

**Mendelova univerzita v Brně**  
**Agronomická fakulta**  
**Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin**

---



**Agronomická  
fakulta**

**Mendelova  
univerzita  
v Brně**



**Vliv polutantů na mikrobiální aktivitu půdy oživené  
organickým hnojivem**

Diplomová práce

*Vedoucí práce:*

Ing. Jaroslav Záhora, CSc.

*Vypracovala:*

Bc. Anna Šafránková

---

Brno 2017



# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Bc. Anna Šafránková**  
Studijní program: Technologie odpadů  
Obor: Technologie a management odpadů  
Název tématu: **Vliv polutantů na mikrobiální aktivitu půdy oživené organickým hnojivem**  
Rozsah práce: 50

Zásady pro vypracování:

1. Na základě studia dostupné literatury bude zpracován literární přehled poznatků o vlivu organického hnojení a polutantů na půdní biologické procesy.
2. Bude formulována pracovní hypotéza vycházející z poznatků shromážděných v literárním přehledu.
3. Bude navrženo schéma laboratorního experimentu, ve kterém bude hypotéza testována. Laboratorní experiment bude založen na inkubaci půdy s přísávkou organických odpadů a vybraných polutantů.
4. Během experimentu budou průběžně odebírány vzorky půdy ke stanovení vybraných ukazatelů biologické aktivity.
5. Výsledky experimentu budou vyhodnoceny, porovnány s údaji v dostupné literatuře a shrnuty do jasných závěrů.

Seznam odborné literatury:

1. Kotzerke, A., Sharma, S., Schauss, K., Heuer, H., Thiele-Bruhn, S., Smalla, K., Wilke, B. M., Schloter, M. Alterations in soil microbial activity and N-transformation processes due to sulfadiazine loads in pig manure. Environmental Pollution. 2008, 153, 315-322.
2. Kuzyakov Y., Blagodatskaja, E., 2015. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept and review. Soil Biology and Biochemistry 83, 184-199.
3. Sánchez-Monedero, M. A., Serramiá, N., García-Ortiz Civantos, C., Fernández-Hernández, A., Roig, A., 2010. Greenhouse gas emissions during composting of two-phase olive mill wastes with different agroindustrial by-products. Chemosphere 81, 18-25.
4. Šimek, M., Hynšt, J., Šimek, P. 2014. Emissions of CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O from soil at a cattle overwintering area as affected by available C and N. Applied Soil Ecology 75, 52-62.
5. Zhang, C., Li, G., Lin, Q., Cao, A., Zhao, X., 2011. The dynamics of dissolved organic N in the fumigated soils. Biology and Fertility of Soils 47, 833-837.

Datum zadání diplomové práce: březen 2016

Termín odevzdání diplomové práce: duben 2017



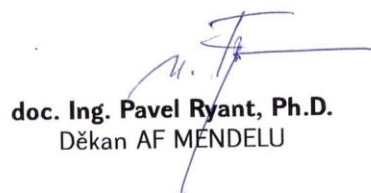
**Bc. Anna Šafránková**  
Autorka práce



**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 práci: Vliv polutantů na mikrobiální aktivitu půdy oživené organickým hnojivem vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím 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 *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, 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, 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:.....

.....  
podpis

## Poděkování

Chtěla bych poděkovat vedoucímu své diplomové práce, Ing. Jaroslavu Záhorovi, CSc. za cenné rady, připomínky a vedení práce, dále zaměstnancům Ústavu agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin, jmenovitě Ing. Ivanu Tůmovi, Ph.D., Ing. Janě Vavříkové a Ing. Jitce Čermákové, za rady a pomoc při provádění laboratorních experimentů a Ing. Jaroslavu Hynštovi, Ph.D. za pomoc při měření na plynovém chromatografu. Největší vděk na závěr patří mé rodině, která mě po celou dobu mého studia podporovala.

Diplomová práce byla podpořena Národní agenturou pro zemědělský výzkum, projektem QJ1220007: Možnosti zadržení reaktivního dusíku ze zemědělství ve vodohospodářsky nejzranitelnější oblasti. Pokusné rostliny byly kultivovány v zařízení financovaném z projektu OP VaVpI CZ.1.05/4.1.00/04.0135 Výukové a výzkumné kapacity pro biotechnologické obory a rozšíření infrastruktury.

# Abstrakt

**ŠAFRÁNKOVÁ, Anna. Vliv polutantů na mikrobiální aktivitu půdy oživené organickým hnojivem.**

Úvodní řešeršní část shrnuje dosavadní poznatky o vlivu pesticidů na mikroorganismy a na jejich aktivitu. Dále se zabývá popisem organického hnojení používaného v experimentu (kompost a kompostovaný biouhel). Na základě literární rešerše byla stanovena pracovní hypotéza - Pesticidy mají negativní vliv na aktivitu půdních mikroorganismů - která byla v experimentální části testována.

V experimentální části práce byl proveden nádobový pokus. Byly vytvořeny dvě základní varianty – kontrolní nezatížená půda a půda po aplikaci pesticidů. V nádobách byly pěstovány rostliny salátu setého (*Lactuca sativa*). Jedna verze zůstala bez organického hnojení a do dalších dvou byl přidán kompost a kompostovaný biouhel. Celkem tedy vzniklo 6 variant pokusných nádob, které byly podrobeny různým měřením.

Byla stanovena produkce nadzemní a podzemní biomasy a R/S poměr. Z tohoto měření vyplynulo, že ve variantách s pesticidy se rostlinám daří lépe. Polutanty degradovaná půda zřejmě nedokáže zadržovat živiny v půdě, a tak je ochotně poskytuje rostlinám. Dále byla sledována respirační aktivita mikroorganismů měřením absorbcí na natrikalcit a substrátem indukovanou respirací. Výsledky ukazují pokles respirace mikroorganismů v půdách s polutanty, a to v obou provedených měřeních. Výsledky vyplavování minerálního dusíku překvapivě stanovily, že méně uniká v nitratové i amoniakální formě z půdy s pesticidy. Jeho množství bylo ale celkově velice nízké. Celulózový test prokázal nižší totální rozklad celulózy v kontaminovaných variantách. Výsledky testu fytotoxicity poukazují na to, že pesticidy mohou mít na klíčení rostlin inhibiční účinky, ale při samotném růstu klíčku mohou svými účinnými látkami stimulovat jeho vývoj.

**Klíčová slova: Pesticidy, biouhel, kompost, mikroorganismy, půda**

# Abstract

**ŠAFRÁNKOVÁ, Anna. Impact of pesticides on microbial activity of soil with organic amendment.**

The initial part summarizes current knowledge about impact of pesticides on microorganisms and their activity. It also deals with a description and effects of organic fertilization used in the experiment (compost and composted biochar). Based on the literature, we determined the hypothesis – Pesticides have negative effect on soil microbial activity – which was tested in the experimental part.

In the experimental part, we carried out a pot experiment. We made two basic versions – a control soil without pesticides and a soil after the application of pesticides. We grew specimens of lettuce (*Lactuca sativa*) in pots. One version was without organic fertilization, next with amended compost and the last one with composted biochar. In total, we prepared six variants of pots, which were subjected to various measurements.

We determined the production of aboveground and underground biomass and the root/shoot ratio. This measurement showed that the variants with pesticides are more suitable for plant growth, plants were bigger in both – aboveground and underground biomass, so they can probably uptake nutrients from soil degraded by pollutants, which can't hold them back. We also monitored activity of microbial respiration by two methods: by measuring the absorbance of CO<sub>2</sub> at soda lime and by the substrate induced respiration. The results showed a decrease in respiration of microorganisms in polluted soil in both of these measurements. Results of mineral nitrogen leaching surprisingly determined, that less nitrogen escaped in soil with pesticides in both forms - ammonia and nitrate, but its amount was generally very low. Cellulose test showed worse total breakdown of cellulose in contaminated variants. Phytotoxicity test revealed, that pesticides may have inhibiting effect on plant germination, but the active substances of pesticides can stimulate growth and development of plant sprouts.

**Key words: Pesticides, biochar, compost, microorganisms, soil**

# Obsah:

ÚVOD.....	11
1 CÍLE PRÁCE .....	13
2 LITERÁRNÍ PŘEHLED .....	14
2.1 Půda .....	14
2.1.1 Koloběh látek.....	14
2.1.2 Význam organického podílu v půdě .....	15
2.2 Mikroorganismy v půdě a jejich význam.....	17
2.2.1 Bakterie.....	17
2.2.2 Aktinomycety.....	18
2.2.3 Sinice a řasy.....	18
2.2.4 Houby.....	18
2.2.5 Prvoci .....	18
2.3 Ukazatele mikrobiální aktivity v půdě.....	19
2.3.1 Respirace .....	19
2.3.2 Půdní enzymy .....	19
2.3.3 Rozklad organické hmoty .....	20
2.3.4 Mineralizace dusíku .....	20
2.3.5 Biomasa.....	21
2.4 Biouhel.....	21
2.4.1 Co je to biouhel a jak vzniká.....	21
2.4.2 Účinky na půdu a půdní mikroorganismy .....	22
2.5 Kompost .....	24
2.5.1 Vliv kompostu na fyzikální vlastnosti půdy.....	25
2.5.2 Vliv kompostu na chemické vlastnosti půdy .....	25
2.5.3 Vliv kompostu na biologické vlastnosti půdy .....	26
2.5.4 Průmyslové komposty .....	27
2.6 Pesticidy .....	27
2.6.1 Co jsou to pesticidy a jaké druhy existují.....	27



2.6.2	Pesticidy v půdě.....	29
2.6.2.1	Působení pesticidů na půdní mikroorganismy obecně .....	30
2.6.2.2	Účinky na nitrifikaci .....	30
2.6.2.3	Vliv na rozklad celulózy .....	31
2.6.3	Pesticidy používané v experimentu, účinné látky a jejich vliv na mikrobiální aktivitu .....	31
2.6.3.1	Artea plus .....	31
2.6.3.2	Cougar forte .....	32
2.6.3.3	Husar .....	32
2.6.3.4	Roundup klasik.....	33
3	MATERIÁL A METODY.....	34
3.1	Popis lokality .....	34
3.2	Založení nádobového experimentu .....	35
3.2.1	Charakteristika pokusných rostlin.....	36
3.2.2	Provedení nádobového experimentu.....	36
3.3	Stanovení produkce nadzemní a podzemní biomasy .....	37
3.4	Měření kumulativní produkce CO <sub>2</sub> .....	38
3.5	Substrátem indukovaná respirace (SIR).....	39
3.6	Měření množství vyplaveného minerálního dusíku.....	40
3.7	Celulóзовý test.....	42
3.8	Test fytotoxicity – řeřichový test.....	43
4	VÝSLEDKY.....	44
4.1	Vizuální popis pěstovaných rostlin.....	44
4.2	Stanovení produkce nadzemní a podzemní biomasy, R/S poměr .....	45
4.3	Měření kumulativní produkce CO <sub>2</sub> .....	47
4.4	Substrátem indukovaná respirace .....	48
4.5	Měření množství vyplaveného minerálního dusíku.....	49
4.6	Celulóзовý test.....	50
4.7	Test fytotoxicity.....	52
5	DISKUZE .....	55

6	ZÁVĚR.....	57
7	SEZNAM LITERATURY.....	59
8	SEZNAM OBRÁZKŮ .....	65
9	SEZNAM TABULEK.....	66
10	PŘÍLOHY.....	67

## ÚVOD

Velká část mikrobiální biomasy Země je obsažena v terestrických ekosystémech, a to především právě v půdě. Funkce mikroorganismů v půdě je opravdu důležitá – bez jejich činnosti by se v půdě a na jejím povrchu hromadila organická hmota a živiny v ní imobilizované by chyběly ostatním součástem živé půdy (Elbl et al., 2014). Půda je heterogenní systém, skládající se z kapalných, plynných a pevných fází. Na vzniku půdy se podílí hned několik faktorů: topografie, podnebí, matečná hornina, čas a mikroorganismy.

Aktivita mikroorganismů je silně ovlivňována narušením půdy. Narušování způsobují přirozené procesy, ale také člověk. Mezi nejobvyklejší způsoby, jak může člověk negativně ovlivňovat půdní procesy patří aplikace chemických látek, nadměrné používání hnojiv, ale také klimatické změny. Tyto pochody mají velký vliv na biologickou aktivitu. Poškození živých organismů v půdě vnějšími vlivy může dále prohlubovat destrukci půdy.

Není velkým tajemstvím, že půdotvorný proces je velice pomalá činnost. Vždyť 1 cm ornice se v našich podmínkách tvoří přibližně 100 - 200 let. Nevhodnými zásahy člověka a špatným zemědělským managementem lze pak tento dlouho budovaný centimetr během chvíle znehodnotit. Dnes je mezi zemědělci v rámci intenzivního hospodaření bohužel mnohem rozšířenější aplikace minerálních hnojiv a používání pesticidů, vedoucí k větším výnosům a minimalizaci zemědělských ztrát. Nadměrné hospodaření s chemickými látkami ale vede kromě devastace půdy také ke snižování kvality vody v důsledku úniku živin a znečišťujících látek z půdního profilu do povrchových a podzemních vod (Jouquet et al., 2011).

Několik studií již prokázalo, že správné hospodaření s organickou hmotou vede k lepšímu zadržování živin v ekosystému. Například o kompost ale mezi českými zemědělci není příliš zájem. Kompost je nejběžnější organické hnojivo dodávající do půdy živiny a organický uhlík a zlepšující jeho fyzikální, chemické i biochemické vlastnosti. Naproti tomu, aplikací biouhlu do půdy obvykle nedodáme živiny, ale může to mít vliv na jejich transformaci, mikrobiální společenstvo a zmírnění půdní kyselosti. Ačkoliv tyto dva produkty recyklace organických zbytků působí v půdě rozdílně, jejich koaplikace může mít synergický účinek na půdní biochemické vlastnosti (Teutscherová et al., 2017).

Mechanismy působení polutantů v půdě mohou být různé. Někdy dojde k odumírání mikroorganismů, někdy odumřou jen ty nejcitlivější a ty odolnější se na odumřelých částech mohou žít, někdy se účinek projeví inhibicí mikrobiálního metabolismu, zcela výjimečně může pesticid způsobit nepřímou stimulaci půdních organismů a to tím, že způsobí lyzi aktivní části mikroorganismů, tzv. pohnojení mikrobiální cytoplasmou. Vzhledem k tomu, že většina aplikovaných pesticidů bohužel není příliš selektivních, tj. působících pouze tam, kde bychom chtěli, je velice důležité vědět, jaké účinky může látka na necílový organismus mít. I když většina pesticidů působí na mikrobiální aktivitu spíše inhibičně, výsledky nelze jednoznačně interpretovat, jelikož v některých případech může i přes negativní působení na většinu mikroorganismů nepřímo docházet ke stimulaci malé, odolnější části mikrobiálního společenstva. Vliv polutantů na mikrobiální společenstvo může být často opomíjen, a to hlavně z důvodu velikosti mikroorganismů. To, že půdní mikroorganismy „trpí“, totiž člověk pouhým pohledem neodhalí.

## 1 CÍLE PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo shromáždit z publikovaných studií dostupné údaje o vlivu organického hnojení a polutantů na mikrobiální aktivitu a půdní biologické procesy. V literárním přehledu je více pozornosti věnováno některým běžně používaným pesticidům, které byly zvoleny jako modelový polutant.

Z poznatků shromážděných v literárním přehledu byla formulována následující pracovní hypotéza: Pesticidy negativně ovlivňují aktivitu půdních mikroorganismů.

Na základě výše uvedeného bylo vybráno odpovídající schéma pokusu. Porovnávány mezi sebou budou v základu 2 varianty, a to kontrolní půda a půda zatížená aplikací pesticidů. V nádobách budou pěstovány saláty. Jeden vzorek bude ponechán bez přídatku organického materiálu a do dalších dvou bude přidáno organické hnojení v podobě kompostu a kompostovaného biouhlu. Několika testy a měřeními, které zjišťují mikrobiální aktivitu a samotnou přítomnost mikroorganismů v půdě ověříme předem zjištěné informace o vlivu pesticidů na mikrobiální aktivitu.

## 2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

V půdě dochází k interakci mezi živou a neživou složkou. Děje v půdě jsou řízeny mikroorganismy, pouhým okem neviditelnými. Právě mikroskopické rozměry těchto organismů znemožňují jejich vnímání lidskými smysly, a tak se o jejich fyziologickém stavu a chování dozvídáme zprostředkovaně, například pomocí projevů jejich metabolismu. Ten můžeme podpořit přidáním využitelných živin, kterými může být organické hnojivo, nebo naopak uškodit nerozváženým používáním přípravků na ochranu rostlin – pesticidů.

### 2.1 Půda

Půda se skládá z pevných, kapalných a plynných látek. Pevné látky tvoří zhruba 50 – 85 % půdy. Kapaliny či půdní roztok představují 10 – 45 % z celkového objemu půdy. Plynné látky (půdní vzduch) vyplňují asi 5 – 40 % půdního prostoru. Nejprůzračnější poměr mezi pevnými, kapalnými a plynnými látkami je zhruba 50 : 35 : 15 % objemu půdy.

Půda vzniká ze dvou různých výchozích materiálů: z anorganické horniny a organických materiálů. Anorganická hornina zvětrává v průběhu let díky působení fyzikálních, chemických a biologických činitelů a organické látky tlejí za přístupu vzduchu, respektive se mění za nepřístupu vzduchu na humus. Obě složky se samozřejmě nevyskytují odděleně, nýbrž se míchají a dávají tak vznik půdě takové, jakou ji známe.

Jako pojem „úrodnost půdy“ označujeme její schopnost zásobovat rostliny vodou a živinami. Čím více je půda úrodná, tím lépe může rostlinám zabezpečovat tyto ekologické činitele. Úrodnost půdy pozitivně ovlivňuje vysoký obsah humusu, organické hnojení, správné obdělávání půdy a dodržování osevních postupů či biologická ochrana rostlin (Kalina, 1999).

#### 2.1.1 Koloběh látek

V přírodě probíhají neustále procesy rozkladu a přeměny látek. V těchto kolobězích nevznikají žádné odpady. Každý rok podléhá přeměně obrovské množství odumřelého rostlinného materiálu. Tento materiál je zdrojem výživy pro miliony půdních mikroorganismů a také je začátkem každého potravního řetězce (Kalina, 1999).

Snad všechny lidské aktivity nějakým způsobem ovlivňují přirozené cykly prvků v půdě a prostředí. Mezi nejvýznamější z lidských aktivit patří zemědělství (obhospodařování půdy, hnojení, používání pesticidů), průmyslová výroba, těžba nerostů, výroba energie a doprava (Šimek, 2003).

### **2.1.2 Význam organického podílu v půdě**

Význam organické složky půdy je znám již velice dlouho. I když nebyly jasné mechanismy jejího působení, bylo zřejmé, že souvisí s půdní úrodností. Organická hmota v půdě hraje nezaměnitelnou roli v utváření a zlepšování vlastností půdy. Kromě obsahu živin jsou právě tyto vlastnosti jedním ze zásadních faktorů, nezbytných pro kvalitní pěstování všech rostlinných kultur.

Organická hmota je v půdě zastoupena jak živými organismy, tak i jejich neživými zbytky. Dodáním živé organické složky do půdy dojde ke stimulaci přirozených procesů, které vedou k maximálnímu využití jejího potenciálu ve prospěch úrodnosti. Jedná se o přirozený proces vývoje půdy, který je dodáním živých organismů účelově urychlen. Organická hmota má prokazatelně pozitivní efekt na vlastnosti půdy, jakými jsou například objemová hmotnost půdy, půdní retence, osmotický potenciál vody v půdě nebo schopnost tvořit půdní agregáty (Altmann, 2013). Z výzkumů provedených Henkem a Dymákem (2011) vyplývá, že organická hmota pozitivně ovlivňuje především retenční schopnost půd, čili schopnost půdy zadržovat vodu. Půdy s narušenou retenční kapacitou, a tedy i s menším obsahem organických složek, dosahují nasycení vodou mnohem dříve, a tak dochází poměrně brzy k vyplavování některých živin a například i polutantů jako jsou pesticidy z půdního profilu (Kalina, 1999).

