

Mendelova univerzita v Brně

Agronomická fakulta

Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin



**Dopady přehnojení dusíkem na biologickou aktivitu
půdy hnojené biologickým odpadem**

Diplomová práce

Vedoucí práce:

Ing. Jaroslav Záhora, CSc.

Vypracoval:

Bc. Marek Slezák



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatel : **Bc. Marek Slezák**

Studijní program: Technologie odpadů

Obor: Technologie a management odpadů

Název tématu: **Dopady přehnojení dusíkem na biologickou aktivitu půdy hnojené biologickým odpadem**

Rozsah práce: 50 – 60

Zásady pro vypracování:

1. Bude zpracována literární rešerše, zaměřená na nejnovější poznatky o zvoleném tématu.
2. Na základě shromážděných informací bude formulována pracovní hypotéza.
3. Na základě shromážděných informací bude stanovena dávka a druh aplikovaného biologického odpadu, který bude zdrojem dusíku.
4. Bude navrženo schéma experimentu, ve kterém bude pracovní hypotéza testována. Experiment bude založen na sledování biologické aktivity v rhizosférní půdě s přidavkem dusíku, který bude aplikován ve formě vybraného biologického odpadu.
5. Výsledky experimentu budou vyhodnoceny, porovnány s údaji v dostupné literatuře a shrnuty do stručných závěrů.

Seznam odborné literatury:

1. Aber, J et al., 1998. Nitrogen saturation in temperate forest ecosystems – hypotheses revisited. *Bioscience* 48, 921-934.
2. Giardina C. P., Binkley, D., Ryan, M. G., Fownes, J. H., Senock, R. S., 2004. Belowground carbon cycling in a humid tropical forest decreases with fertilization. *Oecologia* 139, 545-550.
3. Khan, S. A., Mulvaney, R. L., Ellsworth, T. R., Boast, C. W., 2007. The myth of nitrogen fertilization for soil carbon sequestration. *Journal of Environmental Quality* 36, 1821-1832.
4. Kuzyakov, Y., Siniakina, S. V., Ruehlmann, J., Domanski, G., Stahr, K., 2002. Effect of nitrogen fertilization on below-ground carbon allocation in lettuce. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82, 1432-1441.
5. Schimel, J. P., Bennett, J., 2004. Nitrogen mineralization: challenges of a changing paradigm. *Ecology* 85, 591-602.

Datum zadání diplomové práce: březen 2016

Termín odevzdání diplomové práce: duben 2017



Bc. Marek Slezák
Autor práce



Ing. Jaroslav Záhora, CSc.
Vedoucí práce



doc. Ing. Petr Škarpa, Ph.D.
Vedoucí ústavu



doc. Ing. Pavel Ryant, Ph.D.
Děkan AF MENDELU

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci: **Dopady přehnojení dusíkem na biologickou aktivitu půdy hnojené biologickým odpadem** vypracoval/a samostatně a veškeré použité prameny a informace jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s platnou *Směrnici o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

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

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

V Brně dne 26. dubna 2017



Poděkování:

Děkuji vedoucímu mé diplomové práce Ing. Jaroslavu Záhorovi, CSc. a pracovníkům Ústavu mikrobiologie, půdoznalství a výživy rostlin za metodické pokyny a pomoc při laboratorních experimentech při tvorbě diplomové práce. Za odborný dozor při vykonávání praktické části práce bych chtěl poděkovat především Ing. Jaroslavu Hynštovi a Ing. Jitce Čermákové.

Diplomová práce byla podpořena Národní agenturou pro zemědělský výzkum projektem QJ1220007: Možnosti zadržení reaktivního dusíku ze zemědělství ve vodo- hospodářsky nejzranitelnější oblasti.

Pokusné rostliny byly kultivovány v zařízení financovaném z projektu OP Va- VpI CZ.1.05/4.1.00/04.0135 Výukové a výzkumné kapacity pro biotechnologické obory a rozšíření infrastruktury.

Abstract

Effect of nitrogen-fertilization on soil microbial activity fertilized biologically decomposed Waste.

The aim of the thesis was to describe the activity of microbial communities during years of high doses of mineral nitrogen in the soil, with the addition of several kinds of biodegradable waste. Territory from which the soil was taken to a laboratory experiment is part of a protection zone of water sources. Increased nitrogen availability in the soil is reflected in the activities of soil microorganisms. All experiments were carried out in laboratory conditions. Most attention was paid to the leaching mineral forms of nitrogen from soil respiration and soil microorganisms. Leaching of nitrogen was measured on the principle of detection of mineral forms of nitrogen in ion exchange resin bags. Respiration was measured in two ways, namely: capture of released CO₂ on Spherasorb – Soda Lime Granules and analyzing a sample of gas released by gas chromatography.

Findings that occurred during the practical part of the diploma thesis confirmed the working hypothesis that the application of biodegradable components to the soil has a positive influence on the activity of soil microorganisms. The greatest increase in microbial activity occurred with the use of manure, but in this application there was a greater degree of leaching of mineral nitrogen from the soil. Application of manure on arable land appears to be the best and most economical way to promote microbial activity in soil.

Keywords

Microorganisms, fertilizer, leaching of mineral nitrogen, respiration

Abstrakt

Cílem diplomové práce bylo popsat aktivitu mikrobiálních společenstev po mnohaletých vyšších dávkách minerálního dusíku do půdy, po přidání několika druhů biologicky rozložitelných odpadů. Území, z něhož byla odebrána půda pro laboratorní experiment, je součástí ochranného pásma vodního zdroje II. stupně Březová nad Svítavou. Vyšší dostupnost dusíku v půdě se projevuje na aktivitách půdních mikroorganismů. Všechny experimenty probíhaly v laboratorních podmínkách. Největší pozornost byla věnována vyplavování minerálních forem dusíku z půdy a respiraci půdních mikroorganismů. Vyplavování dusíku bylo měřeno na principu záchytu minerálních forem dusíku na zrnech iontoměničů. Respirace byla měřena dvěma způsoby a to: záchytem uvolněného CO₂ na zrnech natrokalcitu a analýzou vzorku uvolněného plynu na plynovém chromatografu.

Zjištění, ke kterým došlo během praktické části diplomové práce, potvrdily pracovní hypotézu, že aplikace biologicky rozložitelných složek na půdu má pozitivní vliv na aktivitu půdních mikroorganismů. Největší nárůst mikrobiální aktivity nastal při aplikaci hnoje, avšak při této aplikaci došlo ve větší míře k vyplavování minerálního dusíku z půdy. Aplikace hnoje na ornou půdu se jeví jako nejlepší a nejekonomičtější způsob, jak v půdě podporovat mikrobiální aktivitu.

Klíčová slova

Mikroorganismy, hnojivo, vyplavování dusíku, respirace

Obsah

1	Úvod	12
2	Cíle práce	14
3	Literární přehled	15
3.1	Přeměna dusíku a jeho interakce s půdními mikroorganismy.....	15
3.1.1	Fixace molekulárního dusíku	16
3.1.2	Depolymerizace	17
3.1.3	Amonizace (mineralizace) dusíku	17
3.1.4	Nitrifikace.....	18
3.1.5	Imobilizace.....	18
3.1.6	Denitrifikace.....	19
3.1.7	Volatilizace amoniaku	19
3.1.8	Vyplavování dusíku	19
3.2	Negativní účinky vysokých dávek dusíku na druhovou skladbu mikroorganismů	21
3.3	Půdní respirace	23
3.4	Netradiční půdní aditiva.....	25
3.4.1	Biouhel.....	25
3.4.1.1	Vliv biouhlu na půdní mikroorganismy.....	25
3.4.1.2	Zlepšování půdní úrodnosti	25
3.4.1.3	Perspektiva biouhlového hospodářství.....	26
3.4.2	Kompostovaný biouhel	27
3.4.2.1	Prospěšnost biouhlu v průběhu kompostování	27
3.5	Biologicky rozložitelné odpady.....	28
3.5.1	Kompost.....	28
3.5.1.1	Průběh kompostování	29
3.5.1.2	Funkce kompostu	30
3.5.1.3	Zralost a kvalita kompostu	30
3.5.1.4	Mikrobiologické hodnocení kompostu	31
3.5.2	Hnůj	32

3.5.2.1	Složení chlévského hnoje	33
3.6	Legislativní předpisy upravující používání hnojiv	34
3.6.1	Směrnice Rady 91/676/EHS, o ochraně vod před znečištěním dusičnany ze zemědělských zdrojů	34
3.6.2	Zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech)	34
3.6.3	Vyhláška č. 377/2013 Sb., o skladování a způsobu používání hnojiv	36
3.6.4	Vyhláška č. 474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva	38
3.6.5	Nařízení vlády 262/2012 Sb., o stanovení zranitelných oblastí a akčním programu	38
4	Materiál a metodika	41
4.1	Charakteristika lokality	41
4.2	Založení laboratorního experimentu.....	43
4.3	Varianty experimentu.....	44
4.3.1	Stanovení produkce nadzemní a podzemní hmoty.....	44
4.3.2	Vyplavování minerálního dusíku	44
4.3.3	Stanovení aktivity půdních mikroorganismů.....	46
4.3.3.1	Substrátem indukovaná půdní respirace.....	46
4.3.3.2	Bazální půdní respirace	46
4.3.4	Posouzení biologické aktivity v půdě dle intenzity rozkladu celulózy	48
5	Výsledky a diskuze	50
5.1	Stanovení produkce nadzemní a podzemní hmoty a jejich poměru	50
5.2	Poměr nadzemní a podzemní biomasy.....	51
5.3	Vyplavování minerálního dusíku	52
5.4	Stanovení aktivity půdních mikroorganismů.....	54
5.4.1	Bazální respirace	54
5.4.2	Substrátem indukovaná respirace.....	55
5.4.3	Celulózový test	57
5.4.4	Diskuze	58
6	Závěr	60
7	Použitá literatura	61
7.1	Legislativní předpisy.....	63

8	Seznam obrázků	64
9	Seznam tabulek	65
	Přílohy	66

1 Úvod

Hnojení minerálními hnojivy v průmyslovém zemědělství nejen udržuje, ale také postupně zvyšuje výnosy plodin. Moderní systémy výživy rostlin jsou nepostradatelné v celém systému agrotechnické praxe. Efektivní systémy výživy poskytují rostlinám živiny v potřebných dávkách a umožňují maximální navýšení výnosu jak po kvalitativní, tak po kvantitativní stránce. Hnojiva by měla být aplikována v přiměřených dávkách, aby docházelo k postupnému zlepšování kvality půdy. Kvalita půdy je závislá na mnoha faktorech, nejvýznamnější je obsah živin, fyzikální a chemické vlastnosti a aktivita mikroorganismů podílejících se na metabolických procesech a tocích energie. Ačkoliv biomasa ze všech mikroorganismů představuje jen několik procent obsahu organické hmoty v půdě, může mít jejich enormní aktivita vysoký vliv na dynamiku biologických procesů.

Mikroorganismy jsou součástí všech přírodních a umělých ekosystémů tvořících biocenózu, která je významným a nezbytným biochemickým prvkem zodpovědným za transformaci biogenních prvků v půdním prostředí. Tato transformace má důležitý vliv na ekologickou stabilitu a biologickou produktivitu mnoha polních, lesních a lučních ekosystémů.

Mikroorganismy jsou zapojeny do biochemických přeměn minerálních hnojiv, syntézy biologicky aktivních látek (aminokyseliny, vitaminy, antibiotika, toxiny) a do mnoha dalších procesů. Dlouholeté studie a zkušenosti z agrotechnické praxe jasně ukazují, že minerální hnojení (hlavně dusíkatá složka hnojiv) má největší vliv na výnos polních plodin. Nicméně některá šetření ukázala, že minerální hnojení také silně ovlivňuje celou řadu mikroorganismů a má také vliv na kvalitu jejich společenství. Nesprávná agrotechnika a aplikace hnojiv může přispět k vytvoření různých látek v půdě (např. nitrosoaminy, mykotoxiny), které jsou škodlivé pro půdní mikroorganismy, pěstované plodiny a následně mohou být škodlivé pro zvířata, ale také pro člověka. Tento vedlejší

efekt používání uměle vyrobených preparátů v zemědělství ovlivňuje aktivitu půdních organismů a v důsledku toho nepřímo ovlivňuje úrodnost orné půdy.

Zemědělská chemizace a to především používání vysokých dávek dusíkatých hnojiv může ohrozit nejen ekologickou stabilitu půdního ekosystému, ale také může způsobit znečištění povrchových a podzemních vod akumulací dusičnanů a dusitanů, ale také organickými sloučeninami dusíku jakou jsou například N-nitrosaminy. Dusík nahromaděný v půdě, a to nezávisle na jeho původu, by měl být využitý pro výrobu rostlinné biomasy a měl by udržet vysokou úrodnost půdy. V některých případech však aplikace průmyslových hnojiv přispívá k mobilizaci dusíku v půdě, tento jev je označován jako „priming effect“. Tento jev nastává v půdách, na nichž bylo aplikováno malé množství organických hnojiv, a současně obsahují malé množství humusu.

Minerální hnojiva bývají většinou aplikována na povrch půdy, zatímco organická hnojiva bývají zapravována do hloubky 10 - 20 cm. Oba tyto typy hnojiv jsou zdrojem minerálního dusíku, což zvyšuje jeho koncentraci v půdním roztoku a nasycuje půdní sorpční komplex amonnými ionty. Zvýšení koncentrace v půdním roztoku vede k vyplavování, pokud není absorbován rostlinami. 15 – 50 % dusíku z hnojiv aplikovaných na ornou půdu se většinou vyplaví do povrchových nebo podzemních vod a následkem tohoto jevu dochází k eutrofizaci. Eutrofizace vede k zrychlenému růstu fytoplanktonu a vodní vegetace. Mnoho druhů fytoplanktonu včetně cyanobakterií jsou škodlivé pro lidi a zvířata, protože způsobují žaludeční problémy, katar nebo dokonce ochrnutí.

Z hlediska výše uvedeného je předkládaná diplomová práce zaměřená na posouzení dlouhodobého vlivu vyšších dávek minerálního dusíku na biologickou aktivitu půdy v kombinaci se souběžným vlivem dodatečně aplikovaného vstupu různě atraktivních organických látek, konkrétně kompostu, kompostovaného biouhlu a hnoje.

2 Cíle práce

Cílem diplomové práce bylo shromáždit z publikovaných studií dostupné údaje o vlivu přehnojení dusíkem při aplikaci organických hnojiv na půdní biologické procesy. V literárním přehledu je více pozornosti věnováno interakci dusíku s půdními mikroorganismy a dále popis biologických složek dodávaných do půdy.

Z poznatků shromážděných v literárním přehledu byla formulována následující pracovní hypotéza: Při aplikaci minerálních hnojiv v maximální výši 100 Kg N/ha a při současné aplikaci s biologicky rozložitelnou složkou do půdy, by nemuselo docházet k negativním účinkům na půdní mikroorganismy. Aplikování organických složek do půdy přehnojené dusíkem by mohlo snížit míru vyplavování minerálních forem dusíku z půdy.

Na základě výše uvedeného bylo vybráno odpovídající schéma pokusu. Porovnávat mezi sebou budeme „čistou“ půdu a půdu s přidavkem organické složky. Organická složka bude dodána v podobě kompostu, kompostovaného biouhlu a hnoje. Několika testy a měřeními, které zjišťují mikrobiální aktivitu a samotnou přítomnost mikroorganismů v půdě, ověříme předem zjištěné informace o vlivu nadměrných dávek dusíku na mikrobiální aktivitu.

