** decreased yields of plants grown on the substrate fluvisols approximately by one third. It has been shown that the addition of **Penk** adversely affects the content of chlorophyll *a* and *b*, but has no significant effect on chlorophyll *c*. In the soil incubation experiment (II) it was found that in the range of 8 weeks **Penk** addition affects the accessibility of certain nutrients (micro- and macro-elements) of the soil for the plants, in all monitored soil types. However, it was also shown that after the fourth week of incubation the degradation with consequent increase in the proportion of acceptable nutrients was observed. This proves that **Penk** is not persistent in soils and its use is very likely safe in the long term. In the sorption of a short term experiment (III), it was observed from the viewpoint of physicochemical interactions estimate changes in nutrient uptake in selected soil improvers based **Penk**. This thesis showed that **Penk** has an impact on the accessibility of certain nutrients in the short term. The most significant effect was observed for the iron when its accessibility steeply decreased with increasing addition of **Penk**.

This thesis is trying to assess the behavior of **Penk** in the environment. They have demonstrated its effects on plant growth and development and the content elements in the above-ground parts and roots of *Solanum lycopersicum* L. and accessibility of nutrients from the soil in the short and long term.

Keywords: pesticides, fungicides, triazoles, penconazole, fungicide effect to soils and plants

Obsah

1 Úvod	8
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3 Přehled literatury	10
3.1 Fungicidy	10
3.1.1 Dělení fungicidů dle cesty účinku	11
3.1.1.1 Kontaktní	11
3.1.1.2 Systémové	11
3.2 Triazolové fungicidy	11
3.2.1 Penkonazol.....	12
3.2.1.1 Chemické vlastnosti	13
3.2.1.2 Požití penkonazolu	13
3.2.1.3 Biodegradabilita	14
3.2.1.4 Toxicita	14
3.2.1.5 Vliv na růst rostliny.....	15
3.3 Půda	16
3.3.1 Klasifikace sledovaných půd	16
3.3.1.1 Fluvisoly.....	16
3.3.1.2 Černosoly.....	16
3.3.1.3 Kambisoly	17
3.3.2 Typy půd.....	17
3.3.3 Půdní reakce (pH).....	17
3.3.3.1 Výměnná acidita.....	18
3.3.4 Elektrická vodivost	18
3.3.5 Obsah humusu	18
3.3.6 Mobilita živin v půdě a její stanovení	19
3.3.6.1 Potenciálně přijatelné formy živin	19
3.3.6.2 Extrakce roztokem Mehlich III.....	19
3.3.7 Vodní kapacita	19
3.4 Mobilita a vlivy esenciálních prvků	20
3.4.1 Mikroprvky	20
3.4.1.1 Mangan	21
3.4.1.2 Měď	21
3.4.1.3 Zinek	22

3.4.1.4	Železo	22
3.4.2	Makroprvky	23
3.4.2.1	Hliník.....	23
3.4.2.1	Fosfor	24
3.4.2.2	Hořčík	24
3.4.2.3	Draslík.....	25
3.4.2.4	Vápník.....	25
3.4.3	Stanovení celkového obsahu prvků	25
3.5	Fotosyntéza.....	26
3.5.1	Chlorofyl.....	27
4	Materiál a metody	28
4.1	Charakteristika jednotlivých pokusů	28
4.1.1	Vegetační experiment.....	28
4.1.1.1	Založení pokusu.....	28
4.1.1.2	Sklízení rostlin	28
4.1.2	Půdní inkubační pokus	29
4.1.2.1	Stanovení maximální vodní kapacity.....	29
4.1.3	Sorpční laboratorní experiment	30
4.1.4	Stanovení celkových obsahů prvků.....	30
4.2	Pokusný materiál.....	31
4.2.1	Biologický	31
4.2.2	Abiotický	31
4.3	Charakteristika použitých půd	32
4.3.1	Použité půdy	32
4.3.1.1	Fluvizem (Choťánky).....	32
4.3.1.2	Modální kambizem (Humpolec).....	33
4.3.1.3	Modální černozem (Suchdol)	33
4.4	Laboratorní analýzy	33
4.4.1	Přístupné živiny – Mehlich III	33
4.4.2	Stanovení pH.....	34
4.4.3	Stanovení elektrické vodivosti	34
4.4.4	Kolorimetrické stanovení obsahu humusu	34
4.4.5	Extrakce pigmentů z rostlin a následné stanovení chlorofylu	35
4.5	Použitý penkonazol	36
4.6	Zpracování dat	36
5	Výsledky	37
5.1.1	Stanovení elektrické vodivosti a pH.....	37

5.1.2	Stanovení obsahu humusu	37
5.1.2.1	Fluvizem	38
5.1.2.2	Černozem	38
5.1.2.3	Kambizem.....	38
5.2	Vegetační pokus	40
5.2.1	Rostliny.....	40
5.2.2	Obsah chlorofylu.....	42
5.3	Půdní inkubační pokus.....	43
5.3.1	Hliník	44
5.3.2	Vápník	46
5.3.3	Draslík	48
5.3.4	Hořčík.....	50
5.3.5	Fosfor	52
5.3.6	Měď.....	54
5.3.7	Mangan	56
5.3.8	Zinek.....	58
5.3.9	Železo.....	61
5.4	Krátkodobá sorpce	64
5.4.1	Vápník	64
5.4.2	Hořčík, fosfor a železo.....	65
5.4.3	Zinek.....	66
5.4.4	Mangan	67
5.5	Celkové obsahy prvků.....	67
5.5.1	Vápník	67
5.5.2	Měď.....	69
5.5.3	Draslík	71
5.5.4	Hořčík.....	73
5.5.5	Mangan	75
5.5.6	Fosfor	77
5.5.7	Zinek.....	79
6	Diskuse	82
6.1	Vegetační pokus	82
6.2	Půdní inkubační pokus.....	83
6.3	Krátkodobá sorpce	85
6.4	Celkové obsahy prvků.....	87
7	Závěr	88
8	Seznam literatury.....	90

9 Přílohy.....	102
10 Seznam zkratek.....	103

1 Úvod

V dnešní době se ve větším množství plošně využívá mnoho druhů a typů pesticidů, respektive fungicidů. Fungicidy nejen chrání zemědělské plodiny před zhoubnými houbovými onemocněními, ale mohou mít i negativní vliv na prostředí v okolí polí, ale také na ochraňované rostliny samotné. Mnohdy se pro zefektivnění produkce využívá aplikace fungicidů s hnojivy. Jedná se o velmi nákladnou ochranu rostlin, která se mnohdy musí během roku opakovat.

Lze tvrdit, že výroba fungicidů poměrně pokročila, oproti první polovině minulého století, některé látky či jejich kombinace a jejich vlivy jsou sledovány a studovány. I přes všechna opatření a regulační limity používání fungicidů je třeba si uvědomit, že se jedná o cizorodé látky, které se dostávají uměle do ekosystému, a jejich konečný vliv může být nepříznivý

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Pesticidy jsou látky člověkem využívané k potlačení rostlinných a živočišných škůdců. Jejich aplikace na zemědělskou půdu může ale mít i negativní dopady. Mimo to, že se jimi může kontaminovat životní prostředí, jejich aplikace může ovlivnit i dostupnost živin a mobilitu těžkých kovů v půdě. Jejich struktura často umožňuje tvorbu komplexů s ionty přítomnými v půdním roztoku, s makroprvky i s prvky pro rostlinu esenciálními a brání tak jejich přechodu přes biomembrány kořenového systému rostliny. Fyzikálně-chemickými reakcemi účinné látky pesticidu s půdním sorpčním komplexem nebo s živinami-ionty kovů v půdním roztoku je ve výsledku narušen mechanismus příjmu živiny rostlinou.

Cílem této práce bude určit sílu vazby pesticidu (resp. komerčního přípravku) na půdní sorpční komplex, potenciální změnu sorpce živin v půdě důsledkem aplikace účinné látky, a zda účinná látka obsažená v komerčních přípravcích ovlivňuje živinný stav v průběhu vegetačního pokusu.

3 Přehled literatury

3.1 Fungicidy

Fungicidy jsou látky, používané na ochranu rostlin proti houbám nebo plísňovým spórám. Jsou to přípravky, které byly vyvinuty, aby ničily či inhibovaly růst houbových organismů (Reigart a Roberts, 1999).

Již za dob staré řecké civilizace se používala síra k ochraně vinné révy. V první polovině 17. století byla pro ochranu rostlin používána slaná voda a později vápnění (McCallan, 1967). Kolem roku 1755 byly zkoumány houbové zárodky panem Tillem poté, co přišla převratná myšlenka, že houby mohou být původci rostlinných onemocnění. Plísně brambor zkoumali Berkeley a Bary až okolo roku 1850, bohužel širší význam těchto nálezů nebyl rozpoznán (McCallan, 1967). Po celé dekádě, v roce 1860, byla publikována práce autorů Pasteur a Koch, která přinesla zlom ve formě zárodečné teorie (Kelman a Peterson, 2002).

Ve Francii v roce 1882 pozoroval Millardet vinnou révu, jejíž listy si díky namodralému postřiku modrou skalicí udržely listy celou sezónu. Po četných pokusech došel Millardet k závěru, že je směs síranu měďnatého a hašeného vápna schopna ochránit hrozny od plísni (McCallan, 1967). Zásadním milníkem v ochraně před houbovými onemocněními rostlin byl objev prvních organických fungicidů v roce 1934 (Hollomon a Wheeler, 2002). Na přelomu 60. a 70. let 20. století byla vyvíjena řada systémových fungicidů na bázi různé základní struktury a mechanismu účinku. 80. léta pak přinesla částečně systémové triazolové fungicidy pracující na bázi inhibice C14-demethylasy. V 90. letech byly objeveny fungicidní účinky strobilurinů (QoI inhibitory) a anilinopyrimidiny (Brent a Hollomon, 2007), které se uplatňují především kontaktním účinkem. K zásadním objevům však došlo v posledních několika desetiletích. Od kontaktních a ochranných fungicidů, přes fungicidy, jejichž složkou je měď, množství systematických fungicidů až k stobilurinům (G. A. Matthews, 2016).

Chemické složení fungicidních přípravků je velmi variabilní. Dělení fungicidů tkví také v době a způsobu jejich aplikace. Pro posklizňovou ochranu jsou voleny přípravky chránící skladované plodiny, pro aktivní ochranu se používá aplikace na nadzemní část rostlin či do půdy (Ballantyne, 2004). Mezi další prvky, které mohou participovat na vlivu fungicidu na houbovité organismy, patří sloučeniny mědi, rtuti a těžké kovy (Hollomon, 2009).

Naneštěstí se patogeny, reagující na určitý typ fungicidu, stávají časem méně citlivé. Proto je třeba používat fungicidy se širším polem působnosti či jednotlivé přípravky střídat (McDougall, 2015).

3.1.1 Dělení fungicidů dle cesty účinku

3.1.1.1 Kontaktní

Kontaktní fungicidy ničí široký okruh fytopatogenních hub. Fungují jen v místě aplikace, tedy kontaktu, a tvoří ochranou bariéru. Aplikují se na povrch rostliny, popřípadě semen. Jejich údělem je inhibovat růst houbového mycelia bez poškození chráněné rostliny. Mezi kontaktní fungicidy řadíme sulfonamidy, ftalimidy, guanidiny a další (Carisse, 2010). Protože se kontaktní fungicidy aplikují na rostliny, je třeba obsáhnout listy z obou stran a to několikanásobně zvyšuje potřebné množství přípravku a objem vody. Han (2014) uvádí, že se u kontaktních fungicidů používá řádově více vody než při použití herbicidních postřiků.

3.1.1.2 Systémové

Přípravky na bázi systémových fungicidů mohou oproti kontaktním ochránit nejen nadzemní části rostlin, ale i kořeny před houbovými organismy. Sortiment systémových fungicidů převažuje nad kontaktními. Systémové fungicidy jsou oproti kontaktním distribuovány do celé rostliny. Přípravky se rostlinou dostávají z apoplastu do protoplastu až do floémových buněk. Výhodou je možnost používat méně přípravku a nesmyje se, což je ekonomicky a ekologicky výhodnější. Mezi zástupce řadíme karboximidy, dikarboximidy, karbamáty, azoly (triazoly, imidazoly,...) a další (Carisse, 2010; Han, 2014).

3.2 Triazolové fungicidy

Triazoly jsou skupina systematických fungicidů, které obsahují 1,2,4-triazol a jsou používány na odstraňování množství houbových onemocnění ovoce, zeleniny, luštěnin a zrnin pro před- a posklizňovou aplikaci (Tomlin, 2009).

Biochemický mechanismus jejich protekčního efektu je založen na inhibování biosyntézy ergosterolu, čímž ovlivňují tvoření houbových buněčných stěn. To vede ke změně ve složení plazmatické membrány, ve které je ergosterol nahrazen jiným steroidem, tím je poškozena funkčnost membrány. Následkem je zpomalení až zastavení růstu buňky, které

může vyústit až k její smrti. Triazoly mají především vliv na sterol 14 α -demethylázu a proto jsou označovány jako sterolové biosyntézní inhibitory (DMI fungicidy [DeMethylation Inhibitors]) (Stenersen, 2004). 14 α -demethyláza je enzym, který se podílí na přeměně lanosterolu na ergosterol. Tento jev má za následek zabránění aktivace kyslíku nutného pro demethylaci a následné hromadění toxických látek (Lüllmann a kol., 2004).

V důsledku schopnosti inhibovat enzymy účastnící se biosyntézy steroidních hormonů jsou triazolové fungicidy potenciálně schopné produkovat endokrinní látky, které mohou mít nežádoucí vliv na člověka či zvěř (Zarn a spol., 2003). Díky tomuto zjištění byla následně přibližně polovina těchto látek zařazena do seznamu prioritních chemických látek v rámci strategie EU pro endokrinní disruptory (European Commission DG Environment, 2008).

Tyto metody vyžadují předzpracování. Separaci předchází komplikovaná izolace směsi analytů z matrice, může docházet ke zkreslení výsledků analýz v souvislosti s výtěžností extrakcí, interferencí analytů, či jejich transformací v průběhu přípravy, a proto nejsou vhodné pro rychlou analýzu z velkého množství vzorků či pro stanovení na místě. Za alternativu podrobného zkoumání reziduí je považována imunochemická analýza. Upřednostňovaná pro svou jednoduchost, nízkonákladovost a mobilitu. Další výhodou je její navržení pro zkoumání většího množství vzorků (Sannino a spol., 1999; Zambonin a spol., 2002; Bicchi a spol., 2001; Sannino, 2004; Schermerhorn a spol., 2005; Lee a spol., 2001; Morozova a spol., 2005).

I přes to, že je chemický účinek triazolů povětšinou interpretován jako inhibice ergosterolové biosyntézy pouze u hub (Baldwin a Wiggins, 1984), dle „Fransinel, Patterson and Dutky, 1979“ jsou triazoly schopny ovlivňovat řasy anebo dokonce vyšší rostliny (Schmitt and Benveniste, 1979; Schmitt, Rahier and Benveniste, 1982). Ullmann (2003) definuje ve své práci triazoly jako látky, které blokují syntézu ergosterolu prostřednictvím fungálního cytochromu P-450.

Dle Action (2012) mohou některé triazolové fungicidy tzv. chelátovat, respektive vyvázat určité prvky ze stávajících vazeb. Chelatace může zpřístupnit většinou kovové prvky.

3.2.1 Penkonazol

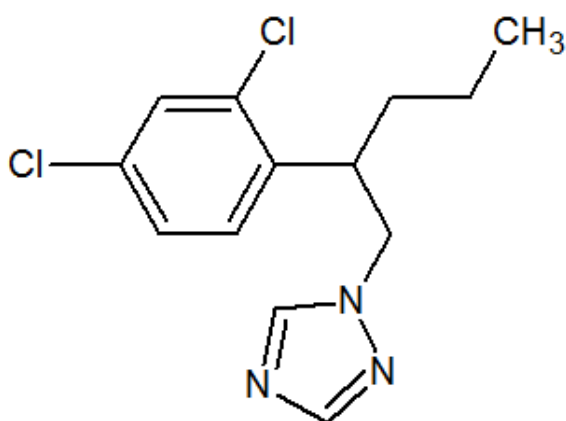
Tento fungicid, spadající do skupiny syntetických triazolů, je používán v zemědělství aplikací na list. Inhibuje biosyntézu ergosterolu, což je steroidní látka, ovlivňující propustnost

a jiné vlastnosti membrán, obsažená v buněčných membránách nižších eukaryot, především hub a kvasinek (Mattsoff, 1995; Weete a kol., 2010; Pose-Juan a kol., 2010; „ECHA“ 2012).

3.2.1.1 Chemické vlastnosti

Penkonazol (1-[2-(2,4-dichlorophenyl)pentyl]-1*H*-1,2,4-triazol; C₁₃H₁₅Cl₂N₃; **obr. 1; Penk**) je jemný bílý prášek s velice nízkou rozpustností ve vodě, dle SIGMA-ALDRICH (2015) cca 73 mg/L při teplotě 25°C). Molekulová hmotnost **Penk** je 284,184 g/mol, teplota tání je 58,5 °C (Bradley a kol., 2014).

Obrázek 1 – Konstituční vzorec penkonazolu (ChemSketch)



Bod vzplanutí **Penk** je 100 °C. Udává se, že **Penk** je stabilní za doporučených skladovacích podmínek. Jedná se o silné oxidační činidlo (SIGMA-ALDRICH, 2015).

3.2.1.2 Použití penkonazolu

Díky schopnosti inhibovat rozvoj hub zasahováním do biosyntézy sterolů v jejich buněčných membránách byl představen jako zemědělský systematický fungicid užívaný na tykvovité, hroznovité, jádrové ovoce a zeleninu. Reziduální limity pro **Penk** byly stanoveny na 0,2 mg/kg pro jádrové ovoce (JMPR, 1992).

Za nejúčinnější se považuje aplikace na list pomocí rozprašujícího zařízení. Následně bývá fungicid velmi často absorbován a distribuován dále po rostlině (Kim a kol., 2002).

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský se sídlem v Brně uvádí k datu 30. 9. 2014 spotřebu **Penk** za rok 2013 pro Českou republiku 312,909 kilogramů jakožto postřik či případně součást postřiků na ovoce (Musil, 2016). Jelikož se jedná o selektivní fungicid, lze

porovnat tyto údaje s celkovým množstvím použitých fungicidních přípravků např. za rok 2013 v ČR. Celkově bylo na ovoce použito 214 563 kg. Procentuelně zastupuje **Penk** přibližně 0,146 % v pesticidech používaných v České republice (Musil, 2016). **Penk** se mimo jiné používá jako ochrana rostlin proti padlí. Z taxonomického hlediska spadá padlí do řádu Erysiphales, třídy Leotimycetes, oddělení Ascomycota a říše Fungi (Wang a kol., 2006). Jedná se o parazitické organismy způsobující stejnojmenné onemocnění. Zástupci řádu Erysiphales jsou velice specializovaní ektoparazité cévnatých rostlin. Onemocnění se projevuje většinou jako bílý povlak, který se může vyskytovat na každé z částí rostliny. Houbovitá struktura organismu je protkána haustorií, díky níž pronikají do hostitelských systémů (Bélanger a kol., 2002).

Jedním z přípravků založených na bázi **Penk** je TOPAS 100 ES. Obsahuje 100 g/L roztoku **Penk**. Účinek tkví v systematickém ničení kultur padlí. Aplikací na list se účinná látka dostává do nových přírůstků. Poškozuje mycelia, respektive hyfy parazitických organismů. Emulgovaný koncentrát chrání především jabloně proti jabloňovému padlí, jádroviny proti strupovitosti a révu vinnou proti révovému padlí. Lze jej používat preventivně po celou dobu sezóny, ale i kurativně na zasažené rostliny. Další ochranné funkce zastává pro okurky, rajčata a papriky – též chrání proti padlí, podobně jako u jabloní či u révy (Martínek, 2017). Aplikuje se postřikem, je důležité dbát na možnost vyplavení přípravku z rostlin deštěm a na vyloučení možnosti poškození okolních rostlin. Je třeba postupovat dle pokynů v příbalovém letáku. Vzhledem k tomu, že se jedná o přípravek aplikovaný tzv. na list, je třeba zamezit možnému splachu správným naplánováním doby aplikace. (Lovela, 2006).

3.2.1.3 Biodegradabilita

Grade (1999) popsal biodegradabilitu **Penk** za pomoci 29 denního screeningového testu. Výsledkem byl rozklad pouhých 9 % degradované látky, což dělá z **Penk** nesnadno biologicky rozložitelnou látku, která má tendence k hromadění v půdě (Grade, 1999).

3.2.1.4 Toxicita

Testy akutní toxicity byly dle EFSA Scientific Report (2008) prováděny na kryších, králících a morčatech. LD50 se stanovovalo u kryš a králíků se shodným výsledkem, v rozsahu 200-2000 mg/kg při orálním podání. Ani při orálních, kožních či inhalačních testech

nedocházelo k úhynu testovaných krys. Morčata byla vystavena působení na oči a kůži bez prokazatelného účinku (EFSA, 2008).

Pokusy testující toxicitu a karcinogenitu **Penk** byly prováděny na krysách a myších. U krys se jednalo o dvouleté testy, jejichž výsledkem bylo stanovení hranice NOAEL 15 mg/kg/ /den kvůli nízké odezvě testovaných organismů. Myši byly použity pro osmdesátitýdenní a dvouletý test. Při kratším pokusu docházelo k redukci tělesné hmotnosti jedinců, dvouletý test neměl žádný účinek. Hranice NOAEL byla stanovena na 36 mg/kg/ /den.

Výsledkem obou testů je vyvrácení hypotézy o karcinogenním potenciálu **Penk** (EFSA, 2008). Bylo však dokázáno, že **Penk** má negativní vliv na štítnou žlázu, prostatu a hmotnost varlat (Bolong a kol. 2009).

Při testování mutagenity a genotoxicity dle EFSA Scientific Report (2008) *in vitro* nedocházelo k žádným mutacím v bakteriálních či savčích buňkách. Též nedocházelo k chromozomálním aberacím u CHO buněk. **Penk** nepoškozoval syntézu DNA v hepatocytech krys.

Při experimentech s mikrojadéřkovou kostní dřeví test neodhalil žádný důkaz o klastogenní nebo aneugenické aktivitě *in vivo*. Dospělo se k závěru, že **Penk** nemá žádný genotoxický či mutagenní potenciál (EFSA, 2008).

3.2.1.5 Vliv na růst rostliny

Efekt **Penk** na suchem stresovanou rostlinu poleje obecné (*Mentha pulegium* L.; Lamiaceae) byl prověřen pokusem Hassanpour a kol. (2013). Rostliny byly vystaveny působení tohoto fungicidu (v dávce 15 mg/L) a různým vodním deficitům. Sucho redukuje, mimo jiné, i obsah sacharidů a chlorofylů, což snižuje možnost fotosyntézy a zpomaluje růst. Bylo prokázáno, že **Penk** snižuje negativní dopady sucha tím, že reguluje osmotickou rovnováhu a zprostředkovává bílkovinnou akumulaci. Tyto výsledky naznačují, že přítomnost tohoto fungicidu má nejen funkci ochrany proti nežádoucímu napadení padlí či jiného houbovitého organismu, ale může být i užitečným nástrojem pro zmírnění stresu vyvolaného suchem (Hassanpour a kol., 2013).

3.3 Půda

Půda je velmi specifickým komponentem biosféry, protože to je nejen geochemická nádrž pro kontaminanty, ale chová se také jako přirozený regulátor pro transport chemických látek a substancí do atmosféry, hydrosféry a bioty (Kabata-Pendias, 2011). Na vzniku půdy jako takové se podílelo mnoho biotických a abiotických faktorů – mateční hornina, podzemní voda a srážky, ale také biotický činitel či vliv člověka (Kozák a kol, 2009; Kabata-Pendias, 2011). Nejvýznamnější rolí půdy je produkce biomasy, shromažďování, filtrace a transformace látek a vody. Půda působí jako zásobárna uhlíku a surovin k růstu rostlin a v neposlední řadě vytváří kulturní a fyzikální prostředí pro lidský druh (Kozák a kol., 2009).

3.3.1 Klasifikace sledovaných půd

Aby bylo možné postihnout případné vlivy penkonazolu na půdní procesy, přístupnost živin a růst rostlin, byly vybrány 3 půdy s odlišnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, tyto půdy byly následně uměle kontaminovány.

Půdy se dělí do sofistikované hierarchie na půdní třídy, typy, subtypy, variety, subvariety, fáze a formy. Pro naše zkoumání je dostačující rozdělení na referenční třídy uvedené níže (Němeček a kol., 1990).

3.3.1.1 Fluvisoly

Třída fluvisolů vznikla periodickým usazováním sedimentů, což má za výsledek nepatrně větší obsah humusu až do hloubky jednoho metru (>0,3%). Půdní prostor bývá často zvrstvený. Fluvisoly mohou být nalezeny v oblasti kolem říčních niv, popř. v oblastech, které jsou nebo byly pravidelně zaplavovány. Fluvisoly se dělí na fluvizemě a koluvizemě (Němeček a kol., 1990).

3.3.1.2 Černosoly

Výskyt černosolů je mapován především na severovýchodě a severozápadě od Prahy, ale také v okolí Brna, především na jihu. Černosoly mají charakteristickou drobtovou až zrnitou strukturu a obsahují velké množství humusu až do hloubky 60 cm. Vyvinuly se ze sypkých

karbonátových substrátů. Dělíme je na černozemě a černice, a jejich subtypy (Nemeček a kol., 2001).

3.3.1.3 Kambisolý

Kambisolý jsou v ČR velmi mohutně zastoupeny a jsou rozprostřeny poměrně rovnoměrně. Dělíme je na kambizemě a její subtypy a pelozem. Výskyt kambisolů můžeme pozorovat jako následek zvětrávání pevných či zpevněných hornin, či ve vrstvách jiných substrátů. Tato třída se vyznačuje vysokou fluktuací zrnitosti, acidifikace či širokou škálou humózních horizontů (Kozák a kol., 2009). Vzhledem k širokému spektru matečných substrátů nacházíme u kambisolů širokou škálu zrnitostních horizontů (Němeček a kol., 1990).

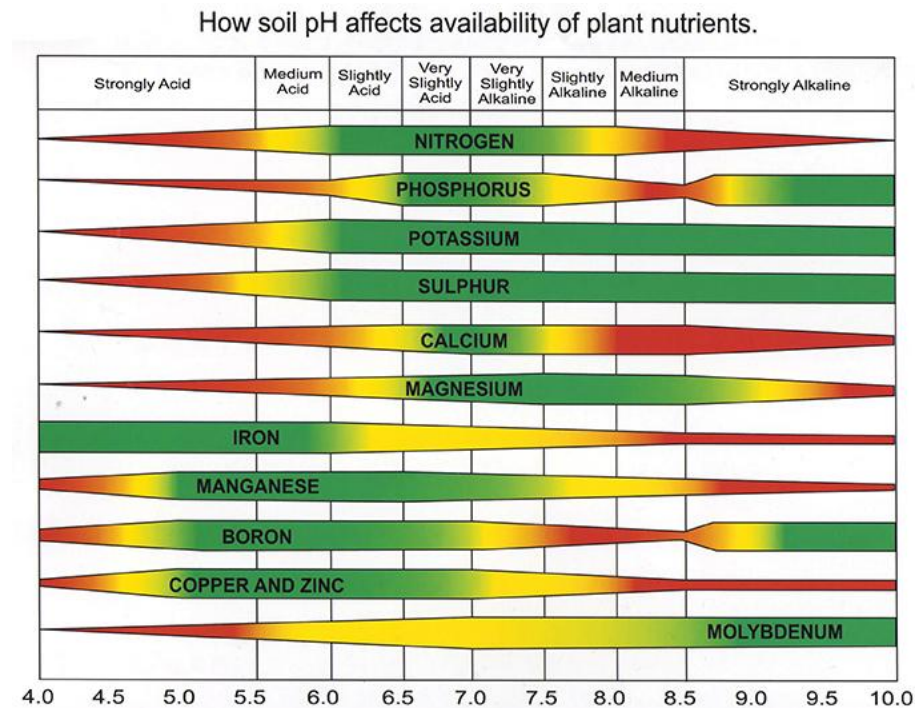
3.3.2 Typy půd

Půdní typy (velké půdní skupiny) jsou ústřední taxonomickou kategorií systému, který zahrnuje půdy charakterizované diagnostickými horizonty a jejich sekvencemi. Mezi subtypy patří modální až extrémně bazické půdy s rozdílnými texturami. Půdy řadíme do typů dle stejných diagnostických horizontů (Němeček a kol., 1990).

3.3.3 Půdní reakce (pH)

Volné vodíkové ionty v půdním roztoku způsobují aktivní kyselost. Pomocí suspenze jemnozeme a destilované vody v poměru 1:2,5 se stanovuje pH (resp. pH/H₂O). Měření probíhá potenciometricky. pH půdy je schopno ovlivňovat přístupnost živin rostlinám (Covington a kol, 1985). Obrázek č. 2 zobrazuje, jak půdní pH ovlivňuje přístupnost živin.

Obrázek č. 2 – Jak pH půd ovlivňuje přístupnost živin



zdroj obrázku: <http://www.jonathangreen.com/importance-soil-ph.html>

3.3.3.1 Výměnná acidita

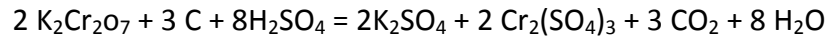
Výměnnou aciditu způsobují volné vodíkové ionty a vodíkové ionty, vytěsňené z organominerálního půdního komplexu pomocí roztoku neutrální soli – CaCl_2 . Označuje se jako pH/CaCl_2 . Měření probíhá potenciometricky (Pansu a Gautheyrou, 2006).

3.3.4 Elektrická vodivost

Toto stanovení je rychlou a snadnou metodou pro změření elektrické vodivosti půdního výluhu, pro stanovení obsahu rozpustných solí. Pomocí přístroje na měření elektrické vodivosti se po vylouhování zeminy v demineralizované vodě naměří potřebné údaje. Stanovení vychází z Ohmova zákona. Kapalné vodiče mají za stejných podmínek stejný odpor, tedy elektrickou vodivost. Jednotka vodivosti je Siemens (Pansu a Gautheyrou, 2006).

3.3.5 Obsah humusu

Dle Simse a Habyho (1971) se v prostředí koncentrované kyseliny sírové oxiduje uhlík organických sloučenin za pomoci dichromanu draselného. Tuto skutečnost demonstruje následující rovnice:



Kolorimetrické stanovení je založeno na faktu, že Cr^{3+} , které se v rovnici vyskytuje jako $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$ má maximální absorpci při 600 nm. Počet atomů vytvořeného Cr^{3+} je přímo úměrné oxidovanému uhlíku (Sims a Haby, 1971).

3.3.6 Mobilita živin v půdě a její stanovení

Extrakce jsou dělicí (separační) metody využívající rozdílných rozpustností prvků v rozpouštědlech pro zjištění mobility, tedy přístupnosti prvků v půdě (Zbiral, 2003).

3.3.6.1 Potenciálně přijatelné formy živin

Tento extrakční test se používá pro agrochemické zkoušení půd. Extrakci roztokem Mehlich III lze užít pro půdy kyselé i neutrální. Výluh nám umožní zjistit obsahy následujících prvků: fosfor, draslík, vápník, mangan, vápník, hořčík, železo a zinek. Extrakční činidlo Mehlich III má pH 2,5 a lze jej připravit směsí zředěné silné minerální kyseliny a chelatačních činidel (Klement, 2005). Přítomnost EDTA napomáhá uvolnit nutričně významné mikroelementy, kyselou reakci pak zajišťují kyselina octová a dusičnan amonný (Poláková a kol., 2010).

3.3.6.2 Extrakce roztokem Mehlich III

Existuje mnoho běžných analytických metod pro určení množství živin v testovaných půdách. Zatímco je úrodnost půdy důležitým parametrem rostlinné výroby, většina výrobních nákladů spojených s výživou rostlin je nízká v porovnání s celkovými náklady. S tím jsou úzce spojeny náklady na analytické metody. Nejefektivnějším a zároveň levným způsobem, jak zjistit obsah mobilních prvků v půdě, je extrakce podle Mehlich (1984). Další zásadní výhodou je možnost komplexně zanalyzovat vzorek půdy a dosáhnout tak komplexního povědomí o množství hned několika prvků (Mehlich, 1984).

3.3.7 Vodní kapacita

Plná neboli maximální vodní kapacita v půdě nastane v okamžiku, kdy jsou všechny póry zaplněny vodou a je většinou výsledkem vydatných dešťů. Následuje pohyb vody

způsobený gravitací a evaporace. Množství vody je úzce spojeno s pórovitostí typu půdy (Brady a Weil, 2002).