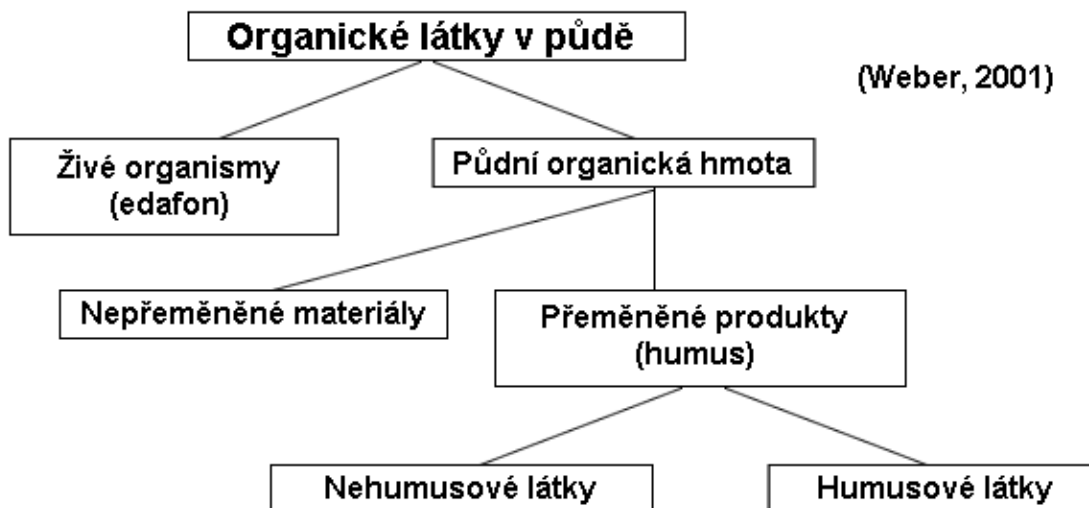
Zdrojem organických látek v půdě jsou primárně rostlinné zbytky a různé části rostlin včetně kořenů a jejich exsudátů. Neméně důležité jsou jako zdroj uhlíku autotrofní organismy. Sekundárním zdrojem jsou živočichové. Mnozí se živí rostlinnou i živočišnou biomasou a produkují exkrementy a po odumření nechávají v půdě své části.

Obsah organické složky v půdě je různý. Obecně se obsah organické hmoty snižuje s hloubkou půdy. Množství organické hmoty v půdě je ovlivňováno mnoha faktory, jako jsou například teplota a srážky, ale i převládající vegetace (Šimek, 2003).

Humus je základem přirozené úrodnosti půdy. Jedná se o soubor odumřelých organických látek rostlinného i živočišného původu v různém stupni přeměny. Půda s dostatkem humusových částic netrpí na vyplavování živin a ty jsou pak dobře přístupné rostlinám v době, kdy je právě potřebují.

Humus v půdě vzniká přeměnou organické hmoty dodané prostřednictvím organického hnojení (například zelené hnojení, zapravování posklizňových zbytků, komposty atd.). Ta část humusu, která je označována jako živný humus, je každoročně spotřebovávána mineralizačními pochody. Živný humus je zdrojem výživy pro půdní organismy a pozitivně působí na zásobování rostlin živinami. Přeměnou půdními organismy a mineralizací, uvolňuje živný humus dusík, síru, fosfor, a také stopové prvky ve formě, pro rostliny přijatelné.

Trvalý humus se pojí s půdními minerály a je velice odolný vůči biologickému rozkladu. Obsahuje velkou zásobu pomalu uvolňujících se živin pro rostliny. U lehkých půd zlepšuje strukturu půdy a zvyšuje její schopnost zadržovat vodu a živiny. Těžké půdy s trvalým humusem se pak stávají poréznějšími, mají stabilnější strukturu a zlepšuje se jejich provzdušnění. Zvyšuje biologickou aktivitu a je prostorem pro život pro druhově bohatý svět mikroorganismů (Kalina, 1999).



Obrázek 1: Dělení organických látek v půdě (upraveno dle Webera, 2001)

Organická hmota plní v půdě především tyto základní funkce (Altmann, 2013):

- Zabezpečuje přísun organických látek



- Je zdrojem uhlíku a energie pro půdní mikroorganismy, čímž pozitivně ovlivňuje biologickou činnost půdy
- Chrání trvalý humus před degradací dodáváním primární organické hmoty
- Zvyšuje stabilitu půdních agregátů
- Pozitivně působí na řadu fyzikálně-chemických vlastností půdy
- Zlepšuje hospodaření s půdní vodou
- Zmírňuje působení vodní a větrné eroze
- Příznivě ovlivňuje obsah přístupného fosforu v půdě a může působit na imobilizaci cizorodých a nežádoucích prvků

## 2.2 Mikroorganismy v půdě a jejich význam

Půda poskytuje rostlinám i živočichům prostor pro život, poskytuje jim živiny, energii a vodu a tyto pak zpětně působí na půdu a formují její biologické, chemické a fyzikální vlastnosti. Pro každý půdní typ je charakteristické zastoupení a specifická aktivita mikroorganismů, rostlin a živočichů. Důležitou a nezastupitelnou roli hrají mikroorganismy. Jejich značná biomasa, aktivní povrch, vysoká rozmnožovací schopnost a fyziologická aktivita ovlivňují zásadně celý půdní systém. Biologická aktivita půdy je výsledkem činnosti půdních mikroorganismů v čase (Altmann, 2013).

Počet organismů v půdě je ovlivněn řadou faktorů včetně klimatu, vegetačního krytu, fyzikálních a chemických vlastností půd. Obdělávaná pole jsou obecně na biomasu organismů chudší než nenarušené přírodní půdy. Aktivita jednotlivých skupin půdních organismů se dá zjišťovat například z jejich počtu v půdě, hmotnosti na objem nebo plochu půdy či jejich metabolické aktivity.

### 2.2.1 Bakterie

Bakterie jsou jedny z nejjednodušších a nejmenších forem života. Složení populací bakterií v půdě může sloužit jako indikátor půdně fyzikálních a chemických charakteristik. Díky své činnosti v půdě, schopnosti rychle se reprodukovat a přizpůsobovat se prostředí jsou velmi cennou součástí půdního života. Většina půdních bakterií je heterotrofních, které energii a uhlík získávají z organické hmoty. Tím se řadí spolu s houbami a aktinomycetami mezi hlavní rozkladače organické hmoty a bývají nejpočetnější skupinou mikroorganismů v půdě. Dále jsou významné chemolitotrofní bakterie, kam patří bakterie nitrifikační a bakterie oxidující síru a sir-

né sloučeniny. Další zástupci bakterií jsou takzvaní fixátoři dusíku, kteří dokážou vázat vzdušný dusík do sloučenin, které mohou přijímat rostliny.

### **2.2.2 Aktinomycety**

Aktinomycety jsou bakteriím podobné průměrem hyf a skladbou buněčné stěny. Podílejí se na rozkladných procesech některých organických látek, pro jiné organismy mnohdy nerozložitelných. Rozklad probíhá nejlépe při vyšším pH. Produkují také řadu aromatických látek, které určují „vůni“ půdy, některé mohou být ale i patogenní pro rostliny. Aktinomycety tvoří v půdě cca desetinu množství bakterií.

### **2.2.3 Sinice a řasy**

Sinice a řasy jsou převážně autotrofní organismy, které se vyskytují hlavně ve svrchních vrstvách půdy, kvůli závislosti na světle. U mnohých druhů byla prokázána mixotrofie, a tak mohou přežívat i v afotických podmínkách. Rozvoj řas je podporován vyšší vlhkostí a dostatkem minerálních živin. Řasy jako primární producenti obohacují povrchovou vrstvu půdy o organickou hmotu vlastních částí, kterou mohou další mikroorganismy rozkládat. Jako producenti kyslíku půdu provzdušňují, což je důležité hlavně v silně zamokřených půdách. Některé sinice umí, stejně jako bakterie, fixovat vzdušný dusík. Produkci extracelulárních polysacharidů mohou navíc přispívat k tvorbě půdních agregátů.

### **2.2.4 Houby**

Houby jsou heterotrofní organismy, které využívají organické látky jako zdroj energie a uhlíku. K primárním rozkladačům organické hmoty patří především v lesních půdách, kde je nízké pH. Dokážou rozkládat jak celulózu, lignin, tak i snáze rozložitelné bílkoviny cukry a další látky. Při rozkladu organické hmoty v půdě pracují efektivněji než bakterie a to tak, že do svých těl transformují cca 50 % rozložených látek, kdežto bakterie jen zhruba 20 %.

### **2.2.5 Prvoci**

Prvoci jsou podříše organismů, které jsou tvořeny pouze jedinou buňkou, která vykonává všechny základní životní funkce. Vyskytují se hlavně ve vlhčích svrchních částech půdy. Prvoci jsou významnými „urychlovači“ rozkladných procesů, vzhledem ke svým predačním aktivitám (Šarapatka, 2014).

## 2.3 Ukazatele mikrobiální aktivity v půdě

Vlhkost, teplota a pH jsou přírodní faktory, které nejvíce ovlivňují množství mikroorganismů, jejich rozmanitost a aktivitu (Wardle, 1998). Mikrobiální činnost půdy můžeme posuzovat podle intenzity tvorby oxidu uhličitého, který je produktem činnosti organismů. O biologické činnosti nám mohou mnoho říct i další parametry, například studium rozkladu celulózy, výzkum půdních enzymů a podobně (Šarapatka 2014).

V následujícím textu jsou představeny některé parametry používané ke stanovení mikrobiální aktivity dle Alefa et al. (1995).

### 2.3.1 Respiration

Měření půdní respirace patří mezi jednu z nejstarších, přesto nejčastěji používaných technik k měření mikrobiální aktivity (Nielsen et al., 2002). Respiration půdy představuje souhrn procesů přeměn organické hmoty za přítomnosti kyslíku, kdy se uvolňuje chemická energie váže v organické látce za uvolnění CO<sub>2</sub>. Jedná se o důležitý ukazatel kvality půdy, který je specifický pro každý půdní typ. Aktivita půdních mikroorganismů závisí také na způsobu hospodaření a na mnoha dalších faktorech, jako je obsah vody v půdě, teplota, pH, zhutnění půdy a zásoba živin. Měření respirační aktivity mikroorganismů odráží jejich fyziologický stav, energetické nároky a působení stresových a inhibičních vlivů (Eisentraeger et al., 2000).

Sledujeme respiraci bazální, která ukazuje aktuální aktivitu půdních mikroorganismů a indikuje fyziologický stav a působení vnějších faktorů na půdní mikroorganismy. Substrátem indukovaná respiration zase hodnotí respirační aktivitu po přidání snadno využitelného substrátu (např. roztok glukózy). Výsledná hodnota indikuje potenciál aktivity mikrobů v momentu, kdy nejsou limitováni dostupností živin a energie (Nielsen et al., 2002).

### 2.3.2 Půdní enzymy

Enzymy jsou přímými mediátory biologického katabolismu organických a anorganických složek půdy. Enzymatická aktivita půdy často úzce souvisí s obsahem organické složky v půdě, s fyzikálními vlastnostmi a také s obsahem mikrobiální bi-

omasy a s její aktivitou. Jelikož se enzymatická aktivita v půdě mění velice rychle v porovnání s ostatními parametry, poskytuje nám včasné informace o půdním zdraví. Měření enzymatické reakce se nejčastěji stanovuje po přidání umělého, rozpustného substrátu, v koncentraci dostatečné pro udržování kinetiky nultého řádu, čímž se dosáhne reakční rychlosti úměrné koncentraci daného enzymu. Enzymatická aktivita se dále obvykle vyhodnocuje barvením, po kterém následuje analýza ve spektrofotometru (Nielsen et al., 2002).

**Tabulka 1: Základní půdní enzymy a jejich funkce (upraveno dle Nielsen et al., 2002)**

Půdní enzym	Enzymatická reakce
Dehydrogenáza	Systém transportu elektronů
Celulóza	Hydrolýza celulózy za vzniku glukózy
Ureáza	Hydrolýza močoviny za vzniku CO <sub>2</sub> a NH <sub>3</sub>
Amidáza	Mineralizace dusíkatých látek
Fosfatáza	Uvolnění fosfatázové skupiny

### 2.3.3 Rozklad organické hmoty

Jakékoliv narušení půdní mikrobiální aktivity bude mít za následek změnu v rychlosti rozkladu organické hmoty, a tak dojde k ovlivnění dostupnosti a koloběhu základních živin, jako je uhlík, dusík, síra a fosfor. K hodnocení rychlosti dekompozice se nejčastěji používají tzv. „litter bags“, čili nylonové sáčky s definovanou velikostí ok, které se naplní organickým materiálem, jehož rozklad sledujeme. Jsou plně propustné pro vzduch, vodu a živiny a také jsou plně přístupné pro půdní mikroorganismy. Hodnotí se rozdíl hmotnosti rozkládaného organického materiálu na začátku a po ukončení pokusu. Dále lze jako indikátory rychlosti rozkladu používat například bavlněné proužky, proužky filtračního papíru (obojí celulóza) nebo dřevěné tyčinky (Nielsen et al., 2002).

### 2.3.4 Mineralizace dusíku

Mineralizace dusíku je složena ze dvou kroků: amonifikace a nitrifikace. Amonifikace je proces, kdy se organicky vázaný dusík transformuje na NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ionty. Schopnost transformovat organický dusík do NH<sub>4</sub><sup>+</sup> má poměrně velké množství mikroorganismů v porovnání s nitrifikací, do které je zapojeno mnohem menší množství bakterií.

Celková mineralizace je závislá na mnoha faktorech jako je pH, vlhkost půdy, obsah kyslíku apod. Zejména nitrifikace je citlivě řízený, energeticky náročný proces, který se zastavuje jako jeden z prvních, je-li půda nějakým způsobem narušená.

Mineralizace dusíku se vyjadřuje jako vyprodukované množství  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  v půdě na konci inkubace jako veličina „mineralizační potenciál“. Mineralizační potenciál je rozdíl hodnot  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NH}_4^+$  naměřených na začátku a pak po 28-30 dnech inkubace. Ionty lze stanovit pomocí iontově selektivní elektrody, nebo spektrofotometricky (Maier et al., 2009).

### **2.3.5 Biomasa**

Množství mikrobiální biomasy neprokáže aktivitu, nýbrž samotnou přítomnost mikroorganismů v půdě. Stanovení množství mikrobiální biomasy je považováno za důležitý ukazatel půdního zdraví. Biomasa je definována jako část organické hmoty v půdě, která je tvořena živými mikroorganismy menšími než  $5-10 \mu\text{m}^3$ . Nejčastěji bývá vyjádřena v miligramech uhlíku obsaženém v jednom kilogramu půdy. Hraje podstatnou roli při tvorbě struktury půdy a při její stabilitě. Také je významným ekologickým indikačním znakem. Ke stanovení půdní biomasy se využívá celá řada metod založených na barvení či počítání mikrobiálních buněk, na stanovení enzymatické aktivity mikroorganismů ale i na extrakci produktů mikrobiálního metabolismu (Horáková et al., 2003).

## **2.4 Biouhel**

### **2.4.1 Co je to biouhel a jak vzniká**

Termínem „biouhel“, je označována zuhelnatělá organická látka, která se aplikuje do půdy se záměrem zlepšit její vlastnosti. Tím se odlišuje biouhel od dřevěného uhlí, které je využíváno především jako palivo k vyhřívání, jako filtr, reduktant při výrobě železa či jako barvivo v průmyslu nebo uměleckém odvětví. Biouhel nemá nic společného s klasickým „uhlím“ tak, jak ho známe. To vzniká úplně jiným způsobem a má také odlišné fyzikální a chemické vlastnosti.

Biouhel je produkt bohatý na uhlík, získávaný při zahřívání biomasy na teploty nižší než  $700 \text{ }^\circ\text{C}$ , v uzavřeném prostoru za nízkého, nebo žádného přístupu kyslíku.

V podstatě jde o tepelný rozklad organického materiálu za limitovaného přístupu vzduchu. Biouhel vytváříme s úmyslem aplikovat jej do půdy, čímž zlepšujeme její vlastnosti, zvyšujeme pH u kyselých půd, dodáváme potřebný uhlík nebo zlepšujeme zadržování potřebných živin pomocí kationtové adsorpce. Také bylo prokázáno, že biouhel působí na půdní biologické společenství, na jeho složení a četnost. Takové změny mohou mít vliv na koloběh prvků a půdní strukturu, čímž nepřímo působí na růst rostlin. Na rozdíl od na uhlík bohatého biouhlu, spalováním biomasy plamenem vzniká popel, jehož hlavní složkou jsou minerály jako vápník (Ca), hořčík (Mg) a anorganické uhličitany. Složitější otázkou je, co je biouhel z hlediska chemického, a to především kvůli velké rozmanitosti použité biomasy nebo kvůli odlišným podmínkám uhelnatění (Lehmann et al., 2009).

#### **2.4.2 Účinky na půdu a půdní mikroorganismy**

První účinky biouhlu zapsal Trimble (1851). Na farmách v okolí svého bydliště zaznamenal, že se díky prachu z dřevěného uhlí vegetaci lépe daří a vegetační doba se zkracuje. Další výzkum efektů biouhlu na rostoucích sazenicích (Retan, 1915) a zkoumání půdního chemismu (Tryon, 1948) přinesl detailní vědecké informace. V Japonsku se výzkum zintenzivnil hlavně v 80. letech 20. století.

Terra preta, tedy „černá zem“ (dále jen ČZ), je druh velice tmavé a úrodné půdy se značným obsahem biouhlu, vyskytující se v Amazonii. Při studiu této půdy přineslo hned několik výzkumů stejný závěr, a to, že tento typ země obsahuje větší mikrobiální biomasu a početnost kultivovatelných bakterií a hub, ale vykazuje významně nižší respirační aktivitu a tím pádem má i vyšší metabolickou účinnost (Liang 2008). Liang (2008) například měřil CO<sub>2</sub>, uvolněný během 532 dní dlouhé periody na čtyřech ČZ různého stáří a porovnával s jejich okolním prostředím, které bylo chudší na obsah biouhlu. Bez ohledu na stáří místa, mikrobiální aktivita čtyř vzorků ČZ byla obdobná, ale až o 61 – 80 % nižší, než u jakékoliv z přilehlých půd. Nicméně obsah mikrobiální biomasy byl v ČZ celkově o 43 – 125 % vyšší než u přilehlých půd. Tím pádem byl metabolický kvocient (poměr C uvolněného jako CO<sub>2</sub> ku C mikrobiální biomasy) významně nižší v ČZ, což značí vyšší metabolickou účinnost mikrobiální komunity.

Při terénních studiích v Auroře, v New Yorku, bylo na půdu aplikováno různé množství biouhlu původem z kukuřice (0,1 t/ha; 3 t/ha; 12 t/ha; 30 t/ha). Na konci první sklizně byly odebrány půdní vzorky a následně po dobu 8 týdnů probíhalo

měření půdní respirace. Totální respirace klesala spolu s přibývajícím množstvím aplikovaného biouhlu v půdním vzorku – stejně tak, jak pozoroval Liang v předchozím pokusu s ČZ.

Pravděpodobně díky pórovitosti, schopnosti adsorbovat rozpustnou organickou hmotu, plyny a anorganické živiny je biouhel vhodným místem pro život mikroorganismů, jejich růst a množení, a to zejména pro bakterie, aktinomycety a arbuskulární mykorrhizní houby. Někteří autoři uvádějí, že právě póry biouhlu mohou sloužit jako útočiště pro mikroorganismy, které se zde mohou ukrýt před svými přirozenými predátory, nebo že se zde mohou mikroorganismy, které nejsou v půdním prostředí tolik konkurenceschopné, stát odolnějšími. Porozita hraje roli i v zadržování vody. Menší póry přitahují a zadržují kapilární vodu mnohem déle než póry větší. Voda je univerzální rozpouštědlo a její přítomnost v pórech značně zvyšuje obyvatelnost biouhlu mikroorganismy. Spolu s vodou se do pórů dostanou taky různé rozpuštěné plyny, především  $O_2$  a  $CO_2$ . Rozmanitost mikroorganismů se řídí právě i obsahem kyslíku v pórech. Tam, kde je ho dostatek, převažují aerobní organismy, pokud koncentrace kyslíku poklesne, začínají fakultativní aerobové využívat anaerobního dýchání (Lehmann et al., 2009).

