

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



Změna mobility živin v půdě po přidavku repelentů
Diplomová práce

Autor práce: Bc. Eliška Vecková

Vedoucí práce: prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.

Konzultant: Ing. Michal Jakl, PhD.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Změna mobility živin v půdě po přidavku repelentů" jsem vypracovala samostatně, pod vedením vedoucí diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 10. dubna 2014

Eliška Vecková

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí práce, prof. Ing. Jiřině Szákové, CSc. za odborné vedení, cenné rady a připomínky, které přispěly k rozvoji mé diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Michalu Jaklovi, PhD. za odbornou pomoc s experimentální částí diplomové práce a jejich kolegům z Katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin za poskytnutí prostor k jejímu uskutečnění.

Souhrn

V dnešní době, kdy přírodní podmínky i lidská činnost potlačují dostatečné množství potravy pro lesní zvěř, je stále více řešena otázka vhodné ochrany lesních porostů proti okusu. Mechanická řešení, jako jsou aplikace různých oplocení, jsou mnohdy nevhodným a nedostačujícím řešením k jejich ochraně. Pozornost se stále více přesouvá na možnosti chemické ochrany. Vhodnou chemickou ochranou se jeví repelenty, látky se specificky odpuzujícím účinkem. Při aplikaci repelentů do prostředí však hrozí prostup těchto látek do půdy, půdního roztoku a následný příjem rostlinou.

Cílem této práce bylo zaměřit se na interakci jednotlivých repelentů, denatonium benzoátu a kapsaicinu s půdní matricí, především na mobilitu jednotlivých mikro a makroživin po přidavku rozličných koncentrací obou repelentů a ověřit hypotézu ve znění, že koncentrace repelentních látek nemají vliv na přístupné koncentrace prvků potenciálně dostupné pro rostliny. Hypotéza byla ověřena pomocí 3 různých experimentů, hydroponického pokusu se *Salix x smithiana*, půdního sorpčního experimentu a pokusu s využitím techniky „Diffusive Gradient in Thin Film“ (DGT).

V hydroponickém pokusu byla na základě testu jednofaktorová ANOVA zamítnuta hypotéza pouze pro síru, kde byly prokázány vlivy koncentrací denatonium benzoátu na obsah S. V sorpčním pokusu s použitím černozemě a fluvizemě jako matrice a přidavkem obou repelentů byly shledány pozitivní i negativní vlivy repelentů. Hypotéza byla zamítnuta u denatonium benzoátu, kde byly prokázány snížené mobilní formy Cu v černozemi a naopak zvýšené mobilní formy Ca a Mn v obou půdních typech. U kapsaicinu byla hypotéza zamítnuta pro Fe ve fluvizemi, kde byly potlačeny mobilní formy. Kapsaicin naopak zvýšil mobilní obsahy Cu v černozemi a Mn ve fluvizemi. V pokusu s DGT byla hypotéza zamítnuta pro denatonium benzoát ve fluvizemi, kde zvýšil biodostupné koncentrace Mn. Pro kapsaicin byla hypotéza zamítnuta také pouze ve fluvizemi, kde byly patrné zvýšené biodostupné koncentrace Fe a Mn.

Denatonium benzoát a kapsaicin se prokázaly jako látky se schopností ovlivňovat mobilitu a dostupnost prvků. Zvýšená mobilita však není vždy žádoucí, zejména pro prvky, které mohou na rostliny ve větším množství působit toxicky, mezi ně patří Cu a Mn. Zejména v případě Mn byl u obou repelentů prokázán významný vliv na zvýšení jeho dostupné koncentrace v půdě.

Klíčová slova: denatonium benzoát, esenciální prvky, kapsaicin, mobilita, DGT

Summary

Nowadays, when both natural conditions and human activity suppresses native food for forest animals, it is necessary to follow protection of forests cultures against browsing. Mechanical measures such as application of fences are often unsuitable to protect them. One of the possible approaches is the chemical protection. Chemical protection offers repellents as suitable typ of protection. However, with appearance the repellents in environment input to the soil, soil solution and uptake by plants is potential risk.

The aim of this study was to assess possible interaction of repellents, denatonium benzoate and capsaicin with the soil matter, especially the impact on the mobility of individual micro and macronutrients after the addition of various concentrations of both repellents and verify the hypothesis that the presence of repellent compounds do not affect the plant-available nutrient concentrations in soil. The hypothesis was tested using three different experiments, hydroponic experiment with *Salix x smithiana*, soil sorption experiment and experiments using the "Diffusive Gradient in Thin Film" (DGT) technique.

The hydroponic experiment was based on single-factor ANOVA test and hypothesis was rejected for sulphur only. In sorption experiment using chernozems and fluvisols as a soil matter with the addition of both repellents were found positive and negative effects of repellents. The hypothesis was rejected in case of denatonium benzoate in the chernozem, which decreased mobile forms of Cu, S, and conversely increased mobile forms of Ca and Mn in both soil types. For capsaicin the hypothesis was rejected in fluvisols which decreased mobile forms of Fe. Mobile forms of Fe in chernozem and Mn in fluvisols where conversely increased by the repellent addition. In the experiment with DGT, the hypothesis was rejected for denatonium benzoate in fluvisols where increased concentrations of bioavailable Mn. Capsaicin increased concentrations of bioavailable Fe and Mn in fluvisol and hypothesis was rejected, as well.

Denatonium benzoate and capsaicin seems to be substances with the ability to influence the mobility of elements. However, increased mobility is not always desirable, especially for the elements with the potential toxic effects on plants such Cu and Mn. Particularly in the case of Mn the significant increase of element mobility in soil was observed after application of both investigated repellents.

Key words: denatonium benzoate, essential nutrients, capsaicin, mobility, DGT

Obsah

| | |
|--|-----------|
| 1 Úvod | 10 |
| 2 Cíl práce a hypotéza..... | 11 |
| 3 Literární přehled | 12 |
| 3.1 Ochrana lesních porostů | 12 |
| 3.1.1 Podstata ochrany..... | 12 |
| 3.1.2 Typy ochrany | 12 |
| 3.1.2.1 Biologická ochrana..... | 12 |
| 3.1.2.2 Mechanická ochrana..... | 13 |
| 3.1.2.3 Chemická ochrana..... | 13 |
| 3.2 Repelenty..... | 13 |
| 3.2.1 Aplikace | 14 |
| 3.2.2 Denatonium benzoát | 15 |
| 3.2.3 Kapsaicin..... | 17 |
| 3.2.4 Používání repelentních látek v ČR | 19 |
| 3.3 Půdní typy..... | 19 |
| 3.3.1 Černozem | 20 |
| 3.3.2 Fluvizem | 20 |
| 3.4 Mobilita esenciálních prvků v půdě a jejich příjem rostlinou | 21 |
| 3.4.1 Mobilita prvků v půdě | 22 |
| 3.4.2 Půdní sorpční schopnost | 22 |
| 3.4.3 Příjem prvků rostlinami | 23 |
| 3.5 Mikroprvky..... | 26 |
| 3.5.1 Bór | 26 |
| 3.5.1.1 Charakteristika bóru v půdě..... | 26 |
| 3.5.1.2 Charakteristika bóru v rostlině..... | 27 |
| 3.5.2 Železo..... | 27 |
| 3.5.2.1 Charakteristika železa v půdě | 27 |
| 3.5.2.2 Charakteristika železa v rostlině | 28 |
| 3.5.3 Měď | 29 |
| 3.5.3.1 Charakteritika mědi v půdě..... | 29 |
| 3.5.3.2 Charakteristika mědi v rostlině | 30 |
| 3.5.4 Mangan | 30 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 3.5.4.1 | Charakteristika manganu v půdě..... | 30 |
| 3.5.4.2 | Charakteristika manganu v rostlině..... | 31 |
| 3.5.5 | Zinek..... | 31 |
| 3.5.5.1 | Charakteristika zinku v půdě..... | 32 |
| 3.5.5.2 | Charakteristika zinku v rostlině..... | 32 |
| 3.6 | Makroprvky..... | 33 |
| 3.6.1 | Fosfor..... | 33 |
| 3.6.1.1 | Charakteristika fosforu v půdě..... | 33 |
| 3.6.1.2 | Charakteristika fosforu v rostlině..... | 34 |
| 3.6.2 | Vápník..... | 34 |
| 3.6.2.1 | Charakteristika vápníku v půdě..... | 35 |
| 3.6.2.2 | Charakteristika vápníku v rostlině..... | 35 |
| 3.6.3 | Hořčík..... | 36 |
| 3.6.3.1 | Charakteristika hořčíku v půdě..... | 36 |
| 3.6.3.2 | Charakteristika hořčíku v rostlině..... | 37 |
| 3.6.4 | Síra..... | 37 |
| 3.6.4.1 | Charakteristika síry v půdě..... | 38 |
| 3.6.4.2 | Charakteristika síry v rostlině..... | 38 |
| 4 | Materiál a metodika..... | 40 |
| 4.1 | Hydroponický pokus se <i>Salix x smithiana</i> | 40 |
| 4.1.1 | Podstata hydroponie..... | 40 |
| 4.1.2 | Vrba Smithova (<i>Salix x smithiana</i>)..... | 40 |
| 4.1.3 | Založení pokusu..... | 41 |
| 4.1.4 | Přídavek repelentu..... | 41 |
| 4.1.5 | Jednotlivé odběry..... | 42 |
| 4.2 | Půdní sorpční experiment..... | 43 |
| 4.2.1 | Klasifikace půd..... | 43 |
| 4.2.1.1 | Černozem..... | 43 |
| 4.2.1.2 | Fluvizem..... | 44 |
| 4.2.2 | Založení sorpčního experimentu..... | 45 |
| 4.3 | Modelový pokus s DGT..... | 47 |
| 4.3.1 | Podstata DGT..... | 47 |
| 4.3.2 | DGT jednotky..... | 48 |
| 4.3.3 | Založení DGT pokusu..... | 49 |

| | |
|---|-----------|
| 4.3.3.1 Zkouška vodní kapacity..... | 49 |
| 4.3.3.2 Založení jednotlivých variant | 49 |
| 4.3.3.3 Výpočet biodostupných koncentrací prvků | 51 |
| 5 Výsledky | 52 |
| 5.1 Hydroponický pokus | 52 |
| 5.1.1 Fosfor | 52 |
| 5.1.2 Síra..... | 54 |
| 5.1.3 Železo..... | 56 |
| 5.1.4 Měď | 57 |
| 5.1.5 Bór | 58 |
| 5.1.6 Mangan | 59 |
| 5.1.7 Zinek | 61 |
| 5.2 Půdní sorpční experiment..... | 62 |
| 5.2.1 Půdní sorpce s denatonium benzoátem..... | 62 |
| 5.2.1.1 Fosfor | 63 |
| 5.2.1.2 Síra | 64 |
| 5.2.1.3 Železo | 65 |
| 5.2.1.4 Měď | 66 |
| 5.2.1.5 Bór..... | 67 |
| 5.2.1.6 Mangan..... | 68 |
| 5.2.1.7 Zinek..... | 69 |
| 5.2.1.8 Vápník | 70 |
| 5.2.1.9 Hořčík | 71 |
| 5.2.2 Půdní sorpce s kapsaicinem | 72 |
| 5.2.2.1 Fosfor | 72 |
| 5.2.2.2 Síra | 73 |
| 5.2.2.3 Železo | 74 |
| 5.2.2.4 Měď | 75 |
| 5.2.2.5 Bór..... | 76 |
| 5.2.2.6 Mangan..... | 77 |
| 5.2.2.7 Zinek..... | 78 |
| 5.2.2.8 Vápník | 79 |
| 5.2.2.9 Hořčík..... | 80 |
| 5.3 Biodostupné koncentrace prvků stanovené technikou DGT | 81 |

| | |
|---|------------|
| 5.3.1 Železo..... | 81 |
| 5.3.2 Měď | 82 |
| 5.3.3 Mangan | 83 |
| 5.3.4 Zinek | 84 |
| 6 Diskuze | 85 |
| 6.1 Hydroponický pokus | 85 |
| 6.2 Půdní sorpční experiment | 88 |
| 6.3 Biodostupné koncentrace prvků stanovené technikou DGT | 94 |
| 7 Závěr | 99 |
| 8 Seznam literatury..... | 101 |
| 9 Seznam použitých zkratk a symbolů | 116 |

Příloha A: Fotodokumentace hydroponického pokusu se *Salix x smithiana*

Příloha B: Fotodokumentace pokusu s použitím techniky DGT

1 Úvod

Česká republika se řadí k zemím s nejvyšším počtem divoké zvěře (Havránek et al., 2005). S vysokým stavem souvisí problém potravy. Nedostatečná rostlinná rozmanitost a přírodní výkyvy mají za následek poškozování lesních porostů (Čermák a Mrkva, 2007). Řešením je zvolení vhodné ochrany. Doposud nejpoužívanější mechanická ochrana je pracným a nákladným řešením a pozornost se pomalu přesouvá na možnosti chemické ochrany v podobě používání repelentů – specificky odpuzujících látek.

Repelenty se v současnosti používají k vnější aplikaci na rostlinu, ale toto řešení je často neefektivní, hrozí např. vyplavování. Vnitřní aplikace, tj. aplikace přímo do půdy spolu s hnojivem, by mohla zajistit větší efektivnost repelentu dostupného pro rostlinu. Toto řešení ale s sebou nese mnoho rizik a nevyřešených otázek. Nejdůležitější otázkou bezesporu je, do jaké míry bude látka kořenovým systémem rostlin přijímána. Protože se ale jedná o látky cizorodé, je třeba ověřit, zda jejich aplikace nemůže mít v přirozených ekosystémech nepříznivé vedlejší účinky. Jedním z možných aspektů může být interakce těchto látek s dalšími složkami půdního roztoku v oblasti rhizosféry, kdy je důležité zjistit, zda přítomnost repelentů neovlivní přirozený koloběh živin v půdě a jejich dostupnost rostlinám.

2 Cíl práce a hypotéza

- V hydroponickém pokusu s vrbami (*Salix x smithiana*) sledovat případné změny koncentrace živin v závislosti na přídatku repelentu
- V modelovém laboratorním experimentu ověřit změny mobilních koncentrací živin v půdě v závislosti na koncentraci přidaného repelentu
- Pomocí techniky „Diffusive gradient in thin film“ (DGT) stanovit teoretické koncentrace živin přijatelné kořeny rostlin rovněž v závislosti na koncentraci přidaného repelentu
- Uvedené cíle práce povedou k ověření či vyvrácení hypotézy, že repelentní látky v půdním roztoku mohou měnit dostupné koncentrace živin a následně jejich příjem rostlinami

3 Literární přehled

3.1 Ochrana lesních porostů

3.1.1 Podstata ochrany

Škody způsobené zvěří na lesních porostech jsou vnímány a řešeny od počátku našeho lidstva. Pravděpodobně první zmínka v písemných pramenech pochází již z 6. století n. l., ale problematika je řešena více až ve středověku. V 17. století dochází k rozvoji lesnictví a tím i ke zvýšení stavů zvěře, které byly až v 19. století radikálně potlačeny. Ve 20. století se fenomén poškozování lesních porostů zvěří stal opět aktuálním (Červený et al., 2009).

V současnosti je řešen zejména vysoký stav spárkaté zvěře, které se přičítá většina způsobených škod na porostech. Za vysoké stavy spárkaté zvěře může zejména jejich vysoká ekologická tolerance, vytlačení velkých predátorů a nízký odlov (Havránek a Hučko, 2007). Zvýšený výskyt napadání lesních porostů zvěří v posledních desetiletích souvisí také se stále častějšími přírodními výkyvy a kalamitami, které vedou k nedostatku potravy pro lesní zvěř. Dalším důvodem okusu dřevin je snížení pestrosti (biodiverzity) rostlinné potravy pro zvěř z důvodu zvýšení monokulturní produkce (Čermák a Mrkva, 2007; Havránek a Hučko, 2007).

Škody zvěří způsobené na lesních porostech okusem, loupáním a ohryzem patří svým rozsahem k největším biotickým škodlivým vlivům a zůstávají největším problémem ochrany lesa v posledních třiceti letech (Čermák a Mrkva, 2007).

3.1.2 Typy ochrany

Základní způsoby ochrany lesních porostů proti škodám zvěří spočívají v kombinaci ochrany biologické, mechanické a chemické. V současné době zaujímá přední postavení ve způsobu ochrany lesa ochrana chemická, která činí asi 60 % z celkové ochrany, dále je to z 25 % ochrana mechanická a z 15 % ochrana biologická (Havránek et al., 2005).

3.1.2.1 Biologická ochrana

Patří mezi preventivní, nejlevnější a nejméně efektivní opatření, ale zároveň i k nejméně používaným řešením. Preventivním opatřením je myšleno udržování takové početnosti zvěře, která odpovídá kapacitě prostředí a ekologické a ekonomické škody jsme ochotni tolerovat (Havránek et al., 2005).

Dalším řešením je navrácení struktury lesů do stavu blízkému přírodě, které spočívá v původní biodiverzitě ekosystému. Současné lesy jsou povětšinou smrkové monokultury bez dostatku vhodných pastevních příležitostí. Opětovné zařazení listnatých kultur do hospodářských lesů by zajistilo oproti jehličnanům větší objem i kvalitu potravy (Havránek et al., 2005; Havránek a Hučko, 2007).

3.1.2.2 Mechanická ochrana

Mechanická ochrana patří oproti biologické již k pracnějším a nákladnějším řešením. Spočívá v zabránění přístupu zvěři k části stromu, celému stromu nebo skupině stromů aplikací vhodných ochranných pletiv a schránek. Mechanická ochrana neřeší podstatu problému, ale jen jeho zmírnění. Nevýhodou mechanické ochrany v případě ochrany jednotlivých dřevin je omezená účinnost, aplikovaná ochrana málokdy pokryje celý strom a při růstu dřevin může nedostačovat, navíc strom z vnějšku poškozovat (Kays, 2003).

Santili et al. (2004) říká, že mechanická ochrana je nevhodná například na ovocné stromy, kde chceme docílit nárůstu, oplocení by růstu jen zabránilo. Oplocení skupin stromů je již vhodnější možností, nedochází k poškození a chráněna je celá plocha lesa včetně doplňkových dřevin a bylin. Nutná je ale neustálá kontrola a údržba k dosažení optimálního výsledku ochrany.

3.1.2.3 Chemická ochrana

Chemická ochrana patří v současné době k nejpoužívanějším řešením. Spočívá v aplikaci cizorodé látky, která svými vlastnostmi zabráni poškození zvěři. Do chemické ochrany řadíme repelenty (Havránek et al., 2005).

3.2 Repelenty

Repelenty patří k neúčinnějším prostředkům v ochraně lesních porostů před zvěří. Repelenty se řadí do skupiny pesticidů, i když se nejedná o klasické pesticidy. V rámci ochrany lesa patří mezi nejpoužívanější (Zahradník, 2005). Jsou to látky, které vyvolávají nepříjemné pocity strachu, podmíněné obranné reflexy, bolest a nechuť. Nepatří mezi smrtelná řešení, vyvolávají pouze dočasné stavy (Trent et al., 2001).

Trent et al. (2001) popisuje jednotlivé účinky repelentů následovně: repelenty způsobující strach jsou založeny na základě silného zápachu, např. sirné zápachy zkažených vajec, pachy syrového masa, česneku a moči predátorů, které indikují jejich přítomnost a odpuzují tak býložravou zvěř. Dále se používají repelenty, které mohou způsobovat bolest, nechutenství a problémy se zažívacím traktem. Jednou z nejpoužívanějších látek je kapsaicin, obsažený v paprikách, amoniak či česnekové silice. Pokud receptory očí, úst a nosu zachytí tyto látky, mohou způsobit bolest nebo podráždění. Tyto repelenty působí nejen na býložravou dravou zvěř, ale odpuzují také většinu savců, což význam repelentů ještě zvyšuje. Dále se jako repelenty používají hořké látky, např. denatonium benzoát, které mají navozovat nepříjemné chutě. Používání těchto repelentů u býložravých zvířat však nemá větší význam, protože většina zvěře nemá problém s příjmem hořkých látek a porosty tak nejsou chráněny. Repelenty by měly smysl v případě, kdyby poměr hořkých látek vzrostl nad hranici snášenlivosti, současné repelenty však mají koncentrace látek nízké.

Nedávno byly provedeny studie, které říkají, že za odpuzováním zvěře stojí nejen negativní vlastnosti látek, nýbrž strach z příjmu nových druhů potravin. Podle výzkumu mohou i naopak repelenty sloužit jako alternativní potrava, pokud se v okolí nenachází žádný jiný vhodný zdroj (Nolte et al., 1994; Nuisance Wildlife Repellent Handbook).

3.2.1 Aplikace

Při prvotní aplikaci repelentů musí být proveden výzkum, jak budou dané repelenty působit na směřovanou zvěř a porosty, aby jejich aplikace nebyla neúčinná nebo i nadměrně škodlivá. S účinky souvisí i jejich přímá aplikace.

Repelenty mohou být začleněny přímo do rostliny (systémové dávkování), aplikovány v okolí rostlin (oblastní dávkování) nebo dávkovány na povrch rostlin (kontaktní dávkování) (Trent et al. 2001). Repelenty způsobující bolest, nechuť a s nimi spojené potíže musí být aplikovány přímo na povrch rostlin, aby neztratily účinek, zatímco repelenty způsobující strach, zejména repelenty s nepříjemným zápachem, mohou být aplikovány buď přímo na rostlinu, nebo v okolí rostlin, aniž by ztratily svůj účinek. Dlouhodobým výzkumem je však dokázáno, že nejúčinnější aplikací stále zůstává kontakt repelentů s rostlinou (Nuisance Wildlife Repellent Handbook).

Systémové repelenty jsou sloučeniny, které jsou vstřebávány a transportovány přímo v rostlině, což zajišťuje nespolehlivější účinek. Repelenty nemohou být z rostliny vymývány a zajišťují tak stabilní ochranu po celou dobu bez větší nutnosti kontroly. Pokud dané koncentrace nepoškodí rostliny, mohou jí dále prostupovat i při jejím dalším růstu (Trent et al. 2001).

3.2.2 Denatonium benzoát

Denatonium benzoát (často známý pod obchodním názvem Bitrex[®]) a chemickým názvem benzyldiethyl[(2,6-xylylcarbamoyl)methyl] ammonium benzoate ($C_{28}H_{34}N_2O_3$), viz Obr. 1, je zatím nejvíce známou hořkou látkou na světě, objeven byl již v roce 1958. Denatonium benzoát je amonná sůl rozpustná ve vodě (45g /1L), alkoholu a chloroformu. Obsahuje denatoniový kationt, látku se zatím nepřekonanými hořkými vlastnostmi v moderní společnosti a benzoátový aniont, sůl kyseliny benzoové (Crosson a Sandmann, 2013). Denatonium benzoát je bílá, pevná krystalická látka bez zápachu s výraznou hořkou chutí, s teplotou tání 164 °C až 168 °C. Hodnota pH se pohybuje okolo 6,5 – 7,5, roztok denatonium benzoátu je charakterizován jako neutrální (Bezpečnostní list dle nařízení ES č. 1907/2006).

Denatonium benzoát má velmi malou akutní toxicitu, LD₅₀, tedy dávka, která usmrtí 50 % testované populace, je stanovena až v hodnotě 485 - 740 mg/kg u potkanů (Andersen, 2008; Hansen et al., 1993) a v hodnotě 865 mg/kg u myši. Timm (2005) ve své studii uvádí LD₅₀ pro savce v hodnotě 584 mg/kg. Akutní toxicita spočívá především v podráždění sliznic a očí. Vystává otázka v potenciální karcinogenní a teratogenní účinky při chronické expozici, pro kterou doposud není dostatek informací (Consumer Product Safety Commission, 1992). Z hlediska ekotoxicity je denatonium benzoát nebezpečný pro vodní organismy, letální koncentrace LC₅₀ je stanovena pro ryby v koncentraci 1000 mg/L za dobu 96 hodin (Bezpečnostní list dle nařízení ES č. 1907/2006).

Denatonium benzoát dosud není americkou agenturou pro ochranu životního prostředí (US EPA) zařazen mezi pesticidy, ale již jsou prokázány dostatečné repelentní účinky, zejména proti divoké zvěři (Brasser et al., 2005; Nolte et al., 1993; Nolte, 1998, Richard a Davies, 2000; Sackmann et al., 2010), denatonium benzoát je součástí mnoha registrovaných komerčních repelentů v USA používaných na ochranu rostlin proti okusu zvěří, jejichž účinky byly prokázány již v mnoha studiích (Kays, 2003; Lehmkühler et al., 2003; Santili et al., 2004; Trent et al., 2001; Willoughby, 2011).

Wright a Milne (1996) zkoumali vliv denatonium benzoátu v potravě na reakce jelena lesního (*Cervus elaphus*) a srnce obecného (*Capreolus capreolus*). V případě podání pouze potravy s obsahem denatonium benzoátu ve vysoké koncentraci jim přídavek nezabránil v konzumaci, při podání směsi krmiva s přídavkem repelentu a bez přídavku bylo spotřebováno pouze krmivo bez obsahu denatonium benzoátu. Z toho vyplývá, že denatonium benzoát působí na divokou zvěř odpudivě, ale v případě, že je na blízku pouze krmivo, které obsahuje denatonium benzoát, jsou ochotni tolerovat jeho koncentrace v potravě.

Jsou ale i takové studie, kdy se denatonium benzoát jako účinný repelent neprojevil. Příkladem je práce Witmera et al. (1998), kteří se pomocí denatonium benzoátu pokusili snížit poškození jehličnanů hlodavcem pytlonošem severním (*Thomomys talpoides* Rich.). Denatonium benzoát byl aplikován v jednom případě ke kořenům, v druhém případě jako foliární postřik, avšak ani v jednom případě se nestal účinným proti okusu.

Denatonium benzoát se ověřil jako látka se širokým využitím. Vedle repelentních účinků se využívá v domácnostech jako součást prostředků, kde slouží jako ochrana proti pozření pro svou extrémně hořkou chuť (Hansen et al., 1993; Rovellini, 2006), zejména dětmi, často se přidává do nemrznoucích směsí, které lákají svojí sladkou vůní a chutí (Berning et al., 1982; Mullins a Zane, 2004; Sibert, 1991; White et al., 2009). V některých státech USA je denatonium benzoát uzákoněn jako povinná příměs v malých koncentracích do domácích prostředků proti nechtěnému požití (Consumer Product Safety Commission USA, 1992).

Denatonium benzoát se mimo jiné používá jako součást k denaturaci lihu (Andersen, 2008; Krishnamurthy et al., 1997). Cooper (2011) a Love et al. (2012) navíc popsali denatonium benzoát jako vhodný antikoroziní prostředek pro měděné součástky v elektrotechnice.

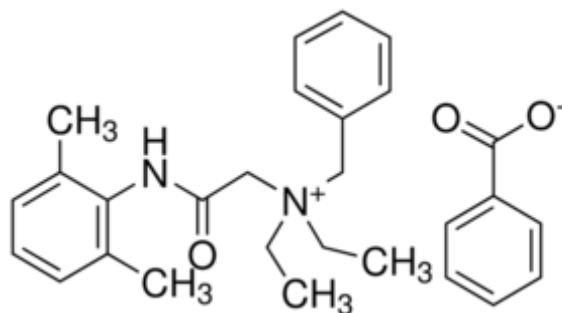
V České republice je denatonium benzoát uzákoněn jako součást denaturační příměsi pro denaturovaný alkohol v nejmenší hodnotě 10 mg/L etanolu, další podrobnosti jsou uvedeny ve vyhlášce Ministerstva zemědělství č. 141/1997 Sb., o technických požadavcích na výrobu, skladování a zpracování lihu, viz příloha 2.

S použitím denatonium benzoátu v rozličných přípravcích souvisí také potenciální prostupnost do dalších prostředí. Například při vylití látek obsahujících denatonium benzoát do odpadních vod se může dále dostávat do různých prostředí. Proto je nutné začít řešit otázku vztahu mezi denatonium benzoátem a půdním prostředím (Crosson a Sandmann, 2013).

Navzdory popisu dostatečných průkazných účinků denatonium benzoátu v mnoha oborech nebylo dosud provedeno testování o tom, co se stane, když se daná látka dostane do

půdy a půdního roztoku, jak se bude v půdním systému chovat ve vztahu k půdním živinám. K těmto otázkám bylo přispěno v diplomové práci.

Obr. 1 Strukturální vzorec denatonium benzoátu (www.sigmaaldrich.com)



3.2.3 Kapsaicin

Kapsaicin, pod chemickým názvem *trans*-8-methyl-*N*-vanillyl-6-nonenamide ($C_{18}H_{27}NO_3$), je výrazná látka, alkaloid, který má za následek pálivou chuť u paprik rodu *Capsicum*. Kapsaicin je hlavním alkaloidem kapsaicinoidů, mezi další patří např. dihydrokapsaicin, nordihydrokapsaicin. Kapsaicinoidy jsou z 90 % tvořeny právě kapsaicinem a dihydrokapsaicinem (Consumer Product Safety Commission USA, 1992, Reyes-Escogido, 2011).

Kapsaicin je bezbarvá, krystalická, lipofilní látka bez zápachu, pouze částečně rozpustná ve vodě, ale plně rozpustná v organických rozpouštědlech, jako je etanol, éter, petrolej atd. Kapsaicin byl poprvé v krystalické podobě připraven a pojmenován v roce 1876. Ostrost kapsaicinu je způsobena 3-methoxy-4-hydroxy-benzyl skupinou v molekule kapsaicinu. Hydroxylová skupina na pozici C-4 aromatického kruhu je zodpovědná za vnímání pálivosti, viz Obr. 2 (Consumer Product Safety Commission USA, 1992, Reyes-Escogido, 2011).

Akutní toxicita je pro nitrožilní podání stanovena v hodnotě LD_{50} 0,56 mg/kg a v hodnotě 512 mg/kg při aplikaci na povrchu těla u potkanů. Letální dávka pro savce LD_{50} je stanovena již v hodnotě 47 mg/kg (Timm, 2005). Při podávání vyšších dávek kapsaicinoidů byly v tělech potkanů pozorovány jaterní nekrózy. Při kontaktu kapsaicinu s pokožkou a sliznicemi mohou vznikat popáleniny, v případě vdechnutí akutní dýchací problémy. Chronická toxicita pro kapsaicin nebyla dosud zaznamenána (Consumer Product Safety

Commission USA, 1992). Podle studie Surha (2002) naopak mají pálivé komponenty, jako je kapsaicin, antioxidační, antimutagenní a antikarcinogenní účinky, chronická toxicita je tedy málo pravděpodobným jevem.

Kapsaicin se využívá jako komponenta do sprejů proti ohrožení s iritujícím účinkem, který má za následek pouze dočasné zneškodnění. V USA je od roku 1980 kapsaicin registrován jako účinný repelent proti zvířatům, zejména psům a myším a v současnosti také jako účinný pesticid (insekticid, fungicid) (Timm, 2005). Je součástí mnoha komerčních repelentů proti zvěři (zejména okusu) k ochraně rostlin (Kays, 2003), jejichž pozitivní repelentní účinky proti zvěři byly ověřeny již v mnoha pracích (Kimball et al., 2009, Nolte, 1998; Santili et al., 2004; Trent et al., 2001).

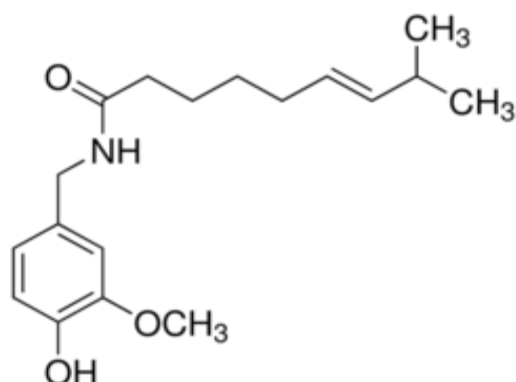
Testování různých druhů repelentů obsažených v krmivech pro jezevce evropského (*Meles meles*) prokázalo, že kapsaicin je účinnější ve srovnání s jinými látkami, jako je třeba amid kyseliny skořicové (Baker et al. 2005).

Trent et al. (2001) provedli studii, kde srovnali 20 komerčně běžně dostupných repelentů v USA se všemi známými účinky (bolest, strach, chuť, odpudivost) a jejich vliv na vysokou zvěř v době od října (největší doby okusu) do července, doby kdy se už nachází dostatek potravy pro zvěř. Denatonium benzoát byl obsažen celkem ve 2 prostředcích, v přípravku Ropel[®] v koncentraci 0,065 % a v přípravku Tree guard[®] v koncentraci 0,2 %. Kapsaicin celkem v šesti komerčních prostředcích, Hot Sauce[®] - 0,53 % , Get Away Deer and Rabbit Repellent[®] - 0,625 %, Deer Stopper[®] - 0,05 %, Plant Pro-Tec[®] - 3 %, Dr. T's Deer Blocker[®] - 0,0006 %, N. I. M. B. Y[®] - 0,027 %. Žádný z prostředků nezabránil úplnému okusu, ale v pokusu se lépe osvědčily prostředky s kapsaicinem, u kterých bylo pozorováno menší procento okusu oproti repelentům s denatonium benzoátem.

Santili et al. (2004) provedli srovnávací studii v účinnosti přípravku Hot Sauce[®] (kapsaicin) versus přípravek Tree guard[®] (denatonium benzoát), kde se naopak denatonium benzoát stal úspěšnějším v redukci poškození sazenic olivovníků vysokou zvěří.

Ve srovnávací studii proti požití pěti repelenty ošetřené pšenice (*Triticum aestivum* L.) myšicí křovinnou (*Apodemus sylvaticus* L.) a veverkou šedou (*Sciurus carolinensis* Gmelin) se nejúčinnějším repelentem stal naopak kapsaicin (Willoughby et al., 2011).

Obr. 2 Strukturální vzorec kapsaicinu (www.sigmaaldrich.com)



3.2.4 Používání repelentních látek v ČR

Ministerstvo zemědělství ve spolupráci s Výzkumným ústavem lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i. (VÚLHM) vždy jednou za 2 roky aktualizují Seznam povolených přípravků a dalších prostředků na ochranu lesa, který je v souladu se Seznamem povolených přípravků a dalších prostředků na ochranu rostlin dle zákona č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči. Poslední aktualizovaný seznam povolených prostředků byl vydán k 31. 3. 2013. Žádný z uvedených registrovaných repelentních prostředků dosud neobsahuje denatonium benzoát ani kapsaicin (www.vulhm.cz).

Další specifické požadavky na používání repelentů v ochraně lesa jsou uvedeny v zákoně č. 289/1995 Sb., o lesích a ve vyhlášce Ministerstva zemědělství č. 101/1996 Sb., o podrobnostech opatření k ochraně lesa.

3.3 Půdní typy

Půdní pokryv ČR se vyznačuje svojí rozmanitostí půdotvorných faktorů (půdotvorné substráty, klimatické podmínky dle nadmořské výšky) a zejména jeho mírný reliéf má za následek nepřetržitý vývoj. Výsledkem těchto faktorů je široká škála půdních typů v ČR. Jednou z nich je černozem (11,4 % v ČR) a fluvizem (5,9 % v ČR), které jsme použili v rámci naší experimentální části diplomové práce (Kozák et al., 2009).

3.3.1 Černozem

Půdní typ černozem patří v České republice mezi nejúrodnější půdy. Černozem najdeme především v sušších a teplejších oblastech, kde vznikly namísto původních stepí a lesostepí. Matečním substrátem jsou většinou spraše, občasné slíny nebo vápnité písky. Černozemě se nacházejí v nižší nadmořské výšce, která zpravidla nepřesahuje 300 m n. m. Hlavním půdotvorným procesem u černozemí je humifikace, půda obsahuje výrazné množství humusových látek (sekundární organické hmoty), je tedy bohatá na organickou hmotu. Na základě dostatku organických látek je půdní horizont tmavě zbarvený. Půdní horizont se vyznačuje vodotěsnou půdní strukturou s dostatkem edafonu, půdní profil ve střední hloubce (méně než 80 cm). Zrnitost bývá středně těžká s vysokým obsahem kvalitního humusu. Půdní pH je neutrální, sorpční schopnost půdy je velmi vysoká. Fyzikální vlastnosti, jako je pórovitost a objemová hmotnost, bývají příznivé (Kozák et al., 2009; Vopravil et al., 2009).

Černozemě se dělí na další půdní subtypy podle půdní modifikace, mezi nejrozšířenější v České republice patří černozem modální, černozem luvická, černozem arenická, černozem pelická (Kozák et al., 2009).

Většina černozemí v ČR je využita jako orná půda na základě svých vlastností, ale jejich rozloha a kvalita klesá na základě vodních a větrných erozí, acidifikací a v neposlední řadě také záborem půdy pro jiné než zemědělské účely (zástavba). Černozemě jsou vhodné pro pěstování nejnáročnějších plodin, např. cukrovky, kukuřice, pšenice, vojtěšky (Vopravil et al., 2009).

