

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Aktivita půdních mikroorganismů v půdě dlouhodobě  
kontaminované rtuť**

**Diplomová práce**

**Bc. Artem Khaustov**

**Technologie odpadů**

**prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.**

**© 2023 ČZU v Praze**



### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Aktivita půdních mikroorganismů v půdě dlouhodobě kontaminované rtutí" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.4.2023

---

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval paní prof. Ing. Jiřině Szákové, CSc. za její velkou ochotu, pomoc a trpělivost během vedení diplomové práce. Děkuji také Dr. Tatianě Robledo Mahónové za pomoc v laboratoři. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat své rodině a svým spolužákům, kteří mě podporovali a motivovali během celého studia.

# Aktivita půdních mikroorganismů v půdě dlouhodobě kontaminované rtutí

## Souhrn

Tato diplomová práce se věnuje zkoumání obsahu rtuti a enzymatické aktivity půdních mikroorganismů na lokalitách, kde byla dříve prováděna těžba rud. Rtuť může představovat vážné riziko pro lidské zdraví a pro životní prostředí, jelikož se může šířit do potravního řetězce a způsobovat zdravotní komplikace. Půda, která je součástí přírodního systému a je v dynamické rovnováze se všemi ostatními složkami prostředí, v podmínkách zvýšeného antropogenního zatížení biosféry, podléhá degradaci. Kontaminanty, které se dostávají do půdy v důsledku antropogenní aktivity, narušují normální fungování půdní bioty a tím i celého půdního systému. Cílem této práce bylo posoudit aktivitu půdních mikroorganismů v půdách, které jsou rtutí zatíženy dlouhodobě, tedy v oblastech bývalé těžby rud tohoto prvku na Jedové Hoře u Hořovic a v Horních Lubech u Chebu, a tam, kde se rtuť používala při těžbě zlata amalgamací v Libčicích u Nového Knína.

Na každé lokalitě bylo náhodně odebráno 7 půdních vzorků, ve kterých byly následně analyzovány celkové obsahy rtuti a stanovena enzymatická aktivita. Pro každou ze tří lokalit byl stanoven faktor kontaminace pro jednotlivé body odběru a na základě těchto faktorů byly vypočítány minimální, maximální a průměrné hodnoty, stejně jako směrodatná odchylka. Nejvyšší průměrný obsah Hg byl naměřen v lokalitě Horní Luby (40,9 mg/kg) a nejnižší v lokalitě Libčice (5,6 mg/kg). Na lokalitách Jedová Hora a Horní Luby byl v minulosti prováděn průmyslový proces těžby cinabaritu, kvůli čemuž byla očekávána zvýšená kontaminace půdy rtutí v těchto lokalitách. V Libčicích se zase rtuť používala k amalgamací při těžbě zlata, což způsobilo antropogenní kontaminaci půdy. Tato lokalita sloužila jako srovnávací pro výzkum obsahu rtuti. Obecně se uvádí, že pokud je faktor kontaminace vyšší než 3, existuje pravděpodobnost, že půda je znečištěna a mohla by mít negativní dopady na životní prostředí a zdraví lidí. Většina hodnot v této studii překračuje tuto úroveň, což naznačuje, že kontaminace na těchto lokalitách je velmi závažná. Kromě toho byla zaznamenána pozitivní korelace mezi obsahem rtuti a aktivitou chitinázy a aktivitou cellobiohydrolázy v lokalitě Libčice.

Z tohoto důvodu je důležité pokračovat v monitorování a analýze obsahu rtuti na těchto lokalitách, aby byl zajištěn aktuální stav mobilizace rtuti v prostředí a zabráněno jejímu šíření do okolí. Je také důležité dodržovat opatření a provádět preventivní opatření, jako je sanace a odstraňování rtuti z půdy, aby bylo minimalizováno riziko negativních dopadů na životní prostředí a lidské zdraví.

**Klíčová slova:** rtuť, těžba rud, půdní mikroorganismy, enzymatická aktivita, korelace.

# Microbial activity in the long-term mercury contaminated soil

## Summary

This thesis focuses on the examination of mercury content and enzymatic activity of soil microorganisms in areas where mining activities were previously carried out. Mercury can pose a serious risk to human health and the environment, as it can spread into the food chain and cause health complications. Soil, which is part of the natural system and is in dynamic equilibrium with all other environmental components, is subject to degradation under conditions of increased anthropogenic pressure on the biosphere. Contaminants that enter the soil as a result of human activity disrupt the normal functioning of soil biota and thus the entire soil system. The aim of this study was to assess the activity of soil microorganisms in soils that have been exposed to long-term mercury contamination, i.e., in areas of former mercury ore mining at Jedová Hora near Hořovice and Horní Luby near Cheb, and where mercury was used in gold mining by amalgamation in Libčice near Nový Knín.

Seven soil samples were randomly collected from each site, and their total mercury contents were subsequently analyzed and enzymatic activity was determined. For each of the three sites, a contamination factor was determined for individual sampling points, and based on these factors, minimum, maximum, and mean values as well as standard deviation were calculated. The highest average Hg content was measured at the Horní Luby site (40.9 mg/kg) and the lowest in Libčice (5.6 mg/kg). Industrial cinnabar mining has been conducted in the past at the Jedová Hora and Horní Luby sites, which was expected to result in increased mercury contamination of the soil in these areas. In Libčice, mercury was used for amalgamation during gold mining, causing anthropogenic soil contamination. This site served as a comparative study for mercury content. It is generally stated that if the pollution factor is higher than 3, there is a probability that the soil is contaminated and could have negative impacts on the environment and human health. Most of the values in this study exceed this level, indicating that contamination at these sites is very serious. In addition, a positive correlation was observed between mercury content and chitinase activity and cellobiohydrolase activity at the Libčice site.

For this reason, it is important to continue monitoring and analyzing mercury content at these sites to ensure the current state of mercury mobilization in the environment is understood and prevent its spread. It is also important to follow measures and take preventive actions, such as remediation and removal of mercury from the soil, to minimize the risk of negative impacts on the environment and human health.

**Keywords:** mercury, mining, soil microorganisms, enzymatic activity, correlation.

## Obsah

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| <b>1</b> | <b>Úvod</b> .....  | <b>2</b>  |
| <b>2</b> | <b>Vědecká hypotéza a cíle práce</b> .....   | <b>3</b>  |
| <b>3</b> | <b>Literární přehled</b> .....   | <b>4</b>  |
|          | 3.1.1. Zdroje rtuti v životním prostředí .....                                       | 4         |
|          | 3.1.2. Rtut' v půdě.....   | 7         |
|          | 3.1.3. Toxický účinek organických sloučenin rtuti na zvířata a lidi.....             | 8         |
|          | 3.1.4. Toxický účinek organických sloučenin rtuti na rostliny .....                  | 9         |
|          | 3.1.5. Minamatská úmluva .....   | 10        |
|          | <b>3.2. Půdní enzymy</b> .....   | <b>10</b> |
|          | 3.2.1. Klasifikace enzymů .....  | 11        |
|          | 3.2.2. Reakce pudních organismů na zvýšené obsahy rizikových prvků .....             | 12        |
|          | <b>3.3. Popis lokalit</b> .....  | <b>14</b> |
|          | 3.3.1. Libčice .....   | 14        |
|          | 3.3.2. Jedová Hora .....   | 14        |
|          | 3.3.3. Horní Luby .....  | 15        |
| <b>4</b> | <b>Materiál a metody</b> .....   | <b>16</b> |
|          | <b>4.1. Vzorkování</b> .....   | <b>16</b> |
|          | <b>4.2. Analytické metody</b> .....  | <b>16</b> |
|          | 4.2.1 Stanovení výměnné půdní reakce .....   | 16        |
|          | 4.2.2 Stanovení rtuti.....   | 16        |
|          | 4.2.3 Stanovení enzymové aktivity.....   | 17        |
|          | 4.2.4 Zpracování dat .....   | 17        |
|          | 4.2.5 Faktor kontaminace.....  | 17        |
| <b>5</b> | <b>Výsledky</b> .....  | <b>18</b> |
| <b>6</b> | <b>Diskuze</b> .....   | <b>31</b> |
|          | <b>6.1. Aktivita b-D-glukosidázy v půdách dle jednotlivých horizontů</b> . ....      | <b>31</b> |
|          | <b>6.2. Aktivita kyselé fosfatázy v půdách dle jednotlivých horizontů</b> . ....     | <b>31</b> |
|          | <b>6.3. Aktivita arylsulfatázy v půdách dle jednotlivých horizontů</b> . ....        | <b>32</b> |
|          | <b>6.4. Aktivita lipázy v půdách dle jednotlivých horizontů</b> . ....               | <b>32</b> |
|          | <b>6.5. Aktivita chitinázy v půdách dle jednotlivých horizontů</b> .....             | <b>33</b> |
|          | <b>6.6. Aktivita cellobiohydrolázy v půdách dle jednotlivých horizontů</b> .....     | <b>34</b> |
|          | <b>6.7. Aktivita alanin aminopeptidázy v půdách dle jednotlivých horizontů</b> ..... | <b>34</b> |
|          | <b>6.8. Aktivita leucin aminopeptidázy v půdách dle jednotlivých horizontů</b> ..... | <b>35</b> |
| <b>7</b> | <b>Závěr</b> .....   | <b>36</b> |
| <b>8</b> | <b>Literatura</b> .....  | <b>37</b> |

# 1 Úvod

Tato diplomová práce se věnuje zkoumání obsahu rtuti a enzymatické aktivity půdních mikroorganismů na lokalitách, kde byla dříve prováděna těžba rud. Tyto lokality se nacházejí v Libčicích u Nového Knína, kde bylo v první polovině 20. století vytěženo až 76 kg zlata amalgamační metodou (Váňa a kol. 2001), v Horních Lubech u Chebu, kde se těžil cinabarit, ze kterého se vyráběla rtuť (Veľbil 2009), a na Jedové Hoře u Hořovic, kde byla těžena železná ruda a cinabarit jako vedlejší produkt (Veľbil 2009). Půda, která je součástí přírodního systému a je v dynamické rovnováze se všemi ostatními složkami prostředí, v podmínkách zvýšeného antropogenního zatížení biosféry podléhá degradaci. Kontaminanty, které se dostávají do půdy v důsledku antropogenní aktivity, narušují normální fungování půdní bioty a tím i celého půdního systému. Mezi různými biologickými kritérii pro hodnocení antropogenního dopadu na půdní mikrobiom jsou často využívány biochemické ukazatele, které poskytují informace o dynamice nejdůležitějších enzymatických procesů v půdě, jako jsou syntéza a rozklad organické hmoty, nitrifikace a další. (Gamayurova a Zinoviev 2011).

Rtuť je jediným kovem, který se nachází v prostředí v kapalném i plynném stavu, což je způsobeno zvláštními chemickými vlastnostmi tohoto prvku, dále má vysokou afinitu k sloučeninám obsahujícím síru a schopnost tvořit perzistentní metylované sloučeniny. Tyto všechny faktory určují vysokou migrační schopnost tohoto prvku v biosféře (Scheuhammer 2007). Antropogenní aktivita vede ke zvýšení migrace a redistribuci přírodních sloučenin rtuti a ke vstupu technogenních sloučenin rtuti do biogeochemického cyklu tohoto kovu. Problémy související s znečištěním životního prostředí rtutí se objevily v 50. až 70. letech 20. století po hromadné otravě lidí, kteří konzumovali ryby z vody silně kontaminované tímto kovem (Horvat 1996).

Zdrojem rtuti v půdě může být například aplikace pesticidů. Další zdroj rtuti představují průmyslové i domácí odpady, mezi které patří například zářivky, teploměry a jiné měřicí přístroje. Každý rok se do půdy dostává až 5 000 tun této kontaminující látky. Kvůli jejím škodlivým účinkům na životní prostředí se jedná o jednu z nejnebezpečnějších technogenních kontaminací. Rtuť je toxická pro zvířata i lidi a jakmile se dostane do těla, může vyvolat těžkou intoxikaci a poškození nervového systému, v krajních případech i smrt. Půdní mikroorganismy citlivě reagují na zvýšené obsahy Hg v půdě, ale byla u nich prokázána i schopnost bioakumulace a transformace sloučenin tohoto prvku. Diplomová práce je zaměřena na hodnocení aktivity půdních mikroorganismů v půdách kontaminovaných rtutí prostřednictvím stanovení aktivity vybraných půdních enzymů.



## 2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Rtuť je významný rizikový prvek, který je v půdě vázán zejména v půdní organické hmotě. Do prostředí se dostává zejména v důsledku průmyslové činnosti, kdy mezi významné zdroje patří těžba a zpracování rud tohoto prvku. V České republice najdeme několik míst, kde se v minulosti těžil cinabarit. Přestože tyto doly jsou v současné době již uzavřené, v jejich okolí nacházíme zvýšené obsahy rtuti v půdě. Půdní mikroorganismy se významně podílejí na transformaci sloučenin Hg v půdě, i na změnách dostupnosti tohoto prvku dalším organismům. Významná je také schopnost půdních mikroorganismů transformovat anorganické sloučeniny rtuti na mnohem toxičtější sloučeniny organické. Vysoké koncentrace rtuti v půdě ale mohou být pro půdní mikroorganismy toxické.

Cílem práce je posoudit aktivitu půdních mikroorganismů v půdách, které jsou rtutí zatíženy dlouhodobě, tedy v oblastech bývalé těžby rud tohoto prvku.

Hypotéza: Aktivita půdních mikroorganismů je ovlivněna celkovými i dostupnými obsahy rtuti v půdách kontaminovaných tímto prvkem.

## 3 Literární přehled

### 3.1. Rtuť

Kovová rtuť a některé její sloučeniny (cinabarit neboli rumělka, metacinabarit, amalgámy, jodid rtuťnatý) jsou člověku známy již od starověku a jsou používány asi po dobu 10 tisíc let. (Yanin 2005). Atomové číslo rtuti je 80, atomová hmotnost je 200,59. Rtuť je tekutý, stříbrně bílý kov, který zbledá po ztuhnutí. Hustota rtuti se mění s teplotou. Teplota tání rtuti je  $-37,870$  C. Bod varu je relativně nízký a mění se s tlakem, v průměru  $356,660$  C. nízké teploty tání a teploty varu určují nebezpečně vysoké koncentrace jeho par během rozlití (Ivanova a kol.1991). Nejdůležitější geochemickou vlastností rtuti je, že kromě jiných chalkofilních prvků má nejvyšší ionizační potenciál, což způsobuje vlastnosti, jako je schopnost regenerace do atomové formy a vysoká chemická odolnost vůči kyslíku a kyselinám (Druzhinin a Wolfson 1975).

Rtuť je považována za toxický, perzistentní a mobilní kontaminant; nedegraduje se v prostředí a stává se mobilní z důvodu těkavosti tohoto prvku a některých jeho sloučenin. Kromě toho má rtuť schopnost přenášet se vzduchem na velmi velké vzdálenosti (Pacyna 2020). Během posledních několika desetiletí bylo získáno mnoho vědeckých poznatků o zdrojích a emisích rtuti, jejich cestách a cyklování v prostředí, expozici člověka a dopadech na životní prostředí a lidské zdraví. Rtuť je jediným prvkem v periodické tabulce, který má svou vlastní úmluvu - Minamatskou Úmluvu o rtuti, což podtrhuje význam problému se znečištěním prostředí rtutí (Bank 2020). Rtuť se uvolňuje do životního prostředí z lidských aktivit i přírodních zdrojů a procesů, jako jsou sopky a rozpad hornin. Tyto uvolněné formy Hg se transportují a recyklují mezi hlavními složkami životního prostředí - vzduchem, půdou a vodou - a nakonec se ukládají v pobřežních a hlubokomořských sedimentech, jezerních sedimentech a v jednotlivých vrstvách půdy. Rtuť se vyznačuje silnou chemickou a biologickou aktivitou a také se může vyskytovat v různých formách, jako kapalné a plynné sloučeniny. Tyto sloučeniny se stávají součástí různých přirozených cyklů rtuti. (Kabata-Pendias a Pendias 2001).

#### 3.1.1. Zdroje rtuti v životním prostředí

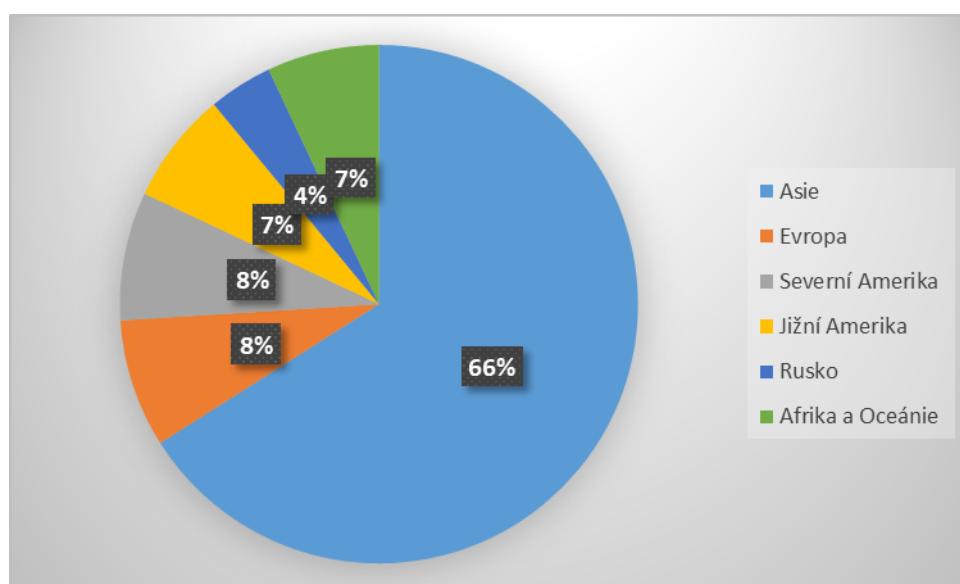
Podle zprávy UNEP (2002) jsou hlavní zdroje rtuti v biosféře rozděleny na antropogenní a přírodní. Přírodní zdroje zahrnují sloučeniny rtuti přítomné v litosféře a uvolněné sloučeniny rtuti v důsledku zvětrávání hornin a půd, odpařování z povrchu oceánů, lesních požárů a sopečných erupcí. Antropogenní zdroje se dělí do tří kategorií: současné antropogenní emise uvolněné při těžbě a zpracování rud, aktuální antropogenní emise spojené s cíleným využíváním rtuti v technologických procesech a remobilizace historických antropogenních úniků. Významnou roli při antropogenních emisích Hg hraje také spalování paliv a amalgamace rtuti používaná při těžbě zlata. (Lacerda 1997). Nejvýznamnější zdroje rtuti shrnuje Tabulka 1.

