



VĚDECKÝ VÝBOR FYTOSANITÁRNÍ A ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Klasifikace:	Draft	<input type="checkbox"/>	<i>Pro vnitřní potřebu VVF</i>
	Oponovaný draft	<input type="checkbox"/>	<i>Pro vnitřní potřebu VVF</i>
	Finální dokument	<input type="checkbox"/>	<i>Pro oficiální použití</i>
	Deklasifikovaný dokument	<input checked="" type="checkbox"/>	<i>Pro veřejné použití</i>

Název dokumentu:

**Perspektivy využití půdních organismů
pro zvýšení bezpečnosti rostlinných produktů**

Poznámka:

VVF-16-03
Zpracovatel: Prof. RNDr. Marta Tesařová, CSc. (MZLU)
Prof. Dr. Z. Filip (UBA)

Obsah:

1. Úvod	3
2. Nežádoucí prvky a sloučeniny v rostlinných produktech a jejich vztah k činnosti půdních mikroorganismů	4
2. 1. Dusičnany	4
2. 2. Toxické a rizikové prvky	5
2. 3. Rezidua pesticidů	8
2. 4. Mykotoxiny v rostlinách	12
3. Význam půdních mikroorganismů pro úrodnost půd a zdraví rostlin	13
4. Využití půdních mikroorganismů pro zvýšení bezpečnosti rostlinných produktů. Současný stav a perspektivy	20
4.1. Arbuskulární mykorhiza	20

1. Úvod

Kvalita a bezpečnost potravin rostlinného původu zůstává trvale aktuálním problémem. I když řada legislativních opatření snížila nadměrné používání pesticidů, zkvalitnila technologii výroby agrochemikálií a omezila vstupy rizikových či toxických prvků do životního prostředí, v rostlinách jsou nadále identifikovány nežádoucí prvky a sloučeniny, které představují pro člověka i zvířata zdravotní riziko (rezidua pesticidů, vysoká koncentrace nitrátů, zvýšené obsahy těžkých kovů aj.). Řada těchto problémů je spojená s půdou, se změnami v jejích fyzikálních, chemických, ale také biologických vlastnostech. Dnes je již zřejmé, že mnohá, často energeticky značně náročná opatření používaná ke zvyšování výnosů, vedla k degradaci půd, příp. ke zhoršení kvality rostlinných produktů (Elliot et al., 1997).

Záměrem této studie je vyhodnotit podíl půdních organismů na produkci zdravých rostlin a specifikovat faktory, které tyto funkce půdních organismů mohou posílit.

2. Nežádoucí prvky a sloučeniny v rostlinných produktech a jejich vztah k činnosti půdních mikroorganismů

2.1. Dusičnany

Nadměrný obsah dusičnanů v rostlinách nebrání jejich růstu a produkci, ale výrazně snižuje jejich nutriční hodnotu. Dusičnany jsou totiž v živočišném organismu redukovány na dusitany, které jsou prekurzorem (nitrozačnícím činidlem) při tvorbě vysoce karcinogenních N – nitrosaminů. Nejvýznamnějším zdrojem dusičnanů v lidské výživě je zelenina (Tab. 1), jejíž konzumace může tvořit až 70% z celkově přijímaných dusičnanů. V tendenci akumulovat dusičnany se ale jednotlivé druhy zelenin významně liší. Nejméně kumulují dusičnany rané brambory, květák, rajčata a česnek, vyšší akumulace je charakteristická pro fazole, okurky, mrkev a zelí. Nejvyšší hodnoty nitrátů bývají zaznamenávány u hlávkového salátu, špenátu, ředkviček a červené řepy.

Tab 1. Obsah dusičnanů v rostlinách a plodech

	Dusičnany [mg . kg ⁻¹]
Obiloviny	10 - 35
Ovoce	10 - 150
Zelenina	5 - 9000
hlávkový salát	230 - 5000
ředkvičky	1700 - 3200
okurky	10 - 1150

Půdní mikroorganismy a dusičnany

Dusičnany vznikají v půdě mikrobiální činností nebo vstupují do půdy ve formě minerálních dusíkatých hnojiv. Dusičnany produkuje specializovaná skupina aerobních chemoautotrofních bakterií, které oxidují amoniakální dusík na dusičnany v procesu nitrifikace. Při intenzivní nitrifikaci a při současné aplikaci vyšších dávek dusíkatých hnojiv se v půdě zvyšuje množství dusičnanů. Ty mohou být nadměrně přijímány rostlinou, příp. asimilovány půdními mikroorganismy. Biologicky nevyužitá dusičnany mohou být snadno vyplaveny do hlubších vrstev půdy a posléze do podzemních vod. Dusičnany jsou totiž v půdě

velmi pohyblivé a špatně se fyzikálně či chemicky vážou. Omezit vyšší obsah dusičnanů v půdě lze s využitím mikroorganismů následujícími dvěma postupy:

1. Immobilizací dusičnanů půdními mikroorgan. a jeho zpětnou pozvolnou remineralizaci

Immobilizace je proces asimilace anorganických forem dusíku mikroorganismy, které jich využijí k syntéze buněčné hmoty. Tím je pohyblivý dusičnanový dusík chráněn před vyplavováním, ale i spotřebou rostlinami. Immobilizovaný dusík může být pak v půdě zpětně remineralizován v souladu s potřebami rostlin. Immobilizace je však energeticky náročná, a proto bude probíhat jen v půdách dobře zásobených kvalitní organickou hmotou. Immobilizaci lze podstatně urychlit zapravením organických zbytků s širokým poměrem C : N.

2. Omezením či zastavením nitrifikace

S použitím chemických přípravků, které inhibují činnost nitrifikačních bakterií lze proces nitrifikace zastavit. Cílem používání těchto inhibitorů je omezit produkci nitrátů v obdobích, kdy rostliny odčerpávají z půdy méně dusíku nebo když se do půdy zapravují minerální dusíkatá hnojiva.

2. 2. Toxické a rizikové prvky

K nejvýznamnějším toxickým prvkům v rostlinách se řadí kadmium, olovo a rtuť. Rizikové prvky, tj. arzen, měď, zinek, nikl, chróm, cín patří mezi esenciální biogenní prvky ve výživě; rizikovými se stávají až při vysokých koncentracích. Příklady aktuálně naměřených obsahů toxických prvků v rostlinách jsou uvedeny v Tab. č. 2 a 3.

Tab 2. Obsah kadmia ve vybraných druzích zeleniny (výsledky monitoringu v SRN, r. 1996).

