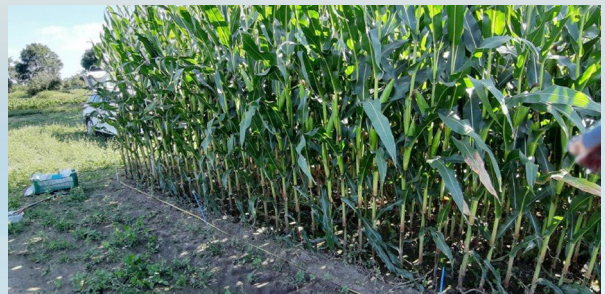
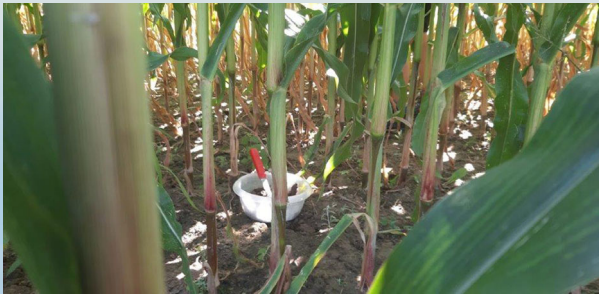




Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský



Možnost rizika kontaminace polní produkce při používání kalů ČOV na zemědělské půdě, posouzení možnosti kontaminace rostlinných produktů po aplikaci kalu, v němž výskyt patogenních mikroorganismů překračuje hodnoty kritérií stanovených vyhláškou č. 273/2021 Sb.

č. 25785/2020-MZe-18145

Výroční zpráva za rok 2021

Brno, leden 2022

Č.j.: UKZUZ 002708/2022

**Možnost rizika kontaminace polní produkce při používání kalů ČOV
na zemědělské půdě, posouzení možnosti kontaminace rostlinných produktů
po aplikaci kalu, v němž výskyt patogenních mikroorganismů překračuje hodnoty
kritérií stanovených vyhláškou č. 273/2021 Sb. Úkol bude řešen v návaznosti
na Směrnici Rady EHS 91/271/ ze dne 21. 5. 2001.**

č. 25785/2020-MZe-18145

Výroční zpráva za rok 2021

Autorský kolektiv:

Ing. Šárka Buráňová, PhD.

Ing. Jaroslav Hynšt, PhD.

Mgr. Šárka Poláková, PhD.

Ing. Michaela Smatanová, Ph.D.

MSc. Kateřina Šléglová

Schválil: Ing. Miroslav Florián, PhD.

Předkládá: Ing. Daniel Jurečka

Obsah	strana
ZADÁNÍ PROJEKTU	4
SKUTEČNÉ FINANČNÍ ČERPÁNÍ	7
LEGISLATIVNÍ RÁMEC.....	8
KAPITOLA I LITERÁRNÍ REŠERŠE	10
1.1 Úvod	10
1.2 Patogenní organismy v čistírenských kalech	10
1.3 Účinnost hygienizace čistírenských kalů.....	14
1.4 Legislativní přístup jednotlivých zemí k nakládání s čistírenskými kaly.....	15
1.5 Seznam použité literatury	20
KAPITOLA II ŠETŘENÍ V TERÉNU	25
2 Metodika	25
3 Výsledky a diskuze	26
3.1 <i>Salmonella</i> spp.	26
3.2 Termotolerantní koliformní bakterie	26
3.3 <i>E.coli</i>	26
3.4 Enterokoky	26
4 Závěry terénního šetření.....	28
KAPITOLA III POLNÍ ZKOUŠKA	31
1 Metodika	31
1.1 Organizace polní zkoušky	31
1.2 Popis pokusných stanovišť	32
1.3 Charakteristika čistírenského kalu a jeho aplikace do půdy.....	32
1.4 Odběry vzorků	34
1.5 Mikrobiologické analýzy vzorků	34
2 Průběh vegetace.....	35
2.1 Agrotechnické záznamy.....	35
2.2 Klimatické podmínky	36
3 Mikrobiologické analýzy rostlinného materiálu.....	37
3.1 Počet <i>Escherichia Coli</i> v rostlinách	37
3.2 Počet enterokoků v rostlinách.....	38
3.3 Počet termotolerantních koliformních bakterií v rostlinách	40
3.4 Výskyt <i>Salmonelly</i> spp. v rostlinách.....	41
4 MIKROBIOLOGICKÉ ANALÝZY PŮDNÍCH VZORKŮ.....	42
4.1 Počet <i>Escherichia Coli</i> v půdě	42
4.2 Počet enterokoků v půdě	43

4.3 Počet termotolerantních koliformních bakterií v půdě.....	45
4.4 Výskyt <i>Salmonelly</i> spp. v půdě	46
5 Porovnání mikrobiologických analýz rostlin a půdy	48
5.1 Porovnání <i>Escherichia Coli</i> v rostlinách a půdě	48
5.2 Porovnání enterokoků v rostlinách a půdě	49
5.3 Porovnání termotolerantních koliformních bakterií v rostlinách a půdě.....	50
5.4 Porovnání <i>Salmonelly</i> spp. a důkazových testů v rostlinách a půdě	51
6 Fotodokumentace polního pokusu	52
7 Závěry polního pokusu	54
8 Použité zkratky	54
KAPITOLA IV NÁDOBOVÁ ZKOUŠKA	55
1 Metodika	55
1.1 Úvod	55
1.2 Vlastnosti použité půdy.....	55
1.3 Zkoušené plodiny	56
1.4 Dávky hnojiv a schéma nádobové zkoušky.....	56
1.5 Charakteristika čistírenského kalu a jeho použití.....	56
1.6 Technika založení a rozsah zkoušky.....	57
1.7 Odběry vzorků	58
2 Výsledky mikrobiologické analýzy rostlinného materiálu	59
2.1 Počet <i>Escherichia Coli</i> ve vzorcích rostlinného materiálu	59
2.2 Počet enterokoků ve vzorcích rostlinného materiálu	60
2.3 Počet termotolerantních koliformních bakterií ve vzorcích rostlinného materiálu.....	60
2.4 Výskyt <i>Salmonelly</i> spp. ve vzorcích rostlinného materiálu.....	62
3 Výsledky mikrobiologické analýzy vzorků půdy.....	62
3.1 Počet <i>Escherichia Coli</i> ve vzorcích půdy	62
3.2 Počet enterokoků ve vzorcích půdy	63
3.3 Počet termotolerantních koliformních bakterií ve vzorcích půdy.....	64
3.4 Výskyt <i>Salmonelly</i> spp. ve vzorcích půdy.....	65
4 Závěry nádobového pokusu.....	65
5 Použité zkratky	65
ZÁVĚREČNÉ SHRNUÍ PROJEKTU	66

ZADÁNÍ PROJEKTU

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský byl provedením projektu oficiálně pověřen v roce 2020. Detaily cílů a finanční kalkulace byly pro rok 2021 mírně odlišné, neshodují se proto se zazáním z 21.5. 2020.

Cílem projektu v roce 2021 bylo:

1. Šetřením v terénu posoudit, zda aplikace kalů ČOV na zemědělskou půdu způsobila na těchto pozemcích kontaminaci půdy a pěstovaných plodin patogenními organismy.
2. V podmínkách přesné polní zkoušky ověřit možnou kontaminaci polní produkce při použití neupraveného kalu na zemědělské půdě v podzimní a jarní aplikaci při ve srovnání s nehnojenou variantou.
3. V přesné násobkové zkoušce zjistit, zda aplikace kalu zvýší mikrobiální kontaminaci půdy a sklizených produktů ve srovnání s nehnojenou kontrolou a variantou hnojenou chlěvským hnojem.

Zadání projektu č. 25785/2020-MZE-18145 „Možnost rizika kontaminace polní produkce při používání kalů ČOV na zemědělské půdě“ ve kterém bude posuzována možnost kontaminace rostlinných produktů po aplikaci kalu, v němž výskyt patogenních mikroorganismů překračuje hodnoty kritérií stanovených vyhláškou č. 437/2016 Sb. Úkol bude řešen v návaznosti na Směrnici Rady EHS 91/271/ ze dne 21. 5. 2001.

Cíl projektu:

Ve vyhlášce č. 437/2016 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě je zakotvena povinnost od 1. 1. 2023 plnit přísnější limity mikrobiologických ukazatelů (stávající hodnoty 10^3 – 10^6 KTJ/ g sušiny, nový limit do 10^3 KTJ/ g sušiny). Účelem projektu je posoudit oprávněnost tohoto zpřísnění, zda v reálné praxi, za dodržování současných předpisů, vyvstává riziko použití kalů či nikoli.

- 1) Šetřením v terénu posoudit, zda aplikace kalů ČOV na zemědělskou půdu způsobila na těchto pozemcích kontaminaci půdy a pěstovaných plodin patogenními organismy.
- 2) V podmínkách přesné polní zkoušky posoudit rizika kontaminace polní produkce a půdy patogenními organismy po aplikaci ČOV kalů, podle vyhlášky č. 437/2016 Sb.
- 3) V podmínkách vegetační nádobové zkoušky posoudit rizika kontaminace zeleniny, brambor, ječmene a půdy patogenními organismy po aplikaci ČOV kalů, podle vyhlášky č. 437/2016 Sb.
- 4) Zpracování literární rešerše formou informací z vědecké literatury včetně zhodnocení přístupu dalších zemí, zejména EU k problematice využívání čistírenských kalů v zemědělství.

Zadavatel: Česká republika – Ministerstvo zemědělství, Odbor zemědělských komodit 18140

Doba řešení: 2020/2021

Řešitel: Česká republika – Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (dále jen ÚKZÚZ)

Jehož jménem jedná pověřený pracovník

Ing. Michaela Smatanová, Ph.D.

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Hroznová 2, 656 06 Brno je od 1. 1. 2001 podle § 51 odst.1 z. č.219/2000 Sb. organizační složkou státu. Zřizovatelem je dle zřizovací listiny č. j. 25586/01-3030 Ministerstvo zemědělství ČR.

Předmětem činnosti dle zřizovací listiny je kromě jiného správní, kontrolní a dozorová činnost dle zákona č.156/1998 Sb., o hnojivech, ve znění pozdějších předpisů. Dále ÚKZÚZ vykonává odborné činnosti spočívající ve vyvíjení a ověřování laboratorních postupů, metod zkoušení a metod provádění a vyhodnocování vegetačních a biologických zkoušek a ve zpracování jednotných pracovních postupů a zajišťování jejich harmonizace s evropskými a mezinárodními technickými normami, dále v monitoringu výskytu rizikových látek a kontaminantů v krmivech, půdě a ve vstupech do půdy ve vazbě na komplexní zajištění nezávadnosti zemědělských výrobků.

I. Specifikace řešení projektu

1. Bude provedeno šetření u vybraných zemědělských subjektů, kde prokazatelně proběhla v souladu s platnými legislativními předpisy na podzim 2019 anebo na jaře 2020 aplikace kalů ČOV na půdu. Na těchto pozemcích budou v období sklizně či těsně před ní odebrány půdní vzorky a vzorky pěstovaných plodin (hlavní produkt) ve sklizňové zralosti. Ve všech vzorcích bude zjišťován výskyt *Salmonely* spp., množství Termotolerantních koliformních bakterií a Enterokoků.
2. Čistírenský kal, v němž byly zjištěny nadlimitní obsahy Termotolerantních koliformních bakterií bude aplikován na čtyřech zkušebních stanicích ÚKZÚZ v dávce 5 t/ha v sušině. Kal bude zapraven do půdy při přípravě půdy před setím. Možnost rizika kontaminace polní produkce bude zkoumána na kukuřici a ječmeni, v jejichž hlavních sklizňových produktech bude zjišťován výskyt *Salmonely* spp., množství Termotolerantních koliformních bakterií a Enterokoků. Tytéž parametry budou hodnoceny v půdních vzorcích odebíraných současně s rostlinnými produkty. Zjištěné výsledky mikrobiologických analýz budou porovnány s kontrolními variantami osetými plodinami, avšak bez jakýchkoliv dalších zásahů.
3. Čistírenský kal, v němž byly zjištěny nadlimitní obsahy Termotolerantních koliformních bakterií bude aplikován ve vegetační nádobové zkoušce prováděné ve vegetační hale ÚKZÚZ. Schéma zkoušky bude zahrnovat variantu s aplikací kalu a kontrolní variantu bez použití kalu. Obě varianty budou ověřovány na třech plodinách, a to na bramborách, jarním ječmeni a paprice. Kal v ekvivalentní dávce 5 t/ha v sušině bude aplikován do vegetačních nádob před setím ječmene, výsadbou brambor a sazenic paprik. V hlavních sklizňových produktech bude zjišťován výskyt *Salmonely* spp., množství Termotolerantních koliformních bakterií a Enterokoků. Tytéž parametry budou hodnoceny v půdních vzorcích odebíraných současně s hlavními rostlinnými produkty. Zjištěné výsledky mikrobiologických analýz budou porovnány s kontrolními variantami bez dalších zásahů.
4. K problematice využívání čistírenských kalů na zemědělské půdě bude zpracována podrobná literární rešerše zahrnující legislativní přístup dalších zemí, zejména EU.

II. Doba a způsob plnění úkolů

Předání výsledků řešení projektu formou závěrečné zprávy za rok 2020 v písemné a digitální podobě bude (z technických a časových důvodů – analýzy půdních a rostlinných vzorků) nejpozději do 31. 3. 2021.

III. Způsob zajištění prostředků na řešení projektu

Projekt xxxx/2020-MZE-xxxxx „Možnost rizika kontaminace polní produkce při používání kalů ČOV na zemědělské půdě“ formou terénního šetření, dále polních a nádobových zkoušek bude řešen nad rámec činností krytých z příspěvků zřizovatele na činnost organizace.

Finanční kalkulace

Majetek, služby a spotřební materiál:

Mikrobiologické analýzy	248 000
Ostatní náklady (materiál, služby)	225 000
Provedení polních zkoušek, zkušební stanice (materiál, služby)	245 000
Vzorkovací pomůcky	75 000
OOPP a hygienické pomůcky	80 000
PHM a cestovní náklady	27 000
Celkové předpokládané finanční výdaje	900 000

Prostředky na řešení projektu v roce 2020 ve výši 900 000 Kč včetně DPH, budou převedeny formou rozpočtového opatření z limitu výdajů MZe, Odbor zemědělských komodit do rozpočtu ÚKZÚZ.

Prostředky budou převedeny do rozpočtu ÚKZÚZ do 10 dnů od schválení projektu.

Finanční prostředky jsou určeny na kompenzaci výdajů vynaložených na řešení projektu v průběhu roku 2020, počínaje 1.6.2020.

Příloha: Finanční kalkulace

Dne: 21/5/2020

Schválil: Ing. Miroslava Czetmayer Ehrlichová
ředitelka odboru zemědělských komodit 18140 MZe

..... 

SKUTEČNÉ FINANČNÍ ČERPÁNÍ

Zpracovala: Kateřina Šléglová

Finanční kalkulace projektu platná pro rok 2021

Majetek, služby a spotřební materiál (Kč)

Mikrobiologické analýzy	194 749,50
Ostatní náklady (materiál, služby)	17 531,73
PHM a cestovní náklady	9 410,00
Vzorkovací pomůcky	75 508,83
OOPP a hygienické pomůcky	2 799,94
Celkem	300 000,00

LEGISLATIVNÍ RÁMEC

V průběhu řešení projektu došlo k legislativním změnám. Nakládání s kaly se nově řídí zákonem č. 541/2020 Sb. a jeho prováděcími předpisy. S novelou zákona o odpadech byla prováděcí vyhláška č. 437/2016 Sb. zrušena a nahrazena vyhláškou č. 273/2021 Sb. o podrobnostech nakládání s odpady.

Technické podmínky použití podle § 59 umožňují použít na 1 hektar nejvýše 5 tun sušiny kalů; upravené kaly musí být na jednom dílu půdního bloku použity v jedné agrotechnické operaci a v jednom souvislém časovém období za příznivých fyzikálních a vlhkostních podmínek; pokud použité kaly obsahují méně než polovinu limitního množství každé ze sledovaných rizikových látek a prvků, může množství kalů dosáhnout 10 tun sušiny kalů na 1 hektar. V aplikovaných kálech nesmí být překročeny mezní hodnoty koncentrací vybraných rizikových látek a prvků uvedených v příloze č. 38 a zároveň musí vyhovovat mikrobiologickým kritériím uvedeným v příloze č. 28 této vyhlášky.

Současně lze uplatnit přechodná ustanovení. Podle § 81 odst. 5 (2), nejedná-li se o kal z čistíren odpadních vod zpracovávajících biologicky rozložitelné odpady spadající do působnosti nařízení o vedlejších produktech živočišného původu, mohou být do 31. prosince 2022 na zemědělskou půdu použity upravené kaly kategorie I. a II. podle přílohy č. 7 vyhlášky č. 437/2016 Sb., které

- a) nepřekračují mezní hodnoty koncentrací vybraných rizikových látek a prvků uvedené v příloze č. 3 k této vyhlášce a
- b) vyhovují mikrobiologickým kritériím uvedeným v tabulce č. 1 přílohy č. 7 k této vyhlášce v případě kalů kategorie I nebo tabulce č. 2 přílohy č. 7 k této vyhlášce v případě kalů kategorie II.

(3) kaly kategorie II podle odstavce 2 mohou být použity pouze na zemědělské půdě určené k pěstování technických plodin nebo v podzimním období na půdě určené k pěstování běžných plodin.

(4) Na dílu půdního bloku, kde byl použit kal kategorie II, nesmí být nejméně 3 roky po použití kalu pěstována polní zelenina, brambory a intenzivně plodící ovocná výsadba.

Tabulka 1: Mikrobiologická kritéria pro upravený kal pro aplikaci na zemědělské půdě – příloha č. 28 vyhlášky č. 273/2021 Sb.

Indikátorový mikroorganismus	Jednotky	Počet zkoušených vzorků při každé kontrole výstupu	Limitní hodnota (nález/ KTJ*)	
<i>Salmonella</i> spp.	nález v 50 g	5	negativní	
<i>Escherichia coli</i> nebo Enterokoky	KTJ* v 1 gramu	5	4	$< 10^3$
			1	$< 5 \times 10^3$

*KTJ – kolonie tvořící jednotky

Tabulka 2: Mikrobiologická kritéria pro upravený kal pro aplikaci na zemědělské půdě v přechodném období – kal kategorie I.