**Tabulka 1** Hlavní antropogenní zdroje vstupu rtuti do biosféry (UNEP 2005) – 1.část

| Č. | Kategorie   | Zdroje   |
|----|---|--|
| 1. | Těžba a využití paliv / zdrojů energie              | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Spalování uhlí ve velkých elektrárnách</li> <li>- Jiné využití uhlí</li> <li>- Těžba ropy, rafinace a použití</li> <li>- Zemní plyn - těžba, zpracování</li> <li>- Ostatní fosilní paliva - těžba a využití</li> <li>- Příjem energie a tepla spalováním biomasy</li> <li>- Výroba geotermální energie</li> </ul>   |
| 2. | Výroba primárních (nativních) kovů                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Extrakce a počáteční zpracování rtuti</li> <li>- Těžba zlata a stříbra sloučením</li> <li>- Extrakce a primární zpracování mědi</li> <li>- Extrakce a primární zpracování olova</li> <li>- Extrakce a počáteční zpracování zinku</li> <li>- Těžba a počáteční zpracování zlata jinými metodami než sloučením rtuti</li> <li>- Extrakce a primární zpracování hliníku</li> <li>- Ostatní neželezné kovy-těžba a zpracování</li> <li>- Prvovýroba železných kovů</li> </ul> |
| 3. | Výroba dalších minerálů a materiálů s příměsí rtuti | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Výroba cementu</li> <li>- Celulózný a papírenský průmysl</li> <li>- Ostatní materiály a minerály</li> <li>- Výroba vápna</li> </ul>   |
| 4. | Záměrné použití rtuti v průmyslových procesech      | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Výroba chlor-alkálií pomocí rtuťové technologie</li> <li>- Výroba monomeru vinylchloridu (VCM) s chlorid rtuťnatým (HgCl<sub>2</sub>) jako katalyzátor</li> <li>- Výroba acetaldehydu se síranem rtuťnatým (HgSO<sub>4</sub>) jako katalyzátor</li> <li>- Ostatní výroba chemických látek a polymerů s použitím sloučenin rtuti jako katalyzátorů</li> </ul>  |
| 5. | Spotřební výrobky s úmyslným použitím rtuti         | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Rtuťové teploměry</li> <li>- Elektrické spínače a relé využívající rtuť</li> <li>- Světelné zdroje obsahující rtuť</li> <li>- Baterie obsahující rtuť</li> <li>- Biocidy a pesticidy</li> <li>- Barvy</li> <li>- Léčiva pro člověka a veterinární léčiva</li> <li>- Kosmetika a související produkty</li> </ul>   |

**Tabulka 1** Hlavní antropogenní zdroje vstupu rtuti do biosféry (UNEP 2005) – 2.část

| Č.  | Kategorie  | Zdroje  |
|-----|--|---|
| 6.  | Další produkty / procesy s úmyslným použitím rtuti     | - Zubní amalgám<br>- Tlakovoměry a měřidla<br>- Laboratorní chemikálie a vybavení<br>- Použití kovové rtuti v náboženských rituálech a alternativní medicíně<br>- Různé výrobky, použití kovu rtuť a další zdroje |
| 7.  | Výroba recyklovaných kovů ("sekundární" kovovýroba)    | - Výroba recyklované rtuti ("sekundární výroba")<br>- Výroba zpracovaných železných kovů (železo a ocel)<br>- Výroba ostatních recyklovaných kovů   |
| 8.  | Spalování odpadů                                       | - Spalování domácího / obecného odpadu<br>- Spalování nebezpečných odpadů<br>- Spalování zdravotnického odpadu<br>- Spalování kolektorového kalu<br>- Nelegální spalování odpadu                                  |
| 9.  | Likvidace odpadů / skládkování a čištění odpadních vod | - Řízené ukládání odpadů do půd / umístění<br>- Nelegální místní likvidace průmyslového odpadu<br>- Nelegální skládka obecného odpadu<br>- Systém/čištění odpadních vod   |
| 10. | Krematoria a hřbitovy                                  | Krematoria a hřbitovy   |



Graf 1 Podíl globálních antropogenních emisí rtuti v roce 2005 v různých regionech světa, % (UNEP)

Geograficky existuje významná disproporce v množství rtuti, která vstupuje do atmosféry z antropogenních zdrojů (Graf 1). Asijský region zaujímá vedoucí postavení a

představuje 66% všech emisí kovů. Na druhém místě je Evropa a Severní Amerika s 8%, následovaná Jižní Amerikou s 7%. Rusko je uvedeno samostatně, protože jeho území leží jak v evropských, tak v asijských regionech, čímž představuje 4%. Afrika a země Oceánie celkově představují 7%.

### 3.1.2. Rtuť v půdě

Půda je jednou z důležitých složek globálního biogeochemického cyklu rtuti. Větší část rtuti se v půdě ukládá v povrchové vrstvě a jeho pohyb v ekosystémech je významně ovlivněn činností půdních organismů (Stein a kol. 1996). Kromě elementární rtuti jsou v půdě přítomny anorganické a organické sloučeniny. Mezi prvními se rozlišují mobilní (rozpuštěné ve vodě a kyselinách), oxidové a sulfidové formy (Panov a Shevchenko 2002). Téměř všechny typy půd se vyznačují poklesem koncentrací rtuti s hloubkou půdního profilu (Dikareva a kol. 1999). Maximální obsah je zaznamenán v minerálních humusových akumulacích horizontech. V lesních půdách jsou nejvyšší koncentrace celkové rtuti koncentrovány v lesním odpadu. V profilu půdy se obsah rtuti zvyšuje z subhorizontu dekompozice do horizontů fermentace a humifikace (Gladkova a Malinina 1999). V průběhu procesů rozkladu a humifikace lesního opadu se snižuje prostorová heterogenita opadu z hlediska obsahu rtuti. Procesy akumulace rašeliny přispívají ke zvýšení zásob rtuti v organogenních horizontech bažinatých půd v důsledku pomalé mineralizace organické hmoty. Rtuť je relativně silně vázána v rašelinových horizontech: ne více než 0,85% jejího celkového obsahu se uvolňuje do roztoku. Obrovská kapacita rašeliny zadržovat vodu navíc zpomaluje infiltraci vody do půdy během srážek, což snižuje odstraňování rtuti. Bylo zjištěno, že k minimálnímu odstranění rtuti dochází z povodí, kde velkou plochu zaujímají rašeliniště (Hurley a kol. 1995).

Baydina (1999) studovala s využitím metody postupné extrakce formy rtuti v půdách, kdy byla rtuť rozdělena do následujících frakcí: 1) ve vodě rozpustná rtuť - snadno dostupná rostlinám; 2) rtuť rozpustná v pufovaném roztoku octanu amonného (pH 4,8) - relativně snadno přístupná rostlinám; 3) rtuť rozpustná v kyselinách – forma rtuti potenciálně dostupná rostlinám; 4) rtuť rozpustná v zásadách - rtuť asociovaná s huminovými látkami. Ukázalo se, že až 30-40 % celkové rtuti je spojena s mobilními seskvioxidy huminových látek. Koncentrace ve vodě rozpustných forem Hg a forem rozpustných v octanu amonném jsou extrémně nízké. Při hodnocení mobility rtuti v půdách podle její koncentrace ve vodním extraktu bylo zjištěno, že maximální mobilita je charakteristická pro organický horizont. V minerálních horizontech je pohyblivost kovů extrémně nízká, takže vliv migrace vody ve vodním sloupci se projeví jen ve svrchních horizontech (Malinina a Gladkova 2004). Bylo zjištěno, že při kyselých a mírně kyselých půdních reakcích se může rtuť hromadit v iluviálním horizontu. V humusovém dochází ke vzniku komplexních sloučenin, které zadržují 70 až 80% celkového množství rtuti.. Za podmínek modelového laboratorního experimentu bylo prokázáno, že maximální absorpce rtuti v půdě je pozorována při pH v rozmezí od 3 do 5. (Yin 1996). Se zvýšením pH množství rozpuštěné rtuti prudce klesá. S nárůstem množství rozpuštěné organické hmoty, které se zvyšuje s rostoucím pH, vznikají složité sloučeniny s rtutí. Po předchozím odstranění organické hmoty ze zkoumaných vzorků se absorpce rtuti půdou snížila při kyselých podmínkách a zvýšila se při alkalických podmínkách. Další modelové studie v systému půda-voda prokázaly, že při zavedení glukózy do půdního roztoku, což zvyšuje obsah organického uhlíku, se

koncentrace celkové rtuti zvyšuje 11 až 15krát (Malinina a kol. 1997). Odhadované nejnižší koncentrace rtuti v půdách, po kterých je pozorován negativní vliv na půdní biotu, jsou 0,13 mg/kg (Barrow a Cox 2006).

### 3.1.3. Toxický účinek organických sloučenin rtuti na zvířata a lidi

Vysoká toxicita rtuti a jejích solí je již dlouho známa. Nicméně, vlastnosti methylovaných forem tohoto prvku jsou mnohem méně studovány, zejména z důvodů vysokých požadavků na analytiku. Monomethylrtuť je oficiálně považována za teratogenní jed, která může proniknout placentární bariérou a způsobit malformace u potomků (Efimova a Rukavishnikov 2004). Rtuť snadno nahrazuje železo v krevních buňkách a vytváří silné chemické vazby, které mohou následně vést k různým druhům patologických poruch (Lucotte a kol. 1999). Byly zjištěny vysoké hladiny rtuti v mozcích a játrech norků a vyder, s obsahem tohoto prvku v mozku přesahujícím 10 mg/kg a v játrech se pohybujícím v rozmezí 20-100 mg/kg, což jsou letální koncentrace (Dansereau 1999). Byla pozorována akutní toxikóza u lišky, která skončila smrtelným následkem, když byl obsah rtuti v játrech a ledvinách na úrovni 30 mg/kg (Borg 1969). V játrech pumy, která uhynula pravděpodobně v důsledku otravy methylrtutí, byla koncentrace tohoto kovu 110 mg/kg (Roelke 1991). V laboratorních podmínkách bylo zjištěno, že život ohrožující koncentrace rtuti v játrech domácího psa jsou v rozmezí 2,8-3,3 mg/kg a více (Farrar a kol. 1994).

Experimentální a individuální nálezy v přírodě naznačují, že normální reprodukce a život teplokrevných zvířat mohou být ohroženy v případě akumulace rtuti s koncentracemi v rozmezí od 0,1 do 200 mg/kg a to je určeno kombinací mnoha faktorů (Komov 2010). Podle různých autorů je obsah rtuti v krvi plodu buď stejný jako jeho obsah v krvi matky (Truska a kol. 1989), nebo ho dokonce přesahuje o 20-30 % (Kuhnert a kol. 1981). Vyšetření 779 párů "matka-dítě", obyvatel Seychel odhalilo statisticky neprůkazný vztah mezi svalovým napětím končetin dítěte a obsahem rtuti ve vlasech matky (Myers a kol. 1995). Zvýšený obsah rtuti ve vlasech matek pozitivně koreluje se zpožděním v takových fázích vývoje dětí, jako je začátek chůze a stání bez podpory. Během průzkumu 738 dětí (Seychely) mladších 1 roku bylo zjištěno, že průměrný věk nástupu chůze u chlapců byl tím pozdější, čím více rtuti bylo obsaženo ve vlasech jejich matek. Na každé zvýšení hmotnosti o 10 mg/kg obsahu rtuti ve vlasech matek byla chůze zpožděna o 2 týdny (Myers a kol. 1998). V předškolním věku vystavené methylrtuti (přijaté přes konzumaci ryb) měly nižší neurofyziologické skóre než jejich neexponovaní vrstevníci. Jak bylo prokázáno u 6-7letých dětí z Faerských ostrovů a ostrova Madeira, u některých jedinců došlo ke ztrátě sluchu a snížení vizuální jasnosti (Murata a kol. 1999).

Studie účinků methylrtuti na tělo dospělého se zaměřují na vstřebatelnost methylrtuti, vylučování z těla, a účinek na kardiovaskulární a nervový systém, smyslové orgány a reprodukční systém. Experimenty na dobrovolnících ukázaly, že 94 % methylrtuti je absorbováno a nevylučováno tělem během prvních 3-4 dnů, z čehož 6-10 % tvoří krev (Stern 1997). Výsledky studie finských vědců ukazují, že údaje o účinku methylrtuti na lidský kardiovaskulární systém jsou vzácné. Studie sledovala zdraví 1833 dospělých mužů po dobu více než 7 let (Salonen a kol. 1995). U těch z 1833 vyšetřovaných mužů, jejichž hladina rtuti ve vlasech přesáhla 2 mg/kg tělesné hmotnosti, došlo ke zvýšení rizika akutního infarktu myokardu 2násobně. Z 1000 vyšetřovaných dětí ve věku 7 let, kterým byl zjištěn zvýšený obsah

rtuti v krvi (ze 1 na 10 mg/l), bylo zaznamenáno průměrné zvýšení krevního tlaku o 14 mm Hg. Tyto údaje také naznačují snížení variability práce srdce, což je indikátor autonomní kontroly (Sørensen a kol. 1999).

### **3.1.4. Toxický účinek organických sloučenin rtuti na rostliny**

Rtuť má toxický účinek na rostliny i při nízkých koncentracích a brání jejich růstu. (Ahammad a kol. 2018). Hg v rostlinách je silně vázána na sulfhydrylové/thiolové skupiny proteinů. K toxicitě Hg v rostlinách dochází vazbou na sulfhydrylové skupiny proteinů, posunem základních prvků a narušením proteinové struktury (Safari a kol. 2019). Tato biochemická vlastnost pravděpodobně určuje toxické účinky na rostliny (Zhou a kol. 2008). Studie o toxických účincích rtuti na škodlivé organismy a rostliny v terénu jsou omezené. Rtuť se zkoumá ve sterilních a výrazně zjednodušených laboratorních podmínkách, což se liší od polních podmínek (Patra a Sharma 2000). Moreno-Jiménez a kol. (2006) se soustředili na výzkum těžební oblasti Almadén ve Španělsku. Těžba nerostných surovin zde začala před 2000 lety a má jednoznačný dopad na tento region, který je považován za nejvíce znečištěnou oblast na světě. Absorpce organické a anorganické rtuti z půdy rostlinami je nízká a existuje bariéra pro přesun rtuti z kořenů rostlin do nadzemní biomasy. Významné zvýšení hladiny rtuti v půdě tak pouze mírně zvyšuje hladinu rtuti v rostlinách přímou absorpcí z půdy. V suchozemské vegetaci pochází Hg v nadzemní biomase primárně z atmosféry, zatímco Hg v kořenech pochází z půdy (Patra a Sharma 2000). Lomonte a kol. (2010) předpokládali existenci stresově aktivovaných obranných mechanismů v rostlinách reagujících na rtuť, které jsou pravděpodobně příčinou zvýšené produkce sloučenin síry u testovaných druhů rostlin, které podporují jejich růst. Rtuť má velmi nízkou rozpustnost v půdě, malou dostupnost pro absorpci rostlin a žádnou známou biologickou funkci, což může vysvětlovat, proč nebyly dosud identifikovány žádné rostliny s hyperakumulací rtuti a proč metoda fytořemediace rtuti v půdách kontaminovaných touto látkou zatím nebyla vyvinuta (Lomonte a kol. 2010). Nedávno však byly publikovány studie naznačující použití transgenních rostlin pro fytořemediaci. Významným toxickým účinkem Hg na rostliny je tvorba reaktivních forem kyslíku, např. superoxidové aniontové radikály,  $H_2O_2$ , a hydroxylové radikály. Detoxikační mechanismy v boji proti oxidačnímu stresu vyvolanému Hg zahrnují enzymatické antioxidanty a některé neenzymatické antioxidanty, jako jsou následující: glutathion, fytochelatin, kyselina salicylová, selen, prolin a tokoferoly (Zhou a kol. 2008). Tento proces koreluje s narušením biomembránových lipidů a buněčného metabolismu, což má za následek poškození rostlin (Cargnelutti a kol. 2006). Stoupající hladiny druhů rtuti v půdě mají široký rozsah škodlivých účinků na růst a metabolismus rostlin, jako je snížená fotosyntéza, transpirace, příjem vody, syntéza chlorofylu a zvýšená peroxidace lipidů. Vysoký obsah Hg v rostlinách ovlivňuje činnost většiny enzymů. Celková činnost stresových indikátorů, jako je superoxidodismutáza (SOD), peroxidáza (POD) a askorbátperoxydasy (APX) se zvýšila po ošetření Hg, ale většina enzymů byla inhibována při vyšších koncentracích. (Manikandan a kol. 2015).

### 3.1.5. Minamatská úmluva

Minamatská úmluva, také známá jako Úmluva o zákazu a postupném zastavení využívání rtuti, je mezinárodní smlouva, kterou v roce 2017 přijala Organizace spojených národů pro životní prostředí (UNEP). Úmluva je pojmenována po městě Minamata v Japonsku, kde v 50. letech minulého století došlo k masivnímu znečištění rtutí, což mělo závažné zdravotní a ekologické dopady na místní obyvatele (UNEP, 2019). Cílem Minamatské úmluvy je zastavit využívání rtuti a snížit její negativní dopady na životní prostředí a lidské zdraví. Úmluva také stanovuje pravidla pro využívání rtuti v oblastech, kde je to nutné pro humanitární nebo zdravotní účely, a uvádí opatření pro ochranu pracovníků a veřejnosti před jejími negativními dopady (UNEP, 2019).