Údaje jsou v $\mu\text{g Cd / kg}$ čerstvé hmoty

	minimum	maximum	průměr	NPM*
Okurky	1	42	9	100
Brambory	1	47	15	100
Mrkev	6	48	21	100
Hlávkový salát	4	154	36	150 ^{xx}
Pažitka	1	303	47	-
Petržel	8	601	105	-

* nejvyšší přípustné množství dle vyhlášky MZd, Sbírka zákonů č. 298/1997

xx povolené množství

Maximálně přípustné množství Cd je 100 µg / kg čerstvé hmoty, v průměru tedy (s výjimkou petržele) nebyly tyto hodnoty překročeny. Maximální naměřené hodnoty však prokazují, že – v závislosti na místě a způsobu pěstování překračují u hlávkového salátu, pažitky a petržele obsahy Cd výrazně povolené množství.

Z výsledků měření obsahu Pb ve vybraných poživatinách v ČR vyplynulo, že jeho obsahy, co se týče zeleniny a ovoce, v některých případech přesahují nejvýše přípustné množství (Tab. 3) , tj. v přepočtu na kg svěží hmotnosti 500 µg Pb u zeleniny, 400 µg Pb u zeleniny a 1000 µg Pb u hub.

Tab 3. Obsah olova v rostlinách a houbách. Údaje jsou v µg / kg čerstvé hmoty.

	Průměrný obsah	NPM
Mrkev	160	300
Hlávkový salát	950	500
Jahody (lesní)	700	-
Borůvky	800	-
Houby	10 000	1000

Rostliny přijímají toxické a rizikové prvky převážně z půdy, v imisně zatížených oblastech jich může část pronikat do rostlin přes povrch listů.

Nejvýznamnějšími zdroji toxických prvků je v současné době spalování fosilních paliv (Cd, Pb, Hg), čistírenské kaly a fosforečná hnojiva (Cd), metalurgický průmysl (Cd, Hg) a automobilová doprava (Pb).

Půdní mikroorganismy a toxické a rizikové prvky

Část toxických a rizikových prvků a jejich sloučenin může být v půdě poutána na jílové minerály nebo do humusu. Rozsah poutání je větší v těžších jílových půdách, které obsahují více jílu a humusových látek, než v lehčích písčitých půdách. Sloučeniny toxických a rizikových prvků mohou být v půdě rovněž precipitovány.

Půdní mikroorganismy mohou toxické a rizikové prvky a jejich sloučeniny detoxikovat, sorbovat či akumulovat, a tím zabraňovat jejich vstupu do rostlin.

Detoxikací rozumíme v tomto případě metylaci, která může probíhat za aerobních i anaerobních podmínek. Vzniklé metylované sloučeniny mohou být buď uvolněny do atmosféry, kde jsou většinou rozloženy fotolýzou, nebo jsou v půdě rozloženy. Metylací,

kteřou v půdě zabezpečují především bakterie, podléhají především sloučeniny rtuti, olova, arzenu, cínu a selenu. Řada mikrobiálních metabolitů se účastní komplexace toxických a rizikových prvků. Jde především o metabolity bakterií, jako jsou alifatické a karboxylové kyseliny, aromatické kyseliny či produkty citrátového cyklu.

V půdě probíhá také sorbce toxických a rizikových prvků na povrchové struktury mikrobiálních buněk. Známa je i sorbce slizovou vrstvou, nacházející se na povrchu řady půdních bakterií nebo sorbce do buněčných stěn půdních mikroorganismů.

Zřejmě nejvýznamnější aktivitou půdních mikroorganismů, kterou omezují přestupy toxických a rizikových prvků do rostlin, je jejich akumulace v mikrobiálních buňkách. Nejvíce akumulují tyto prvky plísně a mykorrhizní houby. Mykorrhizní houby žijící v symbióze s většinou zemědělsky významných plodin jsou schopny v kořenech zadržovat značné množství toxických a rizikových prvků a zabraňovat tak jejich vstupu do nadzemních částí rostlin (Tab 4).

Toxické a rizikové prvky ovlivňují na druhé straně řadu půdně – biologických procesů. Jejich zvýšené obsahy potlačují především mikrobiální přeměny dusíku v půdě (zvl. nitrifikaci), schopnost půdních bakterií poutat – ať už nesymbioticky či v symbióze s rostlinami – dusík ze vzduchu. Významně se dále snižuje schopnost půdních mikroorganismů rozkládat organické zbytky. Tím jsou narušeny procesy, kterými půdní mikroorganismy zpřístupňují rostlinám živiny. Míra ovlivnění uvedených procesů klesá v pořadí Hg > Cd > Cu > Ni > Zn.

Tab. 4 Vliv inokulace salátu mykorrhizní houbou *Glomus mosseae* na příjem kadmia

	Distribuce aplikovaného kadmia v %	
	kontrola	inokulace
nadzemní hmota	30	8
kořeny	30	52
půda	40	40

Zvýšený obsah rizikových a toxických prvků vyvolává změny ve struktuře půdně-mikrobiálních společenstev. V nich se zvyšuje zastoupení mikroorganismů rezistentních k těmto prvkům. Rezistence je zabudována v plazmidech, které mohou být v půdním prostředí transferovány do mikrobiálních buněk stejného nebo příbuzného druhu. Ne všechny

mikroorganismy jsou ale schopny plazmidy vytvářet a dále je transferovat a ne všechny jsou schopny tyto plazmidy přijímat.

Mikrobiální aktivitou mohou být některé sloučeniny toxických prvků přeměněny na sloučeniny ještě toxičtější. Např. v půdě rozšířené bakterie rodu *Arthrobacter* mohou za anaerobních podmínek přeměňovat trimetylolovo na ještě toxičtější tetrametylolovo. Bakterie rodu *Micrococcus* zase převádějí arsenáty na toxičtější arsenitany.

2. 3. Rezidua pesticidů

Hygienicko-zdravotní význam reziduí pesticidů v potravinách – včetně potravin rostlinného původu – v poslední době značně poklesl (Komprda, 1987). Je to důsledek snížené aplikace pesticidů v zemědělství. Maximální limity reziduí pesticidů v zemědělských plodinách (viz Tab 5.) jsou překračovány ojediněle. Např. situační a výhledová zpráva Mze ČR (říjen 2002) uvádí, že v průměru 9% testovaných vzorků jádrového a peckového ovoce překročilo v r. 2001 povolené množství reziduí pesticidů (jednalo se o azimphos-metyl a procymidon).

Tab 5. Maximální limity reziduí (MLR) vybraných pesticidů v zemědělských plodinách. Údaje jsou mg/kg (Komprda, 1997).