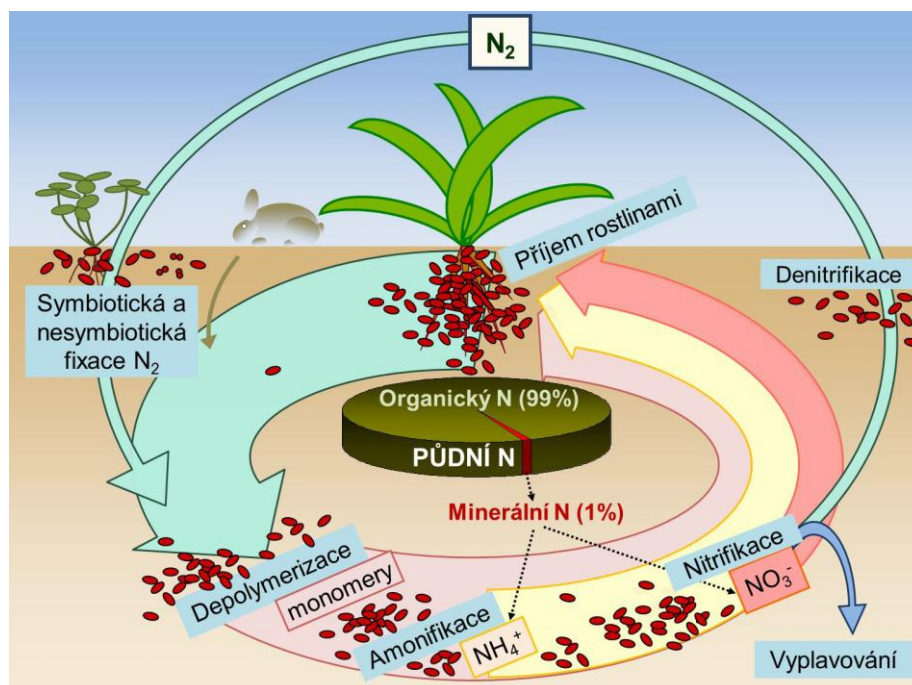
3 Literární přehled

Literární přehled je s ohledem na zaměření práce strukturován následujícím způsobem: a) jsou diskutovány různé vstupy dusíku jednak v přírodě blízkých (eko-) systémech a jednak v produkčně zaměřeném zemědělství včetně osudů nadbytečně aplikovaného minerálního dusíku, b) jsou zpracovány podrobné informace o dodávaných biologických složkách, c) je zpracována legislativa týkající se zadané problematiky.

V literárním přehledu jsou shromážděny informace, které mohou být nápomocny k interpretaci dosažených výsledků a především k posouzení vyslovených hypotéz.

3.1 Přeměna dusíku a jeho interakce s půdními mikroorganismy

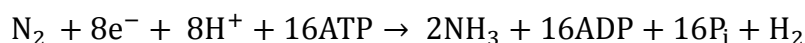
Koloběh dusíku je složen z několika fází, které jsou částečně specifické pro určité klimatické podmínky, avšak vždy hrají hlavní roli v koloběhu dusíku mikroorganismy (Šimek 2003).



Obr. 1 Koloběh dusíku (Záhora *et al.*, 2015)

3.1.1 Fixace molekulárního dusíku

Veškerý dusík vázaný v biomase organismů, odumřelé organické hmotě, v humusových látkách i nerostech organického původu pochází z atmosféry, odkud byl biologicky fixován pomocí mikroorganismů. Proces biologické fixace je vykonáván především půdními bakteriemi, aktinomycetami a sinicemi. Z bakterií mají největší význam bakterie rodu: *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Rhizobium* a *Clostridium*. Při fixaci dusíku má důležitou roli enzym nitrogenasa, který katalyzuje redukci dusíku na amoniakální formu (Záhora *et al.*, 2015). Celý proces fixace probíhá podle následující rovnice:



Enzym nitrogenasa je v přítomnosti kyslíku velmi nestabilní, proto mají mikroorganismy rodu *Rhizobium* na hlízkách kořenů bobovitých rostlin vyvinutou ochranu, která spočívá ve fixaci kyslíku na pyrolový pigment leghemoglobin. Tento pigment způsobuje načervenalé zbarvení hlízek bobovitých rostlin. Jiný způsob ochrany před kyslíkem mají sinice rodu *Anabaena*, jejíž heterocysty mají neprostupnou buněčnou stěnu pro kyslík (Záhora *et al.*, 2015).

Fixátoři dusíku potřebují pro svou aktivitu příznivé podmínky, a to především teplotu v rozmezí 20 – 30 °C a dostatek živných substrátů. Množství fixovaného dusíku závisí také na porostu, který poskytují organismům životní podmínky, v porostech bobovitých rostlin dosahuje biologická fixace dusíku okolo 200 kg.ha⁻¹ za rok (Šimek 2003).

Částečně probíhá fixace molekulárního dusíku, také fyzikálně-chemickými procesy působením elektrických výbojů a slunečního záření (Šimek 2003).

3.1.2 Depolymerizace

Proces, který vede k získávání jednoduchých monomerů (aminokyselin, monosacharidů, nukleových kyselin, atd.) ze složitých polymerů nazýváme depolymerizace. Tento proces je velmi důležitý, jelikož mikroorganismy nedokáží složité polymery využít. Po depolymerizaci jsou tyto látky dostupné jak pro mikroorganismy, tak pro rostliny. Rychlost depolymerizace je závislá na poměru uhlíkatých a dusíkatých sloučenin v rozkládaných látkách (C:N). Zastoupení uhlíku v rostlinách je asi 42 % a dusíku v rozmezí 1 % - 6 %. Mikroorganismy potřebují pro tvorbu vlastních buněk určitý poměr C:N a to konkrétně 25:1 v živném substrátu. Rostlinné zbytky mají různé poměry C:N, například: hmota bobovitých rostlin 20:1, sláma obilnin 100:1, dřevěné piliny (600:1) (Záhora *et al.*, 2015).

Při nadbytku N (např. poměr C:N je 15:1) v rostlinné biomase dochází k rychlému rozkladu biomasy a vzniklý dusík je uvolňován do prostředí, kde je využíván jinými mikroorganismy. V opačném případě, kdy je poměr C:N například 80:1, dochází jak k většímu spotřebování dusíku z rozkládaného materiálu, ale také je využíván dusík dostupný v půdě. Při nedostatku dusíku v půdě tedy dochází k jisté konkurenci mezi mikroorganismy a rostlinami (Záhora *et al.*, 2015).

3.1.3 Amonizace (mineralizace) dusíku

V procesu amonizace (mineralizace) dochází k rozkladu organických dusíkatých látek až na jednoduché minerální formy, tedy amoniak. Vzniklý amoniak je již dostupný pro kořenové systémy rostlin. Amonný dusík se váže na půdní částice, a proto nedochází k jeho vyplavování do podzemních vod. (Záhora *et al.*, 2015) Proces amonizace popisuje následující rovnice:



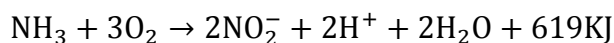
Na míře amonizace je závislá půdní úrodnost, v ojedinělých případech může činit zdroj až 400 kg N.ha⁻¹ za rok. Optimální podmínky pro mineralizaci jsou teplota v rozmezí 30 – 40 °C, a dostatečná vlhkost (Záhora *et al.*, 2015).

3.1.4 Nitrifikace

V příznivých podmínkách pro půdní bakterie, tj. v teplé a provzdušnění půdě dochází k přeměně amonné formy dusíku na dusitany (NO_2^-) a následně na dusičnany (NO_3^-). Dusičnanový dusík je dobře přijímán rostlinami, ale také mikroorganismy jej využívají jako zdroj energie. Díky procesu nitrifikace získává specializovaná skupina autotrofních, striktně aerobních nitrifikačních bakterií energii pro své životní pochody. Oxidace amoniaku probíhá ve dvou fázích, nejprve se oxiduje amoniak na nitrity a následně jsou nitrity zoxidovány na nitráty (Šimek 2003).

Proces nitritace zajišťují například bakterie rodu *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus* a *Nitrospira*, avšak vzniklé dusitany jsou okamžitě převáděny nitritačními bakteriemi na dusičnany. Známé jsou nitritační bakterie rodu *Nitrobacter* a *Nitrococcus* (Šimek 2003).

Proces nitrifikace probíhá podle následujících rovnic:



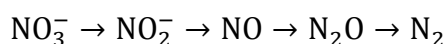
3.1.5 Imobilizace

Imobilizace minerálních forem dusíku probíhá dvěma způsoby: nebiologickou nebo biologickou cestou. Při biologické fixaci dochází k zabudování minerálních forem dusíku do buněčných struktur organismů. Imobilizace minerálního dusíku rostlinami je složitým procesem transportu a přeměny látek v rostlinných pletivech. Imobilizace minerálního dusíku mikroorganismy závisí především na poměru C:N v živném médiu (Šimek 2003).

K nebiologické fixaci minerálního dusíku dochází především: fixací amoniaku na jílové materiály, fixací amoniaku na organickou hmotu a jinými fyzikálně-chemickými reakcemi (Záhora *et al.*, 2015).

3.1.6 Denitrifikace

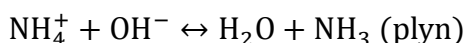
Denitrifikace je přirozený proces, při kterém se vrací zpět do atmosféry N_2 odebraný při biologické fixaci. Tento proces probíhá především v zamokřených půdách, kde je nedostatek kyslíku a z tohoto důvodu využívají bakterie NO_3^- jako akceptor elektronů místo kyslíku. Denitrifikaci provádějí především bakterie rodu *Pseudomonas*. Při nedokonalé denitrifikaci dochází ke značné tvorbě N_2O (Záhora *et al.*, 2015). Denitrifikace probíhá v několika dílčích krocích a je znázorněna v následující rovnici:



3.1.7 Volatilizace amoniaku

Volatilizace amoniaku je vypařování (těkání) plynného NH_3 z půdy z důvodu rovnováhy mezi plynným a rozpuštěným amoniakem. Pro volatilizaci jsou příznivější následující podmínky: zásaditá půdní reakce pH, nedostatek vody v půdě, nedostatek jílových materiálů a humusových látek a vyšší teplota. (Záhora *et al.*, 2015).

K volatilizaci dochází po hnojení močovinou, která se rychle rozkládá na NH_4^+ a následně těká přebytečný NH_3 z půdy. K volatilizaci přispívá také nesprávná aplikace a skladování organických hnojiv. Při dlouhodobějším ponechání organických hnojiv na povrchu půdy může dojít ke ztrátám až několika desítek $kg\ N\ ha^{-1}$ (Záhora *et al.*, 2015). Volatilizace je znázorněna v následující rovnici:



3.1.8 Vyplavování dusíku

Dusík může být vyplaven vodou z půdy a následně unikne drenážními systémy, či povrchovým odtokem do nejrůznějších vodotečí. Ztráty ve formě NO_3^- dosahují až 90 % z celkového vyplaveného dusíku. Rychlost vyplavování dusíku závisí na typu půd, množství organických zbytků a s tím spojenou mikrobiální činností. K největšímu vyplavování dusíku dochází na lehkých půdách v oblastech s vysokým úhrnem srážek (Kvítek & Tipl, 2003).

K největšímu vyplavování dusíku dochází v jarním a podzimním období, kdy není půda dostatečně pokryta vegetací. Největší riziko odnosu dusíkatých látek hrozí při jarním regeneračním hnojení ozimých plodin. Při příliš brzké aplikaci na špatně zapojený porost může dojít k úniku až 80 % dodaného minerálního hnojiva. Louky a pastviny vzhledem k nepřetržitému pokryvu půdy porostem a kořenovou sférou vykazují asi 1/10 vyplaveného dusíku vzhledem k půdám orným. Vyplavování dusíku na orné půdě může být sníženo zkracováním doby, kdy je půda bez rostlinného pokryvu (období mezi sklizní a zasetím nové plodiny) a výsevem meziplodiny. Je známo, že nejvyšší vyplavování dusíku nastává na úhoru. Existují názory, že mnohem více, než genetický půdní typ, ovlivňuje vyplavování dusíku z půdy způsob rotace plodin v osevním postupu (Úlehlová 1989).

Převaha negativních nábojů na půdních koloidech v našich půdách zajišťuje relativně pevnou vazbu kationtů v půdním sorpčním komplexu. Anionty jsou naopak podstatně pohyblivější a to platí především o nitrátech a nitritech. Souběžně s dusíkatými látkami jsou vyplavovány také kationty (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}). Dochází k acidifikaci, k ochuzování půdy o tyto živiny a také může docházet k mobilizaci toxicky působícího hliníku. Zvýšené množství dusíkatých látek ve vodách vede spolu s fosforem ke vzniku eutrofizace (Záhora *et al.*, 2015).

Tab. 1 Míra vyplavování dusíku ve vztahu k pěstovaným rostlinám a míře hnojení

rostliny	dodání dusíku (kg/ha)	ztráta dusíku (kg/ha)	dusík obsažený ve drenážních vodách (mg/dm ³)
louky	175	20	11
obilniny	64	43	17
kořenová zelenina	128	68	38
zelenina	270	82	51

3.2 Negativní účinky vysokých dávek dusíku na druhovou skladbu mikroorganismů

Nitrosaminy vznikají za určitých podmínek reakcí aminokyselin s dusitany. Nejnovější ekotoxikologické studie ukázaly, že z četných chemických látek kontaminujících přírodní prostředí (půda, voda) si nitrosaminy zaslouží zvláštní pozornost, jelikož jsou zahrnuty mezi nejnebezpečnější přírodní jedy, především díky jejich škodlivému biologickému působení. Studie prokázaly, že nitrosaminy ohrožují také všechny organismy osídlující louky a pastviny, lesní a vodní ekosystémy. Nitrosaminy izolované z půdního prostředí různých ekosystémů vyvíjejí silné fytotoxické, mutagenní, teratogenní a karcinogenní účinky na mikro a makroorganismy. Dále jsou silnými inhibitory DNA a RNA syntézy. Prekurzory nitrosaminů jsou produkovány za účasti autotrofních (rody *Nitrobacter* a *Nitrosomonas*) a heterotrofních mikroorganismů podílejících se na nitrifikačních a denitrifikačních procesech a velkého počtu bakterií rodu *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Eubacterium*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Streptomyces* a půdních hub jako například rodů *Aspergillus*, *Candida*, *Fusarium*, *Cephalosporium*, *Penicillium* a mnoha dalších. Dynamika a tvorba prekurzorů nitrosaminů v půdním prostředí závisí na mnoha ekologických a fyzikálně-chemických faktorech jako například: pH, množství kyslíku, agrotechnice, aplikovaných pesticidech, typu půdy, vegetačním pokryvu a na množství a druhu dusíku, který je v substrátu dostupným pro mikroorganismy. Vyšší koncentrace nitrosaminů byla pozorována v kyselých půdách s nižší hodnotou pH (pH 4,0 až 6,0) než v půdách o vyšších hodnotách pH (pH 5,0 až 7,5). Vysoká ekotoxicita nitrosaminů je způsobena pomalou biodegradací, v půdě setrvávají 90 – 150 dnů. Některé mikroorganismy mohou tyto látky využívat v metabolických procesech a pak je využít jako živiny, patří sem především bakterie rodů *Arthrobacter* a *Eubacter* (Kuzyakov 2002).