V rámci Minamatské úmluvy se také zavazují signatářské země k výměně informací a technické spolupráci, k podpoře výzkumu a vývoje nových technologií pro nahrazování rtuti a k zlepšení informovanosti veřejnosti o jejích rizicích. Řídícím orgánem úmluvy je Konference smluvních stran (COP), která byla zřízena podle článku 23 úmluvy. Prostřednictvím rozhodnutí přijatých na svých zasedáních COP prosazuje implementaci úmluvy a kontroluje a hodnotí její fungování (ICMGP 2021). Historie Minamatské úmluvy sahá až do roku 1990, kdy byla založena Mezinárodní konference o rtuti jako globálním polutantem (ICMPG), která má sloužit jako mezinárodní fórum pro vědu o rtuti (ICMGP 2021). Na 14. mezinárodní konferenci ICMPG v roce 2019 byl stanoven hlavní úkol pro zlepšení našich znalostí o rtuti, jejích zdrojích, osudech, dopadech a regulaci emisí. Tento úkol se nazývá „Propojení znalostí o rtuti s odpovědností vůči životnímu prostředí, lidskému blahobytu a politické reakci“ (ICMGP 2019).

## 3.2. Půdní enzymy

Půdní enzymy jsou klíčovými faktory pro funkci půdního ekosystému, kde hrají důležitou roli při rozkladu organické hmoty a uvolňování živin pro rostliny" (Hojdová a kol. 2009). Tyto enzymy jsou produkovány mikroorganismy a rostlinami v půdě a jsou důležité pro udržení zdravého půdního prostředí. Půdní enzymy mohou být ovlivněny různými faktory jako je kvalita půdy, stav vláh, teplota a dostupnost živin. Přítomnost cizorodých chemických látek a kontaminantů může negativně ovlivnit aktivitu půdních enzymů a mít negativní vliv na zdraví půdního ekosystému (Makarova a kol. 2016). Proto je důležité, aby byl přístup k půdě regulován a kontrolován, aby se zabránilo škodlivému vlivu na půdní enzymy a celkový zdravý stav půdy. Díky půdním enzymům, stabilnímu obsahu humusu, polysacharidů, vitaminů, aminokyselin, kyselosti, mobilních forem prvků atd. je udržována relativní biochemická rovnováha v půdě. Mnoho faktorů může měnit tuto rovnováhu, ale pokud má půda vysokou enzymatickou aktivitu, dochází k její obnově. Enzymové systémy v půdě provádějí biochemické reakce, výměnu složek a energie, což je základem procesu syntézy a transformace látek. Tyto enzymové systémy také zprostředkovávají funkční vazby mezi všemi částmi ekosystému (Khaziev 1982). Enzymatická aktivita je charakteristická pro půdu, která vzniká z kombinace procesů přijímání enzymů od živých organismů, jejich stabilizace a působení v půdě. Tyto hladiny se mění pod vlivem různých faktorů, včetně antropogenních. Enzymatická aktivita se často používá jako spolehlivý diagnostický indikátor úrodnosti půdy, když se kombinuje s jinými kritérii. Půdní enzymy se vyznačují vysokou aktivitou, přísnou specifičností



účinku a závislosti na podmínkách prostředí, jako je teplota, pH a vlhkost. Pokud například pH půdy není vhodné pro působení enzymu, dojde k jeho inaktivaci (Girfanova 1974). Půdní enzymy plní důležité úkoly při vytváření specifických podmínek v půdě. Tyto funkce zahrnují:

1. účast na rozkladu organických zbytků a minerálních sloučenin;
2. podporu biogeneze humusu;
3. podporu biochemické rovnováhy půdy;
4. implementaci biogeocenotických funkcí půdy;
5. úlohu při metabolismu půdy v nepříznivých podmínkách pro životně důležitou aktivitu mikroorganismů (Khaziev 2018).

Dosud bylo objeveno asi tisíc půdních enzymů. Z nich bylo více než 150 získáno v krystalické formě.

### 3.2.1. Klasifikace enzymů

Enzymy jsou rozděleny do šesti tříd:

1. Oxidoreduktázy;
2. Transferázy;
3. Hydrolázy;
4. Lyázy;
5. Izomerázy;
6. Ligázy

Enzymy patřící do skupiny oxidoreduktáz a hydroláz jsou nejvíce studovanými půdními enzymy. Tyto enzymy se podílejí na hlavních procesech humifikace půdy a jejich aktivita je silným ukazatelem okulturacy půdy. Dosud bylo objeveno více než 500 oxidoreduktáz, včetně katalázy, peroxidázy a polyfenoloxidázy. Tyto enzymy se podílejí na redoxních reakcích. Například kataláza rozkládá peroxid vodíku na vodu a molekulární kyslík. Půdy pod rostlinami se silným a hlubokým kořenovým systémem mají obvykle vysokou aktivitu katalázy (Khaziev 1982). Polyfenoloxidáza a peroxidáza hrají v půdách klíčovou roli v procesu tvorby humusu. Tyto enzymy katalyzují oxidaci polyfenolů na chinony, přičemž polyfenoloxidáza katalyzuje oxidaci při přítomnosti volného atmosférického kyslíku a peroxidáza katalyzuje oxidaci v přítomnosti peroxidu vodíku nebo organických peroxidů. Dehydrogenázy katalyzují biologickou oxidaci, což nastává při eliminaci vodíku z oxidovaných substrátů. Mnoho typů organických sloučenin, jako jsou proteiny, tuky, sacharidy, aminokyseliny, puriny a fenoly, se v půdě oxidují. Dvě klíčové vlastnosti oxidoreduktáz spočívají v tom, že urychlují řadu redoxních reakcí, i přes omezenou sadu koenzymů, a také urychlují chemické reakce souběžně s uvolňováním energie nutné k syntetickým procesům (Babaniyi a kol. 2022). Hydrolázy jsou rozsáhlou třídou enzymů, které provádějí hydrolyzační reakce. Hydrolázy jsou široce distribuovány v půdě. Rozkládají organické sloučeniny s vysokou molekulovou hmotností. Jejich důležitou úlohou je obohatit půdu o živiny, které jsou k dispozici rostlinám. Tato třída zahrnuje enzymy ureázu (amidázu), invertázu (uhlohydrát), fosfatázu (fosfohydrolázu) atd. Invertáza je enzym, který katalyzuje reakce hydrolytického štěpení sacharózy na glukózu a fruktózu. Aktivita invertázy nejlépe charakterizuje úrodnost a biologickou aktivitu půd. Ureáza patří mezi enzymy, které se podílejí na transformaci proteinových látek. V důsledku ureázové reakce vzniká amoniak, který slouží jako zdroj výživy

roślin. Pro aktivitu ureázy je charakteristický následující vzorec: jak se zvyšuje velikost strukturních jednotek půdy, dochází i ke zvýšení aktivity ureázy, která dosáhla maximálních hodnot v agregátech 5-10 mm (Adekanmbi a kol. 2022).

Fosfatáza katalyzuje hydrolýzu ortofosforečných esterů různých alkoholů a fenolů, organofosforových sloučenin. Úloha fosfatázy spočívá v tom, že přeměňuje fosfor na formy dostupné rostlinám. Při nedostatku fosforu dochází k produkci fosfatázy, se zvýšením její dostupnosti je fosfatáza naopak inhibována. Transferázy jsou enzymy, které katalyzují přenos jednotlivých radikálů, částí molekul a celých molekul z jedné sloučeniny na druhou. Asi 500 enzymů patří do třídy transferáz. V závislosti na tom, co nesou, existují fosfotransferázy, aminotransferázy, glykosyltransferázy, acyltransferázy, methyltransferázy atd (Khaziev 1982). Jiné třídy enzymů jsou méně studovány. Lyázy jsou enzymy, které katalyzují rozbíjení C-O, C-C, C-N a dalších vazeb, jakož i reverzibilní reakce štěpení různých skupin nehydrolytickým způsobem. Existuje 7 podtříd. Izomerázy katalyzují izomerační reakce. Ligázy-katalyzují chemické reakce s tvorbou vazeb v důsledku ATP (adenosintrifosfát) (Alekseeva & Fomina 2014).

### **3.2.2. Reakce pudních organismů na zvýšené obsahy rizikových prvků**

Z antropogenních kontaminantů uvolňovaných do životního prostředí zaujímají rizikové prvky zvláštní pozici. Když se dostanou do půdy, ovlivňují druhové složení a hojnost a funkční stav mikrobiocenózy (Chicherina a Saprykina 2016). Kontaminace rizikovými prvky významně mění vybrané mikrobiologické a chemické vlastnosti půdy. Ovlivňuje také buněčné dělení mikroorganismů a změnu rozmanitosti pudní mikroflóry, která je převážně reprezentována trofickými skupinami (Barabanshikov a Serdukova 2017). Mikroorganismy se podílejí na migraci rizikových prvků v půdě, mohou působit jako producenti, spotřebitelé a dopravci v pudním ekosystému. Některé pudní houby mohou mít schopnost imobilizovat rizikové prvky, hromadit je v myceliu a dočasně je vyloučit z oběhu látek. Při zvýšení koncentrace těžkých kovů se může pozorovat rychlý pokles aktivity enzymů a snížení počtu některých skupin mikroorganismů. Tyto kovy v půdě inhibují mineralizační procesy, potlačují dýchání pudních mikroorganismů, způsobují mikrobostatický účinek a mohou být také mutagenním faktorem (Haddad a kol. 2023).

Rizikové prvky mají dvojí roli v životních procesech mikroorganismů. Všechny mikroorganismy potřebují určité kovy jako složky potravin. Například některé z nich - Fe, Zn, Cu, Cr, Mn - jsou nezbytné v malých množstvích pro udržení života. A také některé mikroorganismy potřebují rizikové prvky, jako jsou Mo, V, Ni. Všechny uvedené kovy se účastní hlavně enzymatické katalýzy jako kofaktory a měly by být přítomny v nízkých koncentracích v živném médiu. Jiné kovy, jako jsou Cd, Pb, Sn, Hg, Ag, Co, nevykonávají biologické funkce, ale při vysokých hladinách v půdě mohou být toxické pro mikroby. Mohou měnit vlastnosti proteinů, koenzymů, nukleotidů, fosfolipidů, interagujících s hydroxylovými, karboxylovými, fosfátovými, sulfhydrylovými a aminoskupinami. Také rizikové prvky, pronikající do buňky a fixující se na subcelulární membrány, mohou ovlivnit procesy probíhající v buňce (Bagayeva a kol. 2013). Při vysoké koncentraci těžkých kovů se počet mikroorganismů v půdě snižuje.

V důsledku technogenního znečištění klesá jak celkový počet mikroorganismů, tak počet amonifikátorů a nitrifikátorů prudce klesá a zvyšuje se skupina denitrifikátorů a oligonitrifikátorů. Zvyšuje se také počet bakterií rozpouštějících fosfáty a snižujících železo, zatímco bakterie ničící celulózu naopak klesají (Ilbulova a kol. 2011). Také stupeň inhibice vitální aktivity mikrobiocenózy může záviset na fyziologických a biochemických vlastnostech specifických těžkých kovů, které znečišťují půdu. Olovo nepříznivě ovlivňuje biotickou aktivitu v půdě, inhibuje aktivitu enzymů, narušuje metabolismus mikroorganismů, zejména procesy dýchání a dělení buněk. Pokud je v půdě vysoké množství olova (více než 8 000 mg/kg), mění se morfologická struktura *Bacillus mycoides*: jejich zkroucené, klikaté výrůstky podobné hyfám se narovnávají a prodlužují (Dovletyarova a kol. 2012). Ionty Cd v koncentraci 12 mg / kg mají schopnost narušit fixaci atmosférického dusíku a také ovlivnit procesy amonifikace, nitrifikace a denitrifikace.

Houby jsou nejvíce postiženy Cd a některé druhy zcela zmizí, když tento těžký kov vstoupí do půdy. Při nadměrné koncentraci ionty Zn brání dýchání mikroorganismů, fermentaci rozkladu celulózy atd., díky čemuž mohou být narušeny procesy přeměny organických látek v půdě. Kromě toho toxický účinek rizikových prvků závisí na jejich interakci mezi sebou a také s mikrobiotou. Je také známo, že když je půda kontaminována rizikovými prvky, mikroskopické houby na ně mohou reagovat pozitivně nebo negativně, inhibovat komunitu v půdě nebo stimulovat jejich vývoj. Například Sr prudce zvyšuje tvorbu toxinů v některých typech půdy a stimuluje růst hub rodu *Fusarium*. Při konstantním znečištění půdy jsou mikromycety schopny akumulovat Cu a Ni. Tato schopnost hub umožňuje použití určitých mikromycet jako bioindikátorů znečištění půdy těžkými kovy (Bagayeva a kol. 2013).

Rizikové prvky ovlivňují mikroskopické houby různými způsoby. Některé kovové ionty, jako je Cu, Co, Mo, mohou narušit morfogenezi u některých hub, například mikroskopické houby rodu *Fusarium* a ionty Cu a Zn při určitých toxických koncentracích ovlivňují houby rodu *Penicillium*. Bylo také prokázáno, že Cd má schopnost inhibovat transport Zn a částečně Cu v myceliu houby *Penicillium notatum*. Bylo prokázáno, že ionty mědi a ionty některých dalších těžkých kovů ovlivňují genetický aparát, syntézu proteinů a organizaci buněčné membrány v mikroskopických houbách. Předpokládá se, že v přítomnosti Zn a Cu se zvyšuje tvorba mykotoxinů (Bagayeva a kol. 2013). Rtuť má toxický účinek na mikroorganismy, což může vést k poklesu mikrobiální biomasy, dýchání půdy a aktivity enzymů. Tyto změny v půdních mikroorganismech mohou negativně ovlivnit biologické procesy v půdě a snížit výnos plodin (Makarova a kol. 2016). Také může způsobit pokles mikrobiální biomasy v půdě. Mikrobiální biomasa jsou živé organismy v půdě, jako jsou bakterie, houby, řasy, které hrají důležitou roli v cyklu živin a udržení půdního ekosystému. Makarova a kol. (2016) stanovili obsah mikrobiální biomasy v půdě znečištěné rtuťí a porovnali s kontrolní skupinou bez znečištění. Výsledky ukázaly, že přítomnost rtuti v půdě vede k významnému poklesu mikrobiální biomasy. To může vést ke snížení rozkladu organických látek a snížení dostupnosti živin pro rostliny. Kromě toho může rtuť způsobit pokles půdní respirace. Respirace půdy je proces, při kterém dochází v půdním vzduchu k spotřebě kyslíku a vylučování oxidu uhličitého. Tento proces je nezbytný pro životnost mikroorganismů a udržení půdního ekosystému jako celku. Vědci změřili respiraci v půdách znečištěných rtuťí a porovnali ho s kontrolními vzorky. Výsledky ukázaly, že přítomnost rtuti v půdě vede k poklesu

dýchání půdy. To může vést ke snížení dostupnosti kyslíku pro mikroorganismy (Makarova a kol. 2016).

### **3.3. Popis lokalit**

#### **3.3.1. Libčice**

Lokalita Libčice se nachází v České republice a byla zasažena dlouhodobou kontaminací rtuťí. Studie ukazují, že kontaminace rtuťí má negativní vliv na mikrobiální aktivitu v půdě a tím i na celkovou ekologickou stabilitu (Šmilauer a kol. 2002). Ve vzorcích půdy z Libčic byly nalezeny nejnižší hladiny Hg ze všech tří prozkoumaných lokalit, které však přesáhly bezpečnostní limit. Průměrné množství Hg bylo 5,6 mg/kg. V minulosti se zde vyskytovala rozsáhlá těžební činnost, která měla zásadní vliv na životní prostředí této oblasti (Vöröš a kol. 2018).

V Libčicích se těžilo zejména zlato, ale také měď, zinek a olovo. Těžba zlata zde probíhala již od středověku a dosáhla svého vrcholu v 16. století, kdy byla Libčice jednou z největších těžebních oblastí v Čechách. Těžba zlata byla spojena s použitím rtuťí. Rtuť se používala k oddělení zlata od horniny a v této oblasti se používala ve velkých množstvích. V důsledku toho docházelo k únikům rtuťí do půdy a vodních zdrojů, což vedlo k vážné kontaminaci a znečištění životního prostředí (Vöröš a kol. 2018).

Dopady kontaminace rtuťí v této oblasti byly dlouhodobé a závažné. Rtuť způsobovala zdravotní problémy u obyvatel této oblasti a negativně ovlivňovala přírodu. V roce 2021 byl proto zahájen návrh sanace znečištěné oblasti, který měl za cíl minimalizovat dopady kontaminace rtuťí na životní prostředí a zdraví lidí (Šindlerová a kol. 2021).

Rtuť má schopnost interagovat s živými organismy a inhibovat jejich růst, což má vliv na celkovou funkčnost ekosystému (Naidu a kol. 2009). Proto je důležité monitorovat aktivitu půdních mikroorganismů v lokalitách, které jsou kontaminovány rtuťí, aby bylo možné určit úroveň jejich ovlivnění a navrhnout adekvátní opatření ke zlepšení stavu ekosystému.

#### **3.3.2. Jedová Hora**

Jedová Hora je lokalita v České republice, která byla během 20. století znečištěna v důsledku těžby železné rudy. Studie ukazují, že tato oblast má vysoké hladiny kontaminantů, jako jsou arzen, rtuť, měď a nikl. Tyto prvky mohou negativně ovlivnit půdní mikrobiologii a biologickou dostupnost pro rostliny a živočichy (Salimnezhad a kol. 2021). Jedová Hora je bývalý důl, kde se těžila železná ruda, konkrétně hematit. Tato lokalita je v současnosti považována za jednu z nejvíce kontaminovaných oblastí v České republice, co se týká obsahu rizikových prvků, jako je As, Hg, Co, Ni, Cd a Zn. Těžba na Jedové Hoře byla spojena s velkým množstvím odpadů, které se hromadily v okolí těžebních šachet a dolů. Tyto odpady obsahovaly nejen zbytky rudy, ale také škodlivé chemické látky, jako je kadmium, arzen, rtuť a další těžké kovy. Tyto odpady se postupně šířily do okolního prostředí a způsobily závažné ekologické problémy. Tyto prvky mohou mít negativní vliv na životní prostředí a zdraví lidí. Proto je důležité sledovat jejich výskyt a hodnotit možná rizika (Vrba a kol. 2006). Jedová Hora podle výsledků analýzy celkového obsahu rtuťí je druhá nejznečištěnější lokalita ze třech

prozkoumaných. Průměrný obsah rtuti ve vzorcích z této lokality je docela velký (26,5 mg/kg), což se vysvětluje šířením odpadu z těžebních šachet v důsledku mnoholeté těžby železné rudy.