Přípravek			
Dithiokarbamáty	-	Zelenina	0,1
		Ovoce	2,0
Triaziny	Atrazin	Obecně	0,1
Bipyridily	Diquat	Zelenina	0,1
Organofosfáty	Dichlorvos	Zelenina	0,5
	Parathion	Ovoce	1,0
	Malathion	Ovoce	0,5
		Luštěniny	8,0
Pyrethroidy	Permethrin	Zelenina	0,05 – 5,0

Do půdního prostředí se pesticidy nedostávají cíleně, ale mohou ho v mnoha směrech přímo i nepřímo nepříznivě ovlivňovat. Rozsah toho ovlivnění pak rozhoduje o produkční schopnosti půd a o vstupu pesticidů či jejich reziduí do potravních řetězců nebo jejich úniku do podzemních vod. Přesto, že je osudu pesticidů v půdě věnována v posledních 20-30 letech

velká pozornost (o čemž svědčí stovky publikovaných prací) obecné závěry doposud nebyly formulovány. Půda totiž reprezentuje vysoce heterogenní systém, v němž o cestách škodlivých sloučenin včetně pesticidů rozhoduje soubor prostorově i časově proměnných fyzikálních, chemických a biologických charakteristik. Také pesticidy jsou velmi heterogenní skupinou látek a to jak z hlediska chemického složení, biodegradability, fyzikálních vlastností i vlivu na půdu.

Vliv pesticidů na tyto parametry je určován v první řadě dobou jejich setrvání v půdě. Pesticidy, které se dostanou do půdy z ní mohou rychle vytékat, vypařit se, příp. podlehnout světelnému rozkladu.. Stejně tak mohou být z půdy vyplaveny do podzemní vody nebo být přijaty rostlinami. Část pesticidů je však v půdě sorbována a tím dočasně zastaven jejich pohyb a mikrobiální přeměny v půdě.

Na krátkou dobu (dny-týdny) sorbují rezidua některých pesticidů půdní organismy s krátkým životním cyklem (mikroorganismy, půdní mikro – a mesofauna), z jejichž odumřelých buněk se tyto škodliviny znovu uvolňují do prostředí (Bollag et al.1992). Dlouhodobě, tj. i na několik let či desetiletí mohou být pesticidy a jejich rezidua sorbovány na jílové minerály nebo humusové látky. Dosvědčují to mj. údaje o distribuci 14°C z radioaktivního herbicidu do humusu. S prodlužující se dobou postupně vzrůstá zastoupení 14°C v biologicky těžko dostupných frakcích půdní organické hmoty, tj. v huminových kyselinách a nehydrolyzovatelném podílu (Tab. 6). V situacích, kdy dochází k rozkladu půdní organické hmoty (např. nevhodná agrotechnika) jsou pesticidy znovu uvolňovány do půdního prostředí.

Vztahů mezi pesticidy a obsahem jílových minerálů a půdní organické hmoty využívají modely, predikující osudy pesticidů v půdě. Příkladem může být model sorbce herbicidu Atrazin v půdách ČR, který publikovali Kozák et Vacek (2000). S využitím údajů o obsahu jílových minerálů, humusu a také hodnot pH a kationtové výměnné kapacity určili tzv. distribuční koeficient K_d pro hlavní půdní typy České republiky. Čím vyšší jsou hodnoty K_d tím rozsáhlejší je sorbce herbicidu v půdě. Z publikovaných údajů vyplývá, že sorbce herbicidu je značná v půdních typech, které jsou v ČR významně zastoupeny a zároveň zemědělsky intenzivně využívány (fluvizemě, podzoly černoze). Nízké hodnoty koeficientu K_d indikují naopak zranitelnost půd pesticidy; ty nebudou v půdě sorbovány a mohou podléhat chemickým a biologickým změnám či mohou být snadno vyplaveny do podzemní vody.

Půdní mikroorganismy a pesticidy

V půdě nesorbované pesticidy či jejich rezidua ovlivňují v mnoha směrech půdní organismy, tj. mikroorganismy a půdní faunu. Řada pesticidů je však pro půdní organismy toxická, příp. silně omezuje jejich metabolickou aktivitu. Projevuje se to především po aplikaci vyšších dávek pesticidů nebo při jejich dlouhodobém používání. Příkladem mohou být půdy jabloňových sadů, které byly 5 let příp. 10 let intenzivně ošetřovány pesticidy. Oproti neošetřované (kontrolní) variantě zde došlo k výraznému zhoršení kvality humusu (snížil se obsah C_{ox} v půdě a současně se zvýšilo zastoupení vodorozpustných organických látek, které podléhaly vyplavování) a byl narušen proces nitrifikace (v půdě se začaly hromadit nitrity, protože pesticidy působily toxicky na bakterie, zabezpečující druhou fázi nitrifikace, tj. oxidace nitritů na nitráty) - viz Tab. 7. V půdě byl rovněž potlačen rozvoj a aktivita řady užitečných mikroorganismů (fixátorů vzdušného N_2 , rozkladačů celulózy aj.). Zhoršení uvedených půdních charakteristik bylo výraznější v sadech ošetřovaných pesticidy 10 let (Tab. 7). Zatravnění poškozených půd vhodnými travními porosty, které poskytly půdním organismům nové a snadno dostupné zdroje organických látek (kořenové exsudáty, odumřelé zbytky nadzemních i podzemních částí rostlin), vedlo k obnově funkcí půdních biot a rozkladu herbicidů v půdě (Tab. 8).

Nepříznivý vliv pesticidů na výskyt řady půdních organismů vede následně k narušení rovnováhy v biologické složce půd, což se projevuje mj. zvýšeným výskytem patogenů rostlin (*Pythium*, *Fusarium*, *Phytophthora*), sníženou schopností mikroorganismů rozkládat organické zbytky v půdě a poté i sníženou produkci rostlinné hmoty (Hornby et Bateman, 1997). Potvrzují to mj. výsledky pokusů, v nichž byl sledován vliv herbicidů ze skupiny derivátů močoviny na vybrané plodiny a citlivost následných nebo náhradních plodin k reziduům pesticidů. (Procházková, 1994). Jako vysoce citlivé k reziduům pesticidů, v půdě se projevily jetel, cukrovka, pšenice, oves a řada zelenin (salát, květák, zelí), u nichž byly zaznamenány poruchy v klíčení, růstu, vývoji kořenů, nekrotické chlorózy aj.

Půdní mikroorganismy mohou některé pesticidy (především herbicidy) využívat jako zdroje živin a energie a tím je buď částečně rozložit nebo mineralizovat. Není však výjimkou, že výsledkem mikrobiálních přeměn pesticidů (především ze skupiny fungicidů či insekticidů) jsou sloučeniny ještě toxičtější než byl původní pesticid (Kunc 1994).