Tab. 2 Vliv mnohaletého hnojení NPK hnojivy na změny v počtu druhů patřících do vybrané skupiny organismů v půdním prostředí luk a pastvin dvou ekosystémů

	Ovsíkové a kostřavové louky			louky se zastoupením čeledi kosatcovitých		
	Bakterie	Aktinomycety	Houby	Bakterie	Aktinomycety	Houby
0 – kontrola	30	22	30	27	25	24
P ₆₀ K ₈₀	30	22	30	27	25	24
N ₆₀	30	22	30	27	25	24
N ₆₀ P ₆₀ K ₈₀	30	22	30	27	25	24
N ₁₂₀	28	20	29	25	24	20
N ₁₂₀ P ₆₀ K ₈₀	28	20	30	25	23	20
N ₁₈₀	24	19	28	24	22	20
N ₁₈₀ P ₆₀ K ₈₀	24	18	27	23	21	17
N ₂₄₀	24	17	24	20	19	16
N ₂₄₀ P ₆₀ K ₈₀	22	17	28	20	19	18
N ₃₆₀	18	15	29	15	16	20
N ₃₆₀ P ₆₀ K ₈₀	12	14	32	13	12	21

Tab. 3 Průměrný počet mikroorganismů v půdním prostředí lučních ekosystémů (údaje jsou uvedeny jako tisíce/ gram půdy)

množství hnojiv	ovsíkové a kostřavové louky			louky se zastoupením čeledi kosatcovitých		
	Bakterie	Aktinomycety	Houby	Bakterie	Aktinomycety	Houby
0 – kontrola	640	200	17,4	420	180	12,6
P ₆₀ K ₈₀	780	240	16,2	500	200	14,4
N ₆₀	1290	260	17,6	610	185	17,2
N ₆₀ P ₆₀ K ₈₀	1340	380	18,5	850	215	22,3
N ₁₂₀	1390	370	25,4	890	230	27,4
N ₁₂₀ P ₆₀ K ₈₀	1450	440	30,6	1100	220	29,5
N ₁₈₀	1470	460	26,2	1050	260	31,5
N ₁₈₀ P ₆₀ K ₈₀	1520	520	28,3	1290	250	37,6
N ₂₄₀	1570	610	32,4	1250	290	35,2
N ₂₄₀ P ₆₀ K ₈₀	1680	740	34,6	1310	320	37,4
N ₃₆₀	1790	380	27,5	1140	310	30,3
N ₃₆₀ P ₆₀ K ₈₀	1940	420	29,4	1260	360	36,2

Hodnoty uvedené v předešlých tabulkách poukazují na negativní efekt vysokého hnojení NPK hnojivy na lučních ekosystémech. Údaje shromážděné na základě 20-ti

letého terénního a laboratorního výzkumu ukazují vyšší nárůst biologické aktivity v lučném ekosystému při dodávání minerálních hnojiv. Tento nárůst vedl ke změně kvantitativního a kvalitativního zastoupení mikroorganismů. Dodání NPK hnojiv mělo za následek nárůst zelené hmoty a vyšší výtěžek sena o přibližně 150 – 300 %, avšak kvalita sena byla nižší díky menší biodiverzitě rostlin. Vysoké dávky dusíku vedly ke snížení počtu bakterií a aktinomycet, změna v počtu hub byla zanedbatelná. Vyšší dávky dusíku vedly ke zmenšení druhové rozmanitosti mikroorganismů v půdě. Při dávkách dusíku ve výši 360 kg/ha došlo k poklesu druhové rozmanitosti bakterií téměř až o dvě třetiny. Při vysokém nárůstu hmoty rostlin docházelo také k většímu vzniku odumřelé rostlinné biomasy jak v nadzemní tak v podzemní části rostlin. Vzniklá odumřelá biomasa vytvořila vhodné podmínky pro život mikroorganismů a z toho důvodu došlo k vysokému nárůstu jejich počtů (Kuzyakov 2002).

3.3 Půdní respirace

Jako respirace je označován proces oxidace organických sloučenin za přítomnosti kyslíku, za vzniku oxidu uhličitého a vody (Delwiche 1967). Půdní respirace zahrnuje aktivitu bakterií, aktinomycet, mikromycet, řas, prvoků a také aktivitu kořenů rostlin. Rychlost půdní respirace je závislá na fyzikálních podmínkách prostředí, především na teplotě a vlhkosti a také na kvalitě živného substrátu (Schinner et al. 1995).

Měření půdní respirace je nejčastěji využívaná metoda pro určení kvality půdy, úrovně mineralizace, kvality mikrobiálního společenstva, ale také jí bývá přisuzována míra úrodnosti půdy. Půdní respirace je však velice variabilní a může vyjadřovat jak pozitivní, tak negativní působení substrátu na mikrobiální společenstva. Půdní respirace může být v korelaci s uvolňováním živin, tvorbou půdní struktury, rozkladem toxických látek, rozkladem posklizňových zbytků, apod. (Novák *et al.*, 1963)

Nejčastěji bývá měřena respirace bez přídavku substrátu, což indikuje množství aktuálně využitelného substrátu v půdě a metabolickou aktivitu půdních mikroorganismů (Stenberg 1999).

Potenciální (substrátem indukovaná) respirace je měřena během inkubace půdního vzorku s přidáním živného substrátu. Potenciální respirace může být v porovnání s bazální respirací měřítkem stability půdní organické hmoty (Novák a Apfelthaler 1964).

Respirační aktivita půdy, při níž dochází k mineralizaci uhlíku je také parametrem ke zjištění vlivu toxických látek a stresových faktorů na půdní biotu. Respirační aktivita bývá úměrná rozkladu organické hmoty. Pokles dekompoziční aktivity a tím i respirace bývá často způsobeno negativním působením toxické látky obsažené v substrátu. Dále může být respirace limitována množstvím dostupné organické hmoty (Walton *et al.*, 1989).

Porovnání respirace půd, obohacených o různé substráty je možné pouze u vzorků, které byly odebrány za srovnatelných bioklimatických podmínek. Respiraci je možné měřit jak v přirozených, tak v umělých podmínkách laboratoře, kde jsou udržovány stabilní podmínky okolního prostředí. Naměřené hodnoty respirace u vzorků měřených v laboratoři, oproti vzorkům měřeným v terénu jsou odlišné z důvodu zásahů do vzorku půdy při jeho úpravách (Walton *et al.*, 1989).

Měření respirace je založeno na sledování množství vydýchaného CO₂ za určitý časový úsek vztaženého na gram sušiny půdy. Při laboratorním měření za konstantních podmínek závisí množství uvolněného CO₂ na množství a dostupnosti organických látek v půdním vzorku a na schopnosti mikroorganismů je využívat. Po přidání živného substrátu, například glukosy, můžeme označit naměřenou respiraci jako potenciální respirační kapacitu, jelikož respirace byla doposud limitována množstvím dostupného substrátu. Schopnost využívat substrát je možné vyjádřit poměrem bazální respirace (BR)/substrátem indukované respirace (SIR). Malý rozdíl mezi BR a SIR indikuje dostatek dostupného organického materiálu v půdě (Hofman 1996).

3.4 Netradiční půdní aditiva

3.4.1 Biouhel

Biouhel vzniká při rozkladu biomasy vlivem dostatečně vysoké teploty (300-600 °C) za malého nebo žádného přístupu vzduchu – tento proces je označován jako pyrolýza. K zuhelnatění může samozřejmě dojít i za teplot vyšších, zuhelnatět mohou i jiné organické látky umělého původu (Záhora *et al.*, 2015).

Biouhel má obsah živin (fosforu, alkálií) téměř stejný, jako původní biomasa, až na snížený obsah dusíku. Živiny se z něj uvolňují pomalu, nevyplavují se. Uhlík v něm vázaný má dobu setrvání v půdě v řádu staletí až tisíciletí (Schmidt 2012).

Tvorbou a aplikací biouhlu lze nejen velmi zlepšit vlastnosti půd, ale též bezpečně uložit obrovská množství uhlíku zachyceného předtím fotosyntézou z ovzduší. Během staletí tak je možná vrátit složení ovzduší a pH oceánů zpět k hodnotám, které panovaly až do novověku (Schmidt 2012).

3.4.1.1 Vliv biouhlu na půdní mikroorganismy

Biouhel v půdě podporuje růst mnoha důležitých půdních mikroorganismů. Biouhel poskytuje mikroorganismům rozmanitější prostředí pro život. Biouhel je bohatým zdrojem uhlíku a také dalších biogenních prvků, které díky jeho přítomnosti setrvávají déle v půdě a nedochází například k jejich vyplavování. Zejména díky svému velkému vnitřnímu povrchu poskytuje mikroorganismům „nekonečné“ podmínky pro život (Záhora *et al.*, 2015).

3.4.1.2 Zlepšování půdní úrodnosti

Nápad přidávat do půdy uhel není úplně nový, v různých kulturách se záměrně přidával již před tisíci let. Ne pro ochranu klimatu, ale pro zlepšení úrodnosti půd. Zejména ve vlhkých tropech se tak vytvořily černé půdy, které se nevyčerpají během několika let po odlesnění a jsou trvale úrodné. Nejvíce jich je v Amazonii, jejich stáří přesahuje tisíc let a o tom, jak je tehdy lidé vytvářeli, existují jen domněnky. Je ale

zřejmé, že stěžejním principem byla proměna biomasy na uhl. Taková dávno vytvořená půda obsahuje tolik biouhlu a na něj vázaných živin, že ani několik let po odlesnění nevykazuje vyčerpanost a je stále vysoce úrodná (Schmidt 2012).

Nezávisle na tom, ale v tropech existují zemědělci, kteří uhl do půd přidávají i dnes, protože takovou úspěšnou technologii zdělili po předcích. O hnojení uhlem jsou historické zmínky i v zemích mírného pásma. Ústup od jeho užívání nastal vinou nástupu umělých hnojiv. Vlivem rozvoje akademického výzkum a vývoje v této mnohaobrové oblasti se začal v několika zemích užívat znovu. Uhl se jako dobrá složka půd jeví slibně i mimo tropy, vlastně pro celý svět. Uhlem lze zlepšit vlastnosti půdy hned v několika směrech. Například díky své poréznosti zvyšuje schopnost půdy zadržovat vlhkost a zároveň se provzdušňovat. Spolu s vodou zadržuje i živiny v ní rozpuštěné. Minerální látky může vázat i chemicky a vytvářet tak komplexy obdobné těm, které vytváří humus. Díky negativnímu náboji na svém povrchu je biocel schopen vázat pozitivně nabité ionty, v tomto případě zejména rostlinné živiny, jako je vápník (Ca^{2+}), hořčík (Mg^{2+}), draslík (K^+) a další. Ztráty živin dodávaných do půdy hnojením tak mohou být zmírněny. Výsledkem je redukce nákladů na hnojení a zachování živin v půdě po delší dobu. A konečně, sám uhl obsahuje všechny živiny, které obsahovala původní biomasa. Na rozdíl od popelu, v němž zůstanou jen alkálie (draslík, vápník, hořčík) obsahuje uhl též fosfor a síru. Množství dusíku bývá poloviční než v původní biomase. Fosfor i dusík je v uhlu fixován natolik dobře, že se nevyplavuje a nepřispívá k eutrofizaci vod (Záhora *et al.*, 2015).

3.4.1.3 Perspektiva biouhlového hospodářství

Otázkou může být, kde vzít biomasu pro výrobu uhlu. Nejde o nebezpečnou konkurenci dosavadním způsobům využití sklizené biomasy? To jest jejímu použití jako potravin, krmiv, steliv, stavebních a textilních materiálů a paliv. A také ponechání části biomasy na místě, aby chránila půdu proti erozi. A konečně i finálnímu využití zbytků biomasy coby hnojiv: kompostu, hnoje, kalu z bioplynových reaktorů (Schmidt 2012).

Podrobnější pohled na dnešní lidmi vytvářené toky biomasy ukazuje, že se v nich vždy najdou případy, kde nějaká nevyužitá biomasa zbývá, např. se bez užitku spaluje nebo ponechává zetlít. V obou těchto případech je nejen škoda, že se uhlík, který se v ní fotosyntézou uložil, nijak nevyužije, ale dokonce tak v nějaké míře vždy vzniká i metan, řádově účinnější skleníkový plyn, než je oxid uhličitý. Kromě toho existuje biomasa, která se dnes vůbec nesklízí, nebo nemá ekonomické využití - jako např. vegetace rostoucí na půdách ponechaných ladem, plochy pod vedením vysokého napětí, okolí železničních tratí, apod. Tradiční užití biomasy jako paliva bývá mnohdy málo až velmi málo účinné, lze pak docílit toho, že se s menším množstvím suroviny docílí stejného topného užitku a ještě přitom zbude uhlí jako prospěšný přídavek do půd (Schmidt 2012).

3.4.2 Kompostovaný biouhel

Při procesu kompostování, tak i při výrobě biouhlu je využíván jako zdroj surovin organický odpad. Pro kompostování jsou vhodné například odpady vznikající při údržbě veřejné zeleně, biologický odpad z domácností, hnůj apod. Většinou se jedná o odpady, které vykazují vlhkost okolo 65 %. Při výrobě biouhlu jsou využívány odpady o nižší vlhkosti, cca 20 % (z důvodu potřeby velkého množství tepla na vysušení před karbonizací) jako například dřevní biomasa nebo posklizňové zbytky (Camps 2015).

3.4.2.1 Prospěšnost biouhlu v průběhu kompostování

Výhody přidání biouhlu ke vstupním surovinám při procesu kompostování mohou spočívat v kratší době kompostování, snížení vznikajících emisí (především metanu a oxid dusný), snížení ztrát amoniaku, zlepšení struktury a snížení zápachu. Biouhel má schopnost na sebe vázat uvolňované živiny z kompostovaného materiálu (Camps 2015).

Není doporučováno dodávat více jak 30 % biouhlu, jelikož by mohlo docházet ke zpomalení rozkladu. V nižších dávkách biouhel urychluje rozklad. Biouhel má také pozitivní vliv na mikrobiální aktivitu během kompostování, tato aktivita se projevuje vyšší

teplotou v kompostovaném materiálu. Významným efektem přidání biouhlu do vstupního materiálu je omezení ztrát živin a vznikajících emisí (Camps 2015).

Pórovitá struktura biouhlu snižuje objemovou hmotnost kompostu a zvyšuje provzdušnění kompostovaného materiálu. Pokud jsou kompostovány materiály s vysokým obsahem dusíku (hnůj, prasečí kejda, drůbeží trus) snižuje aplikace biouhlu ztráty dusíku během kompostování, a také vznikající emise čpavku. Biouhel má také pozitivní vliv na strukturu materiálu, tohoto jevu je využíváno především při kompostování hnoje (Camps 2015).

Biouhel může být využíván při kompostování materiálů s lehce nadlimitními hodnotami těžkých kovů, jelikož snižuje jejich mobilitu (Camps 2015).