3.3.2 Fluvizem

Fluvizem je v České republice hojně zastoupena především v nížinách, vývojově patří mezi mladé půdy. Tyto půdy často vyplňují plochá dna říčních údolí, zvláště podél větších toků, půdotvorným substrátem jsou tedy nivní uloženiny (říční náplavy). Fluvizemě jsou tvořeny erozními sedimenty, které jsou kumulovány v nivě řek. Půdotvorný proces je často přerušován díky záplavovým nánosům, které obsahují vysoké množství humózního materiálu. Náplavové materiály následně ovlivňují vlastnosti fluvizemí. Dobrá akumuláční schopnost půd má za následek vrstevnatý profil, nepravidelné rozložení organické hmoty s vyšším obsahem i v nižších vrstvách. Profil fluvizemí bývá hluboký, menší obsah organické hmoty má za následek hnědou až šedohnědou barvu. Zrnitost se odvíjí od rychlosti toku, ve spodních vrstvách, kde dochází k menšímu vyplavování, je většinou větší. Obsah

humusových látek je střední a závisí na složení a množství náplav, se kterou je spojena také vlhkost. Půdní pH bývá neutrální až slabě kyselé (opět závisí na náplavovém materiálu), sorpční schopnosti, zejména u těžkých půd, jsou dobré. Fyzikální vlastnosti jsou příznivé především ve svrchním profilu (Kozák et al., 2009; Vopravil et al., 2009).

Také fluvizemě se dělí na další půdní subtypy podle modifikace půdního typu, mezi nejrozšířenější v ČR patří fluvizem modální, fluvizem stratifikovaná, fluvizem oglejená, fluvizem glejová, fluvizem karbonátová, fluvizem pelická (Kozák et al., 2009).

Využití fluvizemí je vhodné zejména pro luční porosty, v případě vhodných klimatických podmínek také jako orná půda (cukrovka, pšenice, ječmen, zelenina). Vzhledem k poloze fluvizemí je příznivá jejich závlaha. Při intenzivním hnojení půdy je nutné chránit podzemní vody před jejich znečištěním vzhledem k vrstevnatosti půdy (Vopravil et al., 2009).

Vzhledem k materiálu tvorby profilu mohou být do fluvizemí zaneseny nejrůznější nežádoucí materiály, včetně rizikových prvků a jiných polutantů (perzistentní organické polutanty), zejména v blízkosti průmyslových zařízení a zařízení ČOV podél řek. Průnik aciditních látek (kyselin) může také snížit hodnotu půdního pH a tím zvýšit mobilitu většiny rizikových prvků. V případě využití půdy pro zemědělské účely je tedy nutné nepřekročit maximální přípustné obsahy rizikových prvků podle vyhlášky č. 13/1994 Sb., o podrobnostech ochrany zemědělského půdního fondu, uvedené v příloze č. 1.

3.4 Mobilita esenciálních prvků v půdě a jejich příjem rostlinou

Více než 2000 let je známa potřeba dodávat živiny do půdy pro podporu růstu a výnosu rostlin v podobě různých rostlinných popelů, avšak podstata a význam prvků pro rostliny byly rozluštěny před necelými 150-ti lety. Role je připisována vědci Justusu von Liebigovi (1803-1873), který objasnil potřebu živin pro optimální růst a vývoj rostlin a zasadil se o zařazení výživy rostlin do vědeckého oboru (Marschner, 1995).

Doposud je známo 92 prvků, které se nacházejí v prostředí okolo nás, 60 z nich můžeme najít v rozličných koncentracích v rostlině (Resh, 2013). V současnosti je dokázána esencialita pro 17 prvků u vyšších rostlin, z nichž teprve v posledních letech byla objasněna potřeba Cl a Ni jako mikroživin u rostlin. Esenciální prvky jsou takové živiny, které rostliny nezbytně potřebují ke svému přirozenému vývoji. Dělíme je na mikro a makro živiny, podle jejich koncentrací v půdě a také potřeby rostlin (Marschner, 1995).

Pro hodnocení případného vlivu repelentů na mobilitu a dostupnost živin v půdě je třeba poznat mechanismus příjmu jednotlivých živin rostlinami a jejich roli v biochemických procesech rostlin, aby bylo možno odhadnout případný důsledek změny dostupnosti živin vlivem těchto repelentů. Jednotlivým živinám, jejich mobilitě v půdě, příjmu rostlinami a jejich roli v rostlinném metabolismu jsou věnovány následující kapitoly, přičemž pozornost je věnována těm prvkům, které byly sledovány v rámci našich experimentů.

3.4.1 Mobilita prvků v půdě

Příjem prvků rostlinou není závislý na celkové hodnotě v půdě, ale na jeho přístupnosti, která je charakterizována mobilitou (Schwartz et al., 2001). Mobilita živin je závislá na zrnitosti půdy, ovlivňuje ji půdní druh, charakter sorpce a iontové výměny v půdě, kvalita jílových a humusových koloidů v půdě, makrobiální a mikrobiální aktivita půdy, pH, redox potenciál půdy, poměry mezi vodou a vzduchem v půdě, obsah makro a mikroživin v půdě a obsah a stupeň rozložitelnosti půdní organické hmoty (Kabata-Pendias a Pendias, 2001).

3.4.2 Půdní sorpční schopnost

Schopnost půdy poutat (sorbovat) ionty a molekuly různých látek z roztoku a v případě potřeby je opět uvolnit do půdního roztoku pro biologickou dostupnost rostlinám, se nazývá sorpční schopnost půdy. Soubor půdních koloidů, které se podílejí na výměnných reakcích, nazýváme půdní sorpční komplex (Baier a Baierová, 1985).

Rozlišujeme aktivní a pasivní transport. Aktivní transport, probíhající ve většině půd, funguje na základě spojení daných iontů (aniontů) s přenašečem a následném prostupu přes semipermeabilní bránu do vnitřního prostoru buněk. K procesu je zapotřebí dostatek metabolické energie. Zvýšená sorpce souvisí s intenzitou respirace, ze které je získávána potřebná energie. Pasivní transport pracuje na základě fyzikální difúze, kdy jsou ionty (kationty) vázány bez potřeby energie. Dochází k němu především při vysokých koncentracích prvku s nekontrolovatelným příjmem (Baier a Baierová, 1985).

Kationty jsou v půdním sorpčním komplexu vázány různou silou v pořadí: $\text{Na}^+ < \text{K}^+ < \text{NH}_4^+ < \text{H}^+ < \text{Ca}^{2+} < \text{Mg}^{2+} < \text{Al}^{3+} < \text{Fe}^{3+}$. Obecně se lépe váží vícemocné kationty oproti jednomocným (Pokorný et al., 2002).

Půdní sorpce jsou závislé na hodnotě pH, druhu jílové matrice, kationtové výměnné kapacitě, obsahu organické hmoty a půdním typu (Adriano, 2001).

Sorpční půdní komplex je charakterizován hodnotou kationtové výměnné kapacity (KVK), která se vyjadřuje v molech pozitivního náboje na jednotku hmotnosti půdy. Hodnota udává množství kationtů, které je půda schopna poutat při hodnotě pH 7 (popřípadě v jiné hodnotě, která ale musí být uvedena). Běžné používanou metodou stanovení je metoda dle Mehlicha, která spočívá v nahrazení sorbovaných iontů v komplexu jinými ionty. Ionty jsou následně opět vytěsněny do roztoku a jejich stanovené množství odpovídá sorpční kapacitě dané půdy (Vopravil et al., 2009).

Tab. 1 Hodnocení KVK dle Mehlicha (Vopravil et al., 2009)

| KVK (mmol/100g) | Hodnocení |
|------------------------|----------------------|
| < 12 | nízká až velmi nízká |
| 13 - 24 | střední |
| 25 - 30 | vysoká |
| > 30 | velmi vysoká |

Význam půdní sorpce spočívá v dočasném zásobení půd živinami, které jsou chráněny před vyplavováním a zpětně dodány do roztoku jejich uvolněním v případě potřeby (Baier a Baierová, 1985).

3.4.3 Příjem prvků rostlinami

Výživa rostlin se dělí na kořenovou (půdní) a mimokořenovou (foliární) výživu (Baier a Baierová, 1985).

V půdě jsou živiny ve třech formách: a) rozpuštěné v půdním roztoku, b) poutané (sorbované) na půdní částice, c) pevně vázané (fixované) na půdní částice (v krystalové mřížce jílových materiálů, těžce rozpustných solích, pevných organických materiálech (Marschner, 1995).

S formou souvisí dostupnost (mobilita) živin pro rostliny. Nejlépe dostupné jsou pro rostlinu živiny ve formě půdního roztoku, živiny poutané v půdním sorpčním komplexu a živiny vázané v půdě ve sloučeninách rozpustných ve slabých kyselinách nebo zásadách (Kabata-Pendias a Pendias, 2001).

Proces příjmu živin kořeny dělí Vaněk et al. (2012) následovně:

1. Přísun živin do bezprostřední blízkosti kořenů (rhizosféry)

Probíhá:

a) pohybem půdního roztoku při doplňování vody kořeny z okolí rostliny v důsledku transpirace (odčerpání vody). Příjem živin je závislý na velikosti transpirace a množství prvků v půdním roztoku. Obecně se do blízkosti kořenů nejlépe dostávají ty prvky, které jsou vázány v půdním roztoku.

b) difúzí, která je založena na principu doplňování iontů prvků v místech s nízkou koncentrací z okolní půdy.

c) růstem kořenů, kdy se kořeny rostlin dostávají i do hlubších profilů, ze kterých dále čerpají živiny. Vedle růstu délky kořenů dochází i k rozšíření (vlášení), při kterém se zvětšuje aktivní plocha příjmu živin. Při růstu kořenů mohou navíc rostliny vyměšovat organické látky, které podporují mikrobiální aktivitu (např. mykorhizu). Mykorhiza významně zvětšuje povrch kořenů a tím i dostupnost živin.

2. Průnik živin do volného prostoru buněk kořenů

Vychází z difúze iontů o rozdílných tlakových rovnováhách v buňce. Ionty prostupují do volného prostoru kořenů, kde část iontů (kationty) je vázána na negativní náboje. Tento děj nazýváme sorpční kapacitou kořenů.

3. Vstup živin do vnitřního prostoru buněk kořenů

Lipidové polopropustné membrány mezi volným a vnitřním prostorem buněk ovlivňují příjem iontů do intracelulárního prostoru. Semipermeabilita je vázána na dostatečné zásobení Ca^{2+} ionty, při nedostatku se propustnost zvyšuje a tím i přirozená funkce. Další polopropustnou membránu tvoří plazmalena, která se nachází mezi volným prostorem a cytoplazmou. Plazmalena je zásadní pro průchod iontů. Prostupnost iontů je obecně vyšší u látek bez náboje, s nižším nábojem, s nižší atomovou (molekulovou) hmotností.

4. Transport živin v rostlině

Za transport živin jsou odpovědná vodivá pletiva (xylém, který přenáší živiny z roztoku do nadzemních částí a floém, který odvádí živiny zpět do zásobních orgánů

(kořenů). Většina živin je stále v iontové podobě, např. K^+ , Na^+ , Cl^- , některé již zabudované do organických sloučenin.

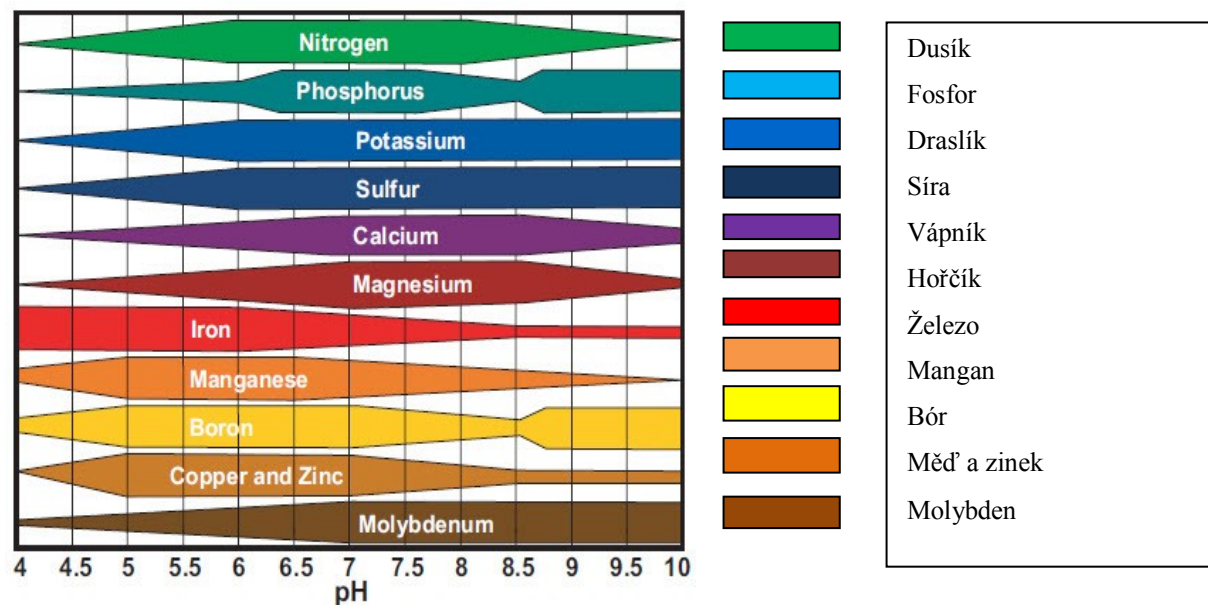
Živiny dělíme dle pohyblivosti v rostlinách (Baier a Baierová, 1985):

1. Dobře pohyblivé – K, Na, Cl, P, S, N, Mg
2. Středně pohyblivé – omezená zejména pohyblivost v xylému, např. Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, (Mg)
3. Špatně pohyblivé – značná omezenost pohybu, především ve floému, např. Ca, B, (Fe)

S dobře pohyblivými ionty může rostlina následně sama manipulovat, přesouvat je do jiných potřebných částí, např. z odumřelých částí do aktivních, ze starých orgánů do nových atd.

Dostupnost jednotlivých živin pro rostlinu je závislá na hodnotě pH. Na Obr. 3 jsou zobrazeny vlivy jednotlivých hodnot pH na příjem konkrétních prvků rostlinou.

Obr. 3 Závislost příjmu jednotlivých živin rostlinou na hodnotě půdního pH
(www.abron.co.nz)



3.5 Mikroprvky

Mikroprvky jsou nepostradatelné elementy pro vývoj rostlin, které se vyskytují a rostlina je potřebuje jen ve velmi malém množství. Řadíme mezi ně B, Fe, Cu, Mn, Zn, Mo, Cl, Ni. Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, Ni navíc řadíme mezi rizikové, které jsou ve vysokých koncentracích pro rostlinu toxické (Marschner, 1995).

Tab. 2 Obsah mikroprvků k optim. růstu rostlin a rok zjištění esenciality (Marschner, 1995)

| Prvek | Fe | Mn | B | Zn | Cu | Mo | Cl | Ni |
|--------------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| Rok | 1860 | 1922 | 1923 | 1926 | 1931 | 1938 | 1954 | 1987 |
| mg/kg sušiny | 100 | 50 | 20 | 20 | 6 | 0,1 | 100 | ~ 0,1 |

3.5.1 Bór

Ačkoliv význam bóru jako esenciálního prvku, který se nachází především v nerostných surovinách, byl zjištěn před více než 80-ti lety, teprve v posledních letech byly popsány jeho funkce v rostlině (Brown et al., 2002).

3.5.1.1 Charakteristika bóru v půdě

Průměrné koncentrace bóru jsou v půdách celosvětově měřeny okolo 40 mg/kg (Kabata-Pendias, 2011). Nejvyšší hodnoty prvky jsou měřeny v solných půdách, zejména v mořských sedimentech (okolo 60 mg/kg). Naopak nejnižší hodnoty jsou pozorovány ve vyvěřelinách kyselého charakteru, sedimentech sladkovodního původu a v hrubozrnných půdách chudých na organickou hmotu (Fleming, 1980). Bór má obecně vysokou afinitu ke kyslíku, proto se často vyskytuje v kyslíkatých sloučeninách (Kabata-Pendias, 2011).

Bór se v půdách vyskytuje ve formě boritanů nebo jako součást křemičitanů. Při zvětrávání se v půdách přeměňuje na kyselinu boritou nebo boritany, které jsou zvláště při nižší hodnotě pH lépe mobilní než samotný B. Z toho vyplývá, že lehké, kyselé půdy jsou chudší na obsah B, než půdy těžšího a alkalického charakteru (Marschner, 1995; Vaněk et al., 2012).

Bór je špatně extrahovatelný prvek, obvykle je možné stanovit méně než 5 % celkového B. Nejlepším rozpouštědlem k získání dostupného a mobilního prvku se stále jeví

horká voda. Nachází se v malém množství v půdním roztoku a adsorbován na jílovité částice. Jednoduše se váže na půdní organickou hmotu (POH), proto největší hodnoty prvku nacházíme v horních profilech půdy. Bór se v půdě sorbuje zejména na Fe, Al hydroxidy, Fe, Al oxidy a jílové minerály v mírně alkalickém prostředí (pH 7 – 8,5) (Adriano, 2001).

3.5.1.2 Charakteristika bóru v rostlině

Rostliny přijímají bór zejména pasivně ve formě kyseliny borité H_3BO_4 . Obsah se pohybuje v rozmezí 20 – 100 mg/kg v sušině. Transport v rostlině je díky nízké mobilitě prvku omezen. Transpirační proud přivádí B až do okrajů listů, kde se projeví případný nedostatek i nadbytek. Bór se v rostlině nehromadí, jeho větší množství působí v rostlině toxicky (poškozuje rostlinná pletiva). Bór je pro rostliny nejlépe přijatelný v hodnotě pH do 6,3, poté se jeho přijatelnost snižuje (Vaněk et al., 2012).

Bór se podílí na správné struktuře a funkci buněčné stěny, meristematických pletiv a v neposlední řadě také na regulaci energetických látek (cukrů) (Brown et al, 2002). Rostlinám může poskytovat ochranu při vysoké intenzitě světla (Hlušek et al., 2002).

Blevins a Lukaszewski (1998) zjistili, že zvýšené aplikace bóru mohou mít pozitivní vliv na růst kořenů zejména v kyselých půdách. Poukazuje také na působení prvku proti toxickým účinkům hliníku, který zabraňuje růstu kořenů dvouděložných rostlin.

3.5.2 Železo

Železo je čtvrtý nejvíce zastoupený prvek v zemské kůře (okolo 5 %) a obsazuje druhou pozici v zastoupení kovů (Marschner, 1995). Železo je nezbytným prvkem pro organismy všeho druhu, od lidí až po rostlinstvo. Jeho hlavní rolí je účast při fotosyntéze a respiraci. Železo se nejčastěji vyskytuje v přírodě v podobě stabilních oxidů a sulfidů jako součást minerálů (magnetit, pyrit, hnědel – půdy bohaté na hnědel se vyznačují načervenalým zbarvením) (Kabata – Pendias a Pendias, 2001; Šimek a Cooper, 2004).

3.5.2.1 Charakteristika železa v půdě

Větší část Fe se vyskytuje v půdě v anorganické formě ve formě oxidů. Menší dostupná (mobilní) část je tvořena komplexy s organickou hmotou - půdy bohaté na organickou hmotu jsou na obsah přístupného Fe chudší. Rozpustnost Fe se váže na půdní pH. V kyselém prostředí se uvolňuje Fe do půdního roztoku jako ionty Fe^{2+} , Fe^{3+} , jejich forma je

závislá na redox potenciálu, který je pro železo velmi podstatným. Redukční podmínky (redukce Fe^{3+} na Fe^{2+}), zavodněná a málo aerovaná místa jsou bohatá zejména na ionty Fe^{2+} , naopak u míst s vyšší oxidací (blíže k zemskému povrchu) jsou častější Fe^{3+} ionty, jedná se zejména o obhospodařované půdy. Největší nedostatek železa z důvodu špatné rozpustnosti je zejména v půdách s vysokou biologickou aktivitou, dobře vzdušněných a vyšším pH (Kabata – Pendias a Pendias, 2001; Marschner, 1995; Vaněk et al., 2012).

Významné jsou Fe vazby s cheláty, které tvoří stabilní a dostupné sloučeniny (Knezek a Ellis, 1980; Kabata – Pendias a Pendias, 2001; Šimek a Cooper, 2004). Příjem Fe dále omezují i HCO_3^- ionty, zejména po vápnění zvýšením pH. Dané ionty omezují sekreci H^+ iontů kořeny, které vytváří kyselé prostředí pro příjem Fe. K nedostatku Fe dochází zejména v případě silné alkalické reakce, která je způsobena např. vápněním půdy po aplikaci páleného vápna (CaO), velmi oblíbeného hnojiva zahrádkáři (Vaněk et al., 2012).

3.5.2.2 Charakteristika železa v rostlině

Železo se v rostlině pohybuje v koncentracích 25 - 500 mg/kg (Knezek a Ellis, 1980). Nejvíce Fe najdeme v listech, minimum v ostatních částech rostliny. Železo je rostlinou přijímáno zejména kořenovým systémem v podobě Fe^{2+} i Fe^{3+} iontů, oxidační stupeň vždy závisí na redox potenciálu půdy i pH, viz příjem v půdách. V rostlině se většina Fe iontů zabudovává do organických sloučenin. Velká část Fe se váže na fosfoproteiny (fytoferitiny), které slouží jako zásobní látka pro výstavbu plasticidů. Fe je součástí mnoha enzymů, které se podílejí na oxidaci, např. peroxidázy, cytochromoxidázy. Příjem Fe rostlinou je také závislý na hodnotě pH. Kyselé prostředí zvyšuje rozpustnost, alkalické prostředí omezuje rozpustnost Fe sloučenin. Ve velmi kyselém prostředí (pod pH 5) hrozí vysoký příjem prvku a toxicita pro rostlinu (spolu s Al, Mn) a je celkově negativně ovlivněn příjem i ostatních prvků (Mo, P) (Vaněk et al., 2012).

Práce, které publikovali Decock et al. (1979), Ward et al. (2008), Zheng et al. (2009) dokazují antagonistické působení mezi Fe a P. Významné jsou také konkurence mezi Fe a jinými kationty prvků při tvorbě chelátů a příjmu živin, kdy nejmenší stabilitu a chelátotvornou funkci zaznamenáváme v pořadí $\text{Mn} < \text{Fe} < \text{Zn} < \text{Cu}$. Zhang et al. (1989) ve své práci popisuje zastupitelnost Fe^{3+} iontů při nedostatku Zn z kořenových exudátů. Nejvýznamnějším konkurentem je měď, která je ale v běžných podmínkách málo rozpustná, ohrožující je až kyselé prostředí. Příjem Fe ohrožují také HCO_3^- ionty, které blokují pohyb v pletivech a tím i transport do mladých listových buněk (Vaněk et al., 2012).

Dalším významným pilířem ve výživě rostlin je slučování železa s chelátotvornými sloučeninami. Některé cheláty (ligandy) vytváří sama rostlina a kořenovými exudáty je vypouští do rhizosféry (oblasti 1 mm okolo kořenů), kde se dostávají ke kořenům a dále do půdního roztoku (Kabata – Pendias a Pendias, 2001). Dvouděložné rostliny reagují na nedostatek Fe omezením růstu kořenů do délky a zvýšením vlášení (apikální zóny), dále zvýšenou kořenovou sekrecí H^+ iontů a chelátů, redukcí Fe^{3+} ionty na Fe^{2+} (Vaněk et al., 2012). Nedostatek u rostlin vyvolává sníženou tvorbu chlorofylu, která se vyznačuje snížením pigmentu a následným žloutnutím celých částí listů, jev nazýváme chlorózou (Kabata – Pendias, 2011).

3.5.3 Měď

Měď se do prostředí dostává přírodní i antropogenní činností. Přirozeně se nachází jako součást minerálů a nerostů (malachit, chalkopyrit), člověk ji do prostředí dostává následnou těžkou a zpracováním rud. V přírodě se může vyskytovat i v čisté podobě jako kov, ale podle odhadu je v této formě pouze 6 % světových zásob mědi. Měď se využívá v zemědělství jako pesticid, zejména fungicid (Bencko et al., 1995). Měď je na jednu stranu mikroelementem potřebným k přirozenému vývoji rostlin, na druhou stranu ve větší míře pro organismy toxická, proto musíme sledovat a omezovat nadměrný vnik do prostředí (Adriano, 2001).

3.5.3.1 Charakteristika mědi v půdě

Měď se nejčastěji vyskytuje v půdě ve formě Cu^{2+} v organických i anorganických formách v množství okolo 30 mg/kg. V anorganické formě se nachází ve formě minerálů nebo jako součást nerozpustných solí (oxidy, uhličitany, sulfidy). S organickými sloučeninami vytváří pevné a nerozpustné komplexy (Vaněk et al., 2012). Dle studie Ma a Rao (1997) se v organické podobě nachází až 74% celkových obsahů Cu. Obsah mědi v půdách je velice variabilní. V půdách glejového typu, ve vápenatých nivních uloženinách, jako např. fluvizemě, najdeme variabilnější obsahy Cu oproti půdám černického charakteru (černozem), kde jsou hodnoty většinou stálé (Bencko et al., 1995).

Vyšší podíly Cu vázané na organické matice ve své práci dokazuje také Shuman (1979). Cu je v půdě silně vázána, je součástí nerozpustných sloučenin i sorpčního komplexu (Jeffery a Uren, 1983). Wu et al. (1999), McLaren et al. (1981) potvrdili, že Cu se přednostně

sorbují na organické částice v jílových hrubozrnných frakcích. Silná vazba následně omezuje mobilitu prvku. Se stoupajícím obsahem půdní organické hmoty se snižuje uvolnitelnost, klesající pH naopak zvyšuje dostupnost (Sanders, 1982; Sanders a Bloomfield 1980).

3.5.3.2 Charakteristika mědi v rostlině

Rostlina přijímá měď také jako kationt Cu^{2+} . Množství potřebné pro rostlinu se pohybuje v rozmezí 5 - 20 mg/kg. I při vyšších koncentracích v půdě není Cu přijímána ve vyšším množství. Vzhledem k nízké mobilitě je pevně vázána v kořenech, kde najdeme její nejvyšší koncentrace. Dostupnost také klesá se zvyšujícím se pH (Adriano, 2001).

Měď je součástí enzymů podílejících se na oxidačních procesech (např. fixace N), blokuje vznik volných radikálů při fotosyntéze a tvorbách buněčných stěn (ligninu) (Maksymiec, 1998; Fernandes a Henriques, 1991).

3.5.4 Mangan

Mangan je přirozenou součástí prostředí okolo nás. Přirozené obsahy Mn se vyskytují v zemské kůře, je hojnou součástí mnoha minerálů jako oxid, uhličitan, křemičitan. Do prostředí se dostává zejména těžkou nerostných surovin a spalováním fosilních paliv (Adriano, 2001). Je to jeden z mála kovů, který dosud nenalezl v čistém stavu technické uplatnění, používá se zejména do slitin (Bencko et al., 1995).

3.5.4.1 Charakteristika manganu v půdě

Celkové obsahy Mn v půdě jsou vysoce variabilní, v řádech desítek až tisíc mg/kg dle půdního typu. Nejméně Mn najdeme v lehkých, propustných, kyselých půdách. Mangan se silně váže na jílové minerály, zejména při zvyšujícím se pH, vyšší pH snižuje dostupnost (Knezek a Ellis, 1980; Vaněk et al., 2012). Deficit manganu v půdách je celosvětovým problémem, ale dotýká se zejména oblastí s chladnějším klimatem (Mundus et al., 2009).

V půdě se vyskytuje ve formě Mn^{2+} až Mn^{4+} , z nichž je pro rostliny dostupná pouze forma Mn^{2+} . Mn^{3+} ionty se nacházejí v půdním roztoku a sorbované na sorpční komplex a jsou potencionálně přijatelné pro rostliny (Mundus et al., 2009; Vaněk, 2012). Vícemocné sloučeniny, které vznikají oxidačními procesy v půdě, jsou obtížně rozpustné, tedy špatně dostupné pro rostlinu, do rostlin se dostávají až po redukčních procesech zpět na Mn^{2+} ionty. Do oxidačně-redukčních reakcí, na které je mangan velice citlivý, zasahují i další sloučeniny

(H₂S), mikroorganismy včetně kořenových exudátů (sekrece H⁺ a dalších organických kyselin, např. citronové, jablečné) (Vaněk et al., 2012).

3.5.4.2 Charakteristika manganu v rostlině

Hodnoty Mn v rostlině se pohybují v řádu jednotek až stovek mg/kg. Příjem Mn u rostlin je opět pevně spjat s hodnotou pH a redox potenciálem půdy. Nízká hodnota pH a redukční podmínky zvyšují přijatelnost živiny, která může vést až k toxicitě. Biodostupnost Mn se rapidně zvyšuje s poklesem pH pod 5,5 (Kabata-Pendias, 2011). Mangan je po hliníku nejtoxičtější prvek pro rostliny v kyselém prostředí (Foy, 1992).

Chudé na Mn jsou půdy vysoce aerované, biologicky aktivní s neutrálním až zásaditým pH. Příjem Mn si opět regulují samy kořenové exudáty vyměšováním H⁺ iontů a organických kyselin, kdy za přítomnosti organické kyseliny, např. jablečné, v kyselém prostředí (H⁺) je MnO₂ redukován na kyselinu oxalocitronovou ionty Mn²⁺. V případě nedostatku Mn kořeny rostlin vylučují chelátotvorné sloučeniny, které v rhizosféře vytvoří s Mn komplexy snadno dostupné pro rostlinu. Obecně je transport v rostlině omezen (avšak např. vyšší než u Fe), špatně dostupný ze starých orgánů do nových, takže v mnoha případech je nutná i mimokořenová výživa (Vaněk et al., 2012).

Hlavní využití Mn spočívá zejména v jeho roli ve fotosyntéze (fotolýza vody), je součástí oxidačních enzymů, které ničí volnokyslíkové radikály při fotosyntéze. Mn se podílí i na syntéze chlorofylu, jeho nedostatek se projevuje podobně jako u Fe, Mg. Vysoký nedostatek Mn se projevuje chlorózami pletiv, které vedou až k odumírání. Nadbytek se projevuje podobnými faktory jako nedostatek, se kterým souvisí také nedostatek P, Mo v kyselém prostředí (Vaněk, 2012).

3.5.5 Zinek

Ve světě je známo více než 80 druhů minerálů obsahující zinek. Do prostředí se tedy dostává těžbou nerostů (biotit, amfibol) a při následném průmyslovém zpracování, kde se využívá zejména v galvanickém průmyslu jako součást slitin. Zinek nalezneme v domácích prostředcích od kosmetiky po automobilové pneumatiky. V zemědělství jako součást pesticidů (Adriano, 2001).

3.5.5.1 Charakteristika zinku v půdě

Zinek se v zemské kůře vyskytuje v průměrných hodnotách okolo 40 mg/kg. V půdách se koncentrace Zn pohybuje od 10 do 300 mg/kg (Bencko et al., 1995). Většina minerálů je rozpustná v kyselém prostředí (kromě ZnS). Největší část dostupného Zn je vázána v podobě Zn^{2+} , v sorpčním komplexu jako $ZnOH^+$, malá část v organických sloučeninách. V neutrálním až zásaditém prostředí je Zn vázán zejména v organických sloučeninách, například ve fulvokyselinách, chelátech. Mobilita Zn v půdě závisí na hodnotě pH a přítomnosti fosforu (Vaněk, 2012). Klesá se zvyšujícím se pH (Jeffery a Uren, 1983) a vyšším množstvím P (Warncock, 1970). Snadno mobilní a dostupný Zn najdeme v kyselých, lehkých půdách (Kabata-Pendias a Pendias, 2001). Mobilita Zn se začíná snižovat již při pH vyšším než 4,5 (Balík et al., 1998). Zinek se v půdě snadno váže na Fe, Al oxidy a jílové minerály (Kabata-Pendias a Pendias, 2001).

3.5.5.2 Charakteristika zinku v rostlině

V rostlině se vyskytuje v koncentracích 20 - 100 mg/kg, ale nároky se liší s druhem rostlin. Při koncentracích pod 10 mg/kg se již projevují deficitní následky (Adriano, 2001). Příjem Zn závisí na hodnotě pH a obsahu fosforu, jako v případě půdy. Nižší pH má za následek vyšší dostupnost rostlinám (Warncock, 1970). Fosfor v rostlině blokuje transport Zn do vrcholových částí rostliny (Khan a Zende, 1977). Antagonisticky působí na Zn také kadmium, se kterým má podobné biochemické vlastnosti (Adriano, 2001), to se projevuje sníženou sorpcí. Zinek má negativní vliv na příjem Fe, Cu, Mn a může způsobit deficit těchto mikroprvků (Imtiaz et al., 2003). Nadměrné množství Zn omezuje příjem Fe rostlinou (Vaněk et al., 2012).

Mobilita Zn v rostlině je relativně nízká, ale vyšší ve srovnání s B, Fe, Mo. Mímokořenová výživa (postřik) je řešením k vyššímu příjmu prvku. Zn je součástí mnoha důležitých enzymů, působí při syntéze bílkovin, metabolismu glycidů. Nedostatek Zn snižuje množství chloroplastů a tím i chlorofylu v zelených částech rostliny, objevují se chlorózy až nekrózy (Vaněk et al., 2012).

Nadbytek Zn se objevuje především s průmyslovým znečištěním, zejména při aplikaci průmyslových kalů z ČOV na zemědělskou půdu (Balík et al., 1998), nadměrný příjem prvku snížíme zvýšením hodnoty pH, např. vápněním půdy nebo adsorpcí na jílové minerály, jako jsou bentonity, zeolity (Hanč et al., 2002, Hanč et al., 2007). Emisní limity výstupních vod musí být v hodnotě do 3 mg/L dle nařízení vlády č. 61/2003 Sb., o ukazatelích a hodnotách

přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod. Kaly využití na zemědělskou půdu musí splňovat limity pro Zn v hodnotě 2500 mg/kg dle vyhlášky č. 382/2001 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě. Nadbytek zinku se dále vyskytuje v průmyslových odpadech, zejména ve strojírenství, ale také s nadměrnou aplikací kejdy (Mantovi et al., 2003), kde je nejvhodnějším řešením opět vápnění ke zvýšení hodnoty pH a tím snížením mobility a dostupnosti pro rostliny.

3.6 Makroprvky

Mezi makroprvky řadíme devět esenciálních živin – C, O, H, N, P, K, Ca, Mg, S. Makroživiny se nacházejí ve větším množství v organismu rostlin a jejich význam pro rostlinu je klíčový, podporují základní životní funkce (Marschner, 1995). Uhlík, kyslík a vodík patří mezi základní stavební prvky.

3.6.1 Fosfor

Fosfor se vykytuje v půdě v anorganických i organických formách. V přírodě ho nacházíme primárně ve vápenatém minerálu apatit, sekundárně ve formě adsorbovaných fosforečnanových solí. Fosfor je součástí nukleových kyselin, podílí se na energetickém přenosu (ATP, ADP) a jako přenašeč karbohydrátů v buňkách listů, urychluje vývoj a zrání plodů (Hlušek et al., 2002; Marschner, 1995).

3.6.1.1 Charakteristika fosforu v půdě

Fosfor se v půdě vyskytuje v minimálním množství (0,8 – 8 mg/kg), ale má nezastupitelnou úlohu ve výživě rostlin (Marschner, 1995). Fosfor se v půdách nachází pouze v oxidovatelném stavu, na rozdíl od N a S nepodléhá oxidaci nebo redukci (Balík et al., 2002). Většina celkového P v půdách je ale pro rostliny nepřijatelná, vyskytuje se v těžko rozpustných solích. Dostupné pro rostlinu jsou až rozpustné soli kyseliny fosforečné. Fosfor se dobře váže na Fe, Al oxidy. Sloučeniny P s Fe, Al oxidy se vyskytují zejména v kyselých půdách a mají naopak velmi malou rozpustnost, dostávají se minimálně do půdního roztoku. Studie Kulhánka et al. (2009a) dokazuje 55 % podíl P vázaného na Fe, Al oxidy v půdách. Obsah fosforu se zvyšuje s množstvím půdní organické hmoty. Fosfor se v půdě dobře sorbuje na organickou hmotu a jílovité částice (Kulhánek et al., 2009a; Vaněk et al., 2012).