Mikrobiální parametry a vliv biouhlu na půdní biotu zkoumal Plošek et al. (2013). U 3 vzorků (biouhel, kompost, půda), byl proveden mikrobiální rozbor, kdy byly stanovovány tyto skupiny mikroorganismů: celkový počet mikroorganismů kultivovaných při 22 °C (CPM 22), celkový počet mikroorganismů kultivovaných při 36 °C (CPM 36), sporulující mikroorganismy, plísně a kvasinky a koliformní bakterie. Pro stanovení byla použita plotnová metoda se zalitím inokula živnou půdou. Po ukončení kultivace bylo odečteno množství narostlých kolonií a přepočteno na  $KTJ.g^{-1}$  (kolonie tvořící jednotku na gram použitého materiálu). Výsledky ukázaly, že nejméně byl osídlen samotný biouhel, oproti půdě, a především oproti kompostu. Jako nejideálnější řešení z výsledků tohoto rozboru se vzhledem ke zlepšení půdních vlastností jeví zkombinovat aplikaci biouhlu (fyzikálně-chemické vlastnosti) a kompostu (biologické vlastnosti).

Mnoho autorů potvrdilo, že biouhel dokáže zlepšit fyzikální a chemické vlastnosti půd. Na druhou stranu, pyrolýza, tedy výroba biouhlu, je komplexní proces, při kterém může vznikat řada toxických sloučenin. V práci Dvořáčkové et al. (2015) se zabývají hypotézou, že samotný biouhel může mít až toxický vliv na půdní biologickou složku a tím negativně ovlivňovat půdní úrodnost. Ke zmírnění těchto nežádoucích účinků mimo jiné míchají biouhel s kompostem. Jako jeden z ukazatelů

půdní úrodnosti byla zvolena produkce nadzemní a podzemní biomasy. Nejvíce nadzemní biomasy se objevovalo ve variantě půda + kompost, zatímco nejméně ve variantě půda + biouhel. Stejných výsledků bylo dosaženo i v případě biomasy podzemní. V pokusu se také sledovalo vyplavování minerálního dusíku z půdy. Nejvíce unikajícího dusíku bylo zaznamenáno v kontrolní variantě půdy, ve které nebyly žádné přídatky. V ostatních variantách se dusík vyplavoval méně, nicméně nebyly mezi variantami pozorovány žádné statisticky významné rozdíly. Biouhel je materiál, který má velký aktivní povrch v porovnání s ostatními hnojivy, jako je kompost. Autoři uvádějí, že čím větší aktivní povrch, tím více půda zadržuje živiny a dochází tak k menšímu úniku minerálního dusíku z půdy. Zároveň ale biouhel obsahuje látky, které mění biotické procesy v půdě, a tak není půda schopna vázat dusík v příslušném množství. Zmírnit negativní účinky biouhlu lze právě smícháním s kompostem.

### **2.4.3 Biouhel jako sorbent pesticidů**

V návaznosti na používání pesticidů v zemědělství představují mobilní účinné látky nebo produkty jejich metabolizace mimo jiné reálné riziko znečištění podzemních vod. Bylo prokázáno, že půda s přídatkem biouhlu má vysokou sorpční schopnost a mohla by tak působit jako „supersorbent“ i na některé environmentální polutan-ty. Aplikace biouhlu by tedy mohla být potenciální strategií ke snížení vyplavování mobilních pesticidů a jejich metabolitů. Dechene et al. (2014) provedli studii, kdy sledovali sorpci vybraného polárního herbicidu a třech produktů metabolizace herbicidů. Nicméně bylo prokázáno, že přidání biouhlu významně neovlivňovalo sorpci či desorpci třech ze čtyř testovaných chemických sloučenin a metoda přidávání biouhlu se tím prokázala jako málo účinná.

## **2.5 Kompost**

Kompost je nejstarším a nejpřirozenějším prostředkem ke zlepšování vlastností půdy, který známe. Vzniká z organických odpadů a je významným příspěvkem k udržení zdravé půdy a k výživě rostlin. Kompostování slouží také jako praktické odstraňování odpadů, a proto významně přispívá k ochraně životního prostředí. Oproti našim půdám je kompost velmi bohatý na živiny. Vysoký obsah živin lze vysvětlit tak, že během procesu dochází k odbourání velké části organických látek na oxid uhličitý nebo jsou tyto látky mineralizovány, a tím je zbývající hmota obohacena minerálními látkami (Kalina, 1999).



### **2.5.1 Vliv kompostu na fyzikální vlastnosti půdy**

Aplikace kompostu do půdy je významným prostředkem k udržení vhodné půdní struktury. Dodávání organické složky do půdy napomáhá snižování následků intenzivního zemědělství. Mnozí autoři hovoří o zlepšování půdních vlastností jako je struktura (agregace), kationtová výměnná kapacita, retenční vodní kapacita a permeabilita. Vsak vody do půdy a hydraulická vodivost je v půdě oživené kompostem velice variabilní, závisí hlavně na době, rychlosti a způsobu vpravování kompostu do půdy. Zlepšení vsakování se děje díky lepší agregaci a makroporozitě. Nižší tvorba půdních škraloupů po dešti, snížení půdní eroze na strmých svazích nebo lepší zadržování vody v písčitéch půdách jsou jen některé z pozitivních efektů plynoucích z používání kompostu jako organického hnojiva (Diaz et al., 2011).

### **2.5.2 Vliv kompostu na chemické vlastnosti půdy**

Evaluační agronomické hodnoty kompostu je mnohem složitější než u minerálních hnojiv. Je to hlavně kvůli složitosti určení specifických parametrů kvality, které by definovaly výhody spojené s aplikací organického materiálu, jehož chemické složení je velice variabilní. Nejjednodušší metodou hodnocení je tedy výpočet přínosu organických látek a živin, zejména makroživin, zahrnujících fosfor a dusík. Kvalita a množství přidané organické složky má klíčový vliv na rychlost mineralizace organické hmoty v půdě, a tím velké účinky na půdní úrodnost. Pomalé uvolňování živin z kompostu má za následek zvýšenou úrodnost i v několika dalších letech.

Koncentrace dusíku v kompostu je asi nejzajímavější jak z environmentálního, tak z agronomického hlediska, a tak se používá pro výpočet vhodného množství kompostu k aplikaci. Kompost obsahuje dvě formy dusíku: anorganický a organický. Více než 85 - 90 % celkového dusíku představuje dusík organický, zbývajících 10 - 15 % tvoří dusík anorganický, který je okamžitě k dispozici rostlinám. Hodnocení dostupnosti dusíku z organické frakce je složitější, v závislosti na mnoha různých faktorech. Nejdůležitějšími jsou množství stabilních a nestabilních organických látek v kompostu a biologická úrodnost půdy.

Fosfor je další nezbytnou rostlinnou živinou. I přesto, že je anorganická forma fosforu považována za hlavní zdroj rostlinám dostupného fosforu, mineralizace nestabilní formy fosforu hraje důležitou roli jak v méně, tak ve více úrodných půdách

a také v mikrobiální biomase, která zajišťuje koloběh fosforu. Kompost obsahuje (v sušině) průměrně 0,6 – 2 % fosforu.

Kompost se obvykle vyznačuje malým obsahem draslíku a jeho přínos pro výživu rostlin je zanedbatelný (Diaz et al., 2011).

### **2.5.3 Vliv kompostu na biologické vlastnosti půdy**

Díky svým specifickým fyzikálně–chemickým vlastnostem představuje kompost ideální substrát pro růst mnoha různých mikrobiálních skupin. V kompostu se mohou vyskytovat různé patogeny, jako jsou bakterie, viry, houby a různí parazité, celkově ale tvoří zanedbatelný podíl z celkové mikrobiální populace. Mikrobiologie kompostování je nesmírně složitá. Kompostovacího procesu se účastní bakterie, aktinomycety i houby, z hlediska biologické úrodnosti půdy je ale mnohem důležitější to, že mikrobiální komunity v kompostu lze zařadit do fyziologických skupin organismů celulolytických, pektinolytických, proteinolytických, nitrifikátorů atd., a ti jako celek přispívají ke koloběhu živin v půdě. Mimo to, saprofytické organismy v kompostu představují zásobu organického uhlíku a dusíku, který může být pro půdní mikrobiální biomasu snadno mineralizován.

Pozitivní působení kompostu na půdu, půdní život i život rostlin je mnohostranné a vytváří komplexní efekt (Diaz et al., 2011).

Správně vyrobený kompost má mít tyto základní funkce (Šrefl, 2012):

- Zlepšuje zpracovatelnost půdy
- Zvyšuje sorpční schopnost lehčích půd
- Nakypřuje utužené a těžké půdy
- Může redukovat choroby rostlin i působení škůdců
- Snižuje kyselost půdy, stabilizuje hodnotu pH
- Zvyšuje vodní jímavost a vodní kapacitu
- Snižuje vodní erozi na svazích
- Snižuje spotřebu závlivky, zabraňuje vysychání
- Dlouhodobě zabezpečuje rostlinám důležité živiny, zvyšuje vzcházejivost osiv i sadby
- Regeneruje narušené půdy
- Podporuje půdní život

## 2.5.4 Průmyslové komposty

Průmyslové komposty musí v České republice vyhovovat normě ČSN 46 5735. Tato norma platí pro výrobu, zkoušení, dodávání a užívání kompostů vyráběných průmyslovým způsobem a používaných jako organické hnojivo. Musí splňovat následující parametry (Kalina, 1999):

Tabulka 2: Sledované parametry v průmyslových kompostech dle ČSN 46 5735

Znak jakosti	Hodnota
Obsah spalitelných látek ve vysušeném vzorku	min 25 %
Obsah celkového dusíku (jako N) přepočtený na vysušený vzorek	min 0,6 %
Vlhkost	40 - 65 %
Poměr C : N	max 30 : 1
Hodnota pH	6 - 8,5
Obsah nerozložitelných příměsí	max 2 %
Homogenita celku v relativních procentech	± 30

Důležité je také dodržování hodnot maximálního přípustného množství sledovaných látek (těžkých kovů) v kompostu a v surovinách pro přípravu kompostu.

## 2.6 Pesticidy

### 2.6.1 Co jsou to pesticidy a jaké druhy existují

Pesticidy jsou chemické přípravky, které se používají k hubení škůdců a nežádoucích rostlin (plevelů). Mohou také sloužit k ochraně skladových zásob, domů, bytů, zvířat i člověka. Nejvíce se ale používají v zemědělství, kde slouží k snížení či zamezení ztrát na zemědělsky pěstovaných kulturních plodinách. Některé jsou navrženy speciálně tak, aby působily pouze na cílové organismy, většina má však obecný toxický účinek, a tak svým působením mohou narušit rovnováhu v půdě.

V půdách přírodních i řízených ekosystémů se objevuje široké spektrum znečišťujících látek v koncentracích, které mohou mít vliv na její přirozenou funkci. Tyto chemické látky, mezi které patří právě pesticidy, ale také těžké kovy, kyselé depozice a řada průmyslových chemikálií, se do půdy mohou dostat mnoha různými způsoby. Ekologické dopady těchto látek se na půdě mohou projevat na úrovni jednotlivých organismů, celých populací, na interakcích mezi rostlinami, rostlinami a faunou, či rostlinami a mikrobiálním společenstvem. Mohou mít vliv na celý eko-

system, na rozklad organické hmoty a tím na koloběh prvků a mnoho dalšího (Edwards, 2002).

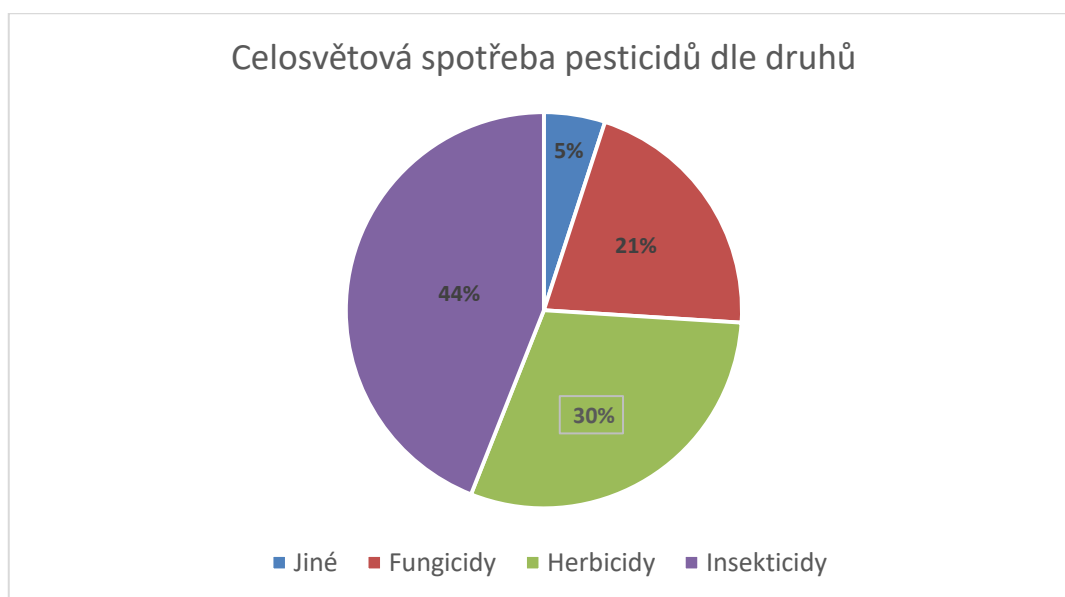
Termín „pesticidy“ zahrnuje širokou škálu chemických látek. Mezi nejznámější typy patří:

Tabulka 3: Typy pesticidů a cílové organismy

Typ pesticidu	Určení
Insekticidy	Hmyz
Herbicidy	Rostliny (plevele)
Fungicidy	Houbové choroby
Rodenticidy	Hlodavci
Molluskocidy	Měkkýši
Nematocidy	Hlístice
Akaricidy	Roztoči

Mezi pesticidy se také řadí regulátory růstu rostlin a další.

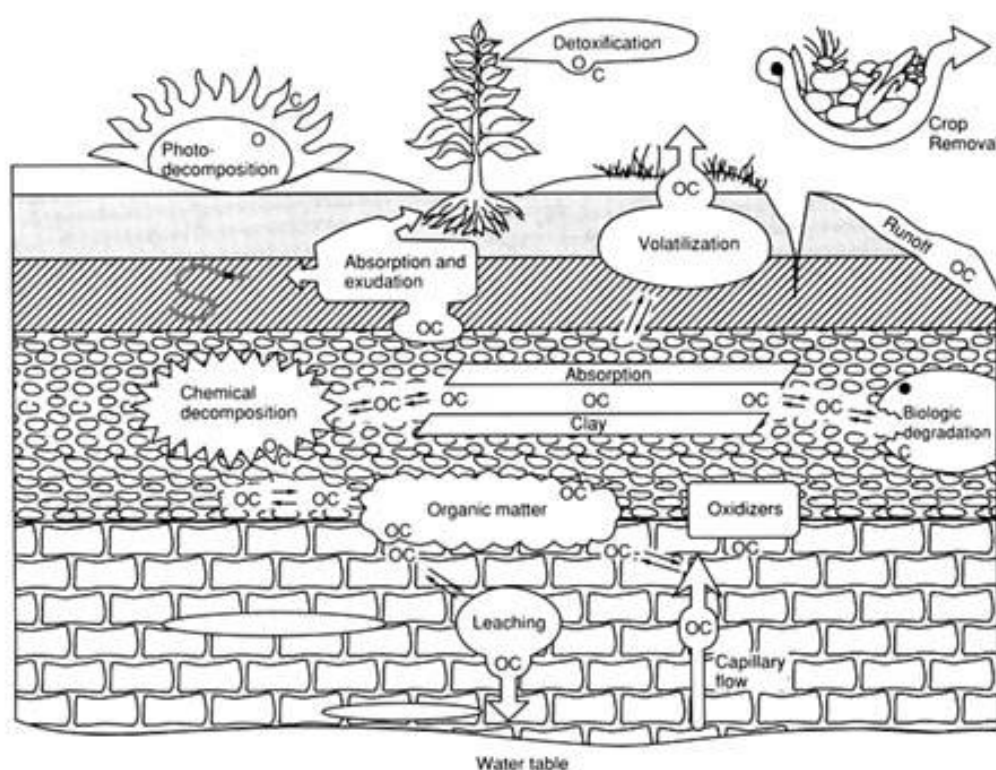
Ideální pesticid by měl být letální pro cílové škůdce a neměl by škodit necílovým organismům, včetně člověka. Působení pesticidů mimo cílové organismy je bohužel stále dost diskutované téma, a tak se vynořuje spor o užívání a zneužívání pesticidů (Aktar et al., 2009). Pesticidy se mohou v půdě téměř okamžitě rozkládat a působit zde pouze po dobu několika hodin, jako některé fumigantní (aplikované v plynné formě) nematocidy. Nicméně existují i organochlorové insekticidy (dnes již zakázané DDT), které mohou v půdě přetrvávat celá desetiletí (Edwards, 2002).



Obrázek 2: Podíl jednotlivých typů pesticidů na celosvětové spotřebě (upraveno dle Aktara, 2009)

## 2.6.2 Pesticidy v půdě

Použití pesticidů je jedním z faktorů, které přispívají ke snížení půdní biologické aktivity. Herbicidy, které pronikají do půdy, mohou mít vliv na velikost populace a aktivitu půdních mikroorganismů. Moderní herbicidy se vyznačují vysokou biologickou aktivitou a selektivitou, ale jejich nevhodné a nadměrné užívání může mít nepříznivé účinky na životní prostředí. Účinné složky pesticidů aplikovaných v kombinacích mohou mít aditivní nebo synergické účinky, které mohou vést ke krátkodobému či dlouhodobému narušení půdní rovnováhy. Organismy v půdě jsou ovlivňovány nejen účinnými látkami, ale i produkty jejich rozkladu, které mohou být mnohdy ještě toxičtější než původní sloučeniny (Bačmaga, 2015).



Obrázek 3: Chování pesticidů v půdě (Sawhney et al., 1989)

Bylo zdokumentováno mnoho metabolizovaných produktů ze široké škály pesticidů. Persistence a pohyb těchto pesticidů a jejich produktů jsou determinovány několika parametry, jako například rozpustnost ve vodě, půdní sorpční konstanta, rozdělovací koeficient n-oktanol/voda nebo poločas rozpadu v půdě. Pesticidy a produkty jejich metabolizace mohou být děleny do několika skupin: hydrofobní, persistentní a bioakumulativní pesticidy, které jsou na půdu silně vázány. Polární pesticidy jsou hlavně herbicidy, ale i karbamáty, fungicidy a některé produkty z organofosforových insekticidů. V půdě se mohou pohybovat s tokem nebo průsávkem vody, čímž mohou představovat problém v podobě kontaminace pitné vody.

Nejvíce ovlivňuje zadržování pesticidů a produktů jejich metabolizace obsah organické složky v půdě a to tak, že čím více organického materiálu půda obsahuje, tím lépe se v ní pesticidy adsorbují. Svou roli hraje také hodnota pH. Adsorpce se s klesajícím pH zvyšuje (Aktar et al., 2009).