3.5 Biologicky rozložitelné odpady

3.5.1 Kompost

Jako kompost je označován materiál, který vzniká procesem nazvaným kompostování. Degradace přírodními biomechanismy může probíhat v anaerobním nebo aerobním režimu. Podle způsobu kompostování se mění také složení přítomných mikroorganismů a jejich vzniklých metabolitů. V současnosti je využíván především aerobní proces. Základem aerobního kompostování je biodegradace organické hmoty účinkem aerobních mikroorganismů, kombinovaná s některými dalšími reakcemi jako například oxidací nebo hydrolýzou. Složení mikrobiálních společenstev není konstantní a závisí na složení vstupního materiálu. Na humifikačním procesu se podílejí především heterotrofní mikroorganismy. Účelem kompostování není úplná biodegradace všech složek, nýbrž biologická stabilizace vstupních surovin. Dobře biologicky stabilizovaný kompost již neohrožuje žádným způsobem půdu, vodu a ovzduší, nevykazuje známky fytotoxicity a je možno jej zapravit do půdy (Kalina 2004).

Norma pro definování druhů kompostu neexistuje z důvodu velké variability vstupních surovin a podmínek, za kterých ke kompostování dochází (Kalina 2004).

3.5.1.1 Průběh kompostování

Proces kompostování lze vyjádřit následující rovnicí:



Průběh aerobního rozkladu je možné rozdělit na tři fáze:

1. termofilní – v této fázi dochází k zahřátí kompostu na teplotu okolo 60°C, pH začne klesat vlivem tvorby organických kyselin (octová, mravenčí, propanová, máselná), dále začne docházet k rozkladu lehce rozložitelných látek, jako jsou například cukry, bílkoviny, lipidy. Následně pokračuje rozklad hůře rozložitelných látek jako například dřevní hmoty. Pro řádný průběh termofilní fáze je nutné zajistit dostatečné provzdušnění.

2. mezofilní – teplota klesá na 40 – 45°C, dochází k homogenizaci kompostu a tvorbě drobtovité struktury

3. dozrávání – dochází k vyrovnávání teploty s okolním prostředím, pH stoupá a kompost získává konečné vlastnosti (Altmann 2013).

Rozvoj mikroorganismů v procesu kompostování potřebuje následující podmínky:

- správný poměr mezi organickými a anorganickými látkami, přípustný obsah cizorodých látek
- vhodný poměr C:N v rozmezí (20 - 35) : 1
- optimální vlhkost směsi – 40 - 65 %
- vhodnou granulometrii částic a strukturu surovin
- optimální přívod vzduchu
- stejnou rychlost biodegradace jednotlivých surovin

3.5.1.2 Funkce kompostu

Pozitivní působení kompostu na půdu i život v půdě je nesporné. Kvalitní kompost by měl zlepšovat zpracovatelnost půdy, zvyšovat sorpční schopnost lehčích půd, nakypřovat utužené a těžké půdy, redukovat choroby rostlin i působení škůdců, stabilizovat hodnotu pH, zvyšovat vodní kapacitu, snižovat erozi a zabraňovat vysychání. Zlepšení zpracovatelnosti půdy se následně promítne v nižším opotřebení techniky a menší spotřebě pohonných hmot (Kalina 2004).

3.5.1.3 Zralost a kvalita kompostu

Hotový kompost by neměl obsahovat větší množství amoniakálního dusíku ani produktů anaerobního rozkladu. Kompost by měl mít charakteristickou vůni a tmavě hnědou barvu (Kalina 2004). Kvalita kompostu je hodnocena podle následujících tří ukazatelů:

- hodnocení zralosti a stability
- mikrobiologické hodnocení
- agrochemické hodnocení

Norma neudává, jakou metodou by se měla stabilita měřit a neudává ani jakých hodnot by měla dosahovat. Biologicky rozložitelné suroviny mají obvykle nízkou stabilitu, avšak v průběhu kompostování se stabilita zvyšuje. Stabilitu lze dělit na dočasnou (způsobenou například nedostatkem vody) a trvalou (způsobenou transformací biologicky snadno rozložitelných látek do formy humusových látek). Stabilní zralý kompost by měl vykazovat tyto vlastnosti:

- pozvolné uvolňování živin v řádu několika let
- schopnost sorbce jiných látek a optimalizace složení půdního roztoku
- při dlouhodobějším skladováním neprodukovat pachové emise

3.5.1.4 Mikrobiologické hodnocení kompostu

Na procesu kompostování se podílejí především tři hlavní skupiny mikroorganismů a to: bakterie, aktinomycey a plísně. Bakterie vyskytující se v komponovacích zakládkách jsou jak mezofilní, tak termofilní. Jsou to především čeledi *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Bacillaceae*, ale mnohé další v závislosti na podmínkách prostředí. Nejčastějšími zástupci plísní jsou rody: *Mucor*, *Aspergillus* a *Humicola* (Kalina 2004).

Nejčastějšími zdroji patogenních organismů jsou různé typy podestýlky, čistírenské kaly, exkrementy zvířat, kejda nebo chlévský hnůj. Většina patogenních organismů vyskytujících se v kompostu jsou mezofilní a při nástupu teploty na 60 °C při procesu kompostování dochází k likvidaci těchto organismů. Pro hodnocení kompostů se používá hodnocení na základě přítomnosti indikátorových organismů. V České republice jsou jako indikátorové organismy stanoveny termotolerantní koliformní bakterie, bakterie rodu *Salmonella* a enterokoky (Altmann 2013).

Procesem kompostování dochází k redukci počtu termotolerantních koliformních bakterií a salmonel. Snižování počtů Enterokoků, které jsou indikátory fekálního znečištění, nedokáže proces kompostování zcela zabránit. Účinnost redukce těchto patogenních organismů je závislá na kvalitě vstupního odpadu (odpad ze zahrad, kal) a na účinnosti zpracování (teplotě, době zpracování a aeraci). Pro provozovatele kompostárny je důležité znát kvalitu vstupujícího materiálu z hlediska výskytu patogenních organismů (Altmann 2013).

Tab. 4 Kritéria pro hodnocení účinnosti hygienizace na základě sledovaných indikátorových mikroorganismů

Indikátorový mikroorganismus	Jednotka	Počet zkoušených vzorků při každé kontrole výstupu	Limit (nález/KTJ*)	
Salmonella spp.	nález v 50g	5	negativní	
Termotolerantní koliformní bakterie	KTJ* v 1 gramu	5	2	$< 10^3$
			3	< 50
Enterokoky	KTJ* v 1 gramu	5	2	$< 10^3$
			3	< 50

*KTJ = kolonie tvořící jednotku

Kvalitu průmyslových kompostů upravuje norma ČSN 46 5735. Průmyslové komposty by měly plnit následující parametry:

- spalitelné látky ve vysušeném vzorku min. 25 %
- celkový dusík přepočtený na vysušený vzorek min. 0,6 %
- vlhkost minimálně 40 % a maximálně 65 %
- poměr C:N maximálně 30:1
- hodnota pH od 6,0 do 8,5
- nerozložitelné příměsi maximálně 2 %

3.5.2 Hnůj

Hnůj je nejběžnější a jedno z nejdůležitějších organických hnojiv. Jeho kvalita je různá podle druhů hospodářských zvířat, které jej produkují. Nejvyšší je hnůj koňský, ovčí a drůbeží, nejméně kvalitní je slamnatý hnůj prasečí. Podíl drůbežního a prasečího hnoje je v současnosti velmi nízký, jelikož se změnil způsob ustájení těchto zvířat ze stelivového na bezstelivový (Jonáš 1988).

Chlévský hůj je zušlechtěná směs podestýlky s tuhými a tekutými výkaly hospodářských zvířat a vzniká fermentací (zráním) chlévské mrvy. Hlavní zásadou pro výrobu kvalitního hnoje je jeho kvalitní skladování. Důležité je omezit přístup vzduchu správným navrstvením, aby nedocházelo k destrukci organických látek. Průměrné ztráty hmotnosti, které vzniknou skladováním chlévské mrvy při středně dobrém ošetření, se

pohybují zpravidla od 30 do 40 %. Při neuspořádaném skladování chlévské mrvy, zvláště na polních složištích, mohou ztráty dosahovat až 60 % hmotnosti. Nesprávné uložení chlévské mrvy na nezpevněném hnojišti je nejen příčinou vysokých ztrát organické hmoty a živin, ale má také nepříznivý vliv na životní prostředí. Vyluhováním výživných látek do odtékající či půdou prosakující hnojůvky může dojít ke kontaminaci podzemních vod, zejména dusičnany (Jonáš 1988).

Hněj má vysoce pozitivní vliv na půdní úrodnost:

- obohacuje půdu o snadno rozložitelné uhlíkaté a dusíkaté látky
- součástí hnoje je také velké množství mikroorganismů
- zlepšuje fyzikální a chemické vlastnosti půdy

3.5.2.1 Složení chlévského hnoje

Obsah organických látek, sušiny a živin v chlévském hnoji závisí na použitém krmivu, druhu hospodářských zvířat, podestýlce a způsobu ošetřování chlévské mrvy (Jonáš 1988).

Tab. 5 Tabulka složení chlévského hnoje

	Sušina	Organické látky	N	P	K	Ca	Mg
Obsah látek (%)	22	17	0,48	0,11	0,51	0,37	0,05

Dále chlévský hněj obsahuje všechny ostatní makro i mikroelementy jako S, Fe, B, Mn, Cu, Zn, Mo, aj. Nejbohatší na tyto prvky je hněj králíčí, slepičí a husí (Jonáš 1988).

Rostlinné živiny se v chlévském hnoji nacházejí v organické i minerální formě. Dusík je přítomen ze 70 % v organické formě, 29 % činí N – NH₄⁺ a 1 % N – NO₃⁻. Organický podíl hnoje je asi z 85 – 90 % ve formě polorozložené, ale nehumifikované organické hmoty. Zbytek tvoří humusové látky (Jonáš 1988).

3.6 Legislativní předpisy upravující používání hnojiv

Základní legislativní předpis v rámci používání hnojiv na zemědělské půdě představuje **Směrnice Rady 91/676/EHS, zvaná také jako Nitrátová směrnice.**

V České republice je Směrnice Rady 91/676/EHS implementována do následujících národních předpisů:

- Zákon č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon) ve znění pozdějších předpisů,
- Nařízení vlády č. 262/2012 Sb., o stanovení zranitelných oblastí a akčním programu,
- Zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech, ve znění pozdějších předpisů

3.6.1 Směrnice Rady 91/676/EHS, o ochraně vod před znečištěním dusičnany ze zemědělských zdrojů

Plnění nitrátové směrnice je povinné ve zranitelných oblastech, které jsou vymezeny v hranicích katastrálních území. Zranitelné oblasti jsou oblasti, kde se vyskytují vody znečištěné dusičnany ze zemědělských zdrojů. Zemědělské hospodaření ve zranitelných oblastech dále upravuje akční program nitrátové směrnice.

Cílem nitrátové směrnice je snížit znečištění vod způsobované dusičnany ze zemědělských zdrojů a předcházet dalšímu takovému znečišťování. Nitrátová směrnice připouští nejvyšší roční množství vnesených hnojiv na jeden hektar ve výši 170 kg dusíku.

3.6.2 Zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech)

Tento zákon stanoví podmínky uvádění do oběhu, skladování a používání hnojiv, pomocných půdních látek, pomocných rostlinných přípravků a substrátů.

Pro účely tohoto zákona se rozumí:

- a) hnojivem látka způsobilá poskytnout účinné množství živin pro výživu kulturních rostlin, pro udržení nebo zlepšení půdní úrodnosti a pro příznivé ovlivnění výnosu či kvality produkce,
- b) minerálním hnojivem hnojivo, v němž jsou živiny obsaženy ve formě minerálních látek získaných extrakcí nebo jiným fyzikálním nebo chemickým postupem; za minerální hnojivo se považuje také dusíkaté vápno,
- c) organickým hnojivem hnojivo, v němž jsou deklarované živiny obsaženy v organické formě,
- d) organominerálním hnojivem hnojivo, v němž jsou deklarované živiny obsaženy v minerální a organické formě,
- e) statkovým hnojivem hnojivo, vznikající jako vedlejší produkt při chovu hospodářských zvířat nebo produkt při pěstování kulturních rostlin, není-li dále upravováno; za úpravu se nepovažují přirozené procesy přeměn při skladování, mechanická separace kejdy a přidávání látek snižujících ztráty živin nebo zlepšujících účinnost živin,
- i) pomocnou půdní látkou látka bez účinného množství živin, která půdu biologicky, chemicky nebo fyzikálně ovlivňuje, zlepšuje její stav nebo zvyšuje účinnost hnojiv,
- j) pomocným rostlinným přípravkem látka bez účinného množství živin, která jinak příznivě ovlivňuje vývoj kulturních rostlin nebo kvalitu rostlinných produktů,
- k) substrátem látka sloužící k zakořeňování a pěstování rostlin; substrátem je zejména rašelina, zemina nebo jejich směsi,
- m) půdní úrodností schopnost půdy umožňovat rostlinám růst, vývoj a dosažení žádoucího výnosu, kvality a nezávadnosti produkce,
- n) rizikovým prvkem nebo rizikovou látkou prvek nebo látka, jež mohou nepříznivě ovlivnit vlastnosti půdy nebo kvalitu produkce nebo potravní řetězec,
- o) typem hnojiva hnojivo se stanoveným obsahem živin a se shodnou formou a rozpustností živin,

Zemědělství podnikatelé jsou povinni používat hnojiva v souladu s § 9 tohoto zákona. Hnojiva nesmějí být používána na zemědělské půdě pokud:

- a) jejich vlastnosti neumožňují rovnoměrné pokrytí pozemku
- b) způsob jejich použití nevede k rovnoměrnému pokrytí pozemku
- c) jejich použití může vést k poškození fyzikálních, chemických nebo biologických vlastností zemědělské půdy
- d) půda, na kterou mají být použity, je zaplavená, přesycená vodou, pokryta vrstvou sněhu vyšší než 5 cm, nebo promrzlá tak, že povrch půdy do hloubky 5 cm přes den nerozmrzá

Zemědělství podnikatelé jsou povinni řádně vést evidenci o hnojivech a pomocných látkách použitých na zemědělské půdě, tato evidence se vede o množství, době a druhu použití hnojiv. Záznam o použití hnojiva musí být proveden do 1 měsíce od ukončení jeho použití.