Fosfor se v půdách nachází v organických i anorganických sloučeninách, podíl organicky vázaného P se v ornici pohybuje okolo 25 – 65 % (Balík et al., 2002). S nadbytkem P však souvisí případný nedostatek ve výživě Fe, Cu, Mn a Zn ionty (Matula, 2012). Při sorpcích P na půdní částice může navíc docházet ke kompeticím s molybdenem (Sager, 2004)

Z hlediska sorpčních charakteristik dělíme P také na vodorozpustný, nevýměnný, výměnný, z nichž nejvýznamnější je vodorozpustný a výměnný. Výměnný P se snadno dostává do půdního roztoku a je tedy snadno dostupný rostlinám (Kulhánek et al., 2009b). Celkově rozpustný P představuje mobilní formu P. Ta se skládá z anorganické formy i z organických rozpustných forem (Matula, 2012).

Mobilitu fosforu v půdě ovlivňují fulvokyseliny, které fosfor přeměňují na své estery, ty zvyšují pohyblivost P v půdách. Humusové látky naopak na HPO_4^{2-} působí jako zádržné koloidy. Humusové látky vytváří s kovovými prvky komplexy, na které se mohou vázat, v případě kationtu kovu, s aniontem fosfátu. Tyto vazby zabraňují vzniku nerozpustných sloučenin fosforu a zlepšují tak přijatelnost fosfátů pro rostliny (Vrba a Huleš, 2006).

3.6.1.2 Charakteristika fosforu v rostlině

Fosfor patří vedle dusíku a draslíku k nejdůležitějším živinám pro rostliny, které je potřeba ve většině případů do půdy dodávat. Fosfor je rostlinami přijímán ve formě H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , příjem forem je závislý na hodnotě pH půdy. V kyseljším prostředí převládají H_2PO_4^- ionty, HPO_4^{2-} ionty se vyskytují ve vyšším pH (hodnota 7 a více) (Kulhánek et al., 2009b). Vzhledem k malé rozpustnosti P rostliny přijímají P již ve velmi malých dávkách a v rostlině je P schopný se kumulovat až v mnohonásobných dávkách (Floate, 1970).

Nejvíce P najdeme v generativních orgánech, jelikož fosfor je přednostně importován do míst s největší potřebou. Nedostatek P se v rostlině projevuje zejména nedostatečným vývinem, při nedostatku P je potlačena fotosyntéza a tím i výnos biomasy, při chronickém nedostatku P dochází k fialovému zabarvení rostlin (Vaněk et al., 2012). Nadbytek vodorozpustné formy P se může projevit omezením příjmu ostatních živin, což se projeví předčasným zráním a snížením výnosů (Hlušek et al., 2002).

3.6.2 Vápník

Vápník je pátý nejčastěji zastoupený prvek a třetí nejhojnější kov (po Fe a Al) v zemské kůře (Černý et al., 2013). V životním prostředí se vyskytuje zejména jako součást

minerálů a hornin, jednou z nejrozšířenějších je vápenec, dolomit. Vápník hraje významnou roli v průběhu biochemických procesů, má pozitivní vliv na příjem ostatních iontů kořeny rostlin a v neposlední řadě se podílí na stavbě buněčných stěn a regulaci osmotického tlaku (Marschner, 1995).

3.6.2.1 Charakteristika vápníku v půdě

Vápník se v půdě nejčastěji nachází jako iont Ca^{2+} v množství několika set mg/kg. Množství vápníku v půdě je závislé na půdním typu. Větší množství se nachází v těžších, karbonátových půdách (černozem) oproti lehčím, písčítým půdám s kyselým charakterem (Marschner, 1995). Vápník se povětšinou nachází ve formě těžko rozpustných sloučenin (např. uhličitany, křemičitany, sírany). Do půdy se dostává KVK výměnou za jiné kationty (Asher a Ozanne, 1961), rozpouštěním uhličitánů. Rozpustnost a tím i dostupnost do půdního roztoku se zvyšuje s klesajícím pH (Wuddivira a Camps-Roach, 2007). Vápenec a jeho přeměněné sloučeniny působí v půdě jako pufr - zajišťují stabilní, neutrální pH bez větších výkyvů (Vaněk et al., 2012).

Vápník se v půdě vyskytuje ve formě rozpuštěné, výměnné, nevýměnné. Nevýměnný Ca se nachází v půdě ve formě minerálů, z nichž nejdůležitější jsou uhličitany. V rozpustnosti uhličitánů hraje významnou roli obsah CO_2 , který rozpouští vápenec (CaCO_3) na hydrogenuhličitan $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$. Hydrogenuhličitan je látka již dobře rozpustná, tedy pohyblivá v půdním roztoku. Z hlediska sorpčních charakteristik je pro Ca nejdůležitější výměnná forma. Vápník je převažujícím prvkem poutaným na půdní koloidy mezi ostatními. Pouze na alkalických půdách většinou převažuje sorpce draslíku, v kyselých půdách hliník a vodík. Vazebná síla v sorpčním komplexu závisí na charakteru koloidů - silnější je v organické matici oproti jílovým minerálům. Nasycení koloidů Ca by mělo dosahovat 60 - 80 % sorpční kapacity v závislosti na typu půd (těžší půdy, vyšší sorpční kapacita). Dostatek Ca iontů je nutný zejména pro udržení půdní struktury. Výměnný Ca je srovnatelný s hodnotou Ca v půdním roztoku, která se nejčastěji pohybuje v hodnotě 50 až 100 mg/L. S dobrou pohyblivostí hrozí vyplavování Ca z půd, zejména v humidních oblastech (Černý et al., 2013).

3.6.2.2 Charakteristika vápníku v rostlině

Vápník je rostlinami přijímán jako kationt Ca^{2+} , zejména pasivním příjmem. Množství potřebné pro rostlinu se pohybuje od 0,1 do 5 % v sušině. Vápník patří mezi málo mobilní prvky (Marschner, 1995). Minimálně je transportován ve floému, proto zásobní orgány

obsahují minimum Ca. Vápník se ukládá ve starých orgánech, ale již není znovu přesouván do mladých, proto je třeba živinu neustále dodávat (White, 2001).

Vápenaté ionty interagují s ionty jiných prvků, zejména s nadměrnými obsahy K^+ , H^+ , NH_4^+ , Mg^{2+} , Mn^{2+} . Tyto kationty omezují příjem Ca^{2+} , prvku, který tvoří stabilní prostředí pro příjem dalších kationtů. Na příjem Ca^{2+} mají vliv také vnější podmínky, nižší vlhkost a teplota způsobují vyšší příjem. Dostatek vápníku zvyšuje odolnost rostlin proti vnějším abiotickým a biotickým vlivům (např. škůdci). V neposlední řadě se vápník podílí na acidobazické rovnováze (Vaněk et al., 2012).

Nedostatek Ca se projevuje zejména ovlivněním půdních vlastností, poklesem sorpční kapacity, hodnoty pH a celkově zhoršením podmínek pro růst rostlin. Nedostatek Ca v půdě je výjimečným jevem, hlavním důvodem nedostatku je antagonistické působení mezi Ca^{2+} a K^+ . Nadbytek je vzhledem k vysoké toleranci a potřeby vápníku minimálním jevem. Pouze na zasolených půdách může ještě zvýšit hodnotu pH a tím snížit dostupnost jiných živin (např. B, Fe, Mn) (Vaněk et al., 2012).

3.6.3 Hořčík

Hořčík je součástí mnoha minerálů a hornin. Mezi nejznámější minerály patří biotit, amfibol, serpentín, olivín. Hlavní význam Mg spočívá v podpoře enzymatické aktivity (cukry, bílkoviny, lipidy, nukleové kyseliny). Hořčík je významnou součástí chlorofylu, účastní se jedné z nejdůležitějších chemických reakcí v rostlině, fotosyntézy (Marschner, 1995; Černý et al., 2012). V jádře chlorofylu je vázáno 15 – 20 % z celkového obsahu Mg v rostlině (Hlušek et al. 2002).

3.6.3.1 Charakteristika hořčíku v půdě

Obsah hořčíku v půdách se pohybuje okolo 0,5 %, přičemž více je ho v oblastech bohatých mateční horninou na Mg. Zdrojem Mg jsou tedy především minerální zdroje, z nichž se ale Mg špatně uvolňuje. Významné jsou uhličitanové zdroje (dolomity), z nichž se Mg lehce uvolňuje. Nejdostupnějším zdrojem jsou hořečnaté soli (např. sírany, chloridy), které jsou dobře rozpustné a zásobují tedy půdní roztok dostatkem hořečnatých iontů (Marschner, 1995).

Chudé na Mg jsou lehké, písčité půdy s nízkou hodnotou pH. Nedostatek Mg v lehce propustných půdách plyne i z posunu Mg do spodních vrstev půdního profilu. Vysoká

rozpuštěnost a nižší vazebná síla v sorpčním komplexu mají za následek celkem vysokou mobilitu prvku a tedy i vysokou dostupnost pro rostliny (Gransee a Fühns, 2013).

Pro výživu rostlin je důležité množství Mg^{2+} iontů vázaných v sorpčním komplexu, kdy Mg by měl zaujímat další pozici v procentním zastoupení hned za vápníkem (10 - 15 % KVK). Dostatek sorbovaného Ca zajišťuje i dostatek Mg v půdním roztoku při jeho odčerpání. Optimální množství Mg v půdním roztoku je v rozmezí 10 - 20 mg/kg (Vaněk et al., 2012).

3.6.3.2 Charakteristika hořčíku v rostlině

Rostliny přijímají Mg ve formě Mg^{2+} iontů, zejména pasivně. Mobilita Mg je omezována nízkou hodnotou pH v podobě vyšší koncentrace H^+ , ale také díky kationtům, které jsou díky nízké hodnotě pH uvolňovány (např. Fe, Al, Mn). Dostupnost Mg rostlinám lze zajistit vápněním. Antagonisticky na Mg působí Ca^{2+} , K^+ , NH_4^+ , mikroprvky Mn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , synergicky NO_3^- . Hořčík je v rostlině celkem dobře mobilní, může se přesouvat z jednotlivých orgánů do dalších. Hořčík je rovnoměrně přijímán v průběhu vegetace (Černý et al., 2012).

Nedostatek hořčíku má za následek především přerušování transportu látek v těle rostliny a zpomalení růstu kořenů rostlin. S poškozením růstu následně souvisí i nedostatečný příjem ostatních živin a vody (Černý et al., 2012). Třetím nejčastějším jevem je snížení tvorby chlorofylu, které se projeví chlorózami (Černý et al., 2012; Gransee a Fühns, 2012). Nadbytek hořčíku je jako u Ca výjimečným jevem (Vaněk et al., 2012).

3.6.4 Síra

Síra patří mezi prvky s největším zastoupením na Zemi. Síra je, také jako většina výše zmiňovaných prvků, součástí mnoha minerálů a nerostů. V přírodě se vyskytuje nejčastěji v oxidovatelné formě jako sádrovec, v redukovatelné formě jako sulfid (pyrit) (Tlustoš et al., 2011). Je součástí fosilních paliv, kdy se jejich spalováním dostává do životního prostředí ve formě oxidu siřičitého a v kontaktu s vodou se mění až na agresivní kyselinu sírovou. Do roku 1990, před masivním odsířením elektráren, atmosférické depozice zajišťovaly vstup přibližně 120 kg S/ha/rok, v roce 1998 to bylo již jen 15 kg S/ha/rok. Vstupy S do půdy se tedy více než osminásobně snížily (Kulhánek et al., 2011).

Síra je biogenním prvkem, v rostlinném aparátu je součástí mnoha enzymů, koenzymů, tvoří sekundární metabolity u rostlin. Řadíme ji do skupiny fytochelatinů, látek tvořících komplexy s dalšími látkami, které pomáhají s detoxikací organismu, zejména od těžkých kovů (Cd, Zn, Cu) (Marschner, 1995).

3.6.4.1 Charakteristika síry v půdě

Síra se nachází v půdě v širokých koncentracích od 50 do 500 mg/kg v organické i anorganické podobě, přičemž organická forma většinou převažuje (okolo 90 %). Organická forma se dělí na síru v podobě esterů (S není vázána na uhlík), které jsou mineralizovány na SO_4^{2-} a na síru vázanou přímo na uhlík, mezi kterou patří zejména aminokyseliny (methionin, cystein) (Kulhánek et al., 2011).

V anorganické podobě se vyskytuje ve formě síranů, siřičitanů, sulfidů. V dobře aeroxovaných půdách se nejčastěji vyskytují sírany, které se mohou v půdách objevovat ve vodorozpustných formách jako soli, dále jako sírany adsorbované na půdní koloidy (výměnné) a sírany nerozpustné (fixované). Sírany v půdním roztoku jsou v rovnováze se sírany v pevné fázi, které jsou sorbovány na Fe, Al oxidy (Kulhánek et al., 2011).

Síra se v půdě špatně sorbuje na půdní koloidy, často je z půdy vyplavována a s ní i další podstatné kationty. Spadem z ovzduší se v současnosti dostává do půdy méně než 10 kg S/ha/rok, proto již musí být řešena otázka dodání síry do půdy (Vaněk et al., 2012). Výzkumy Balíka et al. (2009) dokázaly pokles anorganických forem S v posledních třiceti letech. Nejvýraznější úbytek nastal u vodorozpustné formy, až o 68 %, sorbovaná forma klesla zhruba o 44 %.

3.6.4.2 Charakteristika síry v rostlině

Síra je rostlinou přijímána zejména jako aniont SO_4^{2-} . Sušina rostlin obsahuje zhruba 0,1 – 0,5% S (Vaněk et al., 2012). Příjem síry není téměř ovlivňován ostatními prvky a půdními vlastnostmi, záleží jen na vlastní koncentraci prvku. V případě nedostatku SO_4^{2-} jsou rostliny schopny využívat i SO_2 z ovzduší v malém množství, kdy oxid siřičitý vstupuje do rostlin průduchy. Síra je v rostlině poměrně dobře mobilní, transportována zejména do mladých částí rostliny. V rostlině se hromadí ve formě síranu, podle potřeby ho redukuje na sulfan a zabudovávají do organických sloučenin (Mengel a Kirkby, 2001).

Nedostatek síry se v rostlině projeví omezením syntézy bílkovin, včetně enzymů. Vizually se projevuje žloutnutím nejmladších listů. Nadbytek síranů se vyskytuje výjimečně,

protože rostliny jsou schopny kumulovat sírany bez větších škod. Nedostatek S nebyl do poslední doby žádným problémem z důvodu dostatečného spadu S z ovzduší, nyní po dostatečném odsíření se do půdy dostávají již minimální koncentrace a je třeba řešit náhradní zdroje pro výživu rostlin (Vaněk et al., 2012).

4 Materiál a metodika

4.1 Hydroponický pokus se *Salix x smithiana*

4.1.1 Podstata hydroponie

Hydroponie představuje pěstování rostlin bez půdního substrátu, pouze ve vodných roztocích, které po přidání potřebných živin označujeme za živné roztoky. V současnosti se uplatňuje v pokusnické i praktické sféře. V praxi hlavně v oblastech velkopěstování, kdy nám řízená hydroponie umožňuje dodržet přesně stanovené podmínky a také v případě, kdy nám poskytované půdy nenabízejí vhodné podmínky k růstu (suché, písčité nebo zasolené půdy). Druhou důležitou oblastí je využití hydroponie v experimentální praxi, kdy chceme sledovat pouze pohyb živin bez dalších vlivů, které by nám půda přinesla (vliv organické hmoty atd.). Hydroponie nám umožňuje dodržet definované pokusné podmínky (Jones, 2005; Resh, 2013; Vaněk et al., 2012).

Hydroponie má však i řadu nevýhod. Selhání technických podmínek (např. poruchy vzdušnicích zařízení) a vyšší náchylnost k chorobám a škůdcům často doprovázejí pokusy. Hlavní nevýhodou hydroponie však zůstává absence půdních vlastností (humusové látky, mikroorganismy), které v běžných podmínkách nastávají a tím obtížná převeditelnost do běžné praxe (Jones, 2005; Resh, 2013; Vaněk et al., 2012).

Hydroponie se dle podmínek dělí na bezsubstrátovou a substrátovou s otevřeným (dávkovacím) nebo uzavřeným (zásobním) oběhem živného roztoku (Vaněk et al., 2012). V našem pokusu byla použita bezsubstrátová hydroponie s uzavřeným oběhem živného roztoku.

4.1.2 Vrba Smithova (*Salix x smithiana*)

Vrba Smithova patří k nejrozšířenějším druhům vrb v České republice. Vznikla samovolným křížením vrby jívy (*Salix caprea* L.) s vrbou košíkářskou (*Salix viminalis* L.) (Tlustoš et al., 2007). Patří mezi rychle rostoucí dřeviny s nadměrnou tvorbou biomasy, často se využívá jako energetická plodina (Stražil a Šimon, 2009, Váňa, 2004). Je známá pro svou schopnost akumulovat rizikové prvky (zejména Zn a Cd) v biomase, jak již bylo popsáno v mnoha pracích (Fischerová et al., 2005; Jaklová Dyrťová et al., 2007; Mališová et al., 2010; Puschenreiter et al., 2013; Tlustoš et al., 2007), proto se hojně využívá k fytoremediacím.

Rostliny zatížené rizikovými prvky se následně využívají k energetickým účelům (spalování) (Kratochvílová, 2009). Popel ze spalování biomasy pak může být zdrojem makro i mikroprvků pro zemědělskou půdu. Při ukládání popela na zemědělskou půdu musíme opět sledovat hodnoty rizikových prvků, které nesmějí překročit hodnoty stanovené ve vyhlášce č. 271/2009 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva, dle zákona č. 156/1998 Sb., o hnojivech.

Vrba Smithova je často napadána lesní zvěří a postihována okusem, zejména vysokou zvěří (Váňa, 2004), které mohou ohrozit využití vrb. Na základě tohoto faktu byla *Salix x smithiana* vybrána k následujícímu pokusu jako vhodný objekt. Vrba Smithova (*Salix x smithiana*) použitá v našem pokusu byla klonem S-150, získaným z Výzkumného ústavu Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví Praha, v. v. i. (VÚKOZ).

4.1.3 Založení pokusu

Dne 9. 10. 2012 byl ve sklenících Katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin FAPPZ ČZU Praha založen hydroponický pokus s řízků vrby Smithovy (*Salix x smithiana*), optimálními koncentracemi makro i mikroživin a přidávkem různých koncentrací repelentu denatonium benzoát. Cílem tohoto experimentu bylo zjistit, zdali příslušná koncentrace repelentu ovlivní příjem živin odebíraných rostlinou z hydroponického roztoku.

K hydroponickému pokusu bylo stanoveno 20 nádob. Do každé nádoby bylo odměřeno 1,5 L roztoku. Roztok se skládal z demineralizované vody a koncentrací prvků odvozených z hnojiva Kristalon. 10 L roztoku obsahovalo: 0,788 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 4,6588g NH_4NO_3 , 1,1468 g KH_2PO_4 , 1,1826 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,0143g H_3BO_3 , 0,0036 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,0008 g $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, 0,0061 g ZnSO_4 , 0,0126 g $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 2,1502g KCl , 0,0358 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Do takto připravených roztoků byly vloženy řízků vrb (*Salix x smithiana*) spolu se vzdušnicím systémem. Kořenová část byla zatemněna pomocí aluminiové fólie. Každý týden byla provedena senzorická kontrola, zejména funkčnosti vzdušnění a každých čtrnáct dní proběhly odběry vzorků včetně zjištění změny pH a zasolení (vodivosti). V případě poklesu objemu roztoku pod 1,5 L byla vždy doplněna demineralizovaná voda.

4.1.4 Přídavek repelentu

Dne 23. 10. 2012, po čtrnáctidenní době ponechání řízků k ustálení v živném roztoku, byly k hydroponii již přidány jednotlivé koncentrace repelentu.

Z krystalické látky denatonium benzoát (> 98%, Sigma-Aldrich) o molekulové hmotnosti 446,581 g/mol a demineralizované vody byl připraven zásobní roztok o objemové hmotnosti 10 g/L (pH = 7,1). Jelikož Bitrex je látka rozpustná ve vodě, nebylo třeba kromě vody žádných organických rozpouštědel.

K pokusu bylo stanoveno pět koncentrací repelentu denatonium benzoát (0 mg/L, 10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L) ve čtyřech opakováních (A, B, C, D), schéma pokusu je znázorněno v tabulce 3.

Tab. 3 Schéma rozložení variant pokusu s jednotlivými koncentracemi denatonium benzoátu

| | | | | |
|------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| 1A V = 0 ml c = 0 mg/L | 2A V = 1,5 ml c = 10 mg/L | 3A V = 7,5 ml c = 50 mg/L | 4A V = 15 ml c = 100 mg/L | 5A V = 22,5 ml c = 150 mg/L |
| 1B V = 0 ml c = 0 mg/L | 2B V = 1,5 ml c = 10 mg/L | 3B V = 7,5 ml c = 50 mg/L | 4B V = 15 ml c = 100 mg/L | 5B V = 22,5 ml c = 150 mg/L |
| 1C V = 0 ml c = 0 mg/L | 2C V = 1,5 ml c = 10 mg/L | 3C V = 7,5 ml c = 50 mg/L | 4C V = 15 ml c = 100 mg/L | 5C V = 22,5 ml c = 150 mg/L |
| 1D V = 0 ml c = 0 mg/L | 2D V = 1,5 ml c = 10 mg/L | 3D V = 7,5 ml c = 50 mg/L | 4D V = 15 ml c = 100 mg/L | 5D V = 22,5 ml c = 150 mg/L |

4.1.5 Jednotlivé odběry

Dne 31. 10. 2012 byl proveden 1. odběr vzorků, následovalo dalších 5 pět odběrů po 14-ti denních intervalech. Z každé nádoby bylo vždy odebráno pipetou 10 ml roztoku do uzavíratelných zkumavek a uloženo do lednic k dalším analýzám. Současně byla vždy pH metrem (WTW pH 340i meter, WTW, Německo) změřena hodnota pH a vodivosti ke zjištění teoretických odběrů živin vrbami.

Hodnota pH se během pokusné doby pohybovala v hodnotách okolo 7, v posledních dvou odběrech klesla k hodnotám nad 5,5. Pokles hodnoty pH byl přisuzován vyššímu odběru živin v poslední fázi pokusu. Vodivost postupně klesala s jednotlivými odběry, bylo tedy usuzováno v konstantní odběr živin rostlinami.

Dne 23. 1. 2013, po tříměsíčním odebrání vzorků z roztoků, byl pokus ukončen

a vzorky z jednotlivých odběrů byly poslány k laboratorním analýzám. Stanoveno bylo celkem 7 prvků (P, S, Fe, Cu, B, Mn, Zn). Jednotlivé analýzy byly provedeny pomocí atomového emisního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem (ICP- OES - Varian, VistaPro, Austrálie) v laboratoři Katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin ČZU Praha.

4.2 Půdní sorpční experiment

V souvislosti s otázkou příjmu živin rostlinami po přídatné aplikaci repelentu vystává i další otázka, jak se bude repelent chovat v půdě, zdali přídatné koncentrace neomezí mobilitu živin v půdě a následně dostupnost pro rostliny.

Na základě této otázky byl proveden modelový sorpční experiment se dvěma typy půd: černozemí a fluvizemí a přidáním 2 typů repelentních látek: denatonium benzoátu a kapsaicinu.

4.2.1 Klasifikace půd

Černozem i fluvizem užitá k našemu sorpčnímu pokusu byla již klasifikována Pupíkovou et al. (2012).

4.2.1.1 Černozem

Použitá černozem k našemu pokusu pocházela z oblasti Suchdola (Praha) a byla klasifikována jako nekontaminovaná, hodnoty rizikových prvků byly v normě, viz následující tabulka 4:

Tab. 4 Obsahy rizikových prvků v černozemi (v mg/kg)

| Půda | Cd | Fe | Pb | Zn |
|----------|-------------|-----------|------|-------|
| Černozem | 0.686±0.072 | 25595±452 | 47±2 | 119±1 |

Pozn: Obsahy železa v půdě nejsou zatím nijak limitovány na rozdíl od zbývajících prvků.

Kationtová výměnná kapacita byla stanovena v hodnotě 255 mmol/kg (půda má vysokou sorpční schopnost) při pH 7,2. V zemině bylo obsaženo 2,3 % organického uhlíku C_{ox} .

4.2.1.2 Fluvizem

Fluvizem pocházela z obce Píšťany v okrese Litoměřice. Obec leží na řece Labi, na jejímž druhém břehu se nachází chemický podnik Lovochemie a.s. Lovosice, potenciální zdroj znečištění pro fluvizem.

Fluvizem použitá k našemu výzkumu byla Pupíkovou et al. (2012) klasifikována jako mírně kontaminovaná, rizikové prvky obsažené v půdě byly lehce nad normou dle vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 13/1994 Sb., o podrobnostech ochrany zemědělského půdního fondu, uvedené v příloze č. 1, viz tabulka 5:

Tab. 5 Obsah rizikových prvků ve fluvizemi (v mg/kg)

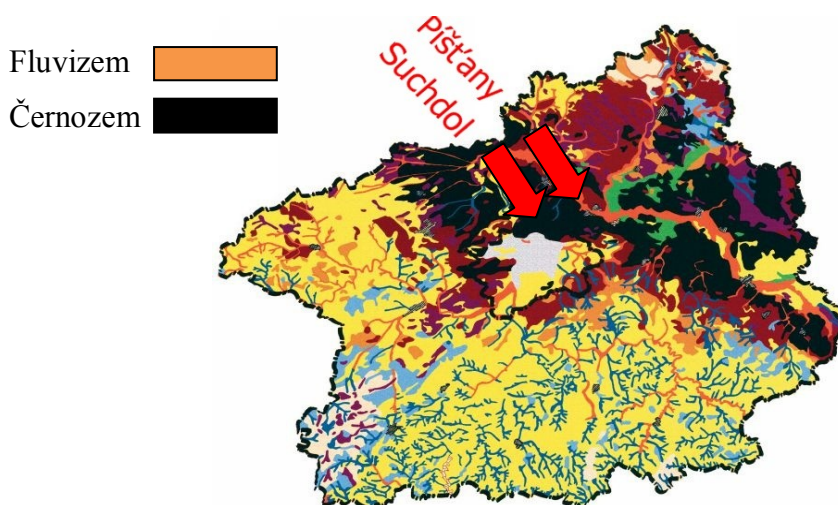
| Půda | Cd | Fe | Pb | Zn |
|----------|-----------|-----------|--------|-------|
| Fluvizem | 2.64±0.14 | 25906±714 | 106±10 | 268±6 |

Pozn: Vyhláška č. 13/1994 Sb. stanovuje maximální přípustné limity pro těžší půdní typy: Cd = 1 mg/kg, Pb = 70 mg/kg, Zn = 100 mg/kg.

Kationtová výměnná kapacita byla u fluvizemě detekována v hodnotě 201 mmol/kg (střední sorpční schopnost), půdní pH v hodnotě 6,8 s hodnotou celkového uhlíku C_{ox} 2,6 %.

Geografická poloha černoze a fluvizemě je znázorněna na Obr. 4.

Obr. 4 Zeměpisná poloha černoze a fluvizemě v rámci Středočeského kraje (www.priroda.kr-stredocesky.cz)



4.2.2 Založení sorpčního experimentu

Dne 13. 11. 2012 byl v laboratoři Katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin založen modelový sorpční experiment. Nejprve bylo do kulových centrifugačních kyvet na analytických vahách odváženo 0,5 g příslušné zeminy. Celkem bylo naváženo 84 nádobek. Poté byly stanoveny a připraveny příslušné koncentrace repelentů. Ze zásobního roztoku denatonium benzoátu o objemové hmotnosti 10 g/L bylo připraveno 6 roztoků o koncentraci 10 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L.

Z kapsaicinu (65% kapsaicin, 35% dihydrokapsaicin, Sigma-Aldrich) o molekulové hmotnosti 305,41 g/mol byl připraven roztok v maximální koncentraci jeho rozpustnosti 13 mg/L (pH = 6,95). Jelikož je krystalický kapsaicin maximálně rozpustný pouze v alkoholu a tucích, byl nejdříve rozpuštěn v malém množství etanolu a následně doplněn demineralizovanou na požadovanou objemovou hmotnost 13 mg/L. Ze zásobního roztoku bylo následně připraveno 6 roztoků o koncentraci 0,65 mg/L, 1,3 mg/L, 2,6 mg/L, 3,9 mg/L, 6,5 mg/L, 13 mg/L (hodnota zásobního roztoku).

K 0,5 g černozemě a fluvizemě byly následně přidány jednotlivé koncentrace denatonium benzoátu a kapsaicinu vždy v objemu 20 ml. Každá koncentrace v dané půdě byla provedena ve třech opakováních včetně kontroly (půda bez přídatku repelentu). Na závěr bylo ke každému vzorku přidáno 0,25 g KNO₃. Schéma pokusu je znázorněno v tabulkách 6 – 9.

Následně byly vzorky třepány po dobu 6-ti hodin na horizontální třepačce. Na závěr byly všechny vzorky odstředěny centrifugačním přístrojem značky Hettich Universal 30 RF (Německo) po dobu 10-ti minut a vzniklý supernatant byl uložen při 4 °C k dalším analýzám. Analýzy byly provedeny pomocí atomového emisního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem (ICP- OES - Varian, VistaPro, Austrálie).

Tab. 6 Schéma sorpčního pokusu černozemě s denatonium benzoátem (zkr. DB)

| | |
|--|---|
| 1. koncentrace (kontrola) ve 3 opakováních | 0,5 g černozemě + 20 ml demin. vody + 0,25 g KNO ₃ |
| 2. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g černozemě + 20 ml 10 mg/l DB + 0,25 g KNO ₃ |
| 3. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g černozemě + 20 ml 25 mg/l DB + 0,25 g KNO ₃ |
| 4. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g černozemě + 20 ml 50 mg/l DB + 0,25 g KNO ₃ |
| 5. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g černozemě + 20 ml 75 mg/l DB + 0,25 g KNO ₃ |
| 6. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g černozemě + 20 ml 100 mg/l DB + 0,25 g KNO ₃ |
| 7. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g černozemě + 20 ml 150 mg/l DB + 0,25 g KNO ₃ |

Tab. 7 Schéma sorpčního pokusu fluvizemě s denatonium benzoátem (zkr. DB)

| | |
|--|---|
| 1. koncentrace (kontrola) ve 3 opakováních | 0,5 g fluvizemě + 20 ml demin. vody + 0,25 g KNO ₃ |
| 2. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g fluvizemě + 20 ml 10 mg/l DB+ 0,25 g KNO ₃ |
| 3. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g fluvizemě + 20 ml 25 mg/l DB + 0,25 g KNO ₃ |
| 4. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g fluvizemě + 20 ml 50 mg/l DB+ 0,25 g KNO ₃ |
| 5. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g fluvizemě + 20 ml 75 mg/l DB+ 0,25 g KNO ₃ |
| 6. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g fluvizemě + 20 ml 100 mg/l DB+ 0,25 g KNO ₃ |
| 7. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g fluvizemě + 20 ml 150 mg/l DB+ 0,25 g KNO ₃ |

Tab. 8 Schéma sorpčního pokusu černozemě s kapsaicinem (zkr. K)

| | |
|--|---|
| 1. koncentrace (kontrola) ve 3 opakováních | 0,5 g černozemě + 20 ml demin. vody + 0,25 g KNO ₃ |
| 2. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g černozemě + 20 ml 0,65 mg/l K + 0,25 g KNO ₃ |
| 3. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g černozemě + 20 ml 1,3 mg/l K + 0,25 g KNO ₃ |
| 4. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g černozemě + 20 ml 2,6 mg/l K + 0,25 g KNO ₃ |
| 5. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g černozemě + 20 ml 3,9 mg/l K + 0,25 g KNO ₃ |
| 6. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g černozemě + 20 ml 6,5 mg/l K + 0,25 g KNO ₃ |
| 7. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g černozemě + 20 ml 13 mg/l K + 0,25 g KNO ₃ |

Tab. 9 Schéma sorpčního pokusu fluvizemě s kapsaicinem (zkr. K)

| | |
|--|---|
| 1. koncentrace (kontrola) ve 3 opakováních | 0,5 g fluvizemě + 20 ml demin. vody + 0,25 g KNO ₃ |
| 2. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g fluvizemě + 20 ml 0,65 mg/l K + 0,25 g KNO ₃ |
| 3. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g fluvizemě + 20 ml 1,3 mg/l K + 0,25 g KNO ₃ |
| 4. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g fluvizemě + 20 ml 2,6 mg/l K. + 0,25 g KNO ₃ |
| 5. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g fluvizemě + 20 ml 3,9 mg/l K + 0,25 g KNO ₃ |
| 6. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g fluvizemě + 20 ml 6,5 mg/l K + 0,25 g KNO ₃ |
| 7. koncentrace ve 3 opakováních | 0,5 g fluvizemě + 20 ml 13 mg/l K + 0,25 g KNO ₃ |

4.3 Modelový pokus s DGT

Dne 3. 12. 2012 byl v laboratořích Katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin ČZU Praha proveden experiment pomocí techniky DGT „Diffusive gradient in thin film“ ke stanovení potenciálních koncentrací prvků přijatelných kořeny rostlin po přidání jednotlivých koncentrací repelentů.

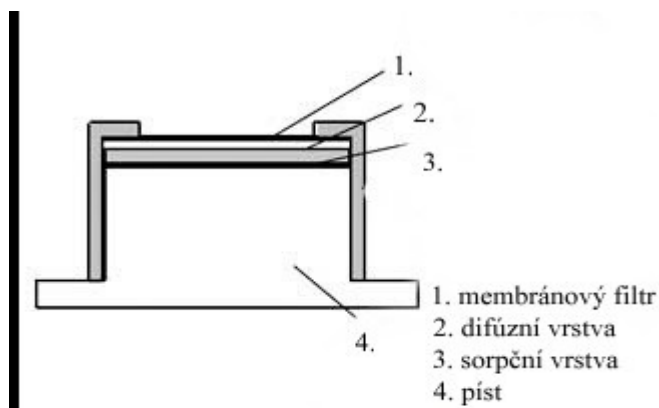
Ke stanovení bylo užito stejných zemin jako u sorpčních experimentů s přidavkem obou repelentů, denatonium benzoátu i kapsaicinu.

4.3.1 Podstata DGT

V roce 1994 byla anglickými vědci Williamem Davisonem a paní Hao Zhang popsána nová technika detekce prvků „Diffusive Gradient in Thin Film“ (DGT), která umožňuje měření hmotnostních toků látek *in situ* ve vodách, sedimentech a půdách. Princip techniky spočívá v kinetické separaci specií prvků z roztoku a jejich kumulaci v sorpčním médiu (Degryse et al., 2009; Řezáčová-Smetková et al., 2005).

Jednotky DGT se skládají ze 2 typů polyakrylamidových gelů (APA gely), sorpčního a difúzního gelu a membránového filtru. Do styku s vnějším prostředím přichází difúzní permeabilní hydrogel, který překrývá vrstvu sorpčního hydrogelu. Difúzní hydrogel obsahuje až 95 % vody, jímž simuluje přirozené prostředí. Membránový filtr chrání difúzní gel před mechanickým poškozením. Všechny součásti jsou ukryty v plastové vzorkovací jednotce ve tvaru pístu (Diviš et al., 2005). Průřez jednotlivými vrstvami jednotky je zobrazen na Obr. 5.

Obr. 5 Schéma rozmístění jednotlivých vrstev v DGT jednotce (www.dgtresearch.com)



Po ponoření jednotky DGT do měřeného média difundují ionty přes předem definovanou vrstvu difúzního gelu k sorpčnímu gelu, kde jsou zachyceny. Ionty prošlé difúzní vrstvou jsou na povrchu iontoměniče imobilizovány na funkčních skupinách, do té doby, než je médium nasyceno. Nejčastěji používaným sorpčním médiem pro stanovení kovů je chelatující iontoměnič Chelex[®]-100 s vázanými skupinami kyseliny iminodioctové. V difúzním gelu se ustaví lineární koncentrační gradient, pokud je po celou dobu konstantní, lze vypočítat tok analytu podle 1. Fickova zákona difuze: $F = M/(A \times t)$, kde M je množství kovu vázaného na iontoměnič, A je plocha exponovaného difúzního gelu za čas t (Degryse et al., 2009; Diviš et al., 2005).

Průchod jednotlivých specií prvků je možné regulovat tloušťkou difúzní vrstvy, která simuluje funkci kořenových systémů rostlin. Rozdílná tloušťka má za následek ustanovení rozdílných koncentračních gradientů. Větší tloušťka gelu vytváří mírnější koncentrační gradient, půdní systém tak lépe vyrovnává nedostatek iontů než v případě strmějšího gradientu (Degryse et al., 2009; Řezáčová-Smetková et al., 2005). Větší tloušťka prodlužuje dobu difuze a umožňuje tak disociaci i kineticky stabilnějšími komplexům. Při tvorbě difúzního gelu je možné měnit i velikost pórů a tím také průchod jednotlivých specií prvků dle velikosti komplexů. Charakter měřených látek je možné měnit zvolením vhodného iontoměniče sorpčního gelu s rozdílnou sorpční afinitou. Doba expozice lze upravit kapacitou a selektivitou sorpčního média, kdy selektivní sorpční gely prodlužují expoziční dobu až mnohonásobně (Degryse et al., 2009; Diviš et al., 2005)

Výhodou použití techniky DGT je možnost měření i stopových koncentrací prvků díky schopnosti koncentrace. Sorpce na selektivní sorpční médium navíc umožňuje oddělit požadované prvky od půdní matrice, která mnohdy v analýzách působí komplikace. Při delší době expozice však dochází ke kumulaci většího množství prvku a tím ke snížení detekčního limitu měření. Technika DGT je proto vhodná zejména pro měření stopových a ultrastopových koncentrací labilních kovových specií (Diviš et al., 2005).