### 3.3.3. Horní Luby

Lokalita Horní Luby v České republice byla známa jako místo těžby železné rudy a cínu od středověku. Těžba v této oblasti byla ukončena v polovině 20. století, ale následky jejího působení na životní prostředí se stále projevují (Hrcíř 2006). Kontaminace půdy a podzemních vod v této lokalitě v důsledku těžby vedly k vysokým hladinám rtuti, arsenu a dalších škodlivých prvků. Ty mohou mít negativní dopad na zdraví lidí a životního prostředí, pokud nejsou adekvátně řešeny (Frantál a kol. 2009).

V průběhu 18. a 19. století se tato oblast stala jednou z nejvýznamnějších těžebních lokalit v celé Evropě a přilákala mnoho horníků z celého světa. Těžba stříbra a cínu byla v té době hlavním zdrojem obživy pro mnoho obyvatel této oblasti (Klier 1969). Horní Luby, podobně jako Jedová Hora, se vyznačuje vysokým stupněm kontaminace rtutí. Obsah rtuti v této lokalitě dosahoval průměrně 40,9 mg/kg, což přesáhlo hodnoty považované za preventivní. V posledních letech byly na Horní Luby provedeny různé studie a výzkumy, které ukázaly vysoké hladiny arsenu a dalších těžkých kovů v půdě a vodě. Cieslarová (2022) zaznamenala vysoký obsah zinku ve vzorcích půdy z lokality Horní Luby, a to až 617 mg/kg.

Znečištění způsobené těžbou na Horní Luby bude mít dlouhodobé dopady na životní prostředí a zdraví obyvatel této oblasti. Je důležité pokračovat v monitorování a minimalizování těchto dopadů, aby se zajistilo udržitelné životní prostředí pro budoucí generace.

## 4 Materiál a metody

### 4.1. Vzorkování

Byl proveden průzkum na dvou místech, kde se v minulosti těžila rudná sloučenina cinabarit (Horní Luby a Jedová Hora), a na jedné lokalitě (Libčice), kde se používala rtuť k získávání zlata. Pro každou z lokalit bylo vybráno 7 bodů, kde byla vykopána sonda do hloubky 25 cm. Zemina byla poté rozdělena do horizontů a odebrán reprezentativní vzorek ze každého horizontu. Vzorky byly následně zpracovány, vysušeny, rozdrceny a prosety sítím o velikosti ok 2 mm.



*Obrázek 1 Sběr vzorků v lokalitě Libčice*

### 4.2. Analytické metody

#### 4.2.1 Stanovení výměnné půdní reakce

Pro určení reakce půdy bylo ve vzorku zeminy, který se vážil na 10 g, použito 50 ml roztoku  $\text{CaCl}_2$  o koncentraci 0,01 mol/l. Směs se míchala po dobu 60 minut na třepačce a poté se nechala odstát dalších 60 minut. Poté byla stanovena hodnota pH v suspenzi pomocí digitálního pH metru se skleněnou elektrodou.

#### 4.2.2 Stanovení rtuti

Stanovení obsahu rtuti v zemině bylo provedeno pomocí analyzátoru AMA-254. Byl navážen 15 mg vzorku zeminy, který byl sušen a spálen v spalovací peci. Rozkladné produkty byly vedeny přes katalyzátor a amalgamátor, kde byla rtuť selektivně zachycena. Krátkodobým ohřevem byla rtuť uvolněna do měřicí kyvety, kde byla měřena absorbance záření atomy rtuti a výsledek byl vyhodnocen pomocí externí kalibrace. Ve vzorcích s extrémně vysokým obsahem Hg byla stanovena koncentrace Hg technikou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS, Agilent 7700x, Agilent Technologies Inc., USA), detaily stanovení viz Cieslarová (2022).

### 4.2.3 Stanovení enzymové aktivity

Aktivita enzymů  $\beta$ -glukosidázy, fosfatázy,  $\beta$ -xylosidázy, chitinázy, celobiohydrolázy,  $\beta$ -galaktosidázy,  $\alpha$ -glukosidázy,  $\beta$ -manosidázy, arylsulfatázy, a lipázy byla stanovena spektrofluorometricky s využitím fluorescenčně značených substrátů. Jako fluorescenční molekula byl použit 4-methylumblyferol (MUF).

Pro stanovení aktivity jednotlivých enzymů byly použity suspenze tvořené 0,25 g lyofilizovaného vzorku v 50 ml 50 mM acetátového pufru s pH 5 (smícháme 2,78g octanu sodného + 1l destilované vody + 938  $\mu$ l kyseliny octové). Takto připravené vzorky byly po nezbytnou dobu uchovávány při teplotě do 4 °C. Do mikrotitrační destičky byly napipetovány jednotlivé MUF substráty a kalibrační roztoky MUF standardu v předem daném ředění. K substrátům bylo do jamek napipetovaláno 200  $\mu$ l homogenizované suspenze vzorku. Do pravé části destičky byly umístěny kalibrační řady, ve kterých postupně vzrůstala koncentrace MUF. Fluorescence byla změřena pomocí mikrodestičkového analyzátoru (Infinite F200, TECAN, Switzerland) s excitací 360 nm a emisí 465 nm.

### 4.2.4 Zpracování dat

Statistické vyhodnocení dat bylo provedeno pomocí programu Microsoft Excel, kde byly použity základní popisné charakteristiky jako např. nejvyšší a nejnižší hodnota, průměr a směrodatná odchylka. Pearsonovy korelační koeficienty byly zpracovány pomocí programu Statistica.

### 4.2.5 Faktor kontaminace

Faktor kontaminace (CF) je určením úrovně kontaminace v porovnání s průměrným obsahem daného kovu v zemské kůře nebo s měřenými hodnotami v geologicky podobné a neznečištěné oblasti (Jimoh a kol., 2020). V tomto případě byla pro porovnání použita preventivní hodnota obsahu Hg v půdě dle vyhlášky 153/2016 Sb., tj. 0,3 mg/kg. CF byl pak vyjádřen dle vztahu:

$$CF = \frac{C_s}{C_{Refs}}$$

( $C_s$  - celkový obsah v půdě na posuzované lokalitě (mg/kg),  $C_{Refs}$  – preventivní hodnota obsahu Hg (mg/kg). Úroveň kontaminace pak může být klasifikována následovně:  $CF \leq 0.7$ , bez rizika;  $0.7 < CF \leq 1.0$  porovnatelné s limitem,  $1.0 < CF \leq 2.0$  nízké znečištění;  $2.0 < CF \leq 3.0$  střední znečištění;  $CF \geq 3.0$  vysoké znečištění.

## 5 Výsledky

**Tabulka 2.** hodnoty pH půd dle jednotlivých horizontů

| Horizont | Horní Luby  | Jedová Hora | Libčice     |
|----------|-------------|-------------|-------------|
| H+F      | 4,30 ± 0,69 | 4,63 ± 0,52 | 6,24 ± 0,24 |
| A        | 4,28 ± 0,46 | 4,75 ± 0,77 | 6,36 ± 0,24 |
| B        | 4,30 ± 0,69 | 4,47 ± 0,61 | -           |

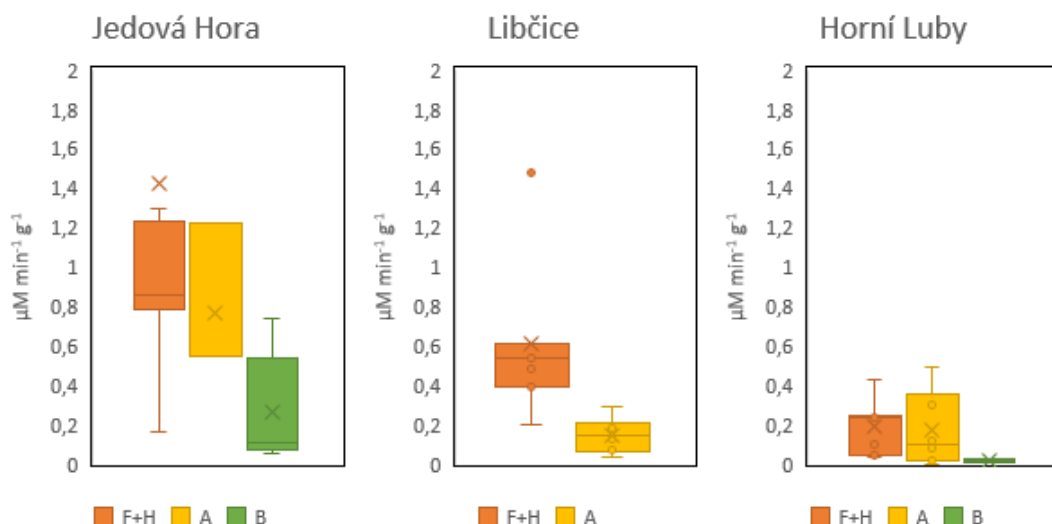
Z výsledků vyplývá, že nejvyšší průměrná hodnota pH je u půdy v lokalitě Libčice, přičemž horizont H+F má nejnižší hodnotu pH (Tabulka 2). Naopak v lokalitě Horní Luby jsou hodnoty pH nižší, přičemž horizonty H+F a B mají nejvyšší hodnotu pH. Odchytky od průměru jsou u většiny hodnot v tabulce poměrně nízké, což naznačuje, že měření byla poměrně přesná a že hodnoty pH půdy jsou relativně stabilní.

**Tabulka 3.** Celkové obsahy Hg v půdách (mg/kg) a hodnoty faktoru kontaminace CF

|                  | Libčice    |      | Jedová Hora |       | Horní Luby |       |
|------------------|------------|------|-------------|-------|------------|-------|
|                  | Hg (mg/kg) | CF   | Hg (mg/kg)  | CF    | Hg (mg/kg) | CF    |
| Min              | 0,66       | 2,2  | 0,22        | 0,7   | 3,3        | 11,1  |
| Max              | 15,5       | 51,8 | 135         | 450,6 | 117        | 390,4 |
| Průměr           | 5,6        | 18,6 | 26,5        | 88,4  | 40,9       | 136,4 |
| Směrod. odchylka | 4,8        | 15,9 | 48,3        | 160,9 | 39,2       | 130,5 |

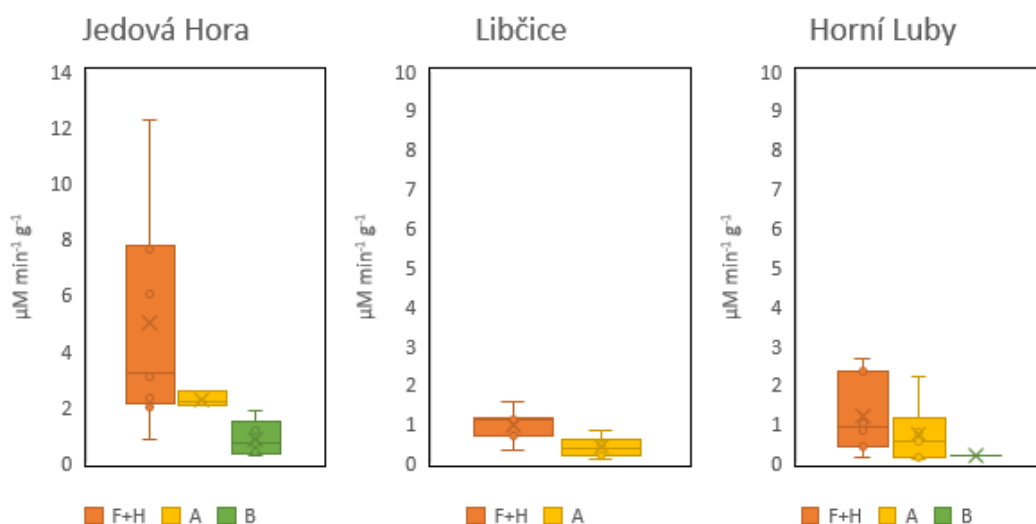
Z výsledků vyplývá, že lokality se výrazně liší v obsahu Hg v půdě i v hodnotě faktoru kontaminace (Tabulka 3). Nejvyšší průměrný obsah Hg byl naměřen v lokalitě Horní Luby (40,9 mg/kg) a nejnižší v lokalitě Libčice (5,6 mg/kg). Nejvyšší hodnota faktoru kontaminace byla naměřena v lokalitě Horní Luby, zatímco nejnižší hodnota byla v lokalitě Libčice. Směrodatné odchylky jsou poměrně vysoké, což naznačuje, že naměřené hodnoty se v jednotlivých vzorcích půdy v dané lokalitě poměrně výrazně liší. Toto může být způsobeno například různou geologickou historií, zdroji znečištění nebo jinými faktory ovlivňujícími obsah kovů v půdě.





Obrázek 2 grafy aktivity b-D-glukosidázy v půdách dle jednotlivých horizontů

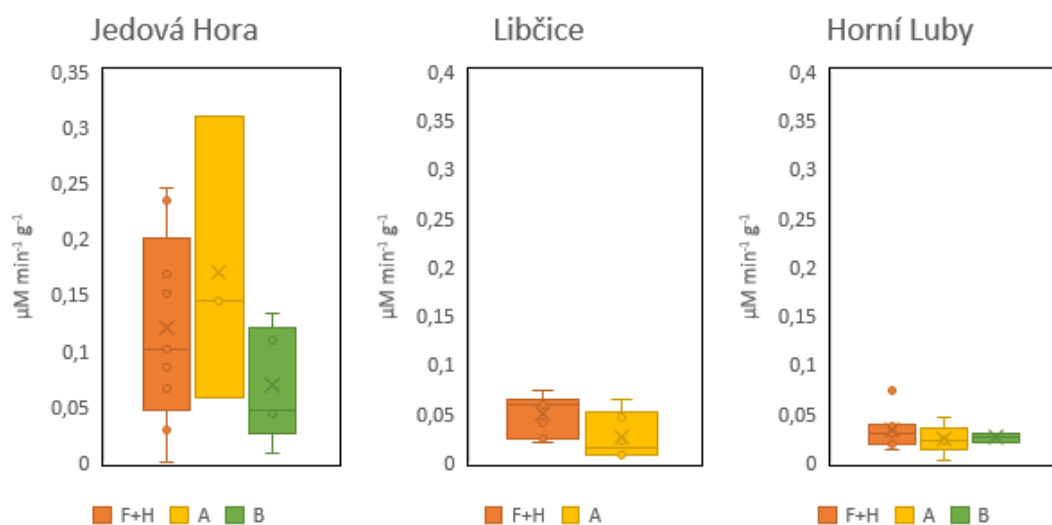
Na grafech aktivity b-D-glukosidázy v půdách dle jednotlivých horizontů (Obrázek 2) lze vyčíst, že výsledky se výrazně liší mezi různými lokalitami a že hodnoty vždy klesají s hloubkou. Nejvyšší aktivita byla zaznamenána v Jedové Hoře v horizontech F+H, které jsou obvykle nejbohatší vrstvy půdy s vysokým obsahem organických látek. Zároveň je vidět, že rozdíl v aktivitě mezi horizonty F+H a A v půdách z Jedové Hory není výrazný. Na druhé straně, nejnižší hodnota byla naměřena v horizontech F+H a B v Horních Lubech. Jinak tomu bylo v horizontu A v Horních Lubech, kde je aktivita b-D-glukosidázy vyšší než v horizontu A z Libčic.



Obrázek 3 grafy aktivity kyselé fosfatázy v půdách dle jednotlivých horizontů

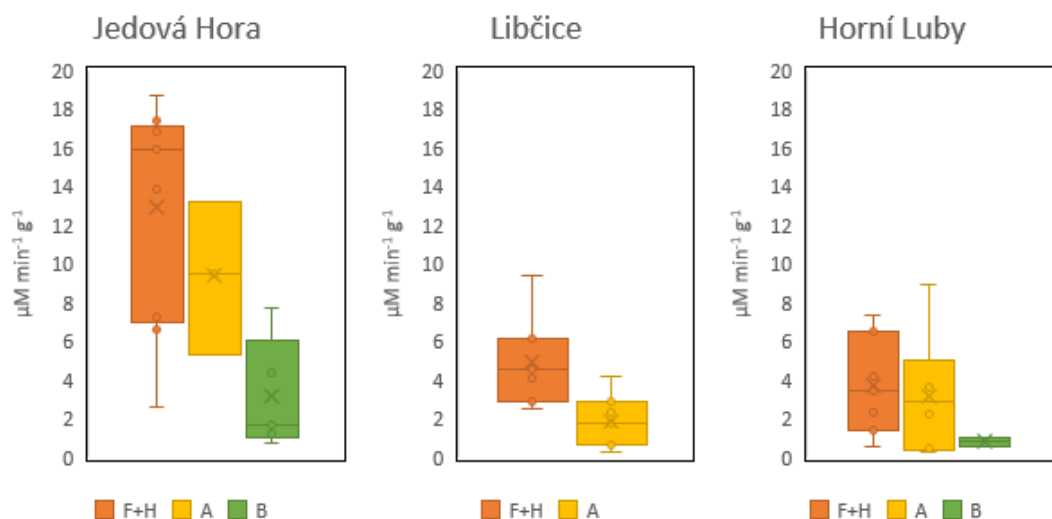
Na grafech aktivity kyselé fosfatázy v půdách (Obrázek 3) je zřejmé, že hodnoty jsou velmi rozmanité a klesají s hloubkou půdního profilu. Nejvyšší hodnota byla naměřena v

Jedové Hoře a v horizontech F+H, což jsou obvykle nejbohatší vrstvy půdy s vysokým obsahem organických látek. Nejnižší hodnota byla zaznamenána v Libčicích.