### **2.6.2.1 Působení pesticidů na půdní mikroorganismy obecně**

Nadměrné ošetřování půdy pesticidy může způsobit, že se populace prospěšných půdních mikroorganismů začnou zmenšovat. Pedolog Dr. Elaine Ingham říká: „Pokud ztratíme bakterie i plísň, pak půda degraduje. Nadužívání chemických hnojiv a pesticidů má na půdní mikroorganismy vliv, který je podobný lidskému nadužívání antibiotik. Bezohledné používání chemikálií může fungovat několik let, ale za chvíli nebude dost prospěšných půdních organismů, které by zadržovaly živiny.“ (Savonen, 1997). Pro příklad, rostliny jsou závislé na řadě půdních organismů, přeměňujících atmosferický dusík na dusičnany, které jsou rostliny schopné využívat. Běžné herbicidy tento proces narušují. Triklópyr inhibuje půdní bakterie, které transformují amoniak na dusitany; glyfosát snižuje aktivitu a růst volně žijících, dusík fixujících půdních bakterií a 2,4-D (kyselina 2,4-dichlorfenoxycetová) snižuje fixaci dusíku bakteriemi, které žijí na kořenech bobovitých rostlin, snižuje růst a aktivitu dusík fixujících sinic a inhibuje přeměnu amoniaku na dusičnany půdními bakteriemi.

Mykorhizní houby rostou spolu s kořeny mnoha druhů rostlin a pomáhají jim s příjmem živin. I tyto houby mohou být přítomností herbicidů v půdě poškozeny. Jedna studie ukazuje, že oryzalin a trifluralin inhibují růst některých mykorhizních hub. Roundup se jako toxický pro mykorhizní houby ukázal v několika laboratorních studiích a některé škodlivé účinky byly pozorovány i v koncentracích nižších, než jakých se dosahuje při běžné aplikaci tohoto herbicidu. Rovněž bylo zjištěno, že triklópyr působí na některé druhy mykorhizních hub toxicky a oxadiazon snižuje množství houbových výtrusů (Aktar et al., 2009).

### **2.6.2.2 Účinky na nitrifikaci**

Znečištění může značně ovlivnit i nitrifikaci. Ta se skládá ze dvou po sobě jdoucích kroků, a tak je možné pozorovat jeden z následujících účinků pesticidů v půdě (Deni et al., 2004):

- a) Pesticid může negativně ovlivňovat jak nitritaci, tak nitrataci, nebo pouze první krok (nitritaci), kdy se tvoří substrát pro další fázi (nitratace). Tento případ se ve vzorku projeví jak úbytkem dusitanů, tak dusičnanů.
- b) Pesticid inhibuje pouze nitrataci, tedy druhý krok nitrifikace. Tím dochází ke kumulaci dusitanů v prostředí. Vyšší koncentrace dusitanů mohou působit na obě fáze procesu toxicky, v konečném důsledku je možné i zastavení celé nitrifikace.
- c) Dochází ke stimulaci nitrifikace. Jedním z vysvětlení je toxický účinek na určitou složku mikrobiální biomasy, která odumře, a funguje tak jako substrát umožňující růst ostatním nezasaženým organismům a stimulaci nitrifikace amoniakem dostupným z odumřelých mikroorganismů.

### **2.6.2.3 Vliv na rozklad celulózy**

Omar et al. (2001) se ve své práci zabývají účinkem pesticidů brominal a selecron na enzymatickou aktivitu v půdě. Mimo jiné zaznamenávají negativní účinek na celulózu a na množství celulólytických hub. Snižující se počet celulólytických organismů pod vlivem pesticidů ve svých studiích zjišťují i další autoři (Torstensson a Wessen, 1984; Abdel-Mallek a Moharram, 1986; Abdel-Mallek, 1987; Abdel-Kader et al., 1989). Naproti tomu, některé druhy pesticidů mohou mít stimulační účinky a zvyšovat tak aktivitu celulózy rozkládajících hub, a to i při vyšších koncentracích, což naznačuje schopnost mikroorganismů degradovat, nebo být odolnými vůči pesticidům (Camper et al., 1973; Ross et al., 1984).

### **2.6.3 Pesticidy používané v experimentu, účinné látky a jejich vliv na mikrobiální aktivitu**

V našem pokusu byly používány následující komerční značky pesticidů:

#### **2.6.3.1 Artea plus**

Artea plus je fungicid, který se aplikuje především na obilniny za účelem eliminace chorob, jako je padlí travní nebo rez plevová, ale i další. Účinnými látkami tohoto přípravku je propikonazol a cyprokonazol, které vykazují nízkou až střední mobilitu v půdě. Mechanismus účinku propikonazolu se projevuje inhibicí specifického enzymu, který je nezbytný pro integritu houbových buněk (Harman et al., 2006).

Propikonazol má podle práce Kalama et al. (2004) negativní vliv na funkčnost půdních enzymů (dehydrogenázy, fosfatázy a ureázy) a ovlivňuje také celkový počet mikroorganismů v půdě. Harman et al. (2006) ve své studii zase oproti původní hypotéze překvapivě uvádějí, že opakované používání fungicidů mělo jen velice malý vliv na půdní populace. Jako vysvětlení uvádí nízkou rozpustnost pesticidů ve vodě, a tím znesnadněné pronikání do půdy a také to, že půdní společenství je vysoce konkurenční a pružné a je schopné se po aplikaci fungicidů velice rychle vrátit do původního stavu.

### **2.6.3.2 *Cougar forte***

Cougar forte je herbicid, který se aplikuje za účelem hubení polních plevelů jako je chundelka metlice, svízel přítula, kokoška pastuší tobolka a další dvouděložné rostliny. Účinné látky tohoto přípravku jsou diflufenican a flufenacet. Jeho bezpečnostní list uvádí, že není toxický pro půdní organismy.

Diflufenican je látka, která se v půdě poměrně rychle rozkládá, poločas rozpadu se pohybuje mezi 15 - 30 týdny (Bending et al., 2006). Je absorbován klíčovými semennáčky plevelů. Účinkuje tak, že vytvoří tenkou vrstvu na povrchu půdy, kterou musí plevely při klíčení prorazit, a tím chemikálii absorbují (Tejada, 2009).

### **2.6.3.3 *Husar***

Husar je herbicid. Účinné látky jsou jodosulfuron-methyl-Na a mefenpyr-diethyl. Jedná se o selektivní herbicid k hubení chundelky metlice, jílků, ovsa hluchého a dalších dvouděložných plevelů v ozimé a jarní pšenici. Pro půdní organismy není toxický, dle informací v bezpečnostním listu.

Jodosulfuron-methyl-Na je látka vysoce mobilní v životním prostředí. Může tak snadno pronikat do povrchových a podzemních vod. Poločas rozpadu se v tomto případě pohybuje v rozpětí 38 – 84 dní (Bačmaga, 2015).

Bačmaga dále uvádí, že při pokusu, kdy byla půda kontaminována směsí diflufenican + jodosulfuron-methyl-Na, což jsou účinné látky herbicidů Cougar a Husar, v množství doporučeném výrobcem, vzrostly v půdě počty celkových oligotrofních bakterií a sporulujících oligotrofních bakterií, organotrofních bakterií a aktinomycet, avšak snížily se počty zástupců rodu *Azotobacter* a hub. To znamená, že tyto mikroorganismy zřejmě mohou herbicidy využívat jako zdroj živin a energie. Her-



bicid dávkovaný v doporučeném množství také stimuloval funkci katalázy, ureázy a kyselý fosfatázy, a však tlumil funkci dehydrogenázy. Předávkování půdy herbicidem vedlo k úplnému zastavení činnosti půdních enzymů.

#### **2.6.3.4 Roundup klasik**

Roundup je totální herbicid. Účinnou látkou je glyfosát-IPA a jeho použití je velice široké. Roundup se aplikuje na listy, ovšem značné množství se může dostat i do půdy. Dle bezpečnostního listu by neměl být toxický pro půdní organismy a neměl by mít žádný vliv na transformaci dusíku v půdě. Tím, že je rozpustný ve vodě, nedochází k bioakumulaci v potravním řetězci.

Neumann et al. (2006) říká, že glyfosát aplikovaný na půdu je příznivým substrátem pro mikroorganismy, díky jeho nízkému poměru C : N (3 : 1). Glyfosát také obsahuje fosfor, který může urychlovat jeho degradaci, jelikož fosfor je jedna ze základních živin pro mikroorganismy. Glyfosát nepodporuje růst mikroorganismů, namísto toho je původními půdními mikroorganismy kometabolizován. Lane et al. (2012) také dokázal, že aplikace glyfosátu působí jako stimul pro mikrobiální aktivitu.

Ve studii Araúja et al. (2003) zvyšovaly dávky glyfosátu ( $2,16 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) počty aktinomycet a aktivitu hub. Může to být způsobeno tím, že houby jsou hlavními degraďátory glyfosátu. Ratcliff et al. (2006) nepozorovali žádné změny v početnosti mikroorganismů po ošetření glyfosátem v dávce  $50 \text{ mg.kg}^{-1}$ , ovšem množství mikrobů se zvýšilo v odpovědi na stonásobné zvýšení dávky herbicidu.

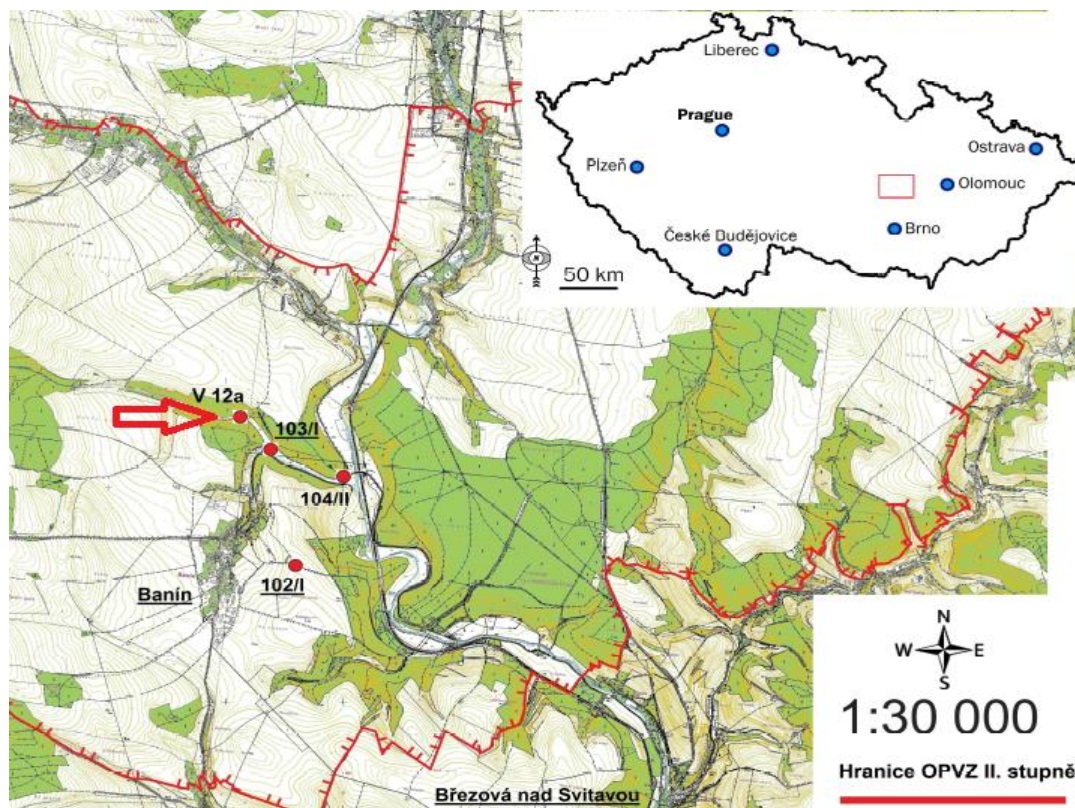
Tejada (2009) při svých pokusech pozoroval, že pokud se aplikoval glyfosát v kombinaci s diflufenicanem, byla mikrobiologická a enzymatická aktivita půdy nižší, než když docházelo k aplikaci každé účinné látky zvlášť. Tento výsledek jen dokazuje, že kombinování těchto chemických látek má více toxický účinek na půdní organismy.

### 3 MATERIÁL A METODY

Pro stanovení půdní mikrobiální aktivity neexistuje jednotná metodika. Vzhledem k projevům mikrobiálního metabolismu, výpovědní hodnotě různých testů a laboratorním možnostem jsme zvolili sadu testů a měření, které budou postupně představeny v následujících podkapitolách.

#### 3.1 Popis lokality

Veškerá odebraná půda pochází z pozemku v obci Banín, severozápadně od města Březová nad Svitavou (obr. 4). Zájmová oblast leží v Pardubickém kraji, v okrese Svitavy. Oblast spadá do zranitelných oblastí, na kterou se vztahuje Nitrátová směrnice dle NV 262/2012 Sb. Tato lokalita leží v ochranném pásmu vodního zdroje (OPVZ) II. stupně Březová nad Svitavou, a je jímacím územím a hlavním zdrojem pitné vody pro brněnskou oblast a nejbližší okolí. Co se týče podnebí, lokalita se řadí do klimatického regionu MT2: mírně teplý, mírně vlhký, průměrná roční teplota 7 - 8 °C se srážkovým úhrnem 550 - 700 mm rok<sup>-1</sup>. Z pedologického hlediska jsou v zájmovém území nejvíce zastoupeny hnědozemě a hnědé půdy.



Obrázek 4: Mapa zájmového území, šipkou je vyznačeno místo odběru půdních vzorků (upraveno dle Elbla, 2012)

## 3.2 Založení nádobového experimentu

Předmětem testování byly dva základní vzorky půdy. První z nich je půda kontrolní, bez aplikovaných pesticidů. Druhý vzorek je půda, na kterou byla v průběhu let aplikována směs pesticidů v doporučených množstvích dle příbalových informací výrobce.

Tabulka 4: Provedené aplikace pesticidů na testovanou půdu

Datum aplikace	Název pesticidu	Typ pesticidu
27.9.2013	Roundup	Herbucid
11.3.2014	Husar	Herbucid
5.5.2014	Artea	Fungicid
28.9.2014	Roundup	Herbucid
9.11.2014	Cougar	Herbucid
8.5.2015	Artea	Fungicid
21.9.2015	Roundup	Herbucid

Půdu jsme prosáli přes síto, rozprostřeli a nechali 7 dní prodýchat a vysušit. Dále jsme měli k dispozici kompost a kompostovaný biouhel z kompostárny v Náměšti nad Oslavou.

Připravili jsme následující varianty substrátu:

Tabulka 5: Varianty substrátu v provedeném experimentu

Pracovní název	Varianta	Popis	Množství
NO	kontrolní půda	kontrolní půda bez reziduí	4 ks
NOK	kontrolní půda s kompostem	kontrolní půda s přídávkem 52g kompostu	4 ks
NOKB	kontrolní půda s kompostovaným biouhlem	kontrolní půda s přídávkem 52g kompostovaného biouhlu	4 ks
NOX	půda s pesticidy	půda po aplikaci směsi pesticidů	4 ks
NOXK	půda s pesticidy a kompostem	půda po aplikaci směsi pesticidů s přídávkem 52g kompostu	4 ks
NOXKB	půda s pesticidy a kompostovaným biouhlem	půda po aplikaci směsi pesticidů s přídávkem 52g kompostovaného biouhlu	4 ks

Aplikovaná dávka 52 g kompostu či kompostovaného biouhlu je dávka vypočítaná pro plochu pokusných nádob, kdy jsme testovanou půdu smíchali s množstvím aditiva, které odpovídalo dvojnásobku doporučeného dávkování 30 tun hnojiva

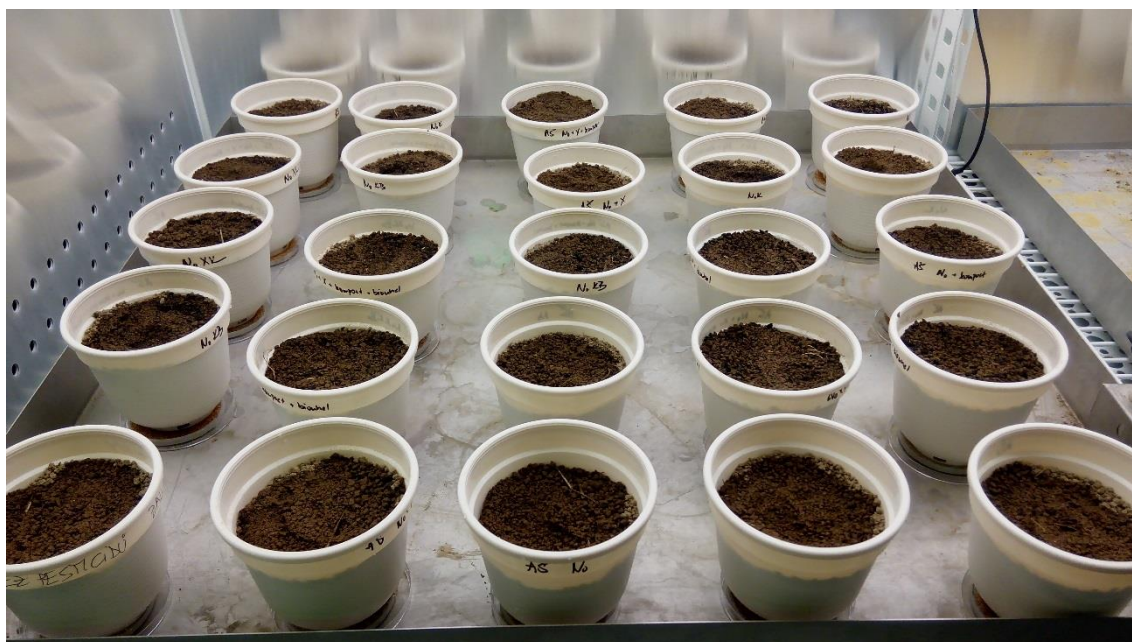
na hektar, tedy 60 t/ha. Testovaná půda, případně půda s příměsí příslušného organického materiálu byla nejdříve promíchána a poté rovnoměrně (po 500 g) rozdělena do jednotlivých plastových pokusných nádob (viz obr. 5).

### 3.2.1 Charakteristika pokusných rostlin

Salát setý (*Lactuca sativa*) je jednoletá rostlina s krátkou vegetační dobou (obvykle 80 – 100 dnů). Tvoří přízemní růžici listů, uzavírající se v hlávku. V době kvetení vyrůstá ze středu hlávky hustě olistěný květní stonek, nesoucí složené květní úbory, nejčastěji žluté barvy. Salát setý má několik variet, lišících se barvou listu a výškou květního stvolu (Petříková et al., 2012). Salát lze použít i jako okrasnou rostlinu, díky své široké škále barevnosti a textury listů.

### 3.2.2 Provedení nádobového experimentu

Pokus byl založen 1. 12. 2016, kdy proběhla setba semen salátu setého odrůdy „Král máje“, 3 semínka do každého květináče. Oseto bylo celkem 24 plastových květináčů o průměru 11 cm. Po vzejití rostlin byl jejich počet v květináči redukován na jediný exemplář v každém květináči. Pod každou z nádob byla umístěna Petriho miska, do které byl vložen iontoměničový disk k zachycování unikajícího minerálního dusíku (viz obr. 5 a 8).



Obrázek 5: První den založení nádobového experimentu ve fytotronu



Květináče byly umístěny do fytotronů, kde byl nastaven cyklus 12 hodin den/12 hodin noc, teplota 20 °C a vlhkost vzduchu 60 %. Květináče byly zalévány množstvím vody s ohledem na potřeby rostlin, aktuální vlhkost substrátu, a také dostatečné promývání iontoměničových disků.

Pokus byl ukončen po 3 měsících, kdy proběhla sklizeň salátu setého (obr. 6).



Obrázek 6: Pěstované rostliny těsně před jejich sklizní

### 3.3 Stanovení produkce nadzemní a podzemní biomasy

Stanovení produkce biomasy slouží jako dobrý indikátor stavu půdního prostředí. Poměr hmotností kořenů a nadzemní části (R/S) je fixován geneticky, nicméně pokud mají rostliny v půdním roztoku k dispozici živiny v podobě dostupných prvků dusíku, fosforu a draslíku, dochází u stejných druhů rostlin ke snižování uvedeného poměru. V ontogenezi jednotlivých druhů a odrůd se ale tento poměr mění, což je výsledkem vnějším prostředím modifikovaných fyziologických procesů v rostlině (Bláha et al., 2014).