4.3.2 DGT jednotky

DGT jednotky (DGT REsearch Ltd., Lancaster, Velká Británie) byly sestaveny z difúzního gelu (0,8 mm), uloženého v 0,1 mol/L roztoku NaCl a sorpčního gelu Chelex[®]-100 (0,4 mm), uloženého demineralizované vodě Millipore[®]. Membránový filtr Tuffryn[®] (25 mm, 0,45 μm, Pall Corporation).

4.3.3 Založení DGT pokusu

4.3.3.1 Zkouška vodní kapacity

Nejdříve byla provedena zkouška vodní kapacity u jednotlivých zemin. Bylo naváženo 10 g černozemě a zalito 10-ti ml demineralizované vody. Přes zeminu protéklo 1,4 ml, to znamená, že půda sorbovala 8,6 ml demineralizované H₂O. K 10 g fluvizemě bylo nejdříve přidáno 10 ml demineralizované H₂O, ovšem žádná voda neodtekla do odměrného válce, půda všechnu vodu sorbovala. Byla tedy provedena nová zkouška o objemu vody 20 ml, kdy již protéklo do odměrného válce 7,7 ml, to znamená, že půda ve výsledku sorbovala 12,3 ml demineralizované vody.

4.3.3.2 Založení jednotlivých variant

K vytvoření homogenizované směsi bylo vždy naváženo 10 g příslušné zeminy (černozemě, fluvizemě). Celkem bylo vytvořeno 7 koncentrací (včetně kontroly) pro každý repelent zvlášť vždy ve 2 opakováních, celkem bylo tedy připraveno 56 homogenizovaných směsí.

Pro oba repelenty byly vytvořeny stejné koncentrace jako u sorpčního pokusu, pro denatonium benzoát v hodnotách 10 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L, pro kapsaicin v hodnotách 0,65 mg/L, 1,3 mg/L, 2,6 mg/L, 3,9 mg/L, 6,5 mg/L, 13 mg/L. K 10 g příslušné zeminy byl vždy dodán takový objem roztoku, který korespondoval s výsledky zkoušky vodní kapacity (8,6 ml pro černozem, 12,3 ml pro fluvizem). Přidané objemy repelentů pocházely vždy ze zásobních roztoků (denatonium benzoát – 10 g/L, kapsaicin – 13 mg/L). Založení jednotlivých variant pokusu je znázorněno v tabulkách 10 – 13.

Tab. 10 Schéma DGT pokusu černoze země s denatonium benzoátem (zkr. DB)

| | |
|--------------------------------------|--|
| 1. konc. (kontrola) ve 2 opakováních | 10 g černoze země + 8,6 ml demineralizované vody |
| 2. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g černoze země + 0,4 ml DB + 8,2 ml demineral. vody |
| 3. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g černoze země + 1 ml DB + 7,6 ml demineral. vody |
| 4. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g černoze země + 2,25 ml DB + 6,35 ml demineral. vody |
| 5. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g černoze země + 3 ml DB + 5,6 ml demineral. vody |
| 6. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g černoze země + 4,5 ml DB + 4,1 ml demineraliz. vody |
| 7. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g černoze země + 6 ml DB + 2,6 ml demineraliz. vody |

Tab. 11 Schéma DGT pokusu fluvize země s denatonium benzoátem (zkr. DB)

| | |
|--------------------------------------|---|
| 1. konc. (kontrola) ve 2 opakováních | 10 g fluvize země + 12,3 ml demineralizované vody |
| 2. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g fluvize země + 0,4 ml DB + 11,9 ml demineral. vody |
| 3. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g fluvize země + 1 ml DB + 11,3 ml demineral. vody |
| 4. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g fluvize země + 2,25 ml DB + 10,05 ml demineral. vody |
| 5. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g fluvize země + 3 ml DB + 9,3 ml demineral. vody |
| 6. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g fluvize země + 4,5 ml DB + 7,8 ml demineral. vody |
| 7. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g fluvize země + 6 ml DB + 6,3 ml demineral. vody |

Tab. 12 Schéma DGT pokusu černoze země s kapsaicinem (zkr. K)

| | |
|--------------------------------------|---|
| 1. konc. (kontrola) ve 2 opakováních | 10 g černoze země + 8,6 ml demineralizované vody |
| 2. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g černoze země + 0,43 ml K + 8,17 ml demineral. vody |
| 3. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g černoze země + 0,86 ml K + 7,74 ml demineral. vody |
| 4. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g černoze země + 1,72 ml K + 6,88 ml demineral. vody |
| 5. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g černoze země + 2,58 ml K + 6,02 ml demineral. vody |
| 6. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g černoze země + 4,3 ml K + 4,3 ml demineraliz. vody |
| 7. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g černoze země + 8,6 ml K |

Tab. 13 Schéma DGT pokusu fluvize země s kapsaicinem (zkr. K)

| | |
|--------------------------------------|--|
| 1. konc. (kontrola) ve 2 opakováních | 10 g fluvize země + 12,3 ml demineral. vody |
| 2. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g fluvize země + 0,43 ml K + 11,87 ml demineral. vody |
| 3. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g fluvize země + 0,86 ml K + 11,44 ml demineral. vody |
| 4. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g fluvize země + 1,72 ml K + 10,58 ml demineral. vody |
| 5. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g fluvize země + 2,58 ml K + 9,72 ml demineral. vody |
| 6. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g fluvize země + 4,3 ml K + 8 ml demineral. vody |
| 7. koncentrace ve 2 opakováních | 10 g fluvize země + 12 ml K |

Připravené směsi byly následně převedeny do DGT jednotek a ponechány k expozici v uzavřeném boxu po 24 hodin při teplotě 24 ± 5 °C. Poté byly jednotlivé jednotky rozebrány, sorpční gely separovány a uloženy do mikrozkušavek Eppendorf® a zality 1 ml 2 mol/L HNO₃ po dobu 48 hodin při teplotě 4°C. Na závěr byl výluh 3krát zředěn (vždy 0,8 ml výluhu a 2,4 ml demineralizované H₂O) a zaslán k analýzám pomocí hmotnostního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS – Agilent, USA) ke zjištění celkových obsahů prvků v jednotce DGT.

4.3.3.3 Výpočet biodostupných koncentrací prvků

Dostupné koncentrace prvků C (μg/L) jsou podle Zhanga et al. (1998) vypočítány dle následujícího vzorce:

$$C = M\Delta g/DtA.$$

Mhmotnost prvku sorbovaného na sorpční médium (μg)

Δgtloušťka difúzní vrstvy (cm), pro naše stanovení 0,093 cm

Ddifúzní koeficient pro kovy v gelu v cm/s, dostupné na stránkách www.dgtresearch.com

tdoba expozice DGT jednotek (s)

Aobsah exponované plochy (cm²), pro naše stanovení 3,14 cm²

Hmotnost sorbovaného prvku M Zhang et al. (1998) vypočetli dle vzorce:

$$M = C_e(V_g + V_e)/f_e$$

C_ekoncentrace prvku louhovaná v 2 mol/L HNO₃ a naměřená pomocí ICP-MS (μg/L)

V_gobjem výluhového gelu (L), pro naše stanovení 0,15 ml

V_eobjem výluhového činidla (L), pro naše stanovení 1 ml

f_evýluhový faktor pro daný prvek a výluhové činidlo (pro 2 mol/L HNO₃ = 0,8)

5 Výsledky

5.1 Hydroponický pokus

Atomovým emisním spektrometrem s indukčně vázaným plazmatem byly stanoveny koncentrace 7 prvků (P, S, Fe, Cu, B, Mn, Zn) z jednotlivých šesti odběrů hydroponického roztoku v intervalu 14-ti dnů. Průměrné koncentrace prvků byly statisticky a graficky zpracovány v grafech 1 - 7. V programu Microsoft Excel 2007 a v programu Statistica, verze 12 (Statsoft[®], USA) byla pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu ANOVA testována hypotéza o shodě průměrů jednotlivých koncentrací prvků mezi jednotlivými koncentracemi denatonium benzoátu. Testování proběhlo při hodnotě hladiny významnosti $\alpha = 0,05$.

Princip metody jednofaktorová ANOVA spočívá ve výpočtu jednotlivých středních hodnot pro daný prvek, které jsou následně převedeny na 2 rozptyly pomocí F-testu, a to na rozptyl uvnitř výběrů F_{krit} , který je způsoben přirozenou variabilitou a rozptyl mezi výběry F, který je také způsoben přirozenou variabilitou spolu s působením daného faktoru (v našem případě repelentu). Metoda vychází z faktu, že náhodné vlivy působí stejně uvnitř skupin jako mezi skupinami. Jejich poměr potvrzuje či zamítá nulovou hypotézu (přijímá alternativní hypotézu) (Miller, 1997).

5.1.1 Fosfor

K hodnocení středních hodnot P byla stanovena nulová hypotéza:

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$, kde μ_1 až μ_5 představovaly střední hodnoty koncentrací

P v jednotlivých odběrech pokusu s přidavkem denatonium benzoátu v pěti koncentracích (0 mg/L, 10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L). Byla testována nulová hypotéza, že střední hodnoty P jsou si rovné ve všech koncentracích repelentu, neexistuje rozdíl mezi středními hodnotami prvku jednotlivých koncentrací repelentu.

Nejdříve byl vypočten rozptyl koncentrací P pro jednotlivé koncentrace repelentu. Výsledné hodnoty jsou zobrazeny v následující tabulce (v mg/L):

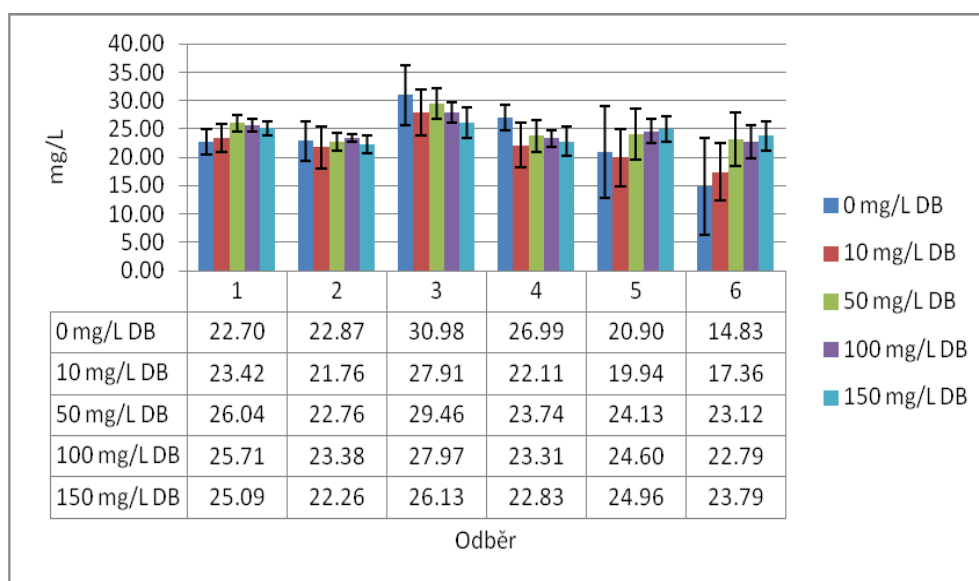
| Výběř | Počet | Součet | Průměr | Rozptyl |
|----------|-------|--------|--------|---------|
| 0 mg/L | 6 | 139,26 | 23,21 | 30,14 |
| 10 mg/L | 6 | 132,49 | 22,08 | 12,56 |
| 50 mg/L | 6 | 149,27 | 24,88 | 6,36 |
| 100 mg/L | 6 | 147,75 | 24,62 | 3,81 |
| 150 mg/L | 6 | 145,05 | 24,18 | 2,18 |

Rozptyl F mezi jednotlivými výběry vyšel v hodnotě 0,72, rozptyl F_{krit} uvnitř výběrů v hodnotě 2,76, tedy $F < F_{krit}$. Nulová hypotéza H_0 byla přijata, bylo statisticky prokázáno, že ani jedna ze středních hodnot (průměrů) se nelišila, tedy dané koncentrace denatonium benzoátu neovlivňují koncentraci P ($p > 0,05$, $p = 0,59$). Daný faktor (repelent) neměl vliv na zkoumané vzorky. Průměrné koncentrace P v jednotlivých odběrech při rozličných koncentracích denatonium benzoátu jsou zobrazeny v grafu 1.

| Zdroj variability | SS | Rozdíl | MS | F | Hodnota P | F krit |
|-------------------|--------|--------|-------|------|-----------|--------|
| Mezi výběry | 31,69 | 4,00 | 7,92 | 0,72 | 0,59 | 2,76 |
| Všechny výběry | 275,21 | 25,00 | 11,01 | | | |
| Celkem | 306,90 | 29,00 | | | | |

Průměrné koncentrace P se pohybovaly v hodnotách okolo 25 mg/L, jak je vidět z grafu 1, během celé pokusné doby nedocházelo k rapidním úbytkům fosforu. Ve 3. odběru byly viditelné zvýšené hodnoty P ve všech variantách pokusu, které můžeme přisuzovat zpětnému dodání P do půdního roztoku vzhledem k tomu, že P je velice mobilní prvek.

Graf. 1 Průměrné koncentrace P v hydroponii s přidavkem denatonium benzoátu



5.1.2 Síra

K hodnocení středních hodnot S byla stanovena nulová hypotéza:

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$, kde μ_1 až μ_5 představovaly střední hodnoty koncentrací

S v jednotlivých odběrech pokusu s přidavkem denatonium benzoátu v pěti koncentracích (0 mg/L, 10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L). Byla testována nulová hypotéza, že střední hodnoty S jsou si rovné ve všech koncentracích repelentu, neexistuje rozdíl mezi středními hodnotami prvku jednotlivých koncentrací repelentu.

Nejdříve byl vypočítán rozptyl koncentrací S pro jednotlivé koncentrace repelentu. Výsledné hodnoty jsou zobrazeny v následující tabulce (v mg/L):

| Výběr | Počet | Součet | Průměr | Rozptyl |
|----------|-------|--------|--------|---------|
| 0 mg/L | 6 | 55,46 | 9,24 | 2,70 |
| 10 mg/L | 6 | 59,04 | 9,84 | 2,56 |
| 50 mg/L | 6 | 41,88 | 6,98 | 1,95 |
| 100 mg/L | 6 | 60,36 | 10,06 | 2,31 |
| 150 mg/L | 6 | 67,75 | 11,29 | 2,85 |

Rozptyl F mezi jednotlivými výběry vyšel v hodnotě 6,10, rozptyl F_{krit} uvnitř výběrů v hodnotě 2,76, tedy $F > F_{krit}$. Nulová hypotéza H_0 byla zamítnuta, bylo statisticky prokázáno, že se lišily alespoň 2 hodnoty průměrů mezi jednotlivými koncentracemi, tedy existuje rozdíl minimálně mezi dvěma středními hodnotami prvků jednotlivých koncentrací denatonium benzoátu ($p < 0,05$, $p = 0$). Daný faktor (repelent) měl vliv na zkoumané vzorky. Průměrné koncentrace S v jednotlivých odběrech při rozličných koncentracích denatonium benzoátu jsou zobrazeny v grafu 2.

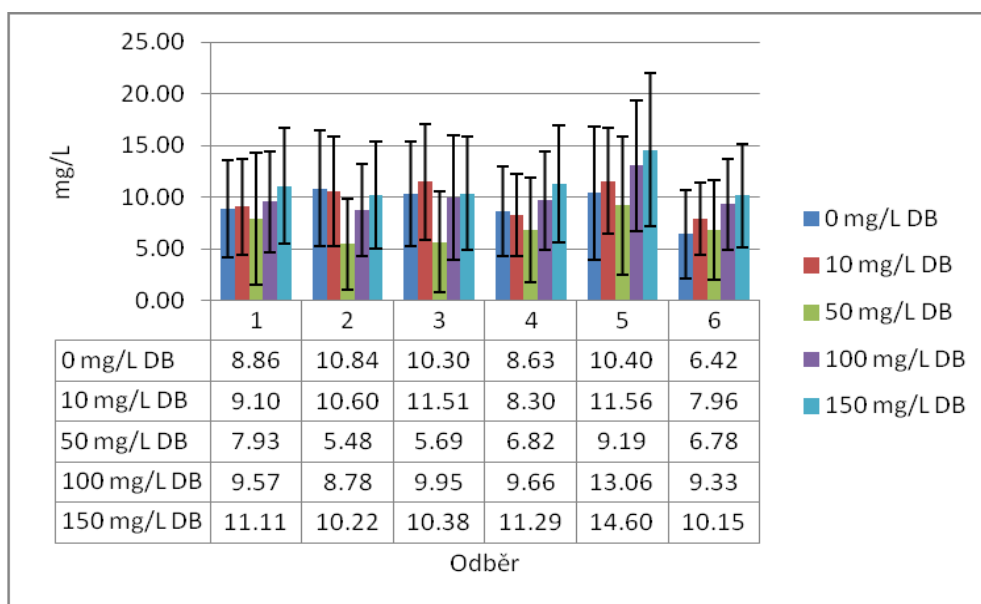
| Zdroj variability | SS | Rozdíl | MS | F | Hodnota P | F krit |
|-------------------|--------|--------|-------|------|-----------|--------|
| Mezi výběry | 60,34 | 4,00 | 15,09 | 6,10 | 0,00 | 2,76 |
| Všechny výběry | 61,81 | 25,00 | 2,47 | | | |
| Celkem | 122,16 | 29,00 | | | | |

Vzhledem ke zjištění statistické významnosti při $p < 0,05$ byly mezi sebou porovnávány průměry jednotlivých koncentrací ke zjištění významných rozdílů. Bližší analýza byla provedena pomocí dvouvýběrového t-testu s rovností rozptylů v programu Microsoft Excel 2007. Bylo provedeno celkem 10 testování mezi jednotlivými hodnotami koncentrací. V případě, že mezi jednotlivými koncentracemi byla stanovena $p < 0,05$, došlo

ke statisticky významnému rozdílu mezi dvěma skupinami, tzn., že mezi těmito koncentracemi vznikla spojitost. V případě $p < 0,01$ vznikl mezi skupinami vysoce významný rozdíl, při $p > 0,05$ mezi skupinami nebyl zjištěn rozdíl, tedy nevznikla spojitost mezi těmito koncentracemi.

Mezi koncentracemi 0 mg/L a 10 mg/L vyšla pravděpodobnost ve vysoké hodnotě $p = 0,54$, tedy $p > 0,05$, mezi těmito skupinami nevznikl rozdíl. Mezi koncentracemi 0 mg/L a 50 mg/L $p = 0,03$, tedy $p < 0,05$, mezi skupinami byl shledán významný rozdíl. Pravděpodobnost p pro koncentrace 0 mg/L a 100 mg/L vyšla v hodnotě 0,39, tedy $p > 0,05$, nebyl zde shledán významný rozdíl mezi skupinami. Koncentrace 0 mg/L a 150 mg/L pro $p = 0,06$, $p > 0,05$, zde také nebyl shledán významný rozdíl, ale v hraniční hodnotě. Pro koncentrace 10 mg/L a 50 mg/L vyšla pravděpodobnost $p = 0,008$, tedy $p < 0,01$ a mezi skupinami byl statisticky prokázán velmi významný rozdíl. Mezi koncentracemi 10 mg/L a 100 mg/L vyšla p v hodnotě 0,81, $p > 0,05$, nebyl shledán žádný významný rozdíl mezi skupinami. Koncentrace mezi 10 mg/L a 150 mg/L zajistili p v hodnotě 0,16, tedy $p > 0,05$ a opět nebyl zjištěn rozdíl mezi skupinami. Pro koncentrace 50 mg/L a 100 mg/L $p = 0,004$, $p < 0,01$ a byl opět zjištěn statisticky velmi významný rozdíl mezi jednotlivými koncentracemi, můžeme tedy tvrdit, že mezi hodnotami koncentrací 50 mg/L a 100 mg/L byla zjištěna velmi významná variabilita. Koncentrace 50 mg/L a 150 mg/L přinesly ještě významnější rozdíl, jelikož $p = 0,001$, tedy $p < 0,01$. Testování mezi koncentracemi 100 mg/L a 150 mg/L přineslo výsledky v hodnotě $p = 0,31$, $p > 0,05$, nebyl zde shledán významný rozdíl.

Graf. 2 Průměrné koncentrace S v hydroponii s přidavkem denatonium benzoátu



5.1.3 Železo

K hodnocení středních hodnot Fe byla stanovena nulová hypotéza:

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$, kde μ_1 až μ_5 představovaly střední hodnoty koncentrací

Fe v jednotlivých odběrech pokusu s přidavkem denatonium benzoátu v pěti koncentracích (0 mg/L, 10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L). Byla testována nulová hypotéza, že střední hodnoty Fe jsou si rovné ve všech koncentracích repelentu, neexistuje rozdíl mezi středními hodnotami prvku jednotlivých koncentrací repelentu.

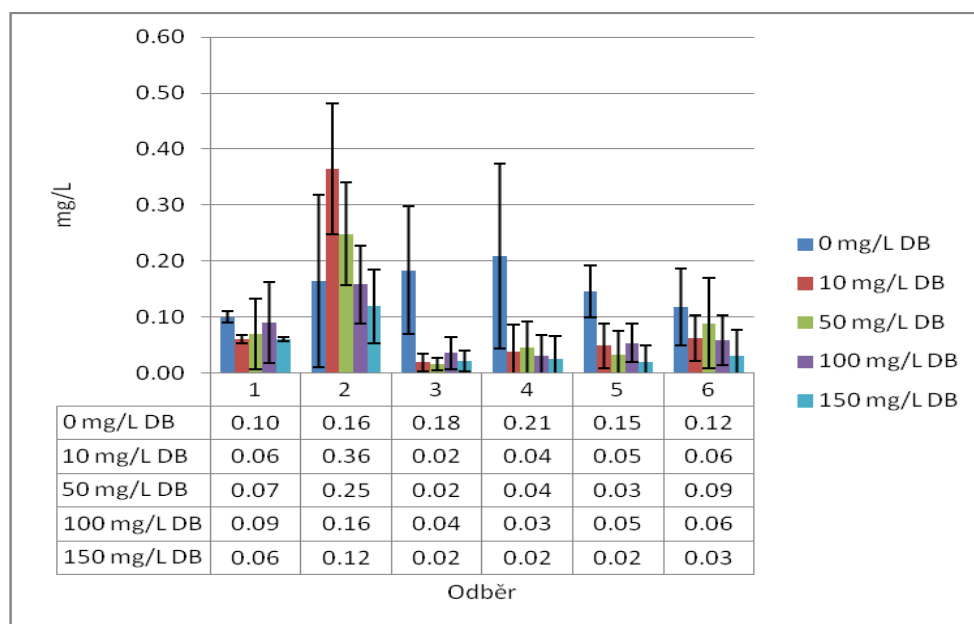
Nejdříve byl vypočítán rozptyl koncentrací Fe pro jednotlivé koncentrace repelentu. Výsledné hodnoty jsou zobrazeny v následující tabulce (v mg/L):

| Výběr | Počet | Součet | Průměr | Rozptyl |
|----------|-------|--------|--------|---------|
| 0 mg/L | 6 | 0,92 | 0,15 | 0,00 |
| 10 mg/L | 6 | 0,59 | 0,10 | 0,02 |
| 50 mg/L | 6 | 0,50 | 0,08 | 0,01 |
| 100 mg/L | 6 | 0,43 | 0,07 | 0,00 |
| 150 mg/L | 6 | 0,28 | 0,05 | 0,00 |

Rozptyl F mezi jednotlivými výběry vyšel v hodnotě 1,61, rozptyl F_{krit} uvnitř výběrů v hodnotě 2,76, tedy $F < F_{krit}$. Nulová hypotéza H_0 byla přijata, bylo statisticky prokázáno, že ani jedna ze středních hodnot (průměrů) se nelišila, tedy dané koncentrace denatonium benzoátu neovlivňují koncentraci Fe ($p > 0,05$, $p = 0,2$). Daný faktor (repelent) neměl vliv na zkoumané vzorky. Průměrné koncentrace Fe v jednotlivých odběrech při rozličných koncentracích denatonium benzoátu jsou zobrazeny v grafu 3.

| Zdroj variability | SS | Rozdíl | MS | F | Hodnota P | F krit |
|-------------------|------|--------|------|------|-----------|--------|
| Mezi výběry | 0,04 | 4,00 | 0,01 | 1,61 | 0,20 | 2,76 |
| Všechny výběry | 0,15 | 25,00 | 0,01 | | | |
| Celkem | 0,19 | 29,00 | | | | |

Graf. 3 Průměrné koncentrace Fe v hydroponii s přidávkem denatonium benzoátu



5.1.4 Měď

K hodnocení středních hodnot Cu byla stanovena nulová hypotéza:

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$, kde μ_1 až μ_5 představovaly střední hodnoty koncentrací

Cu v jednotlivých odběrech pokusu s přidávkem denatonium benzoátu v pěti koncentracích (0 mg/L, 10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L). Byla testována nulová hypotéza, že střední hodnoty Cu jsou si rovné ve všech koncentracích repelentu, neexistuje rozdíl mezi středními hodnotami prvku jednotlivých koncentrací repelentu.

Nejdříve byl vypočítán rozptyl koncentrací Cu pro jednotlivé koncentrace repelentu.

Výsledné hodnoty jsou zobrazeny v následující tabulce (v mg/L):

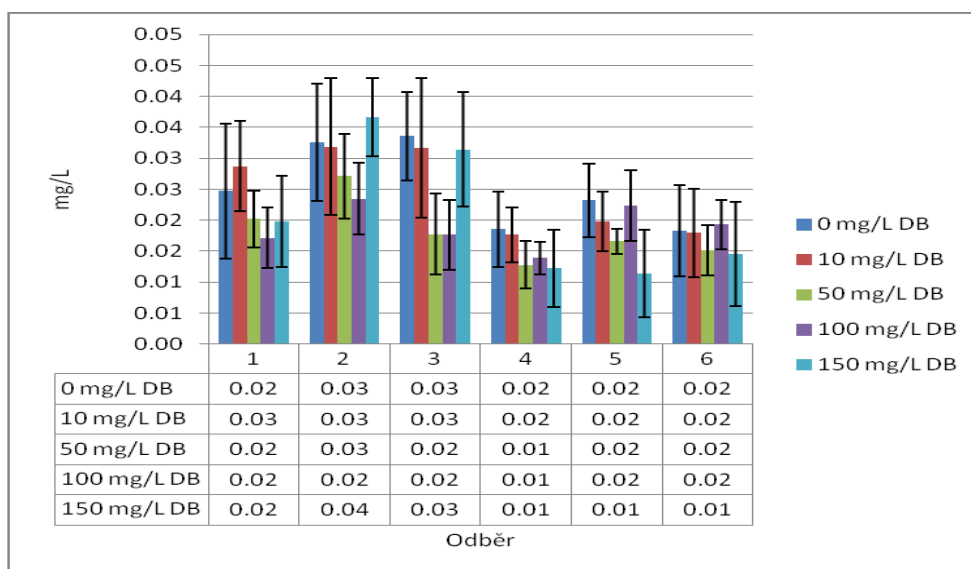
| Výběr | Počet | Součet | Průměr | Rozptyl |
|----------|-------|--------|--------|---------|
| 0 mg/L | 6 | 0,15 | 0,03 | 0,00 |
| 10 mg/L | 6 | 0,15 | 0,02 | 0,00 |
| 50 mg/L | 6 | 0,11 | 0,02 | 0,00 |
| 100 mg/L | 6 | 0,11 | 0,02 | 0,00 |
| 150 mg/L | 6 | 0,13 | 0,02 | 0,00 |

Rozptyl F mezi jednotlivými výběry vyšel v hodnotě 1,24, rozptyl F_{krit} uvnitř výběrů v hodnotě 2,76, tedy $F < F_{krit}$. Nulová hypotéza H_0 byla přijata, bylo statisticky prokázáno, že ani jedna ze středních hodnot (průměrů) se nelišila, tedy dané koncentrace denatonium benzoátu neovlivňují koncentraci Cu ($p > 0,05$, $p = 0,32$). Daný faktor (repellent) neměl vliv

na zkoumané vzorky. Průměrné koncentrace Cu v jednotlivých odběrech při rozličných koncentracích denatonium benzoátu jsou zobrazeny v grafu 4.

| Zdroj variability | SS | Rozdíl | MS | F | Hodnota P | F krit |
|-------------------|-------------|--------------|------|------|-----------|--------|
| Mezi výběry | 0,00 | 4,00 | 0,00 | 1,24 | 0,32 | 2,76 |
| Všechny výběry | 0,00 | 25,00 | 0,00 | | | |
| Celkem | 0,00 | 29,00 | | | | |

Graf. 4 Průměrné koncentrace Cu v hydroponii s přidavkem denatonium benzoátu



5.1.5 Bór

K hodnocení středních hodnot B byla stanovena nulová hypotéza:

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$, kde μ_1 až μ_5 představovaly střední hodnoty koncentrací

B v jednotlivých odběrech pokusu s přidavkem denatonium benzoátu v pěti koncentracích (0 mg/L, 10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L). Byla testována nulová hypotéza, že střední hodnoty B jsou si rovné ve všech koncentracích repelentu, neexistuje rozdíl mezi středními hodnotami prvku jednotlivých koncentrací repelentu.

Nejdříve byl vypočítán rozptyl koncentrací B pro jednotlivé koncentrace repelentu.

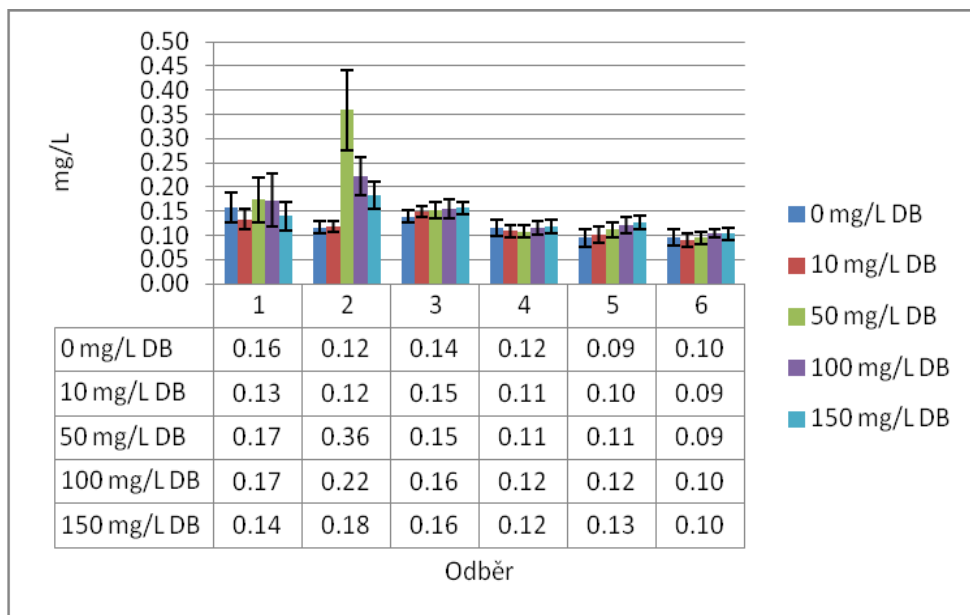
Výsledné hodnoty jsou zobrazeny v následující tabulce (v mg/L):

| Výběr | Počet | Součet | Průměr | Rozptyl |
|-------------|-------|--------|--------|---------|
| 0 mg/L DB | 6 | 0,72 | 0,12 | 0,00 |
| 10 mg/L DB | 6 | 0,70 | 0,12 | 0,00 |
| 50 mg/L DB | 6 | 1,00 | 0,17 | 0,01 |
| 100 mg/L DB | 6 | 0,89 | 0,15 | 0,00 |
| 150 mg/L DB | 6 | 0,83 | 0,14 | 0,00 |

Rozptyl F mezi jednotlivými výběry vyšel v hodnotě 0,93, rozptyl F_{krit} uvnitř výběrů v hodnotě 2,76, tedy $F < F_{krit}$. Nulová hypotéza H_0 byla přijata, bylo statisticky prokázáno, že ani jedna ze středních hodnot (průměrů) se nelišila, tedy dané koncentrace denatonium benzoátu neovlivňují koncentraci B ($p > 0,05$, $p = 0,46$). Daný faktor (repelent) neměl vliv na zkoumané vzorky. Průměrné koncentrace B v jednotlivých odběrech při rozličných koncentracích denatonium benzoátu jsou zobrazeny v grafu 5.

| Zdroj variability | SS | Rozdíl | MS | F | Hodnota P | F krit |
|-------------------|------|--------|------|------|-----------|--------|
| Mezi výběry | 0,01 | 4,00 | 0,00 | 0,93 | 0,46 | 2,76 |
| Všechny výběry | 0,07 | 25,00 | 0,00 | | | |
| Celkem | 0,08 | 29,00 | | | | |

Graf. 5 Průměrné koncentrace B v hydroponii s přidavkem denatonium benzoátu



5.1.6 Mangan

K hodnocení středních hodnot Mn byla stanovena nulová hypotéza:

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$, kde μ_1 až μ_5 představovaly střední hodnoty koncentrací Mn v jednotlivých odběrech pokusu s přidavkem denatonium benzoátu v pěti koncentracích (0 mg/L, 10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L). Byla testována nulová hypotéza, že střední hodnoty Mn jsou si rovné ve všech koncentracích repelentu, neexistuje rozdíl mezi středními hodnotami prvku jednotlivých koncentrací repelentu.

Z pokusu byly odebrány výsledky z 5. odběru, které vyšly o několik řádů vyšší než výsledky z ostatních odběrů a zkrusily by tak celkové výsledky hodnot. Vysoké hodnoty Mn v 5. odběru byly pravděpodobně způsobeny sekundární kontaminací během odběru a skladování vzorků.

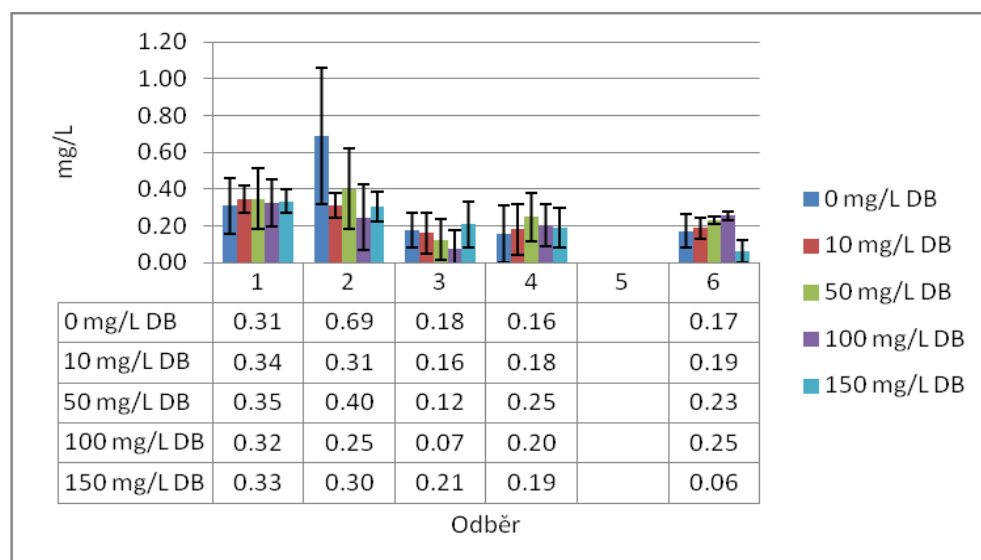
Nejdříve byl vypočítán rozptyl koncentrací Mn pro jednotlivé koncentrace repelentu. Výsledné hodnoty jsou zobrazeny v následující tabulce (v mg/L):

| Výběr | Počet | Součet | Průměr | Rozptyl |
|-------------|-------|--------|--------|---------|
| 0 mg/L DB | 5 | 1,50 | 0,30 | 0,05 |
| 10 mg/L DB | 5 | 1,18 | 0,24 | 0,01 |
| 50 mg/L DB | 5 | 1,35 | 0,27 | 0,01 |
| 100 mg/L DB | 5 | 1,09 | 0,22 | 0,01 |
| 150 mg/L DB | 5 | 1,09 | 0,22 | 0,01 |

Rozptyl F mezi jednotlivými výběry vyšel v hodnotě 0,35, rozptyl F_{krit} uvnitř výběrů v hodnotě 2,87, tedy $F < F_{krit}$. Nulová hypotéza H_0 byla přijata, bylo statisticky prokázáno, že ani jedna ze středních hodnot (průměrů) se nelišila, tedy dané koncentrace denatonium benzoátu neovlivňují koncentraci Mn ($p > 0,05$, $p = 0,84$). Daný faktor (repellent) neměl vliv na zkoumané vzorky. Průměrné koncentrace Mn v jednotlivých odběrech při rozličných koncentracích denatonium benzoátu jsou zobrazeny v grafu 6.

| Zdroj variability | SS | Rozdíl | MS | F | Hodnota P | F krit |
|-------------------|------|--------|------|------|-----------|--------|
| Mezi výběry | 0,03 | 4,00 | 0,01 | 0,35 | 0,84 | 2,87 |
| Všechny výběry | 0,36 | 20,00 | 0,02 | | | |
| Celkem | 0,38 | 24,00 | | | | |

Graf. 6 Průměrné koncentrace Mn v hydroponii s přidavkem denatonium benzoátu



5.1.7 Zinek

K hodnocení středních hodnot Zn byla stanovena nulová hypotéza:

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$, kde μ_1 až μ_5 představovaly střední hodnoty koncentrací

Zn v jednotlivých odběrech pokusu s přidavkem denatonium benzoátu v pěti koncentracích (0 mg/L, 10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L). Byla testována nulová hypotéza, že střední hodnoty Zn jsou si rovné ve všech koncentracích repelentu, neexistuje rozdíl mezi středními hodnotami prvku jednotlivých koncentrací repelentu.