3.6.3 Vyhláška č. 377/2013 Sb., o skladování a způsobu používání hnojiv

Skladování tuhých minerálních hnojiv:

- volně ložená minerální hnojiva se skladují v oddělených hromadách do maximální výše 6 m
- balená minerální hnojiva ve velkoobjemových vacích se skladují maximálně ve dvou vrstvách
- nejdéle jeden měsíc se mohou balená tuhá minerální hnojiva skladovat na volných zpevněných plochách, avšak musí být chráněny před povětrnostními vlivy

Skladování kapalných minerálních hnojiv:

- kapalná minerální hnojiva se skladují v nádržích k tomu určených a umístěných v záchytných vanách
- nejdéle 1 měsíc se mohou kapalná minerální hnojiva skladovat i na volných zpevněných plochách v nádržích o maximálním objemu 1000 litrů

Skladování statkových hnojiv:

- tuhá statková hnojiva se skladují ve stavbách k tomu určených, součástí staveb musí být jímka tekutého podílu
- kapacita skladovacích prostor odpovídá 6 měsíční produkci
- na zemědělské půdě mohou být uložena nejdéle 24 měsíců, na místech schválených v havarijním plánu

Používání hnojiv, pomocných látek a substrátů:

- při používání nesmí dojít ke vniknutí do povrchových vod nebo na sousední pozemek
- po aplikaci tekutých statkových hnojiv nebo kapalných organických hnojiv na povrch orné půdy se hnojiva zapracovávají do půdy nejpozději do 24 hodin
- po aplikaci tuhých statkových hnojiv nebo tuhých organických hnojiv na povrch orné půdy se zapracovávají hnojiva do půdy nejpozději do 48 hodin
- pro určování potřeby hnojiv se vychází z potřeby živin porostu pro předpokládaný výnos a kvalitu produkce, z množství přístupných živin v půdě a stanovištních podmínek, z půdní reakce (pH), poměru důležitých kationtů (vápníku, hoř-

číku a draslíku) a množství půdní organické hmoty (humusu) a z pěstitelských podmínek ovlivňujících přístupnost živin (předplodina, zpracování půdy, závlaha)

- maximální aplikační dávka organických a statkových hnojiv se sušinou nad 13 % je 20 tun sušiny na hektar v průběhu 3 let. Maximální aplikační dávka organických a statkových hnojiv se sušinou nejvýše 13 % je 10 tun sušiny na hektar v průběhu 3 let

3.6.4 Vyhláška č. 474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva

Vyhláška stanovuje maximální koncentrace rizikových prvků v hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech. Rizikové prvky jsou sledovány především v kalech z čistíren odpadních vod. Tyto kaly jsou kompostovány, nebo přímo aplikovány na zemědělskou půdu. Je tedy důležité předcházet vnášení rizikových prvků a to především těžkých kovů do životního prostředí.

Tab. 6 Limitní hodnoty rizikových prvků organických a statkových hnojiv se sušinou nad 13 %

mg/kg sušiny								
kadmium	olovo	rtuť	arsen	chrom	měď	molybden	nikl	zinek
2	100	1,0	20	100	150	20	50	600

3.6.5 Nařízení vlády 262/2012 Sb., o stanovení zranitelných oblastí a akčním programu

Toto nařízení stanoví zranitelné oblasti a akční program pro tyto oblasti.

Zranitelné oblasti jsou území, kde se vyskytují povrchové nebo podzemní vody, zejména využívané nebo určené jako zdroje pitné vody, v nichž koncentrace dusičnanů přesahuje hodnotu 50 mg/l nebo mohou této hodnoty dosáhnout, nebo povrchové vody, u nichž v důsledku vysoké koncentrace dusičnanů ze zemědělských zdrojů dochází nebo může dojít k nežádoucímu zhoršení jakosti vody.

Akční program se vztahuje na fyzické nebo právnické osoby, které provozují zemědělskou výrobu ve zranitelných oblastech, používají a skladují hnojiva a jsou zapísány do evidence podle zákona o zemědělství.

Tato vyhláška definuje dusíkatá hnojiva, patří sem: minerální dusíkatá hnojiva, hnojiva s rychle uvolnitelným dusíkem, hnojiva s pomalu uvolnitelným dusíkem, sklidiitelné rostlinné zbytky a upravené kaly. Mezi hnojiva s rychle uvolňujícím dusíkem řadíme například: kejdu, hnojůvku, močůvku, silážní šťávy a mezi hnojiva s pomalu uvolnitelným dusíkem řadíme například: hnůj, tuhý podíl kejdy po mechanické separaci.

Zemědělství podnikatelé, jejichž pozemky leží ve zranitelných oblastech musí dodržovat období zákazu hnojení, které stanovuje příloha č.2 této vyhlášky. Způsob užití dusíkatých hnojivých látek určí zemědělský podnikatel podle potřeb jednotlivých plodin na konkrétních stanovištích a podle pěstitelských podmínek. Pro hnojení jednotlivých plodin jsou stanoveny limity v příloze č. 3 a tyto limity je nutné dodržet na jednotlivých zemědělských pozemcích.

Množství celkového dusíku užitého ročně na zemědělských pozemcích v organických, organominerálních a statkových hnojivech nesmí v průměru celkové výměry zemědělských pozemků překročit 170 kg N/ha.

Zemědělství podnikatelé by dle výše uvedené legislativy měli dodržovat především následující pravidla:

- odebírat hnojiva pouze od ověřených dodavatelů, aby bylo dodrženo uvedené zastoupení prvků v hnojivu, především prvků rizikových
- aplikovat hnojiva v takové výši, která je využitelná rostlinami
- aplikovat hnojiva v závislosti na povětrnostních podmínkách a aktuálním stavu půdy
- při aplikaci v okolí vodních ploch dbát na to, aby nedošlo k přímému zasažení aplikovanou látkou
- dodržovat maximální povolené množství ve výši 170 kg N/ha půdy
- skladovat hnojiva tak, aby nedošlo k úniku do okolního prostředí, toto pravidlo je důležité především při skladování kapalných hnojiv
- ve zranitelných oblastech dodržovat období zákazu hnojení
- vést průběžnou evidenci o používání hnojiv

4 Materiál a metodika

4.1 Charakteristika lokality

Oblast se nachází v katastrálním území obce Banín, které je součástí okresu Svitavy, kraje Pardubického. Území se nachází v ochranném pásmu vodního zdroje II. stupně Březová nad Svitavou, které je jímacím územím a hlavním zdrojem pitné vody pro Brno a přilehlé okolí. Zemědělci, kteří hospodaří v této oblasti, se musí řídit Nitrátovou směrnicí dle NV 262/2012 Sb.

V dotčeném území se vyskytují především 2 půdní typy: hnědé půdy kyselé na slínicích a hnědé půdy kyselé na pískovcích. Lokalita v KU Banín spadá do klimatického regionu mírně vlhkého a mírně teplého. Průměrný roční úhrn srážek činí 550 – 700 mm/rok a průměrná teplota je 7 – 8 °C. Vzorek půdy byl odebírán z orničního horizontu hloubky cca 20 cm (Záhora *et al.*, 2012).

V této hloubce je orniční horizont šedě žlutě hnědý, struktura je do hloubky 12 cm drobtová, od 12 do 28 cm polyedrická, místy slitá. Druh půdy je písčitohlinitý s občasnou příměsí skeletu matečné horniny do průměru 5 cm. Do hloubky 12 cm se nachází velké množství nerozložených organických zbytků. Orniční horizont přechází v hloubce 28 cm do eluviálního luvického El horizontu, matně žlutě oranžové barvy. Tento horizont je již málo biologicky oživený. V hloubce 40 cm přechází pozvolně do luvického horizontu, v němž se ojediněle vyskytují kameny o průměru do 15 cm (Záhora *et al.*, 2012).

Půda byla odebírána z pokusné parcely Mendelovy univerzity. Pokusný pozemek je rozčleněn do několika pásů, které jsou dále děleny dle množství aplikovaných přípravků na ochranu rostlin a hnojiv. Půda pro laboratorní experiment byla odebírána z míst, která byla po dobu čtyř let (od roku 2013 do roku 2016) hnojena 100 kg dusíku.



Obr. 2 Půdní sonda – Luvizem modální (Záhora *et al.*, 2012)



Obr. 3 Označení stanoviště odběru půdy

4.2 Založení laboratorního experimentu

Nádobový laboratorní experiment byl založen v 16 plastových květináčích. Každý květináč byl naplněn 500 g ornice. Ornice byla před vložením do nádob přeseťta, aby byly odděleny zbytky rostlinné biomasy a menší kameny, které by negativně ovlivňovaly homogenitu půdních vzorků. Z každého vzorku půdy byly vytvořeny následující 4 varianty experimentu: a) směs ornice a kompostovaného biouhlu

b) směs ornice a hnoje

c) směs ornice a kompostu

d) varianta obsahující pouze odebranou ornici (kontrolní)

Vzorek kompostu pocházel z kompostárny v Náměšti nad Oslavou, hnůj byl odebrán od soukromého zemědělce z obce Unín a kompostovaný biouhel byl odebrán z pokusného stanoviště Mendelovy univerzity.

Přídavek biologicky rozložitelného odpadu byl navržen tak, aby simuloval skutečně přidávané množství těchto odpadů na hektar orné půdy. Množství dodaného biouhlu bylo 5,3 gramů na 500 gramů ornice. Hmotnost dodaného hnoje činila 53 g, což odpovídá doporučené dávce 60 t/ha a hmotnost dodaného kompostu činila 53 g, což odpovídá doporučené dávce 60 t/ha. Vzorky půdy byly po odběru nasyceny vodou, z tohoto důvodu byly vzorky půdy ponechány týden v laboratorní teplotě, aby vyschly a půda byla lépe zpracovatelná.

Před aplikací jednotlivých druhů hnojiv do ornice byla hnojiva homogenizována a následně vpravena do ornice. Do pokusných nádob o objemu 0,5 dm³ naplněných směsí ornice a hnojiv, nebo pouze ornici byly zasety saláty. Každá nádoba byla oseta třemi semeny salátu setého. Tato semena byla vložena do krajní části nádoby, aby rostliny nepřekážely následně vloženému prstenci pro stanovení půdní respirace. Po 14 dnech byly odstraněny přebytečné saláty z každé nádoby a v každé nádobě zůstala jedna rostlina. Kultivace probíhala 60 dnů v kontrolovaných podmínkách ve fytotronu. Během

kultivace byly udržovány následující podmínky: teplota 22 °C, délka dne 16 hodin, intenzita světelného záření 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. V průběhu experimentu byly nádoby zavlažovány 50 ml destilované vody, vždy dvakrát týdně. Od 3. týdne experimentu byly saláty zavlažovány pouze jednou týdně 150 ml destilované vody.

4.3 Varianty experimentu

4.3.1 Stanovení produkce nadzemní a podzemní hmoty

Po 60 dnech pěstování salátu setého ve stabilních podmínkách ve fytotronu byl pokus ukončen. Narostlá rostlinná biomasa byla rozdělena na nadzemní a podzemní část.

Podzemní kořenová část rostliny byla zbavena zeminy. Nejprve bylo mechanicky odděleno hlavní množství půdy a zbytek půdy byl vymyt vodou na síť o velikosti ok 2 mm. Promývání přes síť bylo prováděno z důvodu zabránění odnosu malých kořenových částí. Nadzemní a podzemní části rostlin byly odděleně vloženy do papírových sáčků a patřičně označeny dle variant. Následně byly vzorky vysoušeny v laboratorní sušárně při teplotě 65 °C až do doby, kdy se hmotnost vzorku ustálila.

Pro laboratorní experiment byl vybrán salát setý (*Lactuca sativa L.*) z důvodu jeho rychlého růstu a nenáročnosti na podmínky prostředí (Kuzyakov 2002).

4.3.2 Vyplavování minerálního dusíku

Množství vyplavovaného minerálního dusíku lze měřit pomocí iontoměničů, které jsou vkládány pod exponovanou půdu (viz obr. 4). Míra vyplavování minerálního dusíku je stanovena na základě zachytu dusíku ve formě NH_4^+ a NO_3^- iontů na iontoměničích. Směsná iontoměničová zrna se skládají z katexových zrn pro zachyt NH_4^+ a anexových zrn pro zachyt NO_3^- . Tato zrna jsou smíchána v poměru 1:1 a následně jsou naplněna do iontoměničových prstenců (Peoples *et al.*, 1989). Prstence mají vnitřní průměr 70 mm, jsou vysoká 5 mm a jsou vyrobená z plastu. Jak z vrchní, tak i ze spodní strany jsou iontoměničová pouzdra uzavřena polyamidovou sítovinou, aby nedocházelo

k úniku iontoměničových zrn. Před použitím se iontoměniče kondiciují několikanásobným střídavým propíráním v destilované vodě a 10 % roztoku NaCl.

Stanovení zachycených iontů probíhalo destilačně titrační metodou (Peoples et al. 1989). Po ukončení sorbce byla iontoměničová pouzdra ponechána 5 dní v laboratorních podmínkách aby bylo dosaženo jejich vysušení. Po vysušení byla náplň pouzder vyjmuta, zvážena a vložena do PE lahví. Do PE lahví byla přidána destilovaná voda o stejné hmotnosti jako iontoměniče. Lahve byly následně doplněny do 100 ml 1,7 M extrakčním roztokem NaCl. Připravená směs byla důkladně promíchána. Iontoměniče byly následně odděleny od roztoku. Roztok byl smíchán s indikátorem HBO₂ a následně proběhla první fáze destilace za přídavku oxidu hořečnatého, poté byla do roztoku přidána Devardova slitina a proběhla druhá fáze destilace. Kapaliny vzniklé při destilaci byly odděleně titrovány a na základě použitého množství 4% roztoku H₂SO₄ bylo vypočítáno zachycené množství dusíkatých iontů.



Obr. 4 Iontoměničový disk vložený pod květináčem

4.3.3 Stanovení aktivity půdních mikroorganismů

4.3.3.1 Substrátem indukovaná půdní respirace

Substrátem indukovanou respirací (SIR) rozumíme zvýšenou rychlost respirace bezprostředně po přidavku substrátu (Šimek 2003). Bylo naváženo 5 g vzorku homogenizované půdy. Tyto vzorky byly smíchány se 2 ml roztoku glukózy. Tento roztok byl připraven smícháním 100 ml destilované vody a 2,5 g monohydrátu glukózy. Vzorky půdy byly hermeticky uzavřeny v lahvičkách, které byly opatřeny gumovou zátkou, skrz kterou probíhal odběr plynu pro analýzu. Půdy byly inkubovány 2 a 4 hodiny za laboratorních podmínek.

Analýza vzorku plynu probíhala na plynovém chromatografu, konkrétně na přístroji Agilent Technologies 7890A. Vzorek byl po průchodu kolonou detekován na FID (plamenový ionizační) detektoru. Substrátem indukovaná respirace byla vyhodnocena jako rozdíl celkového obsahu CO₂ po dvou a čtyř hodinové inkubaci. Vyprodukované množství CO₂ bylo přepočteno na obsah sušiny půdy a objem lahve, v níž probíhala inkubace.

4.3.3.2 Bazální půdní respirace

Biologická aktivita mikroorganismů v půdě se projevuje produkcí CO₂. Produkce CO₂ je způsobena mikrobiální dekompozicí organické hmoty v půdě a také dekompozicí odumřelých rostlinných zbytků (nadzemní i podzemní části). Množství uvolněného CO₂ vypovídá o míře aktivity mikroorganismů v půdě. Půdní respiraci je možné provádět z různých horizontů půdy. V laboratorním experimentu se jednalo o respiraci z povrchu půdy (Šimek 2003).

Pro stanovení produkce CO₂ v laboratorních podmínkách byla zvolena absorpční metoda založená na fixaci CO₂ na granule natrokalcitu. Množství zachyceného CO₂ je následně stanoveno z rozdílů hmotností před a po expozici natrokalcitu na povrchu půdy. Granule natrokalcitu jsou složeny z NaOH, Ca(OH)₂ a 13 – 18 % absorbované vody,

která je nezbytná pro chemickou sorpci CO₂ na uhličitany (Na₂CO₃ a CaCO₃). Vzniklé uhličitany se projeví nárůstkem hmotnosti zrn po skončení sorpce.