Indikátorový mikroorganismus	Jednotky	Počet zkoušených vzorků při každé kontrole výstupu	Limitní hodnota (nález/ KTJ*)
<i>Salmonella</i> spp.	nález v 1 g sušiny	5	negativní
Termotolerantní koliformní bakterie	KTJ* v 1 gramu sušiny	5	$< 10^3$
Enterokoky	KTJ* v 1 gramu sušiny	5	$< 10^3$

* KTJ – kolonie tvořící jednotky

Tabulka 3: Mikrobiologická kritéria pro upravený kal pro aplikaci na zemědělské půdě v přechodném období – kal kategorie II.

Indikátorový mikroorganismus	Jednotky	Počet zkoušených vzorků při každé kontrole výstupu	Limitní hodnota (nález/ KTJ*)
Termotolerantní koliformní bakterie	KTJ* v 1 gramu sušiny	5	$10^3 - 10^6$
Enterokoky	KTJ* v 1 gramu sušiny	5	$10^3 - 10^6$

* KTJ – kolonie tvořící jednotky

KAPITOLA I LITERÁRNÍ REŠERŠE

Zpracovala: Šárka Buráňová

Literární rešerše na podkladu informací z vědecké literatury včetně zhodnocení přístupu dalších zemí, zejména EU k problematice využívání čistírenských kalů v zemědělství.

Rešerše byla publikovaná ve zprávě překládané v roce 2020.

1.1 Úvod

Čistírenský kal je odpad vznikající při čištění odpadních vod. Je to biologicky aktivní směs vody, organických látek (z lidských výměšků, potravinových odpadů atd.), mrtvých a živých mikroorganismů (včetně patogenů) a anorganických a organických toxických kontaminantů (např. rizikové prvky, PAU) (Kacprzak et al., 2017). V případě čistírenských kalů jsou dostupné výsledky dlouhodobých pokusů, které popisují příznivý vliv jejich aplikace na výnos plodin, ale také na půdní vlastnosti (vyšší vododržnost půd, vyšší retenční kapacitu, zvýšení agregace půd, zvýšení aerace, vyšší propustnost a infiltraci, snížení tvorby půdního škraloupu a vyšší sorpční schopnost půd). Aplikace čistírenských kalů ovlivňuje činnost mikroorganismů, rychlost mineralizace a z dlouhodobého hlediska také obsah organické hmoty v půdě. Organická hmota čistírenských kalů představuje stabilnější komponenty ve srovnání s rostlinnými zbytky, nebo močůvkou či kejdou.

Pro posouzení míry rizika při použití čistírenských kalů musí být známa schopnost přežití patogenů a musí být možné určit pravděpodobnost, s jakou lidé a hospodářská zvířata přijdou do styku s čistírenským kalem. Převažujícím názorem je, že riziko pro lidské zdraví, které představuje použití čistírenských kalů v zemědělství, je nízké (Cabaret et al., 2002; Gale, 2002; Gerba et al., 2002). Ačkoli je používání kalů z čistíren odpadních vod v zemědělství celosvětově uznáváno, je třeba vzít v úvahu některé problémy týkající se jeho kvality a dopadu na lidské zdraví. Komunální odpadní vody mohou obsahovat patogenní viry, bakterie, prvoky a vajíčka parazitů a aerosolizované mikroorganismy mohou být přítomny v mnoha fázích procesu čištění odpadních vod a kalů (Sanchez–Monedero et al., 2008). Čistírenské kaly mohou také zvýšit toxicitu některých v zemědělství používaných chemikálií (Lewis et al., 1999). Jednou z cest expozice člověka kalům aplikovaným do půdy se jeví znečištění podzemních vod používaných pro domácnosti (Ward a Mahler 1982).

1.2 Patogenní organismy v čistírenských kalech

Přímé monitorování všech patogenů obsažených v čistírenských kalech by bylo velmi nepraktické. Z tohoto důvodu se využívají indikátorové organismy, neboť se měří snadněji než specifické patogeny. V současné době jsou standardními mikrobiálními indikátory v kalech v USA fekální koliformní bakterie (US EPA, 2003) a *Escherichia coli* v normách EU (CEN, 2009). Bylo však popsáno, že jak fekální koliformní bakterie, tak *E. coli* jsou citlivější na stresory než většina patogenů virů, prvoků a parazitů (IAWPRC Study Group, 1991; Payment a Franco, 1993).

Přežití patogenních mikroorganismů v půdě závisí na mnoha faktorech prostředí, z nichž některé působí synergicky (Gerba et al., 1975). Inaktivace mikroorganismů může být způsobena fyzikálně–chemickými faktory, jako je obsah sušiny kalu, pH, typ půdy, teplota, vlhkost půdy, vystavení slunečnímu záření a vzduchu. Inaktivace může být také výsledkem

biologických faktorů, včetně predace, konkurence a produkce inhibičních látek půdními mikroorganismy (Gerba, 1986).

Dle Guan et Holley (2003) je fyzikálně–chemickým faktorem, který má největší vliv na bakterie v půdě, vlhkost. Obecně bylo pozorováno, že přežití mikroorganismů je nižší v létě a na písčitéch půdách (spíše než jílnatých), a když je kal rozmetán po povrchu půdy, spíše, než injektován (Nicholson et al., 2005). Množení fekálních koliformních bakterií podporuje aplikace dalších hnojiv (Estrada et al., 2004).

Schopnost přežití patogenních bakterií v půdě se liší i mezi jednotlivými druhy. Guan et Holley (2003) uvádějí, že *E. coli* O157:H7 a *Salmonella* přežívají v půdě déle než *Yersinia enterocolitica* a *Campylobacter intestinalis*. Vzhledem k četným parametrům prostředí ovlivňujícím přežití mikroorganismů a složitosti jejich interakce není divu, že výsledky uváděné v různých studiích se ne vždy shodují. Například dle Cools et al. (2001) může *E. coli* při teplotách kolem 25 °C a vysoké půdní vlhkosti (100 %) přežít déle než 80 dní. Podle Snowdona et al. (1989) je u bakterií často pozorováno přežití 12 týdnů. Zatímco Gibbs et al. (1997) a Jones (1986) našli *Salmonella* v půdě 36 a 37 týdnů po aplikaci čistírenských kalů, Watkins et Sleath (1981), Nicholson et al. (2005) a Gessel et al. (2004) ji nedetekovali již za méně než 6 týdnů. Predikce přežití bakterií v půdě je komplikovaná i z důvodu možnosti opětovného růstu (Bastos et Mara, 1995; Gibbs et al., 1997).

Gessel et al. (2004), kteří porovnávali chování bakterií a bakteriofágů v půdě po rozmetání tekutého hnoje, navrhli použití somatických kolifágů jako indikátorů virové kontaminace. Jejich výsledky potvrdily přežití kolifágů po dobu 143 dní, mnohem déle, než tomu bylo u salmonel a fekálních koliformních bakterií, které již nebyly detekovány po 10 dnech.

Výsledky Pourcher et al. (2007) ukazují, že přežití mikroorganismů enterického původu v kalu injektovaném do písčité půdy s nízkým obsahem organické hmoty na podzim je u enterovirů méně než 14 dní a u fekálních indikátorů více než 2 měsíce. Přítomnost enterických bakterií v půdě 2 měsíce po aplikaci dokládá zdravotní riziko spojené s aplikací neošetřeného kalu na půdu. Lim et al. (2014) uvádí, že kontakt enterických patogenů se stonky nebo plody rostlin vede k infiltraci a kolonizaci rostlinných tkání. Mnoho studií naznačuje, že enterické patogeny mohou napadat a internalizovat se do rostlin, ačkoli se nejedná o rostlinné patogeny. Pro úspěšnou kolonizaci musí enterické patogeny překonat bazální obranný systém rostlin a jejich přirozený imunitní systém.

Crute et al. (2005) zkoumali riziko přenosu patogenů na obilná zrna po pozemní aplikaci čistírenských kalů. Riziko přežití patogenů v půdě a jejich přenosu do zrna vyhodnotili jako nepravděpodobné. Množství indikátorových mikroorganismů (*Escherichia coli*, *Enterococci* a bakteriofágy) v půdě se v průběhu času snižovalo jak v polních, tak v nádobových pokusech. Indikátorové bakterie nebyly detekovány na listech pšenice vzorkovaných na poli 12 týdnů po aplikaci. Obecně bylo v kořenových zónách rostlin přítomno vyšší množství *E. coli* a enterokoků než v přilehlé půdě, ale nebyly zjištěny významné rozdíly na variantách s čistírenskými kaly a bez nich. Gagliardi et Karns (2002) uvedli, že *E. coli* O157:H7 přetrvávaly déle v půdě v přítomnosti kořenů žita a vojtěšky. Kořeny jiných rostlin však na tento patogen neměly žádný účinek a účinek rhizosféry na bakteriální populaci půdy byl specifický pro daný rostlinný druh.

Salmonella spp. patří mezi patogeny typicky se vyskytující v čistírenských kalech, její přítomnost byla dobře zdokumentována v mnoha studiích (Iranpour et Cox, 2006; Horswell et al., 2007; Sidhu et Toze, 2009; Viau et al., 2011). Výsledky studií ukazují, že čistírenské kaly mohou tento patogen šířit, pokud se kal aplikuje na zemědělská pole bez dodržení hygienických kritérií, neboť *Salmonella* spp. může při teplotě 20 až 30 °C zůstat životaschopná v půdě v rozmezí 30 až 968 dní (Heaton et Jones, 2008). Za podmínek dostatečné vlhkosti a dostupnosti uhlíku, lze pozorovat i její opětovný růst (Eamens et al., 2006; Gibbs et al., 1997). Plachá et al. (2001) studovali přežití *Salmonella typhimurium* během letního a zimního polního

skladování pevné frakce prasečí kejdy. Nálezy prokázaly, že teplota je nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím její přežití v životním prostředí. Holley et al. (2006) sledovali přežití salmonel v půdách po aplikaci hnoje. Počty salmonel se po aplikaci do půdy snížily a největší poklesy nastaly během prvního týdne. Vyšší vlhkost půdy a aplikace hnoje na jílovité půdě přežití salmonel zvýšily.

Salmonely jsou střevní patogeny člověka, i když jejich virulence a patogenita může kolísat ve velmi širokém rozmezí. Jejich přirozeným habitatem je lidská populace, zemědělská či domácí zvířata, divoká zvěř a ptactvo. Lidé a zvířata mohou vylučovat salmonely nejen v případech jejich onemocnění, ale i asymptomaticky jako bacionosiči. U lidské populace jsou většinou původci břišního tyfu, paratyfu, gastroenteritid (nejčastější gastroenteritidy jsou tzv. salmonelózy, což jsou toxikoinfekce, kdy kromě bakterie současně působí na hostitele i toxiny, které mikroorganismus produkuje) a septikémie. Šíření infekce probíhá prostřednictvím kontaminovaných potravin a vody. Přestože salmonely z vodního prostředí nejsou významným zdrojem při vzniku salmonelóz, vyskytují se běžně v odpadních i povrchových vodách a mohou pronikat i do vod podzemních a pitných (Baudišová, 2017).

Několik ohnisek spojených s konzumací zeleniny a šířením *Salmonella* spp. uvádí např. Brandl (2006) a Hirneisen et al. (2012). Srovnání dostupných kvantitativních studií rizik naznačuje, že kromě náhodných požití, byly za nejdůležitější způsob expozice člověka infekčním agens považovány aerosoly (Viau et al., 2011).

Translokace virů z kořenů rostlin do nadzemních částí rostliny je další potenciální cestou šíření patogenů z čistírenských kalů (Straub et al., 1993). Translokace virů z kořenů do nadzemních částí rostlin byla pozorována (Murphy et Syverton 1958; Ward et Mahler 1982), ale pouze při pěstování v hydroponické kultuře, nebo při řezání kořenů. Ward et Mahler (1982) dospěli k závěru, že je nepravděpodobné, že viry proniknou neporušeným povrchem kořenů.

Všechny kmeny *E. coli* mohou způsobovat sekundární infekce vyvolávající průjmý, infekce močového ústrojí a nozokomiální nákazy včetně septikemie a meningitidy, ale některé kmeny jsou i primárními patogeny. V současné době je velká pozornost věnována enterohemorhagickým kmenům *E. coli* – VTEC tj. kmenům, které produkují verocytotoxiny (označované také jako Shiga-like toxiny) a další faktory virulence včetně faktorů invazivních a kolonizačních. VTEC kmeny produkují dva typy verocytotoxinu VT1 a VT2, infekční agens je vylučováno stolicí. Ke vzniku vážného, průjmovitého onemocnění, které v některých případech může gradovat až v hemolyticko-uremický syndrom s letálním koncem, stačí podobně jako u shigeloz malá infekční dávka (cca 10^2 – 10^3). Je známá řada sérotypů kmenů *E. coli* produkujících verocytotoxiny. Nejrozšířenějším celosvětovým patogenem z této skupiny je sérotyp *E. coli* O157:H7, jehož rezervoárem je především střevní trakt dobytka. Nákaza se přenáší nejčastěji potravinami (např. nedostatečně tepelně upraveným hovězím masem).

V posledních letech se však ukázalo, že pro přenos VTEC infekce může být nebezpečná i pitná a užitková fekálně znečištěná voda, včetně lesních pramenů a studánek. Největší ohrožení tímto patogenem je v zemích s vysokou intenzitou živočišné výroby a difúzním znečištěním (Velká Británie, USA apod.). První prokázaná epidemie byla v roce 1982 ve Spojených státech amerických, v posledních letech byla zaznamenána epidemie např. v roce 2011 v Německu s 54 úmrtími. Tuto epidemii způsobil sérotyp O104:H4 a zdroj infekce nebyl spolehlivě prokázán (Baudišová, 2017).

Některé kmeny *E. coli* produkují vláknité struktury, které vedou od jejich buněčného povrchu a zajišťují připojení k povrchu rostliny, což těmto bakteriím umožňuje přežití a získání výživy. *E. coli* pocházející z půdy tak může kolonizovat rostliny, jako je ředkev a salát (Lim et al., 2014).

Čistírenský kal i hnůj používané jako hnojiva v zemědělství mohou být cestou přenosu bakterií rezistentních k antibiotikům z lidí a zvířat do potravinového řetězce (Kuhn et al., 2003).

Míra rezistence izolátů *E. coli* z čistírenských kalů nebyla v pokusech Hölzel et al. (2010) v žádném případě významně vyšší než u izolátů z prasečího hnoje; rezistence proti ceftazidimu a piperacilinu s tazobaktamem byla pozorována pouze v jednom izolátu z čistírenského kalu, ale ne v *E. coli* z tekutého prasečího hnoje. Vyšší míry rezistence (ačkoli stále nevýznamné) v *E. coli* z prasečího hnoje, ve srovnání s čistírenským kalem byly nalezeny pro některá antibiotika, jmenovitě amikacin, kolistin, imipenem a tobramycin. Z prasečího hnoje bylo 52,2 % izolátů *E. coli* multirezistentních, z čehož 38,8 % bylo rezistentních až ke třem různým třídám antibiotik a 13,4 % rezistentních ke čtyřem nebo více (až 6) různým třídám. Multirezistentní izoláty *E. coli* byly významně méně časté v čistírenských kalech s 15,5 % multirezistentních izolátů; pouze 4,3 % bylo rezistentních na čtyři nebo více (až 5) různých skupin antibiotik. Riziko distribuce antimikrobiálně rezistentních bakterií, zejména částečně multirezistentních bakterií na zemědělskou půdu hnojenou prasečím hnojem bylo vyšší než riziko, které představuje hnojení čistírenským kalem.

Intestinální enterokoky jsou nejen indikátorem fekálního znečištění, ale některé druhy patří mezi tzv. potenciální patogeny (podle tabulky WHO do skupiny č. 2, tj. mezi mikroorganismy, které mohou vyvolat onemocnění lidí a zvířat). Existuje proti nim účinná profylaxe a způsobená onemocnění jsou léčitelná. Enterokoky jsou známy svojí rezistencí na antibiotika. Nejčastěji jsou původci onemocnění močového systému, méně často bakterémie, byly popsány i případy endokarditidy. Mají schopnost množit se v rozmezí teploty 10–45 °C, rostou i při poměrně vysokých koncentracích soli (až 6,5 % chloridu sodného) a při hodnotě pH 9,1 (Baudišová, 2017).

Druhy *Enterococcus* jsou všudypřítomní komenzální obyvatelé gastrointestinálního traktu lidí a zvířat. Často jsou izolovány ve zdrojích, jako je půda, povrchové vody a nezpracované rostlinné a živočišné produkty, kde jim jejich vnitřní robustnost umožňuje, aby přežily a šířily se v životním prostředí. Ačkoli se enterokoky, zejména *Enterococcus faecium* a *Enterococcus faecalis*, považují za rod s minimálním klinickým dopadem, ukázaly se jako důležité organismy v důsledku vzniku kmenů rezistentních vůči více lékům, které jsou v současné době odpovědné za přibližně 12 % všech nozokomiálních infekcí v USA (Johnston et Jaykus, 2004). Přirozený rozpad enterických mikroorganismů v půdě představuje důležitou fázi multibariérového přístupu k ochraně lidského zdraví před zbytkovým množstvím potenciálně infekčních patogenů, které mohou být přítomny v čistírenských kalech aplikovaných do zemědělské půdy (WHO 1981; Pike et Carrington 1986).

Studie Martins da Costa et al. (2006) dokumentuje přítomnost mnoha multirezistentních enterokoků v městských splašcích a kalech v Portugalsku a ukazuje, že těmito bakteriím nezabraňovalo v šíření do běžného prostředí biologické čištění v čistírnách odpadních vod. Ošetření konečné odpadní vody ultrafialovým světlem nicméně vedlo k výraznému snížení množství vypouštěných rezistentních enterokoků do vodního prostředí. Ve své studii také vyhodnotili, že odpadní vody z okresních měst obsahovaly enterokoky s vyšší mírou rezistence než enterokoky izolované z malých měst.

Lewis et al. (2001) uvádí příznaky lidí žijících v USA, kteří byli vystaveni prachu a vodě z polí hnojených čistírenskými kaly. Patřilo mezi ně pálení očí, potíže s dýcháním a kožní vyrážky, které byly během dnů až měsíců následovány stížnostmi na gastrointestinální, kožní a respirační infekce. Lewis et Gattie (2001) ve své studii z USA zjistili, že u 25 % ze 48 jedinců žijících v blízkosti míst aplikace čistírenských kalů do půdy, kteří si stěžovali na potíže projevující se jako chemické podráždění, se prokázala závažná infekce bakterií *Staphylococcus aureus*, která přispěla ke dvěma úmrtím. *Staphylococcus aureus* má tendenci napadat poškozené tkáně, je tedy možné, že ačkoli v kalech z čistíren odpadních vod byly nízké hladiny patogenů, riziko přenosu se zvyšovalo díky tendenci stafylokoků pronikat do těla podrážděnými sliznicemi a drobnými rankami.