3.4 Mobilita a vlivy esenciálních prvků

Pro kvalitní růst, vývoj a následné rozmnožení potřebuje rostlina kromě světla, tepla, kyslíku, oxidu uhličitého a vody i dostatečné množství biogenních prvků, respektive živin (Hrůza, 2010). Kyslík, vodík a uhlík jsou rostliny schopné přijímat ze vzduchu, ostatní nezbytné živiny se nalézají v půdě (Radulov a kol., 2009). Eyal ve své práci z roku 2007 rozdělil minerální prvky na hlavní a vedlejší. Do skupiny hlavních makroprvků patří dusík, fosfor a draslík, do vedlejší vápník, hořčík a síra. Stran mikroprvků, mezi základní řadí mangan, měď, zinek a železo a do vedlejších spadá sodík, křemík či selen.

Mobilita, respektive pohyblivost prvků v půdním prostředí, je definovaná pomocí podmínek prostředí. Mezi hlavní charakteristiky půdy ovlivňující mobilitu prvků patří pH, kationtová výměnná kapacita, poměr organické složky, redoxní potenciál a aerace půdy (Tlustoš, 1999; Wenzel a kol., 1999). Dle Hornburg a Brümmer (1993) klesá mobilita prvků v půdě v pořadí $Cd > Ni > Zn > Cu > Pb$. Biopřístupnost prvků lze charakterizovat procesem sorpce či desorpce, který může být ovlivněn mnoha činiteli. Vliv na biopřístupnost může mít kyselost, respektive zásaditost půdního prostředí, obsah humusových látek atp. (Trakal a kol, 2011).

Následující kapitola popisuje prvky, které mají nejdůležitější vliv na růst rostlin, lze je snadno kvantifikovat a byly zkoumány v pokusech této diplomové práce.

3.4.1 Mikroprvky

Mezi mikroprvky patří železo, zinek, jód, mangan, měď, fluor, molybden, chrom a selen. Rostliny využívají mikroprvky jen v nízkých koncentracích, ale i přes to jsou nedílnou součástí stavby rostliny (Koubová, 2005). Nedostatek jakéhokoliv prvku omezuje využití ostatních živin. Důsledkem je snižování výnosů plodin (Baier, 1979). Jestliže se nedostatek živiny prohloubí, může docházet k fyziologickým poruchám či dokonce nemocem (Hlušek a kol., 2002).

Dle Neuberger a kol. (1978) je stále častějším fenoménem hnojení chemicky čistějšími hnojivy, než bylo zvykem. Do půdy se tak dostává množství dusíku, fosforu a draslíku, na úkor mikroprvků. Dle Mikanová a Šimon (2013) bude docházet k postupnému vytlačování

anorganických hnojiv a jejich nahrazování organickými, jako je kompost či digestát z plynových stanic.

3.4.1.1 Mangan

Mangan se vyskytuje v několika oxidačních stupních. Mezi nejběžnější pro rostliny patří Mn^{2+} , Mn^{3+} , Mn^{4+} a Mn^{5+} , dominantní a nejstabilnější je manganatý kationt Mn^{2+} , který rostliny absorbují nejčastěji a nejsnadněji. Vstup do rostliny probíhá skrze usnadněnou difuzi, nahromaděním kationtů vně buněk (Yan a kol., 1992).

Mangan hraje katalytickou roli jako součást nebo aktivátor pro více než 30 enzymů (Burnell, 1988).

Tento prvek zaujímá jistou funkci i v systému Fotosyntéza II, jeho nedostatek snižuje schopnost rostliny využívat kyslík a tak brzdí fotosyntézu (Pirson, 1937; Kessler a kol. 1957; Eyster a kol 1958).

Nedostatek manganu se projevuje chlorotickými pruhy vznikajícími na paralelní žilnatině listů. Při dlouhodobém nedostatku dochází k hnědnutí (nebo červenému hnědnutí) či nekrotám (Agarwala and Sharma, 1979). Deficit manganu se může též projevovat zvýšením pH a množstvím organické hmoty (Huber and Mc Cay-Buis, 1993).

3.4.1.2 Měď

Měď je redoxně aktivní tranzitní kov. Vyskytuje se ve dvou oxidačních úrovních a to Cu^+ a Cu^{2+} . Větší stabilitu vykazuje forma Cu^+ . Schopnost měděných iontů podstoupit reverzní změnu oxidačních stavů ($Cu^+ \rightarrow Cu^{2+}$; $Cu^{2+} \rightarrow Cu^+$) umožňuje mědi participovat na oxidačně-redukčních procesech v buňkách (Guss, 1996).

Rostliny přijímají měď v již zmíněné stabilnější formě, Cu^+ , do které je redukována plasmaticky vázanými měďnatými reduktázami (Hasset and Kosman, 1995; Georgatsou a kol., 1997). Toto pravděpodobně zahrnuje stejný plasmatický membránový reduktázový systém, který se stará o redukci Fe^{3+} (Welch a kol., 1993).

Měď je kofaktor pro mnoho reakcí v rostlinách včetně oxygenáz, které způsobují redukci jednoho atomu molekuly kyslíku (O_2) na vodu a využívají druhý atom pro oxygenaci či hydroxylaci látek. Měď je také kofaktorem enzymů s větším počtem kovů, jako je například cytochrom c oxidáza (Lippard, 1999; Rae a kol., 1999; O'Halloran and Culotta, 2000).

Podobně jako mangan i měď se účastní fotosystému II (Baron a kol., 1990). Jako kovová složka plastocyaninu hraje měď klíčovou roli ve spojení fotosystému I a II a jejich kooperujících funkčních necyklických transportech elektronů z vody do NADP (Maksymiec, 1997).

Nedostatek mědi se projevuje nejprve u mladých listů. Zprvu dochází k deformaci listů, následně k zastavení apikálního růstu. Příznaky se liší podle morfologie listů a druhu rostliny. Apikální část listů může být postižena chlorózou, vadnout či se kroutit (Rahimi and Bussler, 1973; Hopmans, 1990). Měďový deficit může, díky důvodům zmíněným výše, zpomalovat fotosyntetickou aktivitu rostlin (Ayala a kol., 1992; Pandey and Sharma, 1996).

3.4.1.3 Zinek

Jedná se o esenciální prvek pro rostliny. Podílí se mimo jiné na metabolismu nukleových kyselin a dále na zpracování RNA a DNA. (Hansch a Mendel, 2009). Kationt Zn^{2+} se dostává do rostliny, kde je dále transportován jako ion či se naváže na organické kyseliny. S příjmem této živiny úzce souvisí teplota, která může negativně ovlivňovat jeho příjem rostlinou, v chladu je přijímán nesnadněji (Reid a kol., 1996). Zinek plní v rostlinách strukturální, ale i funkční roli. Vytváří strukturní komponenty mnoha bílkovin s katalitickou nebo regulační funkcí. Je známo přes 300 enzymů, které obsahují zinek jako kofaktor (Valee and Auld, 1990). Obsah zinku má vliv na redukci acetaldehydu na ethanol za pomoci alkohol dehydrogenázy (protein obsahující zinek), která probíhá v meristémech. Zinek je schopný aktivovat enzymy, napomáhá metabolismu cukrů a účastní se proteosyntézy. Oproti ostatním metaloenzymům se zinek nemůže podílet na oxidačně-redukčních dějích, jelikož se vyskytuje pouze ve stavu Zn^{2+} (Berg and Shi, 1996).

Vysoké koncentrace mohou zpomalit růst kořenů a inhibovat funkci enzymu Rubisco. Zinek je schopen ovlivňovat aktivitu karboxyláz, avšak aktivita oxygenáz zůstává nedotčená (Clarkson and Hannson, 1980). Nedostatek zinku může mít za následek tvorbu slabých a zpomaleně rostoucích kořenů (Čumakov, 1976).

3.4.1.4 Železo

Železo je třetí nejhojnější prvek v zemské kůře. Vyskytuje se ve dvou oxidačních stavech, jako Fe^{3+} železitý a Fe^{2+} železnatý ion. Příjem železa je důležitý pro růst a diskutuje

se i o jeho homeostatické roli v ochraně před abiotickými stresy (Slater a kol., 2003). Železo se vyskytuje také v oxidech, hydroxidech, fosforečnanech apod. K jeho uvolňování dochází také díky redoxním dějům způsobeným půdními mikroorganismy, jako např. *Thiobacillus ferrooxidans* (Steven et. al, 1984).

Taxonomické rozdíly mezi rostlinami ovlivňují způsob mobilizace železa z rhizosféry a transportu plasmalemou (Römheld and Marschner, 1986; Brown and Jolley, 1989).

Enzymy a bílkoviny obsahující železo formují komponenty pro mitochondriální a fotosyntetický elektronový transport. Železité enzymy katalyzují řadu reakcí, které jsou esenciální v primárním metabolismu a biosyntéze sekundárních metabolitů. Svou roli hrají v biosyntéze giberelinů či etylenu, což je zásadní pro regulaci vývojových procesů v rostlinách (Berthold and Stenmark, 2003).

Železo se hromadí především v listech a tak se jeho nedostatek projevuje zejména jejich chlorózou, která se zprvu vyskytuje u listové základny. Chloróza se dále zintenzivňuje a objevuje na paralelní žilnatině listů. Delší či akutní nedostatek vede k bělení a rozpadu mezofylu v chlorotických oblastech, výsledkem je jejich vysušení. Některé oblasti se mohou zbarvit hnědě nebo nekrotizovat. Některým druhům tyto oblasti fialoví nebo růžovějí (Baier a kol., 1985; Bisht, 2002).

3.4.2 Makroprvky

Biogenní prvky, nepostradatelné pro metabolismus rostlin. Mezi makroprvky řadíme především sodík, vápník, hořčík, fosfor, draslík a síru. Makroprvky se v organismech vyskytují řádově v procentech (desetinách až desítkách procent), významně ovlivňují růst a vývoj rostliny a živočichů. Pomáhají udržovat homeostázu vnitřního prostředí, uplatňují se ve strukturách fosfolipidů, energetických ATP. Jsou součástí stavby bílkovin a nukleových kyselin a podílejí se také na regulaci jako součásti enzymů či fytohormonů (Baier a kol., 1985).

3.4.2.1 Hliník

Geochemicky se jedná o jeden z nejdůležitějších prvků (Wedepohl, 1969). V neutrálních či alkalických půdách je jen málo rozpustný, při sníženém pH se jeho přístupnost zvyšuje a působí neblaze na rostliny – hromadí se v kořenové části a znesnadňuje příjem jiných iontů, především fosforu. Některé formy hliníku jsou od určité koncentrace

toxické, především ve formě chelátů s nízkomolekulárními organickými látkami. Pro svou snadnou distribuci v půdě se mohou dostat až do podzemní vody a intoxikovat ji (Comin a kol., 2006).

Hliník se standardně neřadí mezi esenciální prvky (Markert, 1993). Jeho účinkem může být stimulace rostliny, ale při vyšší koncentraci působí negativně na její růst (Rout a kol., 2001).

3.4.2.1 Fosfor

V půdě se vyskytuje ohromné množství sloučenin fosforu. V kyselých, popřípadě mírně kyselých půdách najdeme především fosforečné sloučeniny s železem a hliníkem. V neutrálních a zásaditých půdách se obvykle vyskytují fosforečné sloučeniny s vápníkem. Organický fosfor bychom v půdě našli ve formě kyseliny fytové. Ke zdatnému hromadění fosforu přibíhá především v reprodukčních orgánech (Brady et Weil 2002). Obsahy fosforu v půdě nejsou jen otázkou hnojiv nebo přirozených vlastností půd, ale přirozeně i klimatických podmínek, zvětrávání a vymílání vodou (Stevenson, 1986).

Rostlinou přijímán především jako aniont H_2PO_4^- . Deficience fosforu se projevuje menší listovou plochou a sníženým počtem listů, které tmavnou. Dalšími projevy jsou změny v alokaci sacharidů, morfologii kořenového systému a redukcí reproduktivních orgánů. Je též důležitý pro fotosyntézu (Vaněk a kol., 1999). Nedostatek fosforu se projevuje redukcí biochemických procesů, především tvorby cukrů a bílkovin. Znatelnější nedostatky mohou způsobit poruchu reprodukční schopnosti rostlin, zakrslost či omezený růst letorostů. Nadbytek druhotně způsobuje nedostatek zinku (Baier a kol., 1985).

3.4.2.2 Hořčík

Hořčík je jeden z mnoha biogenních prvků nutných pro růst a rozvoj rostlin. Je úzce spojen s chlorofylem, jehož je součástí. Chlorofyl je zelené barvivo (pigment), obsažené v zelených rostlinách, ale i řasách nebo sinicích. Jeho důležitost tkví v účasti na fotosyntéze, jelikož absorbuje světelné záření a následně syntetizuje sacharidy (Vernon a Seely, 1966).

K hromadění hořčíku dochází především v listech. Jeho nedostatek se na nich projevuje chlorózou mezi žilnatinou starých listů. Silný nedostatek může způsobovat i nekrózy. Příjem hořčíku probíhá především ve formě iontů Mg^{2+} . Průměrný obsah hořčíku

v rostlině se pohybuje mezi 0,1-1 %, tedy cca 0,3 % (0,2-0,4 %) v sušině (Barker a Pilbeam, 2015).

Kyselá půda, zejména v podloží, omezuje příjem vody a tedy i živin kořenům. Acidifikace s nedostatkem hliníku, manganu, železa, fosforu, vápníku, hořčíku a draslíku může vést ke sníženým výnosům (Peveřill a kol., 1999).

3.4.2.3 Draslík

Draslík je základní živina pro růst rostlin. Velké množství je absorbováno skrz kořeny (Rehm a kol, 2002). Draslíkové ionty jsou esenciálními pro výživu rostlin (Greenwood a kol., 1997).

Přebytek draslíku, obvykle v důsledku nadměrného hnojení, podporuje stres z nedostatku hořčíku a zvyšuje toxicitu hliníku (Barker a Pilbeam, 2015). Dle Roy a kol. (2007) se nejčastěji vyskytuje ve formě chloridu draselného (KCl), síranu (K_2SO_4) či dusičnanu (KNO_3).

3.4.2.4 Vápník

Vápník je třetí nejrozšířenější neušlechtilý kov. Obsah vápníku v sušině rostlin se pohybuje mezi 0,4 – 1,5 % v závislosti na druhu a části rostliny. Vápník je rostlinami přijímán ve formě Ca^{2+} kořeny přes biologické membrány. Příjem vápníku je ovlivněn pH prostředí. Translokace vápníku v rostlině probíhá za pomoci xylému, ne však floému, ve kterém dochází k jeho imobilizaci. Vápník má vliv na aktivitu katalázy a jiných enzymů v rostlině. Má schopnost ovlivňovat semipermeabilit buněčných membrát a tím stabilizovat jejich strukturu. Nedostatek vápníku má vliv na kořeny rostlin. Může docházet k netvoření kořenových vlásků až k rozpadu kořenů (Marschner, 1995).

3.4.3 Stanovení celkového obsahu prvků

Jedná se o destruktivní techniku rozkladu vzorků mokrou cestou (mokrý rozklad). Tato analýza je založena na smísení vzorku se směsí koncentrovaných minerálních kyselin. Celý chemický proces se dělí na dva kroky, v prvním se kyselou hydrolýzou naruší struktura organické hmoty, vzniklé meziproducty podléhají oxidaci. Rychlost reakce je dána teplotou popř. přidávkem katalyzátorů. Maximální teplota reakce je však určena maximální teplotou varu sloučenin účastnících se rozkladu. Jako oxidační činidla se nejčastěji používají reakční

směsi kyseliny dusičné s peroxidem vodíku, kyselinou chloristou či sírovou nebo kyselina dusičná s kyselinou chloristou či sírovou (Madler a Čurdová, 1997).

Obecně řečeno, existují dva typy rozkladů a několik podtypů. Základní je rozdělení na rozklad v otevřeném a uzavřeném systému. Uzavřený systém je z mnoha úhlů pohledu výhodnější. Konkrétně se jedná o zabránění ztrátám těkavých plynů, což souvisí se sníženou spotřebou reakčních činidel, a zamezení kontaminace vzorků. Srovnáme-li všechny faktory, výsledkem bude zvýšení efektivity pokusu i z ekonomické stránky. Nejčastěji se setkáme se zářením okolo 2450 MHz (tedy 600-700 W). Díky vibracím, respektive interakcím mikrovlnného záření s molekulami, dochází k zahřívání směsi (Madler a Čurdová, 1997).

3.5 Fotosyntéza

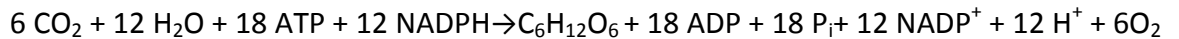
Fotosyntéza se uplatňuje u zelených rostlin, řas, sinic a fotosyntetických bakterií. Sluneční svit je transformován do chemické energie. U zelených rostlin potřebuje fotosyntéza, mimo světla jako zdroje energie, navíc dvě další složky: vodu a oxid uhličitý z atmosféry. Organické složky vznikající během fotosyntézy, přímo nebo nepřímo, jako jsou sacharidy, karbohydráty, lipidy a bílkoviny, slouží jako potrava pro všechny živé organismy (Ke, 2000).

Obecně se předpokládá, že byla Země zformována před 4,6 biliony lety a život započal před 3,5 biliony lety. První protagonisté byli pravděpodobně fotosyntetické organismy – bakterie a primitivní řasy. Důkazy indikují, že vývoj sinic započal před 2 biliony let a vedl k akumulaci kyslíku v atmosféře. Přítomnost kyslíku a produkce fauny vyššími rostlinami měla za následek vývoj heterotrofních organismů (Ke, 2000). V minulém století Emerson a Arnold (1932) předpokládali, že funkce chlorofylu ve fotosyntéze je kooperativním jevem. Mnoho chlorofylových molekul se účastní konverze jednoho fotonu do elektronu.

Dle Emerson a Arnold (1932) zelené rostliny obsahují tzv. tylakoidy, ve kterých je uložen chlorofyl, esenciální sloučenina pro fotosyntézu. Základní fotochemický proces zahrnuje rozklad vody na kyslík, který je vypouštěn do atmosféry a redukční energii ve formě NADPH a ATP.

Biosyntéza sacharidů z oxidu uhličitého probíhá ve stromatu, která jsou umístěna v chloroplastech, cestou Calvinova cyklu. Zformování šesti-uhlíkatého cukru vyžaduje proběhnutí šesti Calvinových cyklů, pro každý jsou třeba 3 molekuly ATP a 2 molekuly

NADPH. Následující rovnice zachycuje fotosyntézu, jejímž výsledkem je jedna molekula glukózy, vytvořená ze šesti molekul CO₂:



3.5.1 Chlorofyl

Elektromagnetická energie, především ve viditelné části téměř červeného spektra, je schopna iniciovat fotosyntézu ve fotosyntetickém zařízení. Hlavním pigmentem je chlorofyl. Chlorofyl obsahuje makro-cyklické tetra-pyrolové prstence, které mají strukturu podobnou hemové skupině v hemoglobinu a cytochromu. Hlavním centrálním kovovým iontem u chlorofylu je Mg²⁺, oproti hemu, kde se vyskytuje Fe²⁺ a Fe³⁺ (Ke, 2000).

Kromě chlorofylu *a* mohou fotosyntetické organismy obsahovat i jiné druhy chlorofylů. Chlorofyl *b* se vyskytuje u zelených rostlin a zelených řas, Chlorofyl *c* v hnědých řasách a rozsivkách, a chlorofyl *d* v červených řasách. Tyto druhy chlorofylů se liší obsahem různých substitučních skupin na tetra-pyrolovém prstenci (Ke, 2000).

Obsah chlorofylu se stanovuje za pomoci spektrofotometru proměřením absorbcí tzv. trichromatickou metodou. Výpočet obsahu v extraktu se provede dle Jeffrey a Humphrey (1975).

4 Materiál a metody

Aby se co nejlépe prozkoumaly vlivy triazolového fungicidu **Penk**, byl pokus rozdělen do několika dílčích bodů, které celkově vytvořily představu o vlivu **Penk** na růst rostlin a půdní sorpce. V neposlední řadě byla nepřímo studována i jeho degradace.

4.1 Charakteristika jednotlivých pokusů

4.1.1 Vegetační experiment

Předpěstování rostlin probíhalo za shodných podmínek, výsevem do výsevního substrátu „Výsev a množení s aktivátorem zakořeňování“ od společnosti Agro. Předpěstování trvalo 2 měsíce.

4.1.1.1 Založení pokusu

Pro umělou kontaminaci půd **Penk** byl připraven 100% pracovní roztok **Penk**, z tohoto základního roztoku se následně poměrově připravil 20% roztok. Jako kontrola sloužila samotná demineralizovaná voda. Byla vždy použita dávka 100 mL/500 g půdy (1 květináč), 20% roztok byl připraven přídatkem 14 mg **Penk** do 1 litru demineralizované vody, tedy 2,8 mg **Penk** na kilogram půdy, 100% roztok přídatkem 73 mg **Penk**, tedy 14 mg **Penk** na kilogram půdy. Pokus probíhal ve 4 opakováních pro každou variantu, celkově tedy v počtu 36 nádob.

Pro vegetační pokus byly použity vždy 2 předpěstované sazenice. Dvoutýdenní rostliny rajčat jedlých byly rozděleny do květníků po dvou. Pokus probíhal ve třech koncentracích – 0; 2,8 a 14 mg/kg, respektive 0; 14 a 73 mg/L. Ve čtyřech opakováních, použity byly tři druhy půd. Hladina vlhkosti byla udržována na hodnotě 60 % maximální vodní kapacity.

Po dvouměsíčním pokusu byly zkoumány rozdíly ve výnosech, obsahu chlorofylu a mineralizaci biomasy.

4.1.1.2 Sklizení rostlin

Po dvou měsících, na konci vegetace, byly všechny rostliny zdokumentovány, změřeny, zváženy a použity na další analýzy. Každá z rostlin byla opatrně oddělena od

kořenové části ještě v květníku. Rostliny byly zváženy vždy jako dvojice pro každý květník. Následně bylo z každého vzorku odebráno několik listů, které se později použily pro analýzu obsahu chlorofylů.

4.1.2 Půdní inkubační pokus

Půdní inkubační pokus měl prověřit, jakým způsobem se mění mobilita živin v půdách s přídatkem **Penk** v porovnání s kontrolním vzorkem, zdali bude mít přídavek fungicidu vliv na sorpci, jestli ovlivní mykorhizu. Cílem byla i snaha vypořádat možnou degradaci fungicidu, která by se projevila změnou přijatelnosti živin v čase. Pokus byl nastaven tak, aby obsahoval maximální a optimální koncentraci, řada byla doplněna o kontrolní, 0%, koncentraci (tzn. celkem 3 koncentrace). K dispozici byly tři výše zmíněné pokusné půdy, každý květník obsahoval 4 opakování a prováděly se 4 odběry. Ve výsledku se tedy jedná o 144 pokusných nádob. Pokus byl založen 7. 12. a byl prováděn ve školním skleníku za stálých podmínek. Byly provedeny čtyři odběry. První odběr byl uskutečněn druhý den pokusu (8. 12.), druhý odběr po jednom týdnu po založení (14. 12.), třetí odběr čtyři týdny po založení (4. 1.) a poslední odběr po osmi týdnech po založení (1. 2.). V půdách byla udržována vlhkost rovná 60% maximální vodní kapacity, květníky byly zakryty fólií a pokus probíhal za stabilní teploty.

Odebrané vzorky byly sušeny při stálé teplotě a vlhkosti, následně byly vysypány do plastových sáčků, popsány a dopraveny do laboratoře pro další zkoumání. Půdy byly následně podrobeny analýze dle Mehlich (1984).

4.1.2.1 Stanovení maximální vodní kapacity

Stanovení maximální vodní kapacity slouží ke kvantifikaci půdních pórů, respektive schopnosti půdy pojmout vodu. Průběh byl následující – vzorky použitých půd byly zváženy a následně se vložily do nádobek s vodou a překryly hodinovým sklem. Pokus trval 180 minut a na jeho konci se vzorky položily na filtrační papír, nechaly 30 minut stát a následně byly zváženy znovu.

Výpočet maximální vodní kapacity (WHC) se provedl dle následující rovnice, kdy „a“ je hmotnost prázdné nádoby, „b“ hmotnost nádoby s usušenou půdou a „c“ hmotnost nádoby s půdou nasáklou vodou. $WHC = (c-b)/(b-a)$. Výpočet sloužil k určení, kolik vody bude třeba doplňovat, respektive na kterou váhu květníku bude třeba doplňovat vodu při inkubačním pokusu.

4.1.3 Sorpční laboratorní experiment

Sorpční laboratorní experiment je založený na ustálení rovnováhy pro každou z daných půd a pesticid v roztoku báze elektrolytu, s následným měřením prvků v roztoku.

Sorpční pokus by měl definovat, zdali a případně jakým směrem ovlivňuje přidavek fungicidu mobilitu živin v půdě, díky čemuž by se mohla měnit dostupnost živin pro rostliny.

Sorpční pokus byl proveden dle Trakal a kol. (2011). Pro experiment s krátkodobou sorpcí bylo zvoleno pět koncentrací **Penk** - 0, 20, 40,60 a 100 %. Konkrétně se jedná o dávku 0; 14,6; 29,2; 43,8 a 73 mg **Penk** na litr roztoku. Poměrově odpovídající množství **Penk** bylo naváženo do odměrných baněk o objemu 250 ml. Do každé baňky bylo přidáno 25 ml 0,1M KNO_3 a následně byla doplněna demineralizovanou vodou po rysku. Tímto způsobem se vytvořily zásobní roztoky pro další analýzu. Následující tabulka reprezentuje schéma pokusu.

Tabulka č. 1 – Schéma sorpčního laboratorního experimentu

vzorek	% nasycení	konc. Penk (mg/L)	mL Penk	mL KNO_3
1	0	0	0	25
2	20	14,6	50	25
3	40	29,2	100	25
4	60	43,8	150	25
5	100	73	250	25

0,1M roztok KNO_3 byl připraven přidáním 2,04 g KNO_3 do 200 ml demineralizované vody. Následně došlo k očíslování 45 plastových butylek o objemu 50 ml (3 půdy, 5 koncentrací a 3 opakování). Do každé butylky bylo vždy naváženo 0,5 g půdy 20 ml roztoku. Směs byla třepána 24 hodin ve tmě za laboratorních podmínek.

Po třepacím cyklu bylo třeba homogenizovanou směs odstředit. Dále následovala analýza ICP-OES.

4.1.4 Stanovení celkových obsahů prvků

Rozklad půdních vzorků probíhal ve dvou opakováních a zkoumány byly tři druhy půd v šesti vzorcích a kontrolní vzorek. Do každé nádoby bylo naváženo přesně cca 0,5 g

jemnozemi a přidáno 2,5 ml koncentrované HNO_3 , 10 ml koncentrované HCl a 1 ml H_2O_2 , následně byly nádoby uzavřeny a vloženy do nízkotlakého reaktoru typu ETHOS 1, což je mikrovlnná pec pro kyselinové tlakové rozklady, a mineralizovány mikrovlnným rozkladem. Maximální teplota pokusu byla 180 °C. Po ukončení programu se vzorky nechaly zchladnout a následně se kvantitativně převedly do 25 ml zkumavek pomocí demineralizované vody a analyzovány na přístroji ICP-MS (EPA, 1996).

Pro analýzu rozkladu biologického materiálu byly použity kořeny a nadzemní části z vegetačního pokusu.

Navážilo se přesně cca 0,5 gramů vzorku do nádoby na mikrovlnný rozklad. Následně se přidalo 8 ml HNO_3 a 2 ml H_2SO_4 . Poté se vzorky vložily do přístroje pro mikrovlnný rozklad, podobně jako při analýze základních půd.

Po ukončení programu přístroje ETHOS1 se vzorky vyndaly do prostoru s digestoří a nechaly chladnout. Následně byly převedeny do 25ml zkumavek pomocí demineralizované vody. Vzorky se následně nechaly analyzovat na přístroji ICP-MS.

4.2 Pokusný materiál

4.2.1 Biologický

Pro testování vlivu **Penk** na růst rostlin bylo použito rajčete jedlého, respektive lilku rajčete (*Solanum lycopersicum L.*). Jednalo se o tyčková rajčata. Dodavatelem semen byl Moravoseed, start verze, F1 generace. Rajče jedlé patří spolu s lilkem bramborem (*Solanum tuberosum*) do čeledi lilkovitých. Rajče jedlé je rychle rostoucí rostlina, která se hojně pěstuje pro potravu a která je často ochraňována pesticidy.

4.2.2 Abiotický

Vlivy **Penk** byly zkoumány na třech půdách. Z obce Choťánky byla dovezena fluvizem, z obce Suchdol modální černoze a z obce Humpolec modální kambizem.

Všechny tři půdy byly přesátý přes síto s oky o velikosti 2 mm. Půdy byly sušeny na vzduchu. Následovala homogenizace půd. Zemina pro pokusy byla skladována za stálých podmínek.

4.3 Charakteristika použitých půd

Pro pokusy byla vybrána tři odběrná místa, aby byl pokus co nejvíce průkazný a jeho výsledky mohly být chápány v širším spektru. Lokalitami pro odběrná místa byly Choťánky, Humpolec a Suchdol.

Vzorky půd pro mikrobiologické analýzy byly po přivezení z odběrných míst homogenizovány, rozsypany do tenké vrstvy a sušeny na vzduchu, při průměrné teplotě 21°C. Po vyschnutí byly půdy homogenizovány během prosévání nejprve přes hrubé síto a později na jemnozem přes 2 mm síto.

4.3.1 Použité půdy

Pro výzkum, popsaný v této diplomové práci, byly vybrány následující zeminy: fluvizem, dovezená z odběrného místa v Choťánkách, modální kambizem, dovezená z odběrného místa v Humpolci a konečně modální černozem, z odběrného místa v oblasti Suchdola. Důvody výběru těchto konkrétních půd je jejich charakteristická struktura, složení, zrnitost a v neposlední řadě rozdílné pH, které je úzce spojeno s přístupností živin a reakcemi v půdě. Stanovení půdní reakce (pH) a elektrické vodivosti (μS) pro zkoumané půdy je umístěna v přílohách, mimo jiné definuje průměrné hodnoty a odchylky. Konkrétní pokusy jsou popsány v kapitole Laboratorní analýzy.

4.3.1.1 Fluvizem (Choťánky)

Fluvizem byla odebrána v zájmovém místě v okolí obce Choťánky. Fluvizem je součástí skupiny fluvisolů. Základními rozpoznávacími znaky fluvizemí jsou vrstevnatost a obsah nerovnoměrně rozložených organických látek, který je vyšší než 0,5 % v celém profilu. V takovém profilu lze nalézt novotvary, vzniklé vsakováním vody při záplavách. Půdy se vytvářejí z povodňových sedimentů v nivách řek a potoků. Fluvizem se dále dělí na několik subtypů, nejčastěji se vyskytuje modální (ze středně těžkých substrátů), stratifikovaná (výrazně vrstevnatá), kambická (výrazně hnědý horizont) a oglejená (středně výrazné znaky se vyskytují ve svrchní části profilu) (Němeček a kol., 2004).

4.3.1.2 Modální kambizem (Humpolec)

Modální kambizem byla odebrána v zájmovém místě v okolí obce Humpolec. Kambizem spadá do skupiny kambisol. Vznikaly v důsledku hnědnutí a bisialitizace, tedy chemickém zvětrávání mírných intenzit. Kambizem je vždy hnědší než půdotvorný substrát. Tyto horizonty se vytvořily především v hlavním souvrství magmatických svahovin, sedimentárních a metamorfických hornin, převážně v periodicky promyvného režimu. Modální kambizem byla vytvořena ze středně těžkých a lehčích středních substrátů (Němeček a kol., 2004).

4.3.1.3 Modální černozem (Suchdol)

Modální černozem byla odebrána v zájmovém místě v okolí obce Suchdol. Modální černozem je zástupcem černosolů. Jedná se o hlubokohumózní půdy s černickým horizontem. Vyskytují se především v hloubkách 0,4 – 0,6 metrů. Černozemi byly vyvinuty z karbonátových sedimentů. Průměrný obsah humusu těchto sorpčně nasycených půd fluktuje mezi 2 a 4,5 %. Modální černozem je tvořena především ze spraší s kalcickým horizontem (Němeček a kol., 2004).

4.4 Laboratorní analýzy

Pro veškeré laboratorní analýzy byly použity vzorky jemnozeme, proseté přes síto o velikosti ok 2 mm. Jemnozeme byla sušena při pokojové teplotě.

4.4.1 Přístupné živiny

Pro stanovení mobilních částí prvků v půdách byla užitá extrakční procedura Mehlich III. Mehlich III je extrakční činidlo sestávající z následujících látek: 0, 2 mol. l⁻¹ CH₃COOH, 0, 015 mol. l⁻¹ NH₄F, 0, 013 mol. l⁻¹ HNO₃, 0, 25 mol. l⁻¹ NH₄NO₃ a 0, 001 mol. l⁻¹ EDTA.