Při vysokém množství hlavních živin v substrátu dochází k jejich zvýšenému příjmu. Pak musí dojít k vyrovnání optimálního poměru R/S v oblasti fotosyntetického aparátu. Bylo opakovaně potvrzeno, že nedostatek jedné z hlavních živin v půdě (nebo jejich kombinace) stimuluje nárůst kořenové části rostliny, čímž dochází k nárůstu poměru R/S (Wilson 1988; Ericsson 1995).

Po 3 měsících pěstování byla oddělena nadzemní a podzemní část salátu setého, byla odstraněna nadbytečná zemina, podzemní část byla opatrně promyta vodou. Následně byly obě části rostlin v čerstvém stavu zváženy a vloženy do laboratorní sušárny v papírových sáčcích, kde se na 60 °C vysoušely do konstantní hmotnosti. Následně byla hmotnost jednotlivých částí opět zvážena a byl stanoven hmotnostní poměr.

### 3.4 Měření kumulativní produkce CO<sub>2</sub>

Oxid uhličitý je konečným produktem mikrobiálního dýchání a dýchání rostlinných kořenů. Měření půdní respirace, tedy množství vyprodukovaného CO<sub>2</sub> dominantně půdními mikroorganismy, probíhalo metodou sorpce oxidu uhličitého na natrokalcit, a to celkem 3x po dobu 24 hodin. Do pokusných nádob byly do mimokořenové zóny zatlačeny kovové prstence o průměru 6,5 cm. V nich byly na stojáncích umístěné nádoby, „pasti“ s natrokalcitem na jímání prodýchaného oxidu uhličitého. Natrokalcit se nejprve sušil při teplotě 105 °C po dobu tří hodin a poté se v jednotlivých nádobkách vážil. Po vložení do květináčů se celý komplex uzavřel proti přístupu okolního vzduchu kovovým cylindrem vloženým do dvojitého lemu kovového prstence v půdě (obr. 7). Aby došlo ke vzduchotěsnému uzavření, byla do dvojitého lemu nalita voda. Po celkem 72 hodinách měření se pasti uzavřely, natrokalcit se opět vysušil a dle nárůstu hmotnosti se spočítalo podle vzorce H. Keith a S. C. Wong (2006) výsledné množství vyprodukovaného oxidu uhličitého.

$$\text{respirace (g.m}^{-2}\text{.den}^{-1}) = \left[ \{ (n - n_s) \times 1,69 \} : p \right] \times (24 : t) \times (12 : 44)$$

kdy:

n = nárůst hmotnosti vzorku (g)

n<sub>s</sub> = nárůst hmotnosti slepého vzorku (g)

1,69 = opravný faktor účinnosti poutání CO<sub>2</sub> natrokalcitem

p = plocha půdy, na které se respirace měří – plocha uvnitř prstence (m<sup>2</sup>)

t = skutečný čas měření respirace (h)

12 : 44 = poměr molární hmotnosti uhlíku k celé molekule CO<sub>2</sub>



Obrázek 7: Otevřená natrokalcitová past umístěná ve stojánku v respiračním límci

### 3.5 Substrátem indukovaná respirace (SIR)

Substrátem indukovanou respirací rozumíme zvýšenou rychlost respirace bezprostředně po přidavku lehce využitelného substrátu, např. glukózy. Sledujeme krátkodobou odpověď (v rámci několika hodin) jako množství vyprodukovaného  $\text{CO}_2$  buď instrumentálně (GC, IRGA, konduktometricky), nebo analyticky titrací sorbovaného  $\text{CO}_2$  v roztoku NaOH. Výsledky mohou být vyjadřovány buď jako kumulativní obsah  $\text{CO}_2\text{-C}$ , respektive jeho nárůst v čase ( $\mu\text{g CO}_2\text{-C. g}_{\text{suš.}}^{-1}$ ), nebo po statistickém zpracování dat jako potenciální respirační rychlost ( $\mu\text{g CO}_2\text{-C. g}_{\text{suš.}}^{-1}\text{. hod}^{-1}$ ). Respirační aktivita je výsledkem fyziologického stavu mikroorganismů, jejich energetických nároků, působení inhibičních vlivů a některých stresových faktorů (ČSN EN ISO 14240-1).

Do 125 ml lahve jsme navážili 5 g půdy. V čase určeném pro uzavření lahve jsme vždy do příslušné lahve přidali 2 ml roztoku glukózy a lahev jsme poté uzavřeli gumovou zátkou a plechovým šroubovacím uzávěrem. Roztok glukózy jsme připravili rozpuštěním 2,5 g D-glukózy ve 100 ml destilované vody. Poté probíhala inkubace, při které se ve dvou časech (2 h a 4 h) provedlo měření rozboru plynů na plynovém chromatografu Agilent Technologies 7890A tak, že se do injekční stříkačky o objemu 0,5 ml skrze gumové víčko odebral plyn, který se vstříknul do plynového chromatografu. Po ukončení měření se k výpočtu zjistil objem lahve tím

způsobem, že se lahev doplnila vodou a zvážením se zjistil objem přidané vody, při předpokladu, že 1 mililitr vody má 1 gram.

Dále bylo k dosažení výsledné hodnoty nutné změřit množství sušiny v půdě. Nejdříve jsme zvážili hliníkovou váženku, zapsali hmotnost a následně do ní přidali vzorek půdy. Po navážce všech vzorků jsme půdu nechali 4 h při 105 °C sušit v sušárně. Po čtyřech hodinách jsme váženky s půdou vyjmuli a nechali vychladnout. Následně jsme opět všechny zvážili a zapsali si hodnotu. Obsah sušiny jsme spočítali dle vzorce:

$$S = 1 - [(B - C)/(B - A)] * 100$$

kde:

S = obsah sušiny (%)

A = hmotnost váženky (g)

B = hmotnost čerstvého vzorku (g)

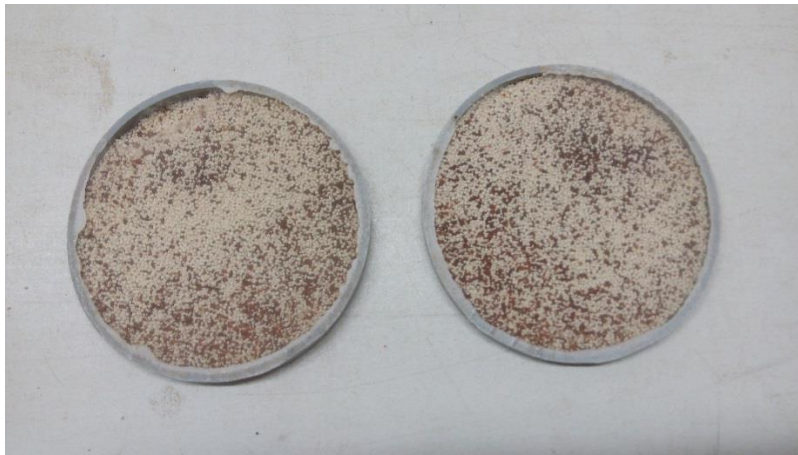
C = hmotnost vysušeného vzorku (g)

### 3.6 Měření množství vyplaveného minerálního dusíku

Polutanty mohou narušit relaci mezi mineralizací a imobilizací dusíkatých látek. Půdní mikroorganismy ve zdravé a kvalitní půdě by měly být schopné zadržet co nejvíce dusíku v půdě, a tím snížit jeho vyplavování.

Pro zjištění množství vyplavovaného minerálního dusíku byl pod každou nádobou na začátku experimentu umístěn iontoměničový disk (obr. 8 a 9). Iontoměniče akumulují uvolněný minerální dusík z půdy. Výsledky se přepočítávají na mg zachycené formy dusíku na kilogram půdní sušiny (Záhora et al., 2011). Iontoměničové disky jsou vyrobené z novodurové trubky o průměru 7 cm s výškou 0,5 cm, potaženy jsou polyamidovou síťovinou. Iontoměnič je vysokomolekulární látka s dostatečnou pórovitostí, která na svém povrchu nese náboj. Iontoměniče, nebo také ionexy, dělíme na anexy a katexy. V našem pokusu jsme pracovali se směsným ionexem, tedy s katexy i anexy. Před použitím se iontoměniče kondiciují mnohonásobným střídavým propíráním v 10 % roztoku NaCl a v destilované vodě (Maříková et al., 2004).





Obrázek 8: Iontoměničový disk

**Anex** nám slouží k odstraňování záporných, v našem případě tedy  $\text{NO}_3^-$  iontů nitrátového dusíku z roztoku.

**Katex** slouží k odstraňování kladných iontů  $\text{NH}_4^+$ , tedy ke zjištění množství amonného dusíku v roztoku (Šmíd et al., 1954).



Obrázek 9: Schéma principu vyplavování minerálního dusíku

Po 3 měsících od zahájení pokusu byly iontoměničové disky odebrány a ponechány týden volně na vzduchu k proschnutí. Po týdnu byly ionexy z každého disku od-

straněny, zváženy a nasypány do příslušné plastové lahvičky. Do lahvičky byla pipetou doplněna destilovaná voda o objemu odpovídajícímu hmotnosti zvážených ionexových zrn pro nabobtnání a lahvička byla doplněna do 100 ml 10% roztokem NaCl. Lahvičky se uzavřely a nechaly se 45 minut protřepávat. Následně se přes sítko odfiltroval roztok od ionexových zrn, ze kterého se destilačně titrační metodou zjišťovalo množství zachytávaného dusíku.

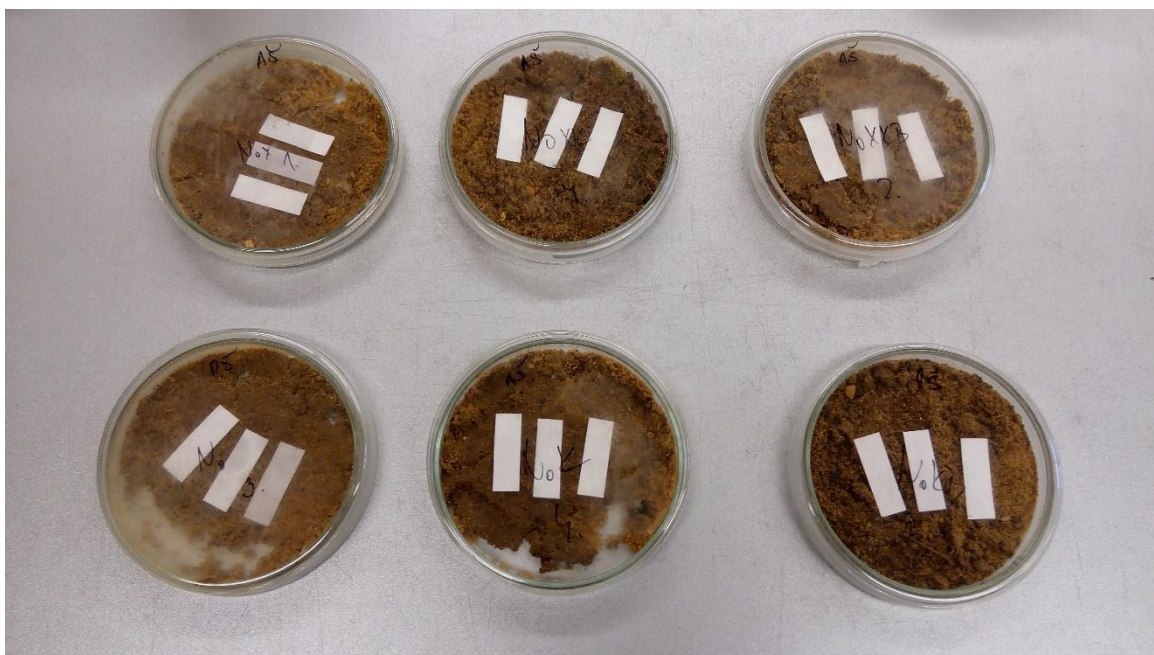
Množství amonných iontů ( $\text{NH}_4^+$ ) se stanovilo v zásaditém prostředí, kterého se dosáhne přidáním MgO do vzorku. Alkalické prostředí a teplota 90 °C způsobí přechod MgO na  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , přičemž se z  $\text{NH}_4^+$  stává plynný  $\text{NH}_3$ , který prochází chladicí kolonou a rozpouští se v kondenzované vodní páře. Amonné ionty jsou poté jímány do kyselé předlohy.

Postup stanovení nitrátových iontů ( $\text{NO}_3^-$ ) je obdobný, jen se přidává Devardova slitina, která funguje jako redukční činidlo. Díky tomu přecházejí nitrátové ionty na amonné.

Množství iontů v destilátu se na závěr titruje a následně se přepočítává na mg zachycené formy dusíku na kg sušiny půdy.

### 3.7 Celulózový test

Z každé pokusné nádoby byl odebrán vzorek půdy, a ta byla smíchána v poměru 1 : 1 s pískem. Na dno Petriho misky byl rozpostřen cca 0,5 cm této směsi. Na navrstvenou půdu jsme vedle sebe vložili 3 pásy filtračního papíru o rozměrech 3x1 cm (obr. 10). Petriho misku jsme uzavřeli, utěsnili parafilmem, aby nemohla unikat vlhkost a nechali 5 týdnů bez přístupu světla inkubovat. Po 5 týdnech jsme filtrační papíry vyjmuli a sledovali přes průhledný rastr k vyhodnocení barevné změny a rozložené části celulózy. Následně jsme spočítali procentuální podíl rozložené celulózy a podíl, kde došlo pouze k barevné změně na filtračním papíru a kde tak lze předpokládat intenzivní rozklad snížením tloušťky celulózy.



Obrázek 10: Celulókový test těsně po založení

### 3.8 Test fytotoxicity – řeřichový test

Řeřichový test fytotoxicity je biologická metoda hodnocení fytotoxicity výluhu vzorku indexem klíčivosti rostliny, v tomto případě řeřichy seté (Hejátková et al., 2007). Pozorování vývoje kořenového klíčku je považováno za parametr, ze kterého lze vycházet při porovnávání půd zatížených aplikací pesticidů. Vliv na klíčivost ale může být zkreslený obsahem zásobních látek v semeni.

Veškeré vzorky půdy byly testovány na fytotoxicitu. Byl zvolen právě tento test, při kterém jsme pozorovali vliv vodního výluhu na klíčivost a růst kořenového klíčku. Pro řeřichový test byla použita semínka řeřichy seté (*Lepidium sativum*).

Připravili jsme si Petriho misky o průměru 9 cm, do kterých jsme vložili filtrační papír tak, aby zakrýval celé dno. Půdní výluh jsme připravili navázkou 5 g půdy z každé varianty experimentu a přidávkem 250 ml destilované vody. Směs jsme nechali 2 h protřepávat na třepačce. Následně jsme roztok přefiltrovali přes filtrační papír. Pipetou jsme odebrali 1 ml přefiltrovaného roztoku a poté jsme jím ovlhčili filtrační papír v misce. Semena řeřichy jsme umístili v pravidelném sponu 5 x 5, čili 25 semen na jednu misku (obr. 23 a 24). Také jsme vytvořili 4 kontrolní misky, které byly ovlhčeny pouze destilovanou vodou. Semena jsme nechali klíčit po dobu 48 h bez přístupu světla a při pokojové teplotě. Atraktivnost prostředí pro

rostliny jsme hodnotili jednak podle počtu vyklíčených semen a podle délky kořínků, a z těchto parametrů jsme dále počítali index klíčivosti – IK.

Výpočet indexu klíčivosti (IK):

$$IK = \frac{k_v * l_v}{k_k * l_k} * 100 \quad (\%)$$

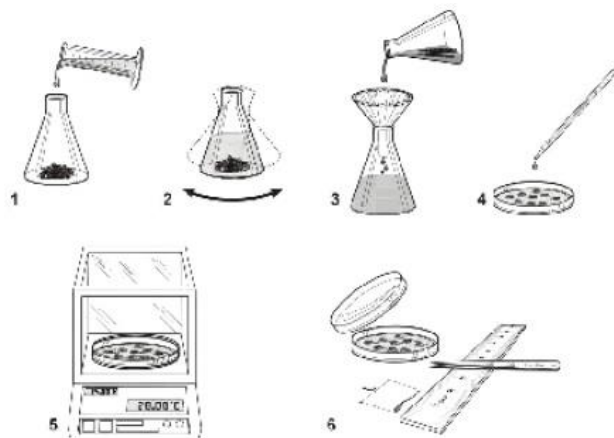
kde:

$k_v$  = klíčivost vzorku (%)

$k_k$  = klíčivost kontroly (%)

$l_v$  = průměrná délka kořínků vzorku (mm)

$l_k$  = průměrná délka kořínků kontroly (mm)



Obrázek 11: Postup při provádění testu fytotoxicity (řeřichovém testu): 1 - naplnění baňky vzorkem půdy, 2 - protřepání vzorku, 3 - filtrace vzorku, 4 - umístění semen na filtrační papír s výluhem v Petriho miskách, 5 - vložení vzorku do termostatu, 6 - měření délky kořínků (Plíva et al., 2006)

## 4 VÝSLEDKY

### 4.1 Vizuální popis pěstovaných rostlin

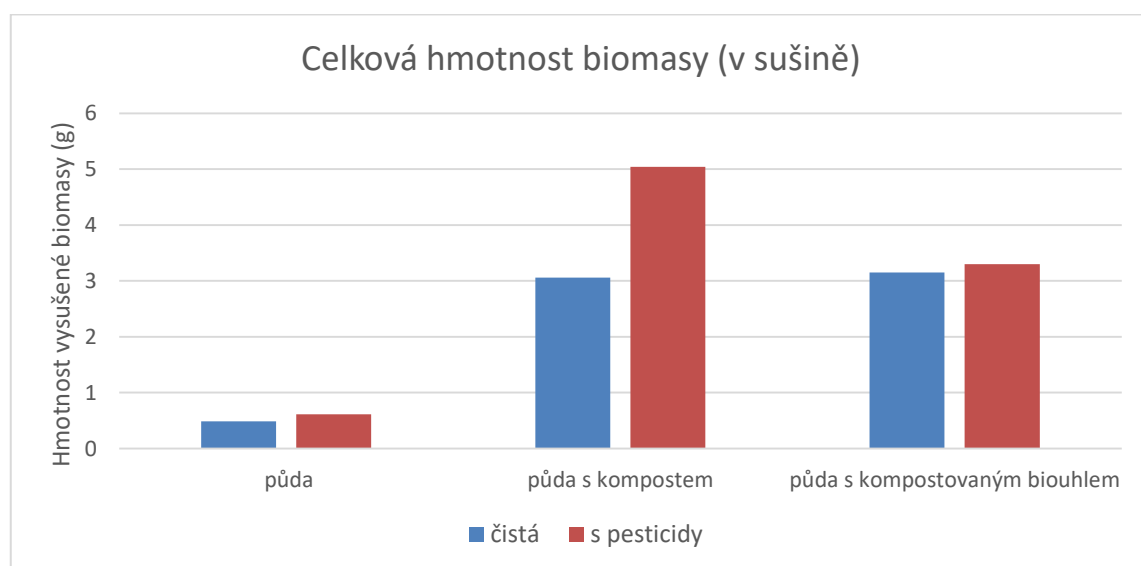
Viditelně nejméně rostliny prospívaly v půdách, které neobsahovaly žádné organické hnojivo. V půdách s přidaným kompostem či kompostovaným biouhlem byly rostliny značně větší. Vizuálně nebyly pozorovány rozdíly mezi variantami s pesticidy a bez pesticidů.

Listy salátů začínaly cca po 2 měsících odspodu žloutnout až fialovět a od krajů zasychaly. Rostliny se zvětšovaly velice pomalu. Fialová barva listů je pro tuto odrůdu typická při nižších teplotách. Zpomalený růst a nekrózu listů může způsobit dle Blancarda (2006) i používání herbicidů, které fungují na principu inhibice syntézy aminokyselin (glyfosfát, imidazolin).