Nejlepším způsobem jak předcházet rizikům spojeným s pesticidy je jejich správná aplikace. Dnešní legislativa týkající se používání pesticidů a orgány státní správy dohlížející na její dodržování významně omezují vstupy pesticidů do půdního prostředí. V současné době se v ČR používá (v přepočtu na množství účinných látek) cca 1 kg pesticidů na 1 ha,

což je zhruba o 2/3 méně, než před r. 1990. Rozšiřují se rovněž možnosti používat málo perzistentních pesticidů s vysoce selektivním účinkem, což umožňuje snižovat aplikační dávky.

Tab. 6 Distribuce ^{14}C z radioaktivního herbicidu 2,4 D v humusu. Hodnoty představují % nemineralizovaného herbicidního ^{14}C v půdě (Kunc, 1994)

	Inkubační doba, dny	
	21	91
Huminové kyseliny	0,9	6,4
Fulvokyseliny	55,5	27,1
Hydrolyzovatelný podíl	21,4	21,4
Nehydrolyzovatelný podíl	22,2	45,1

Tab. 7 Vliv dlouhodobého ošetřování jabloňových sadů pesticidy na kvalitu organických látek v půdě a průběh nitrifikace a-kontrola, b-ošetřováno 5 let, c-ošetřováno 10 let (Tesařová et al. 1990). (počáteční – d a konečné – e množství N-NO_2 a N-NO_3 v půdních vzorcích inkubovaných 10 dnů, údaje jsou v mg/kg půdy)

	a	b	c
%Cox	2,6	2,2	1,9
vodorozpustné organické látky (mgC/g)	10,5	21,0	40,5
nitrifikace			
N- NO_2 d	1,4	1,3	1,1
e	2,0	2,0	4,3
N- NO_3 d	4,6	4,1	10,5
e	19,3	6,3	9,1

Tab. 8. Vliv travních porostů na chemické a biologické vlastnosti půd jabloňových sadů dlouhodobě ošetřovaných pesticidy. a-herbicidní úhor, b-nově založený travní porost (analyzováno 2 roky po založení porostu) Tesařová et al. (1990)

	a	b
Triazinové herbicidy (mg.kg ⁻¹)	0,97	0,48
%C _{ox}	1,72	1,93
Biomasa půdních mikroorganismů (mg C _{bio} .100g ⁻¹)	31,54	64,05
intenzita rozkladu celulózy (%)	28,7	38,7

2. 4. Mykotoxiny v rostlinách

Mykotoxiny jsou z kvantitativního i kvalitativního hlediska jedním z nejvýznamnějších rizikových faktorů v rostlinách a rostlinných produktech. Z hygienického hlediska mají největší význam kumarinové mykotoxiny (aflatoxiny, ochratoxiny) a mykotoxiny trichotecenové, alifatické a alternariové (Tab. 9). Mykotoxiny poškozují především játra (aflatoxiny, fumonisiny) a ledviny (ochratoxiny).

Tab 9. Přehled hygienicky závažných mykotoxinů a jejich producentů

Mykotoxiny		
kumarinové	aflatoxiny	<i>Aspergillus flavus</i>
		<i>A. parasiticum</i>
		<i>Penicillium</i>
	ochratoxiny	<i>A. ochraceus</i>
		<i>P. verrucosum</i>
trichotecenové		<i>Trichotecium</i>
	deoxynivalenol	<i>Fusarium</i>
		<i>Cladosporium</i>
	satratoxiny	<i>Stachybotris alternans</i>
alifatické	fumonisin	<i>Fusarium moniliforme</i>
		<i>F. proliferatum</i>
	moniliformin	<i>F. subglutinans</i>
alternariové	alterinariol	<i>Alternaria</i>

Mykotoxiny se vyskytují především v obilovinách a výrobcích z nich (Tab 10.). Maximální limit reziduí mykotoxinů v potravinách je pro aflatoxin 10 µg/kg potravin (pro děti 1µg/kg), pro ochratoxin 5 µg/kg potravin. Z rostlin a krmiv se mykotoxiny dostávají do živočišných organismů.

Tab 10. Hygienicky významné mykotoxiny, jejich koncentrace a producenti

obiloviny	aflatoxiny ochratoxin	desítky až stovky µg/kg
kukuřice	moniliformin	> 100 mg/kg
podzemnice olejná	aflatoxiny	10 – 20 µg/kg (max. až 800 µg/kg)
koření (paprika, chilli, zázvor, koriandr)	aflatoxiny	až 50 µg/kg

3. Význam půdních mikroorganismů pro úrodnost půd a zdraví rostlin

Půdní úrodnost, která je výslednicí působení velmi složitého souboru vzájemně se ovlivňujících vlastností, je nejčastěji definována jako schopnost půdy zabezpečovat nároky rostlin na vodu, vzduch, živiny a biologicky aktivní látky.

Vedle fyzikálních a chemických půdních vlastností je půdní úrodnost utvářena jejími vlastnostmi biologickými. Pod tímto pojmem rozumíme strukturu a činnost edafonu, tj. půdních mikroorganismů a živočichů.

Edafon je hmotnostně malou a navíc labilní součástí půdy. V přepočtu na 1 ha do hloubky 30 cm dosahuje jeho svěží hmotnost 4 – 20 t, což reprezentuje zhruba desetiny hmotnosti půdy. Početně i biomasou v něm převládají mikroorganismy, tj. bakterie, mikromycety, aktinomycety a sinice. Mikroorganismy podle současných znalostí hrají klíčovou roli v půdním metabolismu, avšak půdní živočichové jejich činnost v mnoha směrech regulují.

Počty mikroorganismů v 1 g půdy dosahují desítek tisíc až miliard (Tab. 11). Přitom je třeba si uvědomit, že každá mikrobiální buňka je již autonomním organismem, tj. vlastní všechny systémy, které jí umožňují růst, množit se a být metabolicky aktivní a je vybavena stovkami enzymů, zajišťujících nebyvale rychlou adaptaci na měnící se prostředí i schopnost

přežít nepříznivé podmínky. Není bez zajímavosti, že celkové rozměry povrch mikrobiálních buněk, jimiž se uskutečňuje látková výměna s půdním prostředím, se pohybují v desítkách až stovkách ha na 1 ha půdy – viz Tab. 11.