Postup:

Pro přípravu roztoku Mehlich III je třeba vytvořit zásobní roztok, do jednoho litru demineralizované vody se naváží 13,9 g NH₄F a 7,34g EDTA. Extrakční činidlo se vytvoří sloučením 40 ml zásobního roztoku, 20 g NH₄NO₃, 11,5 ml CH₃COOH a 0,8 ml HNO₃, následně se doplní do objemu 1 litr demineralizovanou vodou.

Samotný postup začíná navážením 10 g jemnozeme dané půdy do PVC lahvičky, navážená zemina se následně zalije 100 ml extrakčního činidla Mehlich III. Následuje třepání v třepačce při otáčkách 2000 rpm a v délce 5 minut. Po vytřepání se vzorek ihned zfiltruje a následně měří na přístroji ICP (Mehlich, 1984).

4.4.2 Stanovení pH

Do 100 ml kádinky se naváží 20 g jemnozeme a zalije 50 ml 0,01M roztoku CaCl_2 . Následně se směs intenzivně zamíchá tyčinkou a nechá se hodinu odstát. Pomocí pH-metru zjistíme hodnotu pH. K měření se používá skleněná elektroda.

4.4.3 Stanovení elektrické vodivosti

Do třepací baňky se naváží 10 g zeminy, která se zalije 50 ml demineralizované vody. Třepací baňku je pak nutné 5 minut třepat ve třepačce. Ihned po ukončení třepání se suspenze přefiltruje přes filtrační papír do kádinky. Vzniklý filtrát se nechá analyzovat měřicí elektrodou. Koncentrace solí v půdním roztoku se hodnotí dle následující tabulky.

Tabulka č. 2 – Hodnocení elektrické vodivosti

vodivost ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	půdy
do 0,70	nezasolené
0,71 – 1,20	středně zasolené
nad 1,20	zasolené

4.4.4 Kolorimetrické stanovení obsahu humusu

Postup:

Do 100 ml širokohrdlých odměrných baněk se naváží 1 g jemnozeme. Do každé odměrné baňky se následně napipetuje 10 ml $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a 10 ml koncentrované H_2SO_4 . Směs se pečlivě promísí a nechá se 20 minut odstát. Následně se obsah baňky zředí demineralizovanou vodou přibližně na objem 90 ml a pod proudem vody se baňka ochladí. Následně se doplní demineralizovanou vodou po risku, tzn. na 100 ml celkového objemu. Směs se promísí a zfiltruje. Filtrát se následně proměřuje na kolorimetru při vlnové délce 600 nm.

Příprava standardů:

Samotnému pokusu předcházela příprava 5 standardů sacharózy (S1, S2, S3, S4, S5) s obsahem 1, 2, 3, 4, a 5 ml sacharózy respektive 5, 10, 15, 20 a 25 mg C. Pro standardy byl použit 1,188% roztok sacharózy (1 ml obsahuje 5 mg C). Do odměrných baněk se napipetuje 1, 2, 3, 4 a 5 ml sacharózy a, přidá 10 ml $K_2Cr_2O_7$ a 10 ml koncentrované H_2SO_4 . Následný postup je shodný s postupem pro analýzu vzorků. Ze zjištěné řady se sestrojí kalibrační graf.

Hodnocení:

Vyhodnocení obsahu organického uhlíku probíhá podle následující tabulky.

Tabulka č. 3 – Hodnocení obsahu organického uhlíku

obsah	Cox %
velmi nízký	pod 0,6
nízký	0,6-1,1
střední	1,1-1,7
vysoký	1,7-2,9
velmi vysoký	nad 2,9

4.4.5 Extrakce pigmentů z rostlin a následné stanovení chlorofylu

Postup:

Do 50 ml odběrných baněk se naváží přesně 1-2 gramy každého vzorku listů. Do vzorku se přidá křemenný písek a listy se následně rozmělní ve třecí misce tloučkem. Do misky se přidá lžička $MgCO_3$, kvůli neutralizaci organických kyselin uvolněných z tkáně. Postupně se přidává aceton (cca 10 ml). Po dokonalém rozmělnění se vzorek kvantitativně převede acetonem (cca 10 ml) ze stříčky na filtr ve filtrační nálevce. Filtrování probíhá přímo do 50 ml odměrné baňky (filtr je třeba důkladně propláchnout acetonem). Odměrná baňka se následně doplní acetonem po rysku. Vzorky se důkladně promíchají a nechají se analyzovat na spektrofotometru.

Výpočet obsahu chlorofylů:

Výpočet obsahu chlorofylů byl uskutečněn dle následujících rovnic.

$$CHLa = 11,85 A_{664} - 1,54 A_{647} - 0,08 A_{630} \text{ (chlorofyl a)}$$

$$CHLa = -5,47 A_{664} + 21,03 A_{647} - 2,66 A_{630} \text{ (chlorofyl b)}$$

$$CHLa = -1,67 A_{664} - 7,60 A_{647} + 24,52 A_{630} \text{ (chlorofyl c)}$$

4.5 Použitý penkonazol

Pro pokusy byl použit **Penk** se standardní čistotou 95,5 %. Dodavatelem použitého **Penk** je společnost SIGMA-ALDRICH, prodávající **Penk** pod obchodním názvem „Penconazol PESTANAL“ a číslem produktu 36189. Dodavatel uvádí, že rozpustnost jejich výrobku se pohybuje mezi 60,8 a 62,9 stupni Celsia. Příprava vždy čerstvého roztoku pro každý pokus probíhala rozmícháním 73 mg penkonazolového prášku v 1 litru demineralizované vody.

4.6 Zpracování dat

Analýzy a grafy byly zpracovány v programech Excel, verze 2007, a Statistica 12.

5 Výsledky

V této diplomové práci byly zkoumány účinky **Penk** na rostliny, jejich růst a obsahy chlorofylů a půdy v ovlivnění přístupu živin. **Penk** je standardně obsahem komerčních prostředků. Vliv **Penk** je třeba chápat komplexně. Je totiž schopný v jisté míře ochraňovat rostliny před houbovými onemocněními, nicméně vyvstává otázka, do jaké míry je schopen ovlivňovat půdu, v které žijí rostliny a okolí polí.

5.1 Půdní charakteristiky

5.1.1 Stanovení elektrické vodivosti a pH

Pro přesnější charakteristiky všech tří půd, dovezených z lokalit obcí Choťánky, Suchdol a Humpolec, byly proměřeny jejich vlastnosti. Jednalo se o stanovení elektrické vodivosti, změření pH a stanovení obsahu humusu.

V následující tabulce je znázorněno pH a vodivost u zájmových půd. Průměrná hodnota pH u fluvizemě byla 6,22, u černozemě 7,85 a u kambizemě 5,52. Průměrná vodivost pro fluvizemi byla určena pokusem jako 182,67 μS , pro černozem 270 μS a pro kambizem 194 μS .

Výsledkem měření je rozdělení půd dle pH. Fluvizem je mírně kyselá, černozem mírně zásaditá a kambizem kyselá viz následující tabulka. Tabulka s kompletními výsledky je v Přílohách jako Příloha č. 1. Následuje tabulka definující průměrné pH a elektrickou vodivost pokusných půd.

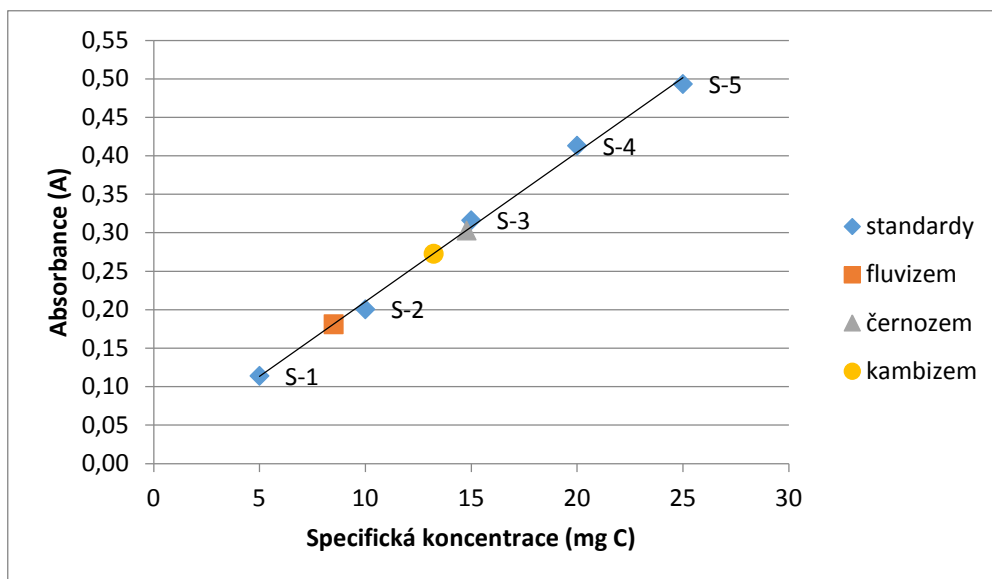
Tabulka č. 4 – pH a elektrická vodivost pokusných půd

půda	průměr pH	odchylka	průměr (μS)	odchylka
fluvizem	6,22	0,01	182,67	10,21
černozem	7,85	0,02	270	4,55
kambizem	5,52	0,07	194	2,94

5.1.2 Stanovení obsahu humusu

V této kapitole jsou popsány výsledky stanovení obsahu humusu v pokusných půdách. Cílem je zjistit rozdíly mezi půdami. Pro proměření obsahu humusu u použitých půd byl použit standard sacharózy. Následující graf zobrazuje výsledky měření v porovnání s výsledky standardů.

Graf č. 1 – Stanovení obsahu humusu



5.1.2.1 Fluvizem

Obsah humusových látek, respektive koncentrace uhlíku v půdě, byla určena pokusem jako přibližně 0,85 %, což řadí fluvizem do skupiny půd s nízkým obsahem organického uhlíku. Tabulka a graf výsledků měření a přepočtu na fluvizemi je v Přílohách.

5.1.2.2 Černozem

Jako výsledek analýzy obsahu organického uhlíku v černozemi byla změřena hodnota přibližně 1,48 %, což řadí námi studovanou černozem do půd se středním obsahem organického uhlíku, resp. humusových látek. Tabulka a graf výsledků měření a přepočtu na černozem je v Přílohách

5.1.2.3 Kambizem

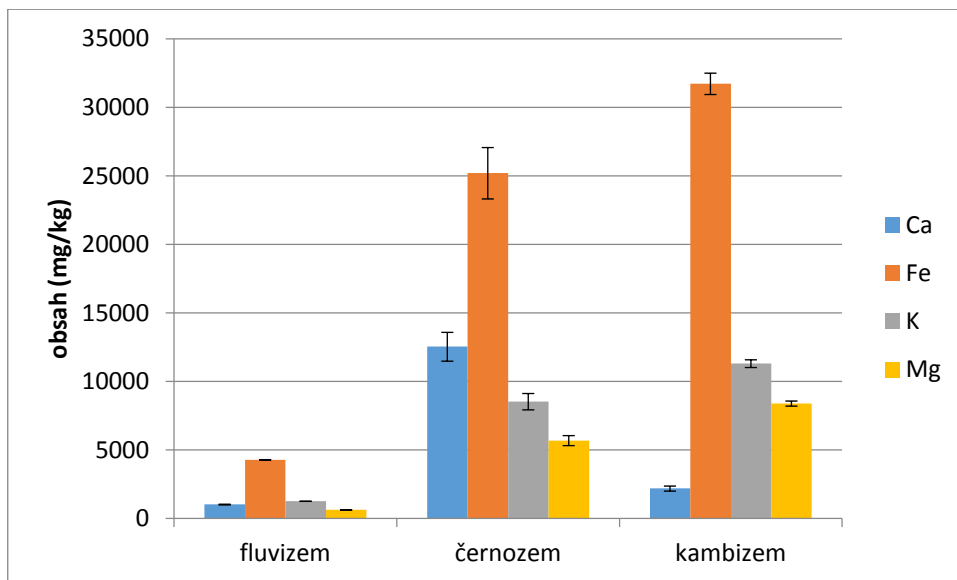
Analýza obsahu organického uhlíku ve sledované kambizemi prokázala přibližný obsah humusových látek jako 1,32 %, což řadí kambizem do půd se středním obsahem organického uhlíku. Tabulka a graf výsledků měření a přepočtu na kambizemi je v Přílohách

5.1.3 Celkové obsahy prvků v pokusných půdách

Pokusné půdy byly podrobeny analýze obsahu celkových prvků. Tyto testy ukazují, že kambizem a černozem obsahují několikanásobně více vápníku, železa, draslíku a hořčíku než

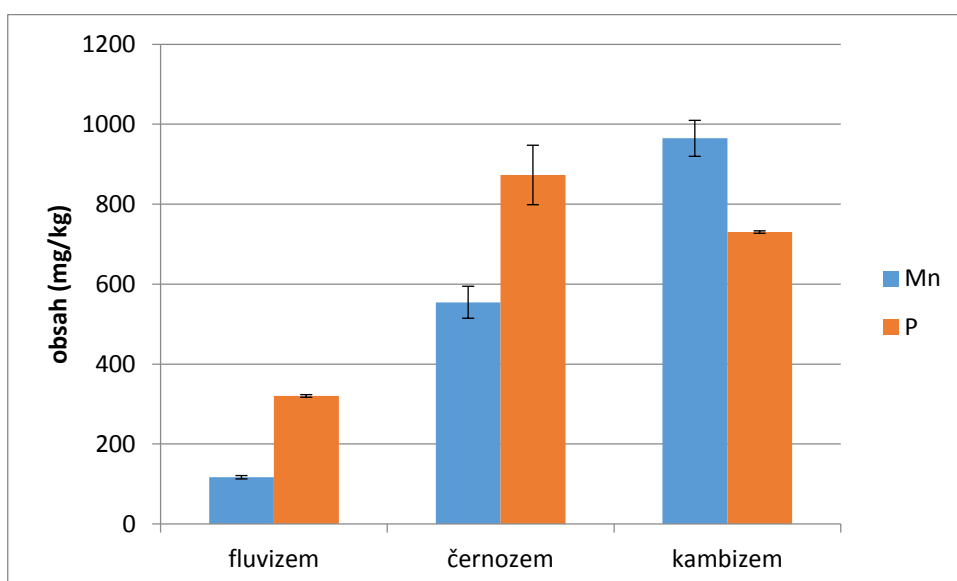
fluvizem, která se při testech na tyto čtyři prvky ukázala jako značně chudé podloží ve srovnání s ostatními pokusnými půdami. Poměry mezi prvky a půdami ukazuje následující graf.

Graf č. 2 – Obsahy vápníku, železa, draslíku a hořčíku v pokusných půdách



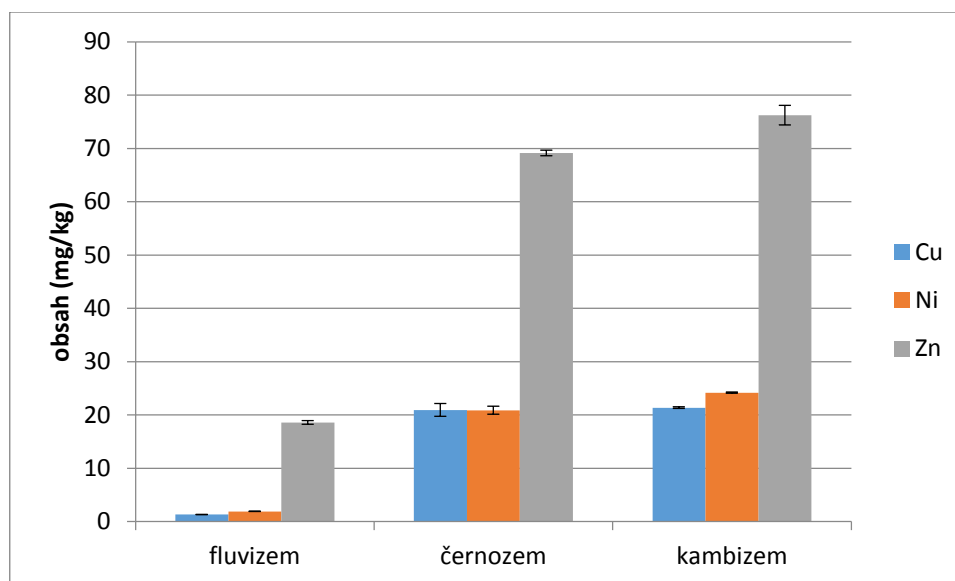
Následující graf zobrazuje rozdíly obsahů manganu a fosforu v pokusných půdách. Nejvyšší obsah fosforu byl zaznamenán v černozemi, nejnižší naopak ve fluvizemi. Nejvíce manganu obsahovala kambizem, nejméně opět fluvizem.

Graf č. 3 – Obsahy manganu a fosforu v pokusných půdách



Při zkoumání obsahů mědi, niklu a zinku v pokusných půdách byly výsledky testů IPC následující. Obsahy zinku v černozemi a kambizemi jsou velmi podobné, oproti tomu obsah zinku ve fluvizemi byl ve srovnání s ostatními půdami nejméně třetinový. Velmi podobné hodnoty niklu byly pozorovány u černozemě a kambizemě. Fluvizem obsahovala v podstatě dvacetinu niklu než ostatní půdy. Srovnatelné výsledky byly pozorovány u mědi. Graf níže zobrazuje obsahy mědi, niklu a zinku v pokusných půdách.

Graf č. 4 – Obsahy mědi, niklu a zinku v pokusných půdách.



5.2 Vegetační pokus

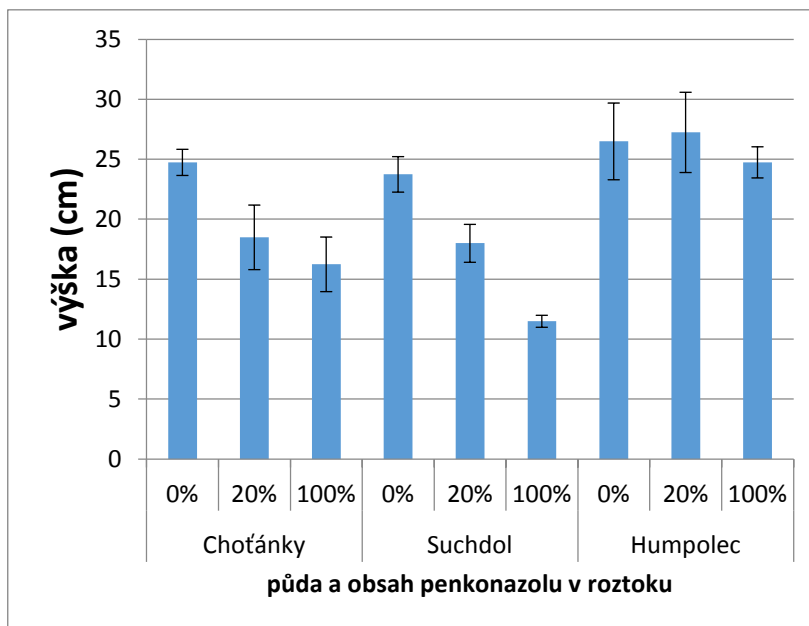
Vliv **Penk** byl zkoumán z mnoha úhlů pohledu. Vegetační experiment definuje vliv **Penk** přímo na růst rostliny a její vizuální stránku. Pro vegetační experiment, který měl prověřit vliv **Penk** na růst rostlin, byl použit zástupce čeledi lilkovitých, *Solanum lycopersicum L.* Ten byl pěstován na na třech půdách – fluvizem, modální černozem a modální kambizem a ovlivněn třemi koncentracemi **Penk**. Popisuje velikosti a váhy kořenů a nadzemních částí jednotlivých rostlin. Součástí vegetačního experimentu bylo i stanovení hodnoty chlorofylů u rostlin z pokusu.

5.2.1 Rostliny

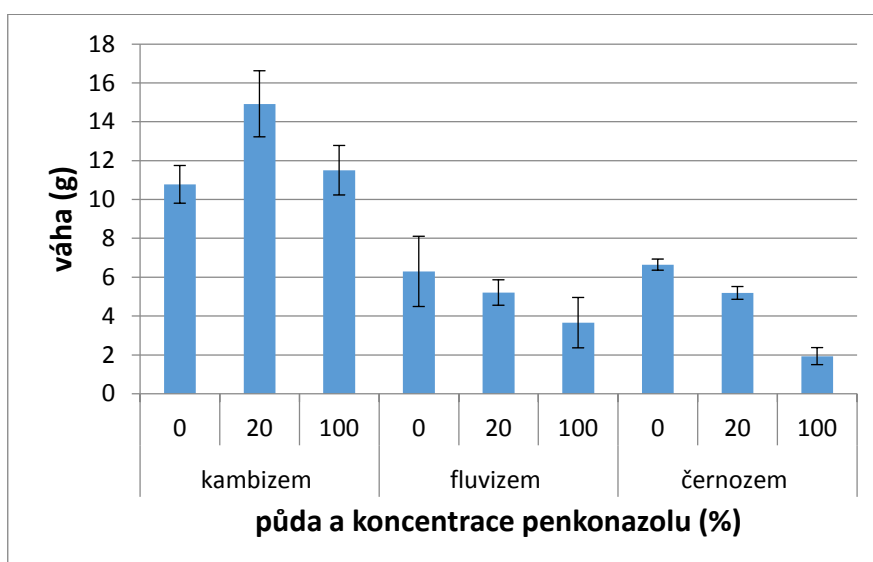
Při použití 100% roztoku **Penk** na modální černozem byl prokázán zásadní vliv na růst rostlin, jelikož byly výnosy oproti 0% koncentraci přibližně poloviční. **Penk** měl vliv i na růst

rostlin na substrátu fluvizemě, kdy díky 20% a 100% koncentraci roztoku **Penk** došlo ke snížení výnosů oproti kontrole o přibližně jednu třetinu. Na druhou stranu 100% koncentrace **Penk** neměla zásadní vliv na růst rostlin v modální kambizemi, dovezené z obce Humpolec. Vliv **Penk** na výšku a váhu rostlin reprezentují následující grafy.

Graf č. 5 – Výška rostlin



Graf č. 6 – Váha rostlin

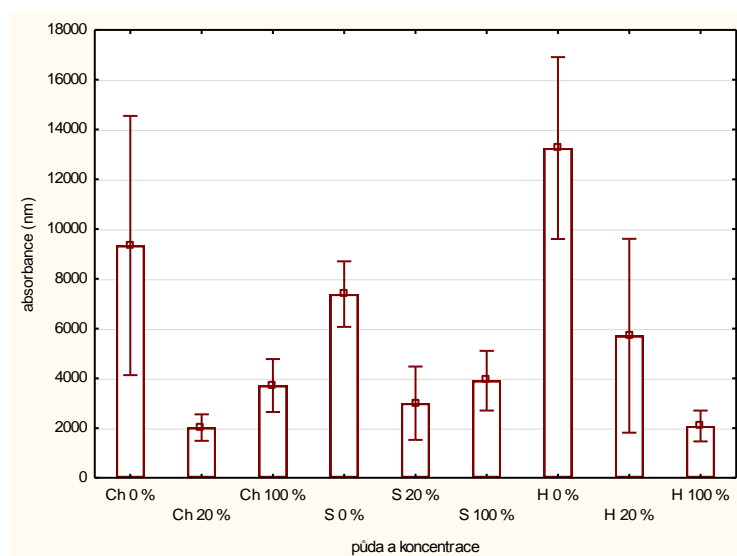


5.2.2 Obsah chlorofylu

Vliv na chlorofyl *a* je průkazný v 20% koncentraci **Penk** u fluvizemě, kdy došlo ke snížení hodnot v průměru o $\frac{3}{4}$ oproti kontrolnímu vzorku. Vliv na chlorofyl *a* u modální černozemě nebyl tak zásadní, nicméně při kontaminaci vzorku **Penk** došlo ke snížení koncentrace chlorofylu *a* přibližně na polovinu. Zásadní rozdíl vykazuje 0% a 100% koncentrace **Penk** v modální kambizemi. Oproti kontrole došlo k v průměru sedminásobnému snížení koncentrace chlorofylu *a*.

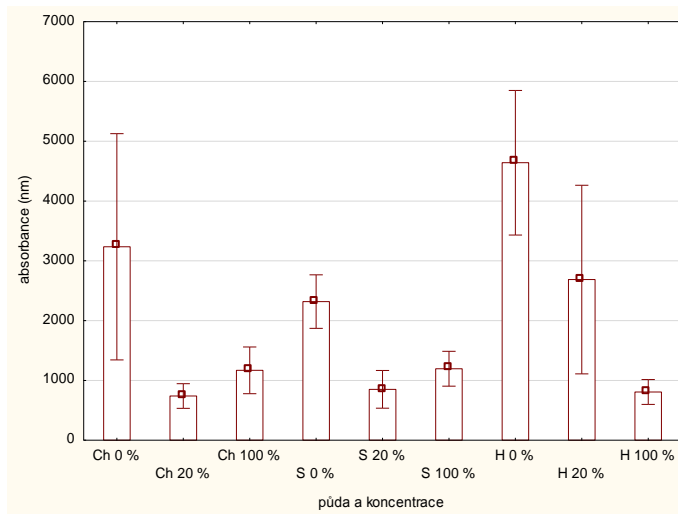
Rozdíly obsahů chlorofylu *a* mezi půdami a koncentracemi definuje následující graf.

Graf č. 7 – Obsahy chlorofylu *a*



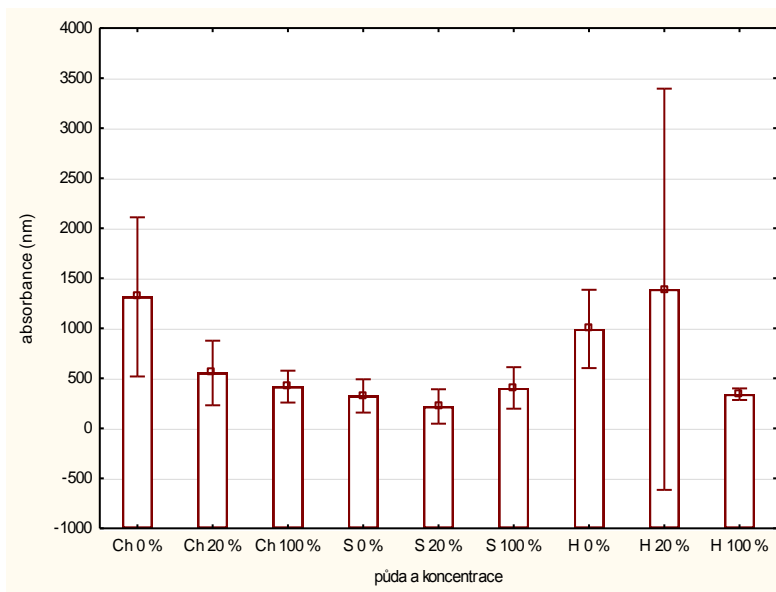
Byl prokázán vliv **Penk** na hodnoty chlorofylu u půdy Choťanky a Suchdol. Fungicid bezpochyby snižuje hodnoty chlorofylu *b* u fluvizemě a mod. černozem. 20% koncentrace neměla vliv na modální kambizemi, nicméně pro 100% koncentraci listy vykazovaly pouze zlomek koncentrace chlorofylu *b*. Vliv **Penk** na hodnoty chlorofylu *b* reprezentuje následující graf.

Graf č. 8 - Obsahy chlorofylu *b*



Vliv na chlorofyl *c* nebyl vzhledem k odchylkám průkazný. Což naznačuje následující graf.

Graf č. 9 - Obsahy chlorofylu *c*



5.3 Půdní inkubační pokus

V půdním inkubačním pokusu se zkoumal vliv **Penk** na přístupnost živin z dlouhodobějšího pohledu. Z hlediska vlivu **Penk** bylo sledováno 10 makro- a mikroprvků.

Výsledky tohoto pokusu naznačují, že **Penk** má vliv na přístupnost živin z půdního prostředí v krátkodobém horizontu (zkoumáno do 8. týdne), nicméně ve většině případů docházelo ke snížení vlivu fungicidu 8. týden a tak lze říci, že **Penk** degraduje v půdách a není persistentní. Můžeme tedy tvrdit, že je relativně bezpečné používat **Penk**

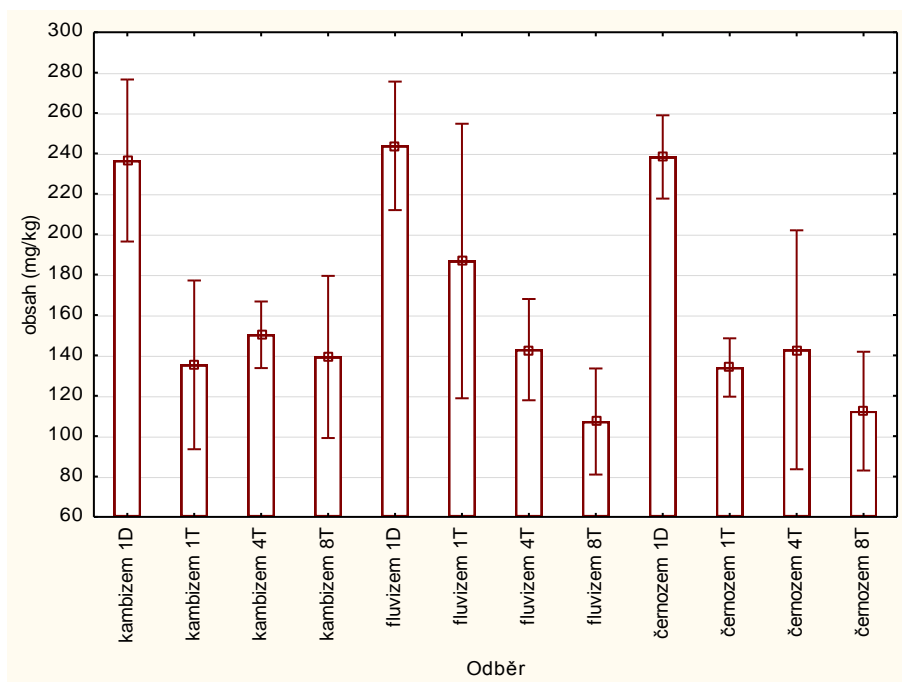
z dlouhodobého hlediska vůči půdě, nicméně je třeba upravit dávku, aby neměla vliv na přístupnost živin z půd. Domníváme se, že má **Penk** vliv na mikrobiální aktivitu v půdách a tím může ovlivňovat přístupnost živin pro rostliny.

Vliv kontaminace půdy **Penk** byl sledován na fluvizemi, kambizemi a černozemi. Konkrétní výsledky a porovnání mezi obsahy **Penk** a půdami jsou popsány v jednotlivých kapitolách níže.

5.3.1 Hliník

V obsazích hliníku v kontrolním vzorku panoval ve všech půdách trend snižování jeho přístupnosti s časem. Obsahy hliníku v kontrolním vzorku definuje následující graf.