1.3 Účinnost hygienizace čistírenských kalů

Proces úpravy kalu spočívá například v zahušťování, kondicionování (fyzikální, chemická, tepelná nebo jiná úprava kalu usnadňující jeho odvodňování), odvodňování a stabilizaci, avšak pořadí těchto uvedených procesů se může lišit. Ke zmenšení objemu kalu se používá zahušťování a odvodňování, zatímco cílem stabilizace je snížení počtu patogenů, eliminace zápachu a odbourání labilní organické hmoty. Mezi metody stabilizace patří například vápnění, anaerobní nebo aerobní digesce a kompostování. Kromě toho lze použít některé způsoby chemické úpravy: například zpracování kyselinou sírovou a peroxidem vodíku (při pH 3–5) k vyvolání Fentonových reakcí s Fe^{2+} přítomným v kalu (Luukkonen et al., 2020).

Obecně lze k hygienizaci kalů použít všechny metody, při kterých dochází k usmrcování mikroorganismů. Základní hygienizační metody lze rozdělit do tří hlavních skupin:

- **chemické metody** zahrnují reakci většinou s chemickými činidly (vápno, minerální kyseliny aj.);
- **fyzikální metody** zahrnují působení teploty, radiace, ultrazvuku apod.;
- **biotechnologické metody** zahrnují souběžný proces stabilizace a hygienizace kalů (Zábranská, 2004).

Tabulka 1.1: Mikrobiální redukce během zpracování kalu (modifikováno Ward et al., 1984)

Metoda	Redukce ^a		
	Bakterie	Viry	Paraziti
Anaerobní digesce ^b	1–2	1	0
Aerobní digesce	1–2	1	0
Kompostování	2–3	2–3	2–3
Sušení ^c	2–3	1–3	1–3
Vápnění	2–3	3	0

^a Měřítka: 0 = <0,5 řádu (snížení o <10 %); 1 = 0,5–2 řádů (snížení o 99 %); 2 = 2–4 řády (snížení o 99,9 %); 3 => 4 řády (snížení o 99,99 %).

^b Předpokládají se mezofilní teploty (27–37 °C).

^c Účinky závisí na úrovni vlhkosti.

Účinnost mikrobiální redukce během různých metod zpracování kalů je uvedena v tabulce 1.1. Anaerobní digesce se používá ke stabilizaci kalů produkovaných čistírnami odpadních vod a případně k eliminaci patogenů již po více než sto let (Metcalf a Eddy, 2003). V dnešní době je většina anaerobních digestorů provozována za mezofilních podmínek. Některé zdroje však uvádí, že hygienizační účinek eliminace patogenů za mezofilních podmínek je nízký nebo vůbec žádný (Carrington et al., 1991; Lasobras et al., 1999; UKWIR, 1999; Gantzer et al., 2001; Guzmán et al., 2007). Po mechanickém odvodnění byly v mnohých studiích pozorovány vysoké koncentrace *E. coli* v anaerobně ošetřených čistírenských kalech (Monteleone et al., 2004; Higgins et al., 2007; Dentel et al., 2008; Qi et al., 2008; Chen et al., 2011; Fane et al., 2019). Termofilní anaerobní digesce nabízí některé potenciální výhody oproti konvenční mezofilní anaerobní digesci (Buhr a Andrews, 1977; Suryawanshi et al., 2010): zvýšení rychlosti biologických a chemických reakcí, vyšší odstraňování organické hmoty, vyšší solubilizaci částic organické hmoty a lepší hygienizaci. Implementaci této metody do praxe však omezuje několik nevýhod jako je zvýšená potřeba energie pro ohřev digestoru, vyšší riziko destabilizace procesu, horší odvodnění kalu a vyšší zápach (Duran a Speece, 1997; Appels et al., 2008).

Další možností ke snížení obsahu patogenů v kalech je zavedení samostatné hygienizační metody založené na pasterizaci, která může být aplikována před nebo po aerobní digesci a může být provozována vsádkově nebo kontinuálně (Sahlström, 2003; Luste a Luostarinen, 2010).

Většina koliformních bakterií je deaktivována, pokud jsou vystaveny teplotě 55 °C po dobu 1 hodiny nebo 60 °C po dobu 15–20 minut (Banegas et al. 2007).

Změny počtu koliformních bakterií po odvodnění uvádí Qi et al. (2007) v rozmezí od $0,4\text{--}2,5 \times 10^6$ jednotek, což ukazuje na vysokou variabilitu mezi výstupy z jednotlivých čistíren odpadních vod. Higgins et al. (2007) a Fane et al. (2019) tvrdí, že podmínky prostředí po mechanickém odvodnění čistírenských kalů mohou podporovat růst fekálních indikátorových organismů. Zkoumání čistírenských kalů po termofilní a mezofilní digesci a odvodnění centrifugou vedlo ke zjištění, že koncentrace *E. coli* během skladování při 35 °C se během prvních tří dnů zvýšila na 10^8 až 10^9 jednotek tvořících kolonie (CFU)/g sušiny (Higgins et al., 2007).

Kompostování čistírenského kalu je komplikovaný proces, jehož účelem je ničení patogenních organismů, stabilizace organické hmoty – zrání, sušení kalu a ve finále výroba materiálu, který může být dále environmentálně využit nebo prodán. Kompostování následované aplikací kompostu na půdu, kombinuje současně recyklaci materiálu s likvidací kalu, a je proto považováno za jeden z nejúčinnějších způsobů udržitelného zpracování a konečné likvidace čistírenského kalu. V průběhu kompostovacího procesu mohou být patogeny usmrceny teplem generovaným v termofilní fázi.

Dle WolnaMaruwka et Czekala (2007) proces kompostování vedl k úplné eliminaci *Salmonella* spp. a snížení počtu zbývajících skupin mikroorganismů (sledován byl celkový počet bakterií, hub a aktinomycet na selektivním médiu s použitím destičkové metody). Již 60 dní po zapravení kompostu ze směsi čistírenského kalu a hnoje do půdy došlo k redukci většiny analyzovaných skupin mikroorganismů (s výjimkou aktinomycet a *E. coli*), včetně patogenních bakterií z rodu *C. perfringens*.

V pokuse Paluszak et al. (2004) se hygienická účinnost technologie kompostování založená na mechanickém provzdušňování jevila jako velmi vysoká. Míra inaktivace streptokoků v horní a střední vrstvě byla velmi rychlá, od 6 do 22 dní.

V pokuse Fidjeland et al. (2013) byl zjištěn lineární vztah mezi rychlostí inaktivace *Salmonella* spp. a koncentrací amoniaku (NH_3). Vyšší teplota (22 °C) měla pozitivní dopad na inaktivaci *Salmonella* spp. *Enterococcus* spp. byl odolnější, byla u něj pozorována zpoždovací fáze až 11 týdnů. Vyšší teplota a koncentrace amoniaku významně snížily dobu trvání zpoždovací fáze a také měly jasný účinek na rychlost inaktivace u ošetření 0,5 % močoviny při 22 °C a 2 % močoviny při 4 a 10 °C. Hygienizace čistírenských kalů močovinou může dle Fidjeland et al. vést ke snížení o 10^2 *Enterococcus* spp. a ke snížení o více než 10^5 *Salmonella* spp. do 6 týdnů buď 0,5 % hmotn. močoviny při 22 °C, nebo 2 % močoviny při 10 °C.

1.4 Legislativní přístup jednotlivých zemí k nakládání s čistírenskými kaly

V Evropské unii tvoří produkce městských kalů více než 10 milionů tun sušiny (Eurostat, 2019b). Jejich množství se v jednotlivých evropských zemích velmi liší, zejména kvůli procentu obyvatel připojených k ČOV. Německo, Velká Británie, Španělsko, Francie a Itálie tvoří více než 55–65 % z celkového množství vyrobeného v EU 28 (ačkoliv Velká Británie v současnosti již není součástí EU). Na druhé straně existují země, které kvůli nízkému počtu obyvatel mají i nízkou produkci kalů z čistíren odpadních vod (např. Malta, Lotyšsko, Estonsko a Lucembursko), nebo země s nízkým procentem obyvatelstva připojeného k ČOV. Například v roce 2017 nebylo v Bulharsku téměř 13 % populace obsluhováno žádnou čistírnou odpadních vod (Eurostat, 2019a).

V dnešní době představuje v EU aplikace na půdy hlavní cestu pro využití kalů z čistíren odpadních vod: 50 % kalů z čistíren se aplikuje na zemědělské půdě, 28 % se spaluje a 18 % se stále ukládá na skládky. Zbývající část se likviduje jinými metodami, jako je pyrolýza, skladování (např. Řecko, Itálie a Polsko), opětovné použití v zelených oblastech a lesnictví (např. Irsko, Lotyšsko a Slovensko) (Eurostat, 2020b).

Nízká dostupnost půd pro aplikaci čistírenských kalů vedla některé země (jako Nizozemsko a Německo) ke zvolení metody spalování jako hlavní cesty nakládání s kaly. Nejen

že vyrobené kaly lze použít na méně než 5 % zemědělské půdy (ve většině členských států), ale omezené použití v zemědělství je způsobeno i nízkou mírou přijetí ze strany zemědělců a veřejnosti (European Commission, 2010). K zemím s vysokým množstvím kalů využitých v zemědělství patří např. Francie. V některých státech se však procento využití kalů v zemědělství blíží nule (např. Malta) (Collivignarelli et al., 2019).

Země EU lze rozdělit do dvou různých kategorií ve vztahu ke směrnici 86/278/EHS:

- a) S vnitrostátními požadavky (v některých případech dokonce mnohem přísnějšími než evropská směrnice): Česká republika, Dánsko, Finsko, Lucembursko, Nizozemsko, Švédsko, Rakousko, Belgie, Malta, Chorvatsko, Francie, Německo, Maďarsko, Litva, Polsko, Slovinsko a Rumunsko.
- b) S vnitrostátními požadavky podobnými požadavkům evropské směrnice: Bulharsko, Kypr, Estonsko, Lotyšsko, Řecko, Irsko, Itálie, Portugalsko, Slovensko, Španělsko a Velká Británie.

Za účelem snížení možných zdravotních rizik souvisejících s patogeny různé členské státy (např. Rakousko a Bulharsko) přidaly zvláštní požadavky na čistírenské kaly aplikované do půdy. Navzdory směrnici 86/278/EHS, která nezahrnuje mezní hodnoty obsahu patogenů, vnitrostátní právní předpisy většiny zemí kontrolují přítomnost salmonel (s výjimkou Litvy, Lucemburska a Slovenska) a v mnoha případech i jiných patogenů. Druhy patogenů a mezní hodnoty jsou v jednotlivých zemích EU odlišné viz tabulka 1.2.

Pokud jde o půdy, na nichž je používání kalů zakázáno, stanoví směrnice 86/278/EHS (článek 7) omezení týkající se aplikace kalů. Členské státy zakážou používání kalu nebo dodávky kalu k jeho používání v těchto případech:

- a) na pastviny po určitou dobu před pastvou a na plochy, kde se pěstují pícniny po určitou dobu před sklizní. Délku této lhůty stanoví jednotlivé členské státy samostatně v závislosti na jejich geografických a klimatických podmínkách, nesmí však být kratší než 3 týdny;
- b) na půdu určenou k pěstování ovoce a zeleniny ve vegetačním období, s výjimkou ovocných stromů;
- c) na pozemky určené k pěstování ovoce nebo zeleniny, která je běžně v bezprostředním kontaktu s půdou a která se běžně konzumuje v syrovém stavu, ve lhůtě 10 měsíců před sklizní a během sklizně.

Požadavky na zpracování kalů před aplikací na půdu stanovuje Směrnice 86/278/EHS. Směrnice zakazuje používání neupraveného kalu na zemědělské půdě, pokud není injektován nebo zapraven do půdy. Upravený kal je definován jako produkt, který prošel biologickým, chemickým nebo tepelným zpracováním, dlouhodobým skladováním nebo jiným vhodným procesem tak, aby se významně snížila jeho fermentovatelnost a zdravotní rizika vyplývající z jeho použití (Collivignarelli et al., 2019; Inglezakis et al., 2014).

V Německu byla při vypracování předpisů o bezpečnosti a ochraně zdraví v oblasti čistírenských kalů (AbfKlärV) nejvyšší prioritou minimalizace možného rizika pro člověka a hospodářská zvířata. Předpisy týkající se používání kalů z čistíren odpadních vod obsahují aplikační omezení. Kal z čistíren odpadních vod nelze použít jako hnojivo pro pěstování ovoce a zeleniny nebo na trvalé travní porosty. Vyhláška rovněž stanoví omezení aplikace kalů na pole, která se používají k pěstování píce nebo k pěstování cukrové řepy (v případech, kdy se chrást řepy používá ke krmení). Kal z čistíren odpadních vod nelze použít jako hnojivo pro potraviny nebo krmiva, která se konzumují v syrovém stavu. Nařízení o kalech z čistíren odpadních vod (AbfKlärV) je tedy založeno na předpokladu, že pokud bude kal z čistíren odpadních vod správně používán, nebudou kontaminovány ani ovoce, zelenina, ani píce (Wiechmann et al., 2013).

Tabulka 1.2: Limitní hodnoty pro patogeny v čistírenských kalech (Collivignarelli et al., 2019)

Země	Patogen	Limit	Měrné jednotky
Rakousko ¹	<i>Enterococci</i>	<10 ³	CFU gDM ⁻¹
	<i>Escherichia Coli</i>	100	CFU gDM ⁻¹
	vajíčka helmintů	žádná	kgDM ⁻¹
	<i>Salmonella</i>	žádný výskyt v 1 g	
Bulharsko	<i>Salmonella</i>	žádný výskyt	MPN 20 ⁻¹ gWW ⁻¹
	<i>Escherichia Coli</i>	100	MPN gWW ⁻¹
	<i>Clostridium perfringens</i>	300	MPN gWW ⁻¹
	Životaschopná vajíčka helmintů	1	vajíčko kgDM ⁻¹
Česká republika	<i>Salmonella</i>	žádný výskyt	CFU gDM ⁻¹
	<i>Escherichia coli</i> nebo <i>Enterokoky</i>	<10 ³	CFU gDM ⁻¹
Dánsko ²	<i>Salmonella</i>	žádný výskyt	
	Fekální streptokoky	<100	g ⁻¹
Finsko	<i>Salmonella</i>	nezjištěna v 25 g	
	<i>Escherichia Coli</i>	1 000	CFU g ⁻¹
Francie	<i>Salmonella</i>	8	MPN 10 ⁻¹ gDM ⁻¹
	Enterovirus	3	MPN 10 ⁻¹ gDM ⁻¹
	vajíčka helmintů	3	vajíčka 10 ⁻¹ gDM ⁻¹
Itálie	<i>Salmonella</i>	1 000	MPN gDM ⁻¹
Litva	<i>Escherichia Coli</i>	1 000	CFU g ⁻¹
	vajíčka helmintů	žádné	kg ⁻¹
	<i>Enterobacteria</i>	žádné	CFU g ⁻¹
	<i>Clostridium perfringens</i>	100 000	CFU g ⁻¹
Lucembursko	<i>Enterobacteria</i>	<100	g ⁻¹
	vajíčka helmintů	žádná vajíčka pravděpodobně nebudou nakažlivá	
Malta	<i>Salmonella</i>	žádný výskyt	CFU 50 ⁻¹ gWW ⁻¹
Polsko	<i>Salmonella</i>	nelze použít v zemědělství, je-li ve 100 gDM	
	vajíčka helmintů	žádné	vajíček kgDM ⁻¹
Portugalsko	<i>Salmonella</i>	žádný výskyt v 50 g	
	<i>Escherichia Coli</i>	1 000	CFU g ⁻¹
Slovensko	Termotolerantní koliformní bakterie	2×10 ⁶	CFU gDM ⁻¹
	Fekální streptokoky	2×10 ⁶	CFU gDM ⁻¹

¹Pouze pro Korutany, Dolní Rakousy a Štýrsko; ²Pouze pro upravený kal;

MPN: nejpravděpodobnější číslo; MPCN: nejpravděpodobnější cytopatické číslo;

CFU: jednotka tvořící kolonie; WW: mokrá hmotnost; DM: sušina

V Německu je využívání kalů z čistíren odpadních vod je rovněž zakázáno v oblastech ochrany pitné vody zóny I a II a v přilehlých pásech širokých až deset metrů. Přítomnost čistírenských kalů a jejich použití jako hnojiva v oblastech ochrany vod III. zóny jsou v určitých případech na regionální úrovni zakázány. Jako hnojivo pro konvenční zemědělské plodiny lze v Německu použít pouze čistírenský kal z komunálních čistíren odpadních vod. V zájmu úplného vyloučení přenosu infekčních agens je používání kalu jako hnojiva zakázáno pro

ekologické zemědělství, lesy, louky a pro pěstování ovoce a zeleniny. Použití kalů z čistíren odpadních vod jako hnojiva pro pěstování píce je omezené (setí po hluboké orbě).

Westrell et al. (2004) ve své modelové studii odhadovali míru rizika plynoucího z odpadních vod a čistírenských kalů pro obyvatelstvo ve Švédsku. Nejvyššího individuálního zdravotního rizika při jedné expozici bylo dosaženo expozicí kapičkami a aerosolem pro pracovníky v čistírně, zejména na pásovém lisu pro odvodnění kalů, a kontaktem s kalem. Nejnižší riziko bylo vyhodnoceno při koupání v jezeře. Největší dopad na obyvatelstvo by nastal, pokud by děti (nekontrolovaně) požívaly kal v nechráněném úložišti. Největší počet infekcí by vznikl konzumací zeleniny v syrovém stavu, která byla krátce před sklizní hnojena kalem (což však není ve Švédsku povoleno). Konzumace zeleniny vypěstované v půdě hnojené kalem by však ve skutečnosti přinesla nižší riziko a nižší počet ročních infekcí, neboť ve stávající švédské legislativě musí mezi hnojením kalem a sklizní plodin, které se mají konzumovat syrové, uplynout deset měsíců.