Tab. 11 Počty, hmotnost a velikost povrchu mikroorganismů v půdě (Kopčanová, 1987)

Druh	Počet v 1 g půdy	Hmotnost v kg . ha ⁻¹	Povrch v ha . ha ⁻¹
Bakterie	10 ⁸ - 10 ⁹	80 - 800	60 - 600
Aktinomycety	10 ³ - 10 ⁴	250 - 500	95 - 190
Mikromycety	10 ⁴ - 10 ⁵	1500 - 3000	235 - 470

Půdní organismy mají nezastupitelnou funkci ve všech procesech, podmiňujících půdní úrodnost a dále:

1. Zajišťují rozklad organické hmoty v půdě a současně vznikají strukturní jednotky humusových látek.
2. Zpřístupňují živiny rostlinám: mikrobiologickými procesy jsou v půdě převáděny živiny z vazeb, ve kterých jsou rostlinám nedostupné, do forem přijatelných.
3. Významná je rovněž hygienická funkce půdních mikroorganismů. Řada z nich je schopna detoxikovat cizorodé látky, které se dostávají do půdy antropogenní činností (např. pesticidy, těžké kovy, organické polutanty).
4. Metabolickými produkty půdních mikroorganismů je řada fyziologicky aktivních látek (vitamíny, auxiny, antibiotika), které ovlivňují vývoj a zdravotní stav rostlin i příjem živin.
5. Půdní organismy, především žížaly, mikromycety a bakterie přispívají svou činností k tvorbě půdních agregátů.

ad 2 Půdně-biologické procesy, kterými jsou v půdě mobilizovány rostlinné živiny, můžeme rozdělit do tří skupin. Jsou to: 1) procesy mineralizace organických zbytků (především zbytků rostlin), 2) uvolňování živin z půdní zásoby (zahrnuje i půdní organickou hmotu), 3) zpřístupňování živin organismy, které žijí s rostlinami v symbióze.

Procesy mineralizace organických zbytků v půdě

Do půdy každoročně vstupuje značné množství organických zbytků (zbytky rostlin, odumřelá těla živočichů, mrtvé buňky mikrobů), které obsahují velké množství živin. Živiny jsou rovněž vázány v organických hnojivech. Vstupy rostlinných zbytků a v nich vázaných živin u různých typů agroekosystémů uvádí Tab. 12.

Tab. 12. Množství živin v posklizňových zbytcích u různých agroekosystémů. (Zdroj: Sotáková,1982)

Plodiny	suchá hmota (t.ha ⁻¹ . rok ⁻¹)	kg.ha ⁻¹ . rok ⁻¹			
		C	N	P	K
Obiloviny	3,0	1350	15-30	3-6	2,5
Okopaniny	1,0	450	5-15	1-33	1,5
Kukuřice	9,0	4050	90	9	8,0
Píceňiny víceleté (t.ha ⁻¹)	až 25,0	1250	200	50	35,0

Postupným rozkladem organických zbytků v půdě jsou živiny v nich vázané uvolňovány a převáděny do anorganických forem, přístupných rostlinám. Samotný proces mineralizace je zabezpečován především půdními mikroorganismy, jejichž aktivita je ale silně ovlivňována půdními živočichy. Je to možné posoudit z Tab. 13, kde je uvedeno množství živin zpřístupněných z rostlinných zbytků buď samotnými mikroorganismy nebo mikroorganismy spolu s mezo- či makroedafonem.

Tab. 13 Množství živin uvolněných rozkladem rostlinných zbytků (nadzemní opad a kořenové zbytky různě obhospodařovaných lučních porostů) samotnými půdními mikroorganismy (A), mikroorganismy a mezofaunou (B) a mikroorganismy plus mezo- a makrofaunou (C). Stanoveno v polních podmínkách metodou opadových sáčků, délka trvání pokusu 22 měsíců (Tesařová,1990)

Exper. varianta	Uvolněné živiny v % původního množství					
	N	P	K	Na	Ca	Mg
Nadzemní opad						
A	64	52	86	82	64	75
B	78	80	89	84	82	84
C	84	80	89	86	90	89
Kořenové zbytky						
A	39	34	83	59	55	74
B	45	57	85	75	68	80
C	59	58	85	80	69	80

Uvolňování živin z půdní zásoby

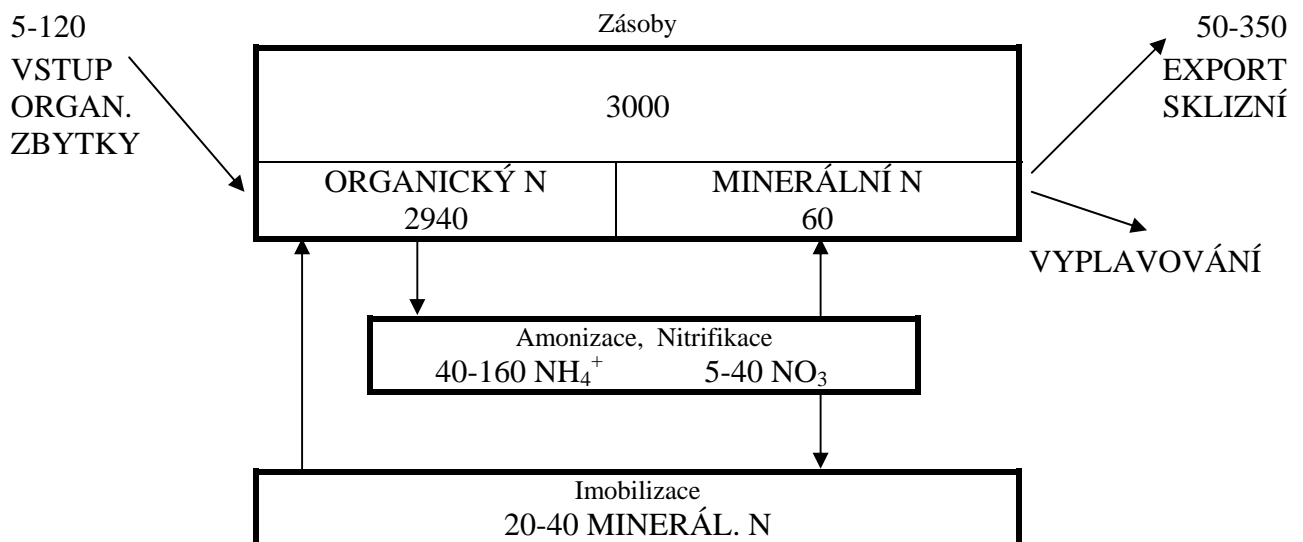
Půda je přirozeným zdrojem živin, které jsou zde přítomny většinou ve formách pro rostliny bezprostředně nedostupných (v půdní organické hmotě, absorbované na minerální částice, vázány v těžce rozpustných solích). Půdní mikroorganismy zpřístupňují živiny z půdní zásoby buď rozkladem (mineralizací) organické půdní hmoty, nebo urychlují

chemické reakce produkty svého metabolismu. Půdně-biologické procesy, jimiž jsou zpřístupňovány dva nejdůležitější makrobiogenní prvky, dusík a fosfor je možno charakterizovat následovně.