Stanovení produkce CO₂ započalo instalací prstenců do jednotlivých květináčů. Prstence byly vloženy tak, aby nedošlo k poškození kořenového systému rostlin. Prstence o průměru 65 mm jsou vyrobeny z plechu o tloušťce 1 mm, povrchová úprava proti korozi je provedena pozinkováním. Ve vrchní části prstence je žlábek, do kterého jsou zasunuty plechové krycí nádoby. Pro sorpci byla použita natrokalcitová zrna o velikosti 2 – 5 mm. Natrokalcit byl navážen na vzorky o hmotnosti 11 – 13 g a následně byl vložen do uzavíratelných PE lahviček. Otevřené lahvičky s natrokalcitem byly vysoušeny při 105 °C v horkovzdušné sušárně po dobu 5 hodin. Při vysoušení natrokalcitových granulí dochází ke změně barvy z bílé na fialovou. Jednotlivé lahvičky byly po vysoušení uzavřeny a zváženy. Poté byly lahvičky otevřeny a vloženy do připravených prstenců v květináčích. Každý prstenec byl hermeticky uzavřen plechovou nádobou. Absorpce CO₂ probíhala po dobu 24 hodin, poté byly lahvičky uzavřeny a opět byly otevřeny na 24 hodin po 7 dnech. Po ukončení expozice byly lahvičky vyjmuty z prstenců a opět byly vysoušeny při 105° C po dobu 5 hodin. Následně byly zváženy a z rozdílů hmotnosti byla vypočtena produkce CO₂.

Přepočet produkce CO₂ byl proveden dle následujícího vztahu:

$$\text{Produkce CO}_2 = \left[\frac{(m_1 - m_2) \cdot 1,69}{S} \right] \cdot \left[\frac{48}{t} \right] \cdot \left[\frac{12}{44} \right] \quad (\text{g CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ den}^{-1})$$

m₁...hmotnostní přírůstek vzorku

m₂...hmotnostní přírůstek slepého vzorku

1,69...koeficient účinnosti poutání CO₂ na natrokalcit

S...plocha půdy, na které dochází k poutání CO₂

t...čas měření respirace (hod)

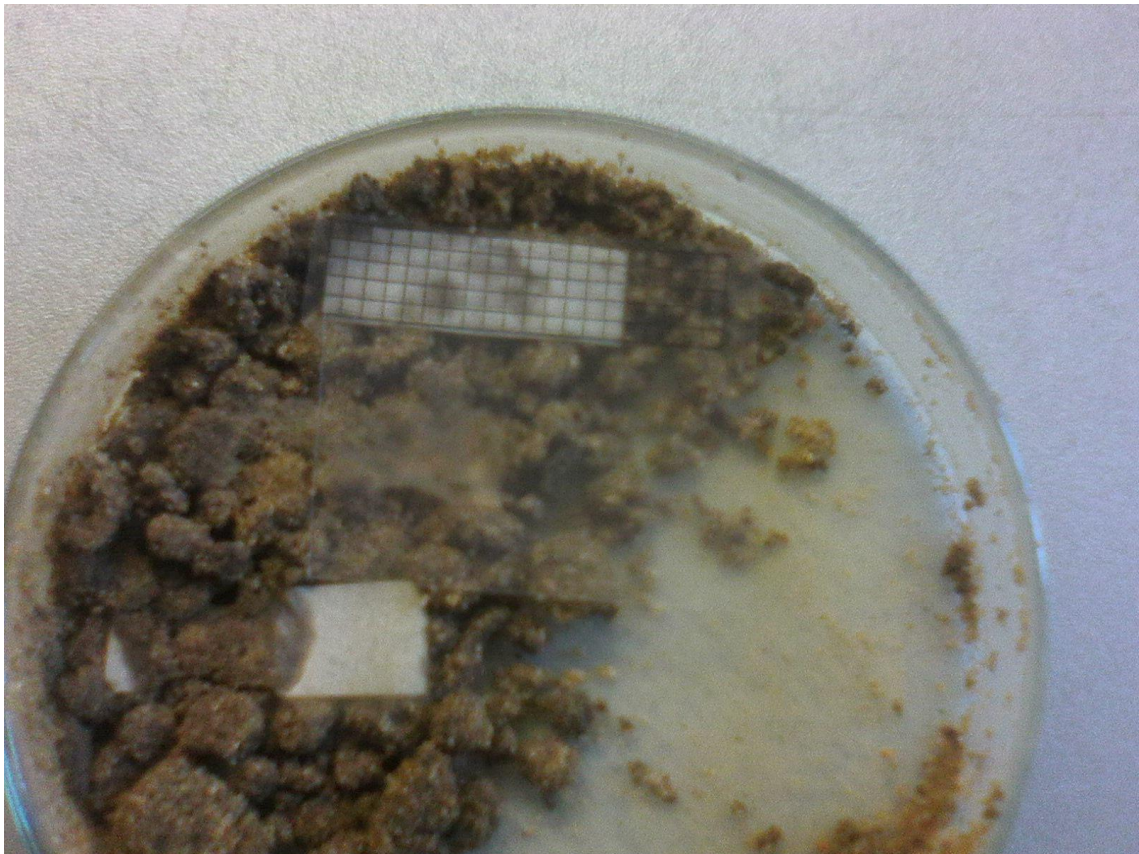
12/44...poměr molární hmotnosti uhlíku k celé molekule CO₂

4.3.4 Posouzení biologické aktivity v půdě dle intenzity rozkladu celulózy

Celulóza je jednou z hlavních stavebních látek rostlinných buněk. V prostředí je hojně zastoupena a z tohoto důvodu existuje velké spektrum půdní bioty, která se podílí na jejím rozkladu. Tyto mikroorganismy musejí být vybaveny příslušnými enzymy. Celulóza je polysacharid, jehož základ tvoří tři jednotky glukózy spojené vazbou β (1,4). Celulózu je možné rozštěpit pouze hydrolyticky za využití enzymů, které umožňují interakci dlouhých nerozvětvených řetězců celulózy s molekulami vody. Velmi důležitá je biodiverzita v půdě, jelikož bakterie rozkládají celulózu a mikromycety lignin. Celulóza spolu s ligninem tvoří hlavní stavební složky rostlinné biomasy (Tesařová 1987).

Hlavními produkty při aerobním rozkladu jsou oxid uhličitý, voda a biomasa mikrobiálních buněk. Produktem anaerobního rozkladu jsou oxid uhličitý, voda, mastné kyseliny a také mikrobiální buňky. Rozklad v půdě probíhá především za pomoci termofilních celulótických mikroorganismů, jako jsou například *Clostridium thermocellum* (Tesařová 1987).

Laboratorní test rozkladu celulózy byl založen na expozici vzorku celulózy do půdy. V pokusu byl použit filtrační papír, který byl rozstříhán na dílky o ploše 3 cm². Z každé varianty vzorku půdy bylo odebráno malé množství půdy, aby došlo k zakrytí dna Petriho misky, následně byly na tuto půdu vloženy tři ústřížky celulózy. Petriho miska byla následně přiklopena druhou částí Petriho misky. Misky byly následně utěsněny parafilmem, aby nedocházelo k vysychání půdy. Připravené vzorky byly následně uloženy do boxu. Následný rozklad celulózy probíhal za pokojové teploty. Rozklad celulózových ústřížků byl vyhodnocen po 30 dnech expozice. Vyhodnocení testu spočívalo v přiložení rastru na ústřížek celulózy a následném spočítání částí, které změnilly barvu, nebo byly téměř rozloženy (viz obr. č. 5).

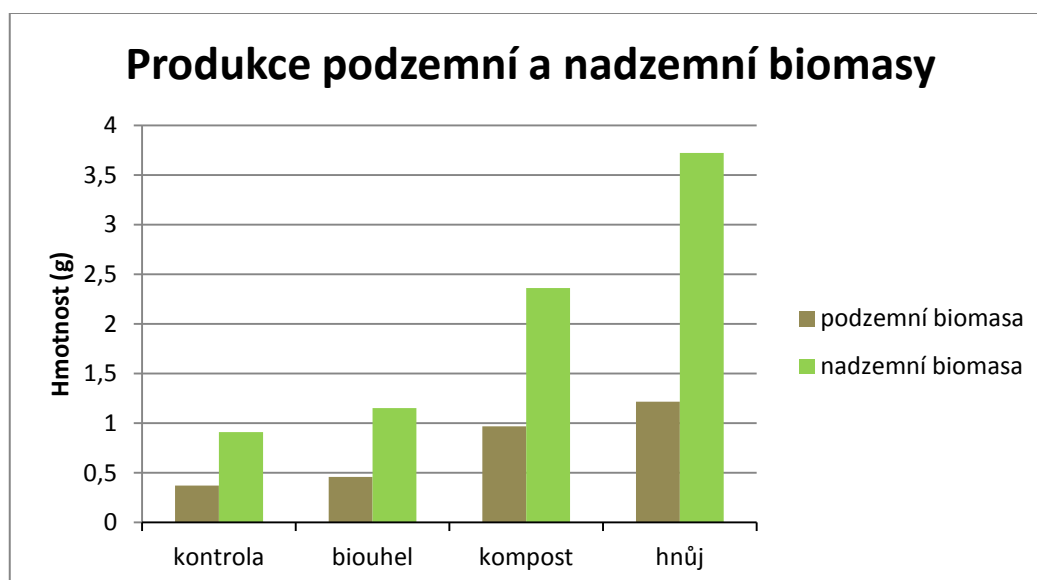


Obr. 5 Vyhodnocení celulózového testu – zřetelné je přiložení rastru o velikosti jednoho čtverce 2 x 2 mm

5 Výsledky a diskuze

5.1 Stanovení produkce nadzemní a podzemní hmoty a jejich poměru

Z grafu č. 6 je patrné, že nejvyšší produkce nadzemní biomasy indikační rostliny byla u varianty hnojené hnojem. Nejnižší nárůst nadzemní biomasy byl u kontrolní varianty. I přesto, že půda obsahovala dostatek dusíku, jelikož byla pravidelně každý rok hnojena dusíkem v množství 100 kg/ha, neměla půda dostatek organické hmoty, jež by poskytla rostlinám dostatek živin. Nedostatek organické hmoty měl také výrazný vliv na zadržování vody, z toho důvodu byly rostliny ve variantě bez přídavku organické hmoty vystaveny působení stresu. Organická hmota v půdě slouží jako substrát pro mikroorganismy, jejichž odumřelé buňky představují také část živin pro rostliny. Varianta s přídavkem biouhlu vykazovala pouze nepatrně vyšší nárůst rostlinné biomasy oproti kontrolní variantě, jelikož biouhel není vydatným zdrojem dusíku a dalších prvků, které jsou důležité pro růst rostlin.

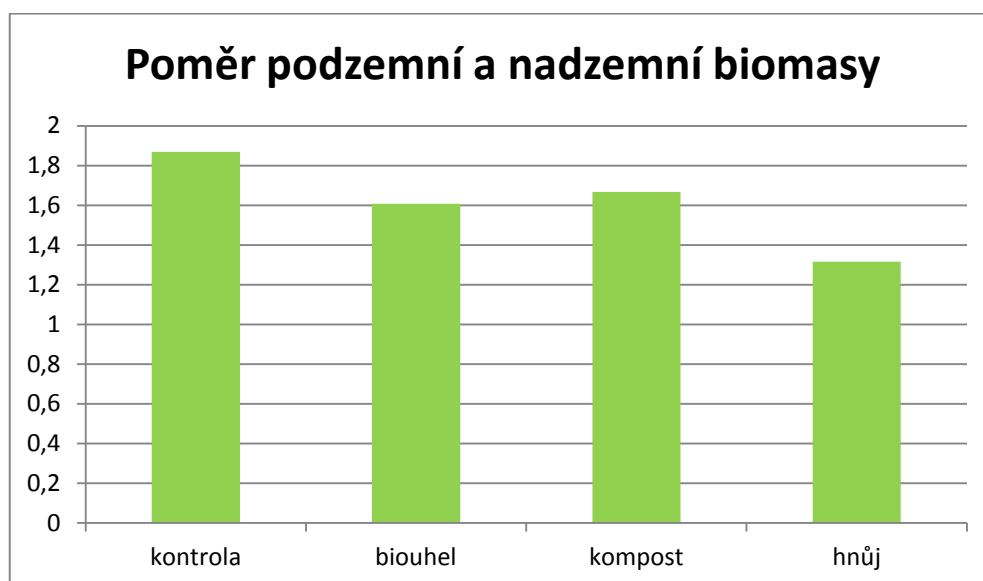


Obr. 6 Produkce podzemní a nadzemní biomasy

5.2 Poměr nadzemní a podzemní biomasy

V grafu č. 7 je vidět, že největší poměr kořenové k nadzemní části byl zaznamenán u kontrolní varianty, jelikož rostliny neměly dostatek živin. Z toho důvodu rostlina podporovala růst podzemní části, aby došlo ke zvětšení plochy, z níž by mohlo docházet k čerpání růstových látek. Největší dostatek živin byl dle poměrů částí rostlin zaznamenán u varianty hnojené hnojem, rostlina tedy nemusela investovat tolik energie do růstu kořenové části. Nepatrný rozdíl byl u variant hnojených biouhlem a kompostem. Kompost, jakož to stabilizovaná organická hmota, poskytoval rostlinám dostatek živin, avšak již neposkytoval větší množství rychle uvolnitelného dusíku, který by podporoval růst rostlin.

Ve variantě hnojení kompostem mohlo docházet ke konkurenci s mikroorganismy v čerpání dusíku, jelikož kompost je bohatým zdrojem mikroorganismů a tyto mikroorganismy spotřebovávaly nemalou část dusíku ke svému životu. Z toho důvodu byl poměr nadzemní a podzemní biomasy vyšší, než například u varianty hnojené biouhlem (Khan *et al.*, 2007). Biouhel má nízký obsah dusíku, avšak je zdrojem mnoha biogenních prvků. Díky velkému vnitřnímu povrchu biouhlu dochází k zachytávání prvků a sloučenin, který by byly za normálních podmínek například vyplavovány z půdy (Záhora *et al.*, 2015).



Obr. 7 Poměr nadzemní a podzemní biomasy

5.3 Vyplavování minerálního dusíku

Dusičnanový (N-NO_3^-) a amonný (N-NH_4^+) dusík jsou velmi důležité pro růst rostlin, avšak v případě neúměrné aplikace je dusík indikátorem přetížení půdního subsystému minerálními hnojivy. V souvislosti, s přidavkem různých typů biologických odpadů, bylo sledováno množství dusíku, který je vyplavován z půdy. Z naměřených hodnot, které jsou znázorněny v grafu č. 8, vyplývá, že k vyššímu vyplavování obou forem dusíku docházelo pouze u varianty hnojené hnojem. K tomuto jevu došlo pravděpodobně z důvodu přívodu dusíku společně s hnojem. Mikroorganismy ani rostlina nedokázaly takto vysoké množství dusíku účelně využít. Další možností, proč varianta s přidavkem hnoje vykazovala vyšší hodnoty je, že pravidelné vysoké dávky dusíku vedly k adaptaci celého systému na takto navozenou situaci, a proto systém nemá důvod alokovat nadbytečný dusík do půdního výměnného komplexu (do buněk mikroorganismů), v půdě chybí funkční půdní organická hmota z minulosti.