V USA jsou povoleny dvě třídy čistírenských kalů pro zemědělské použití: kaly třídy A a třídy B. Kaly třídy A jsou materiály, které jsou na základě různých mikrobiologických testů a hygienizačních procesů považovány za bezpečné pro lidi a zvířata. Kaly třídy A musí mít koncentraci termotolerantních koliformních bakterií pod 1 000 jednotek tvořících kolonie (CFU)/g sušiny metodou nejpravděpodobnějšího počtu (MPN), koncentraci salmonely nižší než 4 CFU/g sušiny, koncentraci enteroviru méně než čtyři jednotky tvořící plaky/g sušiny a méně než čtyři životaschopná vajíčka helmintu/g sušiny (Santamaría et Toranzos, 2003). Na místa ošetřená čistírenskými kaly třídy A nejsou kladena žádná omezení pro pěstování plodin. Čistírenské kaly třídy A lze aplikovat na trávníky a domácí zahrady a distribuovat je veřejnosti v pytlích nebo jiných nádobách. Obecně se používají jako každé komerční hnojivo (Lewis a Gattie, 2002).

Kaly třídy B, které představují většinu kalů aplikovaných na půdu, jsou ošetřeny za účelem snížení množství patogenů pomocí různých procesů zpracování odpadu, jako je anaerobní digesce a zvýšení pH (stabilizace vápnem) (Lewis a Gattie, 2002). Vyžaduje se, aby biologické pevné látky třídy B měly geometrický průměr koncentrace termotolerantních koliformních bakterií nižší než 10^6 CFU/g sušiny. Kaly třídy B mohou obsahovat *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, virus Norwalk a enteroviry (Santamaría et Toranzos, 2003). EPA (Environmental Protection Agency) stanoví, že v závislosti na různých způsobech využití půdy je přístup veřejnosti k místům aplikace kalů třídy B omezen až na jeden rok, aby se umožnilo přirozené zeslabení úrovně patogenů. Na polích ošetřených kaly třídy B doporučuje EPA umístit značky, nebo postavit ploty, aby omezila přístup veřejnosti na 30 dní nebo déle (Lewis a Gattie, 2002).

Pracovníci manipulující s kaly třídy B mohou být primárně infikováni z ruky do úst, pokud nenosí rukavice nebo si neumyjí ruce před jídlem. Proto NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health) doporučil standardní hygienická opatření, včetně častého mytí rukou a používání rukavic a masek při práci s materiálem (US Department of Health and Human Services, 2000).

Pro pracovníky manipulující s čistírenskými kaly jsou důležitá základní hygienická opatření:

- Dodržovat v maximální možné míře osobní hygienu,
- při přímém kontaktu s kalem důkladně omýt ruce, a zasažené části těla mýdlem a pitnou vodou,
- při práci s kalem je třeba používat ochranné pomůcky, které ochrání před přímým kontaktem s kalem,
- odstranění zbytků nánosu kalů z podrážek pracovní obuvi před řízením vozidel (zemědělských pracovních strojů, traktorů nebo osobních vozidel) a při vstupu do budov a jiných objektů,

- případné rány a zranění chránit čistými a suchými bandážemi, zasažené oči vymýt pitnou vodou.

Kromě náhodného přímého požití jsou nejvyšší rizika infekce při aplikaci na půdu spojena s expozicí ze vzduchu (Viau et al., 2011). Počet mikroorganismů v aerosolech závisí na typu uloženého kalu, způsobu aplikace a počtu mikroorganismů v kalu. Největší množství tvorby aerosolu by nastalo během aplikace kalů s nízkým obsahem pevných látek postříkem. Vysypávání kalů z nákladních vozidel na půdu nebo do výkopů a plošných výplní by také při nárazu vytvořilo aerosoly. Během vstřikování kalu by docházelo k určitému rozprašování. Větší množství patogenních mikroorganismů by bylo aerosolováno během aplikace primárních, nikoli ošetřených kalů (Straub et al., 1993). EPA však dospěla k závěru, že řádně upravené kaly nepředstavují žádné významné riziko infekce, a proto neomezují ani nesledují aplikaci na půdy v oblastech, kde jsou obytné oblasti blízko míst aplikace na půdy a v přímé cestě prachu šířícího se z ošetřených polí (Lewis a Gattie 2002).

Dle Pillai et al. populační centrum 6 km od místa aplikace čistírenského kalu do půdy v západním Texasu nebylo ovlivněno vzdušnými bakteriálními patogeny (Pillai et al., 1996). Na druhou stranu Dowd et al. odhadoval, že za určitých podmínek může existovat vysoké riziko infekce pro populace poblíž míst aplikace na půdy (Dowd et al., 2000). Například odhadli 94% riziko virové infekce za mírného větru během aplikace do vzdálenosti 100 m od místa aplikace kalu.

1.5 Seznam použité literatury

1. Appels, L., Baeyens, J., Degre`ve, J., Dewil, R., 2008. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34, 755–781.
2. Banegas, V., Moreno, J. L., Moreno, J. I., Garcia, C., Leon, G., & Hernandez, T. (2007). Composting anaerobic and aerobic sewage sludges using two proportions of sawdust. *Waste Management*, 27, 1317–1327.
3. Bastos, R. K. X., Mara, D. D., 1995. The bacterial quality of salad crops drip and furrow irrigated with waste stabilization pond effluent: an evaluation of the who guidelines. *Water Science Technology*, 31, 425–430.
4. Brandl, M. T., 2006. Fitness of human enteric pathogens on plants and implications for food safety. *Annual Review Physiology*, 44, 367–392.
5. Buhr, H. O., Andrews, J. F., 1977. The thermophilic anaerobic digestion process. *Water Research*, 11, 129–143.
6. Cabaret, J., Geerts, S., Madeline, M., Ballandonne, C., Barbier, D., 2002. The use of urban sewage sludge on pastures: the cysticercosis threat. *Veterinary Research*, 33, 575–597.
7. Carrington, E. G., Pike, E. B., Auty, D., Morris, R., 1991. Destruction of faecal bacteria, enteroviruses and ova of parasites in wastewater sludge by aerobic thermophilic and anaerobic mesophilic digestion. *Water Science and Technology*, 24, 377–380.
8. CEN European Committee for Standardization, 2009. Sludge, Treated Biowaste and Soil – Detection and Enumeration of *Escherichia coli* – Part 1: Membrane Filtration Method for Quantification. BT TF 151 WI CSS99050–1. Brussels.
9. Cools, D., Merck, R., Vlassak, K., Verhaegen, J., 2001. Survival of *E. coli* and *Enterococcus* spp. derived from pig slurry in soils of different texture. *Applied Soil Ecology*, 17, 53–62.
10. Collivignarelli, M. C., Abbà, A., Frattarola, A., Miino, M. C., Padovani, S., Katsoyiannis, I., Torretta, V., 2019. Legislation for the Reuse of Biosolids on Agricultural Land in Europe: Overview. *Sustainability*, 11, 6015.
11. Crute, K., Toze, S., Pritchard, D., Penney, N., 2005. Pathogens in biosolids: potential for survival following application in broadacre cropping crops. Proceedings AWA Specialty Conference Contaminants of Concern in Water, Rydges Lakeside, Canberra, 22–23 June 2005, Australian Water Association.
12. Dentel, S. K., Qi, Y. & Herson, D. S. 2008 Improving the assessment of risk from pathogens in biosolids: fecal coliform regrowth, survival, enumeration and assessment. *Water Science and Technology* 57, 189–193.
13. Dowd, S. E., Gerba, C. P., Pepper, I. L., Pillai, S. D. J., 2000. Bioaerosol transport modeling and risk assessment in relation to biosolids placement. *Journal of Environmental Quality*, 29, 343–348.
14. Duran, M., Speece, R. E., 1997. Temperature-staged anaerobic processes. *Environmental Technology* 18, 747–753.
15. Eamens, G. J., Waldron, A. M., Nicholls, P. J., 2006. Survival of pathogenic and indicator bacteria in biosolids applied to agricultural land. *Australian Journal of Soil Research*, 44, 647–659.
16. Egan, M., 2013. Biosolids management strategies: an evaluation of energy production as an alternative to land application. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 4299–4310.
17. Estrada, I. B., Aller, A., Aller, F., Gomez, X., Moran, A., 2004. The survival of *Escherichia coli*, faecal coliforms and Enterobacteriaceae in general in soil treated with sludge from wastewater treatment plants. *Bioresource Technology*, 93, 191–198.

18. European Commission, 2010. Environmental, Economic and Social Impacts of the Use of Sewage Sludge on Land; Final Report, Part III: Project Interim Reports; Milieu Ltd., Brussels, Belgium.
19. Eurostat, 2019a. Population Connected to Urban Wastewater Collecting and Treatment Systems, by Treatment Level. Available online: <https://ec.europa.eu/eurostat/web/environment/water>.
20. Eurostat, 2019b. Sewage Sludge Production and Disposal from Urban Wastewater. Available online: <https://ec.europa.eu/eurostat/web/environment/water>.
21. Fane, S., Vale, P., Bajón-Fernández, Y. 2019. Influence of Innate Sludge Factors and Ambient Environmental Parameters in Biosolids Storage on Indicator Bacteria Survival: A Review. *Waste Biomass Valor* 11, 6105–6114.
22. Fidjeland, J., Lalander, C., Jönsson, H., Vinnerås, B., 2013. Ammonia sanitisation of sewage sludge using urea, *Water Science Technology*. 68 (8), 1866–1872.
23. Gagliardi, J. V., Karns, J. S. 2002. Persistence of *Escherichia coli* O157: H7 in soil and on plant roots. *Environmental Microbiology*, 4, 89–96.
24. Gale, P., 2002. Pathogens in biosolids – Microbiological Risk. UK Water Industry Research Ltd. Environment Agency R&D Technical Report Ref. No. P2–161 (Phase III). Environment Agency, Bristol.
25. Gantzer, C., Gaspard, P., Galvez, L., Huyard, A., Dumouthier, N., Schwartzbrod, J., 2001. Monitoring of bacterial and parasitological contamination during various treatment of sludge. *Water Research*, 35, 3763–3770.
26. Gerba, C. P., 1986. Human viruses in sediments, sludge and soils. In: R, C. (Ed.), *Transport and Fate of Viruses in Soils: Field Studies*. CRC Press, Boca Raton.
27. Gerba, C. P., Pepper, I. L., Whitehead, L. F., 2002. A risk assessment of emerging pathogens of concern in the land application of biosolids. *Water Science and Technology*, 46(10), 225–230.
28. Gerba, C.P., Wallis, C., Melnick, J.L., 1975. Fate of wastewater bacteria and virus in soil. *Journal of the Irrigation and Drainage Division*, 101, 157–174.
29. Gessel, P. D., Hansen, N. C., Goyal, S. M., Johnston, L. J., Webb, J., 2004. Persistence of zoonotic pathogens in surface soil treated with different rates of liquid pig manure. *Applied Soil Ecology*, 25, 237–243.
30. Gibbs, R. A., Hu, C. J., Ho, G. E., Unkovich, I., 1997. Regrowth of faecal coliforms and salmonellae in stored biosolids and soil amended with biosolids. *Water Science Technology*, 11–12, 269–275.
31. Guan, T. Y., Holley, R. A., 2003. Pathogen survival in swine manure environments and transmission of human enteric illness: a review. *Journal of Environmental Quality*, 32, 383–392.
32. Guzmán, C., Jofre, J., Blanch, A.R., Lucena, F., 2007. Development of a feasible method to extract somatic coliphages from sludge, soil and treated biowaste. *Journal of Virological Methods*, 144, 41–48.
33. Heaton, J. C., Jones, K., 2008. Microbial contamination of fruit and vegetables and the behaviour of enteropathogens in the phyllosphere: a review. *Journal of Applied Microbiology*, 104, 613–626.
34. Higgins, M.J., Chen, Y.C., Murthy, S.N., Hendrickson, D., Farrel, J. and Schafer, P. 2007. Reactivation and growth of non-culturable indicator bacteria in anaerobically digested biosolids after centrifuge dewatering. *Water Research*, 41, 665–673.
35. Hirneisen, K. A., Sharma, M., Kniel, K. E., 2012. Human enteric pathogen internalization by root uptake into food crops. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9 (5), 396–405.

36. Holley, R. A., Arrus, K. M., Ominski, K. H., Tenuta, M., Blank, G., 2006. *Salmonella* Survival in Manure-Treated Soils during Simulated Seasonal Temperature Exposure, *Journal of Environmental Quality*. 35 (4), 1170–1180.
37. Hölzel, C. S., Schwaiger, K., Harms, K., Küchenhoff, H., Kunz, A., Meyer, K., Müller, C. Bauer, J., 2010. Sewage sludge and liquid pig manure as possible sources of antibiotic resistant bacteria. *Environmental Research*, 110, 318–326.
38. Horswell, J., Ambrose, V., Clucas, L., Leckie, A., Clinton, F., Speir, T.W., 2007. Survival of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. after application of sewage sludge to a *Pinus radiata* forest. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 1321–1331.
39. Chen, Y. C., Higgins, M. J., Beightol, S. M., Murthy, S. N. & Toffey, W. E. 2011. Anaerobically digested biosolids odor generation and pathogen indicator regrowth after dewatering. *Water Research* 45, 2616–2626.
40. Inglezakis, V. J., Zorpas, A. A., Karagiannidis, A., Samaras, P., Voukkali, I., Sklari, S., 2014. European Union Legislation on Sewage Sludge Management, *Fresenius Environmental Bulletin*. 23 (2a), 635–639.
41. Iranpour, R., Cox, H., 2006. Recurrence of fecal coliforms and *Salmonella* species in biosolids following thermophilic anaerobic digestion. *Water and Environmental Research*, 78 (9), 1005–1012.
42. Jones, P. W., 1986. Sewage sludge as a vector of salmonellosis. In: Block, J. C., Haielaar, A. H., L'Hermite, P. (Eds.), *Epidemiological Studies of Risks Associated with the Agricultural use of Sewage Sludge*. Elsevier, London, pp 21–33.
43. Kacprzaka, M., Neczaja, E., Fijałkowska, K., Grobelaka, A., Grossera, A., Worwaga, M., Rorata, A., Brattebob, H., Almåsc, A., Singhc, B. R., 2017. Sewage sludge disposal strategies for sustainable development. *Environmental Research* 156, 39–46.
44. Krzyzanowski Jr, F., Lauretto, M. S., Nardocci, A. C., Zanolli Sato, M. I., Razzolini, M. T. P., 2016. Assessing the probability of infection by *Salmonella* due to sewage sludge use in agriculture under several exposure scenarios for crops and soil ingestion. *Science of the Total Environment*, 568, 66–74.
45. Kuhn, I., Iversen, A., Burman, L. G., Olsson–Liljequist, B., Franklin, A., Finn, M., Aarestrup, F., Seyfarth, A. M., Blanch, A. R., Vilanova, X., Taylor, H., Caplin, J., Moreno, M. A., Dominguez, L., Herrero, I. A., Mollby, R. 2003. Comparison of enterococcal populations in animals, humans, and the environment—a European study. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 133–145.
46. Kühn, I. A., Iversen, L. G., Burman, B., Olsson–Liljequist, A., Franklin, M., Finn, F., Aarestrup, A. M., Seyfarth, A. R., Blanch, H., Taylor, J., Caplin, M. A., Moreno, L., Dominguez, R., Möllby, 2000. Epidemiology and ecology of enterococci, with special reference to antibiotic resistance strains in animals, humans, and the environment. Example of an ongoing project within the European research programme. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 14, 337–342.
47. Lasobras, J., Dellundé, J., Cofre, J., Lucena, F., 1999. Occurrence and levels of phages proposed as surrogate indicators of enteric viruses in different types of sludges. *Journal of Applied Microbiology* 86, 723–729.
48. Lewis, D. L., Garrison, A. W., Wommack, K. E., Whittimore, A., Steudler, P., Melillo, J. 1999: Influence of environmental changes on degradation of chiral pollutants in soils. *Nature*, 401, 898–901.
49. Lewis, D. L., Gattie, D. K 2002. Pathogen Risks from Applying Sewage Sludge to Land. *Environmental Science & Technology*. 287–293 A.
50. Lewis, D. L., Gattie, D. K., Novak, M. E., Sanchez, S., Pumphrey, C., 2001. *Sewage Sludge on Land: Public Health & Environmental Impacts*. Boston University School of Public Health. Boston, MA, Nov. 2, 2001.

51. Lim, J. A., Lee, D. H., Heu, S., 2014. The Interaction of Human Enteric Pathogens with Plants, *Plant Pathology Journal*. 30 (2), 109–116.
52. Linden, P. K., Miller C. B., 1999. Vancomycin-resistant enterococci: the clinical effect of a common nosocomial pathogen. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 33, 113–120.
53. Luste, S., Luostarinen, S., 2010. Anaerobic co-digestion of meat processing by-products and sewage sludge – Effect of hygienization and organic loading rate. *Bioresource Technology*, 101, 2657–2664.
54. Luukkonen, T., Prokkola, H., Pehkonen, S. O., 2020. Peracetic acid for conditioning of municipal wastewater sludge: Hygienization, odor control, and fertilizing properties. *Waste Management*, 102, 371–379.
55. Martins da Costa, P., Vaz-Piresa, P., Bernardo, F., 2006. Antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. isolated in inflow, effluent and sludge from municipal sewage water treatment plants. *Water Research*, 40, 1735–1740.
56. Metcalf and Eddy, Inc., 2003. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*, fourth ed. McGraw Hill, Boston, ISBN 0–07–041878–0.
57. Monteleone, M. C., Furness, D., Jefferson, B. & Cartmell, E. 2004 Fate of *E. coli* across mechanical dewatering processes. *Environmental Technology* 25, 825–831.
58. Nicholson, F. A., Groves, S. J., Chambers, B. J., 2005. Pathogen survival during livestock manure storage and following land application. *Bioresource Technology*, 96, 135–143.
59. Paluszak, Z., Bauza-Kaszewska, J., Ligocka, A., 2004. Fate of *enterococci* in composted sewage sludge. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 48 (1), 29–32.
60. Pillai, S. D., Widmer, K. W., Dowd, S. E., Ricke, S. C., 1996. Occurrence of airborne bacteria and pathogen indicators during land application of sewage sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 296–299.
61. Pourcher, A. M., Picard-Bonnaud, F., Ferré, V., Gosinska, A., Stan, V., Moguedet, G., 2007. Survival of faecal indicators and enteroviruses in soil after land-spreading of municipal sewage sludge, *Applied Soil Ecology*, 35, 473–479.
62. Qi, Y., Dentel, S. K., Herson, D. S. 2007. Increases in fecal coliform bacteria resulting from centrifugal dewatering of digested biosolids. *Water Research* 41, 571–580.
63. Sahlström, L., 2003. A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants. *Bioresource Technology*, 87, 161–166.
64. Sanchez-Monedero, M. A., Aguilar, M. I., Fenoll, R., Roig, A., 2008. Effect of the aeration system on the levels of airborne microorganisms. *Water Research*, 42 (14), 3739–3744.
65. Santamaría, J., Gary, C., Toranzos, A., 2003. Enteric pathogens and soil: a short review. *International Microbiology*, 6, 5–9.
66. Sidhu, P. S., Toze, S. G., 2009. Human pathogens and their indicators in biosolids: a literature review. *Environment International*, 35, 187–201.
67. Snowdon, J. A., Cliver, D. O., Converse, J. C., 1989. Land disposal of mixed human and animal wastes: a review. *Waste Manage. Res.* 7, 121–134.
68. Straub T. M., Pepper I. L., Gerba C. P., 1993. Hazards from Pathogenic Microorganisms in Land-Disposed Sewage Sludge. In: Ware G. W. (eds) *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 132. Springer, New York, pp 55–91.
69. Suryawanshi, P. C., Chaudhari, A. B., Kothari, R. M., 2010. Thermophilic anaerobic digestion: the best option for waste treatment. *Critical Reviews in Biotechnology* 30, 31–40.
70. UKWIR, 1999. *E. coli* in UK Mesophilic Anaerobically Digested Sludge. Report SL–06. UK Water Industry Research Ltd., ISBN 1–84057–170–5.