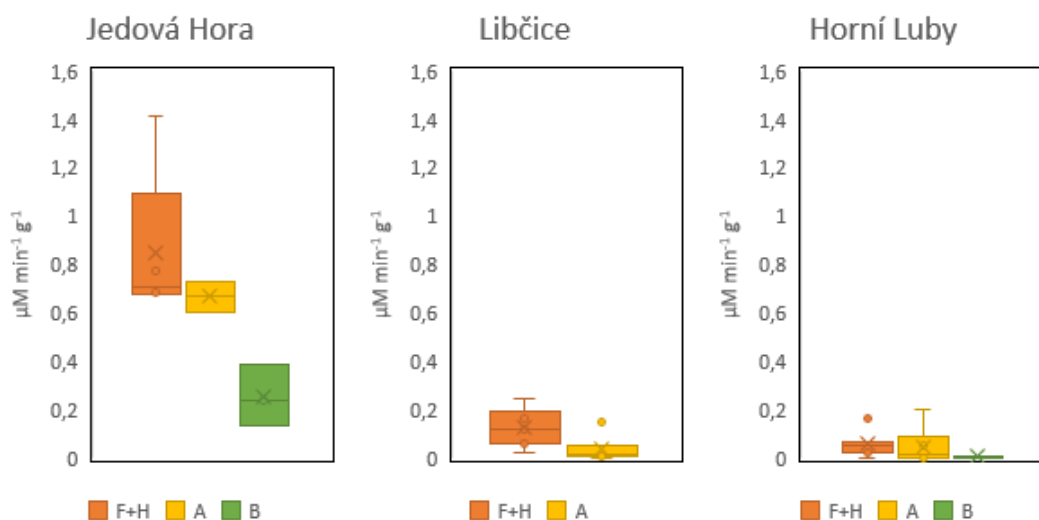
Obrázek 4 grafy aktivity arylsulfatázy v půdách dle jednotlivých horizontů

Na grafech aktivity arylsulfatázy v půdách dle jednotlivých horizontů (Obrázek 4) je patrné, že hodnoty jsou velmi rozmanité a vždy klesají s hloubkou půdního profilu. Nejvyšší hodnota byla naměřena v Horních Lubech, zatímco nejvyšší hodnota v Jedové Hoře byla zaznamenána v horizontu A. Horizont A je obvykle mnohem tenčí než horizont F+H a může mít vyšší koncentraci mikroorganismů a substrátů než horizont F+H. Proto je možné, že aktivita arylsulfatázy je ve vrstvě A vyšší než v horizontu F+H.



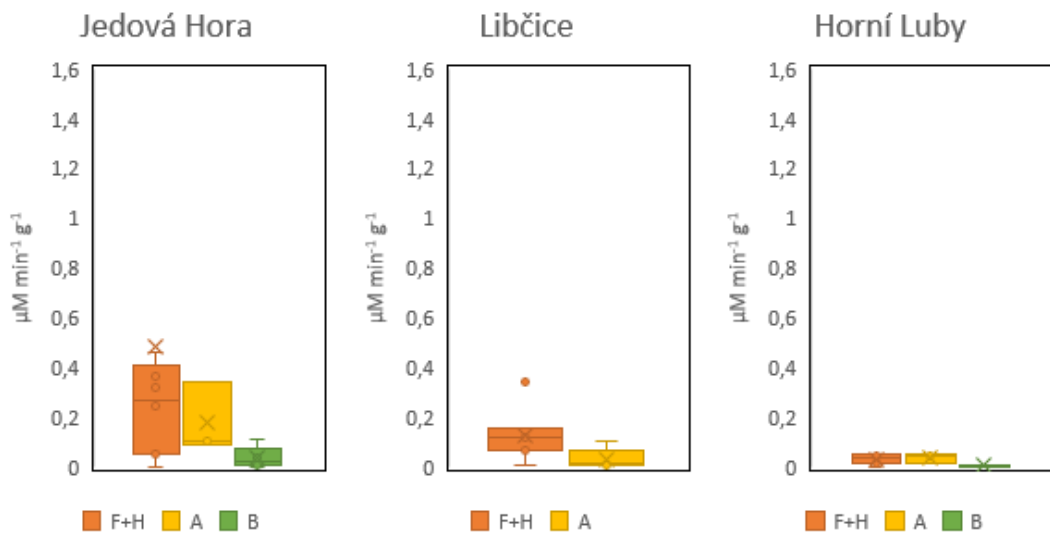
Obrázek 5 grafy aktivity lipázy v půdách dle jednotlivých horizontů

Z grafů aktivit lipázy v půdách (Obrázek 5) lze vyčíst, že hodnoty aktivit jsou velmi rozmanité a obecně klesají s hloubkou půdního profilu. Nejvyšší aktivita lipázy byla naměřena v Jedové Hoře v horizontu F+H, zatímco nejnižší hodnota byla zaznamenána v Horních Lubech v horizontu B a v Libčicích v horizontu A. Nicméně mezi horizonty F+H v Libčicích a Horních Lubech není velký rozdíl. Při porovnání hodnot aktivit lipázy v horizontech F+H a A v půdách z Horních Lubech se také ukazuje, že rozdíl mezi nimi není příliš velký. To naznačuje, že aktivita lipázy v různých hloubkách půdního profilu může být v některých případech podobná.



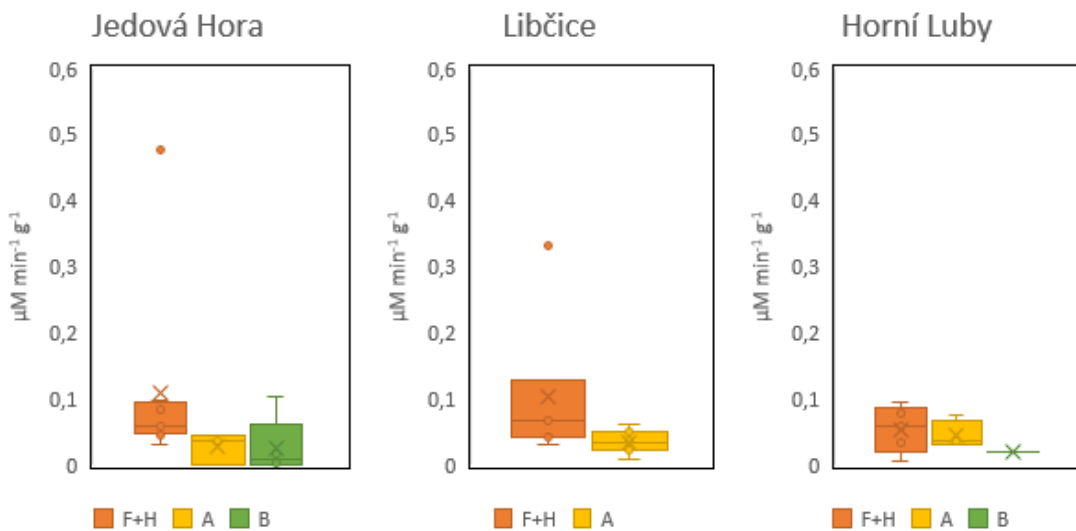
Obrázek 6 grafy aktivity chitinázy v půdách dle jednotlivých horizontů

Z grafů aktivit chitinázy v půdách (Obrázek 6) lze vyčíst, že v obecném trendu klesání aktivit chitinázy s hloubkou půdního profilu existují výrazné výkyvy. Například v půdě v Jedové Hoře byla naměřena v horizontu F+H nejvyšší aktivita chitinázy. Lze také vyčíst, že v Horních Lubech byla naměřena nejnižší aktivita chitinázy v půdních vzorcích, avšak ne v každé hloubce půdního profilu. Konkrétně nejvyšší aktivita chitinázy byla pozorována v horizontu A této půdy, což může být způsobeno vyšším obsahem organického uhlíku v této části profilu.



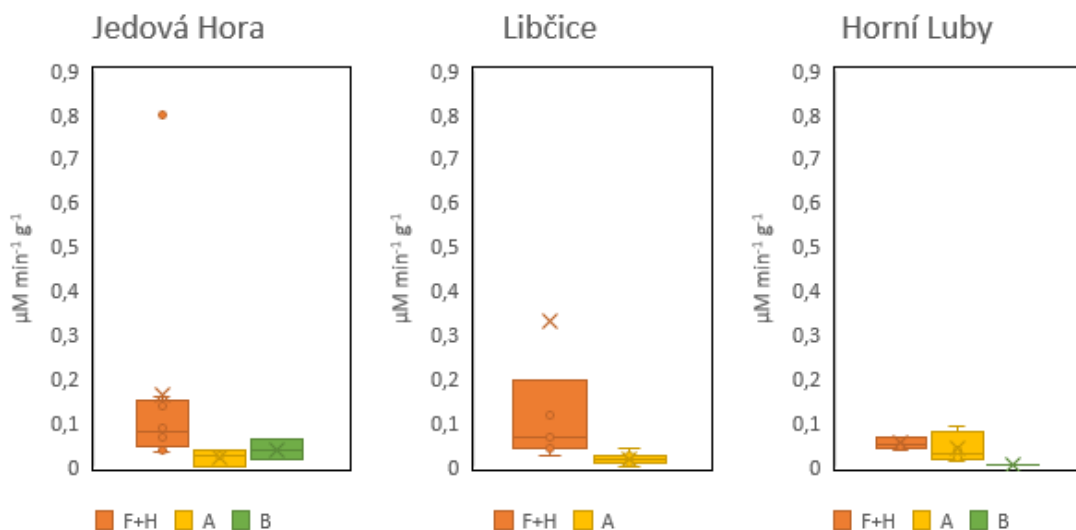
Obrázek 7 grafy aktivity cellobiohydrolázy v půdách dle jednotlivých horizontů

Na základě grafů aktivit cellobiohydrolázy v různých půdách (Obrázek 7) lze pozorovat, že hodnoty nejsou příliš vysoké. Nejvyšší hodnota byla naměřena v Jedové Hoře, zatímco nejnižší v Horních Lubech. Dále je vidět, že rozdíl mezi aktivitou cellobiohydrolázy v horizontech F+H a A v půdách z Jedové Hory není příliš velký.



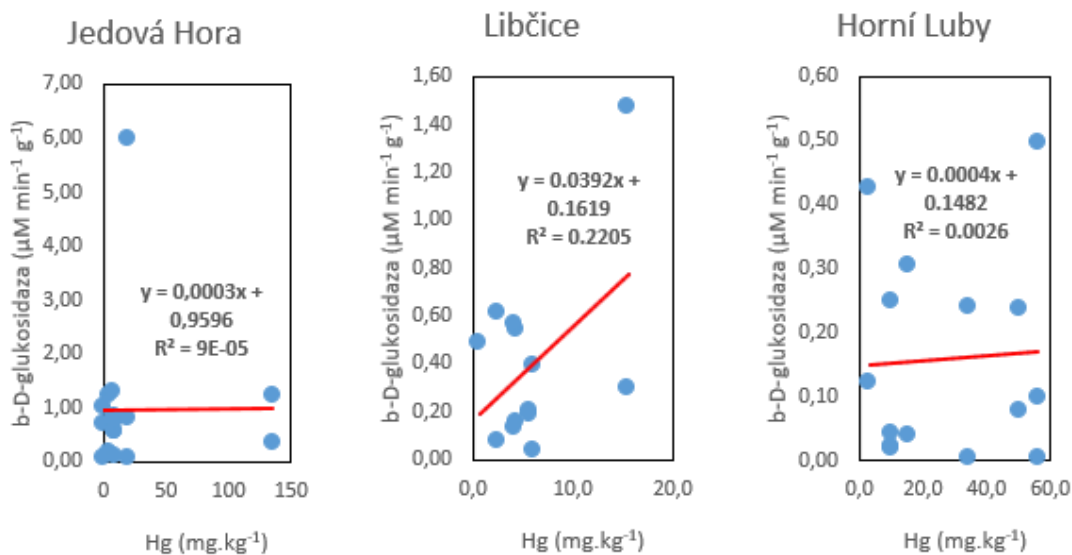
Obrázek 8 grafy aktivity alanin aminopeptidázy v půdách dle jednotlivých horizontů

Na základě grafů aktivit alanin aminopeptidázy v různých půdách (Obrázek 8) lze pozorovat, že hodnoty nejsou příliš vysoké. Nejvyšší hodnota byla naměřena v horizontu A v půdách v oblasti Libčic, zatímco nejnižší hodnota byla zaznamenána v Horních Lubech. Také je vidět, že v Jedové Hoře byla naměřena vyšší aktivita alanin aminopeptidázy v horizontu B než v horizontu A.



Obrázek 9 grafy aktivity leucin aminopeptidázy v půdách dle jednotlivých horizontů

Na základě grafů aktivit leucin aminopeptidázy v různých půdách (Obrázek 9) lze pozorovat, že hodnoty nejsou příliš vysoké. Nejvyšší hodnota byla naměřena v horizontu A v půdách v oblasti Libčic, zatímco nejnižší hodnota byla zaznamenána v Horních Lubech. Zajímavé je, že v Jedové Hoře byla naměřena vyšší aktivita leucin aminopeptidázy v horizontu B než v horizontu A, stejně jako na obrázku aktivit alanin aminopeptidázy.



Obrázek 10 korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou b-D-glukosidázy

Hodnoty korelačního koeficientu (r) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,01

Pro Libčice: 0,47

Pro Horní Luby: 0,05

Kritické hodnoty pro korelační koeficient (r) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,4822

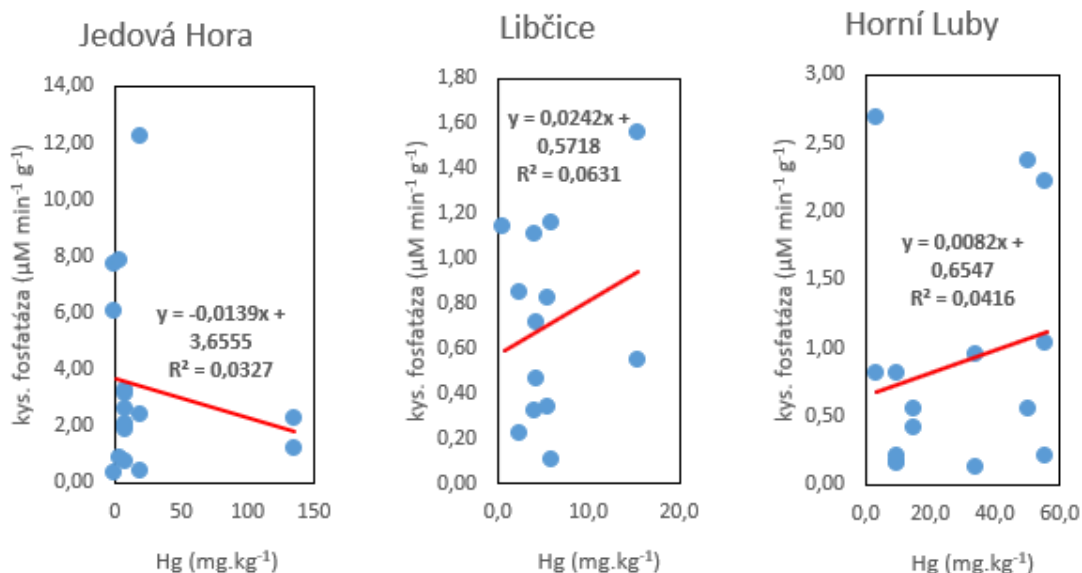
Pro Libčice: 0,5324

Pro Horní Luby: 0,514

Pro Jedovou Horu je korelační koeficient velmi malý 0,01 to znamená, že vztah mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou b-D-glukosidázy v této lokalitě není statisticky významný.

Pro Horní Luby je korelační koeficient také velmi malý 0,05 to znamená, že vztah mezi těmito dvěma proměnnými v této lokalitě není statisticky významný.

Pro Libčice je korelační koeficient 0,47, to také naznačuje, že vztah mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou b-D-glukosidázy v této lokalitě není statisticky významný.



Obrázek 11 korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou kyselé fosfatázy

Hodnoty korelačního koeficientu (r) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,18

Pro Libčice: 0,25

Pro Horní Luby: 0,20

Kritické hodnoty pro korelační koeficient (r) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,4822

Pro Libčice: 0,5324

Pro Horní Luby: 0,514

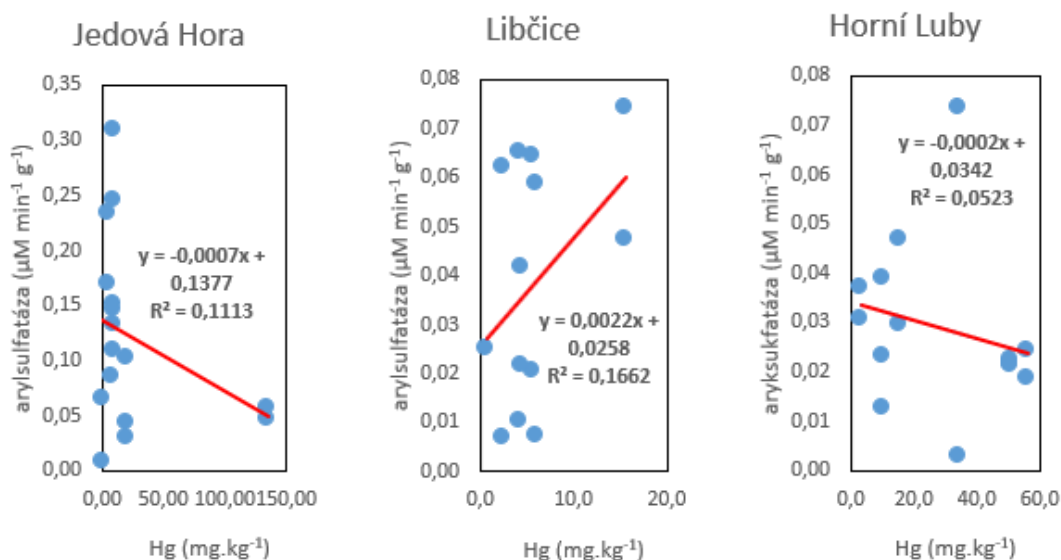
V případě korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou kyselé fosfatázy v lokalitách Jedová Hora, Libčice a Horní Luby se korelační koeficienty pohybují od 0,18 do 0,25.