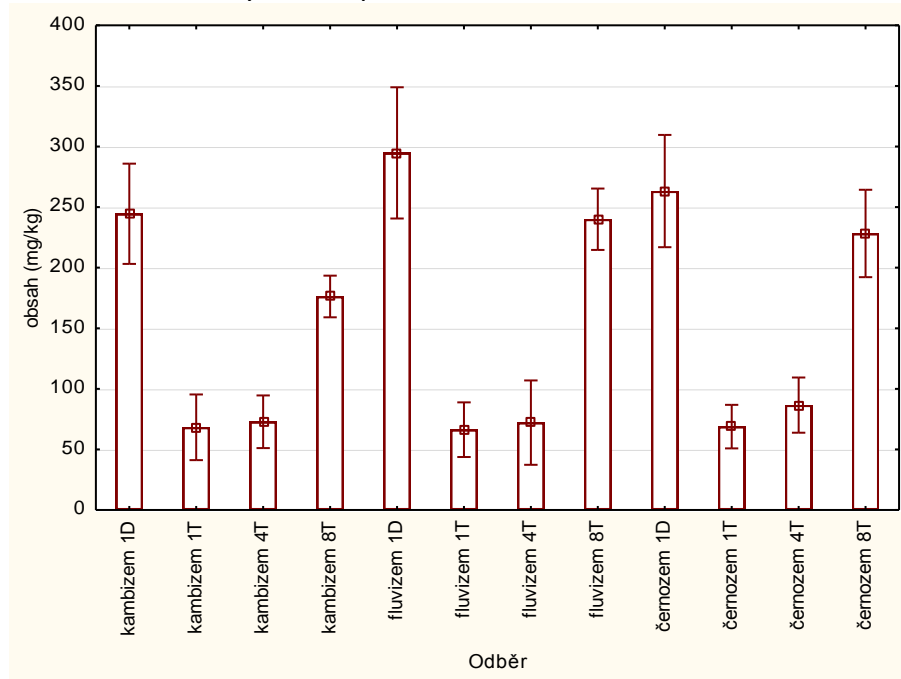
Graf č. 10 – Obsahy hliníku pro 0% koncentraci Penk



20 % roztok **Penk** měl oproti kontrole velký vliv na přístupnost hliníku z půdy u všech třech vzorků půd. První den odběru nemůžeme mluvit o snížení přístupnosti, na rozdíl od 1. a 4. týdne, kdy přístupnost hliníku rapidně klesla, oproti kontrole na polovinu. V osmém odběrovém týdnu se hodnota přístupnosti hliníku zvýšila přibližně na dvojnásobek předcházejících týdnů u kambizemě a černozemě dokonce na pětinasobek. Tento jev by mohl být následkem vlivu **Penk** na mikrobiální aktivitu, která byla v prvních několika týdnech značně potlačena, nicméně nárůst přístupnosti hliníku v posledním týdnu odběru mohla mít

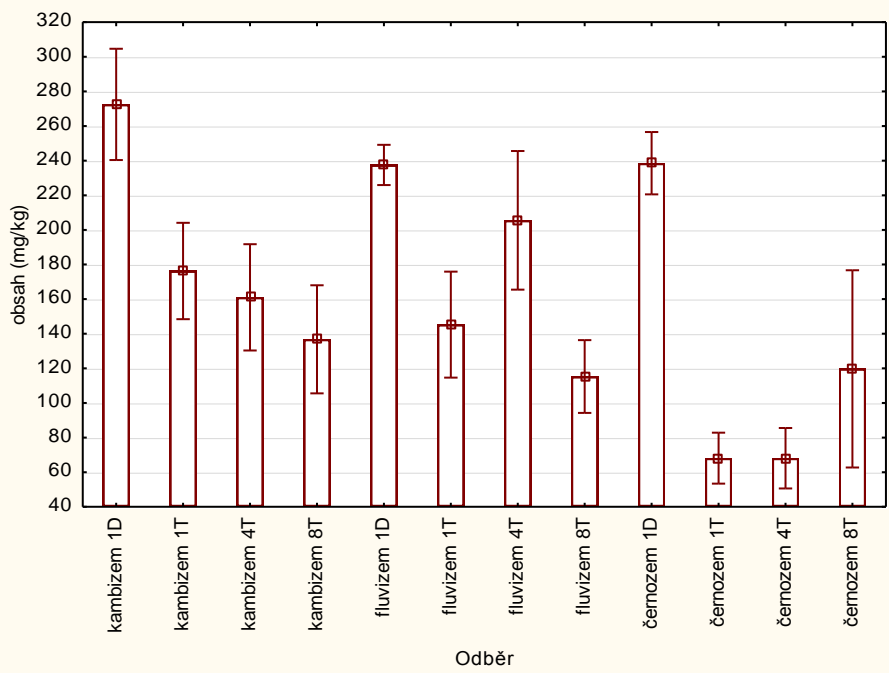
za následek degradace **Penk**. Obsahy hliníku pro 20% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

Graf č. 11 – Obsahy hliníku pro 20% koncentraci **Penk**



Oproti podobným výsledkům u všech půd, do kterých byl přidán 20% roztok **Penk**, výsledky vlivu 100% koncentrace se napříč půdami liší. Vliv na kambizemi měl fungicid ve smyslu postupného snižování přístupnosti hliníku až přibližně na polovinu té původní. Oproti tomu u fluvizemě lze pozorovat velkou fluktuaci přístupnosti s mírným poklesem v čase. Nejsignifikantnější vliv měl 100% **Penk** na černozem. Při odběru v prvním týdnu klesla přístupnost hliníku o přibližně 70 % a zůstala neměnná i ve 4. týdnu. V osmém týdnu pokusu došlo k navýšení přístupnosti přibližně dvojnásobně, oproti 1. a 4. týdnu. Obsahy hliníku pro 100% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

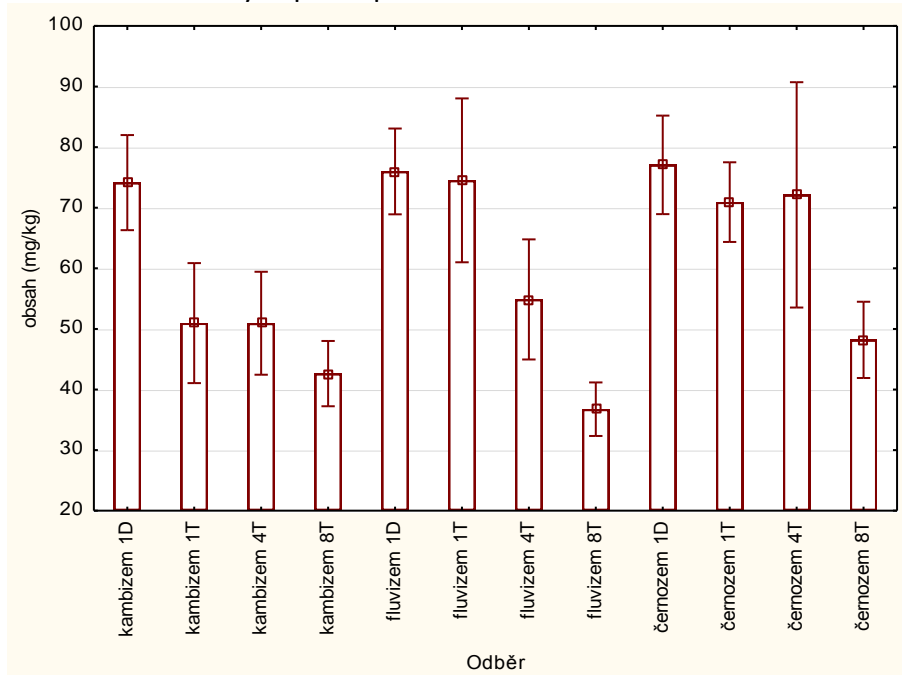
Graf č. 12 – Obsahy hliníku pro 100% koncentraci Penk.



5.3.2 Vápník

Kontrolní pokus vykazoval postupné snižování přístupnosti vápníku z půdy ve všech třech půdách obdobně. Obsahy vápníku pro kontrolní vzorek definuje následující graf.

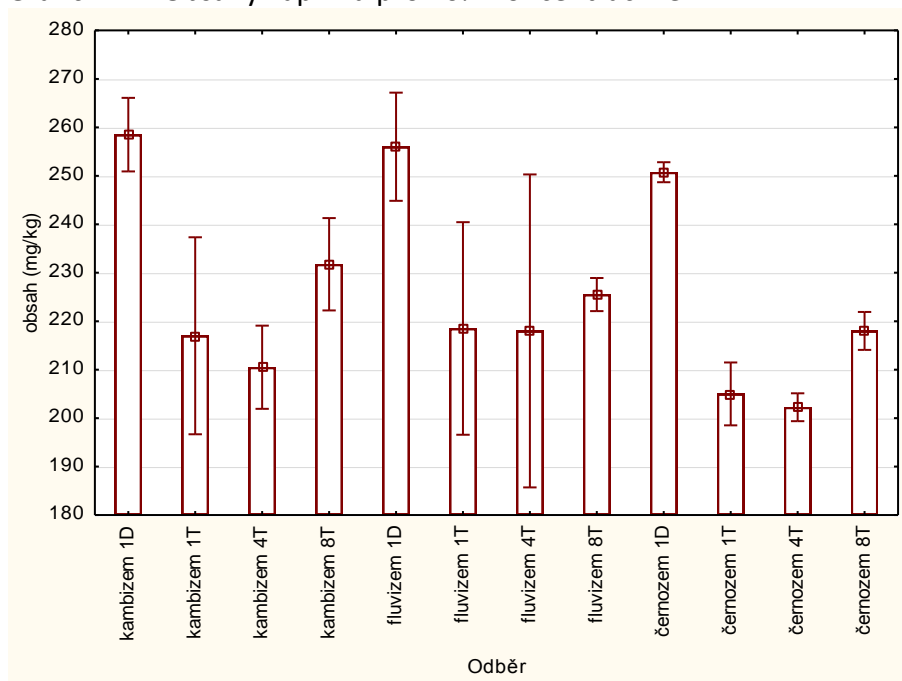
Graf č. 13 – Obsahy vápníku pro 0% koncentraci Penk.



Oproti tomu, poměrně velký vliv byl pozorován u přídatku 20% koncentrace **Penk**, kdy se přístupnost živin po prvním dni pozorování zvýšila přibližně 3,5x u všech půd oproti

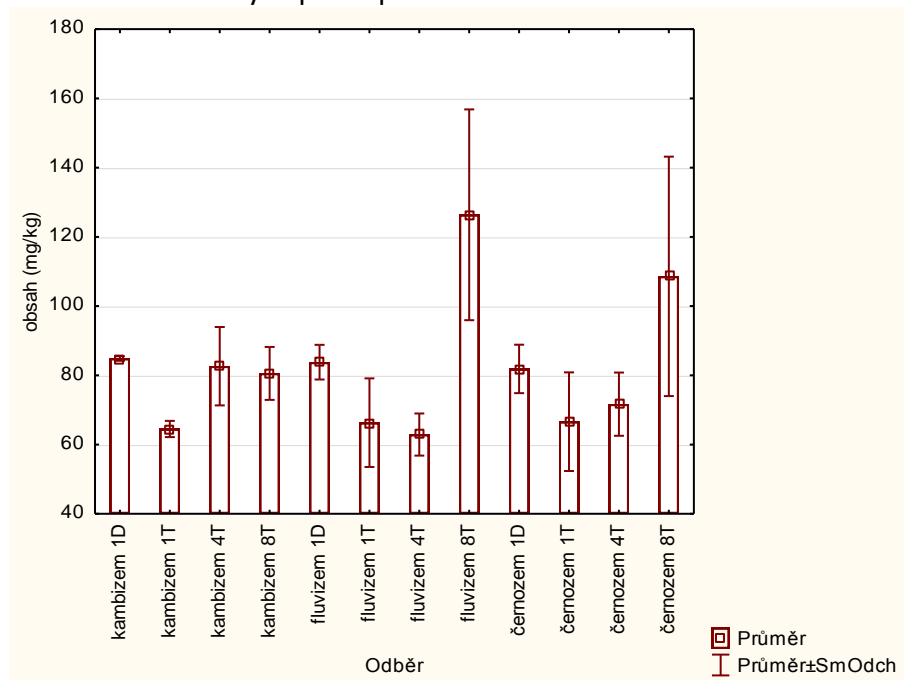
kontrole. V prvním a čtvrtém týdnu inkubačního pokusu došlo k mírnému poklesu přístupnosti živin, přibližně o 30%, nicméně se stále jednalo o bezmála trojnásobek přístupnosti vápníku při kontrole v prvním dni odběru. Na konci pokusu došlo k mírnému zvýšení. S největší pravděpodobností má **Penk** v 20% koncentraci silné chelatační vlastnosti. Obsahy vápníku pro 20% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

Graf č. 14 – Obsahy vápníku pro 20% koncentraci **Penk**.



Graf vlivu 100% **Penk** popisuje mírné snížení přístupnosti vápníku v prvním týdnu pokusu u kambizemě, již následující odběrový týden se hodnota přístupnosti vápníku vrátila na původní hodnotu, kde přetrvala až do konce pokusu. Oproti kambizemi se u fluvizemě na konci 8. týdne prudce zvýšila přístupnost vápníku, přibližně dvojnásobně. Obdobně tomu bylo u černozemě, avšak v menším měřítku. Obsahy vápníku pro 100% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

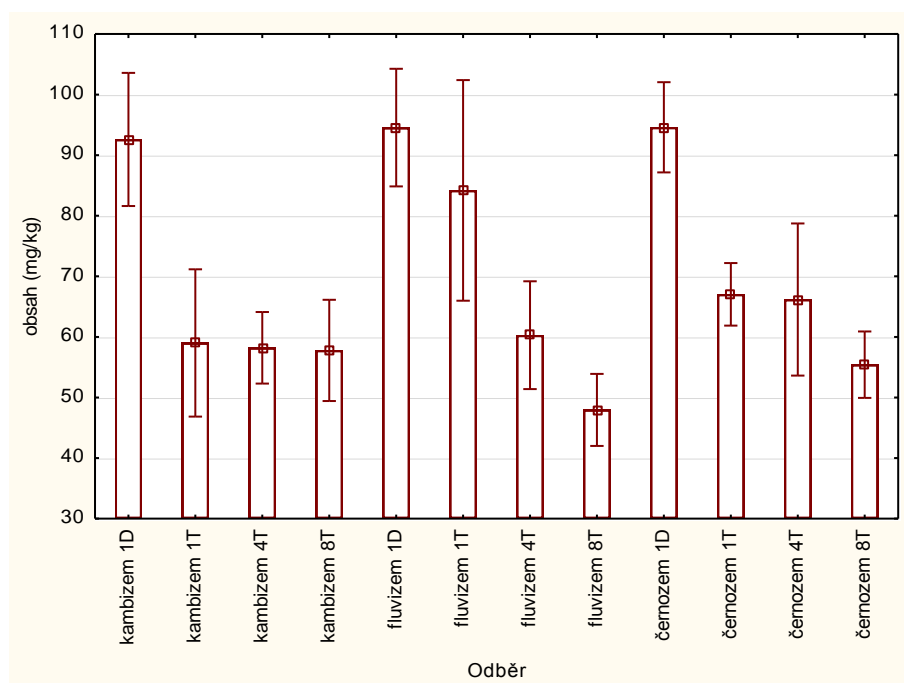
Graf č. 15 – Obsahy vápníku pro 100% koncentraci Penk.



5.3.3 Draslík

Obsahy draslíku pro kontrolní vzorek definuje následující graf.

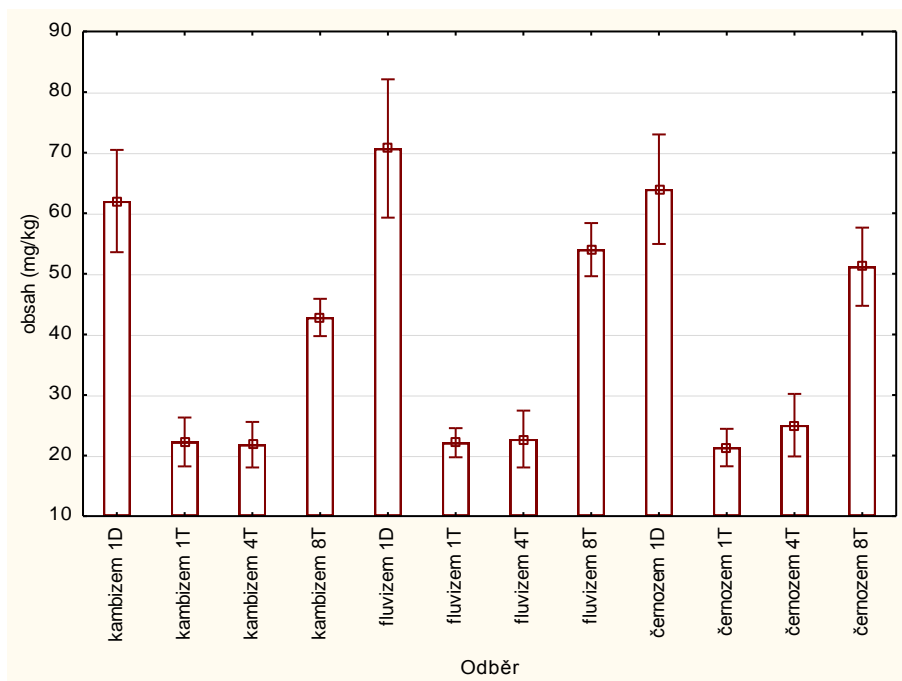
Graf č. 16 – Obsahy draslíku pro 0% koncentraci Penk.



Přídavek 20% roztoku **Penk** do fluvizemě mělo za následek snížení přístupnosti draslíku po prvním odběrovém dni přibližně o 20 %, v prvním a ve čtvrtém týdnu se přístupnost držela na 20 % té původní. Na druhou stranu na konci pokusu, v osmém

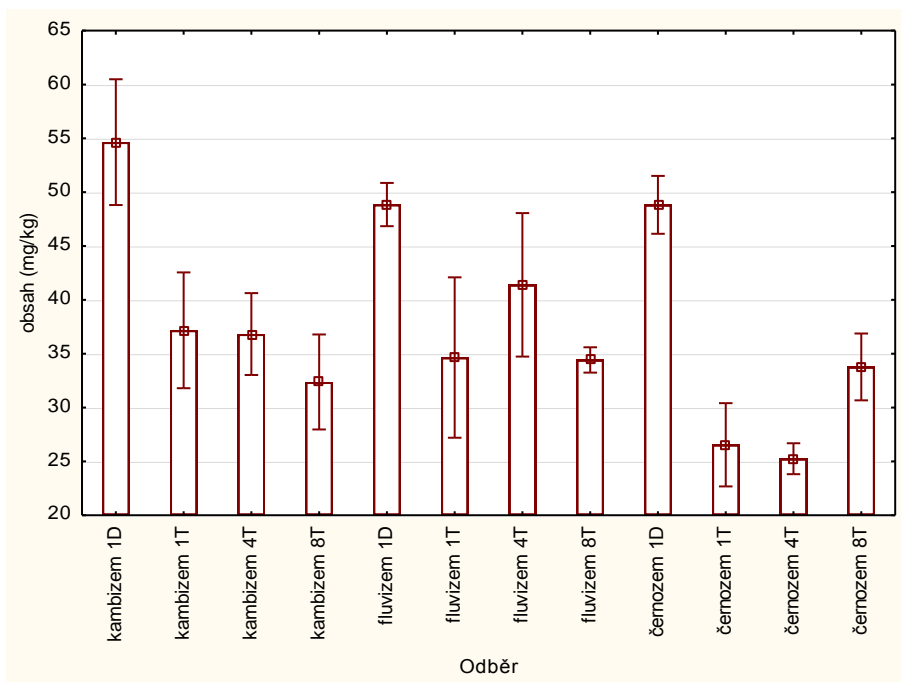
odběrovém týdnu, došlo opět k zvýšení přístupnosti a to přibližně 2,5 oproti předcházejícím týdnům. Z toho se dá usuzovat, že přídavek 20% roztoku **Penk** má velký vliv na koncentraci draslíku v půdách, nicméně trvá přibližně 8 týdnů, než začne docházet k degradaci. Podobný proces probíhal i u ostatních půd, které vykazovaly řádově stejné výsledky. Obsahy draslíku pro 20% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

Graf č. 17 – Obsahy draslíku pro 20% koncentraci Penk.



Po přidavku 100% fungicidu docházelo k podobnému scénáři, jako u 20% **Penk** s tím rozdílem, že byla přístupnost draslíku snížena ještě přibližně o 10 %. Obsahy draslíku pro 100% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

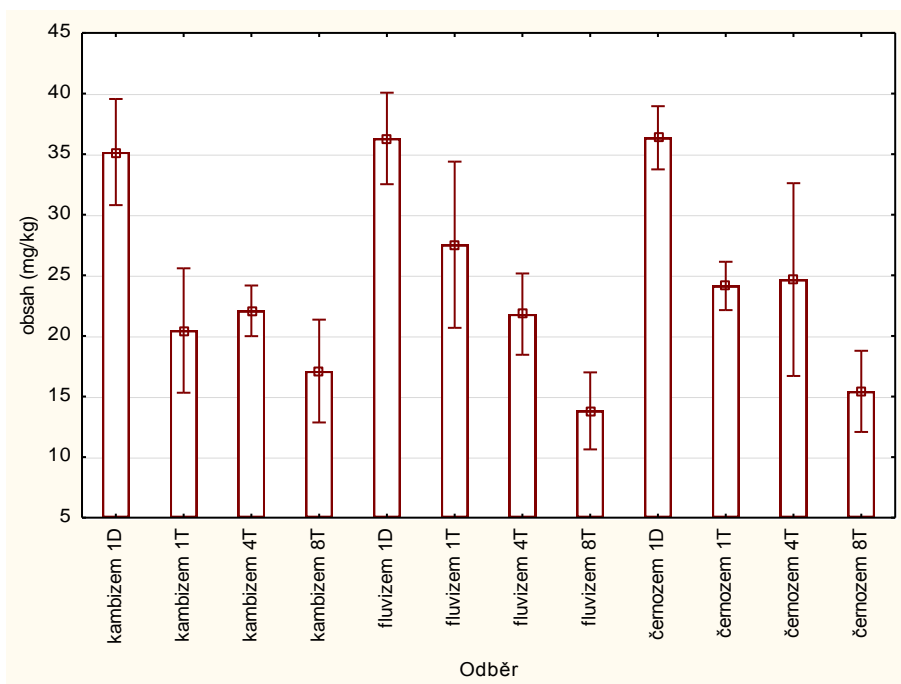
Graf č. 18 – Obsahy draslíku pro 100% koncentraci Penk.



5.3.4 Hořčík

Obsahy hořčíku pro kontrolní vzorek definuje následující graf.

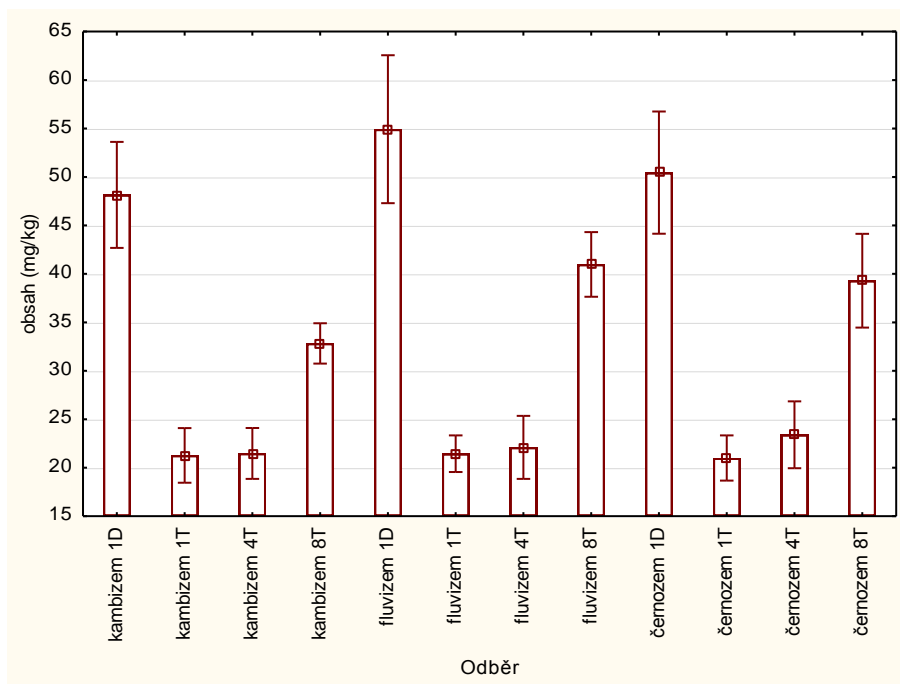
Graf č. 19 – Obsahy hořčíku pro 0% koncentraci Penk.



Penk měl podobně jako u draslíku nepříznivý vliv i na přístupnost hořčíku. 20% koncentrace fungicidu měla vliv na modální kambizemi, a to tak, že se přístupnost živin v

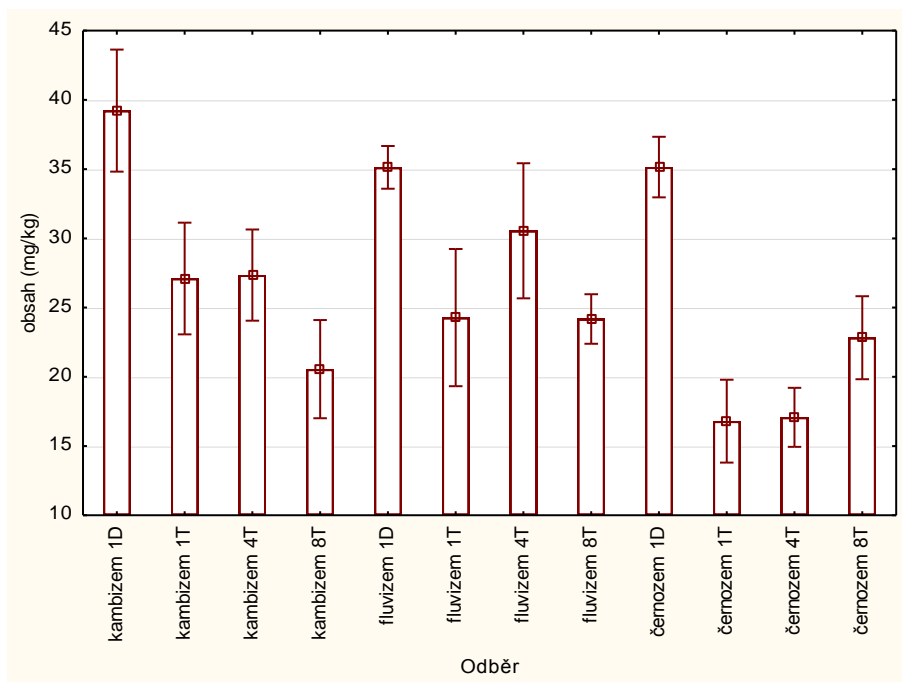
prvním a ve čtvrtém týdnu odběru opět snížila, přibližně o 50 % z původních průměrných 47 mg/kg na cca 22 mg/kg. Avšak v posledním týdnu odběru se přístupnost opět zvýšila, přibližně na 33 mg/kg. V podstatě totožné výsledky vykazovaly i půdy fluvizem a modální černoze. Obsahy hořčíku pro 20% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

Graf č. 20 – Obsahy hořčíku pro 20% koncentraci Penk.



100% roztok **Penk** měl velmi podobný vliv na přístupnost hořčíku, jako přídavek 20% fungicidu. Z těchto výsledků můžeme soudit, že má **Penk** nepříznivý vliv na vybrané půdy a že snižuje přístupnost hořčíku. Obsahy hořčíku pro 100% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

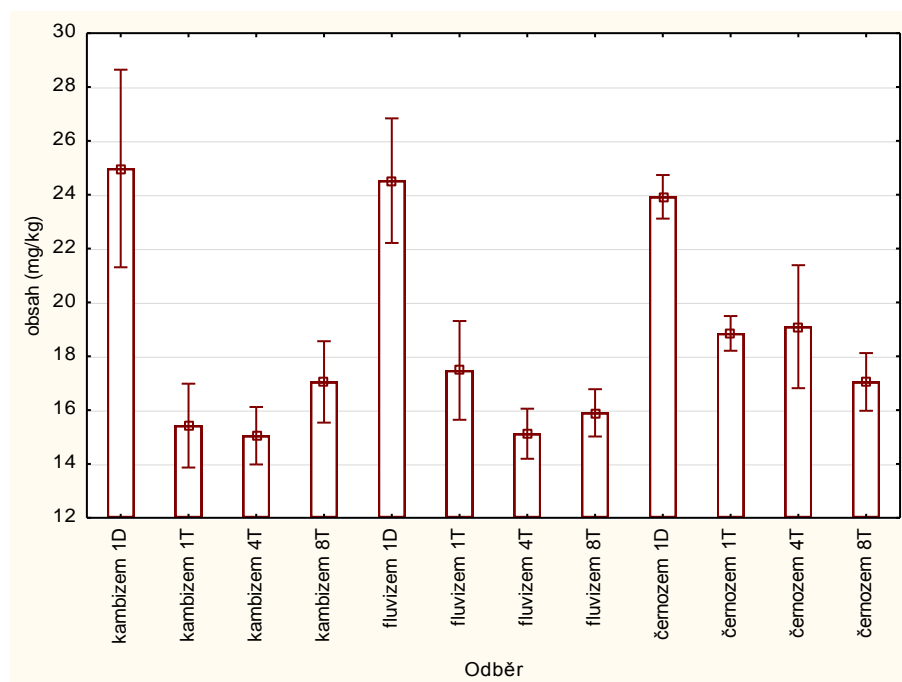
Graf č. 21 – Obsahy hořčiku pro 100% koncentraci Penk.



5.3.5 Fosfor

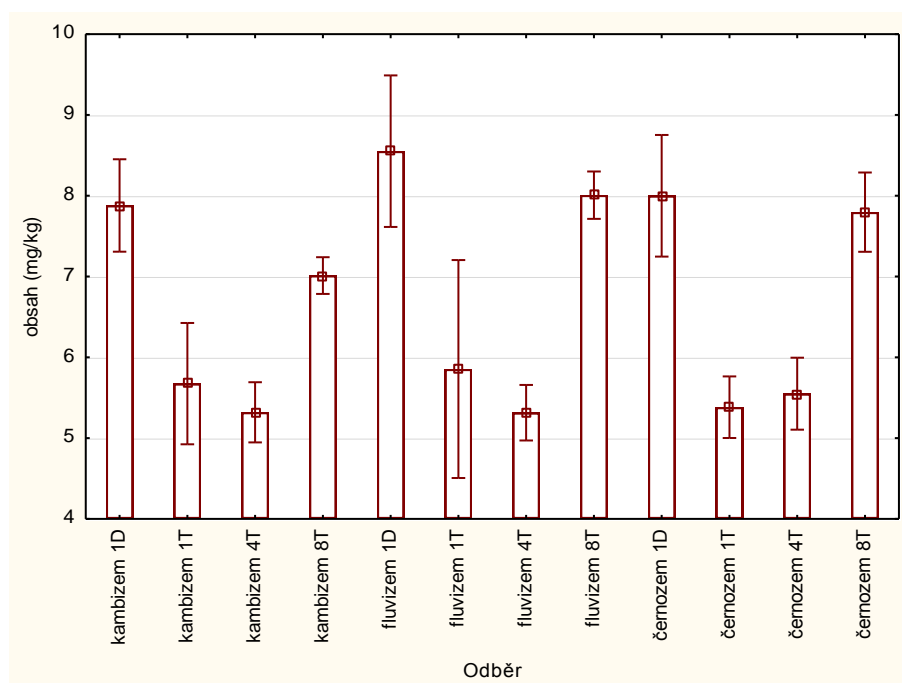
Při kontrolním testu přístupnost fosforu probíhala ve všech půdách velmi podobně. První, čtvrtý a osmý týden byla přístupnost přibližně 2/3 oproti prvnímu odběrovému dni. Obsahy fosforu pro kontrolní vzorek definuje následující graf.

Graf č. 22 – Obsahy fosforu pro 0% koncentraci Penk.



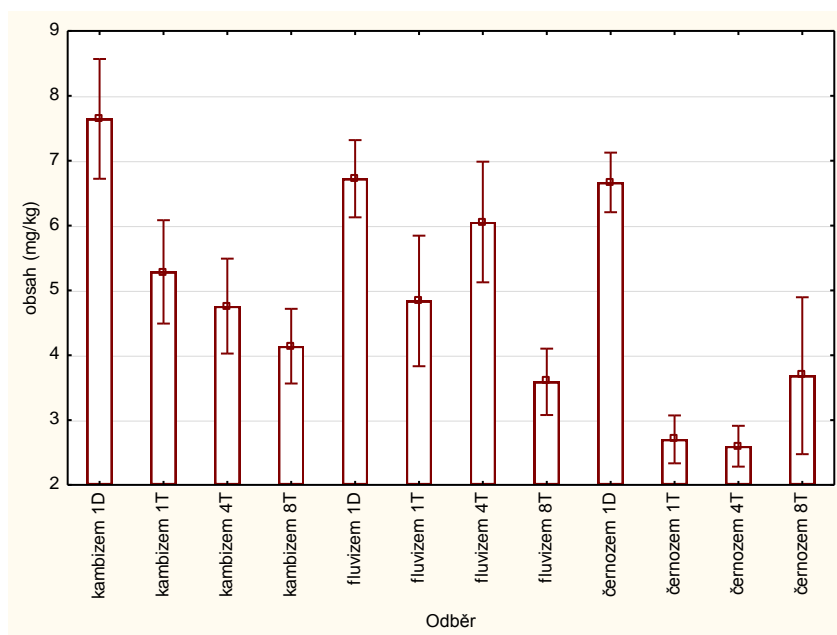
20% koncentrace **Penk** měla signifikantní vliv na přístupnost fosforu ve všech třech půdách ve srovnatelném rázu. První odběrový den se oproti kontrole snížila přijatelnost přibližně na třetinu. V prvním a ve čtvrtém týdnu klesla přístupnost fosforu až na hodnoty mezi 5 a 6 mg/kg pro všechny půdy. Ve stejný odběrný den se průměrná hodnota u kontroly pohybovala mezi 14 a 16 mg/kg. V osmém týdnu došlo k navrácení přístupnosti fosforu na původní hodnotu odběru prvního dne u fluvizemě a černozemě (průměrově přibližně o 10 % méně) a u kambizemě těsně pod původní hranici. Obsahy fosforu pro 20% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

Graf č. 23 – Obsahy fosforu pro 20% koncentraci Penk.