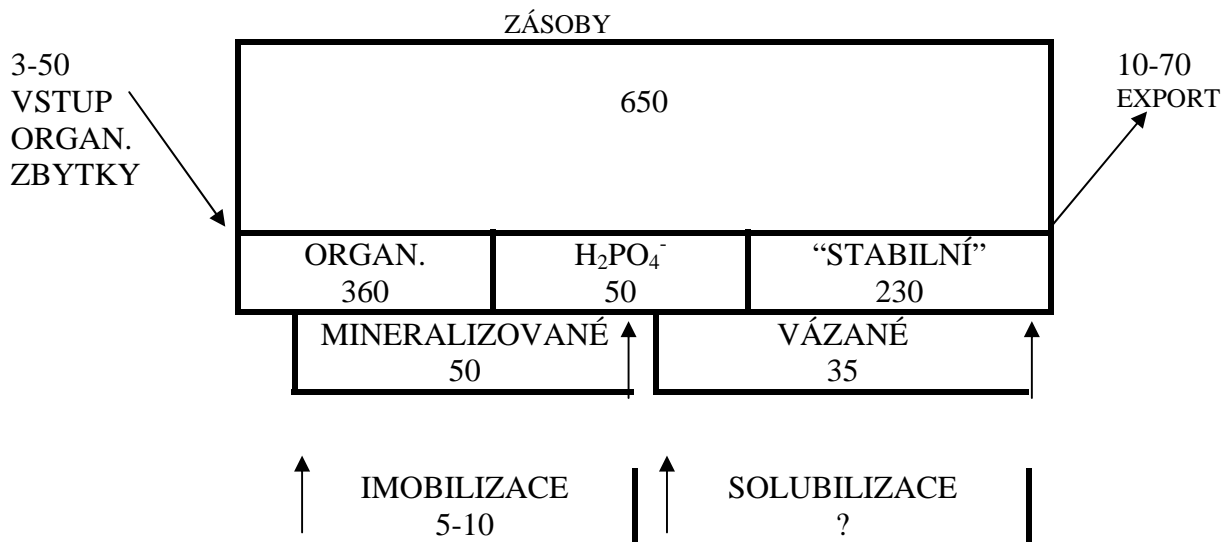
Většina půdního N je vázána v organických sloučeninách, především v bílkovinách. Minerální formy N, kterých může rostlina využít, reprezentují v orných půdách v průměru jen 1-5% z celkové zásoby N v půdě (Tab. 14). Nejvýznamnějšími půdně-biologickými procesy, kterými je zpřístupňován N z půdní zásoby jsou amonizace, tj. mineralizace organického N na N-NH_4^+ a nitrifikace, tj. oxidace N-NH_4^+ na N-NO_3^- . Těmito mikrobiálními procesy je v závislosti na vnějších podmínkách ročně mobilizována cca 7% z celkové zásoby N v půdě. Část mobilizovaného N může být zpětně imobilizována půdními mikroorganismy. Imobilizováno může být až 23 % z minerálních forem N, přítomných v půdě. Rozsah imobilizace je výrazně regulován poměrem C/N. Mobilizace N z půdních zásob nepokrývá obvykle export N se sklizní (Tab. 14), dusík je proto nutno doplňovat hnojením.

Tab. 14 Zásoby N v půdě ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$), vstupy N do půdy s organickými zbytky, export N sklizní ($\text{kg}\cdot\text{N}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{rok}^{-1}$) a rychlost mineralizace organického N (kgNH_4^+ , NO_3^- .rok).
(Sestaveno z údajů Bielek, 1984, Duvigneaud, 1988 Úlehlová, 1989).

Orné půdy.



Tab. 15 Zásoby P v půdě ($\text{kg P}\cdot\text{ha}^{-1}$), vstupy P do půdy s organickými zbytky, export P sklizní ($\text{kg}\cdot\text{P}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{rok}^{-1}$) a rychlosti mobilizace a imobilizace P ($\text{kg}\cdot\text{ha}\cdot\text{rok}^{-1}$). (Sestaveno z údajů Duvigneaud, 1988, Úlehlová, Tesařová, 1988, Laegreid et al., 1999). Orné půdy.



Z celkového množství půdního fosforu je jen asi 8% ve formě využitelné rostlinami (tj. H_2PO_4^-). Asi 25-85% půdního P je vázáno v organických sloučeninách a cca 35% v těžce rozpustných solích kyseliny fosforečné (Tab. 15). Mikrobiální mobilizace půdního fosforu zahrnuje v podstatě dva procesy: 1) mineralizaci organicky vázaného P na H_2PO_4^- . Proces je katalyzován mikrobiálními enzymy fosfatázami. Pokud není tato forma bezprostředně využita rostlinami či půdními mikroorganismy, váže se v půdě velmi rychle na vápník, železo či hliník a tvoří s nimi těžce rozpustné soli kyseliny fosforečné. Takto může být rychle přeměněno až 70% P mobilizovaného půdními mikroorganismy. 2) solubilizaci P z těžce rozpustných solí kyseliny fosforečné. Proces zabezpečují organické kyseliny, produkované půdními bakteriemi. Solubilizace fosfátů je podle současných poznatků velmi perspektivní způsob zpřístupňování P rostlinám. Např. Mikanová, Kubát (1995) uvádějí, že 25-30% půdních mikroorganismů má schopnost transformovat málo rozpustné fosfáty do forem rozpustných. Mikanová (2000) experimentálně ověřila, že tuto schopnost mají i některé kmeny bakterií rodu *Rhizobium* (viz dále) a že podporou P-solubilizační aktivity půdních mikroorganismů by bylo možné podstatně snížit dávky fosforečných hnojiv.

Zpřístupňování živin organismy, které žijí s rostlinou v symbióze

K živinám, které rostlina získává symbiózou s půdními organismy patří především dusík a fosfor. Je to především:

Symbióza bakterií poutajících vzdušný N₂ s kořeny rostlin

Rostliny a mikroorganismy žijí v atmosféře obsahující velké množství molekulárního dusíku (78%). Pro rostliny je však tento dusík nedostupný, z mikroorganismů ho dovede využít jen asi 50 druhů bakterií a sinic. Jde o mikroorganismy, k jejichž enzymatické výbavě patří nitrogenáza, která katalyzuje redukci vzdušného N₂ na NH₃.