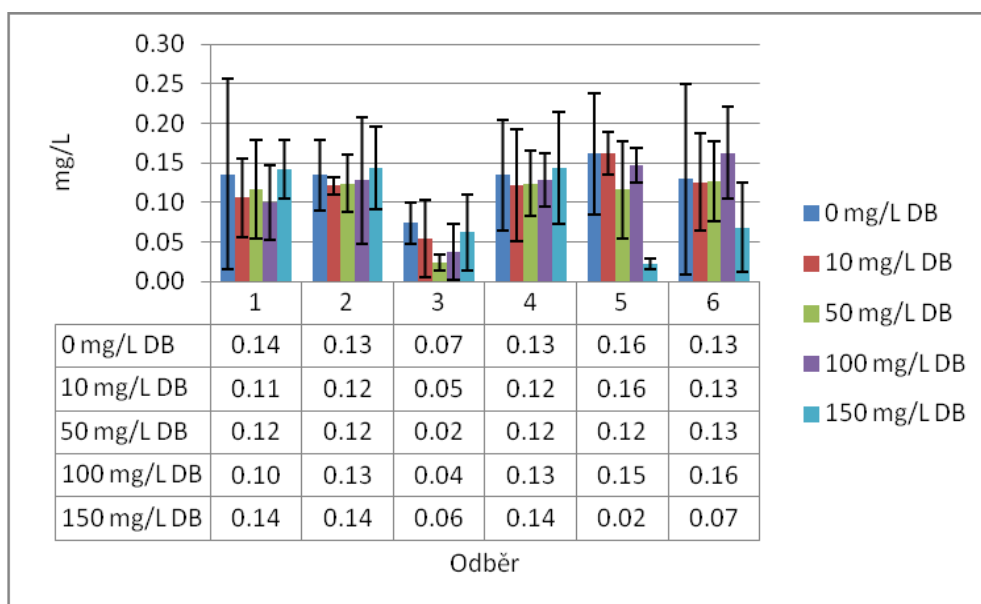
Nejdříve byl vypočítán rozptyl koncentrací Zn pro jednotlivé koncentrace repelentu. Výsledné hodnoty jsou zobrazeny v následující tabulce (v mg/L):

| Výběr | Počet | Součet | Průměr | Rozptyl |
|-------------|-------|--------|--------|---------|
| 0 mg/L DB | 6 | 0,77 | 0,13 | 0,00 |
| 10 mg/L DB | 6 | 0,69 | 0,11 | 0,00 |
| 50 mg/L DB | 6 | 0,63 | 0,11 | 0,00 |
| 100 mg/L DB | 6 | 0,70 | 0,12 | 0,00 |
| 150 mg/L DB | 6 | 0,58 | 0,10 | 0,00 |

Rozptyl F mezi jednotlivými výběry vyšel v hodnotě 0,51, rozptyl F_{krit} uvnitř výběrů v hodnotě 2,76, tedy $F < F_{krit}$. Nulová hypotéza H_0 byla přijata, bylo statisticky prokázáno, že ani jedna ze středních hodnot (průměrů) se nelišila, tedy dané koncentrace denatonium benzoátu neovlivňují koncentraci Zn ($p > 0,05$, $p = 0,73$). Daný faktor (repellent) neměl vliv na zkoumané vzorky. Průměrné koncentrace Zn v jednotlivých odběrech při rozličných koncentracích denatonium benzoátu jsou zobrazeny v grafu 7.

| Zdroj variability | SS | Rozdíl | MS | F | Hodnota P | F krit |
|-------------------|------|--------|------|------|-----------|--------|
| Mezi výběry | 0,00 | 4,00 | 0,00 | 0,51 | 0,73 | 2,76 |
| Všechny výběry | 0,04 | 25,00 | 0,00 | | | |
| Celkem | 0,05 | 29,00 | | | | |

Graf. 7 Průměrné koncentrace Zn v hydroponii s přidavkem denatonium benzoátu



5.2 Půdní sorpční experiment

Atomovým emisním spektrometrem s indukčně vázaným plazmatem byly stanoveny mobilní obsahy 4 makroprvků (P, Ca, Mg, S) a pěti mikroprvků (Fe, Cu, B, Mn, Zn), které byly přepočítány na jednotku hmotnosti půdy. Následně byly sestaveny grafy závislosti jednotlivých koncentrací repelentů (denatonium benzoát, kapsaicin) na obsahu výše zmíněných prvků ve 2 půdních typech (černozemi, fluvizemi). Pomocí statistických analýz korelační matice v Programu Statistica, verze 12 (StatSoft[®], USA) byly stanoveny Paersonovy korelační koeficienty mezi jednotlivými koncentracemi repelentu a obsahem prvku při hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

5.2.1 Půdní sorpce s denatonium benzoátem

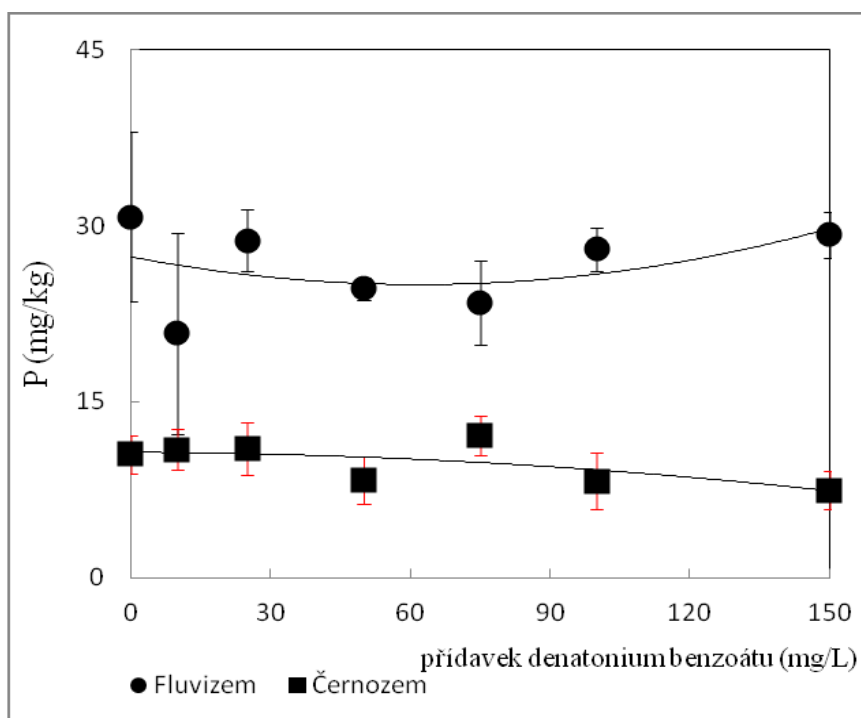
Naměřené hodnoty prvků s přidavkem stejných koncentrací denatonium benzoátu (0 mg/L, 10 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L) se lišily s půdním typem.

5.2.1.1 Fosfor

Námi zkoumaná fluvizem obsahovala oproti černozemi téměř trojnásobné koncentrace fosforu, ale ani v jednom půdním typu zvýšená koncentrace repelentu výrazně neovlivnila sorpci fosforu. Z grafu bylo možné usoudit, že denatonium benzoát ve fluvizemi bude mít na obsah P spíše pozitivní vliv a na hodnoty P v černozemi spíše negativní vliv.

Korelační koeficient pro fosfor ve fluvizemi vyšel v hodnotě $r = 0,22$, tedy koncentrace repelentu nebyla statisticky významná, pro obsah fosforu nebyla prokázána přímá závislost mezi veličinami. Korelační koeficient pro černozem, který vyšel v hodnotě $r = -0,64$ také nebyl statisticky průkazný. Záporná hodnota ale naznačuje, že denatonium benzoát může mít tendenci ke snižování mobility P. Závislost obsahu mobilního fosforu na koncentraci denatonium benzoátu je znázorněna křivkou v grafu 8.

Graf. 8 Závislost obsahu mobilního fosforu na koncentraci denatonium benzoátu

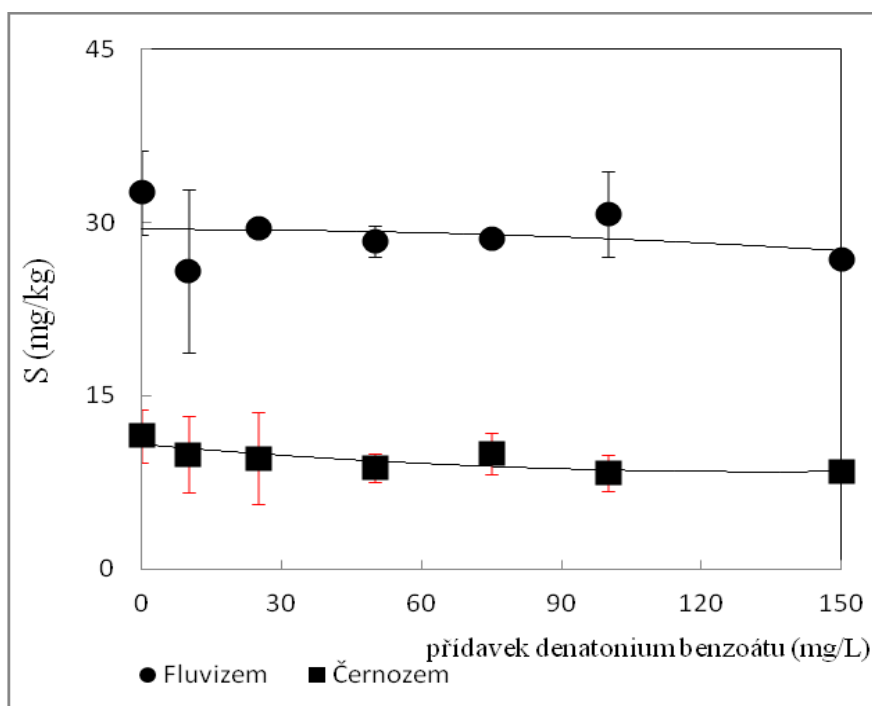


5.2.1.2 Síra

Koncentrace síry byly také ve fluvizemi téměř trojnásobné oproti černozemi ve variantě s denatonium benzoátem. Z grafu 9 bylo možné odhadnout nepřímou závislost mezi koncentracemi kapsaicinu a obsahem síry v obou půdních typech.

Ve fluvizemi nebyla prokázána statistická významnost mezi koncentrací repelentu a obsahem S, korelační koeficient v hodnotě $r = -0,28$ neprokázal nepřímou závislost. Korelační test již vyšel pozitivně pro denatonium benzoát a koncentraci S v černozemi v hodnotě $r = -0,77$. Statistická významnost nepřímé závislosti poukazuje na souvislost mezi koncentracemi repelentu a sorpci S, kdy zvýšené množství repelentu má za následek snížené množství sorbované síry na půdní koloidy. Závislost obsahu mobilní síry na koncentraci denatonium benzoátu je znázorněna křivkou v grafu 9.

Graf. 9 Závislost obsahu mobilní síry na koncentraci denatonium benzoátu

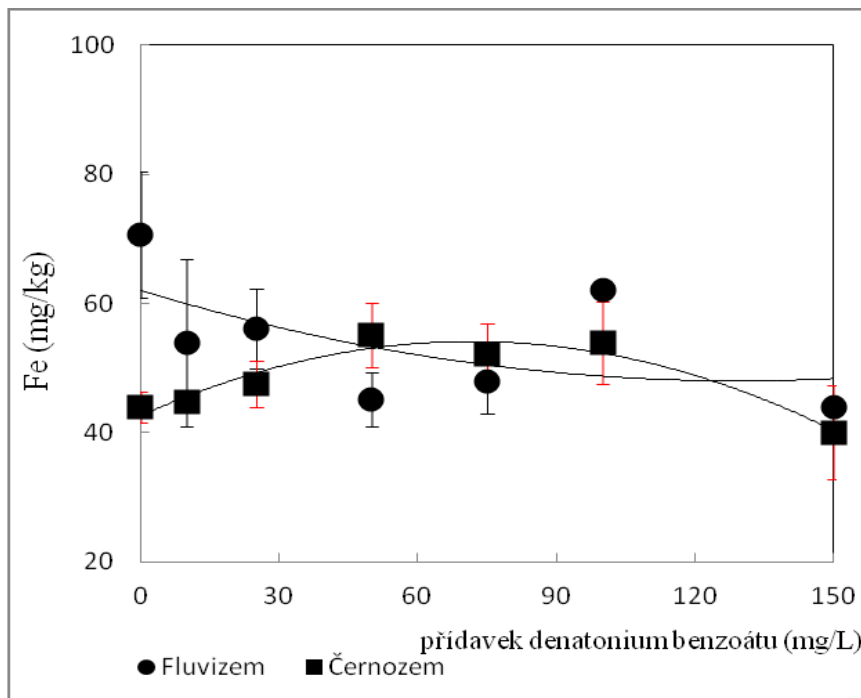


5.2.1.3 Železo

Koncentrace železa ve fluvizemi a černozemi se pohybovaly v podobných hodnotách, kdy fluvizem dokazovala mírně vyšší hodnoty. Z důvodu rozdílných tendencí křivek nebylo z grafu na první pohled možné odhadnout vliv denatonium benzoátu.

Ve fluvizemi ani v černozemi nebyla prokázána statistická významnost mezi koncentracemi denatonium benzoátu a obsahu Fe. Ve fluvizemi vyšel korelační koeficient v hodnotě $r = 0,33$, pro černozem v záporné hodnotě $r = -0,04$. Závislost obsahu mobilního železa na koncentraci denatonium benzoátu je znázorněna v grafu 10.

Graf. 10 Závislost obsahu mobilního železa na koncentraci denatonium benzoátu

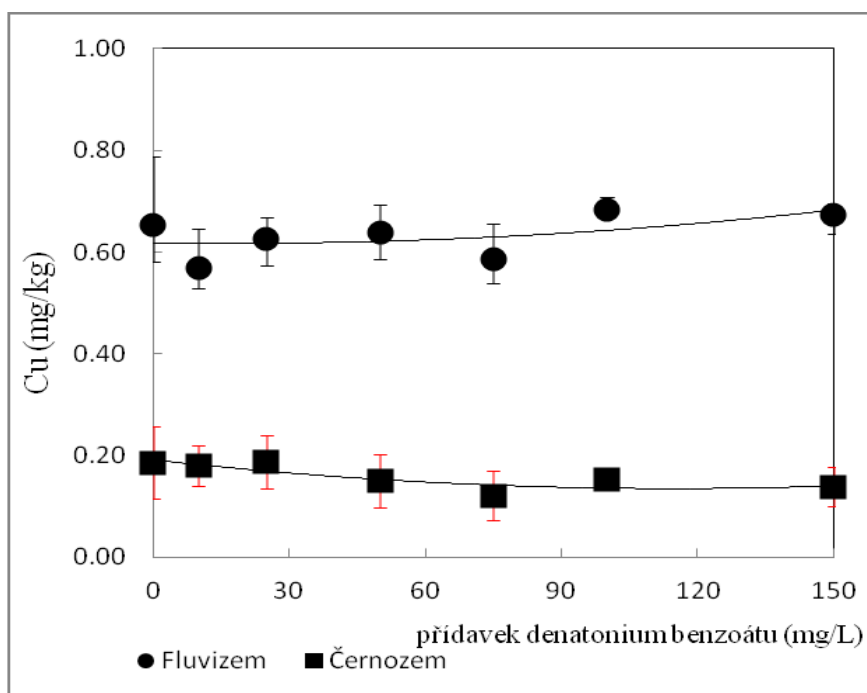


5.2.1.4 Měď

U denatonium benzoátu koncentrace mědi ve fluvizemi nabyly více než trojnásobných hodnot oproti koncentracím v černoze. Z grafu bylo možné odhadnout mírnou přímou závislost pro fluvizem a nepřímou závislost pro černoze.

Ve fluvizemi nebyla prokázána statistická významnost, korelační koeficient vyšel v hodnotě $r = 0,52$. Pro černoze již byla naopak detekována statisticky významná souvislost mezi koncentrací denatonium benzoátu a Cu, jako v případě S, v téměř identické hodnotě nepřímé závislosti v hodnotě $r = - 0,76$. Lze tedy usuzovat v negativní vliv vysokých koncentrací denatonium benzoátu na zadržnost sírových a měďnatých iontů v půdě v podobných hodnotách. Závislost obsahu mobilní mědi na koncentraci denatonium benzoátu je znázorněna v grafu 11.

Graf. 11 Závislost obsahu mobilní mědi na koncentraci denatonium benzoátu

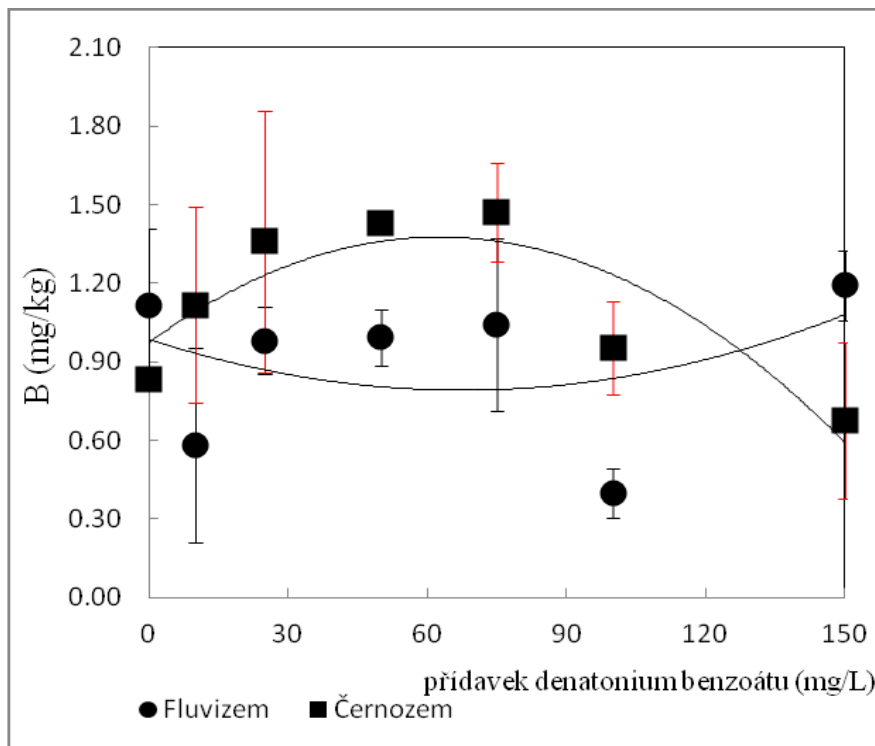


5.2.1.5 Bór

V případě B obsahovala černozezem oproti fluvizemi téměř dvojnásobné hodnoty, které se výrazně lišily s koncentrací repelentu. Z grafu bylo možné odhadnout mírnou nepřímou závislost pro fluvizem, počáteční přímá závislost pro černozezem se později změnila v nepřímou.

Pro žádnou z půd nebyla prokázána statistická významnost. Korelační koeficient pro fluvizem vyšel v hodnotě $r = 0,08$. Černozezem dosáhla korelačního koeficientu nepřímé závislosti v hodnotě $r = -0,61$. Závislost obsahu mobilního bóru na koncentraci denatonium benzoátu je znázorněna v grafu 12.

Graf. 12 Závislost obsahu mobilního bóru na koncentraci denatonium benzoátu

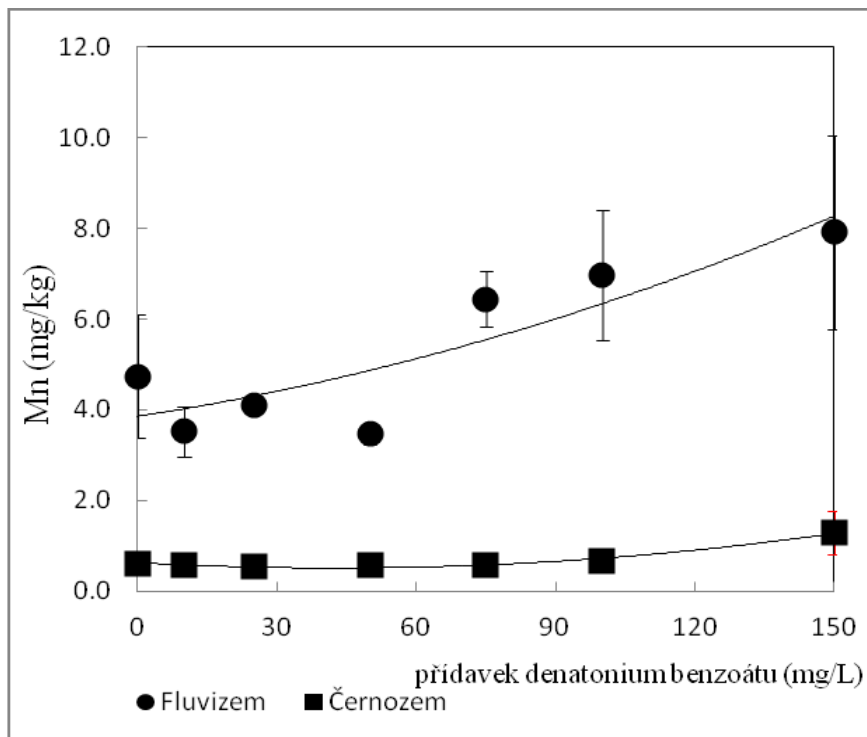


5.2.1.6 Mangan

Fluvizem obsahovala oproti černozemi více než čtyřnásobné koncentrace Mn. Mangan je jedním ze dvou prvků, které pro fluvizem i černozem dosáhly statisticky významných hodnot přímé závislosti koncentrace denatonium benzoátu na jeho obsahu. Větší přímá závislost byla vyhodnocena pro fluvizem, kde korelační koeficient vyšel v hodnotě $r = 0,87$. Korelační koeficient pro černozem byl stanoven v hodnotě $r = 0,79$.

Vyšší uvolnitelnost Mn iontů a následná sorpce na půdní sorpční komplex může být přičítána kyselině benzoové, která je součástí denatonium benzoátu. Obecně platí pro Mn vyšší rozpustnost a dostupnost pro rostliny v kyselém prostředí. Závislost obsahu mobilního manganu na koncentraci denatonium benzoátu je znázorněna v grafu 13.

Graf. 13 Závislost obsahu mobilního manganu na koncentraci denatonium benzoátu

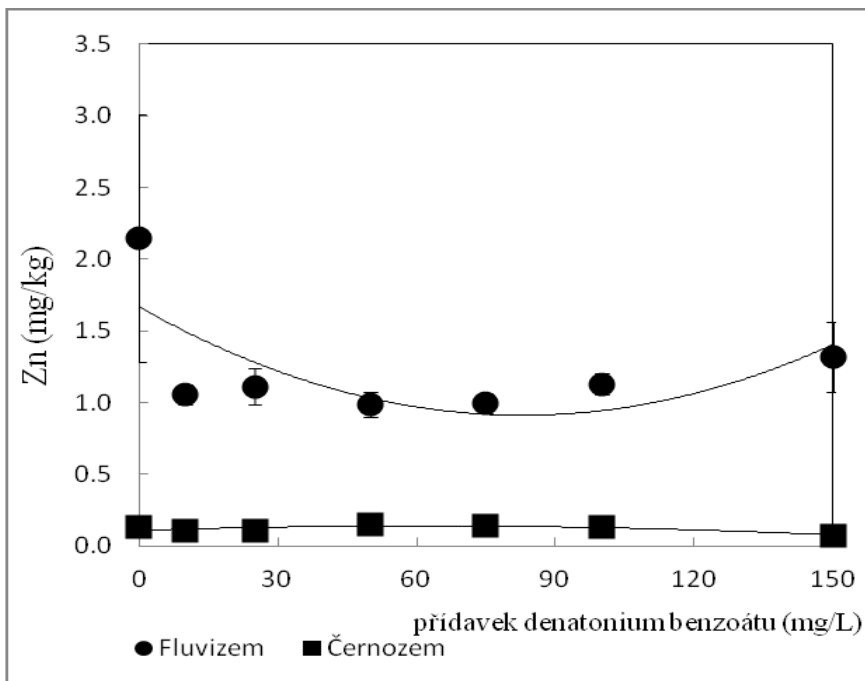


5.2.1.7 Zinek

Koncentrace Zn se pohybovaly ve fluvizemi v desetinásobné výši oproti černozemi, avšak pro žádnou z půd nebyl stanoven statisticky významný korelační koeficient závislosti koncentrace denatonium benzoátu na obsahu Zn.

Pro fluvizem byl vyhodnocen korelační koeficient v hodnotě $r = -0,3$, nebyla tedy dokázána nepřímá závislost. Korelační koeficient pro černozem byl vyhodnocen v podobné hodnotě $r = -0,35$. Závislost obsahu mobilního zinku na koncentraci denatonium benzoátu je znázorněna v grafu 14.

Graf. 14 Závislost obsahu mobilního zinku na koncentraci denatonium benzoátu

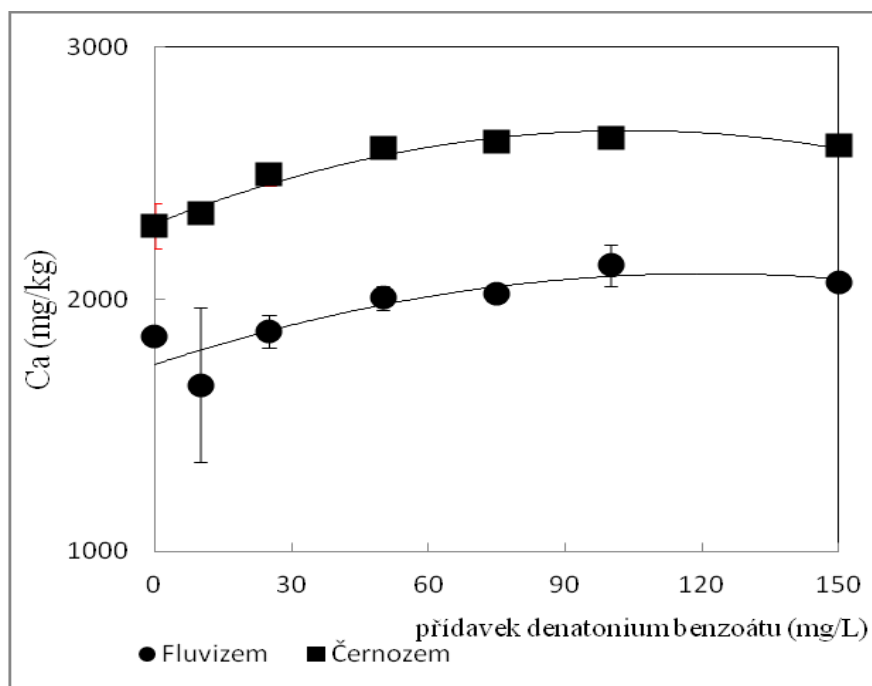


5.2.1.8 Vápník

Oba typy půd, černozem i fluvizem, obsahovaly vysoké koncentrace mobilního Ca, kdy černozem prokazovala vyšší hodnoty. Z grafu bylo možné, bez použití statistických metod, odhadovat přímé závislosti mezi Ca a denatonium benzoátem pro oba půdní typy. Vysoké koncentrace Ca iontů dokazují velkou sorpční půdní schopnost a kvalitu půd.

Pro fluvizem i černozem byla statisticky prokázána závislost koncentrace denatonium benzoátu na obsahu Ca, kdy pro oba půdní typy vyšly hodnoty přímé závislosti v identických hodnotách, pro fluvizem i černozem korelační koeficient $r = 0,8$. Korelační koeficient dokazuje, že rostoucí koncentrace repelentu má pozitivní vliv na sorpci Ca iontů ve fluvizemi i v černozemi. Závislost obsahu mobilního vápníku na koncentraci denatonium benzoátu je znázorněna v grafu 15.

Graf. 15 Závislost obsahu mobilního vápníku na koncentraci denatonium benzoátu

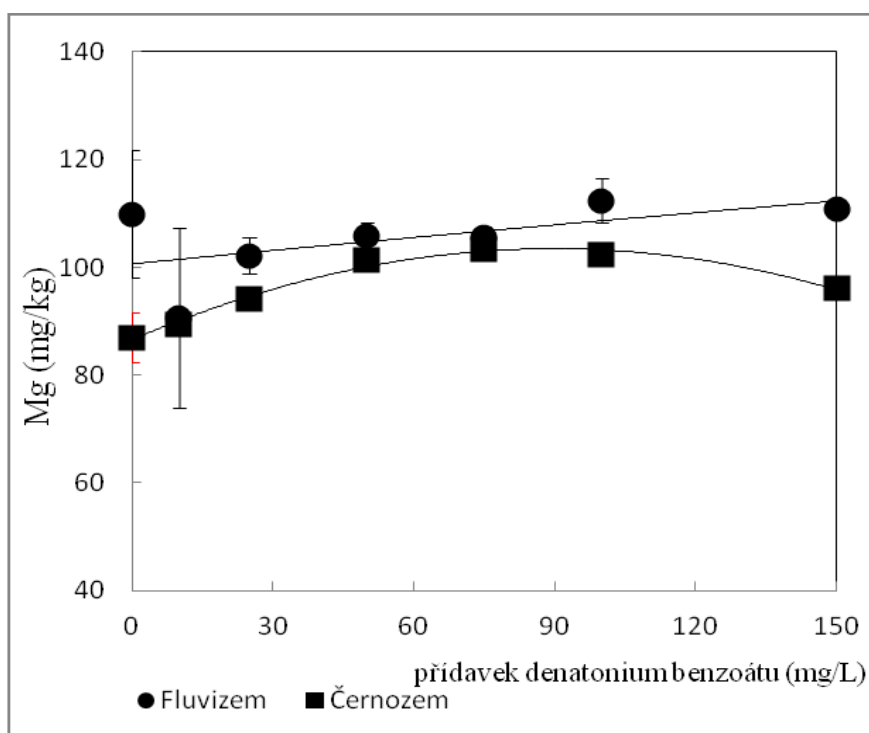


5.2.1.9 Hořčík

Vyšší obsahy Mg se u varianty se denatonium benzoátem se projeví ve fluvizemi, avšak černozem vykazovala stabilnější hodnoty. Z grafu bylo možné odhadovat přímé závislosti pro oba půdní typy.

Nebyla dokázána statistická významnost přímé ani nepřímé závislosti koncentrace repelentu na koncentraci prvku v žádné z půd, i když korelační koeficienty nabyly celkem vysokých hodnot. Pro fluvizem byl korelační koeficient stanoven v hodnotě $r = 0,57$, pro černozem $r = 0,6$. Závislost obsahu mobilního hořčíku na koncentraci denatonium benzoátu je znázorněna v grafu 16.

Graf. 16: Závislost obsahu mobilního hořčíku na koncentraci denatonium benzoátu.



5.2.2 Půdní sorpce s kapsaicinem

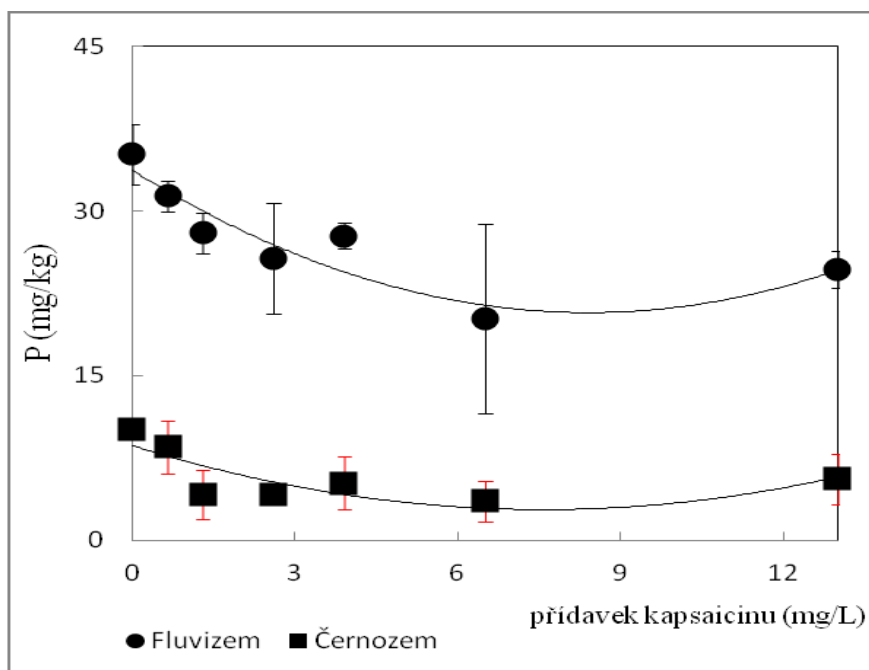
Naměřené hodnoty prvků s přidavkem stejných koncentrací kapsaicinu (0 mg/L, 0,65 mg/L, 1,3 mg/L, 2,6 mg/L, 3,9 mg/L, 6,5 mg/L, 13 mg/L) se lišily s půdním typem.

5.2.2.1 Fosfor

Stejně jako u sorpčního pokusu s denatonium benzoátem, tak i v případě s kapsaicinem obsahovala fluvizem vyšší hodnoty půdního P, které se ale se zvyšující koncentrací repelentu kapsaicin mírně snižovaly v obou půdních typech. Z grafu bylo možné odhadovat potenciální nepřímé závislosti koncentrace repelentu a P.

Pro fluvizem ani pro černozem nebyla statisticky prokázána významnost mezi koncentrací kapsaicinu a obsahem P. Pro fluvizem vyšel korelační koeficient v hodnotě $r = -0,66$, nebyla tedy dokázána nepřímá závislost, ale celkem vysoká hodnota r naznačuje potenciální korelaci. Pro černozem vyšel koeficient nepřímé závislosti, faktoru, kdy zvyšující se koncentrace repelentu má za následek snižující se množství sorbovaného prvku, v hodnotě $r = -0,4$, korelace je tedy podstatně menší než v případě fluvizemě. Závislost obsahu mobilního fosforu na koncentraci kapsaicinu je znázorněna v grafu 17.