Průběh přístupnosti fosforu v půdách pro 100% koncentrovaný roztok **Penk** byl velmi podobný, jako u varianty s 20% roztokem, s tím rozdílem, že v osmém týdnu experimentu nedocházelo k takovému návratu na původní přístupnost (černozem) či hodnoty fosforu ještě klesaly (kambizem, fluvizem). Obsahy fosforu pro 100% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

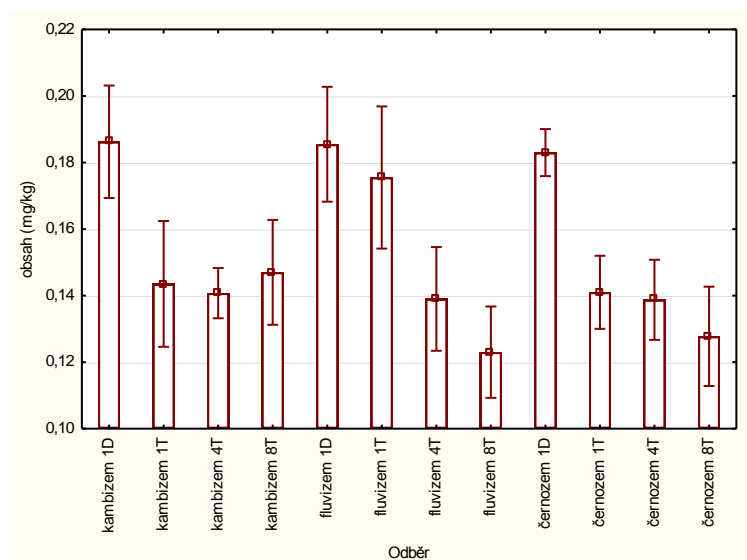
Graf č. 24 – Obsahy fosforu pro 100% koncentraci Penk.



5.3.6 Měď

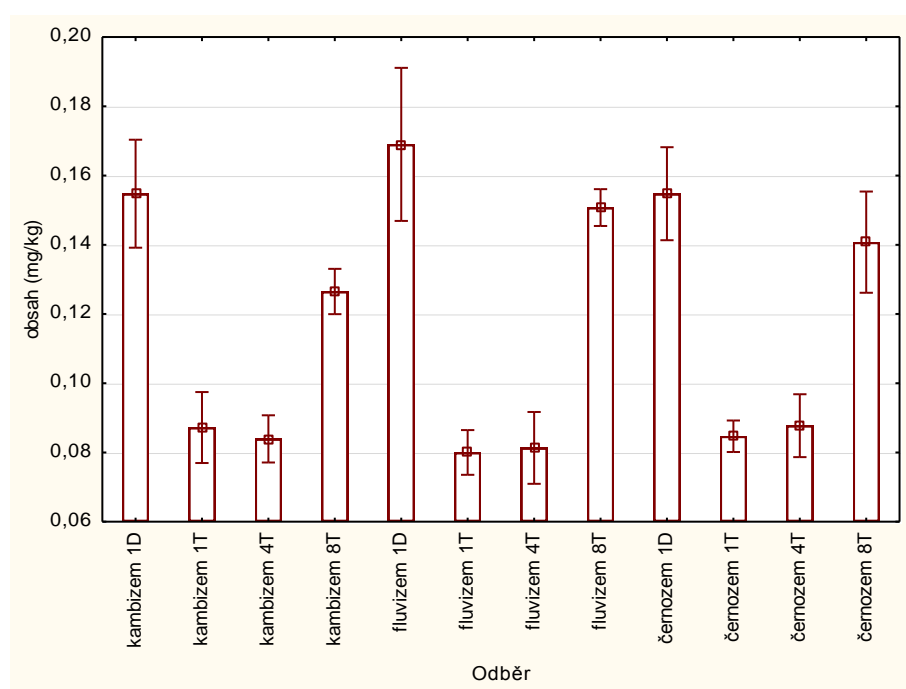
Přístupnost živin u kontrolního vzorku u kambizemě se měnila s časem tak, že první odběrový den byla zjištěna hodnota přibližně 0,18 mg/kg. Následující odběr se hodnota snížila na 0,14 mg/kg a neměnná zůstala až do konce pokusu. Oproti tomu pokusná fluvizem vykazovala postupné snižování přístupnosti mědi po celou dobu experimentu, při celkovém snížení přibližně o 30 %, podobné výsledky se objevily i u černozemě. Obsahy mědi kontrolní vzorek definuje následující graf.

Graf č. 25 – Obsahy mědi pro 0% koncentraci Penk.



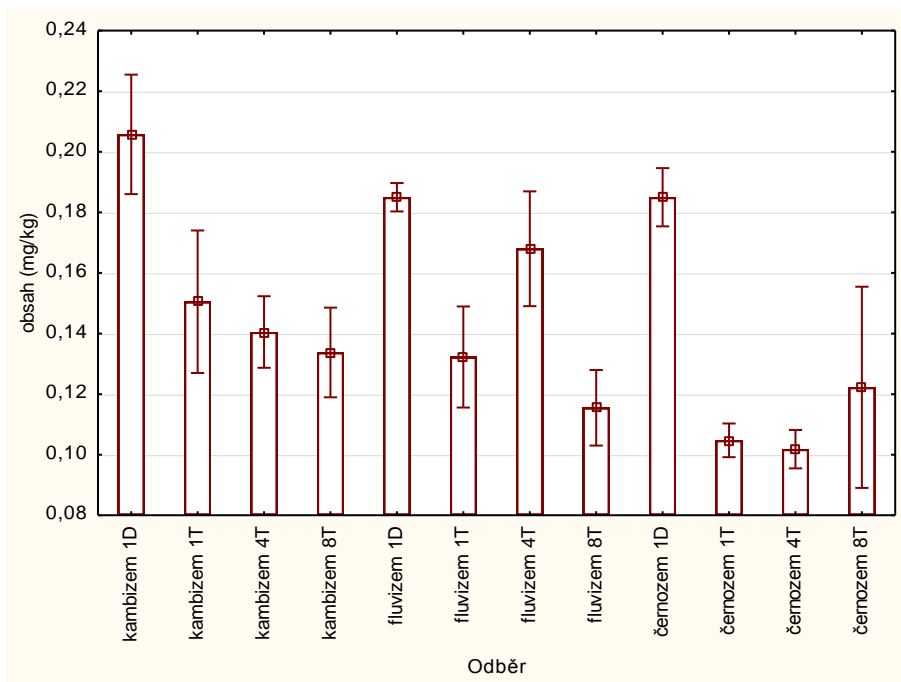
Průběh experimentu s nižší koncentrací **Penk** byl velmi rozdílný oproti kontrole a vykazoval znaky ovlivnění mikrobiální aktivity, respektive její potlačení. U všech tří pokusných půd byl zaznamenán zásadní pokles (na 50 % původní hodnoty) v prvním týdnu experimentu. 4. týden zaznamenal stagnaci a v 8. týdnu došlo opět k částečnému navrácení k původní hodnotě (kambizem) nebo k úplnému vyrovnání stavu k prvnímu dni pokusu (fluvizem, černozem). Obsahy mědi pro 20% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

Graf č. 26 – Obsahy mědi pro 20% koncentraci Penk.



Při bližším zkoumání varianty se 100 % koncentrací fungicidu můžeme pozorovat velmi podobné výsledky jako u kontrolních vzorků u kambizemě. Fluvizem vykazovala fluktuaci. Na druhou stranu výsledky černozemě ukazují snížení přístupnosti ve 3. týdnu podobně jako u kontroly, avšak ve větším měřítku, přibližně o 20 %. Osmý týden vykazoval zvýšení přístupnosti mědi o 20 % (na hodnotu kontroly v 8. týdnu). Obsahy mědi pro 100% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

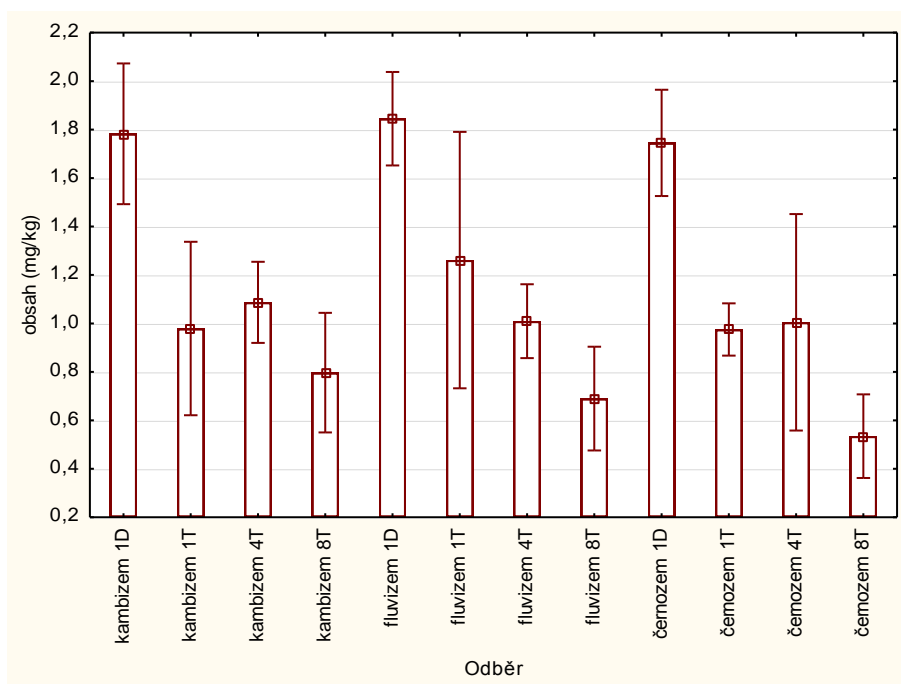
Graf č. 27 – Obsahy mědi pro 100% koncentraci Penk.



5.3.7 Mangan

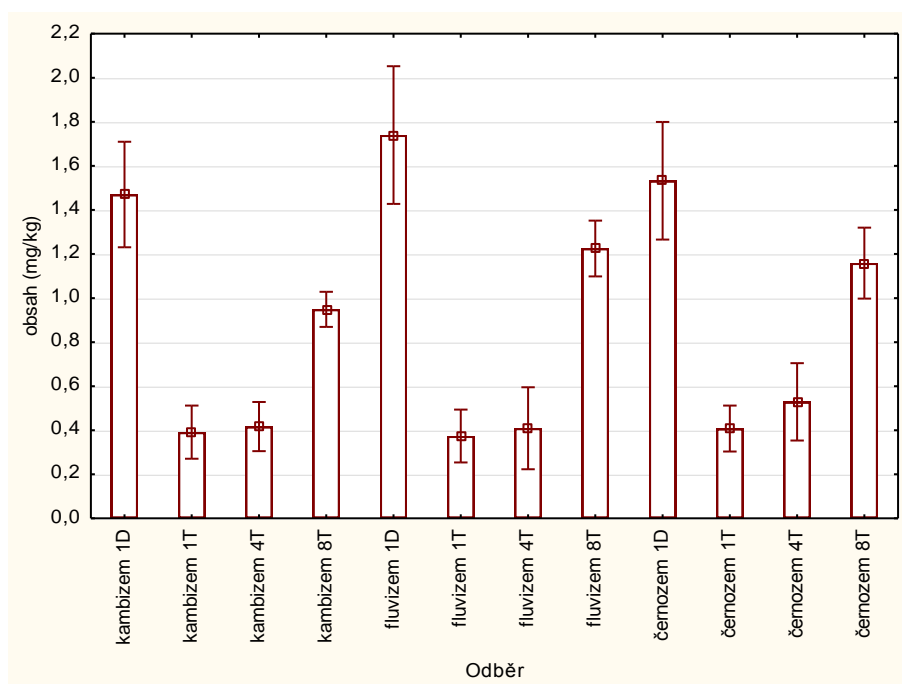
Kontrolní vzorek u všech tří půd vykazoval podobný trend postupného snižování přístupnosti manganu. Obsahy manganu pro kontrolní vzorek definuje následující graf.

Graf č. 28 – Obsahy manganu pro 0% koncentraci Penk.



Oproti kontrole vykazovaly hodnoty půd po přidavku 20% roztoku **Penk** hodnoty velmi odlišné. První odběrový den byl velmi podobný kontrole, nicméně v prvním a ve čtvrtém týdnu došlo u všech tří půd k signifikantnímu snížení přístupnosti manganu (cca 3,5 x u kambizemě, 4,5x u fluvizemě a 3x u černozemě). 8. týden pokusu se hladina přístupného manganu opět zvýšila, přibližně na 80% hodnoty odběru prvního dne u všech třech půd. Lze tedy spekulovat o tom, že přidavek 20% **Penk** má za následek potlačení mikrobiální aktivity, nicméně před osmým týdnem degraduje a mangan se stává přístupnější. Obsahy manganu pro 20% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

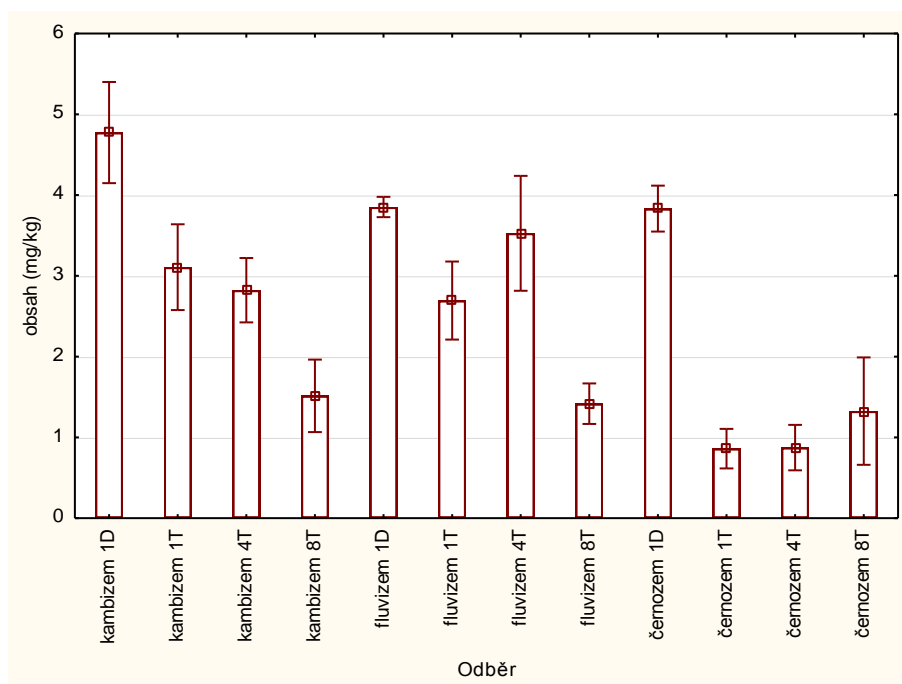
Graf č. 29 – Obsahy manganu pro 20% koncentraci Penk.



100 % roztok **Penk** měl velmi signifikantní vliv na přístupnost manganu ve všech třech půdách. První odběrový den vykazovala kambizem hodnotu okolo 4,75 mg/kg, což je 3x vyšší výsledek než u kontroly. Následoval propad v prvním a ve čtvrtém týdnu na hodnotu přibližně 3 mg/kg, což je 3x víc než u kontroly ve stejném odběru. Osmý týden hodnota opět klesla na v průměru 1,5 mg/kg, tedy téměř na přístupnost manganu v první den kontrolního vzorku (cca 1,8 mg/kg). Fluvizem vykazovala fluktuaci mezi 4 mg/kg a 2,2 mg/kg v prvních čtyřech týdnech pokusu, osmý týden se hodnota dostala přibližně na 1,5 mg/kg. Vliv 100% **Penk** na černozem byl v první odběrový den pozitivní, tedy oproti kontrole (cca 1,7 mg/kg) se hodnota přístupnosti manganu zvýšila na cca 3,8 mg/kg, avšak další měření ukázala velký propad v hodnotách přístupnosti na přibližně 0,9 mg/kg, což je přibližně hodnota kontroly.

Osmý týden byl vůči kontrole rozdílný v tom, že přístupnost neklesala jako u kontroly, nýbrž vzrostla přibližně o necelou polovinu oproti 3. a 4. týdnu měření. Výsledky tohoto pokusu naznačují signifikantní vliv 100% **Penk** na přístupnost živin ve směru chelatace manganu ve větším měřítku. Obsahy manganu pro 100% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

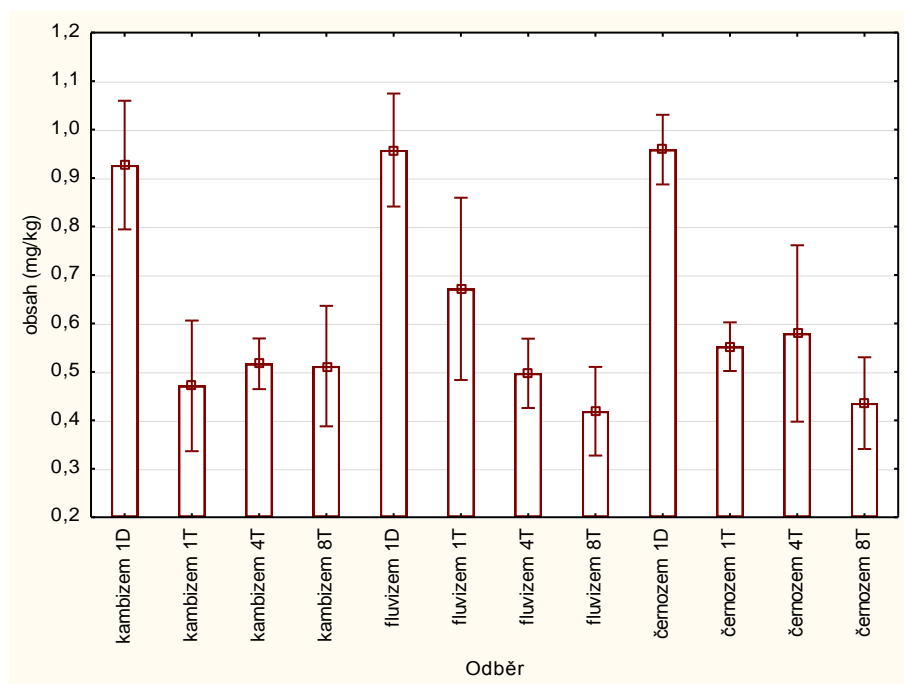
Graf č. 30 – Obsahy manganu pro 100% koncentraci Penk.



5.3.8 Zinek

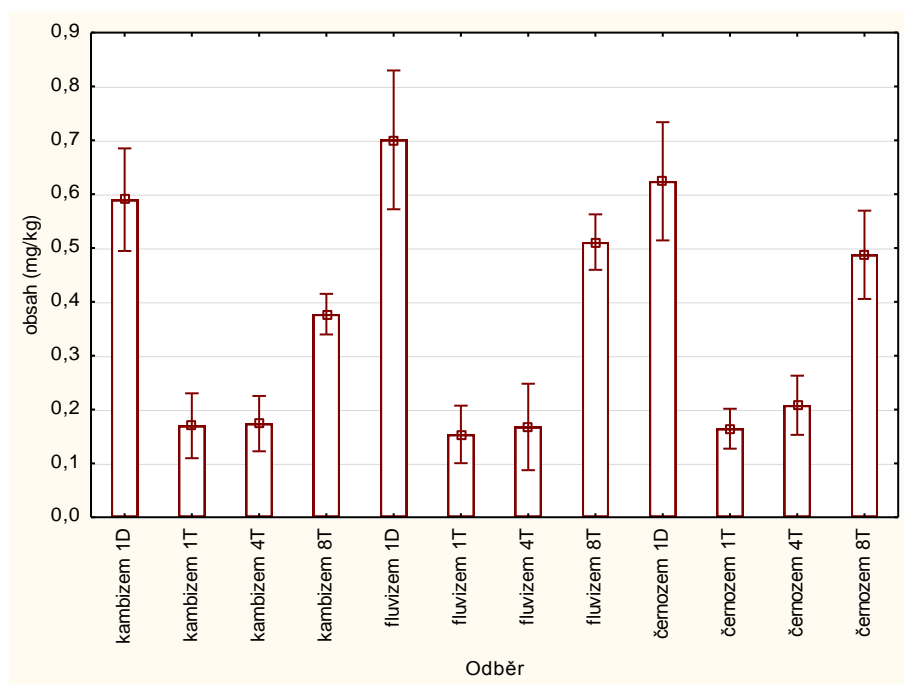
Hodnoty u kontrolního měření zinku vykazovaly u fluvizemě, kambizemě i černozemě řádově podobné výsledky. První den měření se hodnoty přístupnosti zinku pohybovaly okolo 0,95 mg/kg. V následujících měřeních hodnoty klesly přibližně na 60 % původních. Osmý týden vykazoval u kambizemě stagnaci, ale u fluvizemě a černozemě došlo k dalšímu snížení přístupnosti zinku na přibližně 40 % odběru v prvním dni. Obsahy zinku pro kontrolní vzorek definuje následující graf.

Graf č. 31 – Obsahy zinku pro 0% koncentraci Penk.



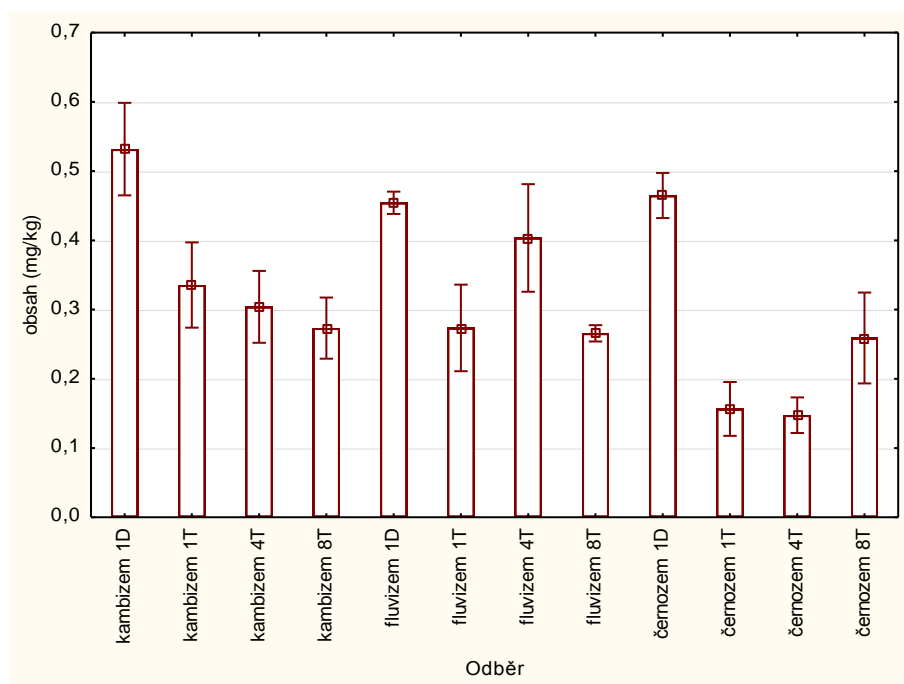
Odběry z prvního dne pokusu s 20% koncentrací **Penk** vykazují mírné snížení přístupnosti živin oproti kontrolnímu hodnocení, přibližně o 20 %. 3. a 4. týden se přístupnost zinku rapidně snížila, u kambizemě, fluvizemě a černozemě na 1/3 odběru prvního dne. Osmý odběrový týden vykazoval navýšení přístupnosti zinku na přibližně 2/3 původní hodnoty odběru prvního dne. Výsledky experimentu s 20% **Penk** naznačují sníženou mikrobiální aktivitu až do 4. týdne u všech sledovaných půd. Osmý týden odběru již vykazuje postupné navracování k původní hodnotě odběru prvního dne pokusu. Obsahy zinku pro 20% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

Graf č. 32 – Obsahy zinku pro 20% koncentraci Penk.



Přídavek 100% roztoku **Penk** měl za následek rapidní snížení přístupnosti zinku oproti kontrole. Konkrétně u kambizemě se jednalo o hodnotu přibližně 0,53 mg/kg, kontrola vykazovala cca 0,92 mg /kg. Odběr v prvním, ve čtvrtém a osmém týdnu následoval postupný trend snižování přístupnosti zinku až na průměrnou hodnotu 0,27 mg/kg v osmém týdnu pokusu. U fluvizemě byla průměrná hodnota odběru prvního dne 0,45 mg/kg, oproti kontrole 0,95 mg/kg. Následující týdny vykazovaly značnou fluktuaci přístupnosti zinku. Černozem vykazovala průměrnou přístupnost zinku v prvním dni odběru přibližně 0,46 mg/kg, oproti kontrole 0,95 mg/kg. V prvním a ve čtvrtém týdnu došlo ke snížení přístupnosti zinku na průměrnou hodnotu 0,15 mg/kg, tato hodnota se zvýšila v osmém týdnu, kdy bylo naměřeno cca 0,25 mg/kg přístupného zinku v půdě. Obsahy zinku pro 100% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

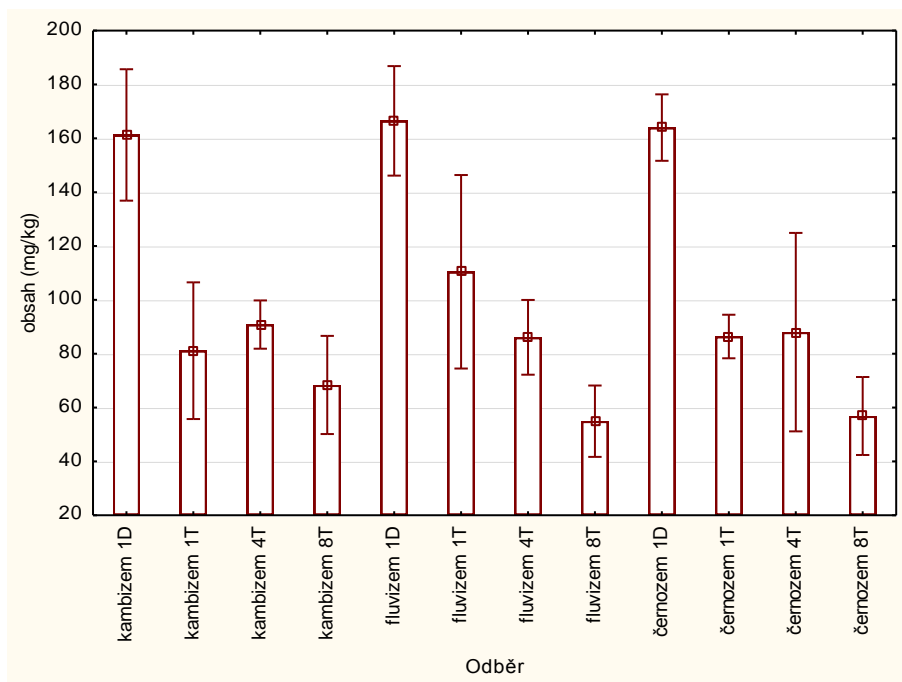
Graf č. 33 – Obsahy zinku pro 100% koncentraci Penk.



5.3.9 Železo

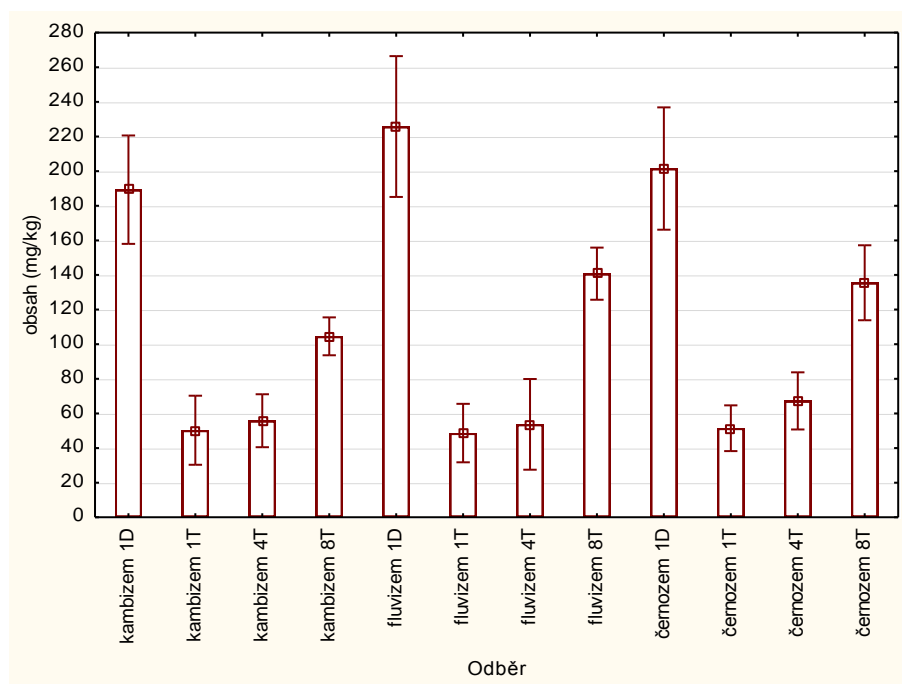
Odběry v první dny experimentu ukázaly shodné výsledky přístupnosti železa pro všechny tři půdy a to přibližně 160 mg/kg. Následně přístupnost klesla u kambizemě na 80 mg/kg, následně došlo k mírnému zvýšení a v osmém týdnu opět ke snížení, na 65 mg/kg. Redukce přístupnosti železa nebyla u fluvizemě tak markantní, jako u kambizemě. Přístupnost se snížila z cca 160 mg/kg na 110 mg/kg v prvním týdnu, následně klesala a v osmém týdnu se jednalo pouze o cca 55 mg/kg přístupnosti železa. Přístupnost živin ve vzorku černozemě měla velmi podobný trend jako u kambizemě. Obsahy železa pro kontrolní vzorek definuje následující graf.

Graf č. 34 – Obsahy železa pro 0% koncentraci Penk.



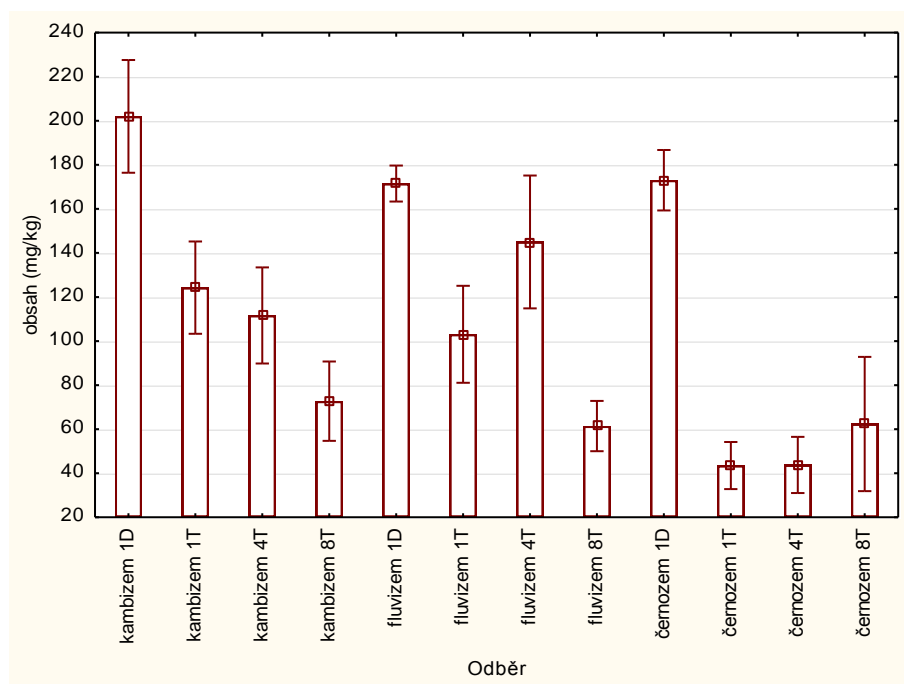
Vliv 20% fungicidu na přístupnost železa ze sledovaných půd byl typově stejný jako u sledování přístupnosti horčíku, draslíku či například manganu. Došlo ke snížení přístupnosti železa v prvním a ve čtvrtém odběrovém týdnu, přibližně na ¼ hodnoty odběru k prvnímu dni pokusu. Důvodem byla pravděpodobně snížená mikrobiální aktivita, nicméně výsledky osmého týdnu pokusu vykazovaly opět nárůst přístupnosti železa, tedy pravděpodobně mezi 4. a 8. týdnem došlo k degradaci **Penk**. Tento trend byl sledován u všech pokusných půd. Obsahy železa pro 20% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

Graf č. 35 – Obsahy železa pro 20% koncentraci Penk.