## 4.2 Stanovení produkce nadzemní a podzemní biomasy, R/S poměr

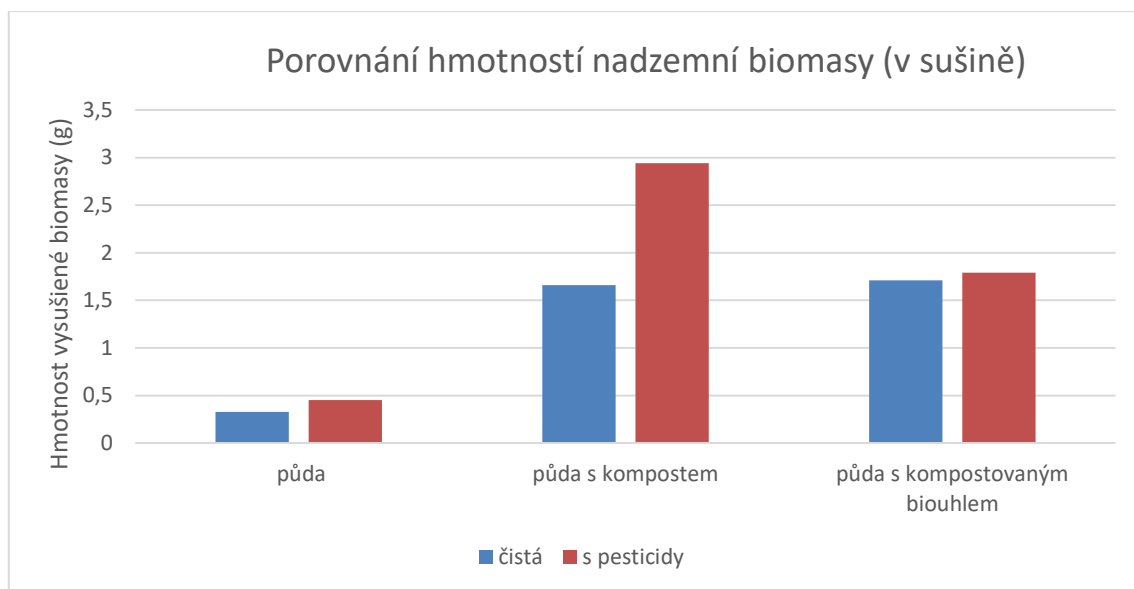
Během nádobového pokusu byly v jednotlivých květináčích pěstovány exempláře salátu setého. Po ukončení pokusu byla biomasa zbavena zbytku půdy, vysušena, byla stanovena průměrná hmotnost biomasy jednotlivých variant, hmotnost nadzemních a podzemních částí a následně určen R/S poměr (poměr podzemní ku nadzemní části rostliny).

Na následujícím grafu (obr. 12) lze pozorovat, že více biomasy se tvořilo v půdě s pesticidy, a to ve všech testovaných variantách. Vůbec nejlépe rostliny prospívaly ve variantě s přidaným kompostem a byl zde zaznamenán také největší rozdíl mezi půdou s aplikací a bez aplikace pesticidů. Nejméně biomasy rostliny tvořily ve variantě bez hnojení, pravděpodobně proto, že neměly dostatek živin pro svůj růst a vývoj.

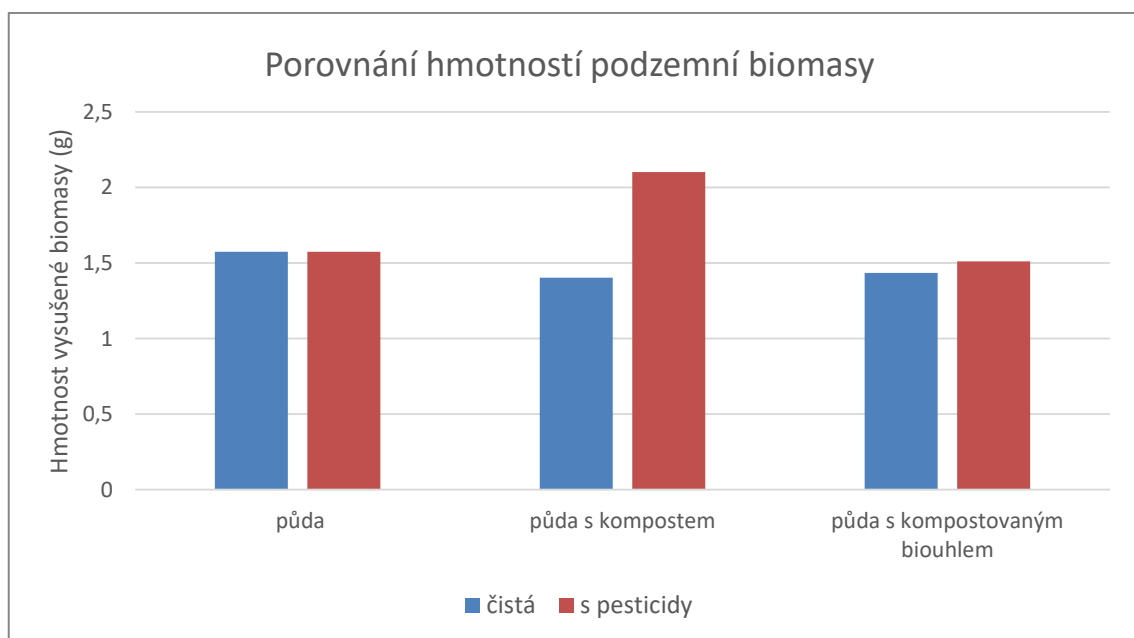


Obrázek 12: Průměrná hmotnost celkové biomasy ve vysušené formě

V dalších dvou grafech (obr. 13 a 14) je graficky znázorněna zvláště hmotnost nadzemní a podzemní biomasy po vysušení. I zde je vidět, že jak kořeny, tak listy tvořily větší množství biomasy v půdě s aplikovanými pesticidy a korelují s výsledky celkové hmotnosti.



Obrázek 13: Porovnání hmotností vysušené nadzemní biomasy



Obrázek 14: Porovnání hmotností vysušené podzemní biomasy

Následující tabulka (tab. 6) nese výsledky poměru R/S, což je poměr hmotnosti vysušené biomasy podzemní ku nadzemní. Ve všech variantách s pesticidy vyšel tento poměr nižší. To značí lepší dostupnost živin pro rostliny, které nemusely in-

vestovat svou energii do tvorby kořenů a produkovaly více biomasy nadzemních částí oproti podzemní biomase.

Tabulka 6: Výsledky R/S poměru, poměru podzemní ku nadzemní části

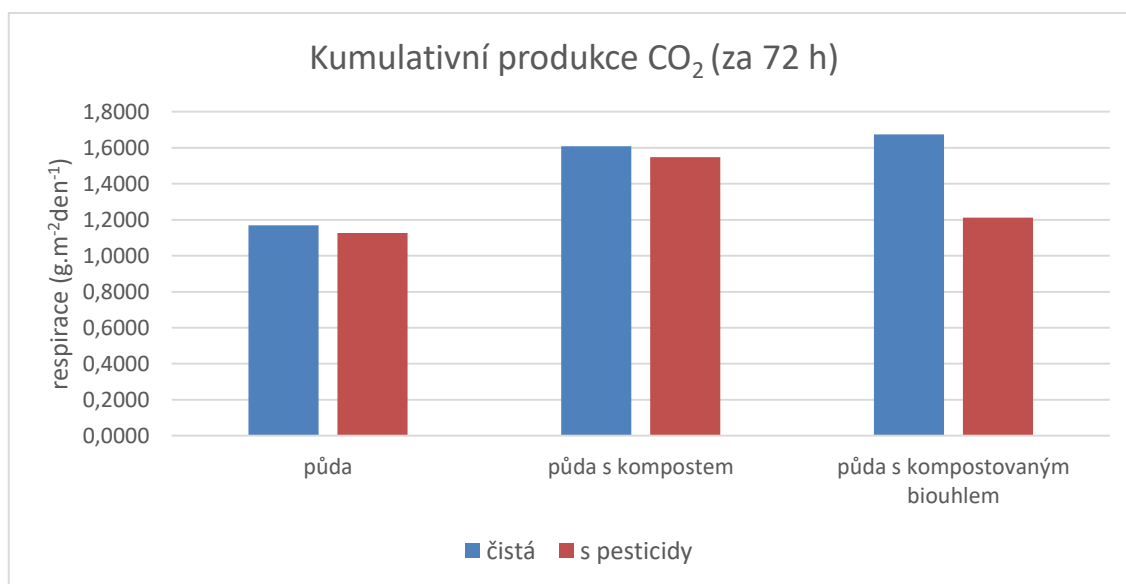
R/S poměr	půda	půda s kompostem	půda s kompostovaným biouhlem
čistá	0,4569	0,8930	0,9114
s pesticidy	0,3521	0,7246	0,8467

### 4.3 Měření kumulativní produkce CO<sub>2</sub>

Bylo provedeno měření kumulativní produkce oxidu uhličitého s cílem zjistit, zdali mají pesticidy nějaký účinek na respirační aktivitu mikroorganismů. Po dobu 72 h byl na natrokalcit jímán prodýchaný oxid uhličitý.

Z výsledků (obr. 15) je patrné, že pesticidy měly negativní vliv na respirační aktivitu ve všech kontaminovaných variantách pokusu. Rozdíly poklesu respirace ve variantách „půda“ a „půda + kompost“ byly jen minimální, největší rozdíl byl zaznamenán ve variantě „půda + biouhel“. V této variantě bez polutantu také docházelo k největší mikrobiální respiraci.

Naměřené hodnoty byly dosazeny do již výše zmíněného vztahu a shrnuty v následujícím grafu.



Obrázek 15: Výsledky měření kumulativní produkce oxidu uhličitého (po 72 h)

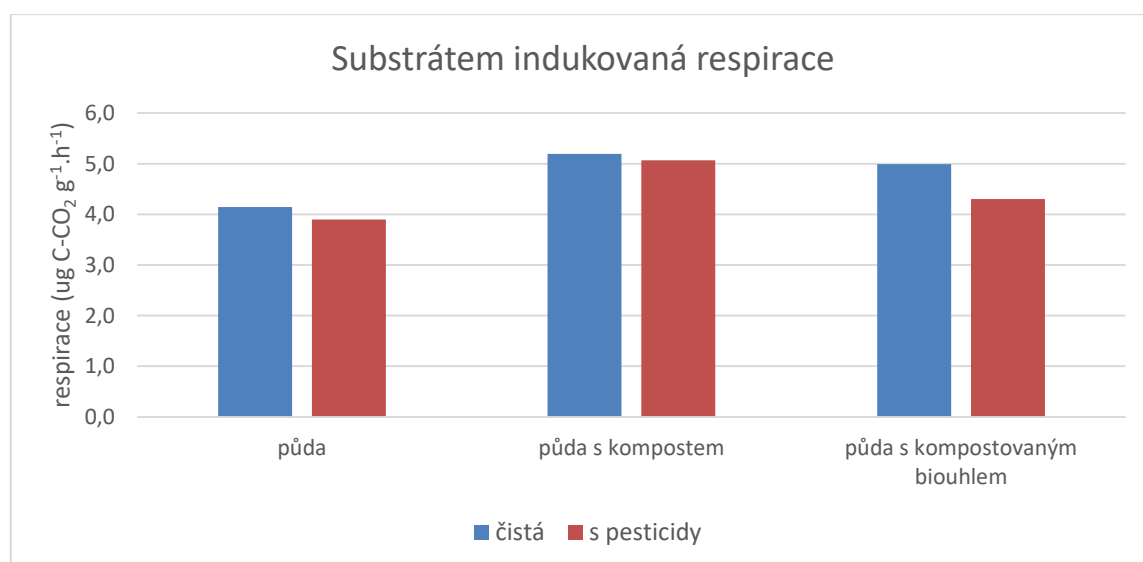


## 4.4 Substrátem indukovaná respirace

Respirační aktivita mikroorganismů byla změřena také metodou substrátem indukované respirace. Ta se hodnotí po přidavku mikroorganismy snadno zpracovatelného substrátu, kterým byl v tomto případě roztok glukózy.

Substrátem indukovaná respirace je parametr, který odráží potenciální respiraci, tzn. maximální možnou, substrátem nelimitovanou respiraci mikroorganismů. Nejlépe odráží jejich fyziologický stav, energetické potřeby, potažmo mineralizační aktivitu.

Hodnoty mikrobiální respirace byly měřeny na plynovém chromatografu po 2 a 4 h od přidavku roztoku glukózy a výsledky těchto měření uvádí následující graf (obr. 16).



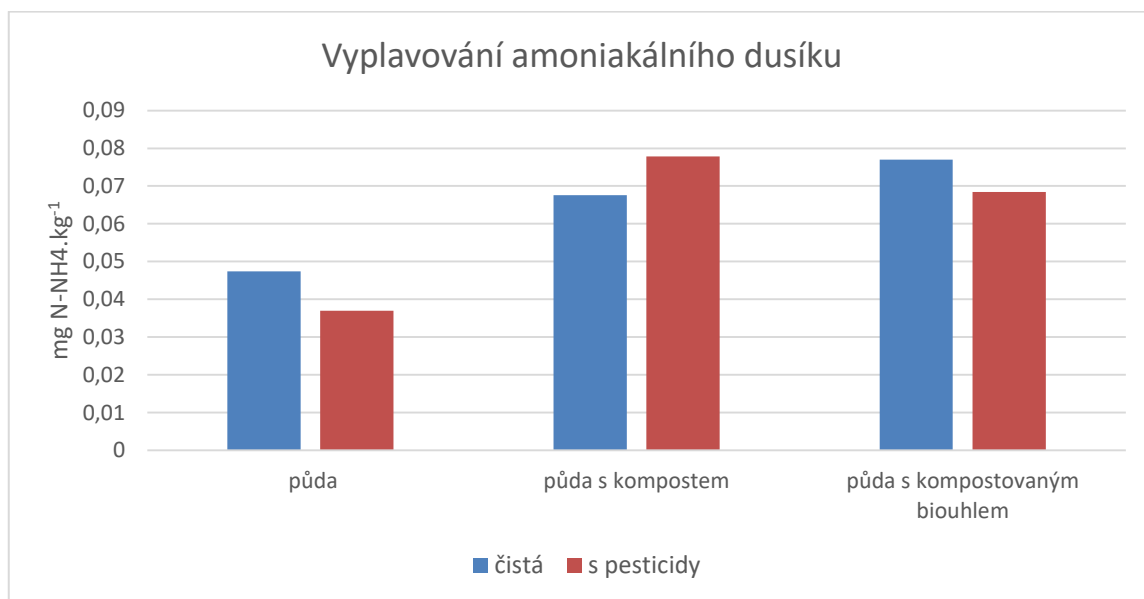
Obrázek 16: Výsledky substrátem indukované respirace

Výsledky jsou obdobné jako při stanovení kumulativní produkce oxidu uhličitého. Snížení respirační aktivity je znatelné u všech variant obsahujících pesticidy. Na rozdíl od půdy a půdy s přidavkem kompostu, kde je rozdíl minimální, je největší pokles zaznamenán u poslední varianty, která byla oživena kompostovaným biouhlem. V tomto testu mikroorganismy dosahovaly největší respirační aktivity ve variantě půda + kompost.

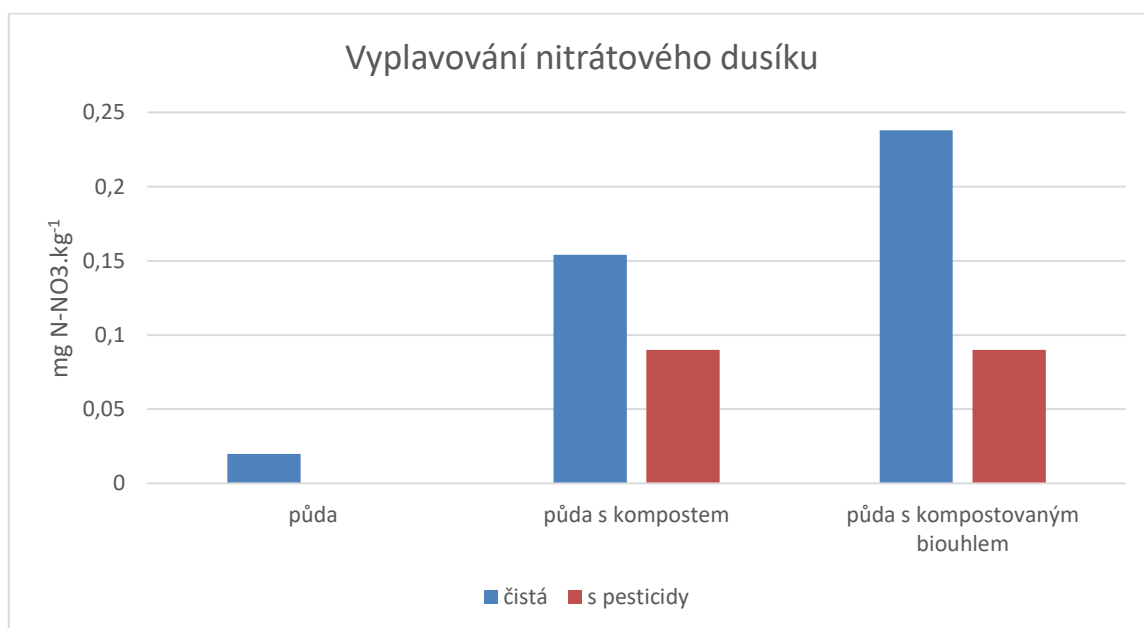


## 4.5 Měření množství vyplaveného minerálního dusíku

Pomocí záchytu minerálních forem dusíku na iontoměničích bylo možné zjistit množství vyplavovaného dusíku z jednotlivých variant pokusu. Byly sledovány dvě formy dusíku, a to amoniakální ( $\text{NH}_4^+$ ) a nitrátový ( $\text{NO}_3^-$ ). Destilačně – titrační metodou a následným výpočtem jsme došli k výsledkům, které zobrazují další dva grafy.



Obrázek 17: Výsledky měření vyplavování amoniakálního dusíku

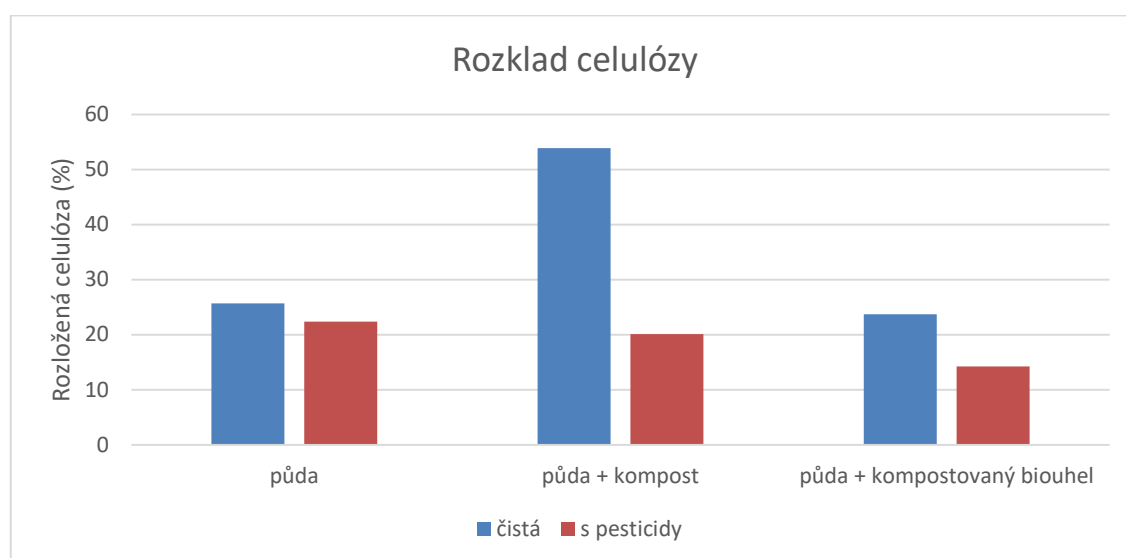


Obrázek 18: Výsledky vyplavování nitrátového dusíku

Oba grafy (obr. 17 a 18) ukazují, že k menšímu vyplavování jak amoniakálního (kromě varianty půda + kompost), tak nitrátového dusíku docházelo ve variantách s pesticidy. V obou případech ale šlo o velice malá množství v řádech setin miligramu, a tak jsou rozdíly mezi variantami zanedbatelné.