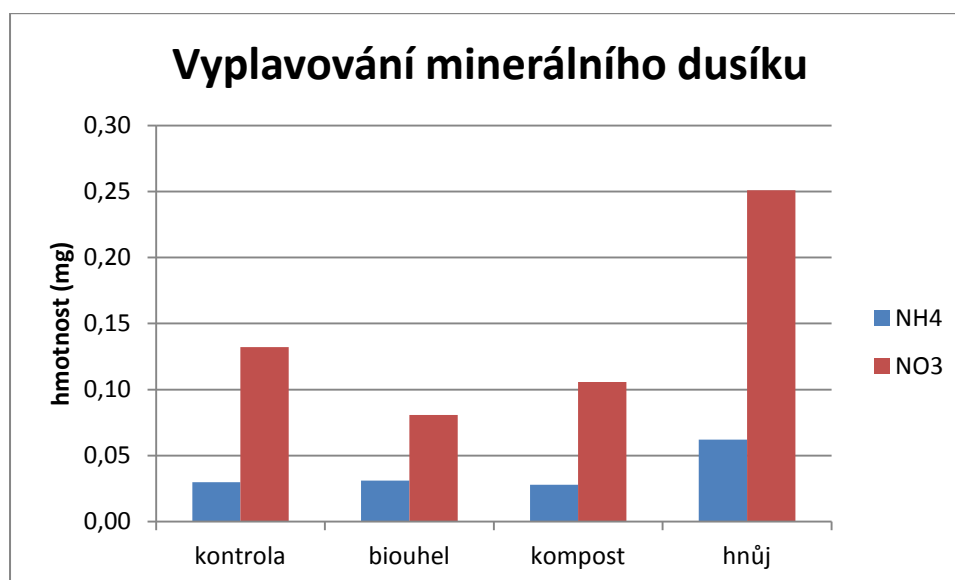
Pozitivní vliv mělo přidání kompostu a biouhlu do půdy. Po aplikaci biouhlu a kompostu do půdy bylo vyplavování minerálního dusíku nižší než u kontrolní varianty.

Přídavek biologického odpadu ve formě kompostu zvýšil mikrobiální aktivitu, což vedlo k vyšší imobilizaci živin pro rostliny a ke snížení množství vyplavovaného dusíku.

Biouhel díky svým vlastnostem sorboval určité množství minerálních forem dusíku na svůj povrch a také poskytl mikroorganismům prostředí a substrát pro životní pochody, které vedly k imobilizaci dusíku z půdy.

Zjištěné hodnoty potvrdily výsledky studie, kterou provedla Huislová 2015, že aplikace biouhlu sníží množství vyplavovaných živin, avšak na svažitých pozemcích může docházet k odnosu živin společně s biouhlem díky jeho malé objemové hmotnosti (Huislová 2015). K největšímu vyplavování dusíku docházelo v počátečních fázích založení experimentu, kdy nedocházelo k čerpání dusíku rostlinou a mikrobiální společenstva byla v počáteční fázi růstu (Gabriel *et al.*, 2012).

Studie provedená (Gabriel *et al.*, 2012) poukazuje na fakt, že na půdách ponechaných ladem a hnojených minerálními hnojivy byl zaznamenán dvojnásobný únik minerálních forem oproti variantám, se zapojeným porostem.



Obr. 8 Vyplavování minerálního dusíku

5.4 Stanovení aktivity půdních mikroorganismů

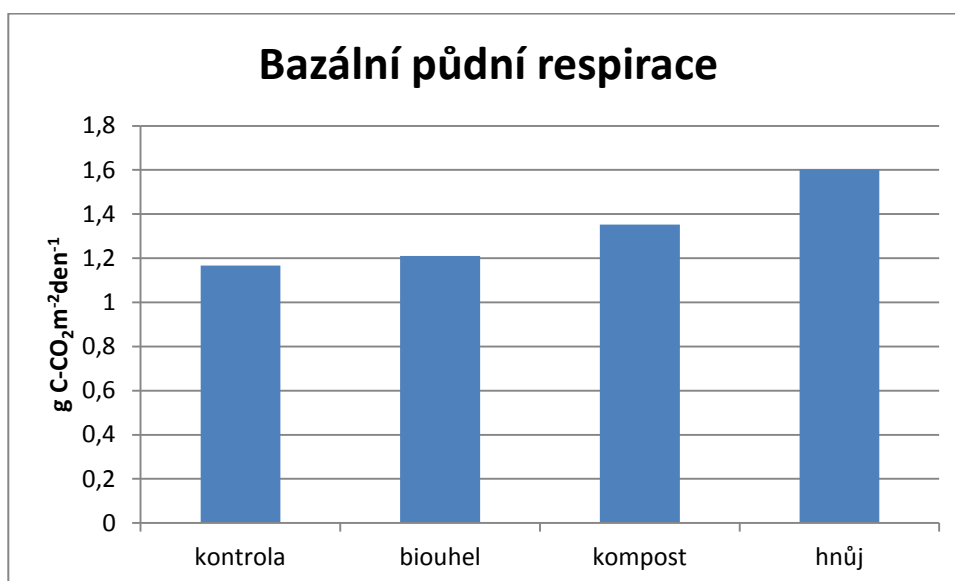
5.4.1 Bazální respirace

Bazální respirace udává aktuální stav produkce CO₂ bez přidavku nějakého živného substrátu, který by podnítil aktivitu mikroorganismů. Z níže uvedeného grafu je patrné, že přidání jakéhokoliv ze tří substrátů mělo pozitivní vliv na nárůst mikrobiální aktivity.

Naměřené hodnoty jsou uvedeny v grafu č. 9. Nejvyšší hodnota půdní respirace byla zaznamenána u varianty s přidavkem hnoje, jelikož se jednalo o nejsnadněji rozložitelný substrát (Fiala 2015).

Nejmenší zvýšení produkce CO₂ oproti kontrolní variantě bylo naměřeno u varianty s přidavkem biouhlu. Potvrdilo se, že biouhel není vydatným substrátem pro aktivitu mikroorganismů ani zdrojem živin, avšak svým velkým měrným povrchem poskytl stávajícím mikroorganismům vhodné prostředí pro život, čímž došlo k navýšení oproti kontrolní variantě.

Mikrobiální respirace mohla vykazovat vyšší hodnoty ve variantách s přidavkem substrátu také z důvodu přívodu uhlíku do půdy v podobě organických látek. Aplikací substrátů do půdy došlo ke změně poměru C:N a tím došlo k navýšení mikrobiální aktivity (Bengston 2003). I přes dostatek dusíku v půdě původem z minerálních hnojiv chyběla mikroorganismům půdní organická hmota, kterou by mohly osídlovat a projevovat svoji aktivitu spojenou s produkcí CO₂. Mikroorganismy v půdě byly vystaveny dlouhodobému působení vysokých dávek minerálních hnojiv, což vedlo k narušení biologické stability mikrobiálního společenstva. Narušené mikrobiální společenstvo může např. začít rozkládat stabilizovanou organickou hmotu (Záhora *et al.*, 2015). Tento jev měl podíl na zvýšené půdní respiraci ve variantě s přidavkem kompostu oproti kontrolní variantě.



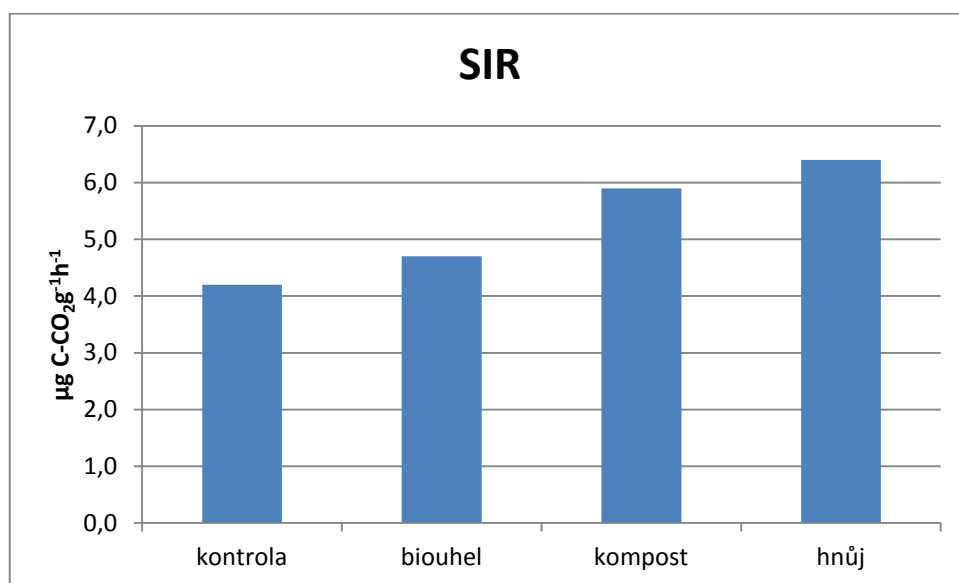
Obr. 9 Bazální půdní respirace

5.4.2 Substrátem indukovaná respirace

Substrátem indukovanou respiraci (SIR) je označena zvýšená rychlost respirace po přidavky nějakého živného substrátu. Naměřené hodnoty SIR indikují potenciál mikroorganismů rozkládat substrát, pokud by nebyly limitovány dostupností živin a energie. Nejlepší fyziologický stav mikroorganismů byl ve variantě s přidavkem hnoje, následovaný variantou s přidavkem kompostu. Nejméně se na fyziologickém stavu mikroorganismů projevilo přidání biouhlu, přesto byly hodnoty substrátem indukované respirace vyšší než ve variantě kontrolní.

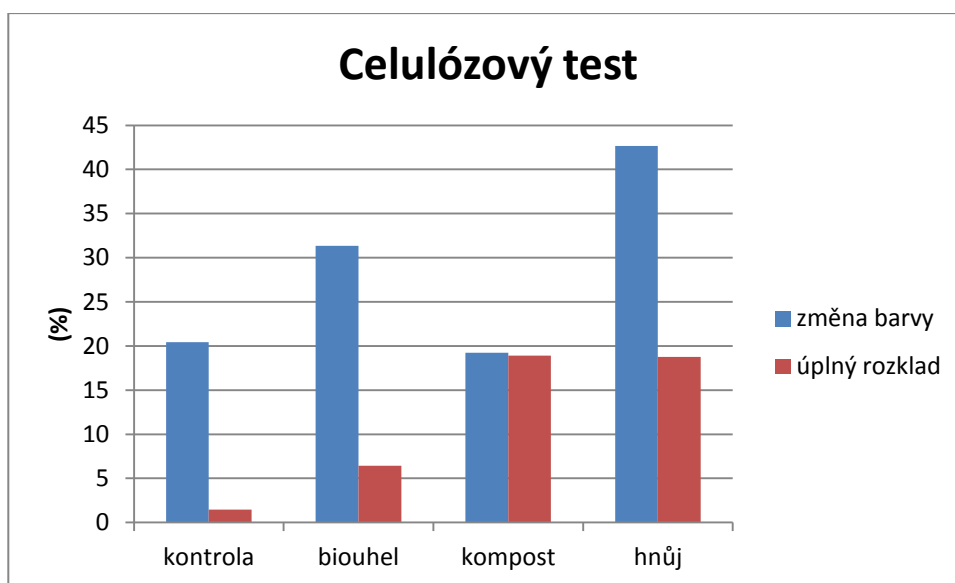
Půda, která byla použita pro stanovení SIR byla přeseta, tím pádem došlo k narušení její struktury, dále byly mikroorganismy vystaveny stresovým faktorům nadbytkem živin a to především aplikací minerálních hnojiv.

Narušení půdní struktury může mít vliv na mikrobiální poměry v půdě, jelikož narušíme mikrobiální procesy v mikromístech s půdní mikroflórou adaptovanou na lokální vstupy a výstupy (Záhora *et al.*, 2015).



Obr. 10 Substrátem indukovaná respirace

5.4.3 Celulóзовý test



Obr. 11 Celulóзовý test

Rozklad celulózy probíhá v přirozených podmínkách ve třech fázích, v první fázi dochází k osídlení substrátu a nedochází téměř k rozkladu. Ve druhé fázi nastává zrychlený rozklad celulózy. Ve třetí fázi dochází ke zpomalení rozkladu až do celkového rozložení celulózy. Experiment by měl být ukončen v průběhu druhé fáze rozkladu, jelikož při delší expozici by došlo pravděpodobně k rozkladu celulózy na většině vzorců půdy a test by tím pádem nebyl průkazný (Tesařová 1987).

V prováděném testu byla změna barvy celulóзовého vzorku přisuzována první fázi rozkladu, kdy dochází k osídlování mikroorganismy. Druhá fáze byla zaznamenávána při úplném rozkladu celulózy.

Z grafu č. 11 je patrné, že u všech variant s přidavkem substrátu proběhl rozklad celulózy více, než v porovnání s kontrolní variantou, tudíž přidavek všech biologických substrátů měl pozitivní vliv na mikrobiální aktivitu v půdě. Změna barvy byla nižší ve srovnání s kontrolní variantou pouze u vzorku s přidavkem kompostu, avšak vzhledem k nejvyšší míře rozkladu v porovnání s ostatními variantami bych tomuto výsledku nepřisuzoval velkou váhu.

5.4.4 Diskuze

Hnojení dusíkatými hnojivy hraje klíčovou roli při současné světové produkci potravin, avšak postupně dochází ke ztrátám přirozeného obsahu uhlíku z půdy. Jedná se tedy o krátkodobý ekonomický zisk, kdy je větší význam přisuzován plodinovým výnosům, než udržení kvality půdy (Khan *et al.*, 2007). Kvalita půdy neznámá pouze schopnost poskytovat rostlinám dostatek živin, ale především stabilní mikrobiální aktivitu, podmiňující stabilitu půdních agregátů a tím i stabilitu infiltrace a retence srážkové vody, bez níž by role půdy pro stabilitu klimatu byla degradovatelná.

V současnosti je z půdy čerpána energie ve formě biomasy, avšak pokud se k půdě nebude přistupovat jako k omezenému zdroji, může nastat opačný trend, kdy bude vynakládáno nemalé množství energie na obnovení půdní úrodnosti. Hnojení N hnojivy má vliv na úbytek půdní organické hmoty v půdě, která poskytuje podmínky pro život mikroorganismů, čímž může dojít ke snížení mikrobiální aktivity (Khan *et al.*, 2007).

Při vyšších dávkách dusíku do půdy dochází k vyššímu nárůstu rostlinné biomasy a současně vzniká také větší množství posklizňových zbytků, které mohou přispívat k ukládání uhlíku do půdy (Kuzyakov *et al.*, 2002). Vyšší mikrobiální produkce CO₂ v půdě hnojené vyššími dávkami dusíku je způsobena rozkladem většího množství kořenového systému, oproti nehnojeným variantám, které neměly kořenový systém vyvinut do takové míry (Kuzyakov *et al.*, 2002).

Ve studii provedené (Kuzyakov *et al.*, 2002) byla sledována mikrobiální aktivita v půdách s dvěma různými dávkami dusíku (80 a 160 kg N ha⁻¹). Rozdíl v mikrobiální aktivitě narůstal společně s dobou růstu rostlin. Tento jev byl přisuzován zvětšujícímu se množství rostlinných zbytků v půdě postupem času. Ve vzorcích došlo k vyvolání „priming efektu“, který dosahoval výše 0,05 – 0,18 kg N/ha za den v závislosti na růstové fázi rostlin s tendencí navýšení při vyšších dávkách hnojení.