100% roztok **Penk** ovlivnil přístupnost živin k prvnímu odběrovému dni u kambizemě. Došlo k nárůstu hodnot z kontrolních 160 mg/kg na 200 mg/kg v průměru. To značí schopnost koncentrovaného **Penk** chelatovat železo a zvýšit jeho přístupnost rostlině. V následných odběrech trend přístupnosti železa klesal až na konečných přibližně 70 mg/kg, což je shodná hodnota s kontrolním vzorkem, pravděpodobně tedy došlo k degradaci **Penk**. Reakce fluvizemě byla v prvním odběru stejná jako u kontroly, tedy okolo 170 mg/kg železa. Následovala fluktuační. Přístupnost železa se po osmi týdnech shodovala s kontrolním vzorkem. Oproti tomu alkalická černozem vykazovala velké rozdíly v přístupnosti železa oproti kontrolnímu vzorku, byť se první den odběru hodnoty nikterak nelišily. Skok byl pozorován v prvním a ve čtvrtém týdnu, kdy se přístupnost železa ustálila na přibližně 40 mg/kg, kontrola vykazovala výsledky mezi 80 a 90 mg/kg. Osmý týden pokusu se průměrný přístup železa zvýšil na hodnotu kontrolního vzorku, tedy okolo 60 mg/kg. Vysoká koncentrace fungicidu u vzorku černozemě pravděpodobně potlačila mikrobiální aktivitu. Obsahy železa pro 100% koncentraci **Penk** definuje následující graf.

Graf č. 36 – Obsahy železa pro 100% koncentraci Penk.



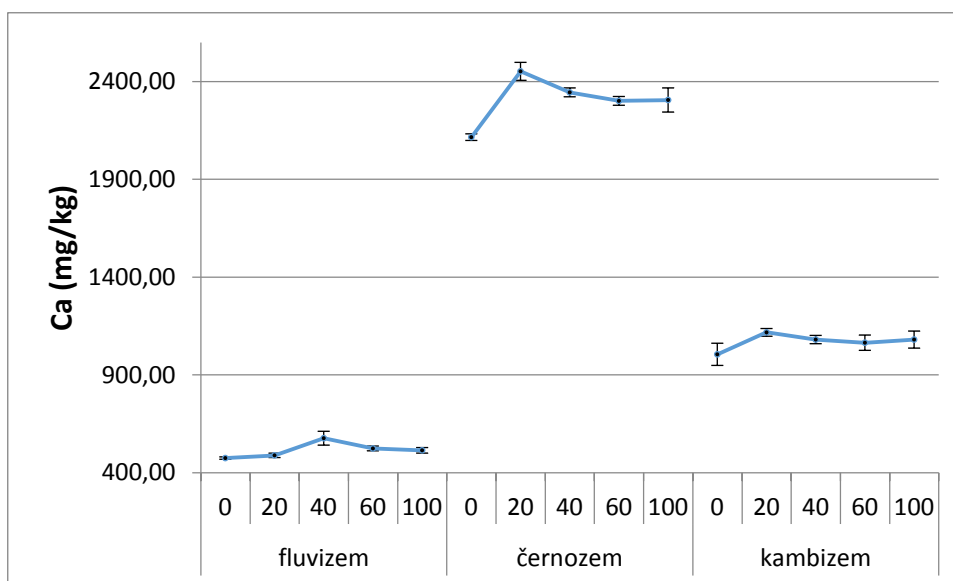
5.4 Krátkodobá sorpce

Krátkodobý sorpční experiment měl přiblížit vliv **Penk** v krátkodobém horizontu. Krátkodobá sorpce byla opět zkoumaná ve třech půdách, jako u vegetačního experimentu (fluvizem, modální černozem a modální kambizem). Pro tento pokus bylo zvoleno 5 koncentrací **Penk**, pro hlubší prozkoumání jeho krátkodobého vlivu.

5.4.1 Vápník

Po přidavku **Penk** byl u vzorků zaznamenán malý vliv na obsah vápníku. U fluvizemě došlo ke zvýšení přístupnosti vápníku po přidavku 40% **Penk**, ostatní koncentrace vykazovaly stejné nebo podobné množství přístupného vápníku. U černozemě došlo oproti kontrolnímu vzorku ke zvýšení přístupného vápníku po přidavku 20% fungicidu o přibližně 20 %. Následně tato koncentrace klesala s přidavkem vyšších koncentrací. U kambizemě byla zaznamenána malá fluktuace výsledků napříč koncentracemi. Je patrný zřetelný trend zvyšování mobility vápníku s přidavky **Penk**. Trendy přístupnosti vápníku v různých půdách a různých koncentracích přidaného **Penk** zobrazuje následující graf.

Graf č. 37 – Trendy přístupnosti vápníku v půdách při různých koncentracích **Penk**



5.4.2 Hořčík, fosfor a železo

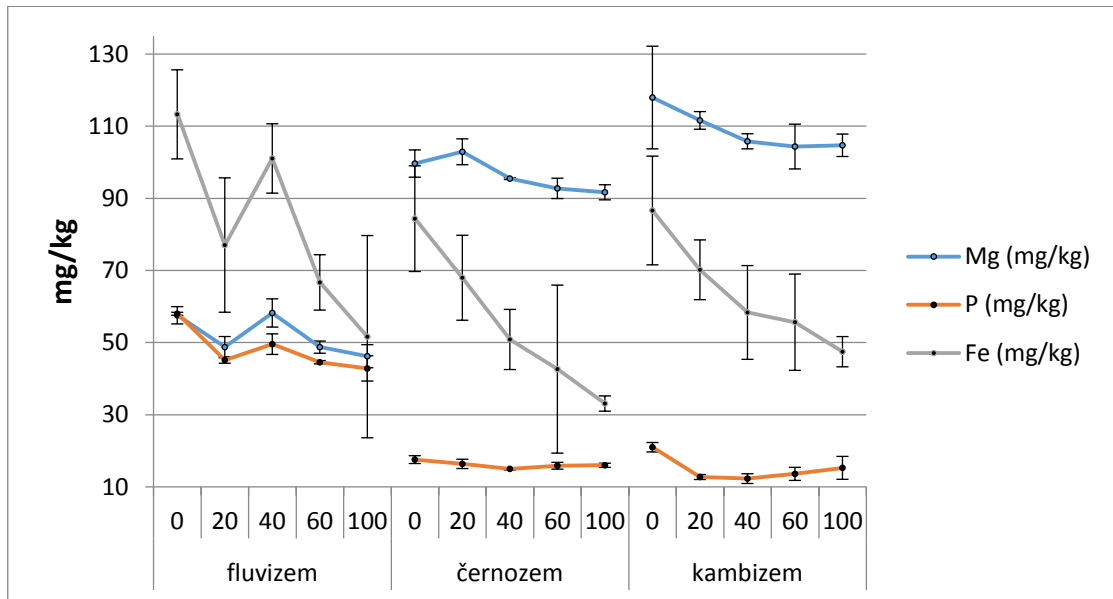
Přístupnosti hořčíku se se zvyšující koncentrací přidaného fungicidu v krátkodobé sorpci snižovaly v černozemi (zásaditá) a kambizemi (mírně kyselá). U mírně kyselé fluvizemě docházelo k fluktuaci výsledků s trendem postupného klesání přístupnosti hořčíku.

Přístupnosti fosforu u fluvizemě kolísaly velmi podobně, jako u hořčíku. U černozemě docházelo k velmi mírné fluktuaci napříč koncentracemi, nicméně přístupnost zůstávala v průměru téměř neměnná. Po přidavku 20% **Penk** do kambizemě došlo k významnému snížení přístupnosti fosforu. Následoval trend mírného zvyšování přístupnosti fosforu se zvyšující se koncentrací fungicidu.

U krátkodobé sorpce zkoumané u fluvizemě došlo k razantnímu snížení přístupnosti železa po přidavku 20% **Penk**, přibližně o 25 %, 40% **Penk** naopak zvýšil přístupnost oproti nižší koncentraci fungicidu o 20 %. Následoval trend snižování přístupnosti železa se zvyšující se koncentrací **Penk**. U černozemě a kambizemě byl pozorován trend jednoznačného snižování přístupnosti železa se zvyšující se koncentrací fungicidu. Trendy přístupnosti hořčíku, fosforu a železa v různých půdách a různých koncentracích přidaného **Penk** zobrazuje následující graf.

Graf č. 38 – Trendy přístupnosti hořčíku, fosforu a železa v půdách při různých koncentracích

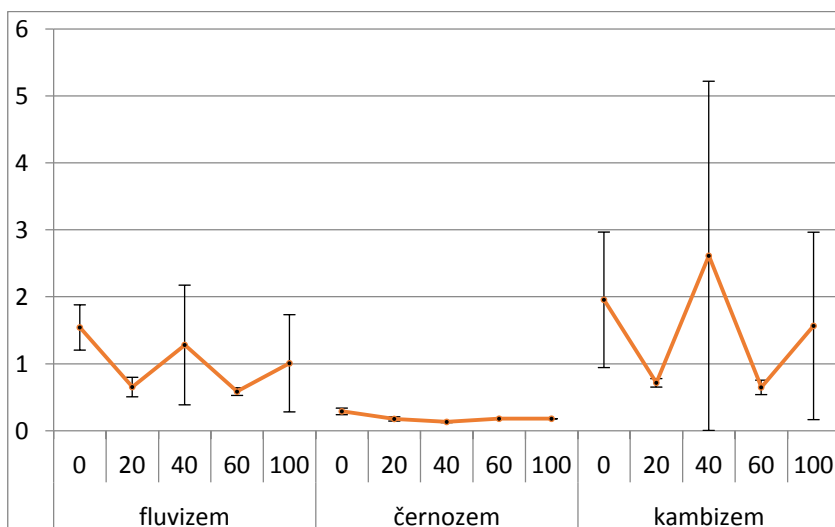
Penk



5.4.3 **Zinek**

Vliv přidavku **Penk** na přístupnost zinku v pokusu krátkodobé sorpce nebyl vzhledem k velkým odchylkám měření zcela průkazný u fluvizemě a kambizemě. Nicméně grafy naznačují, že k vyšší přístupnosti zinku dochází po přidavku 40% a 100% **Penk**, nicméně tyto průměrné hodnoty jsou nižší než u kontrolního vzorku. U černozemě je trend přístupnosti zinku měřitelný a vykazuje postupné snižování s přidavkem fungicidu. Trendy přístupnosti zinku v různých půdách a různých koncentracích přidávaného **Penk** zobrazuje následující graf.

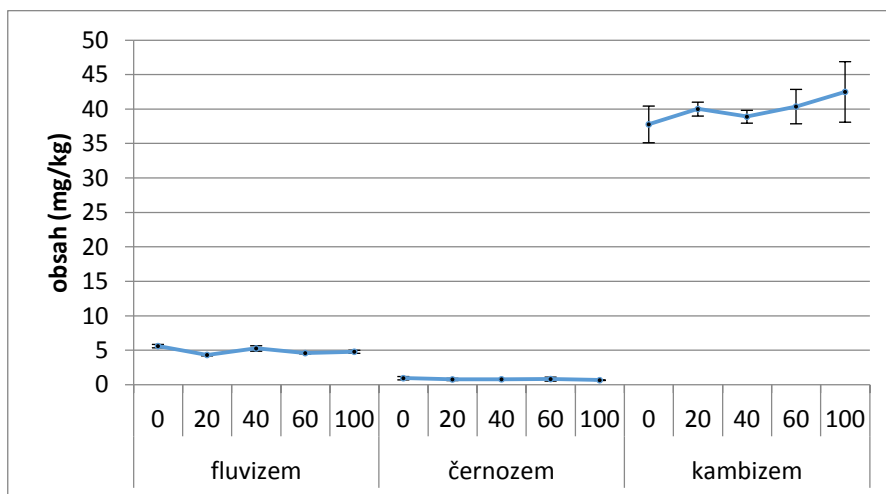
Graf č. 39 – Trendy přístupnosti zinku v půdách při různých koncentracích **Penk**



5.4.4 Mangan

Obsahy manganu mírně klesaly u fluvizemě a černozemě s přidavkem **Penk**. Tento trend však směřoval opačným směrem v pokusu s kambizemí, kde se přístupnost manganu v krátkodobém hledisku se zvyšující se koncentrací zvyšovala. Trendy přístupnosti manganu v různých půdách a různých koncentracích přidaného **Penk** zobrazuje následující graf.

Graf č. 40 – Trendy přístupnosti manganu v půdách při různých koncentracích **Penk**



5.5 Celkové obsahy prvků

Pokus s mikrovlnnými rozklady měl stanovit vliv **Penk** na obsah mikro a makro-prvků v rostlinách a jejich kořenech z vegetačního pokusu.

Výsledkem pokusu s mikrovlnnými rozklady nadzemních a podzemních částí bylo několik zjištění. Obsah vápníku je ovlivněn zvyšující se koncentrací **Penk**, v kořenech i v nadzemní části. Oproti tomu obsah mědi a hořčíku v nadzemních částech nebyl v zásadě ovlivněn přidavkem fungicidu. Bylo prokázáno, že nejvyšší obsah zinku, fosforu a draslíku se vyskytuje v rostlinách a kořenech rostlin, které byly vystaveny působení 20% roztoku **Penk**.

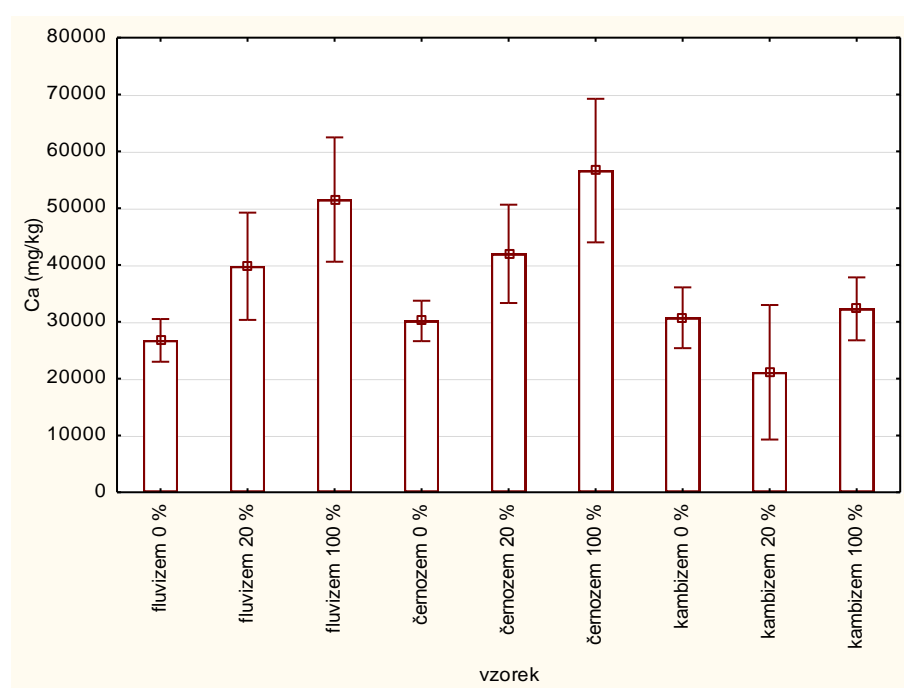
Výsledky ukazují spojitost pH s vlivem **Penk** na celkové obsahy prvků v rostlinách, což ověřil Pose-Juan a kol. (2010) viz výše.

5.5.1 Vápník

Vliv **Penk** na obsah vápníku byl zaznamenán u mírně kyselé fluvizemě a u zásadité černozemě. V obou případech rostl obsah vápníku v rostlinách s přidavkem fungicidu. Přídavek 20% roztoku fungicidu do fluvizemě způsobil zvýšení obsahu vápníku v nadzemní

části rostliny z průměrných 25 na 40 g/kg sušiny. 100% **Penk** měl za následek vyšší zvýšení, přes 50 g/kg sušiny. Velmi podobné výsledky vykazoval vzorek rostlin pěstovaný na černoze s tím rozdílem, že přídavek 100% **Penk** měl za vliv zvýšení obsahu Ca v rostlině na hodnotu okolo 57 g/kg sušiny. Oproti vlivu přípravku na fluvizemi a černoze, účinek na velmi kyselou kambizem byl velmi odlišný. Přídavek 20% fungicidu měl za následek spíše snížení obsahu vápníku v nadzemní části rostliny, nicméně průměrná hodnota je znevážena větší směrodatnou odchylkou. Přídavek 100% **Penk** neměl žádný účinek oproti kontrolnímu vzorku. Celkový obsah vápníku v nadzemní biomase definuje následující graf.

Graf č. 41 – Obsah vápníku v nadzemní biomase



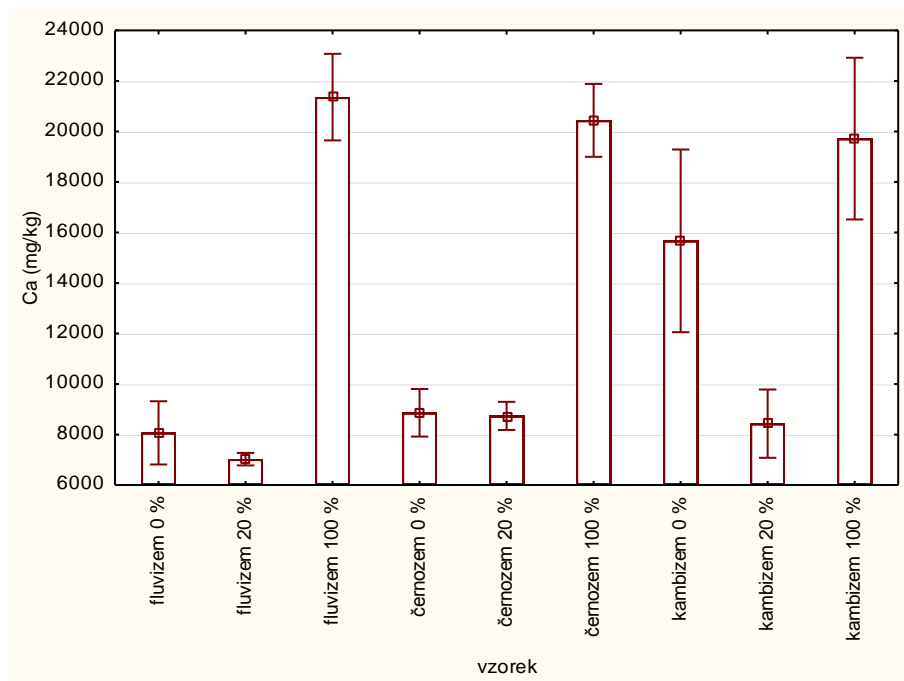
Vliv přídávku **Penk** byl signifikantní pro obsahy vápníku v kořenech testovaných rostlin. V případě přídávku 20% **Penk** do fluvizemě, došlo ke snížení obsahu vápníku v kořenech přibližně o jednu sedminu. Propastný rozdíl byl zaznamenán v testování kořenů po přídávku 100% fungicidu. Kořeny rostlin pěstovaných ve fluvizemi vykazovaly obsah vápníku přibližně 21 g/kg sušiny, tedy přibližně trojnásobek oproti kontrolnímu vzorku.

Přídavek 20% **Penk** neměl žádný vliv na obsah vápníku v kořenech rostlin pěstovaných v černoze. Nicméně 100% **Penk** byl jako u fluvizemě schopen zvýšit obsah vápníku v kořenech. Z kontrolních 9 g/kg sušiny na přibližně 20 g/kg sušiny.

Kontrolní vzorek u kambizemě obsahoval přibližně 16 g/kg sušiny, v přídávku 20% **Penk** se obsah snížil na průměrnou hodnotu 8 g/kg sušiny, ale 100% **Penk** měl za vliv zvýšení

obsahu vápníku v kořenech na necelých 20 g/kg sušiny. Celkový obsah vápníku v kořenech definuje následující graf.

Graf č. 42 – Obsah vápníku v kořenech

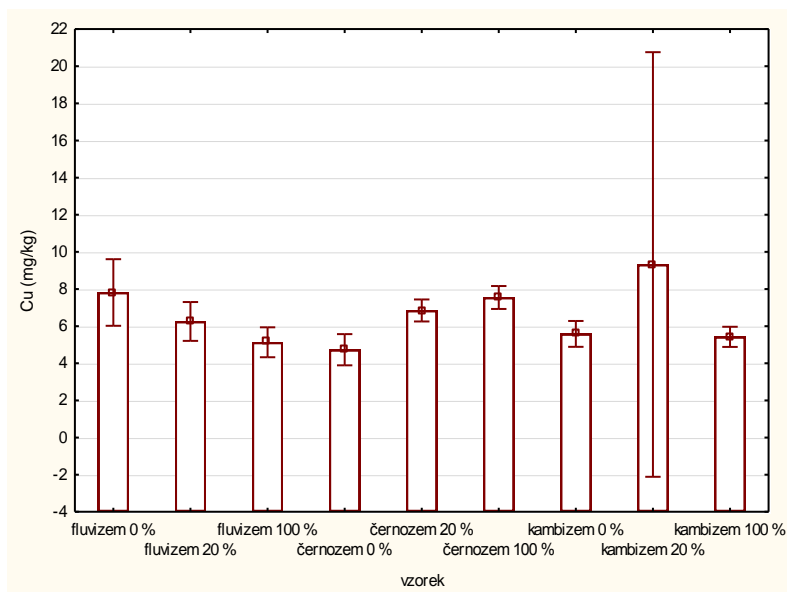


Výsledky zkoumání obsahu vápníku v kořenech a nadzemních částech rostlin naznačují, že přídavek 20% **Penk** snižuje obsahy vápníku v kořenech, ale zvyšuje obsahy vápníku v nadzemních částech rostlin pěstovaných v mírně alkalické a mírně kyselém prostředí. Přídavek 100% **Penk** zvyšuje více či méně obsahy vápníku v kořenech i v nadzemních částech rostlin, kromě rostlin pěstovaných na kyselé kambizemi.

5.5.2 Měď

V nadzemní biomase a kořenech byly pozorovány podobné trendy. Vliv **Penk** na obsah mědi byl pozorován u alkalické černozemě, kde obsah mědi stoupal se zvyšující se koncentrací fungicidu. Opačný trend byl pozorován u fluvizemě. Celkový obsah mědi v nadzemní biomase definuje následující graf.

Graf č. 43 – Obsah mědi v nadzemní biomase

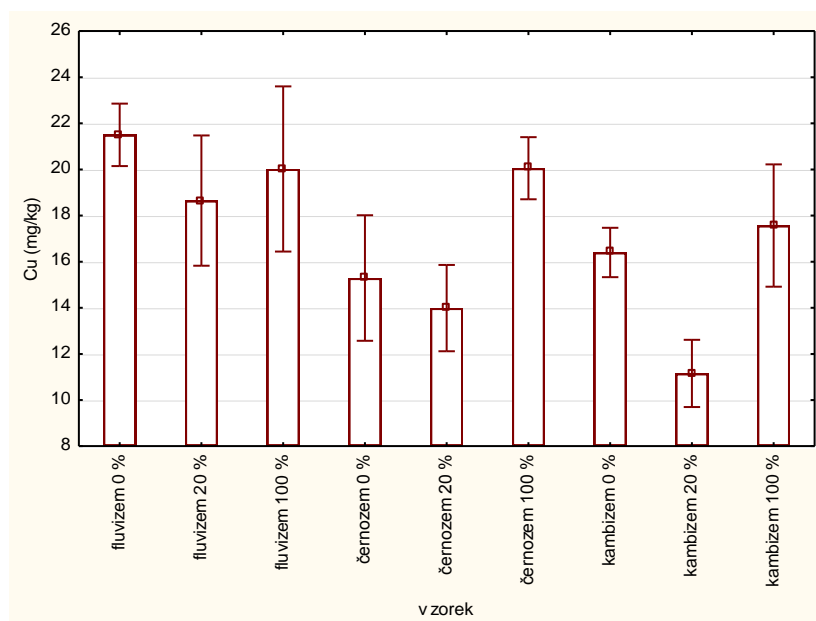


Vliv přidavku **Penk** je pozorovatelný při zkoumání obsahů mědi v kořenech testovaných rostlin. V případě kořenů rostlin pěstovaných ve fluvizemi, došlo k mírnému poklesu obsahu mědi po přidavku 20% **Penk**, přibližně o 20 %. Přídavek 100% **Penk** měl vliv na obsah mědi v kořenech, byl snížen o cca 10 % oproti kontrolnímu vzorku.

Obsah mědi v kořenech rostlin pěstovaných v mírně alkalické černozech se mírně snížil po kontaminaci půdy 20% **Penk**, nicméně došlo ke zvýšení obsahu ve vzorku s přidavkem 100% **Penk**. Konkrétně o jednu třetinu.

Penk měl vliv na obsah mědi v kyselých kambizemi. Především 20% fungicid měl za následek snížení obsahu mědi v kořenech o $\frac{1}{4}$. Oproti tomu při přidavku 100% **Penk** došlo k mírnému zvýšení průměrného obsahu mědi v kořenech. Celkový obsah mědi v kořenech definuje následující graf.

Graf č. 44 – Obsah mědi v kořenech



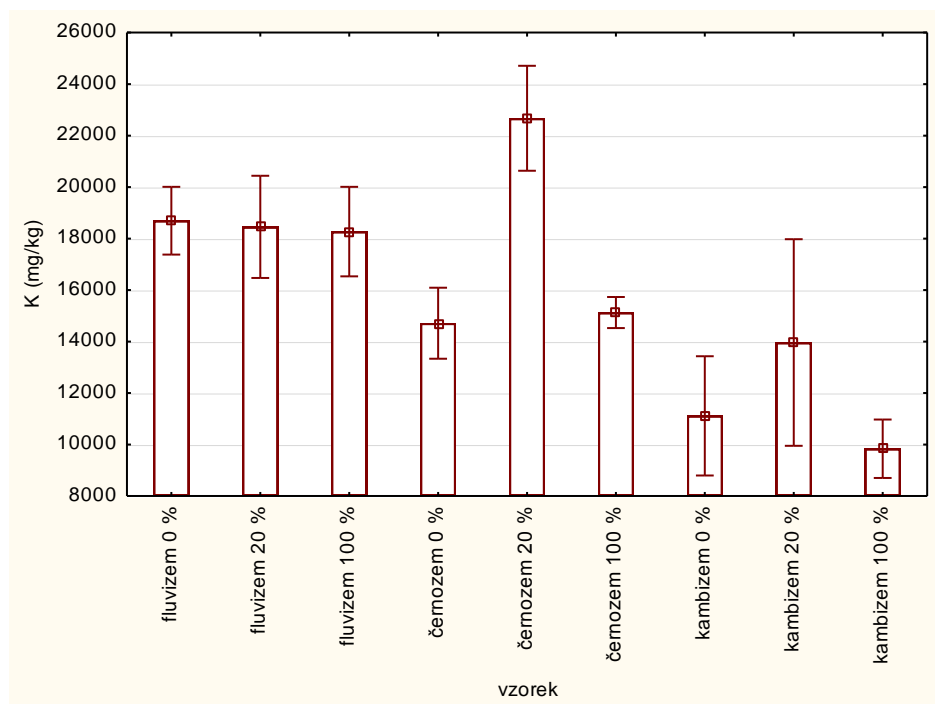
5.5.3 Draslík

Pokusem bylo prokázáno, že přídavek **Penk** neměl absolutně žádný vliv na obsah draslíku v nadzemní části rostlin pěstovaných na mírně kyselé fluvizemi.

Rostliny pěstované na mírně alkalické černozechy vykazovaly rozdílné hodnoty obsahu draslíku. Přídavek 20% **Penk** měl signifikantní vliv na obsah sledovaného prvku, oproti kontrolnímu vzorku i vzorku s přídavkem 100% **Penk**. Vzorek s přídavkem 20% **Penk** do půdy vykazoval o 8 g/kg sušiny draslíku více, než kontrolní vzorek a vzorek se 100% fungicidem, které v průměru obsahovaly 15 g/kg sušiny.

Kontrolní vzorek pěstovaný v kyselé kambizemi obsahoval přibližně 11 g draslíku na kilogram sušiny. Přídavkem 20% **Penk** se průměrný obsah draslíku zvýšil na 14 g/kg sušiny. Oproti tomu přídavek 100% fungicidu měl za následek snížení průměrného obsahu draslíku po 10 g/kg sušiny. Celkový obsah draslíku v nadzemní biomase definuje následující graf.

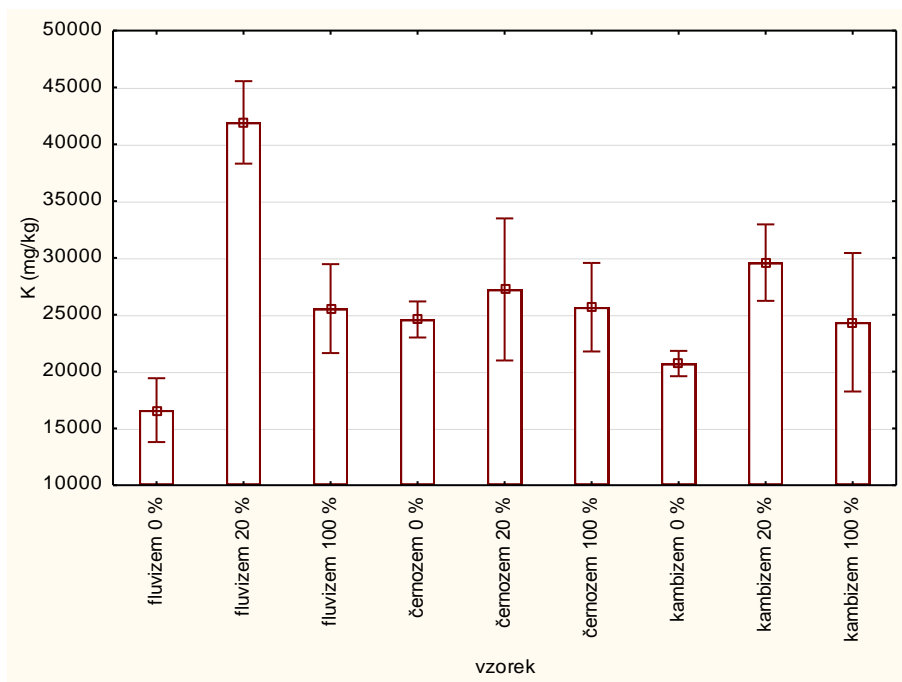
Graf č. 45 – Obsah draslíku v nadzemní biomase



Kontrolní vzorek kořenů rostlin pěstovaných na fluvizemi obsahoval přibližně 16 g draslíku/kg sušiny. Přídavek 20% fungicidu způsobil razantní zvýšení obsahu draslíku na téměř třikrát vyšší hodnotu, cca 42 g/kg sušiny. Vzorek se 100% **Penk** takové razantní zvýšení nezpůsobil. Průměrný obsah draslíku byl 25 g/kg. Přídavky **Penk** do alkalické černozemě neměly vliv na obsah draslíku v kořenech.

Kontrolní vzorek kořenů rostlin pěstovaných v kambizemi obsahoval přibližně 20 g draslíku na kilogram sušiny. Přídavkem 20% **Penk** došlo ke zvýšení obsahu těsně pod hranici 30 g draslíku na kilogram sušiny. Přídavek 100% **Penk** neměl takový vliv na zvýšení obsahu draslíku, průměrná hodnota se zvýšila přibližně na 24,5 g/kg. Celkový obsah draslíku v kořenech definuje následující graf.

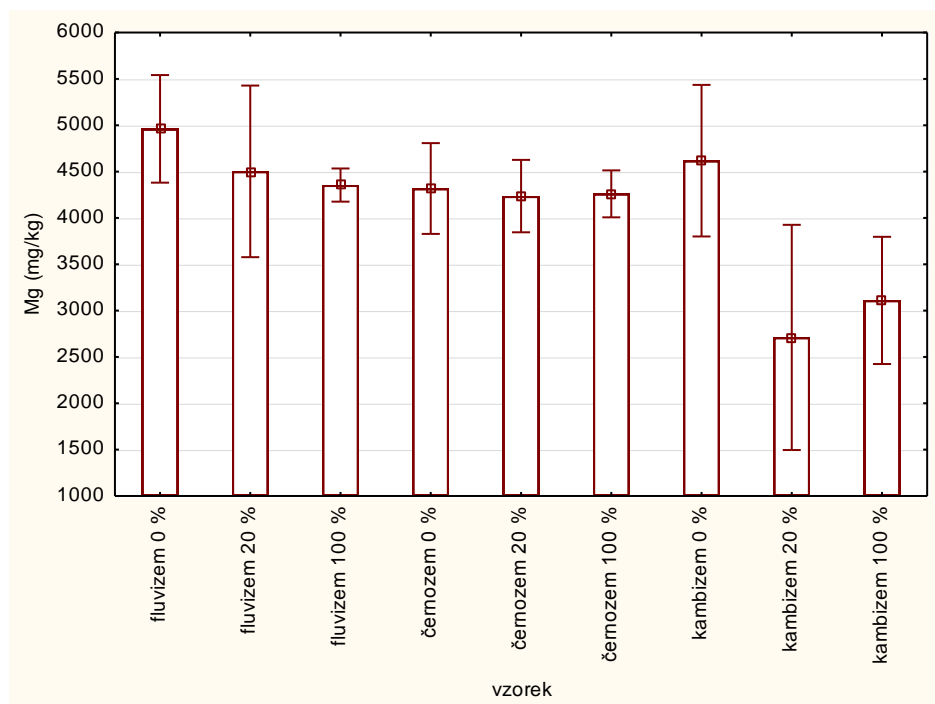
Graf č. 46 – Obsah draslíku v kořenech



5.5.4 Hořčík

Přídavek **Penk** neovlivňoval obsahy hořčíku v nadzemních částech rostlin u fluvizemě a černozemě. V případě kambizemě došlo ke snížení obsahu hořčíku přídavkem 20% **Penk**. Průměrná hodnota se snížila přibližně o dvě pětiny na 2,7 g/kg. Přídavek 100% **Penk** do kyselé kambizemě měl za následek snížení obsahu hořčíku o přibližně 1,5 g/kg. Celkový obsah hořčíku v nadzemní biomase definuje následující graf.