71. U.S. Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control & Prevention, National Institute for Occupational Health & Safety 2000. Workers Exposed to Class B Biosolids During and After Field Application. Publication No. 158. <https://www.cdc.gov/niosh/docs/2002-149/>
72. USEPA (U.S. Environmental Protection Agency) 1985. Health effects of land application of sewage sludge. EPA600/1-85/015, Research Triangle Park, NC, pp 23-26.
73. US Environmental Protection Agency, 2003. Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge. Under 40 CFR Part 503. USEPA 625/R-92/013. Cincinnati.
74. Viau, E., Bibby, K., Paez-Rubio, T., Peccia, J., 2011. Toward a consensus view on the infectious risks associated with land application of sewage sludge. *Environmental and Science Technology*, 45, 5459-5469.
75. Ward, R. L., McFeters, G. A., Yeager, J. G., 1984. Pathogens in sludge: Occurrence, inactivation and potential for regrowth. Sandia Rept DAND83-0557, TTC-0428, UC-71, Sandia Nat. Labs, Albuquerque, NM.
76. Watkins, J., Sleath, K.P., 1981. Isolation and enumeration of *Listeria monocytogenes* from sewage. Sewage sludge and river water. *Journal of Applied Bacteriology*, 50, 1-9.
77. Westrell, T., Schönning, C., Stenström, T. A., Ashbolt, N. J. 2004. QMRA (quantitative microbial risk assessment) and HACCP (hazard analysis and critical control points) for management of pathogens in wastewater and sewage sludge treatment and reuse. *Water Science and Technology*, 50 (2), 23-30.
78. Wiechmann, B., Dienemann, C., Kabbe, C., Brand, S., Vogel, I., Roskosch, A., 2013. Sewage sludge management in Germany. *Umweltbundesamt*, pp. 100.
79. Wolna-Maruwka, A., Czekala, J., 2007. Dynamics of changes in the number of selected microorganism groups in sewage sludge and in manure subject to composting process and in the soil enriched with composts. *Archives of Environmental Protection*, 33 (4), 53-66.
80. World Health Organisation, 1981. The Risk to Health of Microbes in Sewage Sludge Applied to Land. Report on a WHO Working Group, 6-9 January, Stevenage. Copenhagen: World Health Organisation.
81. Záborská, J., 2004. Technologie stabilizace čistírenského kalu s hygienizačním účinkem, *Odpadové fórum*. 14-16.

KAPITOLA II ŠETŘENÍ V TERÉNU

Zpracovala: Šárka Poláková

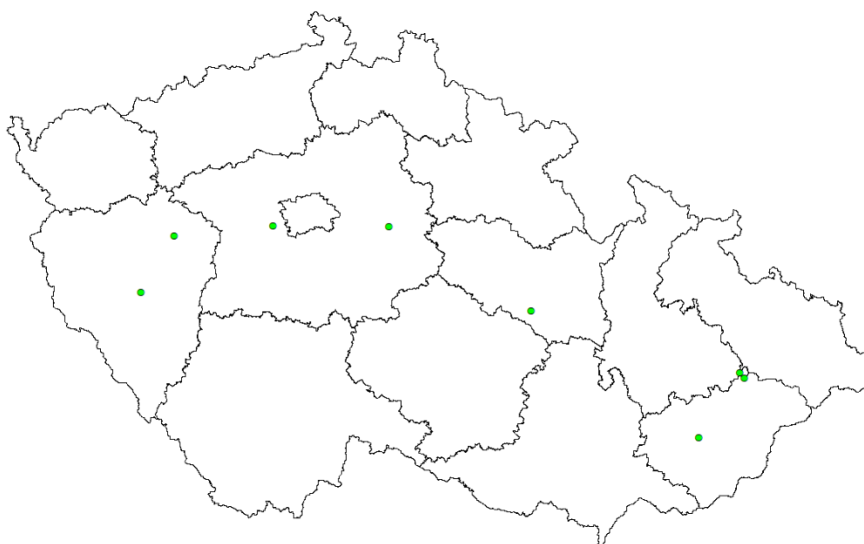
Šetřením v terénu posoudit, zda aplikace kalů ČOV na zemědělskou půdu způsobila na těchto pozemcích kontaminaci půdy a pěstovaných plodin patogenními organismy.

V průběhu terénního šetření v roce 2020 byly pozitivní nálezy sledovaných mikroorganismů zaznamenány na lokalitách s kaly různých kategorií, včetně kontrolních lokalit. Nejvíce lokalit s pozitivními nálezy bylo po aplikaci kalů vyhovujících požadavkům tehdy platné přílohy č. 4 vyhlášky č. 437/2016 Sb. (dnes příloha č. 28 vyhlášky 273/2021 Sb.) a dále po aplikaci organických hnojiv. Letošní šetření navazuje na zjištění z loňského roku a má za cíl sledovat výskyt indikátorových mikroorganismů v půdě a pěstovaných plodinách bez vlivu aplikace organických, a především statkových hnojiv.

1 METODIKA

Výběr lokalit do terénního šetření se řídil dvěma požadavky – za a) na pozemku je pěstována pšenice a za b) na pozemek nebylo aplikováno statkové hnojivo. Do šetření bylo vytipováno 5 subjektů, u kterých proběhla na podzim 2020 aplikace kalů a jeden kontrolní subjekt. Vzhledem k reálné situaci (především vzhledem ke změnám v osevních plánech, tj. nezařazení pšenice, případně vzhledem k neprovedení aplikace apod.) byly do šetření zahrnuty i lokality z k.ú. Malenovice, kde byla v únoru 2020 aplikována kejda a z k.ú. Kamenec u Poličky, kde byla v září 2020 aplikována močůvka a hnojůvka. Z vytipovaných lokalit byly odebrány vzorky půdy a současně i vzorky klasů zralé pšenice.

Obrázek 2.1: Lokalizace odběrových míst r. 2021



Odběry pšenice a půdy probíhaly současně a uskutečnily se v období 26. 7. 2021 až 9. 8. 2021. Uprostřed vybraného pozemku byl vytyčen čtyřúhelník o délce strany přibližně 50 m. V rozích čtyřúhelníku a uprostřed bylo odebráno 5 dílčích vzorků půdy z hloubky 0–15 cm a 5 dílčích vzorků rostlin. Každý dílčí vzorek měl hmotnost 250 g. Odběrová místa

byla od okraje pozemku vzdálena minimálně 50 m. Aby se zabránilo křížové kontaminaci vzorků, byla odběrová zařízení (Edelmanův vrták, nůžky) před odběrem na lokalitě vždy ořena lihem a vzorkaři používali jednorázové rukavice. Při odběru pšenice se do vzorkovnic odstříhly pouze klásky.

Každý dílčí vzorek půdy i rostlin byl vložen do samostatného sterilního sáčku a v chladícím boxu dopraven do Laboratoře MORAVA s.r.o. V laboratoři proběhlo oddělení zrna od nejdých částí.

Stejným způsobem byly odebrány i vzorky z kontrolního pozemku nacházejícím se v k.ú. Jarov.

O každém odběru byl zpracován dokumentační list. Ten obsahuje veškeré informace o odběru vzorku a vzorku samotném, včetně případného hnojení organickými hnojivy a zákres odběrového místa.

Všechny odběry vzorků realizovali pracovníci Odboru kontroly zemědělských vstupů ÚKZÚZ.

Ve vzorcích byly stanoveny tyto parametry:

- *Salmonella* spp.
- termotolerantní koliformní bakterie
- enterokoky
- *E. coli*

Způsob hodnocení

Vzhledem k tomu, že laboratorním šetřením byl ve většině případů zjištěn počet KTJ/g nižší než 5×10^1 , bylo přikročeno pouze ke slovnímu hodnocení.

2 VÝSLEDKY A DISKUZE

Celkem bylo analyzováno 40 vzorků půd a 40 vzorků rostlin (vždy 5 dílčích vzorků z lokality) z 8 lokalit.

3.1 *Salmonella* spp.

Výskyt *Salmonella* spp. byl ve všech vzorcích půd i rostlin negativní.

3.3 Termotolerantní koliformní bakterie

Počet KTJ/g termotolerantních koliformních bakterií byl ve všech vzorcích půd i rostlin $< 5 \times 10^1$.

3.3 *E. coli*

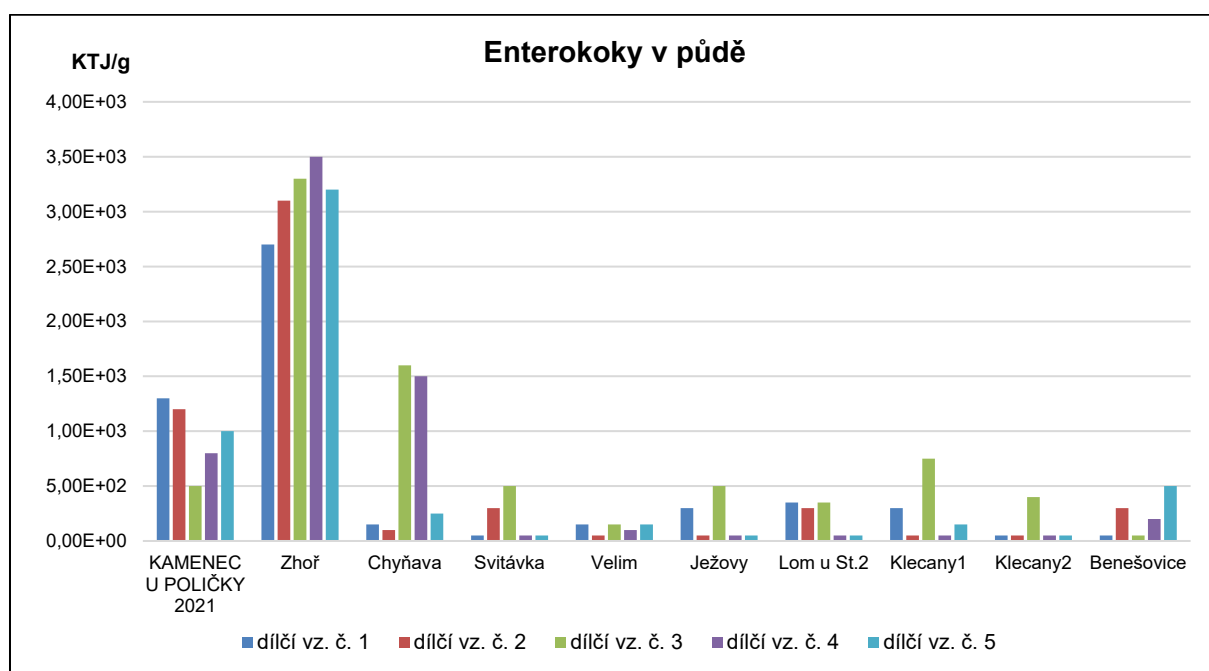
Počet KTJ/g *E. coli* byl ve všech vzorcích půd i rostlin $< 5 \times 10^1$.

3.2 Enterokoky

Počet KTJ/g enterokoků by ve všech vzorcích půd i rostlin $< 5 \times 10^1$ s výjimkou jediné lokality – k.ú. Kamenec u Poličky (tabulka 2.1). Enterokoky byly zjištěny ve všech pěti dílčích vzorcích půdy v rozsahu 5×10^2 až $1,3 \times 10^3$ KTJ/g, v pšenici byly enterokoky detekovány ve dvou dílčích vzorcích v počtu 4×10^2 a 5×10^2 KTJ.

Lokalita Kamenec u Poličky je vzhledem k ostatním vybraným lokalitám odlišného charakteru. Jak je uvedeno výše, z důvodů změn osevních postupů (tj. nezařazení pšenice) aj. se vyskytly problémy s nalezením vhodných lokalit, a proto byla tato vyhledána dodatečně. Kal byl na lokalitu aplikován již na podzim roku 2016 a poté byla v letech 2017, 2018 a 2020 hnojena statkovými hnojivy (hnůj skotu, močůvka, hnojůvka). Tato pravidelnost a četnost aplikace statkových hnojiv zřejmě ovlivnila výskyt enterokoků v půdě a pšenici. Pro ilustraci jsou na následujícím obrázku znázorněny všechny lokality s pozitivními nálezy enterokoků v půdních vzorcích jak z letošního, tak z loňského roku.

Obrázek 2.2: Počet enterokoků (KTJ/g) v půdních vzorcích z Kamence u Poličky a vzorcích z roku 2020. Na lokality Zhoř, Chyňava, Svitávka a Velim byl aplikován kal i statková hnojiva, na zbývající pouze kal.



V loňském roce byly pozitivní nálezy indikátorových mikroorganismů spojeny s aplikací organických hnojiv a s aplikací kalu vyhovujícího příloze 4 vyhlášky č. 437/2016 Sb. (dnes příloha č. 28 vyhlášky 273/2021 Sb.). Podle této přílohy se v kalu stanovuje pouze *Salmonella spp.* a *E. coli* nebo enterokoky. Podle dostupných materiálů byly v těchto kalech stanoveny výhradně *E. coli* a *Salmonella spp.* a nebyly tedy žádné informace o případných nálezech enterokoků.

V aktuálním šetření se nachází tři pozemky, na něž byl aplikován kal podle přílohy č. 4 a čtyři pozemky s kalem podle přílohy č. 7 tehdy platné vyhlášky č. 437/2016 Sb. Podle přílohy č. 7 musely být v kalech stanoveny tři indikátorové organismy – *Salmonella spp.*, termotolerantní koliformní bakterie a enterokoky. V tabulce 2.1 je rozdělení kalů podle rozsahu parametrů uvedeno jako „kategorie kalu“.

Letošní pozitivní nález se vztahuje k lokalitě s kalem vyhovujícím příloze č. 7, nicméně jak již bylo uvedeno, kal byl aplikován již v roce 2016 a jeho vliv byl patrně upozaděn následným organickým hnojením. Vliv další proměnné se projevil i v polním pokusu (kapitola 4.2), kde byly enterokoky stanoveny v půdě po pšenici na jedné lokalitě ze tří, a to jak po aplikaci kalu, tak na kontrolním pozemku. Statistický rozdíl mezi pozemky je neprůkazný a nálezy enterokoků v půdě tedy zřejmě souvisí s jinými vlivy než s aplikací kalu.

Ačkoli hnojení statkovými hnojivy bezesporu je zdrojem mikroorganismů, není možné ho proto zavrhnout. Je nutné zohlednit stav našich zemědělských půd a přínosy statkových hnojiv, které tkví zejména v podpoře biologické činnosti půdy, v příznivém vlivu na strukturu půdy, v ovlivnění vodního a vzdušného režimu a zvýšení sorpčních a pufrovacích schopností půdy.

3 ZÁVĚRY TERÉNNÍHO ŠETŘENÍ

V terénním šetření bylo v roce 2021 zahrnuto 8 lokalit, včetně jedné kontrolní. Na 7 lokalitách byly počty KTJ enterokoků, termotolerantních koliformních bakterií a *E. coli* ve všech vzorcích (tj. půdních i rostlinných) $< 5 \times 10^1$ KTJ/g, přítomnost *Salmonella spp.* negativní. Na jediné lokalitě byly detekovány enterokoky, a to ve všech pěti půdních dílčích vzorcích a ve dvou dílčích vzorcích pšenice. Jednalo se o lokalitu, na niž byl kal aplikován již v roce 2016 a následně byla pravidelně hnojena statkovými hnojivy (hnojem, močůvkou, hnojůvkou).

Lze se domnívat, že právě četnost hnojení statkovými hnojivy značně přispěla k nálezům enterokoků v odebraných vzorcích.

Tabulka 2.1: Nálezy indikátorových mikroorganismů v půdních a rostlinných vzorcích

označení vz. v protokolu	k.ú.	datum odběru	půdní vzorky					pšenice					hnojení	kategorie kalu
			dílčí vz.	<i>E. coli</i>	enterok.	termot.k.b.	<i>Salmonella spp.</i>	dílčí vz.	<i>E. coli</i>	enterok.	termot.k.b.	<i>Salmonella spp.</i>		
HUS/VSE	Hustopeče nad Bečvou	27.07.2021	1	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	1	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	-	7
			2	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	2	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			3	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	3	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			4	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	4	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			5	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	5	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
HUS/ZUB	Hustopeče nad Bečvou	27.07.2021	1	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	1	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	-	7
			2	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	2	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			3	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	3	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			4	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	4	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			5	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	5	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
LUŽ	Lužce	27.07.2021	1	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	1	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	-	4
			2	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	2	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			3	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	3	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			4	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	4	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			5	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	5	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
MAL	Malenovice	28.07.2021	1	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	1	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	02/2020 kejda	7
			2	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	2	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			3	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	3	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			4	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	4	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			5	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	5	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
SIR	Kamence u Poličky	09.08.2021	1	< 5x10	1,3x10 ³	< 5x10	negativní	1	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	10/2016 kal; 10/2017 hnůj; 11/2018 hnůj; 09/2020 močůvka	7
			2	< 5x10	1,2x10 ³	< 5x10	negativní	2	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			3	< 5x10	5x10 ²	< 5x10	negativní	3	< 5x10	4x10 ²	< 5x10	negativní		
			4	< 5x10	8x10 ²	< 5x10	negativní	4	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			5	< 5x10	1x10 ³	< 5x10	negativní	5	< 5x10	5x10 ²	< 5x10	negativní		

Tabulka 2.1 (pokračování) Nálezy indikátorových mikroorganismů v půdních a rostlinných vzorcích

označení vz. v protokolu	k.ú.	datum odběru	půdní vzorky					pšenice					hnojení	kategorie kalu
			dílčí vz.	<i>E. coli</i>	enterok.	termot.k.b.	<i>Salmonella spp.</i>	dílčí vz.	<i>E. coli</i>	enterok.	termot.k.b.	<i>Salmonella spp.</i>		
SKO	Skočice u Přeštic	02.08.2021	1	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	1	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	-	4
			2	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	2	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			3	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	3	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			4	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	4	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			5	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	5	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
VEL	Velim	26.07.2021	1	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	1	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	-	4
			2	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	2	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			3	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	3	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			4	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	4	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			5	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	5	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
JAR (kontrolní vzorek)	Jarov	02.08.2021	1	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	1	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	-	-
			2	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	2	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			3	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	3	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			4	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	4	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		
			5	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní	5	< 5x10	< 5x10	< 5x10	negativní		

KAPITOLA III POLNÍ ZKOUŠKA

Zpracovala: Michaela Smatanová

V podmínkách přesné polní zkoušky posoudit rizika kontaminace polní produkce a půdy patogenními organismy po aplikaci ČOV kalů.