Graf. 17 Závislost obsahu mobilního fosforu na koncentraci kapsaicinu

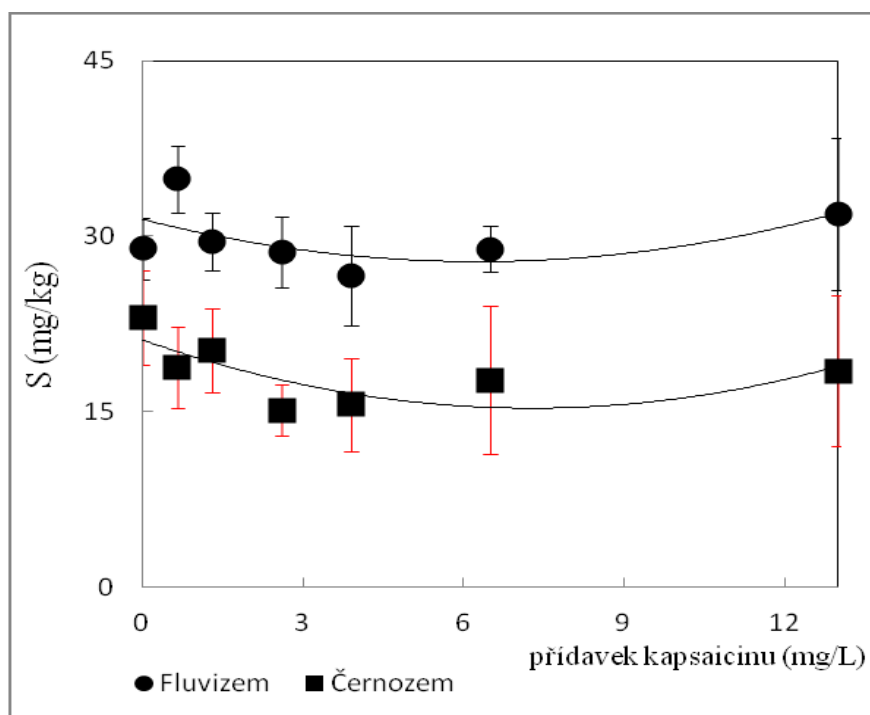


5.2.2.2 Síra

V případě experimentu s kapsaicinem obsahovala také fluvizem vyšší hodnoty S oproti černoze, ale již s menším rozdílem. Z grafu bylo možné vyčíst nepravidelné obsahy S se zvyšující se koncentrací kapsaicinu.

O nelineárním rozložení obsahů S vypovídá rozdílný výsledek korelační matice, kdy pro fluvizem ani pro černoze nebyly stanoveny statisticky významné korelace mezi koncentrací repelentu a obsahu prvku. Výsledný korelační koeficient pro fluvizem vyšel v hodnotě přímé závislosti $r = 0,075$, korelace je téměř nulová. Korelační koeficient pro černoze vyšel v hodnotě nepřímé závislosti $r = -0,28$, zvyšující se koncentrace repelentu nemá statisticky průkazný vliv na snižující se koncentrace S. Závislost obsahu mobilní síry na koncentraci kapsaicinu je znázorněna v grafu 18.

Graf. 18 Závislost obsahu mobilní síry na koncentraci kapsaicinu

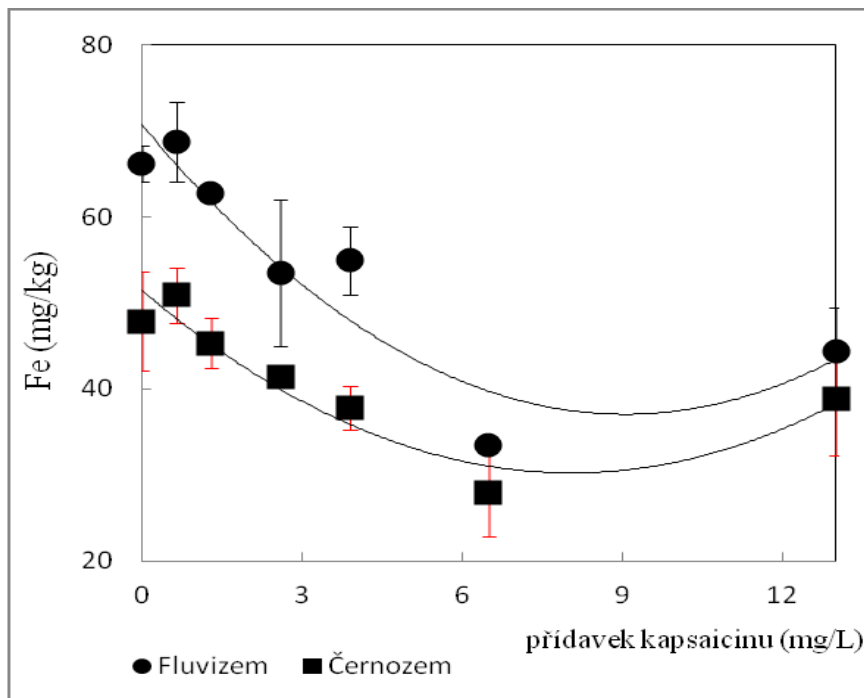


5.2.2.3 Železo

Oproti hodnotě Fe v sorpčním pokusu s denatonium benzoátem se v případě s kapsaicinem projevily výrazně vyšší hodnoty Fe ve fluvizemi. Hodnoty Fe v obou zeminách se snižovaly s narůstající koncentrací kapsaicinu kromě hodnoty maximální koncentrace (13 mg/L), kdy hodnoty Fe v obou půdních typech vzrostly.

Navzdory podobným křivkám obsahů se statistická významnost koncentrace repelentu na obsahu Fe projevila pouze ve fluvizemi, kdy korelační koeficient vyšel v hodnotě nepřímé závislosti $r = -0,82$. Korelační koeficient pro černozem $r = -0,6$ se neprojevil jako statisticky významný. Závislost obsahu mobilního železa na koncentraci kapsaicinu je znázorněna v grafu 19.

Graf. 19 Závislost obsahu mobilního železa na koncentraci kapsaicinu



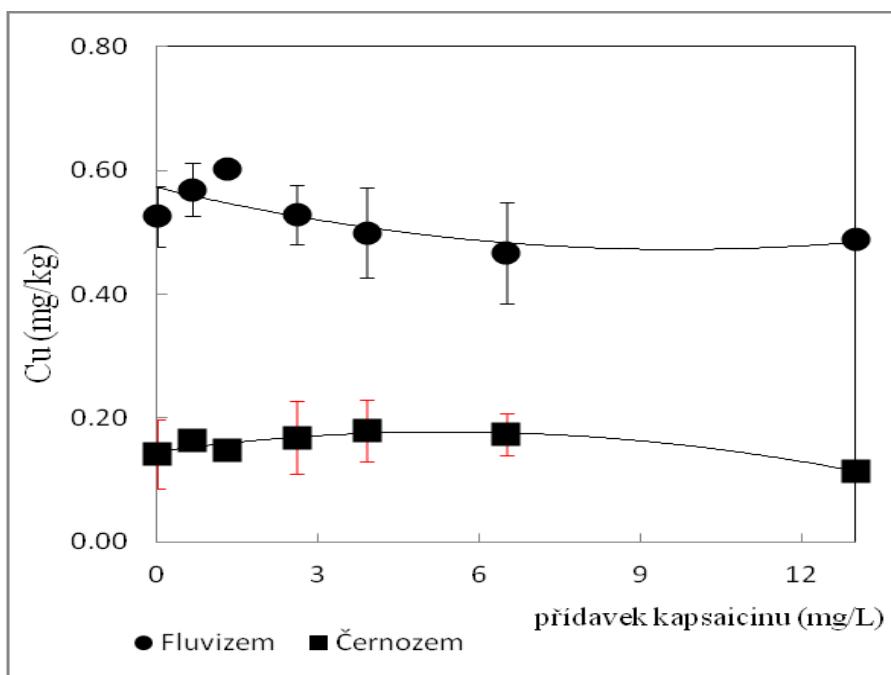
5.2.2.4 Měď

Obsahy Cu byly ve vyšších hodnotách detekovány ve fluvizemi, stejně jako v případě denatonium benzoátu. Ve fluvizemi je z grafu patrná nepřímá závislost hodnoty repelentu na obsahu prvku, pro černozem je patrná naopak přímá závislost koncentrace repelentu na obsahu Cu.

Fro fluvizem výsledný korelační koeficient v hodnotě $r = -0,65$ neprokázal statistickou významnost. Výsledný korelační koeficient pro černozem v hodnotě $r = 0,94$ již prokázal téměř stoprocentní závislost koncentrace repelentu na obsahu půdní Cu. Obsahy Cu v černozemích dosáhly nejvyšších přímých závislostí v celém sorpčním testování s denatonium benzoátem i kapsaicinem. Závislost obsahu mobilní mědi na koncentraci kapsaicinu je znázorněna v grafu 20.

Při porovnání obou sorpčních pokusů denatonium benzoát ani kapsaicin neprojevily statisticky významné působení na obsah Cu ve fluvizemi, ale zato velmi rozdílné působení na obsahy Cu v černozemích. Přídavek denatonium benzoátu se v černozemích projevil negativně, výsledná hodnota korelačního koeficientu nepřímé závislosti $r = -0,76$ měla za následek snížené obsahy Cu v půdě, kapsaicin v černozemích byl statisticky prokázán jako látka s pozitivním účinkem na obsahy Cu.

Graf. 20 Závislost obsahu mobilní mědi na koncentraci kapsaicinu

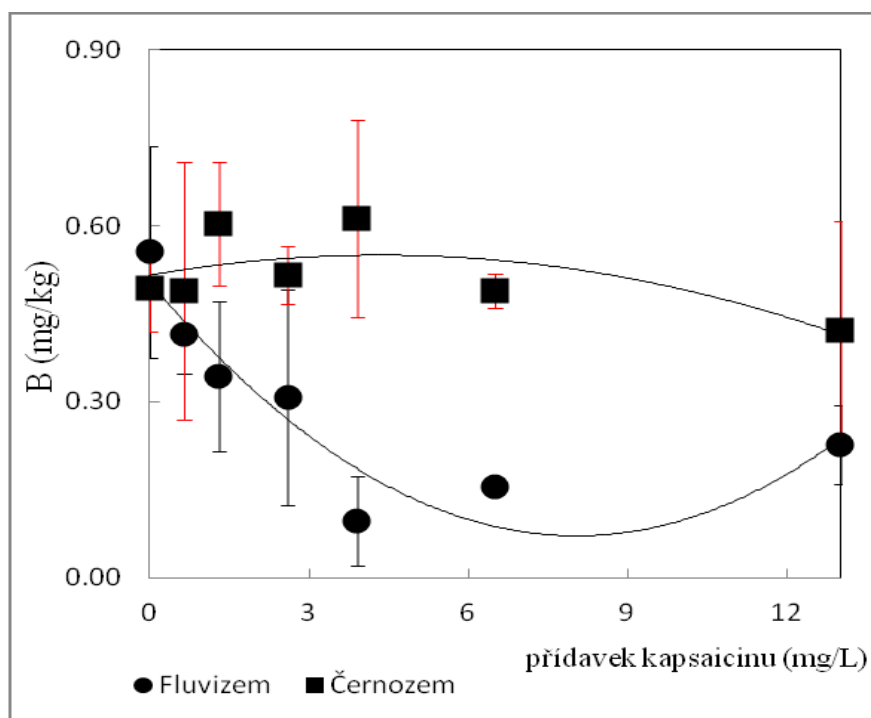


5.2.2.5 Bór

Jako v případě pokusu s denatonium benzoátem se vyšší hodnoty B objevily v černozemi. Z grafického zobrazení je na první pohled viditelná nepřímá závislost v případě obou půdních typů.

Ve fluvizemi i v černozemi byly shodně zjištěny korelační koeficienty nepřímé závislosti v podobných hodnotách. Pro fluvizem byl stanoven korelační koeficient $r = -0,59$, pro černozem korelační koeficient $r = -0,53$. Z analýzy je tedy možné odhadovat, že vyšší koncentrace kapsaicinu negativně ovlivňují obsahy B v různých půdních typech, avšak tvrzení nebylo prokázáno vyšší hodnotou korelačního koeficientu (shoda závislosti okolo 50 % nám nezajišťuje průkazné tvrzení). Závislost obsahu mobilního bóru na koncentraci kapsaicinu je znázorněna v grafu 21.

Graf. 21 Závislost obsahu mobilního bóru na koncentraci kapsaicinu

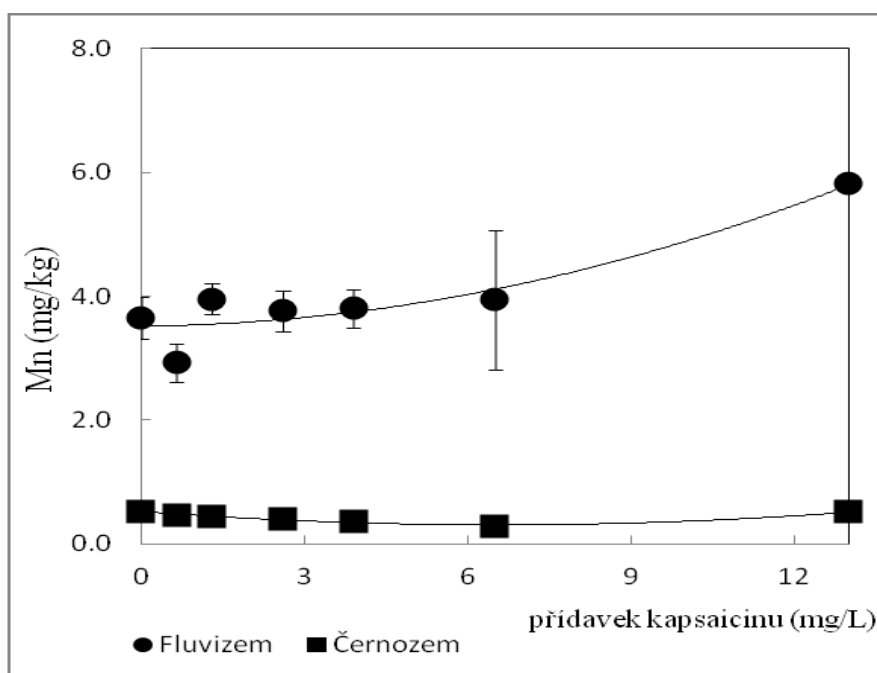


5.2.2.6 Mangan

Obsahy Mn ve fluvizemi dosahovaly více než čtyřnásobných hodnot oproti hodnotám v černoze. Vyšší hodnoty Mn byly zjištěny také ve fluvizemi v případě sorpčního experimentu s denatonium benzoátem. Z grafu bylo možné usuzovat v jasnou přímou závislost v případě fluvizemi a v jen nepatrnou nepřímou závislost v případě černoze. U fluvizemě se projevil pozitivní vliv kapsaicinu na obsah Mn, kdy vyšší hodnoty koncentrace kapsaicinu měly za následek vyšší sorpci Mn iontů. Tvrzení bylo statisticky prokázáno korelační maticí, kdy korelační koeficient v hodnotě $r = 0,9$ prokázal vysokou závislost mezi hodnotami kapsaicinu a hodnotou Mn. Výsledný korelační koeficient se po nejvyšší hodnotě korelačního koeficientu sorpčního pokusu s kapsaicinem (Cu v černoze, $r = 0,94$) stal druhým nejvyšším a nejvýznamnějším hodnocením pro zkoumání vlivů kapsaicinu na obsahy prvků v půdě. Kapsaicin naopak na Mn v černoze neměl žádný větší vliv, korelační koeficient vyšel v nepatrné hodnotě nepřímé závislosti, tedy opačné působení proti fluvizemi, $r = - 0,04$. Závislost obsahu mobilního manganu na koncentraci kapsaicinu je znázorněna v grafu 22.

Při porovnání obou pokusů, denatonium benzoát i kapsaicin byly statisticky vyhodnoceny jako látky s pozitivním vlivem na příjem manganu. V případě denatonium benzoátu byly zjištěny pozitivní účinky sorpce Mn ve fluvizemi i v černoze, kapsaicin pozitivně koreloval pouze ve fluvizemi, ovšem ve vysoké hodnotě.

Graf. 22 Závislost obsahu mobilního manganu na koncentraci kapsaicinu

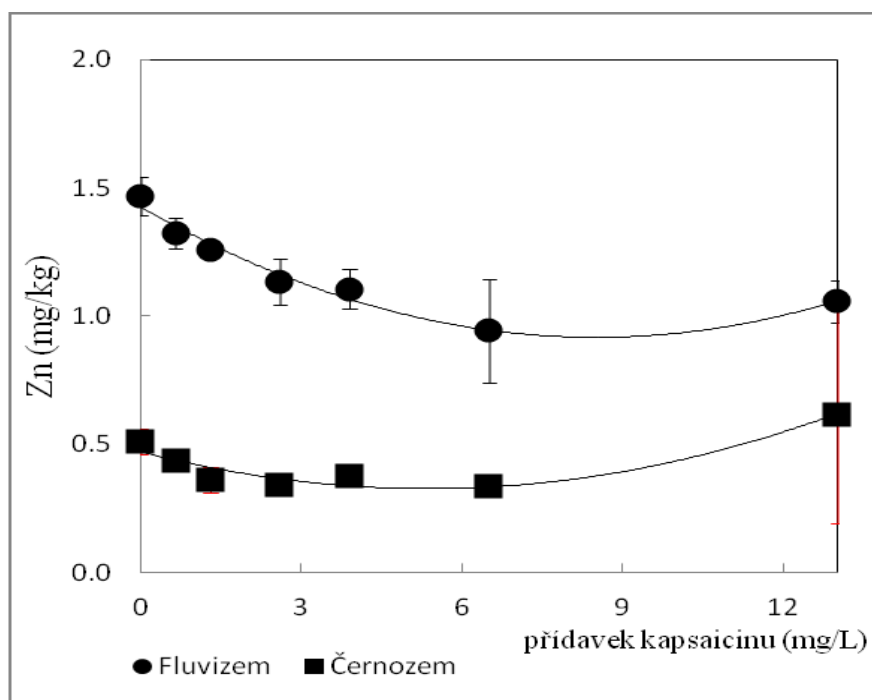


5.2.2.7 Zinek

Obsahy Zn byly vyšší ve fluvizemi v sorpčním pokusu s denatonium benzoátem i kapsaicinem, ale lišily se hodnotami, které byly vyšší v sorpčním pokusu s kapsaicinem.

Z grafu níže bylo možné odhadovat negativní vliv kapsaicinu na obsahy Zn ve fluvizemi. Avšak toto tvrzení nebylo statisticky prokázáno i přes celkem vysokou hodnotu korelačního koeficientu nepřímé závislosti v hodnotě $r = -0,72$. Pro černoze měly koncentrace kapsaicinu střídavý charakter, nejnižší koncentrace mírně snižovaly obsah Zn, vyšší naopak obsahy Zn zvyšovaly, avšak ani toto nebylo statisticky potvrzeno. Korelační koeficient pro černoze vyšel v hodnotě přímé závislosti $r = 0,5$, která není dostačující pro potvrzení domněnky. Závislost obsahu mobilního zinku na koncentraci kapsaicinu je znázorněna v grafu 23.

Graf. 23 Závislost obsahu mobilního zinku na koncentraci kapsaicinu

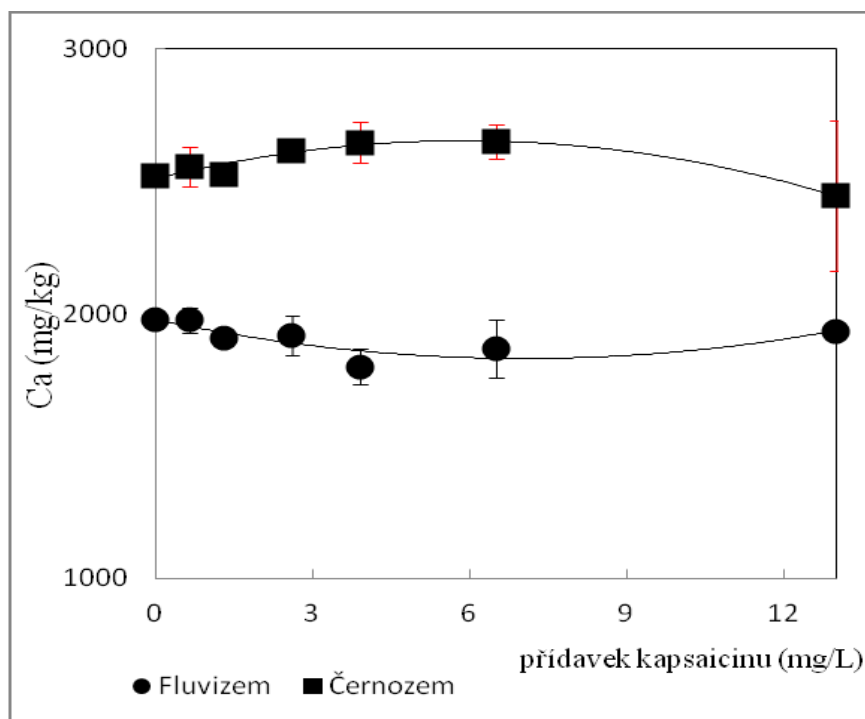


5.2.2.8 Vápník

Vyšších hodnot Ca dosahovaly v sorpčním pokusu s kapsaicinem vzorky půd s černozemí, stejně jako u sorpčního pokusu s denatonium benzoátem. Z grafu bylo viditelné, že Ca ionty reagovaly v každém z půdních typů rozdílně. Ve fluvizemi bylo možné sledovat nejdříve snížení a se stoupajícími koncentracemi kapsaicinu zvýšení obsahu Ca, v černozemi dosahoval trend vývoje opačných hodnot.

Korelační koeficient pro fluvizem vyšel v hodnotách nepřímé korelace $r = -0,29$, tendence byla spíše pro negativní vliv kapsaicinu na obsah Ca. Pro černozem vyšel také korelační koeficient v nepřímé závislosti, a to v hodnotě $r = -0,3$. Je tedy možné uvažovat v podobné působení kapsaicinu na obsahy Ca v různých půdních materiálech. Závislost obsahu mobilního vápníku na koncentraci kapsaicinu je znázorněna v grafu 24.

Graf. 24 Závislost obsahu mobilního vápníku na koncentraci kapsaicinu

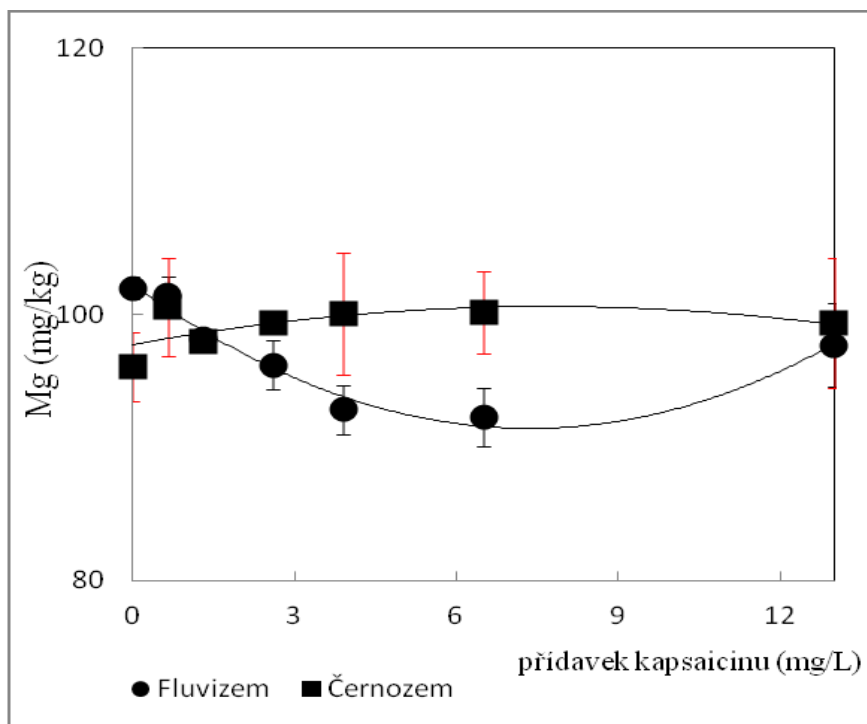


5.2.2.9 Hořčík

Obsah sorbovaného hořčíku v experimentu s kapsaicinem převažoval ve variantě s černozemí, kdy se hodnoty pohybovaly podobně jako u varianty s denatonium benzoátem. Z grafu bylo viditelné, že obsah kapsaicinu ve fluzemi měl spíše negativní vliv na obsah půdního Mg, čemuž nasvědčuje i výsledek korelačního koeficientu, který vyšel v hodnotě nepřímé závislosti $r = -0,4$. Nebyla tedy statisticky prokázána závislost kapsaicinu na obsahu Mg, ale je možné v to uvažovat. V černozemi se dle grafu projevil opačný jev, zvýšené koncentrace kapsaicinu měly pozitivní vliv na obsah Mg v půdě, avšak ani tato domněnka nebyla statisticky potvrzena, korelační koeficient vyšel v hodnotě přímé závislosti $r = 0,33$. Závislost obsahu mobilního hořčíku na koncentraci kapsaicinu je znázorněna v grafu 25.

V obou z provedených pokusů s denatonium benzoátem ani s kapsaicinem se statisticky nepotvrdily žádné pozitivní ani negativní účinky těchto látek na obsah sorbovaného Mg. Větší potenciál v pozitivním působení vykazoval denatonium benzoát, u kterého se hodnota korelace pohybovala v hodnotách přes 50 %.

Graf. 25 Závislost obsahu mobilního hořčíku na koncentraci kapsaicinu



5.3 Biodostupné koncentrace prvků stanovené technikou DGT

Hmotnostním spektrometrem s indukčně vázaným plazmatem byly stanoveny koncentrace prvků, které byly následně přepočítány podle příslušných vzorců na živiny potencionálně dostupné pro kořenový systém rostlin. Vzhledem k tomu, že difúzní koeficienty potřebné pro výpočet přístupných živin jsou podle www.dgtresearch.com zatím stanoveny pouze pro těžké kovy v půdách, byly stanoveny biodostupné koncentrace živin pouze pro Fe, Cu, Mn a Zn. Mezi jednotlivými koncentracemi repelentů (denatonium benzoát, kapsaicin) a koncentracemi prvků byly v obou půdních typech stanoveny Pearsonovy korelační koeficienty r ke stanovení případné závislosti.

5.3.1 Železo

Tab. 14 Biodostupné koncentrace Fe v půdách s přidavkem denatonium benzoátu (DB) a kapsaicinu (K) v $\mu\text{g/L}$

| Repellent | Půda | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. |
|-----------|----------|------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | koncentrace (kontrola) | koncentrace | koncentrace | koncentrace | koncentrace | koncentrace | koncentrace |
| | | 0 mg/L | 10 mg/L | 25 mg/L | 50 mg/L | 75 mg/L | 100 mg/L | 150 mg/L |
| DB | černozem | 15.5±0.3 | 35.6±1.7 | 17.2±6.5 | 13.6±0.7 | 32.3±22.6 | 20.6±11.5 | 12.8±1.7 |
| | fluvizem | 22.1±4.6 | 6.35±1.57 | 8.75±4.01 | 16.4±3.1 | 9.49±1.55 | 9.34±1.33 | 7.91±3.35 |
| K | černozem | 16.3±1.8 | 5.93±0.13 | 0.64±0.13 | 19.2±6.9 | 28.6±5.8 | 9.63±4.87 | 2.83±0.43 |
| | fluvizem | 14.9±0.4 | 7.94±0.39 | 6.46±0.90 | 7.18±2.00 | 17.5±4.8 | 17.3±2.7 | 25.5±7.4 |

Jak je možné odhadnout z tabulky 14, obecně se vyšší koncentrace dostupného Fe pohybovaly v černozemi oproti fluvizemi. Denatonium benzoát měl v obou půdních typech spíše tendenci snižovat obsahy biodostupného Fe. Závěr dokazuje i hodnota korelačních koeficientů, jež pro černozem vyšla v hodnotě $r = -0,26$, tedy byla naznačena mírná nepřímá závislost, která ale nebyla statisticky dostatečně potvrzena. Hodnota koeficientu pro fluvizem $r = -0,42$ již naznačovala vyšší korelace mezi denatonium benzoátem a obsahem Fe přístupného pro rostliny, ale tato hodnota rovněž nebyla statisticky významná. Souhrnně je tedy možné tvrdit, že denatonium benzoát má v půdních typech tendenci snižovat biodostupné koncentrace železa.

V případě kapsaicinu a obsahu přístupných forem Fe se jeho případný vliv projevil odlišně v obou půdních typech, což naznačují hodnoty z tabulky 14, kde je na první pohled

patrný zejména pozitivní vliv kapsaicinu ve fluvizemi. Korelační koeficient v černozemi vyšel v hodnotě nepřímé závislosti $r = -0,24$. Korelační koeficient pro fluvizem vyšel naopak v hodnotě přímé závislosti $r = 0,83$, která byla tímto vysokým číslem statisticky potvrzena. Z výsledků pokusu je tedy možné usuzovat v pozitivní vliv kapsaicinu na obsahy přístupných forem Fe ve fluvizemi.

5.3.2 Měď

Tab. 15 Biodostupné koncentrace Cu v půdách s přidavkem denatonium benzoátu (DB) a kapsaicinu (K) v $\mu\text{g/L}$

| Repellent | Půda | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. |
|-----------|----------|------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | koncentrace (kontrola) | koncentrace | koncentrace | koncentrace | koncentrace | koncentrace | koncentrace |
| | | 0 mg/L | 10 mg/L | 25 mg/L | 50 mg/L | 75 mg/L | 100 mg/L | 150 mg/L |
| DB | černozem | 0.888±0.118 | 1.24±0.08 | 1.16±0.04 | 0.873±0.010 | 2.65±0.27 | 1.01±0.01 | 1.05±0.10 |
| | fluvizem | 4.05±0.09 | 3.60±0.08 | 3.87±0.57 | 4.99±1.31 | 3.35±0.36 | 3.80±0.47 | 3.61±0.04 |
| K | černozem | 0.909±0.010 | 0.895±0.045 | 1.02±0.19 | 0.972±0.031 | 0.978±0.092 | 0.983±0.106 | 0.930±0.016 |
| | fluvizem | 5.43±1.16 | 4.03±0.30 | 4.11±0.08 | 3.63±0.01 | 4.11±0.28 | 3.87±0.40 | 3.95±0.16 |

Tabulka 15 zobrazuje celkové hodnoty biodostupné mědi. Na rozdíl od železa se vyšší obsahy Cu vyskytovaly ve fluvizemi v případě obou typů repelentů. Z tabulky je možné odhadnout spíše negativní působení denatonium benzoátu i kapsaicinu na obsahy přístupné Cu v obou půdních typech. Korelační koeficient pro denatonium benzoát v černozemi vyšel v hodnotě $r = 0,11$, tedy v mírné přímé závislosti. Korelace mezi hodnotami Cu ve fluvizemi a denatonium benzoátem vyšla v hodnotě $r = -0,25$. Zde byla tedy naopak naznačena nepřímá závislost, která nebyla opět statisticky potvrzena.

Kapsaicin se v daných půdách projevil obdobně. Korelační koeficient pro černozem opět v hodnotě velice mírné přímé závislosti $r = 0,02$, kdy můžeme říci, že statisticky nebyla dokázána téměř žádná korelace mezi těmito jevy. Výsledná hodnota korelace pro fluvizem v nepřímé závislosti $r = -0,40$ také statisticky neprokázala vzájemný vliv mezi koncentracemi kapsaicinu a Cu, celkem vysoké číslo koeficientu tomu však naznačuje. Je tedy možné tvrdit, že kapsaicin má ve fluvizemi potenciálně spíše negativní vliv na obsah přístupných forem Cu.

5.3.3 Mangan

Tab. 16 Biodostupné koncentrace Mn v půdách s přidavkem denatonium benzoátu (DB) a kapsaicinu (K) v µg/L

| Repellent | Půda | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. |
|-----------|----------|------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | koncentrace (kontrola) | koncentrace | koncentrace | koncentrace | koncentrace | koncentrace | koncentrace |
| | | 0 mg/L | 10 mg/L | 25 mg/L | 50 mg/L | 75 mg/L | 100 mg/L | 150 mg/L |
| DB | černozem | 4.01±0.15 | 2.58±0.38 | 4.72±1.62 | 6.94±0.49 | 8.63±0.25 | 5.11±0.45 | 7.61±0.26 |
| | fluvizem | 41.2±0.1 | 41.3±0.5 | 59.8±7.6 | 57.4±7.3 | 48.2±4.6 | 60.5±4.4 | 73.3±2.1 |
| K | černozem | 0.75±0.05 | 0.66±0.05 | 0.83±0.01 | 0.86±0.11 | 1.25±0.25 | 1.02±0.22 | 0.90±0.03 |
| | fluvizem | 71.9±6.1 | 69.3±4.4 | 83.0±13.6 | 69.5±0.3 | 117±13 | 91.4±6.0 | 120±5 |

Při srovnání hodnot z tabulky 16 je zřejmé, že mnohonásobně vyšší koncentrace biodostupných forem Mn se pohybovaly ve fluvizemi oproti černozemi, v desetinásobných až stonásobných hodnotách. Vysoké mobilní hodnoty Mn ve fluvizemi mohou být způsobeny nízkou sorpční kapacitou této půdy, která má za následek vyšší mobilitu prvků, jak bylo u této půdy prokázáno v předchozích pokusech (Pupíková et al., 2012; Tremlová et al., 2013).

Z tabulky je možné odhadovat pozitivní vliv denatonium benzoátu i kapsaicinu na obsah přístupných forem Mn v obou půdních typech, zejména však ve fluvizemi. Korelační koeficient v černozemi s přidavkem denatonium benzoátu v hodnotě $r = 0,68$ svědčí o závislosti, hodnota koeficientu $r = 0,83$ pro fluvizem naznačuje potenciálně vysokou přímou závislost mezi obsahem denatonium benzoátu a koncentrací biodostupných forem Mn v této zemině, která byla statisticky potvrzena.

Kapsaicin se jako přídavek projevil méně výrazně z hlediska statistické korelace mezi půdním typem a koncentrací Mn. Korelační koeficient pro černozem vyšel v hodnotě přímé závislosti $r = 0,36$, korelační koeficient pro fluvizem v hodnotě $r = 0,78$, pro fluvizem byla tedy jako ve variantě s denatonium benzoátem statisticky prokázána přímá závislost, která říká, že zvyšující se koncentrace repelentních látek mají za následek zvyšující se obsahy přístupného Mn ve fluvizemi.

5.3.4 Zinek

Tab. 17 Biodostupné koncentrace Zn v půdách s přidavkem denatonium benzoátu (DB) a kapsaicinu (K) v µg/L

| Repellent | Půda | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. |
|-----------|----------|------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | koncentrace (kontrola) | koncentrace | koncentrace | koncentrace | koncentrace | koncentrace | koncentrace |
| | | 0 mg/L | 10 mg/L | 25 mg/L | 50 mg/L | 75 mg/L | 100 mg/L | 150 mg/L |
| DB | černozem | 5.08±0.47 | 6.84±0.50 | 5.58±0.54 | 4.48±0.68 | 9.59±0.93 | 5.70±0.57 | 4.67±0.37 |
| | fluvizem | 10.1±0.0 | 8.55±0.53 | 8.46±1.36 | 12.4±3.9 | 9.15±1.87 | 12.6±3.6 | 8.12±0.88 |
| K | černozem | 5.45±0.92 | 5.66±0.90 | 4.27±1.17 | 7.05±0.34 | 7.08±0.14 | 4.96±2.35 | 4.54±0.50 |
| | fluvizem | 51.2±11.0 | 49.2±5.7 | 38.2±2.7 | 50.8±20.9 | 50.2±13.9 | 29.2±4.1 | 37.5±0.4 |

Tabulka 17 nám demonstruje celkové obsahy přístupných forem Zn v černozemi a fluvizemi s přidavkem repelentních látek, denatonium benzoátu a kapsaicinu. Z tabulkových hodnot je zřejmé, že vyšší obsahy dostupného Zn vykazovala fluvizem oproti černozemi. Pravděpodobné důvody tohoto rozdílu jsou diskutovány již v případě manganu. Z tabulky i z grafů je na první pohled špatně odhadnutelný vliv obou repelentních látek. Denatonium benzoát měl v nižších hodnotách koncentrace tendenci obsahy dostupných prvků zvyšovat, ve vyšších koncentracích naopak snižovat v obou půdních typech. V případě kapsaicinu je vidět nepatrný negativní vliv vyšších koncentrací na koncentraci Zn, a to zejména ve fluvizemi.

Korelační koeficient pro denatonium benzoát v černozemi vyšel v hodnotě $r = -0,06$, z hodnoty je tedy patrná téměř nulová korelace, jen s velmi mírným náznakem nepřímé závislosti. Korelace mezi denatonium benzoátem a hodnotou Zn ve fluvizemi vyšla v hodnotě $r = 0,03$, opět je tedy statisticky prokázána téměř nulová korelace s opačným výsledkem oproti černozemi v hodnotě velmi mírné přímé závislosti.

Korelační koeficienty pro kapsaicin se již projevily ve vyšších hodnotách, oba v záporných číslech. Korelační koeficient pro černozem vyšel v hodnotě nepřímé závislosti $r = -0,3$, koeficient pro fluvizem v hodnotě $r = -0,57$. Je tedy obecně možné usuzovat v negativní vliv kapsaicinu na hodnoty biodostupných forem Zn.

6 Diskuze

V diplomové práci byly představeny dvě odlišné repelentní látky, denatonium benzoát a kapsaicin, jejichž účinky a působení proti nechtěnému pozření rostlin zvíředy jsou již doloženy v mnoha studiích. V USA jsou tyto látky již nezbytnou součástí komerčních repelentních prostředků, v České republice je zatím komerční a povolené prostředky na ochranu lesa neobsahují.