V podmínkách mírného pásma je hospodářsky nejvýznamnější symbióza mezi bakteriemi rodu *Rhizobium* a kořeny bobovitých (Fabaceae). Touto symbiózou se napoutá asi 40-300 kg N . ha⁻¹ za rok (Tab. 16). Množství napoutaného dusíku lze zvyšovat očkováním semen či rostlin preparáty obsahujícími bakterie fixující N₂ (u nás preparát Rizobin), příp. genetickými manipulacemi fixátorů N₂ i bobovitých rostlin.

Tab. 16. Fixace molekulárního N₂ bakteriemi rodu *Rhizobium* v symbióze s kořeny bobovitých rostlin. (Werner, 1995)

Rostliny	Druhy rodu <i>Rhizobium</i>	Množství fixovaného N v kg . ha ⁻¹ za rok
jetel (<i>Trifolium</i>)	<i>R. trifolii</i>	45-340
fazol (<i>Phaseolus</i>)	<i>R. phaseoli</i>	63-340
čočka (<i>Lens</i>)	<i>R. leguminosarum</i>	88-114
hrách (<i>Pisum</i>)	<i>R. leguminosarum</i>	52-77
vlčí bob (<i>Lupinus</i>)	<i>R. lupini</i>	142-203
vojtěška (<i>Medicago</i>)	<i>R. meliloti</i>	90-340

Zvýšení efektivity preparátu Rizobin lze očekávat v souvislosti s novými poznatky o P-solubilizační aktivitě některých bakterií rodu *Rhizobium*. Výsledky nádobových i polních pokusů mj. potvrzují, že inokulace rostlin kmeny rizobií s P-solubilizační aktivitou zvyšuje nejen symbiotickou fixaci N₂ (Mikanová, Kubát, 1997,1999), výnos rostlin, ale i obsah P v rostlině a množství přístupného fosforu v půdě (Mikanová, Kubát, 1994, Mikanová et al., 1995) – viz Tab. 17. Uvedené poznatky otevírají možnost snížit dávky fosforečného hnojení při inokulaci rostliny bakteriemi rodu *Rhizobium* s P-solubilizační aktivitou.

Tab. 17. Vliv inokulace semen jetele lučního, odrůda Tempus bakterií *Rhizobium trifolii* (kmenem D 631 s P-solubilitační aktivitou) na výnos tří sečí nadzemní hmoty (NH), nitrogenázovou aktivitu (TNA), procentický obsah fosforu v NH a obsah labilního P v půdě. Nádobový pokus. (Mikanová,2000, upraveno)

	Kontrola (neinokulováno)	Rhizobium trifolii kmen D 631
Sušina NH,g	32,6	34,4
TNA $\mu\text{mol C}_2\text{H}_2\cdot\text{h}^{-1}$	1,52	4,24
% P v sušině NH	0,29	0,32
P labilní $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	24,0	39,3

Symbióza hub s kořeny rostlin (mykorhiza)

Mykorhiza je v přírodě velmi rozšířená – byla potvrzena již u více než 90% cévnatých rostlin. Hlavními rysy látkové výměny v symbióze houby – rostliny je zvýšený příjem minerálních živin (nejvíce fosforu) a vody mykorhizními houbami a tok sacharidů z rostliny do houby. Některé mykorhizní houby produkují rovněž růstové hormony (auxiny a cytokininy), což často vyvolává morfologické změny kořenů a následně přispívá k účinnějšímu využívání živin rostlinou (Salisbury, Ross, 1991).

U hospodářsky významných druhů rostlin (např. jeteloviny, hrách, vinná réva, jabloně aj.) je značně rozšířen jeden z typů endotrofní mykorhizy – vezikulo- arbuskulární (VA mykorhiza). Její vliv na výživu rostlin fosforem a dusíkem studovali mj. Kim et al.(1998). V nádobových pokusech inokulovali sazenice rajčat mykorhizní houbou *Glomus etunicatum* a hodnotili příjem N a P rostlinou. Ve srovnání s kontrolou byla sušina inokulovaných rostlin vyšší a obsahovala větší množství P i N (Tab . 18).

Tab. 18 Svěží a suchá hmotnost a obsah P a N u nadzemní biomasy rajčat inokulovaných VA houbou *Glomus etunicatum*. Nádobový pokus, hodnoceno po 75 dnech. Kim et al., 1998 (upraveno)

	Kontrola (neinokulováno)	Glomus etunicatum
svěží hmotnost,g	352,30	404,26
sušina,g	42,21	47,62
obsah P ($\text{mg}\cdot\text{rostlina}^{-1}$)	116,46	120,94
obsah N ($\text{mg}\cdot\text{rostlina}^{-1}$)	1172,90	1417,80

Z řady pokusů však vyplývá, že vliv VA-hub na zlepšení výživy rostlin fosforem závisí na jeho obsahu v půdě. Efektivita inokulace rostlin VA- houbami je obvykle vyšší v půdách, kde je nedostatek dostupného fosforu. Potvrdil to např. Vosátka (1995) v pokusech s česnekem. Svěží hmotnost palic se po inokulaci VA-houbami ztrojnásobila v půdě s nízkým obsahem přístupného P. Hnojení půdy P a zavlažování efektivitu VA-hub snižovalo (Tab. 19).

Tab. 19 Vliv inokulace česneku VA – houbami *Glomus etunicatum* (GE) a *G. caledonium* (GC) na hmotnost palic v půdě s různým obsahem P a vody. (Vosátka, 1995, upraveno)

	Kontrola (neinokulováno)	GE	GC
	svěží hmotnost palic v g		
-P, - voda	8,5	26,5	27,0
+P, - voda	12,0	24,0	15,0
+P, + voda	13,5	23,5	15,0

Přetrvávajícím nedostatkem půdně-biologického výzkumu ve vztahu k výživě rostlin je oddělené sledování procesů mobilizace, imobilizace v půdě a spotřeby živin rostlinami. Toto nesystémové pojetí neumožňuje hodnotit tok živin v půdě a identifikovat podmínky, za nichž dochází k jejich úniku z půdy.

4. Využití půdních mikroorganismů pro zvýšení bezpečnosti rostlinných produktů. Současný stav a perspektivy

4.1. Arbuskulární mykorhiza

V posledních letech je především v souvislosti s problematikou trvale udržitelného zemědělství a zdraví rostlin přehodnocována role arbuskulární mykorhizy (AM) v systému rostlina-půda. Je totiž zřejmé, že se nejedná pouze o symbiózu rostliny s endofytní houbou, ale že tato symbióza může ovlivňovat půdu jako celek (Schreiner a Bethlenfalway, 1995). Informací o souběžném vlivu AM hub jak na nadzemní a podzemní části rostlin, tak na půdní organismy a procesy které zabezpečují, je ale velmi málo (Andrade et al., 1995).