Pro Jedovou Horu je kritická hodnota pro korelační koeficient ( $r$ ) 0,4822, takže hodnota 0,18 není statisticky významná.

Pro Libčice je kritická hodnota 0,5324 a hodnota korelačního koeficientu 0,25 není významná.

Pro Horní Luby je kritická hodnota 0,514 a hodnota korelačního koeficientu 0,20 není statisticky významná.

To znamená, že významnou korelaci nelze pozorovat na žádné z těchto lokalit.



Obrázek 12 korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou arylsulfatázy

Hodnoty korelačního koeficientu ( $r$ ) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,33

Pro Libčice: 0,41

Pro Horní Luby: 0,23

Kritické hodnoty pro korelační koeficient ( $r$ ) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,4822

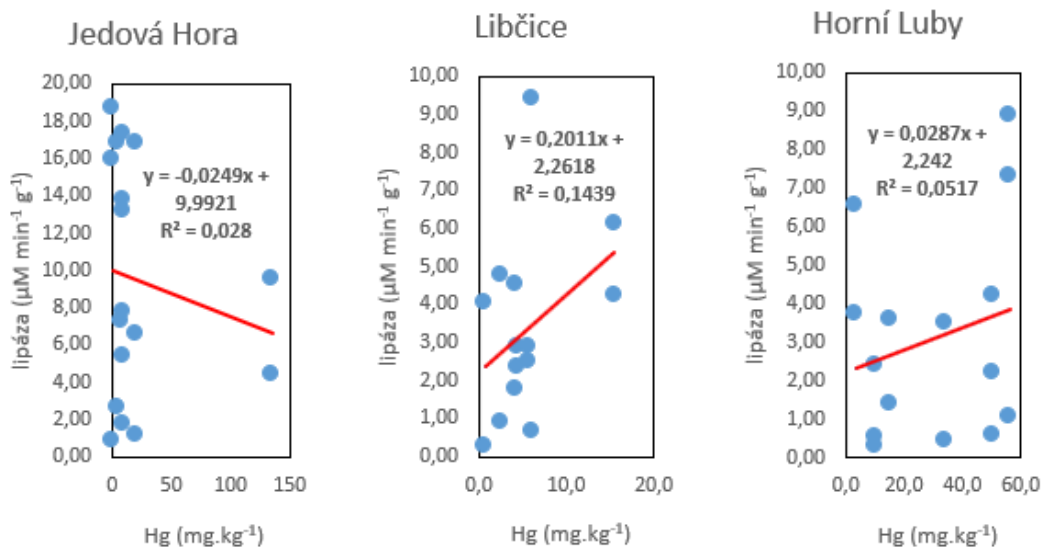
Pro Libčice: 0,5324

Pro Horní Luby: 0,514

Pro Jedovou Horu není korelační koeficient 0,33 statisticky významný, protože nepřekračuje kritickou hodnotu 0,4822.

Pro Libčice není korelační koeficient 0,41 statisticky významný, protože nepřekračuje kritickou hodnotu 0,5324.

Pro Horní Luby je korelační koeficient 0,23 pod kritickou hodnotou 0,514, takže tato korelace není statisticky významná.



Obrázek 13 korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou lipázy

Hodnoty korelačního koeficientu (r) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,17

Pro Libčice: 0,38

Pro Horní Luby: 0,23

Kritické hodnoty pro korelační koeficient (r) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,4822

Pro Libčice: 0,5324

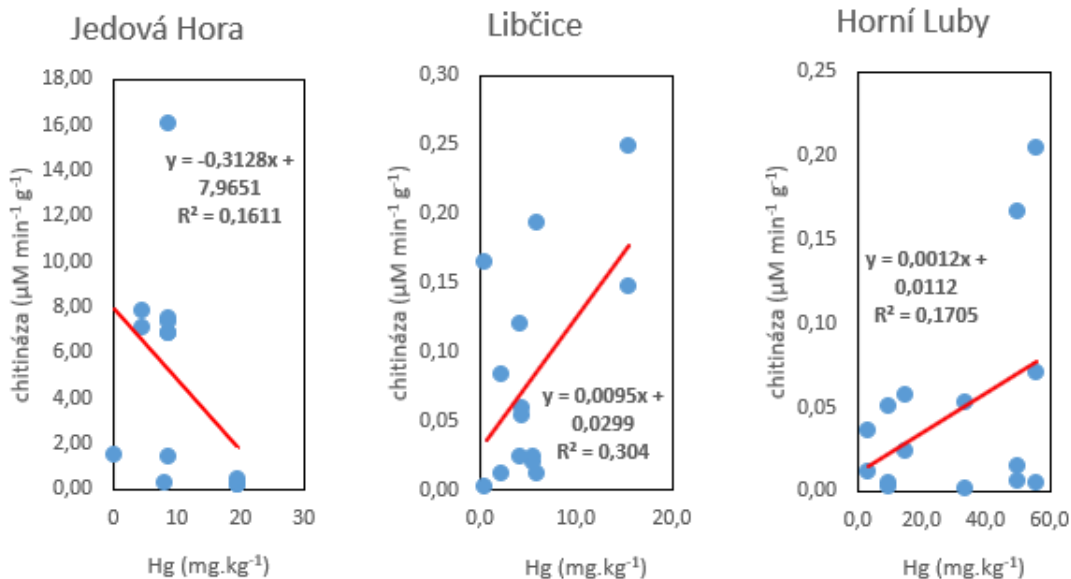
Pro Horní Luby: 0,514

V Jedové Hoře je korelační koeficient 0,17 a kritická hodnota je 0,4822. Jelikož je korelační koeficient nižší než kritická hodnota, korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou lipázy v Jedové Hoře není statisticky významná.

V Libčicích je korelační koeficient 0,38 a kritická hodnota je 0,5324. Jelikož je korelační koeficient nižší než kritická hodnota, korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou lipázy v Libčicích není statisticky významná.

V Horních Lubech je korelační koeficient 0,23 a kritická hodnota je 0,514. Jelikož je korelační koeficient nižší než kritická hodnota, korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou lipázy v Horních Lubech není statisticky významná.





Obrázek 14 korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou chitinázy

Hodnoty korelačního koeficientu (r) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,40

Pro Libčice: 0,55

Pro Horní Luby: 0,41

Kritické hodnoty pro korelační koeficient (r) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,4822

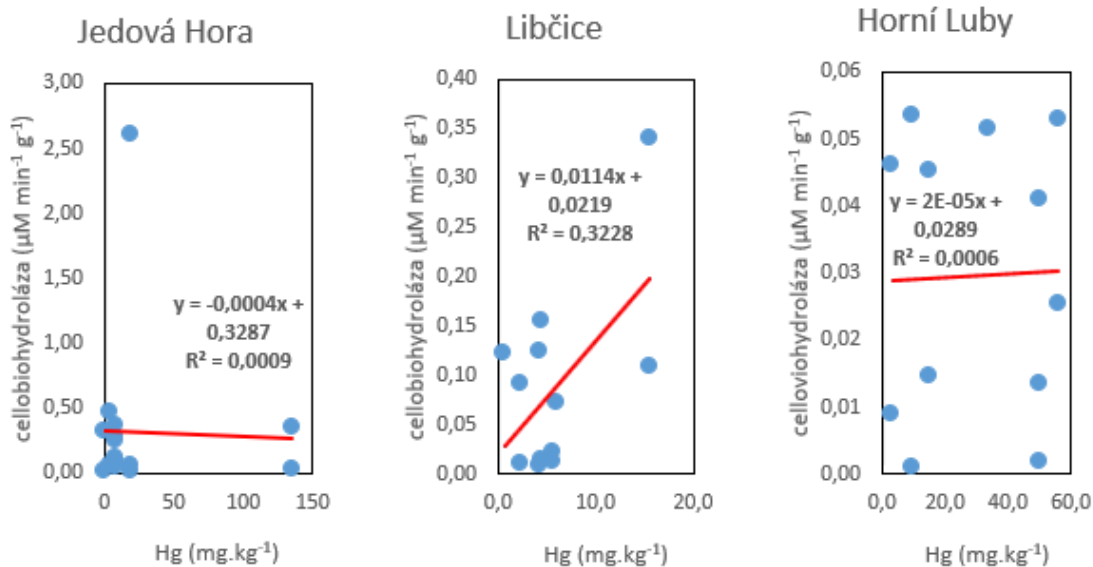
Pro Libčice: 0,5324

Pro Horní Luby: 0,514

V Jedové Hoře není korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou chitinázy statisticky významná, protože korelační koeficient 0,40 je nižší než kritická hodnota pro korelační koeficient 0,4822.

V Libčicích je korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou chitinázy statisticky významná, protože korelační koeficient 0,55 je vyšší než kritická hodnota pro korelační koeficient 0,5324.

V Horních Luběch není korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou chitinázy statisticky významná, protože korelační koeficient 0,41 je nižší než kritická hodnota pro korelační koeficient 0,514.



Obrázek 15 korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou cellobiohydrolázy

Hodnoty korelačního koeficientu (r) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,03

Pro Libčice: 0,57

Pro Horní Luby: 0,02

Kritické hodnoty pro korelační koeficient (r) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,4822

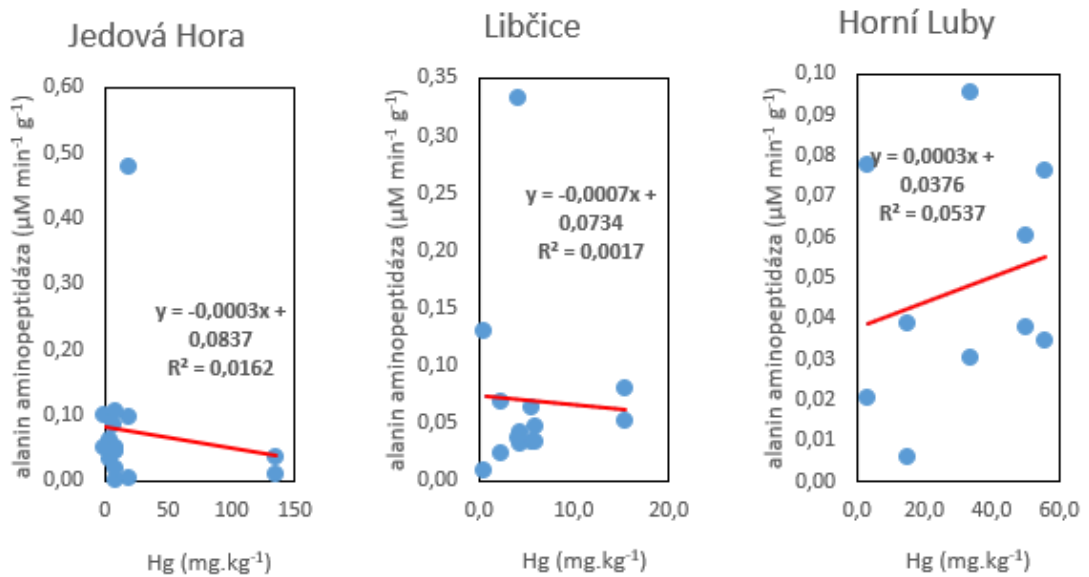
Pro Libčice: 0,5324

Pro Horní Luby: 0,514

V Jedové Hoře je korelační koeficient 0,03, což je menší než kritická hodnota 0,4822, takže korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou cellobiohydrolázy na této lokalitě není statisticky významná.

V Libčicích je korelační koeficient 0,57, což je větší než kritická hodnota 0,5324, takže korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou cellobiohydrolázy na této lokalitě je statisticky významná.

V Horních Lubech je korelační koeficient 0,02, což je menší než kritická hodnota 0,514, takže korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou cellobiohydrolázy na této lokalitě není statisticky významná.



Obrázek 16 korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou alanin aminopeptidázy

Hodnoty korelačního koeficientu (r) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,13

Pro Libčice: 0,04

Pro Horní Luby: 0,23

Kritické hodnoty pro korelační koeficient (r) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,4822

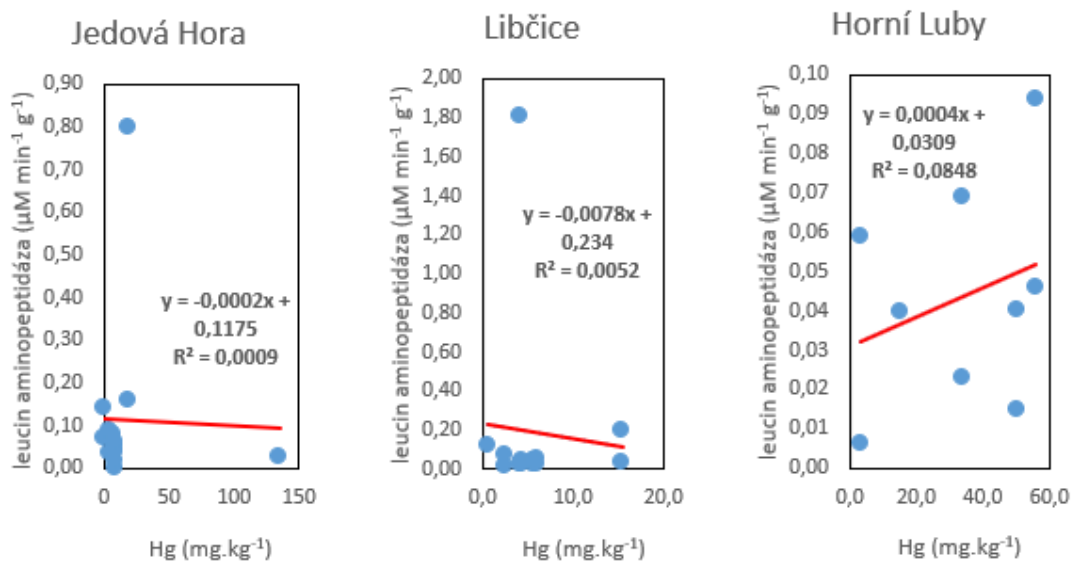
Pro Libčice: 0,5324

Pro Horní Luby: 0,514

V Jedové Hoře je korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou alanin aminopeptidázy statisticky nevýznamná, protože korelační koeficient (r) je menší než kritická hodnota pro korelační koeficient (0,4822).

V Libčicích je korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou alanin aminopeptidázy také statisticky nevýznamná, protože korelační koeficient (r) je menší než kritická hodnota pro korelační koeficient (0,5324).

V Horních Lubech není korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou alanin aminopeptidázy statisticky významná, protože korelační koeficient (r) je menší než kritická hodnota pro korelační koeficient (0,514).



Obrázek 17 korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou leucin aminopeptidázy

Hodnoty korelačního koeficientu (r) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,03

Pro Libčice: 0,07

Pro Horní Luby: 0,29

Kritické hodnoty pro korelační koeficient (r) pro jednotlivé lokality:

Pro Jedovou Horu: 0,4822

Pro Libčice: 0,5324

Pro Horní Luby: 0,514

V Jedové Hoře korelační koeficient 0,03 nepřesahuje kritickou hodnotu 0,4822, tudíž není statisticky významný.

V Libčicích korelační koeficient 0,07 je nižší než kritická hodnota 0,5324, takže opět není statisticky významný.

V Horních Lubech je korelační koeficient 0,29 také nižší než kritická hodnota 0,514, takže není statisticky významný.

## 6 Diskuze

V diplomové práci byly analyzovány vzorky půdy, které byly odebrány ze tří různých lokalit, přičemž dvě z nich byly ovlivněny těžbou (Horní Luby a Jedová Hora), a jedna lokalita, kde byla používána rtuť k získávání zlata (Libčice). První lokalitou byly Libčice u Nového Knína, kde docházelo k těžbě zlata a během procesu amalgamace byla používána rtuť, což způsobilo zvýšené obsahy rtuti na této lokalitě (Váňa a kol. 2001). Druhou lokalitou, kterou jsme prozkoumali, byla Jedová Hora u Hořovic. Zde byl cinabarit získáván jako vedlejší produkt těžby železné rudy (Hojdová a kol. 2008). Třetí lokalita, Horní Luby u Chebu, byla historicky nejvýznamnější z hlediska dolování cinabaritu v České republice (Velebil 2009). Je důležité podotknout, že zvýšené obsahy rtuti na všech třech lokalitách jsou výsledkem lidské činnosti. Pro všechny půdní vzorky z těchto lokalit byly stanoveny aktivity vybraných enzymů, které nám mohou naznačit vliv obsahu rtuti v půdě na půdní mikroorganismy.

### 6.1. Aktivita b-D-glukosidázy v půdách dle jednotlivých horizontů.

První enzymatickou aktivitou, která byla zkoumána v této diplomové práci, byla aktivita b-D-glukosidázy. Tento enzym měří schopnost půdních mikroorganismů produkovat a udržovat enzym b-D-glukosidázu, která rozkládá sacharidy a umožňuje tak mikroorganismům získat energii a živiny z organických sloučenin v půdě. Aktivita b-D-glukosidázy se obvykle měří jako indikátor půdního zdraví a funkčnosti, protože je citlivá na změny v mikrobiální komunitě, pH půdy, obsahu organického uhlíku a dalších faktorech (Bending a kol. 2002).

Ve výsledcích byla nejvyšší aktivita b-D-glukosidázy zaznamenána v Jedové Hoře v horizontech F+H, které jsou obvykle nejbohatší vrstvy půdy s vysokým obsahem organických látek. To může být způsobeno tím, že organické látky jsou potravou pro mikroorganismy, kteří jsou hlavními producenty b-D-glukosidázy v půdě (Sinsabaugh a kol. 2008), nebo to může být způsobeno dalšími faktory, jako je například vlhkost půdy, pH nebo teplota.