V případě používání repelentů s obsahem denatonium benzoátu a kapsaicinu na ochranu rostlin proti okusu hrozí riziko potenciálního dostupu do půdy, ať už v případě vymývání při aplikaci na povrch rostlin, nebo přímého kontaktu s půdním systémem v případě zapracování repelentních látek do půdy spolu s hnojivem. Aplikace cizích látek do půdy může narušit přirozený koloběh živin probíhající mezi půdou a rostlinou. Na základě tohoto faktu byly provedeny výzkumy, které měly objasnit vzájemné interakce mezi jednotlivými repelenty a půdními živinami.

6.1 Hydroponický pokus

Doposud je známo 92 prvků, které se vyskytují v prostředí okolo nás, ale pouze 60 z nich můžeme najít v rostlinách. Většina z nich navíc dosud nebyla prokázána jako esenciální pro rostliny, v současnosti je pouze pro 17 prvků, u kterých byla zjištěna esenciálnost, ale přesto je většina z nich přirozeně sorbována kořeny rostlin bez dalšího omezení ve vývoji. Rostliny si však do určité míry mohou vybírat, jaké elementy propustí, takže absorpce není povětšinou ovlivněna pouze přítomností prvku a volnou difúzí. Jednotlivé druhy rostlin se liší ve schopnosti sorpce prvků (Resh, 2013). Jednou z rostlin, která má schopnost sorbovat (akumulovat) široké spektrum prvků s vyššími koncentracemi bez případných fyziologických změn je právě rod *Salix* (Mališová et al., 2010, Puschenreiter et al., 2013).

V hydroponickém pokusu se *Salix x smithiana* a přidavkem denatonium benzoátu v různých koncentracích byly po dobu 3 měsíců pravidelně odebírány a měřeny obsahy jednotlivých živin. Teoretické celkové odběry živin byly odhadovány naměřenou hodnotou pH a vodivosti, kdy se nižším hodnotám přiřkládal vyšší odběr živin rostlinou a naopak.

Z výsledků bylo zřejmé, že v průběhu pokusu docházelo k pravidelnému odběru živin, což se projevilo přírůstkem nadzemních částí biomasy. Přesná přímá detekce živin v hydroponii by již brzy mohlo probíhat elektronicky, Rius-Riuz et al. (2014) vymysleli novou analytickou počítačovou platformu k detekci a dávkování optimálních dávek jednotlivých živin pro rostliny v hydroponii, která pracuje na základě selektivních detekčních elektrod pro jednotlivé prvky, které měří koncentrace živin.

Z hydroponického roztoku byly stanoveny koncentrace P, S, Fe, Cu, B, Mn, Zn pro jednotlivé odběry. Prvky byly následně vyhodnoceny pomocí testu jednofaktorová ANOVA ke zjištění, zdali se liší průměrné hodnoty daného prvku mezi jednotlivými koncentracemi denatonium benzoátu. Byla stanovena nulová hypotéza ve znění, že průměry daného prvku se nemění mezi jednotlivými koncentracemi denatonium benzoátu, tedy že jednotlivé průměry koncentrací nejsou závislé na hodnotě repelentu. Tato hypotéza byla potvrzena u P, Fe, Cu, B, Mn, Zn.

Naměřené hodnoty síry se v jednotlivých odběrech a koncentracích denatonium benzoátu měnily průběhu pokusu. Velké kolísání hodnot potvrdily i hodnoty směrodatných odchylek, které se v případě S pohybovaly ve vysokých číslech. Nelineární odběry mezi jednotlivými variantami s rozdílnými koncentracemi denatonium benzoátu byly statisticky potvrzeny. U síry vyšel rozdíl rozptylu mezi výběry a rozptylu uvnitř výběrů téměř ve dvojnásobných hodnotách. Pro síru bylo tedy možné použít tvrzení, že denatonium benzoát ovlivnil koncentrace S s pravděpodobností 95 %. Po provedení dvouvýběrových t-testů s rovností rozptylů mezi jednotlivými koncentracemi byl shledán statisticky významný rozdíl mezi 4 koncentracemi, z nichž u 3 z nich byl statistický rozdíl velmi významný. Mezi prvními koncentracemi 0 mg/L a 50 mg/L byl shledán statistický rozdíl ($p < 0,05$), mezi koncentracemi 10 mg/L a 50 mg/L, 50 mg/L a 100 mg/L, 50 mg/L a 150 mg/L byl shledán dokonce velmi významný statistický rozdíl ($p < 0,01$). Mezi těmito 4 koncentracemi denatonium benzoátu byl shledán vliv repelentu na výsledné hodnoty síry v jednotlivých odběrech.

V případě fosforu nedocházelo během doby pokusu k výraznějším odběrům P, i když je jednou z klíčových makroživin, potřebných k optimálnímu růstu (Marschner, 1995). Statistické testování pomocí testu jednofaktorové ANOVA nepotvrdilo souvislost mezi

koncentracemi denatonium benzoátu a obsahem P, tedy denatonium benzoát se neprojevil jako inhibitor příjmu P.

Průměrné koncentrace železa se v rámci pokusu pohybovaly v obdobných hodnotách, kromě 2. odběru, kde byly stanoveny mnohonásobně vyšší koncentrace oproti 1. odběru, nejvíce u varianty s obsahem repelentu 10 mg/kg, kde hodnota stoupla až šestinásobně, to můžeme přisuzovat potenciální kontaminaci vzorku při manipulaci. Navzdory rozličným hodnotám ani u Fe nebyla statisticky potvrzena souvislost mezi koncentrací denatonium benzoátu a obsahem prvku.

Z grafů průměrných hodnot mědi bylo patrné, že k většímu odběru Cu došlo až ve 2. fázi pokusu, v posledních třech měřeních, což se projevilo snížením naměřených hodnot. Statistická významnost mezi koncentracemi denatonium benzoátu a koncentrací Cu také nebyla prokázána.

Hodnoty bóru patřily v hydroponickém pokusu k jedněm z nejstabilnějších. Kromě 2. odběru, kde zejména v koncentraci 50 mg/L hodnoty mírně vzrostly, se B pohyboval v přibližně stejných hodnotách, nedocházelo k výraznějším úbytkům odběrem. Malé směrodatné odchylky značily minimální vychýlení hodnot od průměru. Jak bylo možné usuzovat již z grafu, mezi jednotlivými koncentracemi denatonium benzoátu a hodnotami B nebyla statisticky prokázána souvislost.

U manganu bylo možné celou dobu pokusu ve většině variant sledovat mírný pokles hodnot, výjimkou byl 5. odběr, kdy ve všech variantách došlo k mnohonásobnému navýšení koncentrací, nejpravděpodobněji z důvodu kontaminace při manipulaci se vzorky. Denatonium benzoát v případě Mn také nebyl statisticky potvrzen jako zdroj výchylek hodnot.

Netypická situace nastala v případě zinku, kdy se průměrné hodnoty Zn pohybovaly v celém pokusu v obdobných hodnotách, pouze ve 3. odběru došlo ve všech variantách k rapidnímu poklesu hodnot, nejpravděpodobněji odběru vrbou. Ani pro poslední měřený prvek v rámci hydroponie, Zn, nebyla statisticky prokázána souvislost mezi koncentrací denatonium benzoátu a koncentrací Zn ve vodném roztoku.

Příjem jednotlivých živin úzce souvisí s hodnotou pH. U Fe, Cu, Mn a Zn klesá dostupnost, pokud se pH zvýší z hodnoty 6,5 na hodnotu 7,5. Pro P je tomu právě opačně (Resh, 2013). Godo a Reisenauer (1980) ve své práci uvedli, že Mn je nejlépe dostupný při pH menší než 5,5. Jelikož denatonium benzoát a jeho roztoky mají neutrální pH, v našem případě byla hodnota pH zásobního roztoku v hodnotě 7,1, nepředpokládá se výrazný vliv denatonium benzoátu na změnu hodnoty pH při jeho dodání do půdních roztoků a změnu dostupnosti prvků pro rostlinu.

Přídavek denatonium benzoátu do vodných roztoků by naopak mohl mít pozitivní vliv na výskyt mikroorganismů. Kyselina benzoová, jejíž sůl denatonium benzoát obsahuje, je známá pro své antioxidační, antimikrobiální a konzervační účinky (Davídek et al., 1983). Denatonium benzoát by tak mohl být použit k eliminaci případných patogenů, zejména v hydroponii, kde je napadení mikroorganismy jedním z největších rizik uzavřených systémů hydroponií (Stanghellini, 1994). V našem pokusu se *Salix x smithiana* bylo pozorováno menší napadení hnilobou u variant s vyšší koncentrací denatonium benzoátu, proto je tedy možné denatonium benzoátu přičítat antimikrobiální význam. Anjum et al. (2013) zkoumali vliv kyseliny benzoové na rostliny sóji vystavené abiotickému stresu ze sucha. Bylo dokázáno, že kyselina benzoová částečně nahradila vodu a pomohla tak rostlině ve fotosyntéze a ke zvýšení dalších fyziologických jevů, jako je výměna plynů, tvorba chlorofylu atd. Kabiri et al. (2014) dokázali podobné výsledky s kyselinou salicylovou u černuchy seté (*Nigella sativa*).

Premuzic et al. (1998) porovnávali obsahy P, K, Ca a Fe v rajčatech při pěstování v hydroponickém roztoku a v organickém substrátu. V případě P nedošlo k výrazným rozdílům při pěstování v hydroponii a směsi vermikompostů. Prokazatelně více obsahů Fe v tělech rajčat dosahovaly kusy pěstované v hydroponii. Z toho je tedy možné usuzovat, že hydroponie se jeví jako dostatečně vhodné živné médium pro pěstování, kde chceme docílit vyšších odběrů živin.

6.2 Půdní sorpční experiment

Denatonium benzoát i kapsaicin jsou látky hojně využívané v USA jako součást registrovaných repelentních přípravků proti okusu zvěří s dostatečně prokázanými účinky (Trent et al., 2001), tyto látky zatím nejsou v České republice registrovány jako repelentní

proti okusu zvířít a dosud nebyly provedeny žádné výzkumy, které by demonstrovaly chování těchto látek v půdách ve vztahu k půdním živinám.

V experimentálním sorpčním modelu byl sledován vliv potenciálních repelentních látek (denatonium benzoátu a kapsaicinu) na mobilní obsahy P, S, B, Fe, Cu, Mn, Ca, Mg, Zn ve 2 půdních typech, černozemi a fluvizemi.

Mobilita prvku je hlavním faktorem dostupnosti prvku pro rostliny, závisí zejména na redox potenciálu a hodnotě pH, obsahu organické hmoty a jílových minerálů. Redox potenciál je důležitý zejména pro prvky, které se vyskytují ve více než v jednom oxidačním stavu, v našem případě zejména pro Fe, Cu, Mn (Kabata-Pendias a Pendias, 2001). Mobilní prvek je takový, který je celkově rozpustný, bez ohledu na anorganické i organické formy (Matula, 2012).

Jak už bylo několikrát v práci zmíněno, denatonium benzoát v krystalické podobě má neutrální pH v hodnotě od 6,5 do 7,5 a výsledná hodnota pH závisí na rozpouštědle. V našem případě byla použita demineralizovaná voda, která má neutrální charakter, proto se hodnota výsledného roztoku pohybovala také v neutrálním čísle, přesně v hodnotě 7,1. Pro výsledný roztok kapsaicinu byla naměřena hodnota pH 6,95. Oba roztoky se pohybovaly v rozmezí neutrálních hodnot. Z tohoto důvodu tedy nelze předpokládat významnou změnu pH při aplikaci obou látek v půdách (černozemi, fluvizemi).

Celkově vyšší obsahy mobilních forem sledovaných prvků se vyskytly ve fluvizemi, která má obecně nižší sorpční schopnost oproti černozemi. Námi sledovaná fluvizem z Píšťan měla sorpční kapacitu v hodnotě 201 mmol/kg, tedy střední sorpční schopnost, která však byla téměř o pětinu nižší v porovnání s černozemí ze Suchdola, která měla stanovenou vysokou sorpční schopnost v hodnotě 255 mmol/kg s velkým potenciálem zadržnosti iontů prvků. Obecně jsou prvky lépe vázány v těžších půdách, s neutrálním až alkalickým charakterem. Hodnota pH černozemě byla stanovena na 7,2, pH pro fluvizem v hodnotě 6,8, černozem měla tedy větší předpoklad pro zadržnost prvků. Sager (2004) uvádí, že kyselější reakce je ve svrchních vrstvách, kde dostatečnou aerací dochází k tvorbě CO₂, který má kyselý charakter. Černozemě jsou obecně známé svojí vysokou hodnotou organické hmoty a tím i sorpční schopností, která má za následek zadržnost iontů a sníženou mobilitu prvků (Vopravil et al., 2009).

Organická hmota je tvořena nehumusovými a humusovými látkami. Zadržnost je způsobena jednou z humusových látek, huminovými kyselinami. Huminové kyseliny mohou imobilizovat prvky v kyselém prostředí a snižovat tak jejich obsah v roztoku, protože jsou nerozpustné v neutrálním až kyselém prostředí. Fulvokyseliny a další nízkomolekulární organické kyseliny jsou naopak rozpustné při nižší hodnotě pH a mohou tedy naopak mobilizovat prvky, která byly imobilizována a zvyšovat tak poměr mobilních obsahů prvků. V kyselém prostředí mohou tvořit kovy s fulvokyselinami komplexy (cheláty), které je chrání před případnou adsorpcí, vysrážením (Borůvka a Drábek, 2002; Kabata-Pendias a Pendias, 2001).

Černozem i fluvizem patří mezi humózní půdy s dobrou pufrací schopností, které pomáhá i adsorpčně nasycený humus. Je-li silně nasycen výměnnými bázemi (Ca^{2+} , Mg^{2+}), snadno odstraňuje vznikající kyselost výměnnou bází za ionty vodíku půdního roztoku. Alkalitu naopak neutralizuje tím, že disociací svých kyselých skupin uvolní H^+ do půdního roztoku, kde spolu s OH^- vytvoří málo disociovanou vodu (Jandák, 2007).

Mobilitu látek ovlivňují také jílové minerály, v nichž se jednotlivé prvky mohou poutat. Vazba se dělí na výměnnou, z níž mohou být prvky opět uvolňovány do vodného roztoku a nevýměnnou (fixní), ve které jsou prvky trvale poutány. Mobilita denatonium benzoátu může být ovlivněna přítomností jílových minerálů. Crosson a Sandmann (2013) provedli studii, která se týkala adsorpce denatoniového kationtu na jílové minerály smektity, které jsou díky van der Waalsovým silám schopny poutat další částice a často se tak používají jako adsorbant, např. kontaminovaných oblastí. Do skupiny smektitů patří nejdůležitější zástupce – montmorillonit. Testování probíhalo na třech různých typech montmorillonitu a všechny byly vyhodnoceny jako dostatečně vhodné adsorbenty. Smektit tedy můžeme považovat za vhodný adsorbér v případě úniku látek s obsahem denatonium benzoátu, ke kterým by mohlo docházet vzhledem k tomu, že denatonium se používá v řadě prostředků v domácnostech a v ochraně přírody. Crosson et al. (2013) prozkoumali také sorpci denatoniového kationtu na jílové minerály kaolinity. Kaolinity jsou minerály, které jsou součástí kaolínu, horniny, která se užívá k výrobě keramiky. Bylo zjištěno, že denatoniový kationt je schopný se sorbovat na kaolinity a že nejvyšší sorpce probíhá při nižší hodnotě pH, okolo 4. Při případných větších únicích denatonium benzoátu do půdy či vodních prostředí by montmorillonity a kaolinity mohly sloužit jako vhodný a účinný adsorbér. Kaolinity by navíc mohly být použity jako vhodné adsorpční médium v kyselém prostředí.

Mobilita kapsaicinu v půdách již byla studována jinými autory. Sterner et al. (2002) vydali studii, která se zabývala schopností perzistence kapsaicinu v hlinitopísčítých půdách. Po 28 dní byly půdy s pěti různými koncentracemi kapsaicinu exponovány přirozenému prostředí, včetně závlahy. Měření bylo provedeno spektrofotometricky na základě absorbance, která demonstrovala množství kapsaicinu v jednotlivých dnech. Bylo prokázáno, že kapsaicin dokáže v hlinitopísčítých půdách přetrvat déle než 28 dní, přičemž lepší perzistence byla dokázána v sušších podmínkách. V navazujícím experimentu pak Sterner a Kimball (2005) studovali mobilitu kapsaicinu v hlinitopísčítých půdách. Bylo zjištěno, že kapsaicin má v těchto půdách minimální pohyblivost, mobilita je v hlinitopísčítých půdách malá, vyšší koncentrace byly naměřeny ve vyšších vrstvách půdy.

Z provedených pokusů bylo zřejmé, že testované látky ovlivnily mobilitu některých prvků v obou půdních typech v pozitivním i negativním směru. Lze shrnout, že z hlediska statistické významnosti se v sorpčních pokusech lépe osvědčil denatonium benzoát, který ovlivnil 6 korelací, z toho 2 korelace nepřímé závislosti a 4 korelace přímé závislosti. Negativní působení se projevilo zejména mezi denatonium benzoátem, sírou a mědí.

V sorpčním pokusu byly síra a měď jediné 2 prvky, pro které byl statisticky prokázán rozdíl průměrných hodnot mezi jednotlivými koncentracemi repelentu. Pro oba prvky byla nepřímá korelace prokázána v černoze. Výsledný korelační koeficient vyšel v hodnotě $r = -0,77$ pro S a pouze v hodnotě menší o jednu setinu, $r = -0,76$ pro Cu. Můžeme tedy považovat černoze za půdní typ, kde s případným přídatkem denatonium benzoátu do hnojiv při aplikaci repelentu bude v menší či větší míře potlačen obsah mobilní síry a mědi.

Síra se v půdě špatně sorbuje na půdní koloidy, často je z půdy vyplavována (Vaněk et al., 2012). Síra navíc patří k jedněm z mála prvků, které jsou rozpustné téměř při jakékoliv hodnotě pH. Půdní zásoby síry pocházejí nejčastěji z lehce rozložitelných organických látek, její uvolňování je tedy závislé na rychlosti rozkladu organické hmoty. Mineralizace S probíhá nejlépe mezi pH 6 – 8 a představuje zpřístupnění síry pro rostliny. V půdách s pH vyšším než 8 je většina mobilní síry anorganického původu. Nedostatek přístupné a tím i mobilní síry v posledních letech můžeme přisuzovat nedostatku z atmosférických depozic, které byly před masivním odsířením elektráren hlavním zdrojem dostupné síry (Kulhánek et al. 2012).

Menší podíl mobilní mědi v půdách potvrdili McLaren et al. (1981) kteří dokázali, že Cu se přednostně sorbuje na organické částice v jílovitých hrubozrnných frakcích. Silná vazba následně omezuje mobilitu prvku. Se stoupajícím obsahem půdní organické hmoty se snižuje uvolnitelnost, klesající pH naopak zvyšuje dostupnost (Sanders, 1982, Shuman, 1979).

Zvýšení mobility mědi je tedy možné dosáhnout snížením hodnoty pH, mírnou acidifikací půdy, např. kyselinou octovou, jablečnou. Avšak přílišná změna pH a kyselé prostředí by mohlo naopak vést k nadměrnému uvolnění Cu a tím k potenciální toxicitě pro organismy.

Pozitivní korelace se v pokusu s denatonium benzoátem projevily ve čtyřech případech, týkaly se však pouze 2 prvků. Denatonium benzoát měl velmi příznivý vliv na obsahy mobilního manganu a vápníku. S jeho přidavkem do roztoku byly statisticky prokázány vyšší obsahy pro mangan a vápník v obou půdních typech, u těchto 2 prvků spolu s denatonium benzoátem můžeme téměř mluvit o synergismu. Pro mangan ve fluvizemi vyšel výsledný koeficient v hodnotě $r = 0,87$, koeficient pro černozem v hodnotě $r = 0,79$. Vápník koreloval v obou půdních typech ve stejných hodnotách $r = 0,8$. Statisticky významný vliv repelentu na obsahy mobilního manganu se navíc projevily i ve fluvizemi s přidavkem kapsaicinu. Z toho bylo možné usoudit, že případné aplikace denatonium benzoátu ve fluvizemi a v černozemi by nesnižovaly, ba naopak zvyšovaly celkové obsahy dostupných manganových a vápenatých iontů v těchto půdních typech. Navíc lze prohlásit, že případné koncentrace denatonium benzoátu i kapsaicinu aplikovaných v hnojivech by se pozitivně projevily na mobilní obsahy manganu v různých půdních typech.

Kapsaicin se v černozemi a fluvizemi prokázal v méně negativním i pozitivním smyslu oproti denatonium benzoátu. Účinnost kapsaicinu byla statisticky ověřena ve 3 případech, z toho se 1 případ týkal nepřímé závislosti a 2 případy přímé závislosti. Nepříznivý vliv kapsaicinu na mobilní obsahy Fe byl statisticky prokázán ve fluvizemi, kdy výsledný korelační koeficient vyšel v hodnotě $r = - 0,82$. V tomto jediném případě byl statisticky prokázán negativní vliv působení kapsaicinu na obsahy prvků v půdě. Vliv zvýšených hodnot koncentrací kapsaicinu na snížené hodnoty Fe v půdách byl statisticky prokázán pouze pro fluvizem, ale nebylo vyloučeno ani negativní působení na jiné půdní typy, kdy pro námi sledovaný druhý půdní typ, černozem, vyšla hodnota korelačního koeficientu $r = - 0,6$.

Je tedy možné uvažovat v negativní vliv kapsaicinu na obsah mobilního železa při případných aplikacích spolu s hnojivem do půdních systémů.

Většina humóznějších půd s dostatkem závlahy má tendence k poklesu pH. Pokles půdního pH může být způsoben vymýváním bází v důsledku dostatečného zásobování vodou. Poklesem půdního pH může dojít ke zvýšení rozpustnosti kationtů jako je hliník, železo, mangan a ke zvýšení jejich mobilních podílů v půdách (Vaněk et al., 2012). Vhodným prostředkem ke zvýšení mobility železa po přidavku kapsaicinu by se v prvním případě mohlo stát především dostatečné zásobení vodou, kdy kationt H^+ sníží půdní pH, případně aplikace okyselujících látek, např. aplikace slabých organických kyselin (jablečná, octová).

Pozitivní působení kapsaicinu se projevilo ve 2 odlišných půdních typech a ve 2 prvcích. Pro oba prvky byla prokázána přímá závislost pouze pro jeden půdní typ, pro měď v černozemi a pro mangan ve fluvizemi. Korelační koeficient mědi byl stanoven na hodnotu $r = 0,94$ a korelace pro Mn = 0,9. Vliv koncentrace kapsaicinu na měď ve fluvizemi a mangan v černozemi se projevil v negativním smyslu, v nepřímé závislosti, která však nebyla potvrzena. V případě mědi ani manganu tedy nelze předpokládat, že při případným aplikacích kapsaicinu do půdy by se zvýšily hodnoty mobilních obsahů v půdách obecně.

Měď a mangan patřily k jediným prvkům, u kterých byla v případě obou repelentů prokázána statistická významnost mezi vzájemnými koncentracemi. Pro měď byla stanovena nepřímá závislost s denatonium benzoátem v černozemi a přímá závislost s kapsaicinem také v černozemi, obecně tedy nelze hodnotit vliv repelentů na obsahy Cu.

Celkově nejlepší výsledky v sorpčním pokusu dopadly pro mangan, pro který byly ověřeny přímé statistické závislosti v případě obou repelentů. U denatonium benzoátu tomu bylo dokonce v obou půdních typech, pro kapsaicin se projevila závislost ve fluvizemi. Mangan se tedy projevil jako prvek, u kterého je potenciálně možné zvýšit jeho dostupné mobilní obsahy přidáním dalších látek do půdního roztoku.

Vysoký obsah mobilního manganu však může být pro rostlinu nebezpečný, zvláště v kyselém prostředí při pH menším než 5,5 (Godo a Reisenauer, 1980), jelikož mangan je po hliníku pro rostlinu druhý nejtoxičtější prvek v kyselém prostředí (Foy, 1992). Mangan má schopnost akumulovat se v rostlině ve vysokých koncentracích, což dokazuje studie Palha

Leite et al. (2014), kteří testovali akumulaci Mn v rostlinách eukalyptu běžného a velmi citlivého druhu. Citlivý druh obsahoval téměř pětinašobně vyšší koncentrace oproti běžnému druhu v hodnotě okolo 3070 mg/kg. Základním, nejlevnějším a nejdostupnějším řešením k omezení mobility prvků, jejichž uvolnitelnost stoupá se snižující se hodnotou pH, stále zůstává vápnění (Podlešáková et al., 1998).

Více mobilních podílů Ca iontů je v půdách žádoucí, jelikož vápník v půdách udržuje optimální podmínky. Větší zastoupení vápníku nacházíme právě na karbonátových půdách, s humóznějším charakterem (McLaughlin a Wimmer, 1999). Vápník je převažujícím prvkem poutaným na půdní koloidy mezi ostatními, nejlépe se váže na organickou hmotu. Vápník by měl dosahovat 60 - 80 % sorpční kapacity v závislosti na typu půd (těžší půdy, vyšší sorpční kapacita). Dostatek Ca iontů je nutný zejména pro udržení půdní struktury (Černý et al., 2013).

Antonius a Kochhar (2009) zkoumali dostupnost rizikových prvků z kontaminované půdy do rostlin paprik rodu *Capsicum*. Kontaminovaná zemina obsahovala 1,5 mg/kg Cu a okolo 2 mg/kg Zn extrahovatelných v kyselině dusičné. Nejnižší koncentrace Cu v hodnotě 9 mg/kg byla nalezena u rostliny s koncentrací kapsaicinu v hodnotě 695 mg/kg a koncentrací dihydrokapsaicinu 315 mg/kg. Nejvyšší koncentrace Cu v hodnotě 111,5 mg/kg byla nalezena u rostliny s koncentrací kapsaicinu 682 mg/kg a koncentrací dihydrokapsaicinu 556 mg/kg. Nejnižší koncentrace Zn v hodnotě 20 mg/kg byla pozorována u rostliny s koncentrací kapsaicinu v hodnotě 288 mg/kg a hodnotou dihydrokapsaicinu 90 mg/kg. Nejvyšší koncentrace Zn v hodnotě 63 mg/kg byla nalezena u rostliny s koncentrací kapsaicinu 487 mg/kg a koncentrací dihydrokapsaicinu 232 mg/kg. Vyšší obsahy Cu i Zn se objevily u rostlin s vyšším obsahem kapsaicinoidů.

6.3 Biodostupné koncentrace prvků stanovené technikou DGT

Koncentrace prvků potenciálně dostupných pro rostliny závisí na fyzikálně chemických parametrech půdy, z nichž nejdůležitější je půdní pH, sorpční kapacita, obsah organické hmoty. Prostupnost prvků do rostliny dále ovlivňují klimatické podmínky a v neposlední řadě také rostlinný druh (Kabata-Pendias a Pendias, 2001). Technika DGT se používá ke zjištění potenciálních koncentrací těžkých kovů, které se dostanou do rhizosféry

a jejich následný příjem rostlinou. Výsledky lépe odrážejí případný příjem rostlinou oproti pouhému stanovení obsahu těžkých kovů ve vodném roztoku (Degryse et al., 2009; Nowack et al., 2004). Jednotlivé prvky se chovají rozličně při odlišných půdních parametrech, stejně tak jako různé rostlinné druhy mají odlišný vliv na kořenový aparát a vyměšování kořenových exudátů. Technika DGT může simulovat vyčerpání zásob jednotlivých prvků v rhizosféře a jejich příjem kořeny rostlin. Následný potenciální odběr prvků rostlinami z roztoku záleží na schopnosti kovů uvolnit se z jednotlivých pevných fází a přechodu na výměnnou a rostlinám dostupnou formu, která je ovlivněna vyměšováním kořenových exudátů (Fischerová et al., 2005).

Vliv denatonium benzoátu v černozemi a fluvizemi se projevil velmi nejednoznačně. Byly stanoveny 4 korelační koeficienty nepřímé závislosti a 4 koeficienty přímé závislosti, z toho 1 koeficient byl statisticky potvrzen. Nepřímá závislost mezi koncentrací denatonium benzoátu a biodostupnými koncentracemi prvku byla stanovena pro železo v obou půdních typech, avšak v hodnotách, které nejsou statisticky průkazné. Velmi nízká hodnota nepřímé závislosti se projevila u Zn v černozemi a u Cu ve fluvizemi, přičemž se u těchto prvků projevila velice mírná korelace přímé závislosti v druhém půdním typu. Nejvýznamnější hodnoty byly pozorovány u manganu, kdy se v obou půdních typech projevila přímá závislost, v případě Mn ve fluvizemi byla statisticky potvrzena závislost koncentrace denatonium benzoátu na koncentraci přístupných obsahů Mn.

Vliv kapsaicinu na obsahy přístupných forem prvků v černozemi a fluvizemi se také jako u denatonium benzoátu projevil velmi různorodě. Byly stanoveny 4 koeficienty nepřímé korelace a 4 koeficienty přímé korelace, z toho 2 koeficienty byly statisticky potvrzeny. Nepřímá závislost se týkala železa v černozemi, mědi ve fluvizemi a zinku, který jako jediný dosáhl hodnot nepřímé závislosti v obou půdních typech. Korelace však vzhledem k nízkým hodnotám nebyly statisticky potvrzeny. Statisticky potvrzená přímá závislost se týkala železa ve fluvizemi a manganu také ve fluvizemi. Pro mangan navíc vyšel koeficient přímé také v černozemi, proto je možné uvažovat v pozitivní účinky kapsaicinu na obsahy biodostupných forem Mn v půdních typech. Nejnižší přímá závislost byla stanovena u mědi v černozemi, kdy se hodnota korelačního koeficientu blížila nule, nebyla tedy stanovena téměř žádná závislost.

Jak již bylo zmíněno v diskuzi o sorpčních pokusech s denatonium benzoátem i kapsaicinem, navzdory tomu, že mangan je mikroesenciálním prvkem pro rostliny, vysoké

koncentrace mohou být pro rostlinu nebezpečné. Jak v případě sorpčních pokusů, tak i v případě použití techniky DGT ke zjištění potenciálních přístupných obsahů prvků pro rostliny se projevilo pozitivní působení obou repelentních látek na obsahy rostlinám přístupného manganu. V případě využití těchto repelentních látek a jejich zapracování spolu s hnojivou do půdy by bylo případně nutné sledovat jejich vliv na obsahy přístupných forem Mn, které by se v případě vyšších koncentrací mohly stát pro rostlinu nebezpečnými.

Vyšší koncentrace biodostupného železa v černoze, navzdory tomu, že černoze má vyšší sorpční schopnost oproti fluvizemi a půdy bohaté na organickou hmotu s vyšší hodnotou pH jsou obecně chudší na mobilní obsahy železa (Marschner, 1995), byly naměřeny průměrně v hodnotě okolo 20 $\mu\text{g/L}$, hodnoty ve fluvizemi se pohybovaly okolo 15 $\mu\text{g/L}$. Vyšší hodnoty biodostupných koncentrací Fe v černoze prokázali také Pupíková et al. (2012), kteří naměřili průměrně v kontrolním, nekontaminovaném vzorku půdy okolo 120 $\mu\text{g/L}$ Fe v černoze, ve fluvizemi okolo 90 $\mu\text{g/L}$ Fe u kontrolního vzorku. Potenciálně mobilní formy Fe stanovené ve výluhu 2 M HNO_3 pro černoze se pohybovaly v hodnotě okolo 2000 mg/kg, pro fluvizem okolo 4500 mg/kg. Celkově bylo v biomase špenátu (včetně kořenů) (*Spinacia oleracea* L.) stanoveno okolo 980 mg/kg Fe v černoze a okolo 600 mg/kg Fe ve fluvizemi. Z výsledků je vidět, že technika DGT lépe odhadla potenciální příjem Fe špenátem z jednotlivých půd oproti konvenčnímu stanovení, ze kterého se na základě vyššího obsahu mobilního Fe ve fluvizemi usuzovalo i ve vyšší příjem Fe rostlinami špenátu pěstovaných na fluvizemi, což zvrátily dosažené výsledky. Technika DGT byla u obou půdních typů v obou pokusech provedena ve stejné metodologii, nižší obsahy naměřených biodostupných koncentrací můžeme přisuzovat příměsi denatonium benzoátu a kapsaicinu, které svou hodnotou pH okolo 7 mohli roztok neutralizovat a tím snížit dostupné koncentrace Fe, které se zvyšují v kyselém prostředí.

Vyšší obsahy biodostupné mědi byly naopak naměřeny ve fluvizemi v průměrných hodnotách okolo 4 $\mu\text{g/L}$, černoze průměrně obsahovala pouze okolo 1 $\mu\text{g/L}$. Pupíková et al. (2012) nestanovovali měď ve svých půdních pokusech, proto nebylo možné porovnat obsahy přístupné mědi v rámci stejných půd.

Huynh et al. (2010) hodnotili pomocí DGT změny biodostupnosti těžkých kovů v biomase vrb a topolů z kontaminované půdy v době před a po remediaci. Při porovnání trendu koncentrace Cu v biomase rostlin a koncentrace biodostupné Cu pomocí techniky DGT

bylo možné vidět linerální trend, kdy se zvyšující se koncentrací prvku naměřeného pomocí DGT se zvyšoval i reálný obsah v biomase. Technika DGT byla v půdě aplikována před samotou fytoremediací i po remediaci. Koncentrace biodostupné mědi poklesla v porovnání s dobou před začátkem fytoremediace o trojnásobné koncentrace. Bylo tedy opět ověřeno, že naměřené biodostupné koncentrace prvků pomocí techniky DGT věrohodně odrážejí reálné hodnoty odběru rostlinami.

Ne vždy technika DGT věrohodně odráží skutečný stav příjmu rizikových prvků. Stanovením biodostupných koncentrací mědi pomocí techniky DGT a následným srovnáním se skutečným obsahem Cu v biomase *Salix x smithiana* se zabývali Jaklová Dyrtrtová et al. (2008), kteří ve svém pokusu naměřili rozdílné hodnoty mezi potenciálně dostupnými koncentracemi a reálnými koncentracemi v biomase vrb. K pokusu byla také použita fluvizem z Píšťan, ovšem s nižší hodnotou pH a nižší KVK. Ve fluvizemi bylo naměřeno okolo 42 mg/kg mědi. Vrby Smithovy průměrně obsahovaly okolo 39 mg/kg Cu. Technika DGT naměřila biodostupné koncentrace Cu pro rostliny v hodnotě okolo 6 µg/L, tedy neporovnatelně méně než se ve skutečnosti vyskytovalo v biomase vrb. V tomto pokusu výsledky dosažené technikou DGT nekorelovaly se skutečně naměřenými hodnotami. Tento pokus potvrdil tvrzení, že technika DGT je vhodnější pro měření nižších koncentrací prvků, vyšší koncentrace nemusí být detekovány z důvodu omezené kapacity sorpčního média, čímž je snížen odhad potenciálních biodostupných forem prvků pro rostliny (Diviš et al., 2005).

Pro mangan bylo naměřeno více biodostupných koncentrací opět ve fluvizemi v průměrných hodnotách okolo 70 µg/L, v černozemi se hodnoty pohybovaly pouze okolo 5 µg/L. Vyšší koncentrace biodostupných forem Mn můžeme přisuzovat ve fluvizemi potenciálnímu znečištění (Pupíková et al. 2012, Tremlová et al., 2013). Doposud uvedené studie se zabývaly pouze studiem biodostupných koncentrací Mn pomocí DGT ve vodách a sedimentech (Denney et al., 1999; Stockdale et al., 2010; Zhang et al., 1995). Mundus et al. (2009) a Mundus et al. (2012) se jako jedni z prvních zabývali měřením biodostupných koncentrací Mn pomocí techniky DGT v půdách. Mangan je prvkem, který velice rychle podléhá změnám v oxidačně-redukčních podmínkách a vyskytuje se tak ve více oxidačních stavech. Byly provedeny studie biodostupných koncentrací Mn na základě rozdílného redox potenciálu. Bylo dokázáno, že vyšší biodostupné koncentrace byly naměřeny v půdách s nižší obsahem soutěžících kationtů, tedy s nižším obsahem Ca, Mg a Fe iontů. Vyšší obsah těchto kationtů má tedy za následek menší biodostupné koncentrace Mn. Vyšší biodostupné

koncentrace Mn byly naměřeny v půdách s vyšším obsahem Mn, tedy technika DGT věrohodně odráží případné biodostupné potenciální koncentrace na základě obsahu Mn v půdách. V porovnání biodostupných obsahů Mn měřených v aerobních a anerobních podmínkách, anaerobní podmínky poskytovaly vyšší koncentrace naměřeného přístupného Mn.