Graf č. 47 – Obsah hořčíku v nadzemní biomase

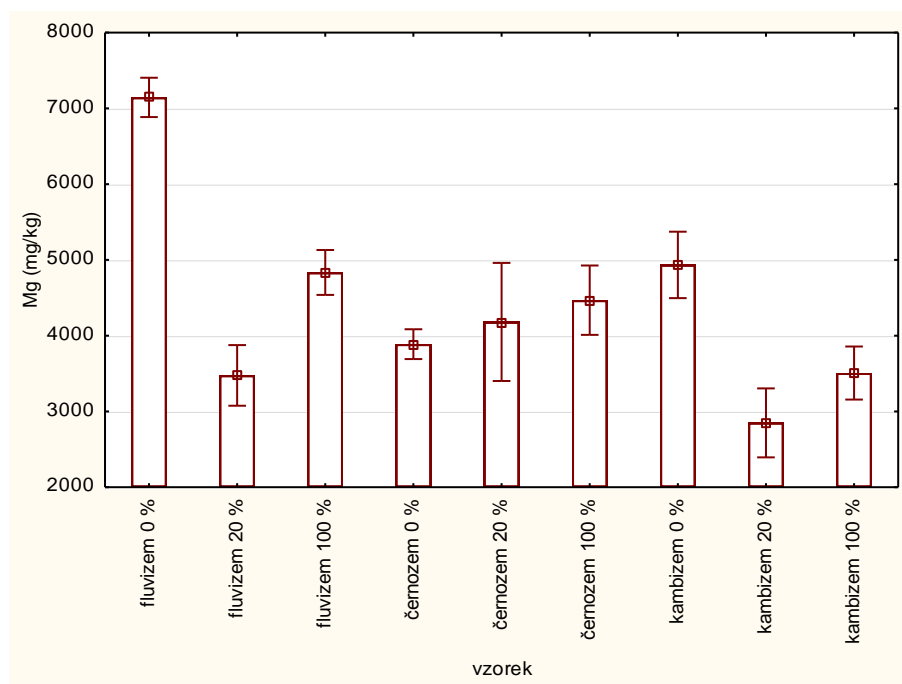


Při pozorování vlivu **Penk** na obsah hořčíku v kořenech rostlin pěstovaných v mírně kyselé fluvizemi bylo zjištěno, že má 20% a 100% roztok **Penk** signifikantní vliv. Při porovnání kontrolního vzorku se vzorkem po přidavku 20% **Penk** je obsah hořčíku ve vzorku s fungicidem o polovinu nižší. 100% **Penk** měl za vliv snížení obsahu hořčíku přibližně o polovinu.

Oproti mírně kyselé fluvizemi, v mírně alkalické kambizemi měl přídavek **Penk** spíše pozitivní vliv na obsah hořčíku v kořenech. Průměrná koncentrace hořčíku se mírně zvyšovala s přidavkem **Penk**. Při 20% koncentraci v průměru o 5 % a při 100% koncentraci o dalších 10 %.

20% **Penk** měl negativní vliv na obsah hořčíku v kořenech rostlin pěstovaných v kyselé kambizemi. Po přidavku fungicidu došlo ke snížení obsahu hořčíku na více než polovinu oproti kontrole. 100% **Penk** vykázal snížení obsahu prvku nižší, přibližně o třetinu. Celkový obsah hořčíku v kořenech definuje následující graf.

Graf č. 48 – Obsah hořčíku v kořenech



5.5.5 Mangan

Přídavek fungicidu do půd měl ve všech případech podobný vliv na obsah manganu v rostlinách. Vždy došlo k většímu či menšímu snížení obsahu manganu v nadzemních částech rostlin.

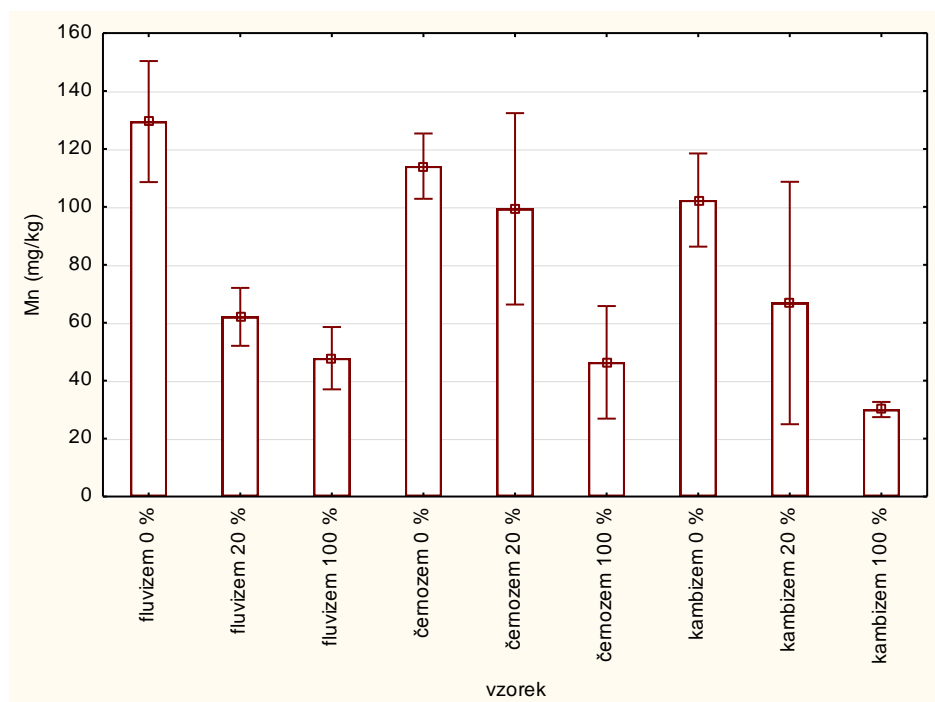
Po přídavku 20% **Penk** došlo u fluvizemě ke snížení obsahu manganu v nadzemních částech rostlin o více než polovinu. Po přídavku 100% fungicidu dokonce o více než dvě třetiny.

Kontrola černozemě vykazovala přibližně 113 mg Mn na kg sušiny nadzemní části. Přídavek 20% **Penk** způsobil snížení na průměrnou hodnotu 99 mg/kg. Přídavek 100% fungicidu měl větší účinek a snížil obsah manganu v nadzemní části rostliny v průměru na polovinu obsahu zaznamenaného v kontrolním vzorku.

Obsah manganu v kontrolním vzorku kambizemě, byl o 35 % vyšší než po přídavku 20% **Penk** a o 70% vyšší než po přídavku 100% **Penk**.

Výsledky naznačují, že přídavek **Penk** negativně ovlivňuje obsah manganu v nadzemních částech rostlin pěstovaných na všech třech půdách. Celkový obsah manganu v nadzemní biomase definuje následující graf.

Graf č. 49 – Obsah manganu v nadzemní biomase



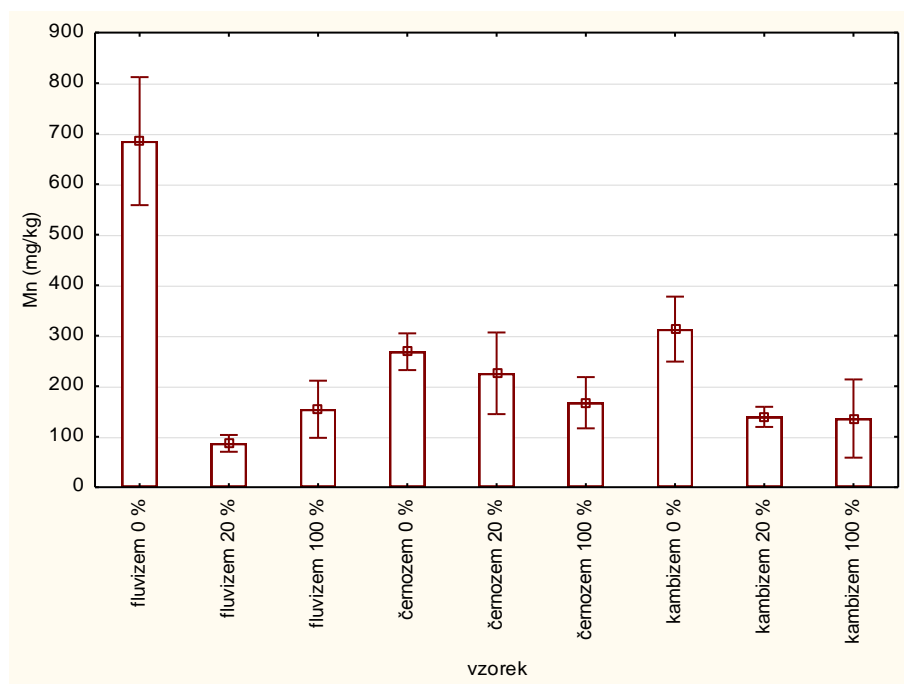
Zásadní vliv **Penk** na obsah manganu v kořenech byl pozorován především u mírně kyselé fluvizemě. Kontrolní vzorek a vzorek po přidavku 20% fungicidu se lišily o přibližně 700 %. Přídavek 100% fungicidu měl za následek snížení obsahu manganu v kořenech na přibližně jednu pětinu obsahu kontrolního vzorku.

Vliv přidavku **Penk** nebyl tak signifikantní u mírně alkalické černozemě. Trend snižování obsahu manganu po přidavku fungicidu byl sice zaznamenán, ale pouze v řádech malých desítek procent.

Oproti černozemí, vliv **Penk** na rostliny, respektive jejich kořeny, pěstované v kyselé kambizemi byl zaznamenán silnější ve smyslu snížení obsahu manganu. Kontrolní vzorek a vzorek s přidavkem 20% **Penk** se lišily dvojnásobně, stejně tomu bylo u kontrolního vzorku a vzorku se 100% roztokem **Penk**.

Výsledkem těchto rozborů bylo zjištění, že přidavek **Penk** více či méně negativně ovlivňují obsahy manganu v kořenech a nadzemních částech rostlin. Celkový obsah manganu v kořenech definuje následující graf.

Graf č. 50 – Obsah manganu v kořenech



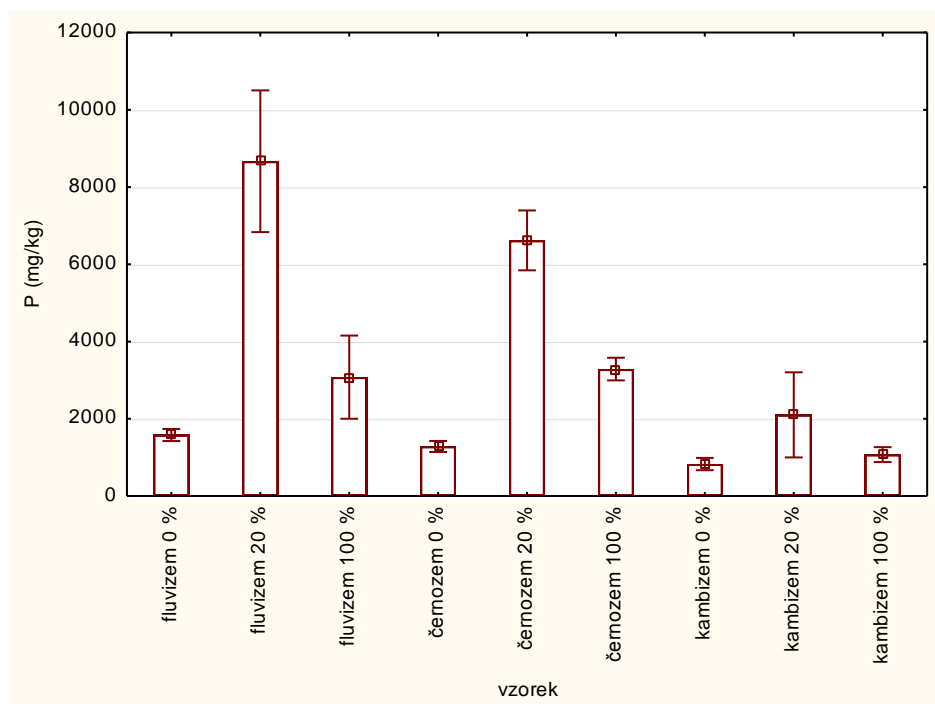
5.5.6 Fosfor

Oproti manganu vykazují výsledky obsahu fosforu v rostlinách i kořenech pozitivní trend. Po přidavku 20% **Penk** se obsah fosforu v nadzemních částech rostlin pěstovaných na fluvizemi zvýšil více než 4x. 100% **Penk** měl mnohem menší účinek, zvýšil obsah fosforu z kontrolních cca 1,8 g/kg na 3 g/kg.

Podobný vliv jako u fluvizemě byl zaznamenán i u černozemě. Po přidavku 20% **Penk** vykazovaly nadzemní části rostlin zvýšený obsah fosforu oproti kontrole přibližně pětinasobně. Přídavek 100% **Penk** neměl takový vliv, nicméně zvýšení bylo prokázáno. Došlo ke zvýšení obsahu fosforu oproti kontrole přibližně dvakrát.

U rostlin pěstovaných v kambizemi byl pozorován trend jako u rostlin pěstovaných v černozemi a fluvizemi. Přídavkem 20% **Penk** došlo ke zvýšení obsahu fosforu v nadzemních částech rostlin. Vliv 100% **Penk** nebyl tak silný, průměrný obsah fosforu se zvýšil přibližně o 10 %. Celkový obsah fosforu v nadzemní biomase definuje následující graf.

Graf č. 51 – Obsah fosforu v nadzemní biomase



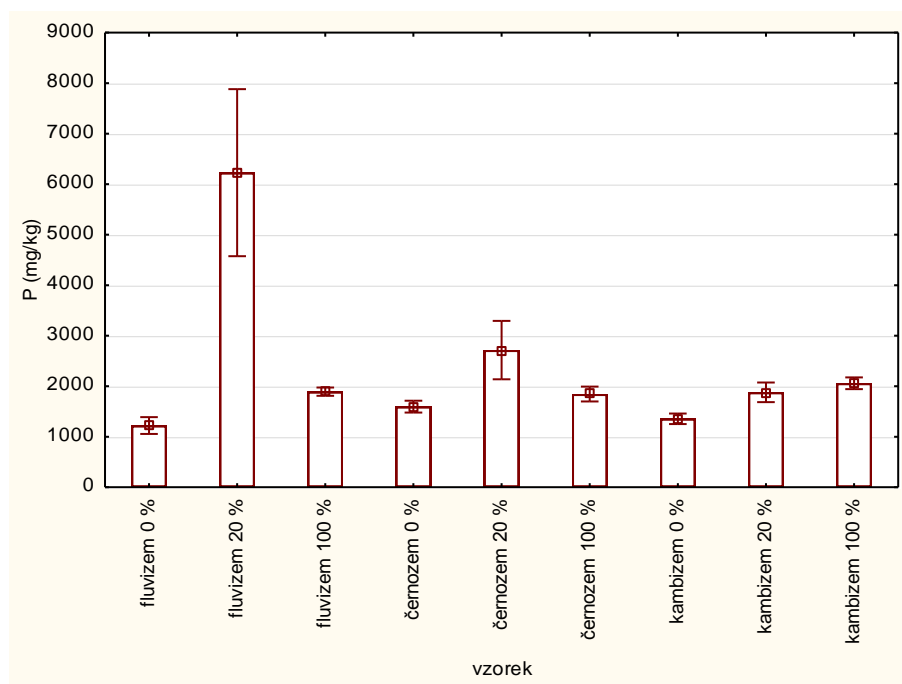
Vliv **Penk** na obsah fosforu v kořenech rostlin na sledovaných půdách byl velmi podobný vlivu pozorovanému při analýzách nadzemních částí.

Přídavek 20% **Penk** do fluvizemě způsobil zvýšení obsahu fosforu v kořenech oproti kontrolnímu vzorku téměř šestkrát. Přídavek 100% **Penk** se projevil nárůstem obsahu fosforu oproti kontrolnímu vzorku přibližně o 80 %.

Při zkoumání kořenů rostlin pěstovaných v černozech bylo zjištěno, že přídavek 20% fungicidu způsobuje 80 % zvýšení obsahu fosforu v kořenové části rostlin. Přídavek 100% fungicidu neměl takový vliv, způsobil zvýšení obsahu fosforu o přibližně 20 %.

Oproti ostatním pozorováním obsahu fosforu v kořenových částech rostlin, obsahy fosforu u kořenů rostlin pěstovaných v kambizech měly jiný trend. Přídavek 20% a 100% **Penk** měl za následek jen mírné navýšení obsahu fosforu, přibližně o 30 % pro nižší koncentraci fungicidu a o 50 % při vyšší koncentraci fungicidu. Celkový obsah fosforu v kořenech definuje následující graf.

Graf č. 52 – Obsah fosforu v kořenech



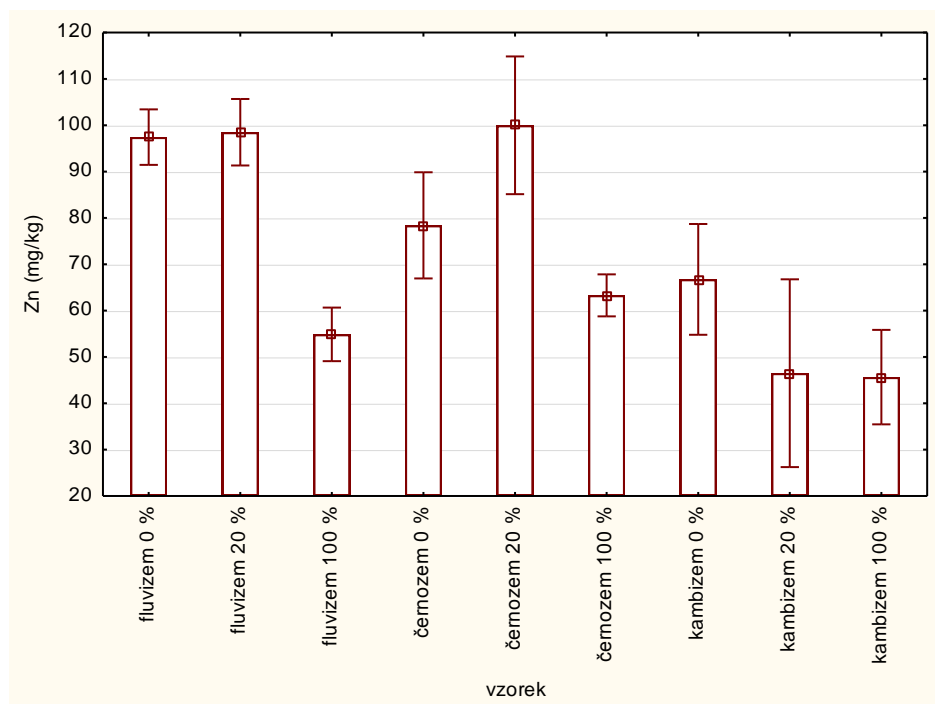
5.5.7 Zinek

Přídavek 20% fungicidu do fluvizemě neměl žádný vliv na obsah zinku v nadzemních částech rostlin. Změna obsahu zinku se projevila až při vyšší koncentraci, kdy došlo k razantnímu poklesu.

Přídavek 20% **Penk** do černozemě způsobil zvýšení obsahu zinku v nadzemních částech rostliny oproti kontrolnímu vzorku přibližně o ¼. Přídavek 100% **Penk** měl opačný vliv. Došlo ke snížení obsahu zinku v nadzemních částech rostlin přibližně o 20 %.

U rostlin pěstovaných v kambizemi byl pozorován negativní vliv přídavku **Penk** na obsah zinku v rostlinách. Přídavek obou koncentrací fungicidu měl za následek snížení obsahu zinku v průměru o 20 mg zinku na kilogram sušiny oproti kontrole, kde byl obsah přibližně 64 mg/kg. Celkový obsah zinku v nadzemní biomase definuje následující graf.

Graf č. 53 – Obsah zinku v nadzemní biomase

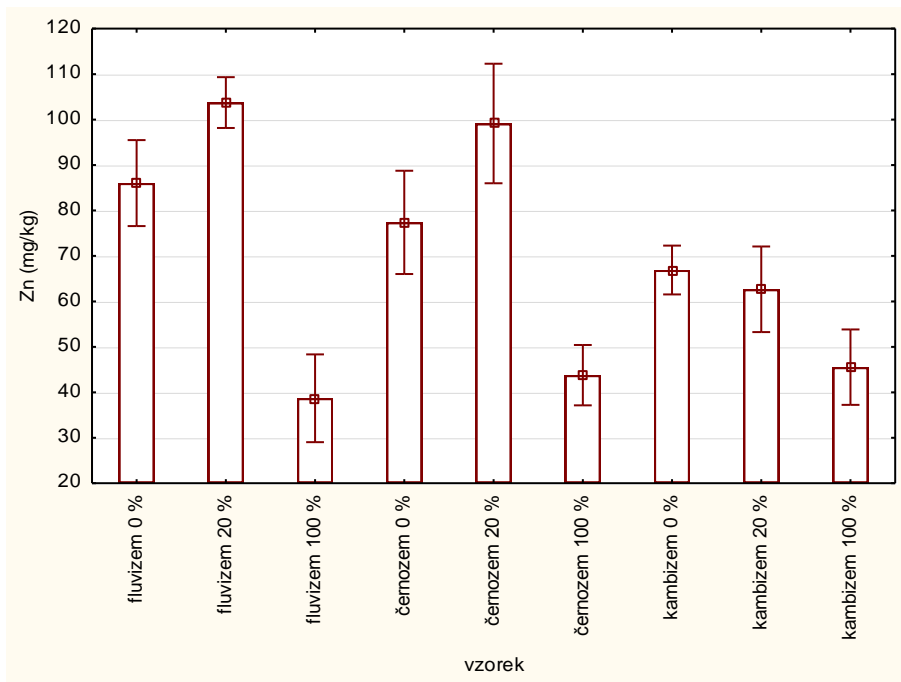


Vliv 20% **Penk** na obsah zinku v kořenech rostlin, pěstovaných ve fluvizemi, byl odlišný od vlivu na nadzemní část. Přídavek 20% **Penk** měl za následek zvýšení obsahu zinku v kořenech o více než $\frac{1}{4}$ kontrolního vzorku. Oproti tomu, přídavek 100% fungicidu měl za následek snížení obsahu zinku na méně než 50 % hodnoty kontrolního vzorku.

Vliv přídavku 20% **Penk** do černozemě způsobil zvýšení obsahu zinku v kořenové části rostlin oproti kontrolnímu vzorku o jednu třetinu. Oproti tomu přidáním 100% **Penk** se obsah zinku v kořenech snížil o přibližně 44 %.

U kambizemě byl po přídavku dvou koncentrací **Penk** pozorován trend klesajícího obsahu zinku v kořenech se zvyšující se koncentrací fungicidu. U přídavku 20% **Penk** se obsah zinku snížil v průměru o 10 %, u přídavku 100% **Penk** o více než 30 %. Celkový obsah zinku v kořenech definuje následující graf.

Graf č. 54 – Obsah zinku v kořenech



6 Diskuse

Tato diplomová práce měla za cíl zkoumat vlivy triazolového fungicidu penkonazolu (**Penk**) na prostředí, do kterého je aplikován.

Lze tvrdit, že dílčí výsledky pokusů daly dohromady určité povědomí o vlivu tohoto triazolového fungicidu na prostředí zasažené jeho aplikací a tím naplnily cíle práce a zodpověděly hypotetické otázky týkající se vlivu **Penk**.

Přídavky **Penk** chelatovaly některé prvky a tím je zpřístupnily rostlinám, které následně vykazovaly vyšší obsahy oproti kontrolním vzorkům. Inkubační pokusy potvrdily hypotetickou schopnost **Penk** snižovat mikrobiální aktivitu v horizontu několika týdnů a zároveň jeho schopnost ovlivňovat tímto způsobem přístupnost mikro- a makroprvků rostlinám.

Výsledky inkubačních testů korelují s výsledky vegetativního pozorování, kdy při snížené přístupnosti živin docházelo k narušení vývoje a růstu rostlin.

Dílčí výsledky pokusů jsou diskutovány v následujících kapitolách.

6.1 Vegetační pokus

Výsledkem tohoto pokusu bylo zjištění, že přídavky **Penk** mohou ovlivnit růst rostlin v závislosti na koncentraci přidaného fungicidu a vlastnostech půdy, do které je fungicid aplikován. Přídavky **Penk** měly za následek snížení výnosů pokusné rostliny rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum L.*) na testovaných půdách fluvizemě a černozemě. Munier-Lamy a Borde (2000) zkoumali efekt triazolových fungicidů na rozklad celulózy v půdě. Pro testy byla připravena půda s obsahem humusu 4 % a použit byl flutriafol, triazolový fungicid, v koncentracích 0; 0,17; 1,7; 17 a 170 mg/kg. Tyto hodnoty byly určeny jako 0, 1, 10, 100 a 1000násobek standardní aplikace tohoto fungicidu. Ve vzorcích s koncentrací od 0,17 do 1,7 mg/kg byly v prvních 15 dnech pozorovány úbytky váhy, respektive úbytky celulózy srovnatelné s kontrolním vzorkem. V následujících dnech byl pozorován úbytek celulózy především u vzorků se 17 a 170 mg/kg. Experiment potvrdil, že aplikace tohoto triazolového fungicidu, který spadá do stejné skupiny fungicidů jako **Penk**, nemá signifikantní vliv na rozklad celulózy rostlin. Tudíž se lze domnívat, že ke snížení váhy, přírůstků a výsledné výšce nepřispěl **Penk** tím, že by ve větší míře poškozoval celulózu rostlin. Triazolové fungicidy tedy pravděpodobně nepoškozují stavbu rostlin.

Tato diplomová práce prokázala, že přídavek **Penk** do půdy negativně ovlivňuje obsah chlorofylu *a* a chlorofylu *b* u všech zkoumaných půd. Ovlivnění obsahu chlorofylu má za následek ovlivnění fotosyntézy (Motilva, 2008). Petit a kol. (2012) potvrzují výsledky této diplomové práce. V jejich práci bylo dokázáno, že fungicidy nepříznivě ovlivňují fotosyntézu. Popisují, že aplikace fungicidu může mít za následek redukci fotoasymilátů a následně může přispět ke snížení růstu a výnosů polních plodit. Petit a kol. (2012) uvádějí, že kontaktní fungicidy, například na bázi mědi, zpomalují fotosyntézu tím, že poškozují chloroplasty, což ovlivňuje fotosystém II a chlorofylovou biosyntézu.

Dle Hassanpour a kol. (2013) může mít přídavek **Penk** i pozitivní vliv na rostliny. Konkrétně se jedná o rostliny stresované nedostatkem závlahy. Obsahy chlorofylů v suchem stresovaných rostlinách se při aplikaci **Penk** zvýšily. Chlorofyl *a* se zvýšil o 228 %, chlorofyl *b* o 126 % a chlorofyl *c* o 140 %.

6.2 Půdní inkubační pokus

Půdní inkubační pokus měl za cíl sledovat vliv přídavku **Penk** na přístupnost živin z půdy v osmitýdenním pokusu. Obsah potenciálně dostupných prvků je úzce spojen s fyzikálněchemickými parametry půdy, jako je pH a poměr organické složky (Wenzel a kol., 1999). V půdním inkubačním pokusu byly zkoumány mikroprvky (hliník, hořčík, draslík, vápník), které mají výraznou schopnost ovlivňovat růst a vývoj rostlin i živočichů. Podílejí se na regulaci jako součásti enzymů. Nalezneme je v bílkovinách a nukleových kyselinách (Baier a kol., 1985) a makroprvky (fosfor, mangan, měď, zinek, železo), které i přes to, že jsou rostlinami využívány jen v malých koncentracích, zůstávají nedílnou součástí jejich stavby (Koubová, 2005). Dle Baier (1979) může nedostatek jakéhokoliv esenciálního prvku omezit využití ostatních živin s důsledkem snižování výnosů plodin.

Přístupnost hliníku byla výrazně ovlivněna přídavkem **Penk**. V menší koncentraci byla pravděpodobně ovlivněna mikrobiální aktivita. Negativní ovlivnění mikrobiální aktivity ustalo nebo začalo ustávat mezi 4. a 8. týdnem odběru. Vyšší koncentrace **Penk** měla podobný účinek, nicméně kromě pokusu s černozemí nedošlo mezi 4. a 8. týdnem k navrácení přístupnosti hliníku. Pravděpodobně byla ve fluvizemi a kambizemi mikrobiální aktivita natolik potlačena, že její obnova by vyžadovala další odběry. Rout a kol. (2001) definoval, že nadměra přístupného hliníku může působit negativně na růst rostlin. **Penk** by mohl mít pozitivní vliv na růst rostlin snížením přístupnosti hliníku v půdách se zvýšenou koncentrací

tohoto makroprvku. Podobný průběh měl půdní inkubační pokus s draslíkem, hořčíkem, manganem, zinkem, železem a mědí, kdy po přidání 20% **Penk** došlo ke snížení přístupnosti, která se opět zvýšila mezi 4. a 8. týdnem pokusu. 100% přidavek vykazoval kromě aplikace do černozemě, kde byly výsledky obdobně nižší koncentrace, pouze klesající trend. Výsledky pokusu naznačují, že má **Penk** velmi podobný vliv na přístupnost draslíku, hořčíku, manganu, zinku, železa a mědi. Může je ovlivňovat tím, že potlačí mikrobiální aktivitu, nicméně mezi 4. a 8. týdnem dochází k degradaci 20% **Penk**, silnější koncentrace pravděpodobně degraduje pomaleji.

Zásadní vliv měl **Penk** na přístupnost fosforu, která se rapidně snížila. Po přidavku 20% fungicidu bylo v prvním odběrovém dni pozorováno přibližně 3,5násobné snížení přístupnosti, která následující týdny klesala a až při odběru 8. týden pokusu se částečně navrátila na původní hodnoty u všech tří pokusných půd. Průběh snižování, resp. zvyšování přístupnosti fosforu po přidavku 100% **Penk** měl trend snižování u kambizemě a fluktuální u fluvizemě. U černozemě, jako jedinné, se při odběru v 8. týdnu začala přístupnost opět zvyšovat. Dle Magdoff a Weil (2004) je fosfor vázaný především na humus, organické zbytky a půdní mikroflóru, což by mohlo souviset s jeho sníženou přístupností. Negativní vliv **Penk** na mikrobiální aktivitu měl za následek rapidní snížení přístupnosti fosforu. Při dlouhodobějším pokusu by se pravděpodobně přístupnost fosforu postupně zvyšovala degradací fungicidu.

Přídavek **Penk** do půdy mělo na následek rapidní zvýšení přístupnosti vápníku u všech sledovaných půd. Paradoxně, nižší koncentrace fungicidu zvyšovala přístupnost vápníku několikanásobně a vyšší koncentrace neměla tak zásadní vliv. **Penk** v koncentraci 14,6 mg/kg půdy má pravděpodobně silný chelatační účinek na vápník. Zvýšená přístupnost vápníku dle White a Broadley (2003) nemusí mít nutně negativní efekt. U některých rostlin, jako je réva vinná, může docházet k fyzickým deformacím.

Výsledky ukazují, že přidavek triazolového fungicidu **Penk** má mnohdy signifikantní vliv na přístupnost živin z půdy. Z výsledků je patrné, že **Penk** v půdě degraduje (počátek mezi 4. a 8. týdnem po aplikaci) a s největší pravděpodobností není persistentní. Podobnou skutečnost zaznamenali Romeh a kol. (2009). Ve své práci definovali, že použití **Penk** pro postřik rajčat je poměrně bezpečné, protože se **Penk** do několika dní až týdnů odbourá a jeho rezidua nezůstávají v rostlině ani v případných plodech. Dle FAO a WHO (1993) se degradabilita **Penk** v půdě pohybuje mezi 20 a 49 týdny. Při pokusu zkoumaly obsahy **Penk**

v půdním prostředí pole. První den odběru se koncentrace pohybovala mezi 0,22 a 0,37 mg/kg v hloubce od 0 do 7,5 cm a snížila se na 0,067 po dvou týdnech. Tyto výsledky potvrzují závěry této diplomové práce, že **Penk** degraduje v půdě a tudíž není persistentní. Kundu a kol. (2014) ve své práci dokázali, že fungicid tebuconazol (triazolový fungicid podobný **Penk**) v půdě degraduje a není persistentní. Jako poločas rozpadu byla vysledována hodnota mezi 2,62 a 2,86 dny. Výsledek pokusu ukazoval, že tebuconazol není persistentní v plodech hroznového vína ani v půdě. Tento pokus koreluje s výsledky této diplomové práce, konkrétně v oblasti nepersistence triazolového fungicidu **Penk** v půdách.