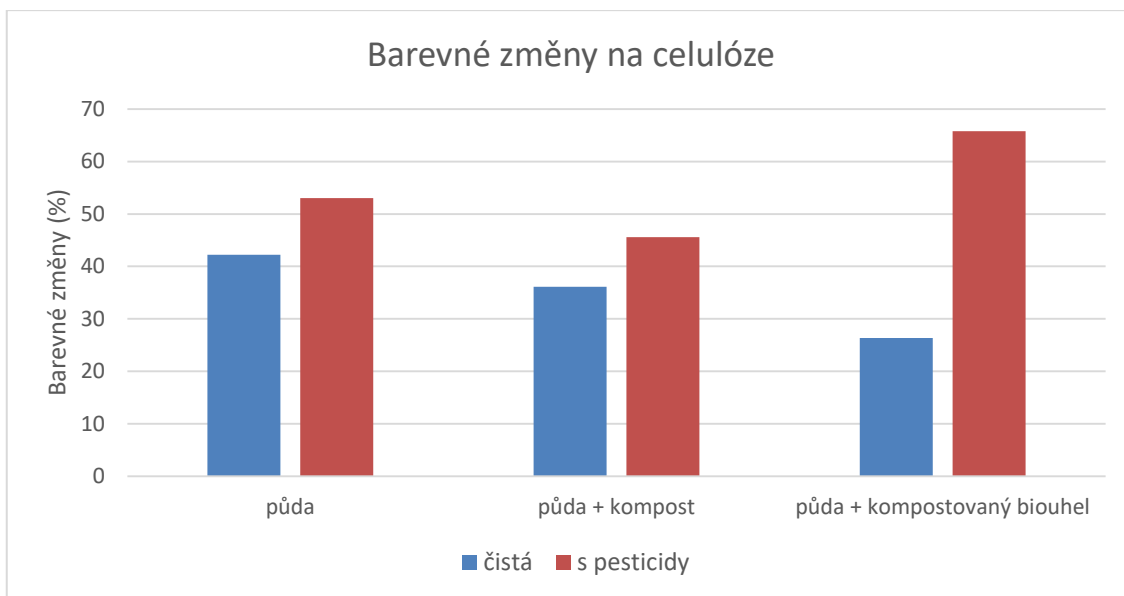
## 4.6 Celulóзовый test

Po dobu pěti týdnů jsme sledovali, zdali má aplikace pesticidů vliv na rozklad modelové celulózy, kterou v pokusu představovaly proužky filtračního papíru. Výsledky, uvedené v % rozložené celulózy a barevných změn ukazují následující grafy.



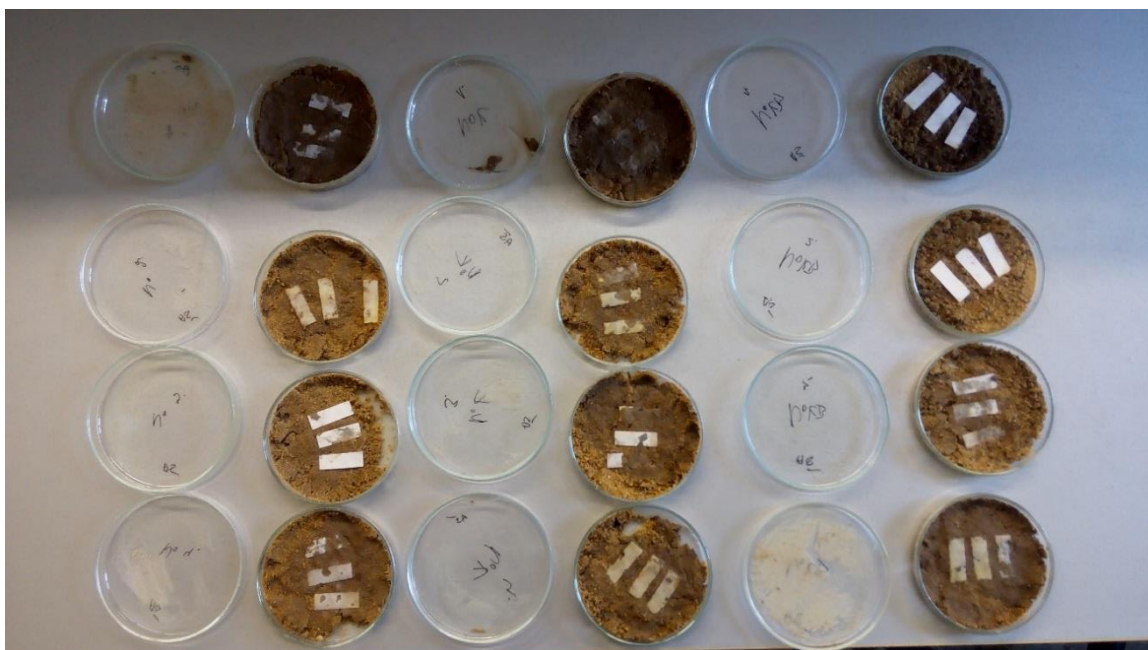
Obrázek 19: Úplný rozklad celulózy

Z grafu (obr. 19) je patrné, že v půdě s pesticidy probíhal úplný rozklad celulózy mnohem pomaleji. Nejlépe se celulózové proužky rozkládaly v čisté půdě s přidaným kompostem, naopak nejmenší aktivita celulólytických organismů byla zaznamenána ve variantách s kompostovaným biouhlem.

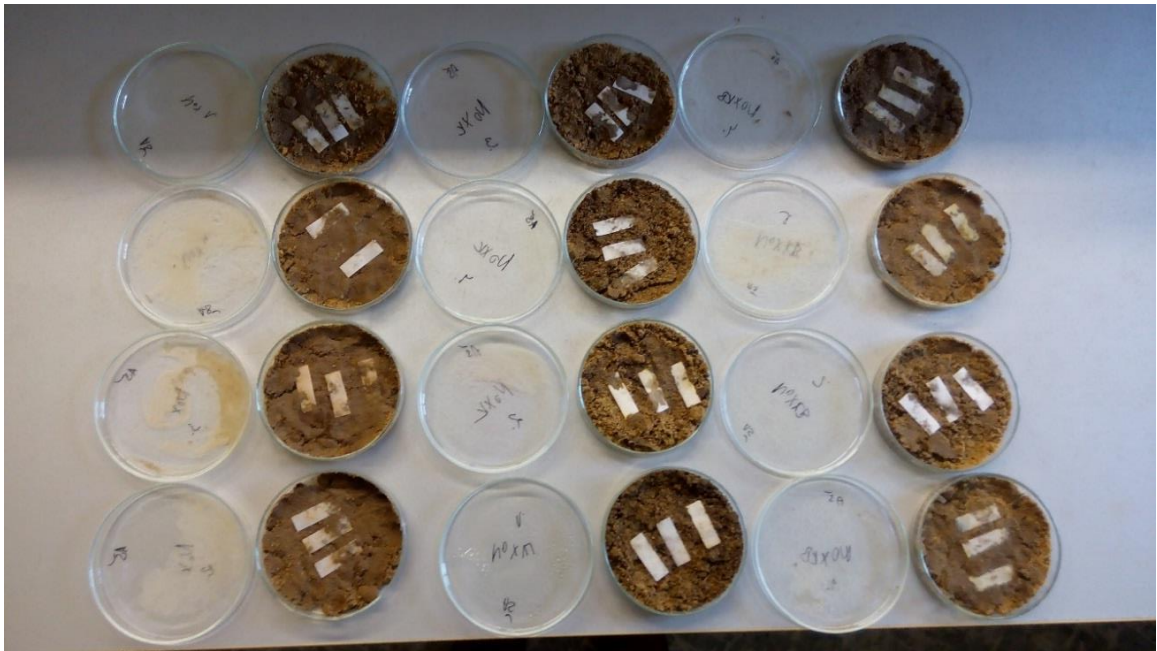


Obrázek 20: Částečný rozklad celulózy (barevná změna na filtračním papíře)

Předchozí graf (obr. 20) znázorňuje plochu v procentech modelové celulózy, na které došlo k barevné změně a lze zde předpokládat intenzivní rozklad. Na rozdíl od předešlého grafu je vidět, že ke snížení tloušťky celulózy docházelo mnohem více ve variantách s pesticidy, přičemž největšího rozdílu bylo dosaženo v půdě s kompostovaným biouhlem.



Obrázek 21: Celulóзовый test po 5 týdnech inkubace, varianta bez pesticidů. Po sloupcích zleva: půda, půda s kompostem, půda s kompostovaným biouhlem. Vpravo nahoře je viditelné, že neproběhly žádné změny.



Obrázek 22: Celulózný test po 5 týdnech inkubace, varianta s pesticidy. Po sloupcích zleva: půda, půda s kompostem, půda s kompostovaným biouhlem.

#### 4.7 Test fytotoxicity

Všechny varianty půdy byly testovány na fytotoxicitu. Byl proveden řeřichový test, což je biologická metoda hodnocení fytotoxicity půdního výluhu vzorku. Byl sledován jednak vliv substrátu na klíčivost a také vliv na vývoj kořenového klíčku. Následně byl vypočítán index klíčivosti (IK), který je uveden v procentech klíčivosti kontroly, kterou byla destilovaná voda.

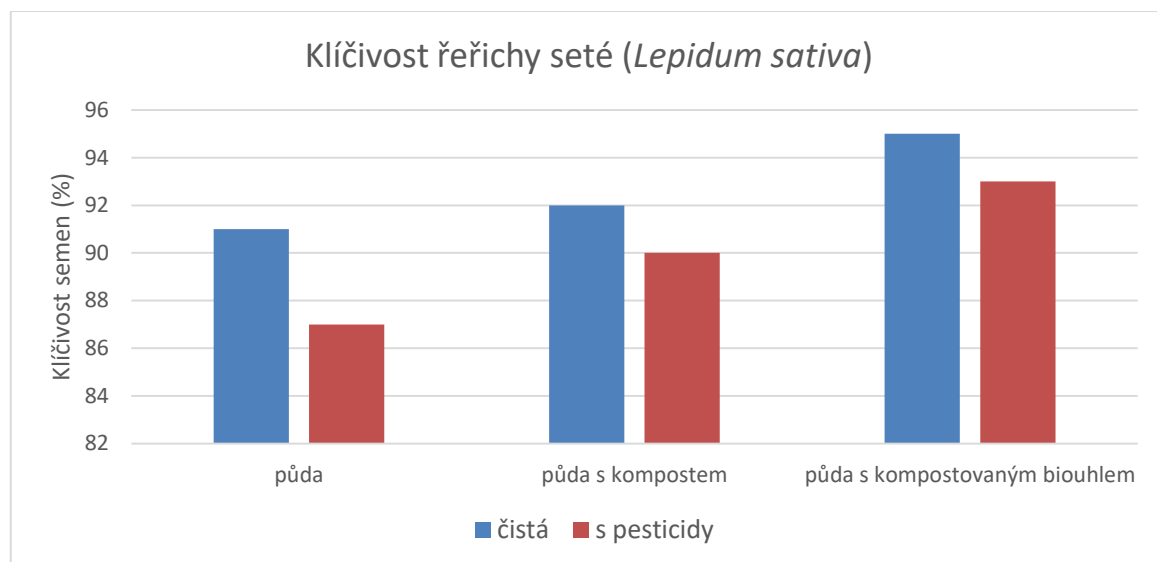


Obrázek 23: Založení řeřichového testu



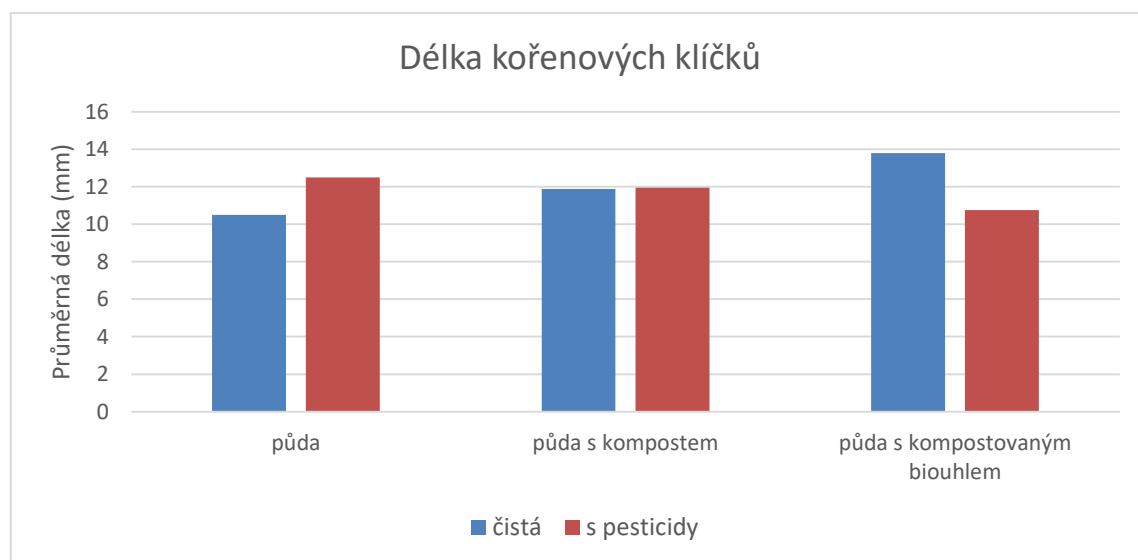
Obrázek 24: Po 48 h klíčení

Na následujícím grafu (obr. 25) je patrné, že půdní výluh s obsahem pesticidů má inhibiční účinek na klíčivost řeřichy, a to ve všech testovaných variantách. Nejlépe klíčila semena ve variantě s kompostovaným biouhlem, dále s kompostem a nejmenší klíčivost byla zaznamenána ve výluzích bez organického hnojení.



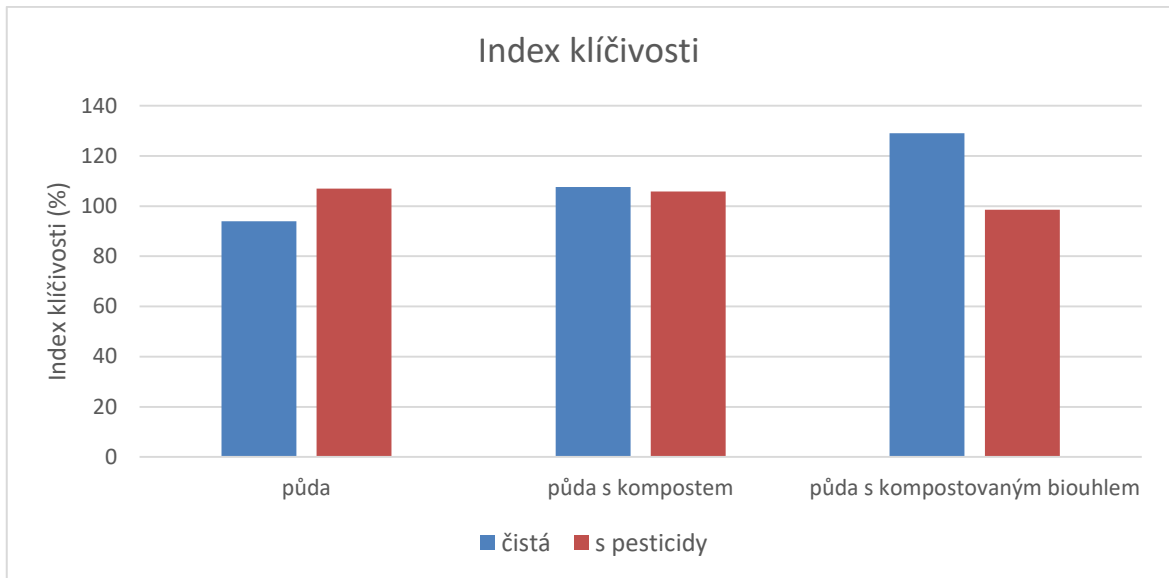
Obrázek 25: Vliv půdních výluhů z jednotlivých vzorků na klíčení řeřichy seté

Další graf (obr. 26) znázorňuje vliv půdního výluhu na průměrnou délku kořenových klíčků. Ve variantě bez organického hnojení narostly delší klíčky v substrátu s pesticidy. V půdě s kompostem byla délka kořenových klíčků v substrátu s pesticidy i bez polutantu téměř totožná a v půdě s kompostovaným biouhlem byla zaznamenána jasná inhibice růstu kořínků v substrátu s pesticidy.



Obrázek 26: Vliv půdních výluhů na délku kořenového klíčku

Poslední graf (obr. 27) se zabývá grafickým znázorněním indexu klíčivosti (IK), který byl vypočítán z klíčivosti vzorku a průměrné délky kořínků. Index klíčivosti se uvádí v procentech kontroly, kdy kontrola značí 100 %. Nejvyšší IK vyšel ve variantě „čistá půda + kompostovaný biouhel“. Index klíčivosti ve variantě „půda s kompostem“ je opět téměř stejný.



Obrázek 27: Výsledky IK

## 5 DISKUZE

Hlavním cílem diplomové práce bylo zjistit, zdali má aplikace pesticidů vliv na aktivitu půdních mikroorganismů. Doplnkově bylo do testované půdy přidáváno organické hnojivo v podobě kompostu a kompostovaného biouhlu, a byl sledován jeho vliv na mikroorganismy, jejich aktivitu a další parametry. Během experimentu bylo sledováno několik různých indikátorů půdní mikrobiální aktivity a také úrodnosti půdy. Výsledky budou diskutovány v pořadí, v jakém jsou uvedeny v této diplomové práci.

Byl testován vliv pesticidů na růst a vývoj rostlin. Bylo překvapivě zjištěno, že v nádobách, ve kterých byla půda s pesticidy, rostliny prospívaly mnohem lépe. Degradovaná půda nedokázala živiny zadržovat a ochotně je poskytovala rostlinám. V kontaminované variantě tvořily rostliny větší nadzemní i podzemní biomasu a z výsledků lze usuzovat na nižší poměr R/S, což znamená, že oproti variantě bez pesticidů tvořily větší nadzemní biomasu v poměru ke kořeni. Narůstající poměr R/S se vyskytuje obvykle u rostlin, které mají nedostatek živin (Wilson 1988; Ericsson 1995). Rostlina investuje do svého kořenového systému a snaží se tak dosáhnout zdroje klíčových živin, aby odstranila limitující faktor její výživy. Lze tedy předpokládat, že i pesticidy, diskriminací půdní mikroflóry v původním uložení půdního horizontu a narušením integrity půdních agregátů, mohly pro rostliny odblokovat dodatečný zdroj využitelných živin. Také lze tyto výsledky porovnat s výsledky vyplavování minerálního dusíku – toho se méně vyplavovalo ve variantě s pesticidy a je tedy předpoklad, že byl v těchto variantách účinněji kontrolován kořeny, a tím i lépe využíván modelovou rostlinou.

Měření kumulativní produkce oxidu uhličitého a výsledky substrátem indukované respirace budou shrnuty najednou. Obě metody se zabývají produkcí oxidu uhličitého jako produktu metabolismu dýchání půdních mikroorganismů, a jejich výsledky byly obdobné. V obou metodách bylo zjištěno, že dochází k poklesu respirace v půdách s pesticidy. Autoři (Kalam et al., 2004; Baćmaga, 2015) uvádí, že dehydrogenáza, enzym účastnící se dýchacího řetězce, je jeden z nejcitlivějších a nejméně odolných enzymů, který reaguje na přítomnost polutantu (konkrétně kombinace diflufenican + iodosulfuronmethyl-Na) v půdě mezi prvními. V této situaci tak lze říci, že aplikace pesticidů působí na mikrobiální dýchání inhibičně. Dle Tejady (2009), je jedním z faktorů inhibujících aktivitu mikrobiálních enzymů aplikace pesticidů v kombinacích (konkrétně diflufenican + glyfosát).