1 METODIKA

Název polní zkoušky: Možnost rizika kontaminace polní produkce při používání kalů ČOV

Cíle polní zkoušky v roce 2021: ověření možné kontaminace polní produkce při použití neupraveného kalu na zemědělské půdě. Posuzována byla kontaminace rostlinných produktů po aplikaci kalu, ve kterém výskyt patogenních mikroorganismů překračoval hodnoty kritérií stanovených vyhláškou č. 273/2021 Sb. o podrobnostech nakládání s odpady. Použití nehygienizovaného kalu bylo záměrné, s cílem simulovat kritické podmínky, které jsou pro zemědělskou praxi a legislativní předpis zcela nepřijatelné. Jde o nepovolený termín jarní aplikace, dále testování plodin přímo vstupujících do potravního řetězce namísto zařazení technických plodin.

Druh zkoušky: zkouška byla založena na podzim 2020 na zkušebních stanicích ÚKZÚZ Lípa (LIP), Jaroměřice n. Rokytinou (JAR) a Pusté Jakartice (PJA) pro ozimé plodiny. Na jaře 2021 byla zkouška rozšířena a založena v Jaroměřicích n. Rokytinou a Pustých Jakarticích s kukuřicí. Důvodem byl nález indikátorových mikroorganismů v předcházejícím roce u kukuřice v rostlinných i půdních vzorcích.

1.1 Organizace polní zkoušky

Zkoušené plodiny:

Řepka ozimá: odrůda Cortes (lokality Lípa, Jaroměřice n Rokytinou, Pusté Jakartice)
Pšenice ozimá: odrůda Dagmar (lokality Lípa, Jaroměřice n Rokytinou, Pusté Jakartice)
Kukuřice silážní: Figaro (jen Jaroměřice n. Rokytinou a Pusté Jakartice)

Variety hnojení:

1. Nehnojená kontrola
2. Čistírenský kal v dávce 5 t/ha

Pokusné parcely byly přizpůsobeny požadavkům pro aplikaci čistírenského kalu a prevenci cross kontaminace při aplikaci a následným agrotechnickým operacím. V polní zkoušce byly zařazeny na každé ze tří zkušebních stanic 2 varianty. Všechny parcely byly odděleny pěšinami a bočními ochrannými pásy z důvodu vyloučení vzájemného ovlivnění obou variant. Plocha parcel je dána druhem použité mechanizace na zkušební stanici. Obě parcely, tj. kontrola i varianta hnojená kalem, byly rozděleny na 5 stejných částí před vzorkováním rostlin a půdy.

Tabulka 3.1: Schéma pokusu

Pšenice ozimá	2.Kal ČOV	Řepka ozimá	2. Kal ČOV	Kukuřice silážní	2. Kal ČOV
	1.Kontrola		1. Kontrola		1. Kontrola

Tabulka 3.2: Plocha hnojených parcel

Zkušební stanice	Plocha parcely m ²	Výměra zkoušky m ²
Jaroměřice n. Rokytou (JAR)	37	148
Lípa (LIP)	40,5	162
Pusté Jakartice (PJA)	50	200

1.2 Popis pokusných stanovišť

Tabulka 3.3: Charakteristika zkušebních stanic

zkušební stanice	Okres	výr. oblast	nadm. výška (m)	roční úhrn srážek (mm)	dloh. normál (mm)	Průměr teplota (°C)	dloh. normál (°C)	pūd. typ	pūd. druh
Jaroměřice n. Rokytou	TR	BVO	425	462	488	9,8	8,2	HN	JH
Lípa u H. Brodu	HB	BVO	505	596	594	8,9	7,5	KA	PH
Pusté Jakartice	OP	ŘVO	290	493	584	9,9	8,3	LU	H

1.3 Charakteristika čistírenského kalu a jeho aplikace do půdy

a) Aplikace ČOV kalu k ozimům

Pro hnojení zkoušky na podzim 2020 (pšenice ozimá, řepka ozimá) byl použit nehygienizovaný čistírenský kal z ČOV Ledeč nad Sázavou. Analýza použitého kalu v LABTECH s.r.o., Brno ve dnech 29.7.– 5.8. 2020 (Tabulka 3.4) prokázala překročení limitu daného vyhláškou č. 273/2021 Sb. pro počet termotolerantních koliformních bakterií a intestinálních enterokoků.

Tabulka 3.4: Analýza vzorků kalu ČOV Ledeč n. Sázavou (aplikace k ozimům 2020)

Indikátorový mikroorganismus	jednotka	Nejistota měření	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	Kritéria kalu kategorie I.	Kritéria kalu kategorie II.
Sušina	%	10 %	24,83	–	–	–	–	–	–
Termotolerantní koliformní bakterie	KTJ/ g	40 %	2,9x10 ⁴	9x10 ³	2,4x10 ⁴	3x10 ⁴	2x10 ⁴	< 10 ³	10 ³ -10 ⁶
Intestinální enterokoky	KTJ/g	40 %	5,3x10 ³	6,36x10 ³	2,1x10 ⁴	6,14x10 ³	4,2x10 ³	< 10 ³	10 ³ -10 ⁶
<i>Salmonella</i> spp.	/50g	–	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní	–

Tabulka 3.5: Hodnocení výsledků analýzy mikrobiologických kritérií kalu Ledeč n. Sázavou

Indikátorový mikroorganismus	Kritéria	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
Termotolerantní koliformní bakterie	Kritéria kalu kategorie I.	nesplňuje	nesplňuje	nesplňuje	nesplňuje	nesplňuje
	Kritéria kalu kategorie II.	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje
Intestinální enterokoky	Kritéria kalu kategorie I.	nesplňuje	nesplňuje	nesplňuje	nesplňuje	nesplňuje
	Kritéria kalu kategorie II.	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje
<i>Salmonella</i> spp.	Kritéria kalu kategorie I.	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje

Tabulka 3.6: Termíny a dávky aplikace čistírenského kalu k ozimům

Zkušební stanice	datum aplikace	sušina kalu (%)	dávka hnojiva v sušině (t/ha)	dávka kalu (t/ha)	plocha parcely m ²	dávka kalu (kg/parcels)
Lípa	19.8.	24,83	5	20,14	40,5	82
Jaroměřice n. Rokytou	20.8.	24,83	5	20,14	37	75
Pusté Jakartice	8.9.	24,83	5	20,14	50	101

b) Aplikace ČOV kalu k jařině

Pro *hnojení zkoušky na jaře 2021 (kukuřice)* byl použit nehygienizovaný čistírenský kal z ČOV Ledec nad Sázavou. Analýza použitého kalu v LABTECH s.r.o., Brno ve dnech 28. 2. – 3.3. 2021 (Tabulka 3.7) prokázala překročení limitu daného vyhláškou č. 273/2021 Sb. pro počet termotolerantních koliformních bakterií a intestinálních enterokoků a jeden pozitivní vzorek salmonely.

Tabulka 3.7: Analýza vzorků kalu ČOV Ledec n. Sázavou (aplikace k jařině 2021)

Indikátorový mikroorganismus	jednotka	Nejistota měření	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	Kritéria kalu kategorie I.	Kritéria kalu kategorie II.
Sušina	%	10 %	25,43	–	–	–	–	–	–
<i>Escherichia Coli</i>	KTJ/ g	40 %	7,6x10 ⁴	8,8x10 ⁴	7,5x10 ⁴	8,4x10 ⁴	9,5x10 ⁴	–	–
Termotolerantní koliformní bakterie	KTJ/ g	40 %	2,7x10 ³	3,6x10 ³	2,9x10 ³	2,4x10 ³	4,5x10 ³	< 10 ³	10 ³ -10 ⁶
Intestinální enterokoky	KTJ/g	40 %	6,7x10 ⁴	1,21x10 ⁵	8,3x10 ⁴	9x10 ⁴	1,68x10 ⁵	< 10 ³	10 ³ -10 ⁶
<i>Salmonella</i> spp.	/50g	–	pozitivní	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní	–

Tabulka 3.8: Hodnocení výsledků analýzy mikrobiologických kritérií kalu Ledec n. Sázavou

Indikátorový mikroorganismus	Kritéria	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
Termotolerantní koliformní bakterie	Kritéria kalu kategorie I.	nesplňuje	nesplňuje	nesplňuje	nesplňuje	nesplňuje
	Kritéria kalu kategorie II.	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje
Intestinální enterokoky	Kritéria kalu kategorie I.	nesplňuje	nesplňuje	nesplňuje	nesplňuje	nesplňuje
	Kritéria kalu kategorie II.	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje
<i>Salmonella</i>	Kritéria kalu kategorie I.	nesplňuje	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje

Tabulka 3.9: Termíny aplikace čistírenského kalu a dávky k jařině

Zkušební stanice	datum aplikace	sušina kalu (%)	dávka hnojiva v sušině (t/ha)	dávka kalu (t/ha)	plocha parcely m ²	dávka kalu (kg/parcels)
Jaroměřice n. Rokytou	28.4.	25,43	5	19,66	37	73
Pusté Jakartice	10.5.	25,43	5	19,66	14	28

1.4 Odběry vzorků

Půdní vzorky

- Hmotnost vzorku: 250 g odběr Edelmanovým vrtákem z horizontu 0–15 cm, 4 vpichy pro vytvoření jednoho dílčího vzorku z každého dílu každé parcely. Části vegetačního pokryvu, viditelné kořeny a velké části rostlin byly odstraněny. Mezi jednotlivými vzorky byl hrot vrtáku otřen roztokem lihu a vody v poměru 4:1.
- Termín vzorkování a balení vzorků: Vzorky byly odebírány současně s rostlinnými vzorky do sterilních sáčků typu BagLight PolySilk 400, který byl vložen do dalšího ochranného (běžného) sáčku.

Rostlinné vzorky

- Hmotnost a odběr vzorků ječmene: ruční odběr klasů a šesulí (min 250 g), zahradnickými nůžkami, do sterilních sáčků typu BagLight PolySilk 400, které se vkládaly do dalšího ochranného (běžného) sáčku.
- Hmotnost a odběr vzorku kukuřice: ruční odběr celých palic včetně listenů ve voskově mléčné zralosti (min 500 g), do sterilních sáčků typu BagLight PolySilk 400, které se vkládaly do dalšího ochranného (běžného) sáčku.

Při vzorkování byly použity latexové jednorázové rukavice. Vzorky byly transportovány v den vzorkování do laboratoře v uzavřených sterilních sáčcích a v chladicím boxu při teplotě 4 °C.

Statistické vyhodnocení: rozdíly mezi nehnojenou kontrolou a variantou hnojenou kalem byly statisticky testovány s využitím t–testu. K vyhodnocení výsledků byl použit program Statistica 13.

1.5 Mikrobiologické analýzy vzorků

Vzorky na stanovení kontaminantů byly analyzovány v akreditované laboratoři Morava s.r.o., Studénka. Číslo zkušební laboratoře 1266, akreditace ČIA. Odběry vzorků prováděli metodici ÚKZÚZ, Sekce zemědělských vstupů, Oddělení výživy rostlin.

Mikrobiologickým analýzám bylo podrobena zrno pšenice ozimé a kukuřice, semeno řepky ozimé tedy přímo konzumované nebo dále zpracovávané části rostlin. Z klasů pšenice byly v laboratoři odstraněny pluchy, plušky a šesule, které zrno a semeno obalují. Z palic kukuřice byly odstraněny veškeré obalové listeny.

2 PRŮBĚH VEGETACE

2.1 Agrotechnické záznamy

Čistírenský kal byl zapraven do hloubky 10–15 cm při přípravě půdy na podzim 2020 pro ozimy a na jaře 2021 pro kukuřici. Během vegetace nebyly provedeny žádné další agrotechnické operace, přejezdy atd. při nichž by se narušil povrch půdy a došlo ke cross kontaminaci půdy a znečištění rostlin.

Tabulka 3.10: Přehled pracovních úkonů na zkušebních stanicích

úkon na pokusu	Lípa	Jaroměřice n. Rokytnou	Pusté Jakartice
aplikace kalu ČOV pro ozimy	19.8.	20.8.	8.9.
orba pro ozimy	19.8.	21.8.	8.9.
rotační brány pro řepku 2x	20.8.	25.8.	8.9.
setí řepky ozimé	27.8.	27.8.	9.9.
rotační brány pro pšenici 2x	25.9.	8.10.	23.10.
setí pšenice ozimá	6.10.	9.10.	26.10.
orba pro kukuřici	-	12.11.	13.11.
smyky pro kukuřici 2x	-	16.4.	10.5.
aplikace kalu ČOV pro kukuřici	-	28.4.	10.5.
setí kukuřice	-	5.5.	10.5.
vzorkování půdy a šesulí řepky	4.8.	4.8.	4.8.
vzorkování půdy a klasů pšenice	4.8.	4.8.	4.8.
vzorkování půdy a klasů kukuřice	-	14.9.	16.9.

2.2 Klimatické podmínky

Průměrné měsíční teploty a měsíční úhrn srážek za rozhodující období pokusného roku byly porovnány s normálem a jsou zhodnoceny za období 9/2020–9/2021 v tabulkách 3.11 a 3.12.

Tabulka 3.11: Průměrné měsíční srážky v r. 2019/2020

Stanice	Průměrné měsíční srážky (mm)												
	IX	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Jaroměřice n. R.													
suma denních srážek	78	50,2	20,4	12,6	28,5	25,6	10,5	14,5	89,5	102,9	82	66,4	17,4
měsíční normál	40	29	32	27	24	21	25	32	57	64	71	58	40
% normálu	195	173	64	47	119	122	42	45	157	161	115	114	44
Lípa													
suma denních srážek	53,5	62,5	34,8	14,7	46,3	37,3	14,7	26,7	82,7	55,3	139	92,8	23,4
měsíční normál	51	36	42	39	36	28	38	36	59	77	81	71	51
% normálu	105	174	83	38	129	133	39	74	140	72	172	13	46
Pusté Jakartice													
suma denních srážek	125,9	149,2	23,9	24,8	26	37,3	26,1	49,3	105,5	45,5	69,8	120,3	35,2
měsíční normál	56	36	38	24	18	22	29	45	74	86	92	64	56
% normálu	225	414	63	103	144	170	90	110	143	53	76	188	63

Tabulka 3.12: Průměrné měsíční teploty v r. 2020/2021

Stanice	Průměrné měsíční teploty (°C)												
	IX	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Jaroměřice n. R.													
Ø denní teplota (°C)	15,1	9,3	4,0	1,6	-0,8	0,2	3,2	6,3	11,8	20,1	20,3	17,4	15,1
měsíční normál (°C)	13,4	8	2,3	-0,9	-2,4	-0,8	3,1	7,8	13,3	16,4	18,2	18,1	13,4
Lípa													
Ø denní teplota (°C)	14,2	9,3	4,3	2,0	-0,8	-0,1	3,0	5,6	10,8	19,3	19,1	16,4	14,2
měsíční normál (°C)	12,8	7,9	2,3	-0,6	-2,1	-1,0	2,8	6,7	12,5	15,3	17,0	16,9	12,8
Pusté Jakartice													
Ø denní teplota (°C)	15,8	10,8	5,9	3,3	0,3	0,4	4,5	7,0	13	20,7	21,6	18,4	15,6
měsíční normál (°C)	13,3	8,6	3,1	0,0	-1,5	-0,3	3,4	7,6	13,3	16,2	18,0	17,8	13,3

3 MIKROBIOLOGICKÉ ANALÝZY ROSTLINNÉHO MATERIÁLU

V polních pokusech byl hodnocen vliv aplikace čistírenského kalu na ozimou pšenici, ozimou řepku a kukuřici.

3.1 Počet *Escherichia Coli* v rostlinách

V zrně pšenice, semeni řepky a zrně kukuřice byl počet *Escherichia Coli* na všech pokusných lokalitách obou variant menší než 5×10^1 KTJ/g, mezi variantami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

Tabulka 3.13: Počet *Escherichia Coli* (KTJ/g) v původní hmotě zrna pšenice ozimé

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
PJA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$

Tabulka 3.14: Statistické hodnocení *Escherichia Coli*, v zrně pšenice ozimé

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	< 50	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, $p < 0,05$).

Tabulka 3.15: Počet *Escherichia Coli* (KTJ/g) v původní hmotě semene řepky ozimé

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
PJA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$

Tabulka 3.16: Statistické hodnocení *Escherichia Coli* v semeni řepky ozimé

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	< 50	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, $p < 0,05$).

Tabulka 3.17: Počet *Escherichia Coli* (KTJ/g) v původní hmotě zrna kukuřice

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
PJA	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹

Tabulka 3.18: Statistické hodnocení *Escherichia Coli* v zrně kukuřice

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	< 50	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, p<0,05).

3.2 Počet enterokoků v rostlinách

V zrně pšenice, kukuřice a rovněž semeni řepky počet enterokoků na všech pokusných lokalitách obou variant nepřesáhl 5x10¹ KTJ/g, mezi variantami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

Tabulka 3.19: Počet *enterokoků* (KTJ/g) v původní hmotě zrna pšenice ozimé

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
LIP	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
PJA	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹

Tabulka 3.20: Statistické hodnocení *enterokoků* v zrně pšenice ozimé

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	< 50	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, p<0,05)

Tabulka 3.21: Počet *enterokoků* (KTJ/g) v původní hmotě semene řepky ozimé

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
LIP	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
PJA	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹

Tabulka 3.22: Statistické hodnocení *enterokoků* v semeni řepky ozimé

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	< 50	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, p<0,05)

Tabulka 3.23: Počet *enterokoků* (KTJ/g) v původní hmotě zrna kukuřice

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
LIP	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
PJA	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹

Tabulka 3.24: Statistické hodnocení *enterokoků* zrna kukuřice

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	< 50	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, p<0,05)

3.3 Počet termotolerantních koliformních bakterií v rostlinách

V zrně pšenice, kukuřice a rovněž semeni řepky počet termotolerantních koliformních bakterií na všech pokusných lokalitách obou variant nepřekročil počet 5×10^1 KTJ/g, mezi variantami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

Tabulka 3.25: Počet termotolerantních koliformních bakterií (KTJ/g) zrna pšenice ozimé

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
PJA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$

Tabulka 3.26: Statistické hodnocení termotolerantních koliformních bakterií zrna pšenice ozimé

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	< 50	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, $p < 0,05$).