Grade (1999) zkoumal biodegradabilitu **Penk** pomocí 29 denního screeningového testu. V jeho případě došlo k degradaci pouhých 9 % fungicidu a tak došel k názoru, že se **Penk** řadí do skupiny poměrně špatně degradovatelných látek s tendencí hromadit se v půdě, nicméně pokus v této diplomové práci zkoumal degradaci z dlouhodobějšího hlediska a dokázal, že k degradaci **Penk** dochází mezi 4. a 8. týdnem po aplikaci.

Lucini a kol. (2009) pracovali s difenokonazolem, triazolovým fungicidem podobným **Penk**, a cukrovou třtinou. Ve čtyřletém pokusu aplikovali fungicid do půdy do hloubky 0-10 cm a 10-40 cm a zkoumali jeho persistenci. Aplikace probíhala jednou ročně v míře 75 g fungicidu na hektar. Zjistili, že ve svrchní vrstvě půdy zůstaly stopy difenokonazolu (0,14-0,32 mg/kg) po třetím roce pokusu. Nicméně následující rok nebyly nalezeny žádné stopy fungicidu. Je možné, že fungicid částečně sorboval na kořeny, popř. že byl jeho rozpad podpořen fotodegradací, nicméně závěry této práce potvrzují, že triazolové fungicidy nejsou persistentní v půdě a tudíž je poměrně bezpečné používat je z dlouhodobého hlediska.

6.3 Krátkodobá sorpce

Penk se v České republice používá jako součást fungicidních přípravků (Musil, 2016). Experimentální sorpční model sledoval vliv **Penk** na mobilitu mikro- a makroprvků v krátkodobém horizontu.

Krátkodobé vystavení půd určité koncentraci **Penk** mělo nízkou či střední odezvu u vápníku, hořčíku, fosforu a manganu. Vliv na zinek nebyl průkazný. Nejzásadnější vliv byl v krátkodobém pozorování odhalen u železa, kde výrazněji, než u ostatních prvků, klesala jeho přijatelnost se zvyšující se koncentrací fungicidu. Nutno poukázat na fakt, že přírůstek **Penk** měl většinou za následek určitou změnu přijatelnosti daného prvku, což znamená, že může ovlivňovat sorpci.

Mobilita vápníku s rostoucí koncentrací **Penk** stoupala u všech sledovaných půd. Výsledky ukazují patrný trend zvyšování mobility vápníku po přidavcích **Penk**. Lze tvrdit, že **Penk** může mít v krátkodobém hledisku chelatační účinek na vápník závislý na jeho koncentraci.

Přídavek pokusných koncentrací **Penk** měl opačný vliv na přístupnost hořčíku, fosforu a železa, než na vápník. Trend snižování mobility byl signifikantní u mírně zásadité černozemě a u mírně kyselé kambizemě. Přístupnost manganu se se zvyšující koncentrací přidaného fungicidu snižovala u pokusných půd fluvizemě a černozemě. Trend vyzorovaný u kambizemě byl opačný. Lze tvrdit, že pH blízke 7, v tomto případě 6,22 u fluvizemě a 7,85 u černozemě, je úzce spojeno se schopností **Penk** ovlivňovat mobilitu živin v půdě. Trend přístupností živin sledovaný u kyselé (pH 5,52) kambizemě byl většinou opačný než u dvou dalších půd.

Nutno poukázat na fakt, že přídavek **Penk** měl většinou za následek určitou změnu přijatelnosti daného prvku, což znamená, že ovlivňuje sorpci. Podobný pokus s krátkodobou sorpcí **Penk** byl proveden Pose-Juan a kol. (2010). V tomto pokusu byla použita metodika 1 g půdy na 10 ml 20% **Penk** a 0,01 M CaCl₂. Maximální koncentrace **Penk** v sorpčním experimentu byla 35 mg/l, tedy přibližně poloviční, než u pokusů v této diplomové práci. Koncentrace fungicidu byly rozděleny na 5, 10, 20, 25, 30 a 35 mg/l. Výsledkem tohoto pokusu bylo zjištění, že vliv **Penk** je ovlivněn pH suspenze, do které je fungicid aplikován. Výsledky tohoto pokusu potvrzují domněnku, že je krátkodobá sorpce ovlivněna hodnotami pH a tudíž nemá přídavek **Penk** u všech sledovaných půd stejný účinek.

Penk, jako triazolový fungicid používaný pro ochranu rostlin před houbovými organismy, tedy může ovlivňovat sorpci živin. Studie Jiang a kol. (2016) popisuje, že je možné, při nenarušení ochrany rostlin, snížit mobilitu, translokaci a následnou akumulaci **Penk** v rostlině přidáním SBC (kompostovaná cukrová třtina) či CMC (kompostovaný kuřecí hnůj). Aplikace této metody by mohla odstranit snižování výnosů, jak se tomu stalo ve vegetačním pokusu v této diplomové práci, při zachování stejné nebo podobné ochrany rostlin před zhoubnými houbovými onemocněními. Pokus byl prováděn s pšenicí setou.

Singh (2002) ve své práci zkoumal schopnost několika triazolových fungicidů adsorbovat v krátkodobém horizontu. Pro své pokusy použil hexakonazol, triadimefon a penkonazol. Při svých pokusech postupoval následovně. Postup pokusu začínal navážením 5 g půdy do 50ml nádob a bylo přidáno 25 mL 0,01M CaCl₂. Následovalo čtyřhodinové třepání. Bylo zjištěno, že

Penk vykazoval nejvyšší míru adsorpce, oproti hexakonazolu a triadimefonu, což potvrzuje domněnku této diplomové práce, že se **Penk** váže na půdy v krátkodobém horizontu. Dále bylo zjištěno, že obsah jílu v půdách má zásadní roli na adsorpci **Penk** do půdy. Singh (2002) zjistil, že **Penk** dosahuje nejnižší desorpce ze zkoumaných triazolových fungicidů.

6.4 Celkové obsahy prvků

Výsledkem pokusu s mikrovlnnými rozklady nadzemních a kořenových částí rostlin bylo několik zjištění. Obsah vápníku v nadzemních částech rostlin roste se zvyšující se koncentrací **Penk** v mírně kyselé fluvizemi a mírně zásadité černozemi. Oproti tomu nejvyšší obsahy vápníku v kořenové části byly zaznamenány po přidavku 100% **Penk**. Dle Bartoše (1968) může mít nadbytek vápníku v rostlině negativní vliv na její schopnost vstřebávat jiné prvky, například bór.

Obsah mědi a hořčíku v nadzemních částech nebyl v zásadě ovlivněn přidavkem fungicidu. Bylo prokázáno, že nejvyšší obsah zinku, fosforu a draslíku se vyskytuje v rostlinách a kořenech rostlin, které byly vystaveny působení 20% roztoku **Penk**.

Lze tvrdit, že **Penk** má vliv na celkové obsahy živin v rostlinách, respektive v jejich nadzemních částech a kořenech. Negativní vliv **Penk** byl pravděpodobně ovlivněn pH testovaných půd, jak uvedli Pose-Juan a kol. (2010) ve svém pokusu.

Tuna (2014) ve svém pokusu zkoumal vliv triazolových fungicidů na celkové obsahy živin ve výhoncích a kořenech rajčete jedlého, podobně jako v pokusu této diplomové práce. Zjistil, že aplikace některých triazolů mohou samotné, či spolu se stresem vyvolaným přidavkem NaCl, způsobit snížení obsahů vápníku, draslíku a fosforu ve výhoncích a kořenech rajčat. Se zvyšujícím se přidavkem NaCl docházelo ke snižování obsahu vápníku, draslíku a fosforu ve zkoumaných rostlinách a jejich kořenech. Výsledkem pokusu bylo zjištění, že některé triazoly mohou mít inhibiční efekt na fyziologické a chemické procesy v rostlinách.

7 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo posoudit utilizaci penkonazolu (**Penk**) v životním prostředí. Vliv **Penk** byl posuzován v několika rovinách, z čehož byly vyvozeny závěry. Fyzikálně-chemickou interakci měl posoudit krátkodobý sorpční pokus, vliv na přístupnost živin a případnou degradaci inkubační pokus a změny v interakci s rostlinou pokus vegetační.

První pokus měl posoudit vliv **Penk** na růst rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum* L.), na obsah chlorofylů a výnosy u této plodiny při aplikaci fungicidu. Pokusy uvedené v této diplomové práci měly také prověřit schopnost **Penk** ovlivňovat přístupnost živin, mikro- a makroprvků, pro rostliny z půdního prostředí. Několik pokusů mělo za cíl komplexně posoudit, zdali a jaký má **Penk** vliv na prostředí, do kterého je zanášen postřiky.

Stanovení celkového obsahu mikro- a makroprvků v nadzemní biomase a kořenech z vegetačního pokusu potvrdilo domněnku, že přídavek **Penk** má vliv na obsahy některých prvků v rostlinách. Obsah vápníku v nadzemní i kořenové části rostlin rostl se zvyšující se koncentrací přidaného fungicidu. Některé prvky, jako měď a hořčík, nejsou v zásadě ovlivněny tímto fungicidem ve smyslu akumulace v rostlinách. Nicméně nadzemní část rostlin i kořeny vykazovaly vyšší obsahy zinku, fosforu a draslíku ve vzorcích s přídavkem 20% **Penk**. Lze tvrdit, že přídavek **Penk** v určité koncentraci může mít vliv na celkový obsah živin v rostlině. Správná koncentrace **Penk** by však mohla zvýšit obsahy živin v rostlině na optimum, v případě chudších půd. Z výsledků pokusů vyplývá, že je vliv **Penk** velmi pravděpodobně ovlivněn pH půd.

V inkubačním testu všechny půdy vykazovaly sníženou přístupnost živin po přidání **Penk**, nicméně u nižší koncentrace fungicidu se po osmi týdnech přístupnost živin většinou navrátila na původní hodnotu, jelikož **Penk** pravděpodobně degradoval. Pokusy dokázaly, že určitá koncentrace **Penk** může mít vliv na mikrobiální aktivitu, kterou krátkodobě narušuje a tím snižuje přístupnost živin pro rostliny.

Výsledky vegetačního experimentu signifikantně dokázaly, že předpokládaný vliv **Penk** v půdě na redukci růstu rostlin je opodstatněný. Fungicid měl vliv na obsah chlorofylu *a* a *b*, což mělo za následek narušení fotosyntézy u rostlin a tedy zpomalení jejich růstu. Všechny rostliny *Solanum lycopersicum* L., jejichž půdní prostředí bylo kontaminováno **Penk**, vykazovaly snížené výnosy a celkovou výšku rostlin, redukci hmotnosti nadzemní i kořenové části.

Bylo zjištěno, že přídavek **Penk** v krátkodobém horizontu ovlivňuje mobilitu vápníku, hořčíku, fosforu, železa a manganu. V dlouhodobém horizontu byl vliv **Penk** pozorován u hliníku, vápníku, draslíku, manganu, fosforu, hořčíku, zinku a železa a skutečně i pokus s rostlinami prokázal, že **Penk** významně ovlivňuje jejich růst, výšku, celkovou biomasu i obsahy prvků v závislosti na pH a obsahu humusu v půdě. Nicméně bylo také dokázáno, že **Penk** degraduje v půdě přibližně mezi 4. a 8. týdnem po jeho aplikaci.

8 Seznam literatury

Action, Q. A. 2012. Transition Elements: Advances in research and Application. 2088.

Baier, J., Baierová, V. 1985. Abeceda výživy rostlin a hnojení. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 364.

Barker, A. V., Pilbeam, D. J. 2015. Handbook of plant nutrition. CRC press. 154

Bartoš, J. 1968. Ochrana rostlin. SZN. Praha. 599.

Bicchi, C., Cordero, C., Rubiolo, P. 2001. Simultaneous determination of six triazolic pesticide residues in apple and pear pulps by liquid chromatography with ultraviolet diode array detection. J AOAC Int. 84. p. 1543–1550.

Bélanger, R. R., Bushnell, W. R., Dik, A. J., Carver, T. L. W. 2002. The Powdery Mildews: A Comprehensive Treatise. St Paul, MN, USA, APS Press. 292. ISBN: 0890542910.

Bisht, S. S., Nautiyal, B. D., Sharma, C. P. 2002. Biochemical changes under iron deficiency and recovery in tomato. Indian journal of plant physiology. 7 (2). 183-186.

Bowen, H. J. M. 1979. Environmental Chemistry of the Elements. Academic Press. New York. 333. ISBN: 0121204502

Bradley, J. C., Williams, A., Lang, A. Jean-Claude Bradley Open Melting Point Dataset. [online] [cit. 10. 3. 2017]. Dostupné z <
https://figshare.com/articles/Jean_Claude_Bradley_Open_Melting_Point_Dataset/1031637>

Brent, K. J., Hollomon, D. W. 2007. Fungicide Resistance in Crop Pathogens: How can it be Managed? Brussels, Belgium: Fungicide Resistance Action Committee: FRAC Monograph. 1. 6-37.

Brady, N. C., Weil, R. R. 2002. The Nature and Properties of Soils, The, 14th Edition. Pearson Education Ltd. New Jersey. 992.

Brown, P. H., Welch, R. M., Cary, E. E. 1987. Nickel: A micronutrient essential for higher plants. *Plant Physiol.* 85. 801-803.

Carisse, O. 2010. Fungicides. InTech. 548. ISBN: 9789533072661

Comin, J. J., Barloy, J., Hallaire, V., Zanette, F. 2006. Effects of aluminium on the adventitious root system, aerial biomass and grain yield of maize crown in the field and in a rhizotron. *Experimental Agriculture*. [online]. [cit. 26. 2. 2017]. Dostupné z <
<https://www.cambridge.org/core/journals/experimental-agriculture/article/effects-of-aluminium-on-the-adventitious-root-system-aerial-biomass-and-grain-yield-of-maize-grown-in-the-field-and-in-a-rhizotron/950E4D747E486DEF08EB67C1582E3E45>>

Covington, A. K., Bates, R. G., Durst, R. A. 1985. Definitions of pH scales, standard reference values, measurement of pH, and related terminology. *Pure Appl. Chem.* 57(3). 531-542.

Čadková E., Komárek M., Debord J., Puppa L. D., Bordas F., Bollinger J. pKa Constant Determination of Two Triazole Pesticides: Tebuconazole and Penconazole. *Journal of Solution chemistry*. Červen 2013 [online]. [cit. 26. 2. 2017]. 42. 1075-1085. Dostupné z <
https://www.researchgate.net/publication/247768705_pK_a_Constant_Determination_of_Two_Triazole_Pesticides_Tebuconazole_and_Penconazole>

Čumakov, A. 1976. Choroby rastlín spôsobené nedostatkom mikroelementov a boj proti nim. Bratislava. Ministerstvo poľnohospodárstva a výživy SSR. 8.

Eckel, H., Roth, U., Dohler, H. 2005. Assessment and Reduction of Heavy Metal Input Into Agro Ecosystems: Final Report of the Eu-Concerted Action AROMIS. Darmstadt. 232. ISBN: 3941583107.

Emerson, R., Arnold, W. A. (1932). A separation of the reactions in photosynthesis by means of intermittent light. *J Gen Physiol.* 15. 391-420.

Engels, S., Nowak, A. 1977. *Chemické prvky - Historie a současnost.* SNTL. Praha. 344-355.

EPA. 1996. Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils, Revision 2. United States Environmental Protection Agency. 1-26.

Ernst, W. O. 1998. The origin and ecology of contaminated, stabilized and non-pristine soils. *Metal-contaminated soil.* Springer. New York. 17-29.

FAO, WHO. 1993. Pesticide residues in food – 1992. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 890. 742-743.

FECENKO, J., Ložek, O. 2000. *Výživa a hnojení poľných plodín.* Nitra: SPU. 452. ISBN: 80-7137-777-5.

Fikri, K., Debord, J., Bollinger, J. C., Cledat, D., Penicaut, B., Robert, J. M. H. 2011. RP-HPLC lipophilicity studies for some (hetero) arylamides derived from 2-amino 4, 6-dimethyl pyridine: introduction of an hydrogen-bond descriptor. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies.* 34(14). 1356-1366.

Grade, R. 1999. Test for Ready Biodegradability of CGA 71818 (Penconazole tech.) in the Carbondioxide Evolution Test. Novartis Crop Protection AG, Basel, Switzerland.

Greenwood, N. N., Earnshaw, A. 198). *Chemistry of the Elements.* ISBN 0-08-037941-9.

Gregson, S., Hope, A. 1994. Review of Phytotoxicity. Uptake and Accumulation of Elements and Organic Chemicals in Terrestrial Higher Plants. AERC Report for Department of the Environment. London.

Han, D. 2014. Fungicides: what they do (and don't). *Field Science*. 1/2014. [online]. [cit. 3. 4. 2017] <<http://sturf.lib.msu.edu/article/2014jan28.pdf>>

Hassanpour, H., Khavari-Nejad, R. A., Niknam, V., Najafi, F., Razavi, K. 2013. Penconazole induced changes in photosynthesis, ion acquisition and protein profile of *Mentha pulegium* L. under drought stress. [online]. 15. 8. 2013 [cit. 26. 2. 2017]. Dostupné z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3781279/>>.

Hollomon, D. W., Wheeler, I. E., Bélanger, R., Bushnell, W., Dik, A., Carver, T. 2002. Controlling powdery mildews with chemistry. *The Powdery Mildews, a Comprehensive Treatise*. 249-255.

Hollomon, D. W. *Fungicides for Plant Diseases*. Wiley. Bristol University. Bristol, UK. [online]. [citováno 10. 3. 2017]. Dostupné z <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470015902.a0021312/abstract>>

Jeffrey, S. T., Humphrey, G. F. 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c 1 and c 2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemie und physiologie der pflanzen*. 167(2). 191-194.

Kabata-Pendias, A., Mukherjee, A. B. 2007. *Trace elements from soil to human*. Springer Science & Business Media.

Kabata-Pendias, A., Pendias, H. 2001. *Trace elements in soils and plants*, 3rd edn CRC Press. Boca Raton. FL, USA.

Ke, B. 2001. *Photosynthesis photobiochemistry and photobiophysics* (Vol. 10). Springer Science & Business Media.

Kelman, A., Peterson, P. D. 2002. Contributions of plant scientists to the development of the germ theory of disease. *Microbes Infect*. 4(2). 60-257.

Konášová R., Jaklová Dytrtová J., Kašička V. 2015. Determination of acid dissociation constants of triazole fungicides by pressure assisted capillary electrophoresis. The Czech Academy of Sciences. Czech republic. Journal of Chromatography A. 1408 (2015). 243–249.

Kundu, C., Goon, A., Bhattacharyya, A. 2014. Persistence behaviour of fungicide tebuconazole in a viticulture application. Bulletin of environmental contamination and toxicology. 92(4), 415-419.

Limura, K., Ito, H., Chino, M., Morishita, T., Hirata, H. 1977. Behavior of contaminant heavy metals in soil plant system. In Proceedings of the International Seminar on Soil Environment and Fertility Management in Intensive Agriculture.

Klement, V., Čermák, P. 2005. Porovnání vývoje agrochemických vlastností půd za období 1993-1998 a 1999-2004. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Odbor agrochemie, půdy a výživy rostlin.

Knox, A. S., Gamerainger, A. P., Adriano, D. C., Kolka, R. K., Kaplan, D. I. 1999. Sources and practices contributing to soil contamination.

Kybal, J., Kaplická, J. (1988). Naše a cizí koření. Státní zemědělské nakladatelství. 136.

Lee, N. A., Kennedy, I. R. 2001. Environmental monitoring of pesticides by immunoanalytical techniques: validation, current status, and future perspectives. Journal of AOAC International. 84(5). 1393-1406.

Lošák, T., Varga, L. 2007. Efekt hnojení dusíkem a sírou na výnos a obsah dusičnanů u ředkvičky (*Raphanus sativus*, L.). Agrochémia. 47. 21-24.

Lucini L., Magistrati P., Molinari G.P. 2009. Residues of a Triazole Fungicide in Soil After 4 Years of Application to Sugar Beet. Water Air and Soil Pollution. 202(1). 13-18.

Jiang, L., Lin, J. L., Jia, L. X., Liu, Y., Pan, B., Yang, Y., Lin, Y. 2016. Effects of two different organic amendments addition to soil on sorption–desorption, leaching, bioavailability of penconazole and the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of environmental management*. 167. 130-138.

Jawich, D., Lteif, R., Pfohl-Leszkowicz, A., Strehaiano, P. 2006. Effects of penconazole on two yeast strains: growth kinetics and molecular studies. *Molecular nutrition food research*. 50(6). 552-556.

Lüllmann, H., Mohr, K., Wehling, M. 2004. *Farmakologie a toxikologie: 47 tabulek*. Grada Publishing as.

Lovela. Etiketa Topas 100 EC [online]. Lovela 23. 5. 2006 [online]. [cit. 26. 2. 2017]. Dostupné

z<[http://www.prohopo.cz/userfiles/files/1251049_P%C5%99%C3%ADbalov%C3%BD%20let%C3%A1k%20\(Lovela\)%20Topas%20100%20EC.pdf](http://www.prohopo.cz/userfiles/files/1251049_P%C5%99%C3%ADbalov%C3%BD%20let%C3%A1k%20(Lovela)%20Topas%20100%20EC.pdf)>.

Madler, P., Čurdová, E. Metody rozkladu biologických materiálů pro stanovení stopových prvků. *Chemické listy. ČZU*. 91. 223-236.

Magdoff, F. R., Weil, R. R. 2004. *Soil organic matter in sustainable agriculture*. CRC Press. ISBN: 0849312949. 416.

Maier, L., Kunz, W., Rist, G. 1987. ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS. 80. PREPARATION OF TRIAZOLYLMETHYLPHOSPHONATES AND TRIAZOLYLMETHYLPHOSPHONIUM SALTS-THEIR USE IN THE WITTIG-HORNER REACTION. PHOSPHORUS SULFUR AND SILICON AND THE RELATED ELEMENTS. 33(1-2). 41-52.

Markert, L. R. 1993. *Contemporary technology: Innovations, issues, and perspectives*. Goodheart-Wilcox. South Holland. 231-253.

Torgeson, D. C. 1967. Fungicides: An Advanced Treatise Vol-1. Academic Press. New York. San Francisco. London. 1-37.

Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants Second Edition Academic Press Edition. London. 527-528.

Martínek, J. Bezpečnostní list Penkonazol [online]. Syngenta. 10. 2. 2017 [online]. [cit. 26. 2. 2017]. Dostupné z < <https://www.agrofert.cz/downloads/bezpecnostni-listy-agrochemikalie/Topas%20100%20EC.pdf>>.

Matthews, G. 2015. Pesticides: health, safety and the environment. John Wiley Sons.

Matthews, G. A. Residues in food. Pesticides: Health, Safety and the Environment, Second Edition. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. 25. 8. 2011. [online]. [cit. 10. 3. 2017]. Dostupné z <<http://dx.doi.org/10.1080/10826076.2011.570842>>

Mattsoff L., 1995. Penconazole, ecotoxicological evaluation. Helsinki.

Mehlich, A. 1984. Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. Communications in Soil Science & Plant Analysis. 15(12). 1409-1416.

Mikanová, O., Šimon, T. 2013. Alternativní výživa rostlin dusíkem: Metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i.[online]. [cit. 10. 3. 2017] Dostupné z < <http://www.vurv.cz/sites/File/Publications/ISBN978-80-7427-143-4.pdf>>

Mishra, D., Kar, M. 1974. Nickel in plant growth and metabolism. The botanical review. 40(4). 395-452.

Motilva, M. J. 2008. Chlorophylls—from functionality in food to health relevance. In 5th Pigments in Food Congress—for quality & health, Proceedings of the 5th International Congress on Pigments in Food. 69-73.

Morozova, V. S., Levashova, A. I., Eremin, S. A. 2005. Determination of pesticides by enzyme immunoassay. *Journal of Analytical Chemistry*. 60(3). 202-217.

Munier-Lamy, C., Borde, O. 2000. Effect of a triazole fungicide on the cellulose decomposition by the soil microflora. *Chemosphere*. 41(7). 1029-1035.

Musil, B. Spotřeba přípravků na OR v roce 2013 [online]. 5. 9. 2016 [cit. 26. 2. 2017]. Dostupné z <http://eagri.cz/public/web/file/439501/celek_2013_CZ.pdf>.

Němeček J., Smolíková L., Kutílek M., 1990. *Pedologie a paleopedologie*. Československá akademie věd ACADEMIA. Praha. 546. ISBN 89-200-0153-0.

Němeček J. a kolektiv 2001: *Taxonomický klasifikační systém půd České republiky*. ČZU a VÚMOP. Praha. 79. ISBN 80-238-8061-6.

Němeček, J., Vokoun, J., Smejkal, J., Macků, J., Kozák, J., Němeček, K., Borůvka, L. Elektronický taxonomický klasifikační systém půd ČR [online]. 2004. [cit. 26. 2. 2017]. Dostupné z <<http://klasifikace.pedologie.cz/index.php?action=showPorovnaníTaxonomie>>.

Neuberg, J., a kol. 1978. *Stopové prvky v rostlinné výrobě ČSR*. Státní zemědělské nakladatelství v Praze. Praha. 187.

Novák, P., Zlatušková, S. 2012. *Naučný terminologický systém půd České republiky*. Česká zemědělská univerzita. Praha. 78. ISBN 80-238-8061-6.

Onysko, S. J., Kleinmann, R. L., Erickson, P. M. 1984. Ferrous iron oxidation by thiobacillus ferrooxidans: Inhibition with benzoic acid, sorbic acid, and sodium lauryl sulfate. *Applied and environmental microbiology*. 48(1). 229-231.

Pansu, M., Gautheyrou, J. 2006. Particle Size Analysis. Handbook of Soil Analysis: Mineralogical, Organic and Inorganic Methods, 15-63.

Petit, A. N., Fontaine, F., Vatsa, P., Clément, C., Vaillant-Gaveau, N. (2012). Fungicide impacts on photosynthesis in crop plants. Photosynthesis research, 111(3), 315-326.

Poláková, Š., Kubík, L., Němec, P., Malý, S. BAZÁLNÍ MONITORING ZEMĚDĚLSKÝCH PŮD 1992 – 2007. eagri.cz. 2/2010. [online]. [cit. 5. 3. 2017]. Dostupné z < http://eagri.cz/public/web/file/242589/BMP_92_07_1cast.pdf>

Rehm, G., Schmitt, M. 2002. Potassium for crop production. Regents of the University of Minnesota.

Pose-Juan, E., Rial-Otero, R., López-Periago, J. E. 2010. Sorption of penconazole applied as a commercial water-oil emulsion in soils devoted to vineyards. Journal of Hazardous Materials. 182 (1-3). p. 136-143.

EFSA Scientific Report. 2008. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance penconazole. EFSA. 25. 9. 2008 [online]. [cit. 26. 2. 2017]. Dostupné z < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2008.175r/epdf>>.

Roberts, J. R., Reigart, J. R. 1999. Recognition and management of pesticide poisonings. National Pesticide Telecommunications Network.40.

Richter, R. Cizorodé prvky [online]. 23. 1. 2004 [cit. 26. 2. 2017]. Dostupné z < http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/biogenni_prvky/cizorode_prvky.htm>.

Romeh, A. A., Mekky, T. M., Ramadan, R. A., Hendawi, M. Y. 2009. Dissipation of profenofos, imidacloprid and penconazole in tomato fruits and products. Bulletin of environmental contamination and toxicology. 83(6). 812-817.

Rout, G., Samantaray, S., Das, P. (2001). Aluminium toxicity in plants: a review. *Agronomie*, 21(1), 3-21.

Römheld, V., Marschner, H. 1986. Evidence for a specific uptake system for iron phytosiderophores in roots of grasses. *Plant Physiology*. 80 (1). 175-180.

Roy, Amit H. (2007). Kent and Riegel's handbook of industrial chemistry and biotechnology. Springer. 1135–57. ISBN 978-0-387-27843-8.

Sannino, A. 2004. Evaluation of a method based on liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry for analyzing eight triazolic and pyrimidine fungicides in extracts of processed fruits and vegetables. *Journal of AOAC International*. 87(4). 991-996.

Sannino, A. N. N. A., Bandini, M., Bolzoni, L. 1999. Multiresidue determination of 19 fungicides in processed fruits and vegetables by capillary gas chromatography after gel permeation chromatography. *JOURNAL-AOAC INTERNATIONAL*. 82. 1229-1238.

Schermerhorn, P. G., Golden, P. E., Krynitsky, A. J., Leimkuehler, W. M. 2005. Determination of 22 triazole compounds including parent fungicides and metabolites in apples, peaches, flour, and water by liquid chromatography/tandemmass spectrometry. *Journal of AOAC International*. 88(5). 1491-1502.

SIGMA-ALDRICH. 2015. Bezpečnostní list 36189, Penconazol. Str. 7.

Singh, N. 2002. Sorption behavior of triazole fungicides in Indian soils and its correlation with soil properties. *Journal of agricultural and food chemistry*. 50(22). 6434-6439.

Peeverill, K. I., Sparrow, L. A., Reuter, D. J. 1999. Soil analysis: an interpretation manual. CSIRO publishing.

Sims, J. R., Haby, V. A. 1971. Simplified colorimetric determination of soil organic matter. *Soil Science*. 112(2). 137-141.

Šucman E. 1996. *Trendy vývoje AAS a analýza biologických materiálů*, Olomouc, 31.

Steinnes E., Friedland A. J. 2006. Metal contamination of natural surface soils from long-range atmospheric transport: Existing and missing knowledge. *Environ. Rev.* 14. 1669–186.

Stenersen, J. 2004. *Chemical pesticides mode of action and toxicology*. CRC press.

Stevenson, F. J. 1986. The Sulfur Cycle. In: *Cycles of Soil. Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients*. A Wiley-Interscience Publication.

Trakal, L., Komárek, M., Száková, J., Zemanová, V., Tlustoš, P. 2011. Biochar application to metal contaminated soil: Evaluating of Cd, Cu, Pb and Zn sorption behavior using single- and multi-element sorption experiment. *Plant, Soil and Environment*. 57 (8). 372-380.

Tomlin, C. D. 2009. *The pesticide manual: a world compendium* (No. Ed. 15). British Crop Production Council.

Tuna, A. L. 2014. Influence of foliarly applied different triazole compounds on growth, nutrition, and antioxidant enzyme activities in tomato ('*Solanum lycopersicum*'L.) under salt stress. *Australian Journal of Crop Science*. 8(1). 71-79.

Ullmann, A. J. 2003. Review of the safety, tolerability, and drug interactions of the new antifungal agents caspofungin and voriconazole. *Current medical research and opinion*. 19(4). 263-271.

Uren, N. C. 1992. Forms, reactions, and availability of nickel in soils. *Advances in Agronomy*. 48. 141-203.

Vaněk, V. a kol. 1999. Výživa a hnojení polních plodin, ovoce a zeleniny. ČZU. Praha.

Vaněk a kol. 2002. Výživa a hnojení polních a zahradních plodin. Ing. M. Sedláček. Praha, 132. ISBN 80-902413-7-9

Vernon, L. P., Seely, G. R. 1966. The chlorophylls. Academic Press. s. 679.

Wedepohl, K. H. 1969. Handbook of Geochemistry. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York. 578.

Weete, J. D., Abril, M., Blackwell, M. 2010. Phylogenetic distribution of fungal sterols. PLoS one. 5(5). 10899.

Zambonin, C. G., Cilenti, A., Palmisano, F. 2002. Solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry for the rapid screening of triazole residues in wine and strawberries. Journal of Chromatography A. 967(2). 255-260.

Zarn, J. A., Brüscheiler, B. J., Schlatter, J. R. 2003. Azole fungicides affect mammalian steroidogenesis by inhibiting sterol 14 alpha-demethylase and aromatase. Environmental Health Perspectives. 111(3). 255.

Zbírál, J. 2003. Analýza půd II – jednotné pracovní postupy. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Brno 224. ISBN 80-86548-38-4.

Zelený, F., Zelená, E. 1996. Síra a její potřeba pro výživu rostlin. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. 42 s.

9 Přílohy

Příloha č. 1 – pH a elektrická vodivost zkoumaných půd

půda	pH	průměr	odchylka	μS	průměr	odchylka
fluvizem	6,21	6,22	0,01	197	182,67	10,21
	6,23			177		
	6,22			174		
černozem	7,82	7,85	0,02	269	270,00	4,55
	7,86			265		
	7,87			276		
kambizem	5,52	5,52	0,07	193	194,00	2,94
	5,44			191		
	5,61			198		

10 Seznam zkratek

Penk = penkonazol