Vyšší koncentrace biodostupného zinku byly také naměřeny ve fluvizemi ve velmi rozličných hodnotách od 10 do 50 $\mu\text{g/L}$, v černozemi v průměrné hodnotě okolo 5 $\mu\text{g/L}$. Pupíková et al. (2012) naměřili vyšší koncentrace biodostupného Zn opět ve fluvizemi, a to v hodnotě okolo 20 $\mu\text{g/L}$ a v černozemi v hodnotách okolo 10 $\mu\text{g/L}$ v kontrolních, nekontaminovaných vzorcích. Potenciálně mobilní obsahy Zn stanovené 2 M HNO_3 se pohybovaly okolo 160 mg/kg ve fluvizemi a v hodnotě okolo 40 mg/kg v černozemi. Obsahy Zn v celkové biomase špenátu se v rostlinách pěstovaných ve fluvizemi pohybovaly okolo 130 mg/kg, v černozemi okolo 100 mg/kg. V tomto případě potenciálně mobilní obsahy stanovené kyselinou dusičnou již lépe odrážely skutečné koncentrace Zn v biomase, avšak hodnoty stanovené DGT opět lépe nastínily reálný příjem Zn rostlinami špenátu.

Puschenreiter et al. (2013) se zabývali fytořemediací pomocí *Salix x smithiana* a odhadem možné akumulace Zn v její biomase pomocí techniky DGT v různých půdních typech. Vrba Smithova se ukázala jako vhodný akumulátor Zn, ale pouze v mírně kontaminovaných místech. V místech s nejvyšším znečištěním byl po aplikaci vrby Smithovy zaset ječmen, v jehož biomase byl stále nalezen významný podíl rizikových kovů. Technika DGT se osvědčila jako vhodný prostředek k předvídaní akumulace zinku v biomase vrb.

Huynh et al. (2010) hodnotili pomocí DGT změny biodostupnosti těžkých kovů v biomase vrb a topolů z kontaminované půdy v době před a po remediaci také u zinku. V případě zinku došlo k opačnému jevu oproti Cu, zvyšující se naměřené koncentrace biodostupného Zn měly za následek pokles koncentrace Zn v biomase rostlin, i přesto se technika DGT v tomto případě osvědčila jako vhodná prognostická metoda k příjmu Zn. Technika DGT byla v půdě aplikována před samotou fytořemediací i po remediaci. Hodnota přístupného zinku v půdě s porovnáním s hodnotou biodostupných koncentrací naměřených před začátkem fytořemediace o více než dvojnásobné koncentrace poklesla. V této práci bylo tedy opět ověřeno, že naměřené biodostupné koncentrace prvků pomocí techniky DGT věrohodně odrážejí reálné hodnoty a stavy probíhají v systému půda - rostlina.

7 Závěr

1. Potenciální vliv denatonium benzoátu a kapsaicinu na půdní mikro a mikroelementy byl prozkoumán ve 3 různých experimentech: v hydroponickém roztoku se *Salix x smithiana*, v půdním sorpčním pokusu a v půdním pokusu s využitím techniky DGT. K půdním pokusům byly vždy použity 2 odlišné půdní typy – černozem a fluvizem.
2. V hydroponickém pokusu byly po dobu 3 měsíců odebírány a měřeny koncentrace jednotlivých živin v různých koncentracích denatonium benzoátu. Podle statistického testu ANOVA byly vyhodnoceny vztahy mezi koncentracemi jednotlivých prvků a koncentracemi repelentu. Pro síru, jako pro jediný prvek, byl statisticky prokázán vliv koncentrací denatonium benzoátu na koncentraci tohoto prvku.
3. V půdních sorpčních pokusech byl sledován vliv rozličných koncentrací denatonium benzoátu a kapsaicinu na mobilní obsahy jednotlivých prvků. Denatonium benzoát prokázal pozitivní vliv na mobilitu vápníku a manganu v černozemi a fluvizemi a negativní vliv na mobilní koncentrace síry a mědi v černozemi. Kapsaicin statisticky prokázal pozitivní vliv na mobilní obsahy mědi v černozemi a manganu ve fluvizemi a negativní vliv na mobilní obsahy železa ve fluvizemi. Z experimentu tedy vyplynulo, že koncentrace obou repelentních látek mohou měnit mobilní, tedy potenciálně dostupné koncentrace prvků, zejména Ca, Mn, S, Cu, Fe v pozitivním i negativním slova smyslu.
4. V půdních pokusech s použitím techniky DGT pro stanovení potenciálně biodostupných koncentrací prvků pro rostliny denatonium benzoát statisticky pozitivně ovlivnil přístupné koncentrace Mn ve fluvizemi, kapsaicin pozitivně ovlivnil mobilní koncentrace železa ve fluvizemi a manganu ve fluvizemi. Je tedy možné prohlásit, že obě repelentní látky mohou v půdách zvyšovat mobilní koncentrace prvků, zejména Fe a Mn.
5. Obecně je tedy možné shrnout, že obě repelentní látky měly tendence spíše zvyšovat mobilní obsahy prvků. Zvýšené koncentrace mobilních forem však jsou vhodné jen u těch prvků, u kterých se zvýšeným obsahem nehrozí toxicita. Většina mikroprvků je

ve větší míře pro rostliny toxická a mangan patří k nejvýznamnějším z nich. Mírným zvýšením hodnoty pH je však možné potlačit mobilitu a tím i přístupnost většiny prvků, které byly potenciálně navýšené na základě aplikace repelentních látek.

6. Stále větší přírodní výkyvy a snižování biodiverzity rostlinné potravy jsou problémem současnosti, ale i budoucnosti, proto je třeba stále hledat vhodné prostředky na ochranu porostů. Obě repelentní látky v pokusech prokázaly spíše pozitivní vliv na potenciální příjem živin a vzhledem ke svému již prokázanému účinku by mohly být do budoucna vhodnou ochranou porostů a komponentou nově povolených přípravků na ochranu lesa v České republice.

8 Seznam literatury

Adriano, D. C. 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. Second edition. Springer-Verlag. New York. 867 p.

Andersen, F. A. 2008. Final report of the safety assessment of Alcohol Denat., including SD Alcohol 3-A, SD Alcohol 30, SD Alcohol 39, SD Alcohol 39-B, SD Alcohol 39-C, SD Alcohol 40, SD Alcohol 40-B, and SD Alcohol 40-C, and the denaturants, quassin, Brucine Sulfate/Brucine, and Denatonium Benzoate. International Journal of Toxicology. 27 (1). 1 – 43.

Anjum, S. A., Ehsanullah, L., Xue, L., Wang, L., Saleem, M.F., Huang, Ch.J. 2013. Exogenous benzoic acid (BZA) treatment can induce drought tolerance in soybean plants by improving gas-exchange and chlorophyll contents. 7 (5). 555 – 560.

Antonius, G.F., Kochhar, T.S. 2009. Mobility of heavy metals from soil into Hot Pepper Fruits: A Field Study. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 82. 59 – 63.

Asher, C. J., Ozanne, P.G. 1961. The cation exchange capacity of plant roots, and its relationship to the uptake of insoluble nutrients. Australian Journal of Agricultural Research. 12 (5). 755 – 766.

Bader, K.J., Garrett, H.E., Kerley, M.S. 2003. Tree protection methods during the silvopastoral-system establishment in midwestern USA: Cattle performance and tree damage. Agroforestry Systems. 59. 35 – 42.

Baier, J., Baierová, V. 1985. Abeceda výživy rostlin a hnojení. Rostlinná výroba. SZN. Praha. 360 s.

Baker, S. E., Ellwood, S.A., Watkins, R., Macdonald, D.W. 2005. Non-lethal control of wildlife: using chemical repellents as feeding deterrents for the European badger *Meles meles*. Journal of Applied Ecology. 42. 921 – 931.

Balík, J., Kulhánek, M., Černý, J., Száková, J., Pavlíková, D., Čermák, P. 2009. Differences in soil sulfur fractions due to limitation of atmospheric deposition.. *Plant, Soil and Environment*. 55 (8). 344 – 352. ISSN: 1214-1178.

Balík J., Tlustoš P., Pavlíková D., Száková J., Blahník R., Kaewrahn N. S. 1998. Vliv čistírenských kalů na obsah zinku v půdě a rostlinách. *Rostlinná Výroba*. 44. 457- 462.

Balík, J., Vaněk, V., Pavlíková, D., Kulhánek, M., Jakl, M. 2002. Fosfor v půdě a jeho koloběh v přírodě. In: Sborník z 8. mezinárodní konference Racionální použití hnojiv zaměřené na problematiku fosforu v rostlinné výrobě. ČZU. Praha. ISBN: 80-213-0957-1.

Bencko, V., Cikrt, M., Lener, J. 1995. Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka. Grada. Praha. ISBN: 80-7169-150-X.

Berning, C.K., Griffith, J.F., Wild, J.E. 1982. Research on the effectiveness of denatonium benzoate as a deterrent to liquid detergent ingestion by children. *Fundamental and Applied Toxicology*. 2 (1). 44 – 48.

Bezpečnostní list podle nařízení ES č. 1907/2006 (REACH), ve znění nařízení č. 453/2010/EC. Denatonium benzoát. Dostupné z http://www.pentachemicals.eu/bezp_listy/d/bezplist_269.pdf

Blevins, D.G., Lukaszewski, K. 1998. Boron in plant structure and function. *Annual Review. Plant Molecular Biology*. 49. 481 – 500.

Borůvka L., Drábek O. 2002. Rozdělení těžkých kovů mezi frakcemi humusu v silně kontaminované půdě. Sborník přednášek Mikroelementy 2002. Nová Rabyně. 134 – 138.

Brasser, S. M., Mozhui, K., Smith, D.V. 2005. Differential Covariation in Taste Responsiveness to Bitter Stimuli in Rats. *Chemical Senses*. 30. 793 – 799.

Brown, P. H., Bellaloui, N., Wimmer, N.A. et al. 2002. Boron in Plant Biology. *Plant Biology*. 4 (2). 205 – 223.

Consumer Product Safety Commission. 1992. Final report study of a aversive agents.
Dostupné z <http://www.cpsc.gov/PageFiles/96066/aversive.pdf>

Cooper, J.F.K., Barnes, C.H.W. 2011. Bitrex: A new levelling agent for copper.
Electrochimica Acta. 56 (25). 9448 – 9452.

Crosson, G.S., Sandmann E. 2013. Kinetic study of denatonium sorption to smectite clay minerals. *Environmental Engineering Science*. 30 (6). 311 – 316.

Crosson, G.S., Thorpe, S., Yun-Yun, Z., Dawson, J. 2013. Sorption of Denatonium to Kaolinite Clay from Water. *Journal of Environmental Protection*. 4 (9). 929 – 936. 8 p.

Čermák, P., Mrkva, R. 2007. Škody zvěří – neřešený eskalující problém. In: Peškova V., Holuša J., Liška J. (eds): Aktuální problémy ochrany lesa. *Zpravodaj ochrany lesa* 14. 39 - 45. ISBN: 978-80-86461-81-6.

Černý, J., Balík, J., Kulhánek, M., Vašák, F., Shejbalová, Š. 2013. Vápník v půdě. Sborník z 19. Mezinárodní konference Racionální použití hnojiv zaměřené na problematiku vápníku a vápnění. ČZU. Praha. ISBN: 978-80-213-2416-9.

Černý, J., Kulhánek, M., Vašák, F., Shejbalová, Š. 2012. Hořčík – opomíjený prvek v rostlinné produkci. *Zemědělec*. 20 (28). 10 – 12. ISSN: 1211-3816.

Červený J. et al. 2009. *Ottova encyklopedie Myslivost*. Ottovo nakladatelství. Praha. 592 s. ISBN: 978-80-7360-895-8.

Davídek, J., Janíček, G., Pokorný, J. 1983. *Chemie potravin*. SNTL. Praha. 632 s.

Decock, P.C., Hall, A., Inkson, R.H.E. 1979. Active Iron in Plant Leaves. *Annals of Botany*. 43 (6). 737 – 740.

Degryse F., Smolders E., Zhang H., Davison W. 2009. Predicting availability of mineral elements to plants with the DGT technique: a review of experimental data and interpretation by modelling. *Environmental Chemistry*. 6. 198-218.

- Denney, S., Sherwood, J., Leyden, J. 1999. In situ measurements of labile Cu, Cd and Mn in river waters using DGT. *Science of The Total Environment*. 239 (1 – 3). 71 – 80.
- Diviš, P., Dočekalová, H., Řezáčová, V. 2005. Gelové techniky pro měření *in situ* ve vodách, v půdách a v sedimentech. *Chemické listy*. 99. 640 – 646.
- Fernandes, J.C., Henriques, F.S. 1991. Biochemical, Physiological, and Structural Effects of Excess Copper in Plants. *Botanical Review*. 57 (3). 246 – 273.
- Fischerová, Z., Száková, J., Pavlíková, D., Tlustoš, P. 2005. The application of diffusive gradient technique (DGT) for assessment of changes in Cd, Pb, and Zn mobility in rhizosphere. *Plant, Soil and Environment*. 51 (12). 532 – 538.
- Fleming, G. A. 1980. Essential Micronutrients I: Boron and Molybdenum. In: Davies, B.E. *Applied Soil Trace Elements*. Wiley. Chichester. 482 s. ISBN 0-471-27625-1.
- Floate, M.J.S. 1970. Mineralization of nitrogen and phosphorus from organic materials of plant and animal origin and its significance in the nutrient cycle in grazed upland and hill soils. *Grass and Forage Science*. 25 (4). 295 – 302.
- Foy, Ch.D. 1992. Soil Chemical Factors Limiting Plant Root Growth. 97 – 149. In: Hatfield, J.L., Steward, B.A. *Advances in soil science. Limitations to Plant Root Growth. Volume 19*. Springer-Verlag. New York.
- Godo, G.H., Reisenauer, H.M. 1980. Plant Effects on Soil Manganese Availability. *Soil Science Society of America Journal*. 44 (5). 993 – 995.
- Gransee, A., Fühns, H. 2013. Magnesium mobility in soils as a challenge for soil and plant analysis, magnesium fertilization and root uptake under adverse growth conditions. *Plant and Soil*. 368 (1 – 2). 5 – 21.
- Hájek, I. 2012. Škody způsobené zvěří – stále více a více diskutované téma. *Myslivost*. 2. 20.

- Hanč, A., Tlustoš, P., Száková, J., Balík, J. 2007. Změna pohyblivosti kadmia a zinku v čistírenských kalech po jejich úpravě. *Chemické listy*. 101. 807 – 810.
- Hanč, A., Tlustoš, P., Száková, J., Balík, J., Pavlíková, D. 2002. The zinc mobility in free different soils amended by sewage sludge incubated with limestone and lime, and Zn uptake by oats. *Rostlinná výroba*. 48 (11). 518 – 524.
- Hansen, S.R., Janssen, C., Beasley, V.R. 1993. Denatonium benzoate as a deterrent to ingestion of toxic substances - toxicity and efficacy. *Veterinary and Human Toxicology*. 35 (3). 234 – 236.
- Havránek, F., Hučko, B. 2007. Návrh metodiky pro inventarizaci škod zvěří a využití získaných dat. *Zprávy lesnického výzkumu*. 52(1). 48 – 55.
- Havránek, F. et al. 2005. Snižování škod zvěří v lese. Ministerstvo zemědělství, Praha. 43 s. ISBN: 80-7084-458-2.
- Hlušek, J., Richter, R., Ryant, P. 2002. Výživa a hnojení zahradních plodin. První vydání. Praha. ISBN: 80-902413-5-2.
- Huynh, T.T., Zhang, H., Laidlaw, W.S., Singh, B., Baker, A.J.M. 2010. Plant-induced changes in the bioavailability of heavy metals in soil and biosolids assessed by DGT measurements. *Journal of Soils and Sediments*. 10. 1131 – 1141.
- Imtiaz M., Alloway B. J., Shah K. H., Siddiqui S. H., Memon M. Y., AslamM., Khan P. 2003. Zinc nutrition of wheat: II: Interaction of zinc with other trace elements. *Asian Journal Plant Sciences*. 2. 156-160.
- Jaklová Dyrtrtová, J., Šestáková, I., Jakl, M., Száková, J., Miholová, D., Tlustoš, P. 2008. The use of differential pulse anodic stripping voltammetry and diffusive gradient in thin films for heavy metals speciation in soil solution. *Central European Journal of Chemistry*. 6 (1). 71 – 79.

Jandák J. et al. 2007. Půdoznalství. Ediční středisko MZLU. Brno. 142 s.
ISBN 978-80-7157-559-7

Jeffery, J.J., Uren, N.C. 1983. Copper and zinc species in the soil solution and the effects of soil pH. Australian Journal of Soil Research. 21 (4). 479 – 488.

Jones, J.B. 2005. Hydroponics: A Practical Guide for the Soilless Grower. 2nd edition. CRC Press. Boca Ranton. ISBN: 0-8493-3167-6.

Kabata-Pendias, A. 2011. Trace Elements in Soils and Plants. 4th edition. CRC Press. Boca Ranton. 534 p.

Kabata-Pendias, A., Pendias, H. 2001. Trace Elements in Soils and Plants. 3th edition. CRC Press. Boca Raton. 432 p.

Kabiri, R., Nasibi, F., Farahbakhsh, H. 2014. Effect of exogenous salicylic acid on some physiological parameters and alleviation of drought stress in *Nigella sativa* plant under hydroponic culture. Plant Protection Science. 50 (1). 43 – 51.

Kays, J. 2003. Managing deer manage in Maryland. Bulletin 354. Maryland Cooperative Extensit, Maryland. 49 s.

Khan, A.A., Zende, G.K. 1977. The site for Zn-P interactions in plants. Plant and Soil. 46 (1). 259 – 262.

Kimball, B.A., Taylor, J., Perry, K.R., Capelli, C. 2009. Deer Responses to Repellent Stimuli. Journal of Chemical Ecology. 35. 1461 – 1469.

Knezek, B.D., Ellis, B.G. 1980. Essential Micronutrients IV: Iron, Manganese, and Zinc. In: Davies, B.E. Applied Soil Trace Elements. Wiley. Chichester. 482 s. ISBN 0-471-27625-1.

Kozák, J. et al. 2009. Atlas půd České republiky. 2. Upravené vydání. ČZU Praha. Praha. 150 s. ISBN 978-80-213-2008-6.

- Krishnamurthy, R, Malve, M.K., Baisane, S.O. 1997. Bitterants as denaturants for industrial alcohol. *Journal of scientific & industrial research*. 56 (10). 633 – 634.
- Kulhánek, M., Balík, J., Černý, J. 2011. Změny obsahu a forem síry v půdách. In: Sborník ze 17. mezinárodní konference Racionální použití hnojiv zaměřené na problematiku síry ve výživě rostlin. ČZU. Praha. ISBN: 978-80-213-2224-0.
- Kulhánek, M., Balík, J., Černý, J., Vaněk, V. 2009a. Evaluation of phosphorus mobility in soil using different extraction methods. *Plant, Soil and Environment*. 55 (5). 181 – 186.
- Kulhánek, M., Balík, J., Černý, J., Kozlovský, O., Nedvěd, V. 2009b. The content of available phosphorus in soils and P uptake by plants. *Scientia Agriculturae Bohemica*. 40 (3). 105 – 109.
- Kulhánek, M., Černý, J., Balík, J., Vašák, F., Shejbalová, Š. 2012. Bilance síry v půdách na základě využití výsledků z dlouhodobých pokusů. *Agrochémia*. 52 (12). 8 – 12. ISSN: 1335-2415.
- Love, D.M., Cooper, J.F., Barnes, C.H. 2012. Effects of Bitrex on the Superconformal Filling of Copper Nanowire Interconnects. 221st ECS Meeting. The Electrochemical Society.
- Ma, L.Q., Rao, G.N. 1997. Chemical fractionation of cadmium, copper, nickel, and zinc in contaminated soils. *Journal of Environmental Quality*. 26(1). 259 – 264.
- Maksymiec, W. 1998. Effect of copper on cellular processes in higher plants. *Photosynthetica*. 34 (3). 321 – 342.
- Mališová, K., Mestek, O., Komínková, J., Šantrůček, J., Száková, J., Tlustoš, P. 2010. Frakcionace stopových prvků v listech vrby (*Salix spp.*). *Chemické listy*. 104. 172 – 176.
- Mantovi, P., Bonazzi, G., Maestri, E., Marmiroli, N. 2003. Accumulation of copper and zinc from liquid manure in agricultural soils and crop plants. *Plant and Soil*. 250 (2). 249 – 257.

Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd edition. Accademic Press. London. 889 p.

Matula., J. 2012. Inovace metod kontroly výživného stavu zemědělských půd fosforem z konsensu produkčního a environmentálního aspektu šetrného využívání přírodních zdrojů. Metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i. Praha. ISBN: 978-80-7427-110-6

McLaughlin, S.B., Wimmer, R. 1999. Calcium physiology and terrestrial ecosystem processes. *New Phytologist*. 142. 373 - 417.

Mengel, K., Kirkby, E. 2001. Principles of plant nutrition. 5th edition. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. ISBN: 0-7923-7150-X.

McLaren, R.G., Swift, R.S., Williams, J.G. 1981. The Adsorption of Copper by Soil Materials at Low Equilibrium Solution Concentrations. *Journal of Soil Science*. 32 (2). 247 – 256.

Miller, R.G. 1997. Beyond ANOVA: basics of applied statistics. CRC Press. Boca Raton. ISBN: 0-412-07011-1.

Minnesota Department of Natural Resources. Nuisance Wildlife Repellent Handbook. 24 pp. Dostupné z http://files.dnr.state.mn.us/assistance/backyard/livingwith_wildlife/repellent_handbook.pdf

Mullins, M.E., Zane, H.B. 2004. Was it necessary to add Bitrex (denatonium benzoate) to automotive products? *Veterinary and human toxicology*. 46 (3). 150 – 152.

Mundus, S. et al. 2009. Assessment of the Diffusive Gradients in Thin-films (DGT) technique to assess the plant availability of Mn in soils. *International Plant Nutrition Colloquium XVI*. Dostupné z <http://escholarship.org/uc/item/3t48v6vz>

Mundus, S., Lombi, E., Holm, P.E., Zhang, H., Husted, S. 2012. Assessing the plant availability of manganese in soils using Diffusive Gradients in Thin films (DGT). *Geoderma*. 183 - 184. 92 – 99.

Nařízení vlády č. 61/2003 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod.

Nolte, D.L., Farley, J.P., Campbell, D.L., Epple, G.M., Mason, J.R. 1993. Potential repellents to prevent mountain beaver damage. *Crop Protection*. 12 (8). 624 – 626.

Nolte, D.L., Mason, J.R., Lewis, S. 1994. Tolerance of bitter compounds by an herbivore, *Cavia-Porcellus*. *Journal of Chemical Ecology*. 20 (2). 303 – 308.

Nolte, D.L. 1998. Efficacy of selected repellents to deter deer browning on conifer seedlings. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 42. 101 – 107.

Nowack, B., Koehler, S., Schulin, R. 2004. Use of Diffusive Gradients in Thin Films (DGT) in Undisturbed Field Soils. *Environmental Science and Technology*. 38. 1133

Palha Leite, F., Novais, R. F., Silva, I.R., Barros, N.F., Lima Neves, J.C., Medeiros, A.G.B., Ventrella, M.C., Albuquerque Villani, E.C. 2014. Manganese accumulation and its relation to "eucalyptus shoot blight in the vale do rio doce". *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*. 38. 193 – 204.

Podlešáková, E., Němeček J., Vácha, R. 1998. Možnosti remediace zemědělských půd. *Rostlinná výroba*. 44. 209 - 215.

Pokorný E., Střalková R., Podešvová, J. 2002. Půdní sorpční komplex a jeho vlastnosti. *Vybrané kapitoly z metodiky. Obilnářské listy*. 10 (6). 121 – 124.

Pupíková, Z., Száková, J., Sysalová, J., Mestek, O., Tlustoš, P. 2012. Direct and subsequent effects of contaminated urban particulate matter on risk element mobility and plant availability in soil. *Polish Journal of Environmental Studies*. 21. 1807 - 1815.

Puschenreiter, M., Wittstock, F., Friesl-Hanl, W., Wenzel, W. W. 2013. Predictability of the Zn and Cd phytoextraction efficiency of a *Salix smithiana* clone by DGT and conventional bioavailability assays. *Plant and Soil*. 369. 531 – 541.

- Resh, H.M. 2013. Hydroponic Food Production. 7th edition. CRC Press. New York. 524 p. ISBN: 978-1-4398-7867-5
- Reyes-Escogido, M.L., Gonzalez-Mondragon, E.G., Vazquez-Tzompantzi, E. 2011. Chemical and Pharmacological Aspects of Capsaicin. *Molecules*. 16. 1253 – 1270.
- Richard, S., Davies, D.C. 2000. Comparison of methyl anthranilate and denatonium benzoate as aversants for learning in chicks. *Physiology & Behaviour*. 70 (5). 521 – 525.
- Rius-Ruiz, F. X., Andrade, F.J., Riu, J., Rius, F.X. 2014. Computer-operated analytical platform for the determination of nutrients in hydroponic systems. *Food Chemistry*. 147. 92 – 97.
- Rovellini, P. 2006. Denatonium benzoate content in household products: LC-MS/MS analysis. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*. 82 (1). 28 – 31.
- Premuzic, Z., Bargiela, M., Garcia, A., Rendina, A., Iorio, A. 1998. Calcium, Iron, Potassium, Phosphorus and Vitamin C Content of Organic and Hydroponic Tomatoes. *HortScience*. 33 (2). 255 – 257.
- Řezáčová-Smetková, V., Dočekal, B., Dočekalová, H. 2005. Použití techniky difuzního gradientu v tenkém filmu při charakterizaci půd. *Chemické listy*. 99. 594 – 599.
- Sackmann, P., Corley, J.C., Masciocchi, M., Novas, G. 2010. Effects of the bittering agent denatonium benzoate on the success of toxic baiting of pestiferous German wasps (*Vespula germanica*). *International Journal of Pest Management*. 56 (1). 69 – 74.
- Sager, M. 2004. Effects of a Fertilization Pulse on Migration of Nutrient and Trace Elements in Chernozem Soil Columns within a Vegetation Period. *Die Bodenkultur*. 55 (4). 165 – 182.
- Sanders, J. R., Bloomfield, C. 1980. The Influence of pH, Ionic Strength and Reactant Concentrations on Copper Complexing by Humified Organic Matter. 31 (1). 53 – 63.

- Sanders, J. R. 1982. The effect of pH upon the copper and cupric ion concentrations in soil solutions. *Journal of Soil Science*. 33 (4). 679 – 689.
- Santilli, F., Mori, L., Galardi, L. 2004. Evaluation of three repellents for the prevention of damage to olive seedlings by deer. *European Journal of Wildlife Research*. 50. 85 – 89.
- Shuman, L. M.. 1979. Zinc, Manganese, and Copper in Soil Fractions. *Soil Science*. 127 (1).
- Schwartz C., Gérard E., Perronnet K., Morel J. L. 2001. Measurement of in situ phytoextraction of zinc by spontaneous metallophytes growing on a former smelter site. *Science Total Environment*, 279. 215-221.
- Sibert, J. R., Prude, N. 1991. Bittering Agents In the Prevention of Accidental-Poisoning - Childrens Reactions to Denatonium Benzoate (Bitrex). *Archives of Emergency Medicine*. 8 (1). 1 – 7.
- Stanghellini, M. E., Rasmussen, S.L. 1994. Identification and origin of plant-pathogenic microorganisms in recirculating nutrient solutions. *Advances in Space Research*. 14 (11). 349 – 355.
- Sterner, R. T., Ames, A.D., Kimball, B.A. 2002. Persistence of capsicum oleoresin in soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 49 (2 – 3). 145 – 149.
- Sterner, R. T., Kimball, B. A. 2005. Slow migration of capsicum oleoresin in a sandy loam soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 56 (3). 188 - 191.
- Stockdale, A., Davison, W., Zhang, W., Hamilton-Taylor, J. 2010. The Association of Cobalt with Iron and Manganese (Oxyhydr)oxides in Marine Sediment. *Aquatic Geochemistry*. 16 (4). 575 – 585.
- Surh, Y. J. 2002. Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and anti-inflammatory activities: a short review. *Food and Chemical Toxicology*. 40 (8). 1091 – 1097.

Šimek, M., Cooper, J.E. 2004. Biochemical cycles of elements: an introduction to behaviour of main mineral nutrients of plants and microorganisms. University of South Bohemia. Faculty of Biological Sciences. 63 s. ISBN 80-7040-668-2.

Timm, R.M. 2005. Description of active ingredients. Internet centre for wildlife damage management. Dostupné z www.icwdm.org

Tlustoš, P., Pavlíková, D., Vaněk, V., Habart, J. 2011. Síra v životním prostředí. In: Sborník ze 17. mezinárodní konference Racionální použití hnojiv zaměřené na problematiku síry ve výživě rostlin. ČZU. Praha. ISBN: 978-80-213-2224-0.

Tlustoš, P., Száková, J., Vysloužilová, M., Pavlíková, D., Weger, J., Javorská, H. 2007. Variation in the uptake of Arsenic, Cadmium, Lead, and Zinc by different species of willows *Salix spp.* grown in contaminated soils. Central European Journal of Biology. 2 (2). 254 – 275.

Tremlová, J., Száková, J., Sysalová, J., Tlustoš, P. 2013. Bioavailability of arsenic, cadmium, iron and zinc in leafy vegetables amended with urban particulate matter suspension. Journal of the Science of Food and Agriculture. 93. 1378 - 1384.

Trent, A., Nolte, D., Wagner, K. 2001. Comparison of commercial deer repellents. USDA National wildlife research center. University of Nebraska. 6 pp.

Vaněk, V. et al. 2012. Výživa zahradních rostlin. Academia. Praha. 568 s. ISBN 978-80-200-2147-2.

Vopravil, J. et al. 2009. Půda a její hodnocení v ČR. 1. vydání. Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy. ISBN 978-80-87361-02-3.

Vyhláška č. 13/1994 Sb., Ministerstva životního prostředí, kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu.

Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 101/1996 Sb., kterou se stanoví podrobnosti o opatřeních k ochraně lesa a vzor služebního odznaku a vzor průkazu lesní strážce

Vyhláška č. 141/1997 Sb., Ministerstva zemědělství o technických požadavcích na výrobu, skladování a zpracování lihu.

Vyhláška č. 382/2001 Sb., Ministerstva životního prostředí o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě.

Vyhláška č. 271/2009 Sb., kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva, ve znění pozdějších předpisů

Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i. 2013. Seznam povolených přípravků a dalších prostředků na ochranu lesa 2013. Dostupné z http://vulhm.cz/index.php?p=seznam_reg_pripravku&site=default

Warncock, R.E. 1970. Micronutrient Uptake and Mobility Within Corn Plants (*Zea mays* L.) in Relation to Phosphorus-induced Zinc Deficiency. 34 (5). 765 – 769.

Ward, J.T., Lahner, B., Yakubova, E. et al. 2008. The Effect of Iron on the Primary Root Elongation of Arabidopsis during Phosphate Deficiency. *Plant Physiology*. 147 (3). 1181 – 1191.

White, P.J. 2001. The pathways of calcium movement to the xylem. *Journal of Experimental Botany* 52. 891–899.

White, N.C., Litovitz, T., Benson, B.E., Horowitz, B.Z., Marr-Lyon, L., White, M.K. 2009. The Impact of Bittering Agents on Pediatric Ingestions of Antifreeze. *Clinical Pediatrics*. 48 (9). 913 – 921.

Willoughby, I.H., Jinks, R.L., Morgan, G.W., Pepper, H., Budd, J., Mayle, B. 2011. The use of repellents to reduce predation of tree seed by wood mice (*Apodemus sylvaticus* L.) and grey squirrels (*Sciurus carolinensis* Gmelin). *European Journal of Forest Research*. 130 (4). 601 – 611.

- Witmer, G.W., Pipes, M.J., Bucher, J.C. 1998. Field tests of denatonium benzoate to reduce seedling damage by pocket gophers (*Thomomys talpoides* Rich.). *Crop Protection*. 17 (1). 35 – 39.
- Wright, I.A., Milne, J.A. 1996. Aversion of red deer and roe deer to denatonium benzoate in the diet. *Forestry*. 69 (1). 1 – 4.
- Wu, J., Laird, D.A., Thompson, M.L. 1999. Sorption and Desorption of Copper on Soil Clay Components. *Journal of Environmental Quality*. 28 (1). 334 – 338.
- Wuddivira, M.N., Camps-Roach, G. 2007. Effects of organic matter and calcium on soil structural stability. *European Journal of Soil Science*. 58 (3). 722 – 727.
- Zahradník, P. 2005. Úloha pesticidů v ochraně lesa. In: Kapitola, P., Baňář, P., Holuša, J. (eds): *Moderní metody ochrany lesa. Zpravodaj ochrany lesa*. 11. 11 – 17.
ISBN 80–86461–46–7
- Zákon č. 289/1995 Sb., o lesích a o změně a doplnění některých zákonů (lesní zákon)
- Zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech)
- Zákon č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči a o změně některých souvisejících zákonů
- Zhang, H., Davison, W., Knight, B., McGrath, S. 1998. In situ measurements of solution concentrations and fluxes of trace metals in soils using DGT. *Environmental Science and Technology*. 32 (5). 704 – 710.
- Zhang, H., Davison, W., Miller, S., Tych, W. 1995. In situ high resolution measurements of fluxes of Ni, Cu, Fe, and Mn and concentrations of Zn and Cd in porewaters by DGT. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 59 (20). 4181 – 4192.

Zhang, F., Römheld, V., Marschner, H. 1989. Effect of zinc deficiency in wheat on the release of zinc and iron mobilizing root exudates. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 152 (2). 205 – 210.

Zheng, L., Huang, F., Narsai, R. et al. 2009. Physiological and Transcriptome Analysis of Iron and Phosphorus Interaction in Rice Seedlings. *Plant Physiology*. 151 (1). 262 – 274.

ELEKTRONICKÉ ZDROJE

Kratochvílová, Z. 2009. Rychle rostoucí dřeviny (vrby a topoly) pěstované s použitím mulčovací folie. *Biom.cz* [online]. 2009-07-06 [cit. 2014-04-07]. Dostupné z: <[http://biom.cz/cz/odborne-clanky/rychle-rostouci-dreviny-vrby-a-topoy-pestovano-s-pouzitim-mucovaci-folie?sel_ids=1&ids\[xc1852ead6771e891acadfc8fcaea153\]=1](http://biom.cz/cz/odborne-clanky/rychle-rostouci-dreviny-vrby-a-topoy-pestovano-s-pouzitim-mucovaci-folie?sel_ids=1&ids[xc1852ead6771e891acadfc8fcaea153]=1)>. ISSN: 1801-2655.

Stražil, Z., Šimon, J. 2009. Stav a možnosti využití rostlinné biomasy v energetice ČR. *Biom.cz* [online]. 2009-04-20 [cit. 2014-04-07]. Dostupné z: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/stav-a-moznosti-vyuziti-rostlinne-biomasy-v-energetice-cr>>. ISSN: 1801-2655.

Váňa, V. 2004. Zhodnocení klonového pokusu porostu rychlerostoucích dřevin fytoenergetického charakteru – vrb – na VS Chomutov, r. 2004. *Biom.cz* [online]. 2004-09-13 [cit. 2014-04-07]. Dostupné z: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/zhodnoceni-klonoveho-pokusu-porostu-rychlerostoucich-drevin-fytoenergetickeho-charakteru-vrb-na-vs-chomutov-r-2004>>. ISSN: 1801-2655.

Vrba, V., Huleš, L. 2006. Humus - půda - rostlina (3) Humus a rostlina: Rozpustné humusové látky v ekosystému. *Biom.cz* [online]. 2006-11-23 [cit. 2014-04-07]. Dostupné z: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/humus-puda-rostlina-3-humus-a-rostlina-rozpustne-humusove-latky-v-ekosystemu>>. ISSN: 1801-2655.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

atd. – a tak dále

B – bór

C – uhlík

Ca – vápník

Cd - kadmium

Cl – chlór

Cu – měď

ČR – Česká republika

ČZU – Česká zemědělská univerzita

DGT – technika „Diffusive Gradient in Thin Film“

FAPPZ – Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Fe – železo

H – vodík

K – draslík

KVK – kationtová výměnná kapacita

LD₅₀ – letální dávka, která usmrtí 50 % testované populace

LC₅₀ – letální koncentrace, která usmrtí 50 % testované populace

Mg - hořčík

Mn – mangan

Mo – molybden

N - dusík

např. – například

Ni - nikl

O - kyslík

P – fosfor

S - síra

tj. – to je

tzn. – to znamená

v. v. i. – veřejná výzkumná instituce

zkr. - zkratka

Zn – zinek

Příloha A: Fotodokumentace hydroponického pokusu se *Salix x smithiana*



Příloha B: Fotodokumentace půdního pokusu s technikou DGT