Tabulka 3.27: Počet termotolerantních koliformních bakterií (KTJ/g) v původní hmotě semene řepky ozimé

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
PJA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$

Tabulka 3.28: Statistické hodnocení termotolerantních koliformních bakterií v semeni řepky ozimé

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	< 50	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, $p < 0,05$).

Tabulka 3.29: Počet *termotolerantních koliformních bakterií* (KTJ/g) v původní hmotě zrna kukuřice

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
PJA	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹

Tabulka 3.30: Statistické hodnocení *termotolerantních koliformních bakterií* v semeni řepky ozimé

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	< 50	a

3.4 Výskyt *Salmonelly* spp. v rostlinách

U všech tří plodin a na všech pokusných plochách byly výsledky testů na přítomnost *Salmonelly* negativní, rovněž důkazové testy byly negativní.

Tabulka 3.31: Přítomnost *Salmonelly* spp. a důkazové testy *Salmonelly* spp., pšenice ozimá

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2.	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
JAR	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
LIP	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
PJA	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní

Tabulka 3.32: Přítomnost *Salmonelly* spp. a důkazové testy *Salmonelly* spp., řepka ozimá

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2.	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
JAR	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
LIP	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
PJA	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní

Tabulka 3.33: Přítomnost *Salmonelly spp.* a důkazové testy *Salmonelly spp.*, kukuřice

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
JAR	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
LIP	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
PJA	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní

4 MIKROBIOLOGICKÉ ANALÝZY PŮDNÍCH VZORKŮ

4.1 Počet *Escherichia Coli* v půdě

V půdě po pšenici, řepce i kukuřici počet *Escherichia Coli* na všech pokusných lokalitách obou variant nepřesáhl počet 5×10^1 KTJ/g, mezi variantami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

Tabulka 3.34: Hodnocení *Escherichia Coli* (KTJ/g), půda po pšenici

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
PJA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$

Tabulka 3.35: Statistické hodnocení *Escherichia Coli*, půda po pšenici

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	< 50	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, $p < 0,05$).

Tabulka 3.36: Hodnocení *Escherichia Coli* (KTJ/g), půda po řepce

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
PJA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$

Tabulka 3.37: Statistické hodnocení *Escherichia Coli*, půda po řepce

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	< 50	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, $p < 0,05$).

Tabulka 3.38: Počet *Escherichia Coli* (KTJ/g), půda po kukuřici

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
LIP	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
PJA	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹

Tabulka 3.39: Statistické hodnocení *Escherichia Coli*, půda po kukuřici

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	< 50	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, $p < 0$)

4.2 Počet enterokoků v půdě

V půdě po pšenici byl počet enterokoků na dvou pokusných lokalitách obou variant <5x10¹ KTJ/g. Pouze na jedné lokalitě (tabulka 3.40) byl zaznamenán nepatrně nízký výskyt na kontrole (1x10² – 1,1x10³ KTJ/g) a po kalu (1x10² – 1,4x10³ KTJ/g), mezi variantami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

Tabulka 3.40: Počet *enterokoků* (KTJ/g), půda po pšenici

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
LIP	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
PJA	1.Kontrola	6x10 ²	5x10 ²	1,1x10 ³	1x10 ²	8,5x10 ²	1x10 ² - 1,1x10 ³
	2.Kal ČOV	1,4x10 ³	1,2x10 ²	1x10 ³	1,4x10 ³	1,1x10 ³	1,2x10 ² - 1,4x10 ³

Tabulka 3.41: Statistické hodnocení *enterokoků*, půda po pšenici

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	243	a
2.Kal ČOV	440	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, $p < 0,05$).

V půdě po řepce byl zjištěn počet enterokoků po kontrole v průměru 206 KTJ/g a po ČOV kalu v průměru tří lokalit 203 KTJ/g (tabulka 3.42), mezi variantami nebyly nalezeny statisticky průkazné rozdíly.

Tabulka 3.42: Počet *enterokoků* (KTJ/g), půda po řepce

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	2×10^2	$< 5 \times 10^1$	3×10^2	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1 - 3 \times 10^2$
	2.Kal ČOV	$< 5 \times 10^1$	2×10^2	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$3,5 \times 10^2$	$< 5 \times 10^1 - 2 \times 10^2$
LIP	1.Kontrola	$2,5 \times 10^2$	3×10^2	$5,5 \times 10^2$	5×10^2	$3,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^2 - 5,5 \times 10^2$
	2.Kal ČOV	$5,5 \times 10^2$	$3,5 \times 10^2$	2×10^2	5×10^2	4×10^2	$2 \times 10^2 - 5,5 \times 10^2$
PJA	1.Kontrola	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	2×10^2	$1,5 \times 10^2$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1 - 2 \times 10^2$
	2.Kal ČOV	1×10^2	$1,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$	1×10^2	$1,5 \times 10^2$	$1 \times 10^2 - 1,5 \times 10^2$

Tabulka 3.43: Statistické hodnocení *enterokoků*, půda po řepce

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	206	a
2.Kal ČOV	203	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, $p < 0,05$).

V půdě po kukuřici počet enterokoků na obou pokusných lokalitách obou variant nepřesáhl počet 5×10^1 KTJ/g, mezi variantami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

Tabulka 3.44: Počet *enterokoků* (KTJ/g), půda po kukuřici

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$
PJA	1.Kontrola	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$

Tabulka 3.35: Statistické hodnocení *enterokoků*, půda po kukuřici

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	< 50	a

4.3 Počet termotolerantních koliformních bakterií v půdě

V půdě všech tří plodin počet termotolerantních koliformních bakterií na třech pokusných lokalitách obou variant byl menší než 5×10^1 KTJ/g, mezi variantami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

Tabulka 3.46: Hodnocení termotolerantních koliformních bakterií (KTJ/g), půda po pšenici

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
PJA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$

Tabulka 3.47: Statistické hodnocení termotolerantních koliformních bakterií, půda po pšenici

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	< 50	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, $p < 0,05$).

Tabulka 3.48: Počet termotolerantních koliformních bakterií (KTJ/g), půda po řepce

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
PJA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	2×10^2	1×10^2	$1,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$	2×10^2	$<5 \times 10^1 - 2 \times 10^2$

Tabulka 3.49: Statistické hodnocení termotolerantních koliformních bakterií, půda po řepce

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	83	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, $p < 0,05$).

Tabulka 3.50: Počet termotolerantních koliformních bakterií (KTJ/g), půda po kukuřici

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
JAR	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
PJA	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹

Tabulka 3.51: Statistické hodnocení termotolerantních koliformních bakterií, půda po kukuřici

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	< 50	a
2.Kal ČOV	< 50	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, p<0,05).

4.4 Výskyt *Salmonelly* spp. v půdě

Po obou plodinách a na všech pokusných plochách byly testy na přítomnost *Salmonelly* negativní, rovněž důkazové testy byly negativní.

Tabulka 3.52: Přítomnost *Salmonelly* spp. a důkazové testy *Salmonelly* spp., půda po pšenici

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
JAR	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
LIP	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
PJA	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní

Tabulka 3.53: Přítomnost *Salmonelly* spp. a důkazové testy *Salmonelly* spp., půda po řepce

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
JAR	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
LIP	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
PJA	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní

Tabulka 3.54: Přítomnost *Salmonelly spp.* a důkazové testy *Salmonelly spp.*, půda po kukuřici

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
JAR	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
LIP	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
PJA	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní

5 POROVNÁNÍ MIKROBIOLOGICKÝCH ANALÝZ ROSTLIN A PŮDY**5.1 Porovnání *Escherichia Coli* v rostlinách a půdě**Tabulka 3.55: *Escherichia Coli* (KTJ/g), průměrné rozpětí pěti hodnocených rostlinných vzorků

pokusná lokalita	pokusná varianta	rostlinné vzorky		
		pšenice	řepka	kukuřice
JAR	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
LIP	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	-
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	-
PJA	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
Průměr	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹

Tabulka 3.56: *Escherichia Coli* (KTJ/g), průměrné rozpětí pěti hodnocených půdních vzorků

pokusná lokalita	pokusná varianta	půdní vzorky		
		po pšenici	po řepce	po kukuřici
JAR	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
LIP	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	-
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	-
PJA	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
Průměr	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹

Po aplikaci neupraveného čistírenského kalu jak při podzimní aplikaci (pšenice, řepka), tak při jarní (kukuřice) byl výskyt *Escherichia Coli* v hlavních produktech pod hranicí 50 KTJ/g. V půdách všech lokalit byl výskyt *Escherichia Coli* rovněž menší než 50 KTJ/g. Podle našich předkládaných výsledků tento indikátor nepředstavoval riziko kontaminace.

5.2 Porovnání enterokoků v rostlinách a půdě

U kontrolních variant i parcel s čistírenským kalem, který nesplňoval kritéria kalu I. kategorie byl ve všech rostlinných vzorcích zaznamenán počet enterokoků <50 KTJ/g.

Tabulka 3.57: *Enterokoky (KTJ/g), průměrné rozpětí pěti hodnocených rostlinných vzorků*

pokusná lokalita	pokusná varianta	rostlinné vzorky		
		pšenice	řepka	kukuřice
JAR	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	-
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	-
PJA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
Průměr	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$

Tabulka 3.58: *Enterokoky (KTJ/g), průměrné rozpětí pěti hodnocených půdních vzorků*

pokusná lokalita	pokusná varianta	půdní vzorky		
		po pšenici	po řepce	po kukuřici
JAR	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1 - 3 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1 - 2 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^2 - 5,5 \times 10^2$	-
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$2 \times 10^2 - 5,5 \times 10^2$	-
PJA	1.Kontrola	$1 \times 10^2 - 1,1 \times 10^3$	$<5 \times 10^1 - 2 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$1,2 \times 10^2 - 1,4 \times 10^3$	$1 \times 10^1 - 1,5 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$
Průměr	1.Kontrola	243	206	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	368	203	$<5 \times 10^1$

Na nehnojené kontrole bylo zaznamenáno v průměru 206 a 243 KTJ/g enterokoků, důvod výskytu nelze objektivně objasnit. Po podzimní aplikaci kalu bylo zjištěno 203 a 368 KTJ/g. Ani tento nízký nález mikrobiálního indikátoru 10 měsíců po aplikaci do půdy nelze spolehlivě objasnit. Naproti tomu jarní aplikace kalu pro kukuřici pro obě varianty vykázala počet enterokoků menší než 5×10^1 .

5.3 Porovnání termotolerantních koliformních bakterií v rostlinách a půdě

Tabulka 3.59: Termotolerantní koliformní bakterie (KTJ/g), průměrné rozpětí pěti hodnocených rostlinných vzorků

pokusná lokalita	pokusná varianta	rostlinné vzorky		
		pšenice	řepka	kukuřice
JAR	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
PJA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
Průměr	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$

Tabulka 3.60: Termotolerantní koliformní bakterie (KTJ/g), průměrné rozpětí pěti hodnocených půdních vzorků

pokusná lokalita	pokusná varianta	půdní vzorky		
		po pšenici	po řepce	po kukuřici
JAR	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	-
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	-
PJA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1 - 2 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$
Průměr	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	83	$<5 \times 10^1$

Výskyt termotolerantních koliformních bakterií v rostlinných vzorcích a půdě byl minimální, ve všech případech bylo zjištěno $<5 \times 10^1$ KTJ/g. V půdních vzorcích pouze na jedné lokalitě po řepce ozimé a po variantě s čistírenským kalem bylo zjištěno 150 KTJ/g (viz tabulka 4.38), v průměru 83 KTJ/g.

5.4 Porovnání *Salmonelly* spp. a důkazových testů v rostlinách a půdě

Po aplikaci kalu nevyhovujícího platnému legislativnímu předpisu se přítomnost *Salmonelly* nepotvrdila v rostlinách ani půdě.

Tabulka 3.61: *Salmonelly* spp. a důkazové testy *Salmonelly* spp, rostlinné vzorky

pokusná lokalita	pokusná varianta	rostlinné vzorky		
		pšenice	řepka	kukuřice
JAR	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní
LIP	1.Kontrola	negativní	negativní	-
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	-
PJA	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní
Průměr	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní

Tabulka 3.62: *Salmonelly* spp. a důkazové testy *Salmonelly* spp, půdní vzorky

pokusná lokalita	pokusná varianta	půdní vzorky		
		po pšenici	po řepce	po kukuřici
JAR	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní
LIP	1.Kontrola	negativní	negativní	-
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	-
PJA	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní
Průměr	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní

6 FOTODOKUMENTACE POLNÍHO POKUSU

Obrázek 3.1: Pokusná lokalita Jaroměřice n. Rokytinou, řepka ozimá před vzorkováním



Obrázek 3.2: Vzorky řepky ozimé, lokalita Jaroměřice n. Rokytinou



Obrázek 3.3: Pokusná lokalita Lípa, odběr vzorků půdy po řepce



Obrázek 3.4: Transport klasů pšenice k analýze



7 ZÁVĚRY POLNÍHO POKUSU

Druhý pokusný rok maloparcelního polního pokusu, v němž byly aplikovány dva vzorky neupraveného čistírenského kalu (tabulka 3.4 a 3.7), jehož mikrobiologické parametry nevyhověly kritériím vyhlášky č. 273/2021 Sb., úmyslně simuluje podmínky, které jsou pro zemědělskou praxi zcela nepřijatelné. Jde o nepovolený termín jarní aplikace namísto podzimní v případě kukuřice a dále o testování plodin přímo vstupujících do potravního řetězce namísto technických plodin.

Tyto záměrně kriticky nastavené podmínky provokačního pokusu prokázaly, že výskyt *Escherichia Coli* jak u podzimní, tak u jarní aplikace nepředstavoval riziko pro rostlinnou produkci ani pro půdy.

Nález enterokoků se v rostlinných vzorcích nepotvrdil. U kontroly i varianty s kalem aplikovaným na podzim na dvou lokalitách byl v půdě zjištěn zanedbatelně nízký počet enterokoků.

Výskyt termotolerantních koliformních bakterií se v rostlinných vzorcích neprokázal, pouze na jedné lokalitě byl v půdě zjištěn minimální počet.

Nález *Salmonelly* se nepotvrdil v žádném z odebraných vzorků rostlin a půdy.

8 POUŽITÉ ZKRATKY

KTJ/g	Kolonie tvořící jednotky
ČOV	čistírna odpadních vod
JAR	Zkušební stanice Jaroměřice nad Rokytnou
PJA	Zkušební stanice Pusté Jakartice
LIP	Zkušební stanice Lípa
OdVR	Oddělení výživy rostlin
SZV	Sekce zemědělských vstupů

KAPITOLA IV NÁDOBOVÁ ZKOUŠKA

Zpracoval: Jaroslav Hynšt

V podmínkách vegetační nádobové zkoušky posoudit rizika kontaminace zeleniny, brambor, ječmene a půdy patogenními organismy po aplikaci ČOV kalů.

1 METODIKA

1.1 Úvod

Název zkoušky: Mikrobiální kontaminace plodin a půdy po aplikaci čistírenských kalů

Účel zkoušky: Posoudit riziko zvýšení výskytu patogenních mikroorganismů v rostlinných produktech a v půdě po aplikaci neupraveného ČOV kalu v podmínkách vegetační nádobové zkoušky.

Cíle zkoušky: zjistit, zda aplikace kalu zvýší mikrobiální kontaminaci půdy a sklizených produktů ve srovnání s nehnojenou kontrolou a variantou hnojenou chlěvským hnojem.

Hypotézy a očekávané výsledky: aplikace čistírenských kalů je spojena s výskytem patogenních mikroorganismů v půdě a ve sklizených produktech.

Druh zkoušky: vegetační nádobová zkouška byla založena na jaře 2021 ve vegetační hale ÚKZÚZ v Brně

1.2 Vlastnosti použité půdy

K založení zkoušky byla požitá ručně odebraná svrchní vrstva ornice z lokality Zbýšov (okres Vyškov, 49.1315611N, 16.8127056E) – černozem (Tabulka 4.1).

Tabulka 4.1: Základní agrochemické vlastnosti půdy použité k založení zkoušky

půdní reakce pH/CaCl ₂	poměr K:Mg	Obsah živin ve výluhu Mehlich 3 (mg/kg) a hodnocení dle kritérií			
		P	K	Mg	Ca
7,8	0,27	45	217	818	7894
alkalická	dobrá	nízký	dobrá	velmi vysoký	velmi vysoký

Obsah mikroelementů ve výluhu Mehlich 3 (mg/kg) a hodnocení dle kritérií				
Cu	Zn	Fe	Mn	B
3,2	8,7	98,9	176,9	4,46
střední	vysoký	střední	střední	vysoký

1.3 Zkoušené plodiny

Kukuřice (*Zea Mays*) – odrůda Pesandor

Brambory (*Solanum tuberosum*) – odrůda Marabel

1.4 Dávky hnojiv a schéma nádobové zkoušky

Schéma vegetační zkoušky uvádí tabulka 4.2, dávky hnojiv do nádob jsou uvedeny v tabulce 4.3. Kal byl aplikován v dávkce odpovídající dávkce sušiny kalu 5 t ha⁻¹.