Na druhé straně byla nejnižší hodnota aktivity b-D-glukosidázy naměřena v horizontech F+H a B v Horních Lubech. Analýza hodnocení korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou b-D-glukosidázy ukázala, že ve všech třech lokalitách neexistuje žádný vztah mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou b-D-glukosidázy a proto tyto vztahy nejsou statisticky významné. To může znamenat, že jiné faktory než obsah Hg v půdě ovlivňují aktivitu b-D-glukosidázy v daných lokalitách, nebo že množství Hg v půdě není dostatečně vysoké na to, aby ovlivnilo aktivitu b-D-glukosidázy (Casucci a kol. 2003).

### 6.2. Aktivita kyselých fosfatáz v půdách dle jednotlivých horizontů.

Aktivita kyselých fosfatáz v půdě je enzymatická aktivita, která měří schopnost půdních mikroorganismů produkovat a udržovat kyselou fosfatázu. Tento enzym katalyzuje uvolňování fosforu z organických sloučenin v půdě a umožňuje tak mikroorganismům získat fosfor, který je nezbytný pro mnoho důležitých procesů, jako je například tvorba nukleových kyselin nebo syntéza ATP (Richardson a kol. 2011).

Z výsledků vyplývá, že hodnoty jsou velmi rozmanité a klesají. Nejvyšší hodnota byla naměřena v Jedové Hoře a v horizontech F+H, což jsou obvykle nejbohatší vrstvy půdy s vysokým obsahem organických látek. Nejnižší hodnota byla zaznamenána v Libčicích. Zvýšení

aktivity fosfatáz může být spojeno s nedostatkem fosforu v půdě (McGill a Cole 1981). Pokud dojde k acidifikaci půdy, může se snížit množství fosforu v půdním roztoku a také jeho dostupnost pro rostliny (Carreira a kol. 2000).

Analýza korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou kyselé fosfatázy ukázala, že ve všech třech lokalitách neexistuje žádný vztah mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou kyselé fosfatázy, a proto tyto vztahy nejsou statisticky významné. To znamená, že výskyt rtuti v půdě v daných lokalitách nemá signifikantní vliv na aktivitu enzymu kyselé fosfatázy.

### **6.3. Aktivita arylsulfatázy v půdách dle jednotlivých horizontů.**

Aktivita arylsulfatázy je enzymatická aktivita, která měří schopnost půdních mikroorganismů produkovat a udržovat arylsulfatázu. Tento enzym katalyzuje hydrolytické štěpení organických sulfátů, které jsou přirozeně přítomné v půdě. Rozkladem organických sulfátů se uvolňuje síra, kterou mohou mikroorganismy využít jako zdroj energie pro svůj růst a metabolické procesy. Aktivita arylsulfatázy se obvykle měří jako indikátor mikrobiální aktivity a funkčnosti půdy. Vyšší aktivity arylsulfatázy jsou obvykle spojeny s vyšší úrovní mikrobiální aktivity a mohou indikovat zvýšenou mineralizaci organických sloučenin v půdě (Speir a kol. 1992).

Výsledky ukazují, že nejnižší hodnota aktivity arylsulfatázy byla naměřena v Horních Lubech, zatímco nejvyšší hodnota byla zaznamenána v Jedové Hoře v horizontu A. To může být spojeno s tím, že horizont A je mnohem tenčí a tedy méně často ovlivněn procesem výměny půdního materiálu. Kromě toho se v horizontu A nachází větší koncentrace mikroorganismů, jelikož tento horizont je nejvíce ovlivněn kořenovou činností rostlin a organickou hmotou (Vokoun 2002). Proto je možné, že aktivita arylsulfatázy je ve vrstvě A vyšší než v horizontu F+H.

### **6.4. Aktivita lipázy v půdách dle jednotlivých horizontů.**

Aktivita lipázy v půdě je enzymatická aktivita, která měří schopnost půdních mikroorganismů produkovat a udržovat lipázu. Tento enzym katalyzuje hydrolytické štěpení tuků na mastné kyseliny a glycerol. Lipáza je důležitý enzym pro rozklad organických látek v půdě a umožňuje mikroorganismům získat energii a živiny (Ugochukwu a kol. 2008).

Obsah organických látek a minerální složení půdy jsou klíčovými faktory, které ovlivňují aktivitu lipázy. Horizont F+H, který se skládá převážně z organické hmoty, může mít vysoký obsah lipidů, což může vést k vyšší aktivitě lipázy. Avšak, podobně jako u jiných enzymů, aktivita lipázy se může velmi lišit v závislosti na specifických vlastnostech půdy a mikroorganismů (Ugochukwu a kol. 2008). Z výsledků aktivit lipázy v půdách lze vyčíst, že hodnoty aktivit jsou velmi rozmanité a obecně klesají s hloubkou půdního profilu. Nejvyšší aktivita lipázy byla naměřena v Jedové Hoře v horizontu F+H, zatímco nejnižší hodnota byla zaznamenána v Horních Lubech v horizontu B a v Libčicích v horizontu A. Nicméně mezi horizonty F+H v Libčicích a Horních Lubech není velký rozdíl. Při porovnání hodnot aktivit lipázy v horizontech F+H a A v půdách z Horních Lubech se také ukazuje, že rozdíl mezi nimi není příliš velký. To naznačuje, že aktivita lipázy v různých hloubkách půdního profilu může být v některých případech podobná. Horizont F+H je často ovlivněn procesem výměny půdního

materiálu, což znamená, že obsahuje více minerálních částic než horizont A (Vokoun 2002). Tyto minerální částice mohou sloužit jako substrát pro aktivitu mikroorganismů, jako je lipáza, což může vysvětlovat, proč rozdíl mezi oběma horizonty není tak velký. Horizont A obsahuje větší koncentrace kořenové hmoty a živin, což může také podporovat aktivitu mikroorganismů, včetně arylsulfatázy a lipázy (Vokoun 2002).

Aktivita arylsulfatázy a lipázy může být ovlivněna dalšími faktory, jako je pH půdy, vlhkost, teplota a dostupnost živin. Pokud jsou tyto faktory podobné v obou horizontech, může to také vysvětlovat, proč není velký rozdíl v aktivitě mezi nimi (Ugochukwu a kol., 2008).

Analýza korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou lipázy ukázala, že žádná z těchto lokalit není statisticky významná, což potvrzuje, že vztah mezi obsahem rtuti a touto enzymatickou aktivitou není přítomen.

### **6.5. Aktivita chitinázy v půdách dle jednotlivých horizontů**

Aktivita chitinázy v půdě je enzymatická aktivita, která měří schopnost půdních mikroorganismů produkovat a udržovat chitinázu. Tento enzym katalyzuje hydrolyzu chitinu, což je složka v buněčné stěně mnoha druhů hub a hmyzu. Rozkladem chitinu se uvolňují monosacharidy, které mohou mikroorganismy využít jako zdroj energie pro svůj růst a metabolismus (Suseela a kol. 2014).

Z výsledků aktivit chitinázy v půdách lze vyčíst, že v obecném trendu klesání aktivit chitinázy s hloubkou půdního profilu existují výrazné výkyvy. Například v půdě v Jedové Hoře byla naměřena nejvyšší aktivita chitinázy v horizontu F+H. Lze také vyčíst, že v Horních Lubech byla naměřena nejnižší aktivita chitinázy v půdních vzorcích, avšak ne v každé hloubce půdního profilu. Konkrétně nejvyšší aktivita chitinázy byla pozorována v horizontu A této půdy, což může být způsobeno vyšším obsahem organického uhlíku v této části profilu.

Chitináza rozkládá chitin, který je přítomen v mnoha organismech, včetně hmyzu a hub. Hmota organického původu, jako jsou kořeny rostlin nebo zbytky rostlin, obsahují chitin a mohou také obsahovat enzym chitinázu (Sahai a Manocha 1993). Vrstvy půdy s vyšším obsahem organické hmoty mohou proto mít vysokou aktivitu chitinázy. pH půdy může ovlivnit aktivitu mikroorganismů, včetně těch, kteří produkují chitinázu. Různé druhy mikroorganismů mají různé optimální pH pro svou činnost. Vrstvy půdy s odlišným pH mohou proto mít různou aktivitu chitinázy (Schlein a kol. 1991).

V půdě mohou být přítomny i jiné enzymy, které mohou ovlivnit aktivitu chitinázy. Například enzymy proteázy mohou konkurovat o substrát s chitinázou a snižovat tak její aktivitu (Sahai a Manocha 1993). V půdě existuje mnoho druhů mikroorganismů, které mohou spolupracovat nebo soutěžit o substráty. Některé druhy mikroorganismů produkují chitinázu, zatímco jiné ne (Blagodatskaya a Kuzyakov 2013). Vrstvy půdy s různým složením mikroorganismů mohou proto mít různou aktivitu chitinázy. Analýza korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou chitinázy ukázala, že statisticky významné hodnoty jsou přítomny pouze v Libčicích. Proto můžeme říci, že vztah mezi obsahem rtuti a aktivitou tohoto enzymu je relevantní pouze pro tuto konkrétní lokalitu.

## **6.6. Aktivita cellobiohydrolázy v půdách dle jednotlivých horizontů**

Aktivita cellobiohydrolázy v půdách je enzymatická aktivita, která měří schopnost půdních mikroorganismů produkovat a udržovat cellobiohydrolázu. Tento enzym katalyzuje rozklad celulózy na glukózu a další cukry, což je důležité pro recyklaci organických látek v půdě. Aktivita cellobiohydrolázy může být ovlivněna různými faktory, jako je pH, obsah organického uhlíku a dusíku, a typ půdních mikroorganismů (Kuzyakov a kol. 2000).

Výsledky měření ukazují, že hodnoty aktivit cellobiohydrolázy v různých půdách nejsou příliš vysoké. Nejvyšší hodnota byla naměřena v Jedové Hoře, zatímco nejnižší v Horních Lubech. Rozdíl mezi aktivitou cellobiohydrolázy v horizontech F+H a A v půdách z Jedové Hoře není příliš velký. V případě Jedové Hory by vyšší hodnota aktivit cellobiohydrolázy mohla být způsobena například vyšším obsahem organického uhlíku v půdě a vyšší vlhkostí, protože aktivita cellobiohydrolázy je vyšší v půdách s vyšším obsahem organického uhlíku a dusíku (Kuzyakov a kol. 2000). Naopak v Horních Lubech mohou být nižší hodnoty způsobeny například nižším pH a menším obsahem organického uhlíku, protože pH půdy může ovlivnit aktivitu cellobiohydrolázy, a to v závislosti na druhu mikroorganismů přítomných v půdě (Sinsabaugh a kol. 2012).

Korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou cellobiohydrolázy ukázala, že korelační koeficient je statisticky významný pouze na lokalitě Libcice, což naznačuje, že pozitivní vztah mezi obsahem rtuti v půdě a aktivitou tohoto enzymu je spojen pouze s touto lokalitou.

## **6.7. Aktivita alanin aminopeptidázy v půdách dle jednotlivých horizontů**

Aktivita alanin aminopeptidázy v půdě je enzymatická aktivita, která měří schopnost půdních mikroorganismů produkovat a udržovat alanin aminopeptidázu. Tento enzym katalyzuje hydrolýzu peptidových vazeb v molekulách obsahujících alanin jako aminokyselinu na N-terminální konci. Alanin aminopeptidáza má významnou roli v recyklaci organických látek v půdě a v uvolňování dusíku, což může mít důležitý dopad na růst rostlin (Fiore-Donno a kol. 2022).

Na základě výsledků aktivit alanin aminopeptidázy v různých půdách lze pozorovat, že hodnoty nejsou příliš vysoké. Nejvyšší hodnota byla naměřena v horizontu A v půdách v oblasti Libčic, zatímco nejnižší hodnota byla zaznamenána v Horních Lubech. Také je vidět, že v Jedové Hoře byla naměřena vyšší aktivita alanin aminopeptidázy v horizontu B než v horizontu A. Aktivita alanin aminopeptidázy může být korelována s obsahem dusíku v půdě a aktivita tohoto enzymu je vyšší v půdách s vyšším obsahem dusíku (Fan a kol. 2018). Štursová a Baldrian (2011) zjistili, že aktivita alanin aminopeptidázy může být ovlivněna i obsahem organického uhlíku v půdě, protože organický uhlík může sloužit jako zdroj energie pro půdní mikroorganismy, což může vést k vyšší aktivitě alanin aminopeptidázy.

Analýza korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou alanin aminopeptidázy ukazuje, že žádná aktivita z těchto třech lokalit není statisticky významná. Z toho můžeme předpokládat, že vztah mezi obsahem rtuti a korelací není pozitivní.



## 6.8. Aktivita leucin aminopeptidázy v půdách dle jednotlivých horizontů

Aktivita leucin aminopeptidázy v půdách měří schopnost půdních mikroorganismů produkovat a udržovat enzym leucin aminopeptidázu, který katalyzuje hydrolyzu peptidových vazeb v molekulách obsahujících leucin jako aminokyselinu na N-terminální konci. Tento enzym má také významnou roli v recyklaci organických látek a uvolňování dusíku v půdě. Hodnota aktivity leucin aminopeptidázy se může lišit v závislosti na vlastnostech půdy, jako je obsah dusíku a organického uhlíku (Frostegård a Bååth 1996).

Na základě výsledků aktivit leucin aminopeptidázy v různých půdách lze pozorovat, že hodnoty nejsou příliš vysoké. Nejvyšší hodnota byla naměřena v horizontu A v půdách v oblasti Libčic, zatímco nejnižší hodnota byla zaznamenána v Horních Lubech. Zajímavé je, že v Jedové Hoře byla naměřena vyšší aktivita leucin aminopeptidázy v horizontu B než v horizontu A, stejně jako v analýze aktivit alanin aminopeptidázy. V horizontu B mohou být přítomny různé sloučeniny organického původu, jako jsou například aminokyseliny, proteiny, peptidy, glykoproteiny a polysacharidy (Vokoun 2002), které mohou stimulovat produkci leucin aminopeptidázy. Tyto sloučeniny mohou být produkovány kořeny rostlin nebo mikroorganismy v půdě. Horizont B bývá obvykle vlhčí než horizont A (Vokoun 2002), což může podporovat aktivitu mikroorganismů produkujících leucin aminopeptidázu.

Analýza korelace mezi obsahem Hg v půdě a aktivitou leucin aminopeptidázy ukázala, že všechny tři prozkoumané lokality nemají statisticky významné hodnoty, což naznačuje, že vztah mezi obsahem rtuti a aktivitou tohoto enzymu nebyl prokázán.

## 7 Závěr

- V oblastech Libčice, Horní Luby a Jedová Hora byly odebrány reprezentativní vzorky půdy a provedena laboratorní analýza, aby se určil celkový obsah Hg a korelace mezi obsahem Hg v půdě a různými enzymatickými aktivitami.
- Nejvyšší průměrný obsah Hg byl zjištěn v lokalitě Horní Luby, zatímco nejnižší byl naměřen v lokalitě Libčice. Tyto výsledky byly očekávány, protože v lokalitách Horní Luby a Jedová Hora proběhla mnoholetá těžba a tím způsobila značnou kontaminaci okolního prostředí.
- Analýza průměrného obsahu Hg ukázala, že ve všech třech lokalitách byl překročen faktor kontaminace, což znamená, že úroveň rtuti v půdě je na úrovni považované za znečištěnou. Faktor kontaminace je úroveň znečištění, která překračuje přirozené úrovně a znamená potenciální riziko pro zdraví lidí a životní prostředí. Předpokládá se, že když je faktor nabožení vyšší než 3, půda se považuje za znečištěnou. Ve všech třech lokalitách průměrný obsah rtuti překročil tuto hodnotu. Ve vzorcích půdy z lokalit Jedová Hora a Horní Luby jsou obsahy rtuti v rozmezí od 26,5 do 40,9 mg/kg, což nám ukazuje, že i když těžba v těchto lokalitách už dávno skončila, stále tyto oblasti představují velké riziko pro zdraví obyvatel okolních míst.
- Analýza enzymatických aktivit ukázala, že nejvyšší aktivita enzymů v půdě je pozorována pouze na lokalitě Libčice, a to u aktivit cellobiohydrolázy a chitinázy. Korelační koeficient pro tyto aktivity nepatrně překračuje kritickou hodnotu pro korelační koeficient. Na lokalitách Horní Luby a Jedová Hora ve všech analýzách enzymatických aktivit hodnoty nepřekročily kritickou hodnotu pro korelační koeficient a nejsou statisticky významné. Zdá se tedy, že obsah Hg v půdě na sledovaných lokalitách není rozhodujícím faktorem, který ovlivňuje aktivitu půdních enzymů.
- Lokality Horní Luby a Jedová Hora mohou být dodnes považovány za jedny z nejznečištěnějších lokalit v České republice, pokud jde o obsahy Hg v půdě. V důsledku mnoholeté těžby na těchto lokalitách je úroveň znečištění rtutí na maximálních úrovních. Je tedy důležité provádět další analýzy a monitorování v těchto lokalitách a přijmout opatření na snížení obsahu rtuti v půdě, pokud je to potřeba. Stejně tak je nutné sledovat a monitorovat i ostatní lokality, aby se minimalizovalo riziko znečištění a nedosáhlo takových úrovní znečištění jako v lokalitách Horní Luby a Jedová Hora.