Nesprávná agrotechnická opatření mohou vést až k úplnému vyčerpání zemědělské půdy. Největší riziko snížení úrodnosti je u půd nacházejících se v tropickém pásmu. Problematiku těchto oblastí popisuje studie vedená (Giardina *et. al* 2004). V této studii byly porovnávány hnojené a nehnojené půdy minerálními hnojivy. Na rozdíl od zemědělských půd, kde může hnojení vést ke zvýšení ukládání uhlíku v půdě, tak zjištění této studie naznačuje, že tropické lesy mohou reagovat na hnojení snížením toku asimilátů do půdního prostředí, které se podílí na fixaci uhlíku. Mikrobiální aktivita souvisí s klimatickými podmínkami, z toho důvodu ve vlhkém a teplém prostředí tropických lesů dochází k rychlému rozkladu odumřelé rostlinné biomasy. Větší množství uvolněného CO₂ z vrchních vrstev půdy bylo naměřeno u hnojené varianty.

Při hnojení orné půdy minerálními hnojivy dochází ke změně druhové skladby mikroorganismů. Tento jev se začíná projevovat u dávek vyšších než 100 kg N/ha. Vyšší dávky dusíku však zvýšily mikrobiální aktivitu v půdě, avšak jak již bylo řečeno, pouze vybraných druhů. V závislosti na podmínkách prostředí může docházet při aplikaci vyšších dávek dusíku k uvolňování pro mikroorganismy toxických nitrosoaminů (Barabasz *et al.*, 2002).

Při porovnání výsledků zjištěných při praktické části této práce s výsledky ostatních studií jsem dospěl k následujícímu zjištění. Pokud je půda hnojena uměle vyrobenými minerálními hnojivy v dávkách nepřesahujících 100 kg N/ha za rok a současně je obohacována biologicky rozložitelnou složkou, například hnojem, kompostem nebo kompostovaným biouhlem, dochází ke zmírnění negativních dopadů na půdní mikroorganismy.

6 Závěr

Mikroorganismy žijící v půdě mají pro lidskou populaci obrovský význam, avšak lidé se k půdě nechovají jako k živému organismu, ale jako k výrobnímu prostředku. Většina zemědělců si neuvědomuje, že půda není stroj, který je lehce opravitelný nebo nahraditelný. Pokud dojde k poškození půdního prostředí, návrat do původního stavu mnohdy trvá několik let a někdy již není ani možný. Většina současných zemědělců si nedokáže představit pěstování plodin bez používání minerálních hnojiv. Minerální hnojiva jsou mnohdy používána ve vysokých dávkách bez ohledu vedlejší účinky. Aktuální dotační politika zemědělce nijak nenutí, aby ve větší míře pěstovali například rostliny z čeledi bobovitých místo energetických plodin nebo obilnin.

Jeden z možných způsobů jak zlepšovat vlastnosti půdy je aplikovat do půdy biologicky rozložitelné materiály, které jsou zdrojem organické hmoty pro půdu. Po vyhodnocení laboratorních testů bylo patrné, že například dodávání kompostu nebo kompostovaného biouhlu snižuje vyplavované množství minerálního dusíku z půdy. Zjištěné vyšší hodnoty respirace oproti kontrolnímu vzorku značily vyšší aktivitu půdní bioty ve vzorcích s přidavkem biologické složky. Největší vliv na nabuzení mikrobiální aktivity měla aplikace hnoje, následovaná aplikací kompostu.

Aplikace organické hmoty do půdy zpočátku představuje celkem vysoké náklady, například u biouhlu při aplikaci 1 tuny na hektar činí náklady přibližně 15 000 Kč.

Perspektivu v rámci ČR vidím v aplikaci většího množství kompostu na ornou půdu, jelikož stále velké množství biologicky rozložitelného odpadu končí na skládkách místo toho, aby vracel půdě zpět odebrané živiny a udržoval její úrodnost.

7 Použitá literatura

ALTMANN, VLASTIMIL. *Využití kompostu pro optimalizaci vodního režimu v krajině*. Náměšť nad Oslavou: ZERA - Zemědělská a ekologická regionální agentura, 2013. ISBN 978-80-87226-26-1.

BARABASZ, W., ALBIŃSKA, D., JAŚKOWSKA, M., LIPIEC, J., 2002: *Biological Effects of Mineral Nitrogen Fertilization on Soil Microorganisms*. *Polish Journal of Environmental Studies Vol. 11, No. 3*, 193-198

BENGTSON, G., BENGTSON, P. & MANNSSON K. F., 2003: Gross nitrogen mineralization-, immobilization-, and nitrification rates as a function of soil C/N ratio and microbial activity. *Soil biology & Biochemistry*, 35: 143 – 154.

CAMPS, MARTA a THAYER TOMLINSON. *The use of biochar in composting* [online]. International Biochar Initiative, 2015 [cit. 2017-04-23].

Dostupné z: [http://www.biochar-](http://www.biochar-international.org/sites/default/files/Compost_and_biochar_IBI_2015.pdf)

[international.org/sites/default/files/Compost_and_biochar_IBI_2015.pdf](http://www.biochar-international.org/sites/default/files/Compost_and_biochar_IBI_2015.pdf)

DELWICHE C. C. (1967): *Energy relationships in soil biochemistry*. In: McLaren A. D., Peterson G. H. (Eds.): *Soil Biochemistry*, Marcel Dekker Inc., New York, 1-21

FIALA, PŘEMYSL, DUŠAN REININGER, TOMÁŠ SAMEK A STANISLAV MALÝ. *Vybrané mikrobiologické vlastnosti lesních půd pod bukem a smrkem*. *Zprávy lesnického výzkumu*. 2015, (60), 287-298.

GABRIEL, J. L., MUNOZ-CARPENA, R. & QUEMADA, M., 2012: *The role of cover crops in irrigated systems: Water balance, nitrate leaching and soil mineral nitrogen accumulation*. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2012, 155, 50 - 61.

GIARDINA C. P., BINKLEY, D., RYAN, M. G., FOWNES, J. H., SENOCK, R. S., 2004. *Belowground carbon cycling in a humid tropical forest decreases with fertilization*. *Oecologia* 139, 545 – 550.

HOFMAN J. (1996): *Ekotoxikologický významné parametry mikrobiálních společenstev ve stresových půdách*, Bakalářská práce, MU Brno

HUISLOVÁ PETRA, JARMILA ČECHMÁNKOVÁ. *Ověření vlivu zuhelnatělé biomasy – materiálu biouhel - na kvalitu půdy* [online]., 9 [cit. 2017-04-16]. Dostupné z: <http://biouhel.cz/wp-content/uploads/2016/04/VUMOP-Overeni-vlivu-biouhlu-na-kvalitu-pudy.pdf>

JONÁŠ JAROSLAV, VLASTA PETŘÍKOVÁ. *Využití exkrementů hospodářských zvířat*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1988. Lesnictví, myslivost a vodní hospodářství. ISBN 07-136-88.

KALINA MIROSLAV. *Kompostování a péče o půdu*. 2. upr. vyd. Praha: Grada, 2004. Česká zahrada. ISBN 80-247-0907-4.

KHAN, S. A., MULVANEY, R. L., ELLSWORTH, T. R., BOAST, C. W., 2007. *The myth of nitrogen fertilization for soil carbon sequestration*. Journal of Environmental Quality 36, 1821-1832.

KUZYAKOV, Y., SINIAKINA, S. V., RUEHLMANN, J., DOMANSKI, G., STAHR, K., 2002. *Effect of nitrogen fertilization on below-ground carbon allocation in lettuce*. Journal of the Science of Food and Agriculture 82, 1432-1441.

KVÍTEK, T. & TIPPL, M., 2003: *Ochrana povrchových vod před dusičnany z vodní eroze a hlavní zásady protierozní ochrany v krajině*. ÚZPI, Praha, 47 s.

NOVÁK B., APFELHALER R. (1964): *Příspěvek ke stanovení respirace jako indikátoru mikrobiologických pochodů v půdě*. Rostlinná výroba, 10: 145 – 150

NOVÁK B., KOZOVÁ J., LÖBL F., APFELHALER R. (1963): *Vliv organických látek v různém stupni humifikace na mikrobiologické a biochemické pochody v půdě*. Rostl. Výr., 36:770 – 779

SCHINNER F., ÖHLINGER R., KANDELER E., MARGESIN R. (1995): *Methods in soil biology*. Springer. Verlag Berlin, 93 – 121 s.

SCHMIDT, HANS-PETER. *55 Anwendungen von Pflanzenkohle*. Ithaka Journal. 2012, 99-102. ISSN 1663-0521.

STENBERG B. (1999): *Monitoring soil quality of arable land: microbiological indicators*. Acta Agric. Scand., Sect. B, Soil Plant Sci. 49:1 – 24

ŠIMEK, M., 2003: *Základy nauky o půdě 1. Neživé složky půdy*. Jihočeská univerzita, České Budějovice, 131 s.

TESAŘOVÁ, M., *Stanovení intenzity rozkladu modelové celulosy v půdě – terénní metoda*. In: RYCHNOVSKÁ, M., *Metody studia travinných ekosystémů*. Academia, Praha, 1987. 191 – 193 s.

ÚLEHLOVÁ, B., 1989: *Koloběh dusíku v travních ekosystémech*. Academia, Praha, 110 s.

VERONICA ekologický institut [online]. [cit. 2017-04-16]. Dostupné z: <http://www.veronica.cz/biouhel>

WALTON, B. T. ANDERSON, T.A. HENDRICS, M.S., TALMAGE, S.S. (1989): *Physicochemic properties as predictors of organic chemici effects on soil microbial respiration*. Environ Toxicol. Chem, 8

ZÁHORA JAROSLAV, OLGA URBÁNKOVÁ, JAKUB ELBL, ET AL. *Půda, místo pro život*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2015. ISBN 978-80-7509-367-7.

ZÁHORA et al., 2012: Výroční zpráva projektu Národní agentury pro zemědělský váz-kum, projektu QJ1220007: Možnosti zadržení reaktivního dusíku ze zemědělství ve vodohospodářsky nejzranitelnější oblasti.

7.1 Legislativní předpisy

Směrnice Rady 91/676/EHS, o ochraně vod před znečištěním dusičnany ze zemědělských zdrojů

Zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech)

Vyhláška č. 377/2013 Sb., o skladování a způsobu používání hnojiv

Vyhláška č. 474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva

Nářízení vlády 262/2012 Sb., o stanovení zranitelných oblastí a akčním programu

8 Seznam obrázků

Obr. 1	Koloběh dusíku (Záhora <i>et al.</i> , 2015)	15
Obr. 2	Půdní sonda – Luvizem modální (Záhora <i>et al.</i> , 2012)	42
Obr. 3	Označení stanoviště odběru půdy	42
Obr. 4	Iontoměničový disk vložený pod květináčem	45
Obr. 5	Vyhodnocení celulózového testu – zřetelné je přiložení rastru o velikosti jednoho čtverce 2 x 2 mm	49
Obr. 6	Produkce podzemní a nadzemní biomasy	50
Obr. 7	Poměr nadzemní a podzemní biomasy	52
Obr. 8	Vyplavování minerálního dusíku	53
Obr. 9	Bazální půdní respirace	55
Obr. 10	Substrátem indukovaná respirace	56
Obr. 11	Celulózový test	57
Obr. 12	Nádobový experiment před ukončením	66
Obr. 13	Probíhající bazální respirace	66
Obr. 14	Provádění substrátem indukované respirace (aplikace roztoku glukózy)	67
Obr. 15	Vzorky půdy připravené ke stanovení sušiny	67
Obr. 16	Plynový chromatogram při analýze odebraného plynu	68
Obr. 17	Vyhodnocování celulózového testu	68

9 Seznam tabulek

Tab. 1	Míra vyplavování dusíku ve vztahu k pěstovaným rostlinám a míře hnojení	20
Tab. 2	Vliv mnohaletého hnojení NPK hnojivy na změny v počtu druhů patřících do vybrané skupiny organismů v půdním prostředí luk a pastvin dvou ekosystémů	22
Tab. 3	Průměrný počet mikroorganismů v půdním prostředí lučních ekosystémů (údaje jsou uvedeny jako tisíce/ gram půdy)	22
Tab. 4	Kritéria pro hodnocení účinnosti hygienizace na základě sledovaných indikátorových mikroorganismů	32
Tab. 5	Tabulka složení chlévského hnoje	33
Tab. 6	Limitní hodnoty rizikových prvků organických a statkových hnojiv se sušinou nad 13 %	38

10 Přílohy

Obrazová fotodokumentace:



Obr. 12 Nádobový experiment před ukončením



Obr. 13 Probíhající bazální respirace



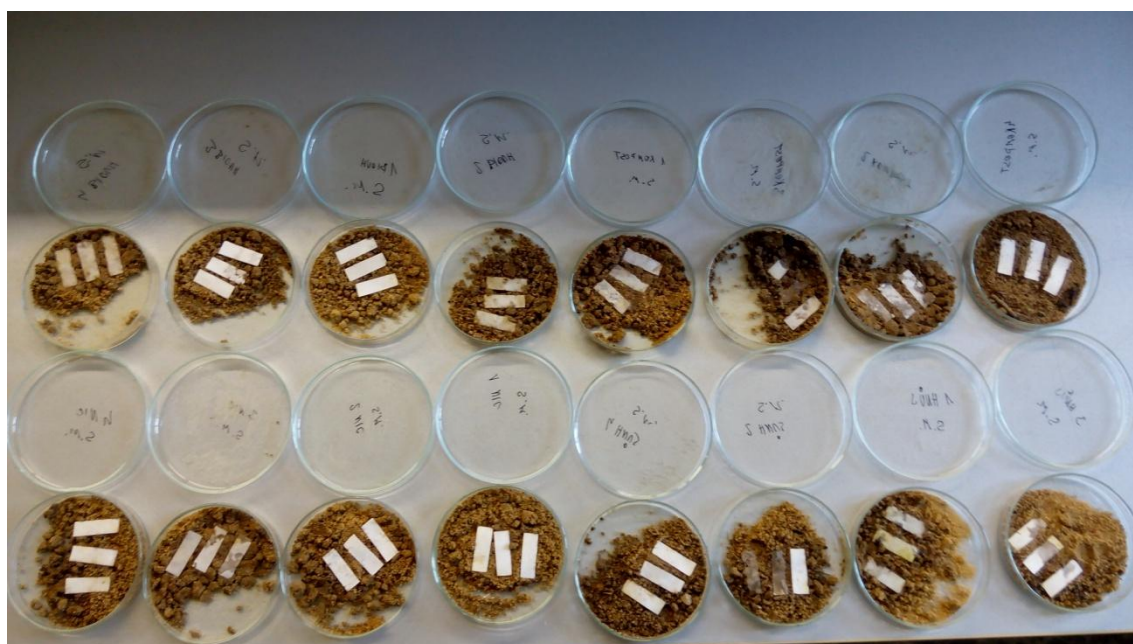
Obr. 14 Provádění substrátem indukované respirace (aplikace roztoku glukózy)



Obr. 15 Vzorky půdy připravené ke stanovení sušiny



Obr. 16 Plynový chromatogram při analýze odebraného plynu



Obr. 17 Vyhodnocování celulóзовého testu