Vesikulo-arbuskulární mykorhiza (AM) je nejrozšířenější formou mutualistické symbiózy v rostlinném světě. Více než 90% vyšších rostlin vstupuje s různými druhy hub do tohoto typu symbiózy, což představuje asi 11 000 rodů a 225 000 druhů rostlin. Pro tento druh mykorhizy je typické rozrůstání hyf v inter- a intracelulárních prostorách a tvorba bohatého

mycelia. Nikdy se nevytváří hyfový plášť na povrchu kořínků (Hartigova síť), nedochází k morfologickým změnám ve stavbě kořínků a kořeny mají kořenové vlášení.

Za základní mechanismy, jejichž prostřednictvím může AM mykorhiza zlepšovat růst a zdraví rostlin, je považováno (Varma a Hock, 1999):

- Zvýšení příjmu některých živin rostlinou. Nejlépe je z tohoto hlediska prostudován příjem fosforu. Fosfor se vyskytuje v půdě zpravidla v dostatečném množství. Je však velice silně poután v půdním sorpčním komplexu, a tedy je pro rostlinu nedostupný. Rostliny jej mohou přijímat jen z bezprostřední blízkosti povrchu kořenů. Mycelium houby je schopno fosfor uvolňovat z půdního sorpčního komplexu a transportovat jej ve své cytoplazmě do buněk hostitele. Podobný efekt byl posán pro příjem amonných iontů, zinku, mědi a některých dalších prvků.
- Zlepšení vodního režimu rostliny. AM houby zprostředkovávají pro rostliny transport vody a živin ze 7 až 10x většímu objemu půdy než samotné kořenové vlášení rostliny. U silně mykorhizovaných rostlin se zmenšují vlivy vlhkostních výkyvů a voda je v rostlině pohyblivější. Mykorhizní rostliny mají více chlorofylu v listech, více transpirují a mají zvýšenou intenzitu fotosyntézy.
- Zvýšení odolnosti rostlin proti houbovým onemocněním. AM houby mohou regulovat strukturu půdně-mikrobiálních společenstev a tím vytěsňovat škodlivé patogeny a vytvářet tak přírodní bariéru, ztěžují překonatelnou škodlivými houbami a patogeny. Bylo zjištěno, že rostliny s řídko větveným kořenovým systémem profytují zejména díky zvýšenému příjmu fosforu, zatímco rostliny se silně větvenými kořeny z ochranných účinků AM proti kořenovým patogenům. V případě středně větvených kořenových se tyto funkce prolínají (Newsham et al., 1995).
- Zvýšení odolnosti rostliny vůči abiotickým environmentálním stresům, jako je nízká teplota, sucho, salinita a nízké pH (Baláž, 1996; Barma, 1999). VAM symbiózy mohou hrát rozhodující roli v ochraně rostlin před těžkými kovy. Schopnost ochrany se nicméně liší mezi různými izoláty mykorhizních hub a odlišnými těžkými kovy. Důležitá pro zadržení těžkých kovů se ukázala hmotnost mycelia (Galli et al., 1994; Sidibé, Tesařová, 2001).

Vzhledem k významu mykorhizy pro výživu rostlin a pro zvýšení odolnosti rostlin k nepříznivým faktorům se již dlouho hledají způsoby, jak podpořit vznik této symbiózy. Za perspektivní se považuje především zvyšování počtu propagulí mykorhizních hub, a to jejich zapravením do půdy či očkovaním kořenů rostlin (viz mj. údaje, které uvádí Werner, 1987 – Tab 20.)

Tab. 20. Zvýšení výnosů po inokulaci rostlin AM houbami (Werner, 1987).

Rostlina	Houba (G = Glomus)	Zvýšení výnosů v % kontroly
Pšenice (<i>Triticum aestivum</i>)	<i>G. mosseae</i>	300
Ječmen (<i>Hordeum vulgare</i>)	<i>G. caledonicum</i>	130 - 400
Kukuřice (<i>Zea mays</i>)	<i>G. mosseae</i>	230
Sója (<i>Glycine max</i>)	<i>Gigaspora calospora</i>	100 - 150
Vojtěška (<i>Medicago sativa</i>)	<i>G. caledonicum</i>	400
Jetel (<i>Trifolium</i> spp.)	<i>G. fasciculatum</i> <i>G. mosseae</i>	130
Brambory (<i>Solanum tuberosum</i>)	Endogenní půdní populace	120
Jabloň (<i>Malus pumila</i>)	<i>G. fasciculatum</i>	170 - 400
Broskvoň (<i>Prunus persica</i>)	<i>G. fasciculatum</i>	180
Kávovník (<i>Coffea</i> spp.)	<i>Gigaspora margarita</i>	300 - 1000
Bavlník (<i>Gossypum</i> spp.)	<i>G. macrocarpum</i>	150
Citroník (<i>Citrus lemonum</i>)	<i>G. mosseae</i>	200
Len (<i>Linum usitatissimum</i>)	<i>G. macrocarpum</i>	160

V současné době se ale zintenzívnily výzkumy zaměřené na podporu ustavení mykorhizy s využitím mycelia a spor mykorhizních hub, které jsou běžně přítomné v půdě. Podle dosavadních zjištění se počty spor AM hub v orných půdách pohybují v desítkách až stovkách v přepočtu na 10 g půdy. Spory přitom zůstávají v půdě životaschopné i několik let. Problém ale je, že tyto spory špatně klíčí. Některé výsledky naznačují, že klíčení mohou iniciovat biologické preparáty, (které současně stimulují aktivitu ostatních půdních mikroorganismů). Bylo to prokázáno v nádobových pokusech se salátem a jabloněmi, kde byl hodnocen stupeň kolonizace kořenů mykorhizními houbami v kontrolní (neošetřené) půdě, v půdě inokulované preparátem Vambac (obsahuje AM houby rodu *Glomus* a *Gigaspora*) a půdě ošetřené biologickým preparátem Amalgerol (obsahuje výtažky z trav a řas) – Tab 21. Nejvyšší kolonizace kořenů AM houbami byla zaznamenána při použití AM hub (preparát Vambac), ale výsledky získané ve variantách s Amalgerolem se ale statisticky průkazně nelišily.

Tab. 21 Kolonizace kořenů salátu a jabloní AM houbami. 1 – kontrola, 2 – biologický přípravek Amalgerol, 3 – inokulace AM houbami.

	Salát	Jabloně
Kolonizace kořenů AM houbami v %		
1	39,09 ^a	4,00 ^a
2	51,22 ^b	26,0 ^b
3	60,90 ^b	34,0 ^b

Houby ve sloupcích označené různými písmeny jsou statisticky průkazně odlišné.