## 8 Literatura

### Tištěné zdroje:

1. Adekanmbi AA, Dale L, Shaw LJ, Sizmur T 2022. Differential Temperature Sensitivity of Intracellular and Extracellular Soil Enzyme Activities, *EGUsphere*.
2. Ahammad SJ, Sumithra S, Senthilkumar P 2018. Mercury Uptake and Translocation by Indigenous Plants. *Rasayan Journal of Chemistry* **11**:1-12.
3. Alekseeva AA, Fomina NV 2014. The enzymatic activity of the forest nursery soils in the forest-steppe zone of the Krasnoyarsk Territory. *Vestnik KrasGAU* **12**: 70-75.
4. Allison VJ, Condon LM, Peltzer DA, Richardson SJ, Turner BL 2007. Changes in enzyme activities and soil microbial community composition along carbon and nutrient gradients at the Franz Josef chronosequence, New Zealand. *Soil Biology & Biochemistry* **39**: 1770-1781.
5. Babaniyi BR, Thompson SO, Ogundele OD, Oluwole OF 2022. Effects of Agrochemicals on Soil Microbial Enzymes. In: Maddela NR, Abiodun AS, Prasad R (eds) *Ecological Interplays in Microbial Enzymology*. Environmental and Microbial Biotechnology.
6. Bagayeva TV, Ionova NE, Nadeeva GV 2013. Microbiological Remediation of Natural Systems from Heavy Metals: Studies-Method Allowance. Kazan University, 56.
7. Bank MS 2020. The Mercury Science-Policy Interface: History, Evolution and Progress of the Minamata Convention. *Science of the Total Environ.* **722**:137832.
8. Barabanshchikov DA, Serdyukova AF 2017. Combating land desertification. *Young Scientist.* **(25)159**: 95-98.
9. Barrow NJ, Cox VC 2006. The effects of pH and chloride concentration on mercury sorption. II. *European Journal of Soil Science.* **43(2)**: 305-312.
10. Baydina NL 1999. Mercury in the soils of Novosibirsk. *Agrochemistry.* **10**:89-92.
11. Bending GD, Turner MK, Jones JE 2002. Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry.* **34(9)**: 1299-1307.
12. Blagodatskaya E, Kuzyakov Y 2013. Active microorganisms in soil: Critical review of estimation criteria and approaches. *Soil Biology and Biochemistry.* **67**: 192–211.
13. Borg K 1969. Alkyl Mercury Poisoning in Terrestrial Swedish Wildlife. *Viltrevy.* **6**:301-379.
14. Cargnelutti D, Tabaldi LA, Spanevello RM, Jucoski GO, Battisti V, Redin M, Linares CEB, Dressler VL, Flores EM, Nicoloso FT, Morsch VM, Schetinger MRC 2006. Mercury toxicity induces oxidative stress in growing cucumber seedlings. *Chemosphere.* **65(6)**: 999-1006.
15. Carreira JA, García-Ruiz R, Liétor J, Harrison AF, 2000. Changes in soil phosphatase activity and P transformation rates induced by application of N- and S-containing acid-mist to a forest canopy. *Soil Biology & Biochemistry.* **32**:1857-1865.

16. Casucci C, Okeke BC, Frankenberger WT 2003. Effects of Mercury on Microbial Biomass and Enzyme Activities in Soil. *Biological Trace Element Research*. **94(2)**: 179-191.
17. Cieslarová A 2022. Zvýšené obsahy rizikových prvků v půdě jako důsledek těžby cinabaritu. Diplomová práce. CZU v Praze.
18. Dansereau M 1999. Reproductive performance of two generations of female semidomesticated mink fed diets containing organic mercury contaminated freshwater fish. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **36**: 221-226.
19. Dikareva AV, Alekseeva SA, Ermakov VV 1999. Some Aspects of Mercury Biogeochemistry. 2nd Russian School. *Geochemical Ecology and Biogeochemical Zoning of the Biosphere. Materials (abstracts, reports, memoirs)*. 49.
20. Dovletyarova EA, Efremova SY, Mosina LV, Norvosuren J 2012. Ecological danger of soil pollution with heavy metals (on the example of lead). *Proceedings of PSPU im. V.G. Belinsky*. 383-386.
21. Druzhinin AV, Wolfson FI 1975. The main types of ore deposits. *Nedra*. 392.
22. Efimova NV, Rukavishnikov VS 2004. The danger of mercury pollution and the principles of healthy safe nutrition in areas with high mercury load (Priangarye). *RIO GU SC RVH VSNC SO RAMS*. 48.
23. Fan ZZ, Wang X, Wang C, Bai E 2018. Effect of nitrogen and phosphorus addition on soil enzyme activities: A meta-analysis. *The Journal of Applied Ecology*. **29(4)**: 1266-1272
24. Farrar WP, Edwards JF, Willard MD 1994. Pathology in Dogs Associated with Elevated Tissue Mercury Concentration. *Vet Diagn Invest*. **6**:511-514.
25. Fiore-Donno AM, Human ZR, Štursová M, Mundra S, Morgado L, Kauserud H, Baldrian P, Bonkowski M 2022. Soil compartments (bulk soil, litter, root and rhizosphere) as main drivers of soil protistan communities distribution in forests with different nitrogen deposition. *Soil Biology and Biochemistry*.
26. Frantál B, Ettlér V, Květina P 2009. Zdroje a formy kontaminace půdy v blízkosti starých hutí. *Kontaminace půdy v České republice. Academia*. 69-81.
27. Frostegård A, Bååth E 1996. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils*. **22**: 59–65.
28. Gamayurova VS, Zinoviev ME 2011 *Enzymes: Laboratory Workshop: Textbook*. St. Petersburg: Prospekt Nauki. 256.
29. Girfanova VK (ed.) 1974. *Changes in soils during their cultivation: Collection of articles*.
30. Gladkova NS, Malinina MS 1999. Statistical Estimation of Spatial Variation of Mercury Content in the Surface Horizons of Forest Soils. *Eurasian Soil Science*. **10**:1265-1272.
31. Haddad M, Nassar D, Shtaya M 2023. Heavy metals accumulation in soil and uptake by barley (*Hordeum vulgare*) irrigated with contaminated water. *Scientific Reports*. **13**: 4121.
32. Hojdová M, Navrátil T, Rohovec J, Penížek V, Grygar T 2009. Mercury distribution and speciation in soils affected by historic mercury mining. *Water, Air, and Soil Pollution* **200**: 89–99.

33. Horvat M 1996. Mercury speciation and analysis. *Global and Regional Mercury Cycles: Sources, Fluxes and Mass Balances*. Kluwer Academic Publishers. – Netherlands. 257.
34. Hrnčíř M 2006. *Historie těžby a zpracování železné rudy v České republice*. Ostrava: Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava.
35. Hurley JP, Benoit JM, Babiarz CL, Shafer MM, Andren AW, Sullivan JR, Hammond R, Webb DA 1995. Influences of Watershed Characteristics on Mercury Levels in Wisconsin Rivers. *Environmental Science & Technology*. **29(7)**: 1867-1875.
36. Chicherina VR, Saprykina UY 2016. Influence of heavy metals on the growth of bacteria of the genus *Bacillus*. *Step into Science*. **1**: 119-125.
37. Ilbulova GR, Semenova IN, Suyundukov YT 2011. The study of ecological and trophic groups of soil microorganisms in the zone of influence of mining production. *Basic Research*. **11(2)**: 410-414.
38. Ivanova LA, Korshun MN, Savchenko MV 1991. Comparative toxicity of the mercury (II) ion in the form of a cation and complex anion at the organismal and cellular levels. *Occupational Hygiene*. **3**: 42-43.
39. Kabata-Pendias A, Pendias H 2001. *Trace elements in soils and plants*, 3rd edn. CRC Press. Boca Raton.
40. Khaziev FK 1982. *Eco-systemic analysis of soil enzymatic activity*. Moscow: Nauka, 205.
41. Khaziev FK 2018. On the kinetics of enzymatic processes in soils. *Izvestia Ufimskogo Nauchnogo Tsentra RAN*.
42. Klier R 1969. The competition between Bohemian and Idrian mercury in the first half of the 16th century. *Bohemia: Jahrbuch des Collegium Carolinum*. **8**: 82-110.
43. Komov VT 2010. The content of mercury in the organs and tissues of fish, birds, and mammals in the European part of Russia. *Mercury in the biosphere: ecological and geochemical aspects. Proceedings of the International Symposium*. GEOKHI RAN. 14–18.
44. Kuhnert PM, Kuhnert BR, Erhard P 1981. Comparison of mercury levels in maternal blood, fetal cord blood, and placental tissues. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **139(2)**: 209-213.
45. Kuzyakov Y, Friedel JK, Stahr K 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology and Biochemistry*. **32(11-12)**: 1485-1498.
46. Lacerda LD 1997. Evolution of Mercury Contamination in Brazil. *Water, Air, and Soil Pollution*. **97(3-4)**: 247-255.
47. Lomonte C, Doronila AI, Gregory D, Baker AJM, Kolev S D 2010. Phytotoxicity of biosolids and screening of selected plant species with potential for mercury phytoextraction. *Journal of Hazardous Materials*. **173(1-3)**: 494-501.
48. Lucotte M, Schetagne R, Thérien N, Langlois C, Tremblay A 1999. *Mercury in the Biogeochemical Cycle. Natural Environments and Hydroelectric Reservoirs of Northern Québec*. Springer Verlag Berlin Heidelberg. 334.
49. Makarova AA, Samsonova VP, Zhukov DV 2016. The effect of mercury on soil microbial biomass, soil respiration, and enzyme activity in soil. *Soil Science*. 4.

50. Malinina MS, Gladkova NS 2004. Water-soluble compounds of mercury in forest soils of the northern and southern taiga. *Science*. **2**: 189–196.
51. Malinina MS, Motuzova GV, Karavanova EI 1997. The state of mercury in the "flooded soils - water" system under the conditions of a model experiment. *Bulletin of Moscow State University*. **17(1)**: 48-51.
52. Manikandan R, Sahi SV, Venkatachalam P 2015. Impact assessment of mercury accumulation and biochemical and molecular response of *Mentha arvensis*: a potential hyperaccumulator plant. *The Scientific World Journal*. Article ID 715217.
53. McGill WB, Cole CV 1981. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. *Geoderma*. **26**: 267-286.
54. Moreno-Jiménez E, Gamarra R, Carpena-Ruiz RO, Millán R, Peñalosa JM, Esteban E 2006. Mercury bioaccumulation and phytotoxicity in two wild plant species of Almadén area. *Chemosphere*. **63(11)**: 1969-1973.
55. Murata K, Weihe P, Araki S, Budtz-Jørgensen E, Grandjean P 1999. Evoked Potentials in Faroese Children Prenatally Exposed to Methylmercury. *Neurotoxicology and Teratology*. **21**:471-472.
56. Myers GJ, Davidson PW, Shamlaye CF 1998. A Review of Methylmercury and Child Development. *Neurotoxicology*. **19(2)**: 313-328.
57. Myers GJ, Marsh DO, Davidson PW, Cox C, Shamlaye CF, Tanner M, Choi A, Cernichiari E, Choisy O, Clarkson TW 1995. Main Neurodevelopmental Study of Seychellois Children Following In Utero Exposure to Methylmercury from a Maternal Fish Diet: Outcome at Six Months. *Neurotoxicology*. **16**: 653-664.
58. Naidu R, Smith SE, Sibley PK 2009. Mercury Contamination in Soils: Mechanisms, Analysis, and Remediation. *Journal of Environmental Quality*. **38(6)**: 2165-2185.
59. Pacyna JM 2020. Recent advances in mercury research. *Sci Total Environ* **738**: 139955
60. Panov BS, Shevchenko OA 2002. Heavy metals in the biosphere of Donbass. Heavy metals, radionuclides and biophilic elements in the environment. **2**: 40–45.
61. Patra M, Sharma AS 2000. Mercury toxicity in plants. *The Botanical Review*. **66(3)**: 379-422.
62. Richardson AE, Simpson RJ 2011. Soil microorganisms mediating phosphorus availability: Plant growth promotion and beyond. *Plant and soil*. **349(1-2)**: 167-180.
63. Roelke ME 1991. Mercury contamination in the free-ranging endangered Florida panther (*Felis concolor coryi*). *Proc. Am. Assoc. Zoo Vet*. **20**: 277-283.
64. Safari F, Akramian M, Salehi-Arjmand H, Khadivi A 2019. Physiological and Molecular Mechanisms Underlying Salicylic Acid-Mitigated Mercury Toxicity in Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **183**: 109542.
65. Sahai AS, Manocha MS 1993. Chitinases of fungi and plants: their involvement in morphogenesis and host-parasite interaction. *FEMS Microbiology Reviews*, **11(4)**: 317-338.
66. Salimnezhad A, Soltani-Jigheh H, Abolhasani Soorki A 2021. Effects of oil contamination and bioremediation on geotechnical properties of highly plastic

- clayey soil. *Journal of Rock Mechanics and Geotechnical Engineering*. **13(3)**: 653-670.
67. Salonen JT, Seppänen K, Nyysönen K, Korpela H, Kauhanen J, Kantola M, Tuomilehto J, Esterbauer H, Tatzber F, Salonen R 1995. Intake of Mercury from Fish, Lipid Peroxidation, and the Risk of Myocardial Infarction and Coronary, Cardiovascular, and Any Death in Eastern Finnish Men. *Circulation*. **91(3)**: 645-655.
  68. Scheuhammer A 2007. Effects of Environmental Methylmercury on the Health of Wild Birds, Mammals, and Fish. *AMBIO*. **1**: 12-18.
  69. Schlein Y, Jacobson RL, Shlomai J 1991. Chitinase secreted by *Leishmania* functions in the sandfly vector. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. **245(1313)**: 121-126.
  70. Sinsabaugh RL, Follstad SJJ 2012. Ecoenzymatic Stoichiometry and Ecological Theory. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*. **43(1)**: 313-343.
  71. Sinsabaugh RL, Lauber CL, Weintraub MN, Ahmed B, Allison SD, Crenshaw C, Contosta AR, Cusack D, Frey S, Gallo ME, Gartner TB, Hobbie SE, Holland K, Keeler BL, Powers JS, Stursova M, Takacs-Vesbach C, Waldrop MP, Wallenstein MD, Zak DR, Zeglin LH 2008. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology Letters*. **11**: 1252-1264.
  72. Sørensen N, Murata K, Budtz-Jørgensen E, Weihe P, Grandjean P 1999. Prenatal Methylmercury Exposure as a Cardiovascular Risk Factor at Seven Years of Age. *Epidemiology*. **10**: 370-375.
  73. Speir TW, Ross DJ, Feltham CW, Orchard VA, Yeates GW 1992. Assessment of the feasibility of using cca (copper, chromium and arsenic) treated and boric-acid treated sawdust as soil amendments. *Soil biochemical and biological properties. Plant and Soil*. **142**: 249-258
  74. Stein ED, Cohen Y, Winer AM 1996. Environmental distribution and transformation of mercury compounds. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **26(1)**.
  75. Stern AH 1997. Estimation of the Interindividual Variability in the One-Compartment Pharmacokinetic Model for Methylmercury: Implications for the Derivation of a Reference Dose. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. **25**: 277-288.
  76. Suseela V, Tharayil N, Xing B, Dukes JS 2014. Warming alters potential enzyme activity but precipitation regulates chemical transformations in grass litter exposed to simulated climatic changes. *Soil Biol. Biochem.* **75**: 102–112.
  77. Šindlerová V, Felcman J, Hofman V, Jetel V, Morávková M, Novotný V, Franke D. 2021. Územní plán Libčice nad Vltavou.
  78. Šmilauer P, Šmilauerová M, Tlustoš P, Schacher F. 2002. The effect of heavy metal pollution on soil microorganisms. *Applied Soil Ecology*. **19(1)**: 25-34.
  79. Štursová M, Baldrian P. 2011. Effects of soil properties and management on the activity of soil organic matter transforming enzymes and the quantification of soil-bound and free activity. *Plant and Soil*. **338(1)**: 99-110.

80. Truska P, Rosival L, Balázová G, Hinst J, Rippel A, Palusová O, Grunt J 1989. Placental concentrations of cadmium, lead, and mercury in mothers and their newborns. *Hygiene Epidemiol. Microbiol. Immunol.* **33(2)**: 141-147.
81. Ugochukwu KC, Agha NN, Jude-Anthony ON 2008. Lipase activities of microbial isolates from soil contaminated with crude oil after bioremediation. *African Journal of Biotechnology.* **7(16)**: 2881-2884.
82. UNEP 2002. *Global Mercury Assessment*. Geneva, Switzerland.
83. Váňa J, Bečka M, Pouzar V 2001. Výzkum a těžba zlata v Libčicích u Nového Knína. *Hornicko-geologický obzor.* **78(1-2)**: 37-44.
84. Velebil D 2009. Dolování cinabaritu v Horních Lubech u Chebu, Česká republika. *Bull. mineral-petrolog. Odd. Nár. Muz. Praha.* **17(2)**: 39-61.
85. Vokoun J 2002. *Taxonomický klasifikační systém půd ČR v lesnické praxi: Příručka pro průzkum lesních půd.*
86. Vöröš D, DíazSomoano M, Geršlová E, Sýkorová I, Suárez-Ruiz I 2018. Mercury contamination of stream sediments in the North Bohemian Coal District (Czech Republic): Mercury speciation and the role of organic matter. *Chemosphere.* **211**: 664-673.
87. Vrba J, Novotný R, Petrová D 2006. Geochemie rizikových prvků v sedimentech a půdách kontaminovaných lokalit v České republice. *Česká geologická služba.* **1(1)**: 15-32.
88. Yanin EL 2005. Mercury and its role in the development of analytical chemistry (a brief historical essay). *Mercury. Problems of geochemistry, ecology, analytics. IMGRE.* 184-190.
89. Yin Y 1996. Adsorption of Mercury(II) by Soil: Effects of pH, Chloride, and Organic Matter. *Environ Qual.* **4**: 837-844.
90. Zhou ZS, Wang SJ, Yang ZM 2008. Biological Detection and Analysis of Mercury Toxicity to Alfalfa (*Medicago sativa*) Plants. *Chemosphere.* **70**: 1500-1509.

## Internetové zdroje:

ICMGP. 2021. ICMGP 2022 calls for mini workshop proposals. Available from: [ICMGP 2022 calls for mini workshop proposals | Minamata Convention on Mercury \(mercuryconvention.org\)](https://mercuryconvention.org/2022-calls-for-mini-workshop-proposals) (accessed March 2022)