Tabulka 4.2: Schéma vegetační nádobové zkoušky a dávky hnojiv

Plodina	Varianta	Počet nádob	Objem nádob (l)	Navážka půdy (kg)	Dávka kalu v sušině (t ha ⁻¹)	Dávka hnoje (t ha ⁻¹)
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	5	12	12	0	0
	2. kal 1. odběr	5	12	12	5	0
	3. kontrola 2. odběr	5	12	12	0	0
	4. kal 2. odběr	5	12	12	5	0
	5. kontrola 3. odběr	5	12	12	0	0
	6. kal 3. odběr	5	12	12	5	0
	7. hnůj 3. odběr	5	12	12	0	40
Brambory	1. kontrola	5	12	11	0	0
	2. kal	5	12	11	5	0
	3. hnůj	5	12	11	0	40

Tabulka 4.3: Dávky hnojiv do nádob

Plodina	Varianta	Počet nádob	Dávka kalu (g nádoba ⁻¹)	Dávka hnoje (g nádoba ⁻¹)
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	5	0	0
	2. kal 1. odběr	5	98	0
	3. kontrola 2. odběr	5	0	0
	4. kal 2. odběr	5	98	0
	5. kontrola 3. odběr	5	0	0
	6. kal 3. odběr	5	98	0
	7. hnůj 3. odběr	5	0	200
Brambory	1. kontrola	5	0	0
	2. kal	5	98	0
	3. hnůj	5	0	200

1.5 Charakteristika čistírenského kalu a jeho použití

Pro založení zkoušky byl použit nehygienizovaný čistírenský kal z ČOV Ledec nad Sázavou a hnůj z družstva Agronet Nesovice. Mikrobiální kontaminace použitých hnojiv byla potvrzena analýzou v LABTECH s.r.o., Brno ve dnech 25.2.- 3.3.2021. Analýza (Tabulka 4.4, tabulka 4.5)

prokázala překročení limitu daného vyhláškou č. 273/2021 Sb. pro počet termotolerantních koliformních bakterií a intestinálních enterokoků ve vzorcích kalu.

Tabulka 4.4: Mikrobiální kontaminace vzorků kalu

Indikátorový mikroorganismus	jednotka	Nejistota měření	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
Sušina	%	10 %	24,83	–	–	–	–
Termotolerantní koliformní	KTJ/1 g	40 %	1,05x10 ⁶	9,4x10 ⁵	1,14x10 ⁶	9,8x10 ⁵	1,36x10 ⁶
Intestinální enterokoky	KTJ/1 g	40 %	3,2x10 ⁵	5,1x10 ⁵	6,5x10 ⁵	4x10 ⁵	2,7x10 ⁵
<i>Salmonella</i> spp.	/50g	–	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní

Tabulka 4.5: Mikrobiální kontaminace vzorků chlévského hnoje

Indikátorový mikroorganismus	jednotka	Nejistota měření	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
<i>Escherichia Coli</i>	KTJ/1 g	40 %	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
Termotolerantní koliformní	KTJ/1 g	40 %	9,5x10 ⁴	8,5x10 ⁴	1,1x10 ⁵	1,2x10 ⁵	1,3x10 ⁵
Intestinální enterokoky	KTJ/1 g	40 %	8x10 ⁴	7x10 ⁴	9,5x10 ⁴	1x10 ⁵	1,05x10 ⁵
<i>Salmonella</i> spp.	/50g	–	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní

Aplikace hnojiv: navážka kalu i hnoje byla promíchána s navážkou půdy jednotlivých nádob dne 20. 4. 2021.

1.6 Technika založení a rozsah zkoušky

Celkový rozsah zkoušky:

Brambory: 3 varianty x 5 opakování

Kukuřice: 7 variant x 5 opakování

Celkem 50 vegetačních nádob

Kukuřice

- rostliny kukuřice byly pěstovány v plastových nádobách s 12 kg zhomogenizované zeminy
- do každé nádoby bylo 6. 5. 2021 vyseto 9 semen. Po vzejití bylo 20. 5. 2021 provedeno vyjednocení na 4 vyrovnané rostliny v každé nádobě.

Brambory

- rostliny brambor byly pěstovány v plastových nádobách s 11 kg zhomogenizované zeminy
- do každé nádoby byla 20. 4. 2021 vysazena 1 hlíza

Obecné zásady

- pod každou vegetační nádobou byla umístěna miska pro případné zachycení přebytečné zálivkové vody. Tato perkolovaná voda byla navracena zpět do nádoby
- během vegetace byl sledován zdravotní stav rostlin, použité přípravky na ochranu rostlin jsou uvedeny v tabulce 4.6.
- v průběhu vegetace byla vlhkost zeminy v nádobách udržována pravidelnou zálivkou dle potřeby demineralizovanou vodou, upravenou reverzní osmózou MID 50 K (Pharmapur řady Aqua Complet) na hodnotu 60 % maximální vodní kapacity

Tabulka 4.6. Přípravky použité k ochraně proti chorobám a škůdcům v průběhu zkoušky

Plodina	Přípravek	datum	koncentrace (%)	Škůdce/choroba
Kukuřice	Karate Zeon	24. 5. 2021	0,1	bzunka ječná
Brambory	Champion	20. 5. 2021	1	houbové choroby
	Acrobat MZ WG	22. 6. 2021	0,05	houbové choroby

1.7 Odběry vzorků

Odběr vzorků rostlin

- Z každé nádoby byl odebrán 1 dílčí vzorek rostlin kukuřice, klasů kukuřice a hlíz brambor, celkem 5 dílčích vzorků každé plodiny z každé varianty. Sklizené produkty byly odebrány do sterilních sáčků typu BagLight PolySilk 400. Rostliny kukuřice byly odebrány ve fázi prodlužovacího růstu (1. odběr), ve fázi kvetení (2. odběr) a klasy kukuřice ve fázi mléčné zralosti (3. odběr).
- Vzorky byly odebírány ručně, hmotnost dílčího vzorku byla 200 g.
- Nakládání a transport vzorků: vzorky byly transportovány v den odběru do laboratoře v uzavřených sterilních sáčcích a v chladicím boxu při teplotě 4 °C.

Odběr vzorků půdy

- Z každé nádoby byl po sklizni brambor a po 3. odběru kukuřice odebrán 1 dílčí vzorek půdy (250 g), celkem 5 dílčích vzorků z každé varianty. Mezi variantami bylo náradí očištěno roztokem lihu s vodou v poměru 4:1.
- Termín vzorkování a balení vzorku: odběr byl proveden po sklizni plodiny (současně s rostlinnými vzorky) do sterilního sáčku typu BagLight PolySilk 400. Sterilní sáček byl vložen do dalšího ochranného (běžného) sáčku. K odběru byly použity latexové jednorázové rukavice.
- Nakládání a transport vzorků: vzorky byly transportovány v den odběru do laboratoře v uzavřených sterilních sáčcích a v chladicím boxu při teplotě 4 °C.

Hodnocené parametry: mikrobiální kontaminace sklizených produktů a půdy vybranými skupinami patogenních bakterií: termotolerantní koliformní bakterie, enterokoky, *E. coli* a *Salmonella* spp.

Vzorky na stanovení kontaminantů byly analyzovány v akreditované laboratoři Morava s.r.o., Studénka. Číslo zkušební laboratoře 1266, akreditace ČIA. Odběry vzorků prováděli metodici ÚKZÚZ, Sekce zemědělských vstupů, Oddělení výživy rostlin.

Statistické vyhodnocení: rozdíly mezi nehnojenou kontrolou a variantou hnojenou kalem byly statisticky testovány s využitím t-testu. K vyhodnocení byl použit program Statistica 13.

2 VÝSLEDKY MIKROBIOLOGICKÉ ANALÝZY ROSTLINNÉHO MATERIÁLU

2.1 Počet *Escherichia Coli* ve vzorcích rostlinného materiálu

Počet *E. Coli* byl ve všech odebraných vzorcích nižší než 50 KTJ/g (Tabulka 4.7). Mezi variantami a odběry nebyly průkazné rozdíly (Tabulka 4.8).

Tabulka 4.7: Počet *Escherichia Coli* (KTJ/g) v původní hmotě sklizených produktů

pokusná plodina	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí (KTJ/g)
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2. kal 1. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	3. kontrola 2. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	4. kal 2. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	5. kontrola 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	6. kal 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	7. hnůj 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
Brambory	1. kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2. kal	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	3. hnůj	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹

Tabulka 4.8: Statistické hodnocení počtu *Escherichia Coli* (KTJ/g) v původní hmotě sklizených produktů po sklizni. Odlišná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t–test, p<0,05).

pokusná plodina	pokusná varianta	Průměr	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	50	a
	2. kal 1. odběr	50	a
	3. kontrola 2. odběr	50	a
	4. kal 2. odběr	50	a
	5. kontrola 3. odběr	50	a
	6. kal 3. odběr	50	a
	7. hnůj 3. odběr	50	a
Brambory	1. kontrola	50	a
	2. kal	50	a
	3. hnůj	50	a

2.2 Počet enterokoků ve vzorcích rostlinného materiálu

Počet enterokoků byl ve všech odebraných vzorcích nižší než 50 KTJ/g (Tabulka 4.9). Mezi variantami a odběry nebyly průkazné rozdíly (Tabulka 4.10).

Tabulka 4.9: Počet *enterokoků* (KTJ/g) v původní hmotě sklizených produktů

pokusná plodina	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí (KTJ/g)
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2. kal 1. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	3. kontrola 2. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	4. kal 2. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	5. kontrola 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	6. kal 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	7. hnůj 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
Brambory	1. kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2. kal	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	3. hnůj	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹

Tabulka 4.10: Statistické hodnocení počtu *enterokoků* (KTJ/g) v původní hmotě sklizených produktů po sklizni. Odlišná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, p<0,05).

pokusná plodina	pokusná varianta	Průměr	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	50	a
	2. kal 1. odběr	50	a
	3. kontrola 2. odběr	50	a
	4. kal 2. odběr	50	a
	5. kontrola 3. odběr	50	a
	6. kal 3. odběr	50	a
	7. hnůj 3. odběr	50	a
Brambory	1. kontrola	50	a
	2. kal	50	a
	3. hnůj	50	a

2.3 Počet termotolerantních koliformních bakterií ve vzorcích rostlinného materiálu

Počet termotolerantních koliformních bakterií byl ve všech odebraných vzorcích nižší než 50 KTJ/g (Tabulka 4.11). Mezi variantami a odběry nebyly průkazné rozdíly (Tabulka 4.12).

Tabulka 4.11: Počet *termotolerantních koliformních bakterií* (KTJ/g) v původní hmotě sklizených produktů

pokusná plodina	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí (KTJ/g)
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2. kal 1. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	3. kontrola 2. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	4. kal 2. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	5. kontrola 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	6. kal 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	7. hnůj 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
Brambory	1. kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2. kal	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	3. hnůj	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹

Tabulka 4.12: Statistické hodnocení počtu *enterokoků* (KTJ/g) v původní hmotě sklizených produktů po sklizni. Odlišná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t–test, p<0,05).

pokusná plodina	pokusná varianta	Průměr	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	50	a
	2. kal 1. odběr	50	a
	3. kontrola 2. odběr	50	a
	4. kal 2. odběr	50	a
	5. kontrola 3. odběr	50	a
	6. kal 3. odběr	50	a
	7. hnůj 3. odběr	50	a
Brambory	1. kontrola	50	a
	2. kal	50	a
	3. hnůj	50	a

2.4 Výskyt *Salmonelly* spp. ve vzorcích rostlinného materiálu

Přítomnost *Salmonelly* nebyla v žádném z testovaných vzorků zjištěna (Tabulka 4.13).

Tabulka 4.13: Přítomnost *Salmonelly* spp. a důkazové testy *Salmonelly* spp. ve vzorcích sklizených produktů

pokusná plodina	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2. kal 1. odběr	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	3. kontrola 2. odběr	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	4. kal 2. odběr	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	5. kontrola 3. odběr	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	6. kal 3. odběr	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	7. hnůj 3. odběr	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
Brambory	1. kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2. kal	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	3. hnůj	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní

3 VÝSLEDKY MIKROBIOLOGICKÉ ANALÝZY VZORKŮ PŮDY

3.1 Počet *Escherichia Coli* ve vzorcích půdy

Počet *E. Coli* byl ve všech odebraných vzorcích nižší než 50 KTJ/g (Tabulka 4.14). Mezi variantami a odběry nebyly průkazné rozdíly (Tabulka 4.15).

Tabulka 4.14: Počet *Escherichia Coli* (KTJ/g) v původní hmotě půdy

pokusná plodina	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí (KTJ/g)
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2. kal 1. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	3. kontrola 2. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	4. kal 2. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	5. kontrola 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	6. kal 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	7. hnůj 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
Brambory	1. kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2. kal	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	3. hnůj	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹

Tabulka 4.15: Statistické hodnocení počtu *Escherichia Coli* (KTJ/g) v původní hmotě půdy po sklizni. Odlišná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t–test, $p < 0,05$).

pokusná plodina	pokusná varianta	Průměr	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	50	a
	2. kal 1. odběr	50	a
	3. kontrola 2. odběr	50	a
	4. kal 2. odběr	50	a
	5. kontrola 3. odběr	50	a
	6. kal 3. odběr	50	a
	7. hnůj 3. odběr	50	a
Brambory	1. kontrola	50	a
	2. kal	50	a
	3. hnůj	50	a

3.2 Počet enterokoků ve vzorcích půdy

Počet enterokoků byl ve všech vzorcích půdy odebraných po sklizni pod 50 KTJ/g (Tabulka 4.16). Mezi variantami a odběry nebyly průkazné rozdíly (Tabulka 4.17).

Tabulka 4.16: Počet *enterokoků* (KTJ/g) v původní hmotě půdy

pokusná plodina	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí hodnot (KTJ/g)
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2. kal 1. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	3. kontrola 2. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	4. kal 2. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	5. kontrola 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	6. kal 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	7. hnůj 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
Brambory	1. kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2. kal	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	3. hnůj	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹

Tabulka 4.17: Statistické hodnocení počtu *enterokoků* (KTJ/g) v původní hmotě půdy po sklizni. Odlišná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t-test, $p < 0,05$).

pokusná plodina	pokusná varianta	Průměr	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	50	a
	2. kal 1. odběr	50	a
	3. kontrola 2. odběr	50	a
	4. kal 2. odběr	50	a
	5. kontrola 3. odběr	50	a
	6. kal 3. odběr	50	a
	7. hnůj 3. odběr	50	a
Brambory	1. kontrola	50	a
	2. kal	50	a
	3. hnůj	50	a

3.3 Počet termotolerantních koliformních bakterií ve vzorcích půdy

Počet termotolerantních koliformních bakterií nebyl ve vzorcích půdy průkazně ovlivněn aplikací kalu (Tabulka 4.18 a 4.19).

Tabulka 4.18: Počet *termotolerantních koliformních bakterií* (KTJ/g) v původní hmotě půdy

pokusná plodina	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí (KTJ/g)
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2. kal 1. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	3. kontrola 2. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	4. kal 2. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	5. kontrola 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	6. kal 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	7. hnůj 3. odběr	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
Brambory	1. kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	2. kal	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹
	3. hnůj	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹

Tabulka 4.19: Statistické hodnocení počtu *termotolerantních koliformních bakterií* (KTJ/g) v původní hmotě půdy

pokusná plodina	pokusná varianta	Průměr	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	50	a
	2. kal 1. odběr	50	a
	3. kontrola 2. odběr	50	a
	4. kal 2. odběr	50	a
	5. kontrola 3. odběr	50	a
	6. kal 3. odběr	50	a
	7. hnůj 3. odběr	50	a
Brambory	1. kontrola	50	a
	2. kal	50	a
	3. hnůj	50	a

Odlíšná písmena vyznačují statisticky průkazné rozdíly (t–test, $p < 0,05$).

3.4 Výskyt *Salmonelly* spp. ve vzorcích půdy

Přítomnost *Salmonelly* spp. nebyla v žádném z testovaných vzorků zjištěna (Tabulka 4.20).

Tabulka 4.20: Přítomnost *Salmonella* spp. a důkazové testy *Salmonella* spp. v půdě po sklizni

pokusná plodina	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
Kukuřice	1. kontrola 1. odběr	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2. kal 1. odběr	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	3. kontrola 2. odběr	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	4. kal 2. odběr	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	5. kontrola 3. odběr	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	6. kal 3. odběr	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	7. hnůj 3. odběr	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
Brambory	1. kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2. kal	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	3. hnůj	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní

4 ZÁVĚRY NÁDOBOVÉHO POKUSU

V provedených nádobových zkouškách byl aplikován kal a hnůj s nadlimitním výskytem patogenních bakterií sledovaných dle vyhlášky č. 437/2016 Sb. Předpokládaná kontaminace sklizených rostlinných produktů a půdy sledovanými patogeny však nebyla pozorována.

5 POUŽITÉ ZKRATKY

KTJ/g Kolonie tvořící jednotky
 ČOV Čistírna odpadních vod

ZÁVĚREČNÉ SHRNU TÍ PROJEKTU

V roce 2021 se projekt v terénním šetření zaměřil na sledování lokalit s čistírenskými kaly II. kategorie a s kaly vyhovujícími příloze č. 28, které nebyly hnojeny organickými, a především statkovými hnojivy. V polní zkoušce byl hodnocen vliv podzimní aplikace mikrobiologicky nevyhovujícího čistírenského kalu, jehož expozice v půdě byla téměř 10 měsíců. Zopakován byl i test s kukuřicí pro objasnění nálezů patogenů v prvním pokusném roce 2020. Nádobová zkouška byla zaměřena na testování rostlin, jejichž konzumní části byly v přímém kontaktu s neupraveným čistírenským kalem. Znovu byla testována kukuřice, u níž se v polní zkoušce prokázaly (v roce 2020) pozitivní nálezy, přičemž odběry vzorků probíhaly v různých fázích vegetace. Kromě čistírenského kalu byl jako možný zdroj sledovaných patogenů testován také hnůj.

V terénním šetření bylo v roce 2021 zahrnuto 8 lokalit, včetně jedné kontrolní. Na 7 lokalitách byly počty KTJ enterokoků, termotolerantních koliformních bakterií a *E. coli* ve všech vzorcích (tj. půdních i rostlinných) $< 5 \times 10^1$ KTJ/g, přítomnost *Salmonella* spp. negativní. Na jediné lokalitě byly detekovány enterokoky, a to na lokalitě, která byla pravidelně hnojena statkovými hnojivy.

Výsledky druhého roku polního pokusu prokázaly výskyt enterokoků a termotolerantních koliformních bakterií pouze v půdách po aplikaci kalu jehož indikátorové mikroorganismy překročily kritéria uvedená ve vyhlášce č. 273/2021 Sb. Nálezy byly minimální a rozdíly nebyly mezi variantami průkazné.

Kal s nadlimitním výskytem patogenních bakterií sledovaných dle vyhlášky č. 273/2021 Sb. byl aplikován také v nádobové zkoušce. Jako možný zdroj kontaminace byla navíc ověřována i aplikace chlévského hnoje. Předpokládaná kontaminace sklizených rostlinných produktů sledovanými patogeny však nebyla pozorována.

Z výsledků druhého roku projektu lze proto konstatovat, že z pohledu kontaminace nežádoucími mikroorganismy nepředstavuje používání kalů za podmínek, jež byly testovány, významnější riziko.