Předpokladem dalšího testu bylo zvýšené vyplavování dusíku v půdě s pesticidy. Vysvětlení by bylo takové, že polutanty budou mít negativní vliv na nějakou skupinu mikroorganismů, účastnících se přeměny dusíkatých látek. Ty je pak nebudou schopné zpracovávat a dusík se začne vyplavovat buď v podobě amoniakálních či nitrátových iontů (Deni et al., 2004). Výsledky měření však vyšly naprosto opačně oproti předpokladu, a to tak, že v nádobách s pesticidy docházelo k menšímu vyplavování minerálního dusíku oproti variantám bez polutantu. Odůvodnění může být následující (Deni et al., 2004): polutant diskriminoval méně odolné půdní mikroorganismy, které odumřely, a fungují tak jako substrát umožňující růst ostatním nezasaženým organismům. S tímto testem koreluje i fakt, že se v květináčích s pesticidy tvořila větší rostlinná biomasa. Avšak množství vyplavovaného dusíku bylo velice malé, na hranici stanovitelnosti danou metodou - v řádech setin mg, a tak nelze výsledky tohoto testu pokládat za příliš směrodatné.

Celulózový test je test rychlosti rozkladu organické hmoty. Názory ohledně vlivu pesticidů na rozklad celulózy se různí. V některých studiích (Torstensson a Wessen, 1984; Abdel-Mallek a Moharram, 1986; Abdel-Mallek, 1987; Abdel-Kader et al., 1989; Omar et al., 2001) byl pozorován negativní vliv a tím zpomalený rozklad, jiné práce (Camper et al., 1973; Ross et al., 1984) zase poukazují na stimulaci rozkladných reakcí pod vlivem polutantu. Z výsledků je vidět, že půda s polutanty měla negativní vliv na úplný rozklad celulózy, která se rozkládala pomaleji, ale co se týče barvených změn na filtračním papíře, výsledek je přesně opačný.

Na závěr byl zvolen řeřichový test. Ten z výsledků poukazuje na to, zda má polutant vliv na klíčení a následný růst a vývoj kořenového klíčku. Z těchto údajů se poté stanovuje index klíčivosti, který je uveden v procentech klíčivosti kontroly, kterou je destilovaná voda. Z výsledků výše uvedených je patrné, že pesticidy měly negativní vliv na klíčení citlivé řeřichy seté. Ve všech kontaminovaných variantách vyklíčilo méně semínek než v příslušných verzích bez polutantu. Co se týče vlivu na délku kořenového klíčku, výsledky se různily. V půdě, ve které nebylo žádné organické hnojení, dosahovaly větší délky klíčky rostlin, které rostly ve výluhu z půdy s kontaminanty. Lze předpokládat, že v této variantě „obohacené“ pesticidy mohl polutant zprostředkovávat např. lyzí mikroorganismů živiny pro růst a působit tak na růst klíčku stimulačně. V půdě s kompostem se mezi verzemi s pesticidy a bez nich neobjevovaly žádné významné rozdíly. V poslední variantě s kompostovaným biouhlem už ale difference byla viditelná. Zde způsobily polutanty inhibici růstu kořínků, kdežto klíčky ve variantě bez pesticidů byly nejdelší ze všech testovaných verzí. Co se výsledků indexu klíčivosti týče, jako nejvhodnější substrát se jeví právě



čistá půda s kompostovaným biouhlem. Hned po ní nejlepších výsledků dosahovala půda bez hnojiva, ale s pesticidy. Výsledky ve verzi s kompostem jsou opět téměř totožné.

## 6 ZÁVĚR

Pesticidy pomáhají dosáhnout maximálních zemědělských výnosů. Mohou mít ale také negativní dopady na životní prostředí a skrze plodiny se dostávat i do lidského organismu. Proto je dobré znát jejich vlastnosti a patřičně s nimi nakládat.

V této práci byly testovány celkem čtyři komerční značky pesticidů: Cougar, Husar a Roundup za herbicidy a Artea jakožto fungicid. Tyto pesticidy byly na zemědělskou půdu aplikovány v letech 2013 – 2015. V době testování, v roce 2017, tedy rok a půl po poslední aplikaci, byl stále zaznamenáván vliv na různé parametry mikrobiální aktivity.

Bylo vytvořeno celkem 6 variant substrátu se 4 opakováními: kontrolní půda (No), kontrolní půda + kompost (NoK), kontrolní půda + kompostovaný biouhel (NoKB), půda s pesticidy (NoX), půda s pesticidy a kompostem (NoXK), půda s pesticidy a kompostovaným biouhlem (NoXKB). V každé nádobě byl pěstován salát setý jako modelová rostlina. Došli jsme k závěru, že na rozdíl od aplikace organického hnojiva v podobě kompostu a kompostovaného biouhlu, které má jednoznačně pozitivní účinky na mikroorganismy, aplikace pesticidů působí inhibičně na mikrobiální dýchání, což prokázal test na stanovení kumulativní produkce oxidu uhličitého i substrátem indukovaná respirace. Dehydrogenáza, enzym účastnící se dýchacího řetězce, patří mezi nejcitlivější, a tak v přítomnosti polutantu brzy zastavuje svou činnost. V kontaminované variantě se tvořila větší rostlinná biomasa a vycházel menší R/S poměr, což značí lepší dostupnost základních živin pro rostlinu. Polutanty degradovaná půda je snadněji poskytuje, jelikož je ve své narušené struktuře nedokáže zadržovat. Druhá souvislost může být s menším vyplavováním dusíku v těchto variantách, a tím lepší přístupností dusíku pro rostliny. Pesticidy působí také negativně na organismy, které rozkládají celulózu. Test na vyplavování dusíku prokázal menší vyplavování ve variantě s pesticidy, avšak bylo ho obecně velice málo, a tak nelze tuto metodu považovat za průkaznou, jelikož nedocházelo k významným rozdílům. Jako poslední byl proveden řeřichový test. Ten prokázal, že polutant může mít negativní vliv na klíčení rostlin, ale ve variantě bez organic-

kého hnojení zase zřejmě způsobil větší nárůst kořenových klíčků. V dalších variantách, ve kterých bylo organické hnojení dodáno ve formě kompostu a kompostovaného biouhlu ovšem opět působil na růst klíčků negativně.

Vyslovenou hypotézu, totiž, že pesticidy působí inhibičně na mikrobiální aktivitu lze potvrdit.

## 7 SEZNAM LITERATURY

ABDEL-KADER, M. I. A.; MOUBASHER, A. H.; ABDEL-MALLEK, A. Y. Studies on the effect of the fungicide Euparen on cellulose-decomposing fungi in Egyptian soil. *Journal of basic microbiology*, 1989, 29.6: 329-335.

ABDEL-MALLEK, A. Y.; MOHARRAM, A. M. Effect of the herbicide ametryn on cellulose-decomposing fungi in Egyptian soil. *Folia microbiologica*, 1986, 31.5: 375-381.

ABDEL-MALLEK, A. Y.; PARAQUAT, I. Effect of some herbicides on cellulose-decomposing fungi in Egyptian soil. *Zentralblatt für Mikrobiologie*, 1987, 142.4: 293-299.

AKTAR, Wasim; SENGUPTA, Dwaipayana; CHOWDHURY, Ashim. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary toxicology*, 2009, 2.1: 1-12.

ALEF, Kassem; NANNIPIERI, Paolo (ed.). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. London: Academic press, 1995.

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.

ARAÚJO, ASF de; MONTEIRO, R. T. R.; ABARKELI, R. B. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. *Chemosphere*, 2003, 52.5: 799-804.

BAĆMAGA, Małgorzata, et al. Microbial and enzymatic activity of soil contaminated with a mixture of diflufenican + mesosulfuron-methyl + iodosulfuron-methyl-sodium. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22.1: 643-656.

BENDING, Gary D.; LINCOLN, Suzanne D.; EDMONDSON, Rodney N. Spatial variation in the degradation rate of the pesticides isoproturon, azoxystrobin and diflufenican in soil and its relationship with chemical and microbial properties. *Environmental Pollution*, 2006, 139.2: 279-287.

BLANCARD, Dominique, Hervé LOT a Brigitte MAISONNEUVE. *A colour atlas of diseases of lettuce and related salad crops: observation, biology and control*. London: Manson, 2006. ISBN 1-84076-050-8.

BLÁHA, Ladislav; ŠERÁ Božena., ed. *Příspěvky k problematice zemědělského pokusnictví: contribution to agricultural experimentation*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2014. ISBN 978-80-7427-153-3.

CAMPER, N. D., et al. Changes in Microbial Populations in Paraquat-treated Soil. *Weed Research*, 1973, 13.2: 231-233.

ČSN EN 46 5735: Průmyslové komposty

ČSN EN ISO 14240-1: Kvalita půdy - Stanovení půdní mikrobiální biomasy - Část 1: Metoda substrátem indukované respirace

DECHENE, Annika, et al. Sorption of polar herbicides and herbicide metabolites by biochar-amended soil. *Chemosphere*, 2014, 109: 180-186.

DENI, Jamal; PENNINGCKX, Michel J. Influence of long-term diesel fuel pollution on nitrite-oxidising activity and population size of nitrobacter spp. in soil. *Microbiological research*, 2004, 159.4: 323-329.

DIAZ, Luis F.; DE BERTOLDI, M.; BIDLINGMAIER, Werner (ed.). *Compost science and technology*. Elsevier, 2011.

DVOŘÁČKOVÁ, Helena, et al. The Effect of Biochar, Inoculated Biochar and Compost Biological Component of the Soil. *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 2015, 9.12: 1203-1206.

eAGRI: *Právní předpisy* [online], [cit. 2017-03-10]. Dostupné z WWW: <http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/>

EDWARDS, Clive A. Assessing the effects of environmental pollutants on soil organisms, communities, processes and ecosystems. *European Journal of Soil Biology*, 2002, 38.3: 225-231.

EISENTRAEGER A., MAXAM G., RILA J. – P. et DOTT W. (2000): *A Stepwise Procedure for Assessment of the Microbial Respiratory Activity of Soil Samples Contaminated with Organic Compounds*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 47(1): p. 65-73.

ELBL, Jakub. *Porovnání vývoje obsahu dusíku v různých hloubkách půdy a ve vodě získávané z jímací oblasti Březová nad Svitavou*.

ELBL, Jakub, et al. Effects of drought on microbial activity in rhizosphere, soil hydrophobicity and leaching of mineral nitrogen from arable soil depending on method of fertilization. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 2014, 8.8: 741-747.

ERICSSON, Tom. Growth and shoot: root ratio of seedlings in relation to nutrient availability. *Plant and soil*, 1995, 168.1: 205-214.

HARMAN, G. E.; NELSON, E. B.; ONDIK, K. L. Non-target effects of fungicide applications on microbial populations of putting greens. *USGA Green Section Record*, 2006, 9-12.

HEJÁTKOVÁ, Květuše, *Kompostování přebytečné travní biomasy: metodická pomůcka*. Vyd. 1. Náměšť nad Oslavou: ZERA - Zemědělská a ekologická regionální agentura, 2007, 74 s. ISBN 978-80-903548-6-9.

HENEK, M., DYMÁK, R., (2011): Role organické hmoty v půdě a požadavky na moderní substráty. *Časopis Zahradnictví* 2/2011

HORÁKOVÁ D., NĚMEC M., (2003): *Laboratorní cvičení z fyziologie bakterií*, Masarykova univerzita v Brně, Brno, 65s.

JOUQUET, E. P., et al. Do compost and vermicompost improve macronutrient retention and plant growth in degraded tropical soils?. *Compost Science & Utilization*, 2011, 19.1: 15-24.

KALAM, A.; TAH, J.; MUKHERJEE, A. K. Pesticide effects on microbial population and soil enzyme activities during vermicomposting of agricultural waste. *Journal of environmental biology/Academy of Environmental Biology, India*, 2004, 25.2: 201-208.

KALINA, Miroslav. *Kompostování a péče o půdu*. Praha: Grada, 1999. ISBN 80-7169-697-8.

KEITH, H. & S. C. WONG, 2006: Measurement of soil CO<sub>2</sub> efflux using soda lime absorption: both quantitative and reliable. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 1121 - 1131.

LANE, Matthew, et al. The effect of glyphosate on soil microbial activity, microbial community structure, and soil potassium. *Pedobiologia*, 2012, 55.6: 335-342.

LEHMANN, Johannes; JOSEPH, Stephen. *Biochar for environmental management: science and technology*. London, GB: Earthscan, 2009.

LIANG, Biqing, et al. Stability of biomass-derived black carbon in soils. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2008, 72.24: 6069-6078.

MAIER, Raina M.; PEPPER, Ian L.; GERBA, Charles P. *Environmental microbiology*. Academic press, 2009.

MAŘÍKOVÁ, K., ZÁHORA, J., *Metodická omezení terénního studia mineralizace organických dusíkatých látek*. Ústav půdoznalství a mikrobiologie, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, [online]. 2004 [cit. 2017-02-15]. Dostupné z WWW: <https://mnet.mendelu.cz/mendelnet2004/obsahy/enviro/marikova.pdf>

NEUMANN, G., et al. Relevance of glyphosate transfer to non-target plants via the rhizosphere. *ZEITSCHRIFT FÜR PFLANZENKRANKHEITEN UND PFLANZENSCHUTZ-SONDERHEFT*-, 2006, 20: 963.

NIELSEN, Mette Neiendam, et al. *Microorganisms as indicators of soil health*. National Environmental Research Institute, 2002.

OMAR, S. A.; ABDEL-SATER, M. A. Microbial populations and enzyme activities in soil treated with pesticides. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2001, 127.1: 49-63.

PETŘÍKOVÁ, Kristína; HLUŠEK, Jaroslav. *Zelenina: pěstování, výživa, ochrana a ekonomika*. Profi Press, 2012.

PLÍVA, Petr. *Zakládání, průběh a řízení kompostovacího procesu*. Výzkumný ústav zemědělské techniky, 2006.

PLOŠEK, L., et al., *Mikrobiální parametry biouhlu a jeho vliv na půdní biotu*. Ústav půdoznalství a mikrobiologie, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, [online]. 2013 [cit. 2017-02-15]. Dostupné z WWW: [http://www.veronica.cz/soubory/Biouhel%202013/4\\_PLOSEK.pdf](http://www.veronica.cz/soubory/Biouhel%202013/4_PLOSEK.pdf).

RATCLIFF, Alice W.; BUSSE, Matt D.; SHESTAK, Carol J. Changes in microbial community structure following herbicide (glyphosate) additions to forest soils. *Applied Soil Ecology*, 2006, 34.2: 114-124.

RETAN, George A. Charcoal as a means of solving some nursery problems. *Journal of Forestry*, 1915, 13.1: 25-30.

ROSS, D. J., et al. Influence of field applications of oxamyl and fenamiphos on biochemical activities of soil under pasture. *New Zealand journal of science*, 1984.

SAVONEN, C. Soil microorganisms object of new OSU service. Good Fruit Grower. <http://www.goodfruit.com/archive/1995/6other.html>, 1997.

SAWHNEY, Brij L.; BROWN, Kirk W. *Reactions and movement of organic chemicals in soils*. Soil Science Society of America, 1989.

ŠARAPATKA, Bořivoj. *Pedologie a ochrana půdy*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2014. ISBN 978-80-244-3736-1.

ŠIMEK, Miloslav. *Základy nauky o půdě*. 3., Biologické procesy a cykly prvků. České Budějovice: Jihočeská univerzita, Biologická fakulta, 2003. ISBN 80-7040-630-5.

ŠMÍD, Josef et al.: *Měníče iontů, jejich vlastnosti a použití*. Stát. nakl. techn. lit., Praha, 1954.

ŠREFL, Josef: Kompost je energie vrácená do půdy. *Biom.cz* [online]. 2012-11-12 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z WWW: <http://biom.cz/cz-pestovani-biomasy/odborne-clanky/kompost-je-energie-vracena-do-pudy>. ISSN: 1801-2655.

TEJADA, Manuel. Evolution of soil biological properties after addition of glyphosate, diflufenican and glyphosate+ diflufenican herbicides. *Chemosphere*, 2009, 76.3: 365-373.

TEUTSCHEROVÁ, Nikola, et al. Influence of pruning waste compost maturity and biochar on carbon dynamics in acid soil: Incubation study. *European Journal of Soil Biology*, 2017, 78: 66-74.

TORSTENSSON, L.; WESSEN, B. Interactions between the fungicide benomyl and soil microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 1984, 16.5: 445-452.

TRIMBLE, W. H. (1851) 'On charring wood', *Plough, the Loom and the Anvil*, vol 3: 513-516

TRYON, Earl H. Effect of charcoal on certain physical, chemical, and biological properties of forest soils. *Ecological Monographs*, 1948, 18.1: 81-115.

WARDLE, David A. Controls of temporal variability of the soil microbial biomass: a global-scale synthesis. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30.13: 1627-1637.

WEBER, J., 2001: *Definition of soil organic matter* [online], [cit. 2017-04-04]. Dostupné z WWW: <http://karnet.up.wroc.pl/~weber/def2.htm>

WILSON, J. Bastow. A review of evidence on the control of shoot: root ratio, in relation to models. *Annals of botany*, 1988, 61.4: 433-449.

ZÁHORA, Jaroslav; NOHEL, P.; KINTL, Antonín. Vyplavování minerálního dusíku z orných, lučních a lesních půd v OPVZ II. st. Březová nad Svitavou. In: *Sborník příspěvků XV. Mezinárodní vodohospodářské konference VODA ZLÍN*. 2011. p. 49-54.



## 8 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Dělení organických látek v půdě .....	16
Obrázek 2: Podíl jednotlivých typů pesticidů na celosvětové spotřebě .....	28
Obrázek 3: Chování pesticidů v půdě .....	29
Obrázek 4: Mapa zájmového území .....	34
Obrázek 5: První den založení nádobového experimentu ve fytotronu .....	36
Obrázek 6: Pěstované rostliny těsně před jejich sklizní .....	37
Obrázek 7: Otevřená natrokalcitová past .....	39
Obrázek 8: Iontoměničový disk .....	41
Obrázek 9: Schéma principu vyplavování minerálního dusíku .....	41
Obrázek 10: Celulózový test těsně po založení .....	43
Obrázek 11: Postup při provádění testu fytotoxicity .....	44
Obrázek 12: Průměrná hmotnost celkové biomasy ve vysušené formě .....	45
Obrázek 13: Porovnání hmotností vysušené nadzemní biomasy .....	46
Obrázek 14: Porovnání hmotností vysušené podzemní biomasy .....	46
Obrázek 15: Výsledky měření kumulativní produkce oxidu uhličitého .....	47
Obrázek 16: Výsledky substrátem indukované respirace .....	48
Obrázek 17: Výsledky měření vyplavování amoniakálního dusíku .....	49
Obrázek 18: Výsledky vyplavování nitratového dusíku .....	49
Obrázek 19: Úplný rozklad celulózy .....	50
Obrázek 20: Částečný rozklad celulózy (barevná změna na filtračním papíře) .....	51
Obrázek 21: Celulózový test po 5 týdnech inkubace, varianta bez pesticidů .....	51
Obrázek 22: Celulózový test po 5 týdnech inkubace, varianta s pesticidy .....	52
Obrázek 23: Založení řeřichového testu .....	50
Obrázek 24: Po 48 h klíčení .....	52
Obrázek 25: Vliv půdních výluhů z jednotlivých vzorků na klíčení řeřichy seté .....	53
Obrázek 26: Vliv půdních výluhů na délku kořenového klíčku .....	53
Obrázek 27: Výsledky IK .....	54

## 9 SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Základní půdní enzymy a jejich funkce .....	20
Tabulka 2: Sledované parametry v průmyslových kompostech.....	27
Tabulka 3: Typy pesticidů a cílové organismy .....	28
Tabulka 4: Provedené aplikace pesticidů na testovanou půdu.....	35
Tabulka 5: Varianty substrátu v provedeném experimentu .....	35
Tabulka 6: Výsledky R/S poměru, poměru podzemní ku nadzemní části .....	47

## **10 PŘÍLOHY**