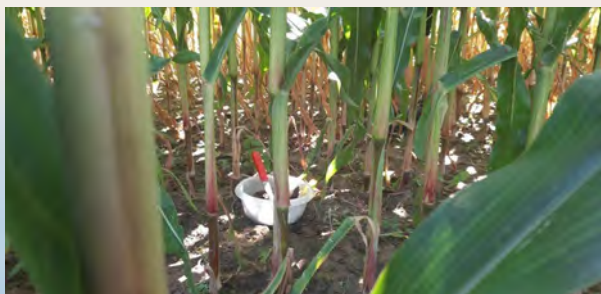




Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský



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. 437/2016 Sb.

č. 25785/2020-MZe-18145

Výroční zpráva za rok 2020

Brno 2021



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. 437/2016 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 2020

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
1 Úvod.....	25
2 Metodika	26
3 Výsledky a diskuze	28
3.1 Salmonella spp.	30
3.2 Enterokoky	31
3.3 Termotolerantní koliformní bakterie	32
3.4 Aplikace organických hnojiv.....	33
4 Závěry terénního šetření.....	36
5 Seznam použité literatury	37
KAPITOLA III POLNÍ ZKOUŠKA	44
1 Metodika	44
1.1 Organizace polní zkoušky	44
1.2 Popis pokusných stanovišť	45
1.3 Charakteristika čistírenského kalu a jeho aplikace do půdy	45
1.4 Odběry vzorků.....	46
1.5 Mikrobiologické analýzy vzorků.....	47
2 Průběh vegetace.....	47
2.1 Agrotechnické záznamy	47
2.2 Klimatické podmínky	47
3 Mikrobiologické analýzy rostlinného materiálu.....	50
3.1 Počet <i>Escherichia Coli</i> v rostlinách	50
3.2 Počet enterokoků v rostlinách	52
3.3 Počet termotolerantních koliformních bakterií v rostlinách	53
3.4 Výskyt <i>Salmonelly</i> spp. v rostlinách	55
4 MIKROBIOLOGICKÉ ANALÝZY PŮDNÍCH VZORKŮ	56
4.1 Počet <i>Escherichia Coli</i> v půdě	56

4.2 Počet enterokoků v půdě	57
4.3 Počet termotolerantních koliformních bakterií v půdě	58
4.4 Výskyt <i>Salmonelly</i> spp. v půdě	60
5 Porovnání mikrobiologických analýz rostlin a půdy	61
5.1 Porovnání <i>Escherichia Coli</i> v rostlinách a půdě.....	61
5.2 Porovnání enterokoků v rostlinách a půdě	62
5.3 Porovnání termotolerantních koliformních bakterií v rostlinách a půdě	64
5.4 Porovnání <i>Salmonelly</i> spp. a důkazových testů v rostlinách a půdě.....	65
6 Fotodokumentace polního pokusu	66
7 Závěry polního pokusu	68
8 Seznam použité literatury	68
9 Použité zkratky	68
KAPITOLA IV NÁDOBOVÁ ZKOUŠKA.....	69
1 Metodika	69
1.1 Úvod.....	69
1.2 Vlastnosti použité půdy	69
1.3 Zkoušené plodiny	69
1.4 Dávky hnojiv a schéma nádobové zkoušky	70
1.5 Charakteristika čistírenského kalu a jeho použití	70
1.6 Technika založení a rozsah zkoušky	70
1.7 Odběry vzorků.....	71
2 Mikrobiologické analýzy rostlinného materiálu.....	73
2.1 Počet <i>Escherichia Coli</i> ve vzorcích rostlinného materiálu	73
2.2 Počet enterokoků ve vzorcích rostlinného materiálu	73
2.3 Počet termotolerantních koliformních bakterií ve vzorcích rostlinného materiálu.....	73
2.4 Výskyt <i>Salmonelly</i> spp. ve vzorcích rostlinného materiálu	74
3 Mikrobiologické analýzy půdy	75
3.1 Počet <i>Escherichia Coli</i> ve vzorcích půdy.....	75
3.2 Počet enterokoků ve vzorcích půdy.....	75
3.3 Počet termotolerantních koliformních bakterií ve vzorcích půdy.....	76
3.4 Výskyt <i>Salmonelly</i> spp. ve vzorcích půdy	76
4 Fotodokumentace polního pokusu	77
5 Závěry nádobového pokusu.....	78
6 Použité zkratky	78
ZÁVĚREČNÉ SHRUTÍ PROJEKTU	79

ZADÁNÍ PROJEKTU

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.

Pod. i. Gista

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 odebraných 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

Majetek, služby a spotřební materiál (Kč)

Mikrobiologické analýzy	232 502
Ostatní náklady (materiál, služby)	146 878
PHM a cestovní náklady	17 857
Provedení polních zkoušek zkušebních stanic (materiál, služby)	285 366
Vzorkovací pomůcky	91 520
OOPP a hygienické pomůcky	66 560
IT vybavení	39 927
Školení	19 390
Celkem	900 000

LEGISLATIVNÍ RÁMEC

Použití upravených kalů na zemědělské půdě je ustanoveno vyhláškou č. 437/2016 Sb. o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě. Technické podmínky použití podle § 3 písmene f umožňuje 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 kalech nesmí být překročeny mezní hodnoty koncentrací vybraných rizikových látek a prvků uvedených v příloze č. 3 této vyhlášky a zároveň musí vyhovovat mikrobiologickým kritériím uvedeným v příloze č. 4.

Zároveň lze uplatnit přechodná ustanovení. Podle § 11 (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 k této vyhlášce, 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.

Novelizovaný předpis vyhláška č. 305/2019 Sb. prodlužuje přechodné období do konce roku 2022, ve kterém musí provozovatelé čistíren odpadních vod vybudovat zařízení pro úpravy kalů a ověřit účinnost těchto zařízení, aby byl splněn limit pro obsah mikroorganismů v upravených kalech využívaných na zemědělské půdě. V uvedeném přechodném období vzrůstá riziko využití kalů s nadlimitním výskytem patogenních mikroorganismů ke hnojení zemědělských plodin.

V průběhu řešení projektu došlo k legislativním změnám. Nakládání s kaly se nově řídí zákonem č. 541/2020 a jeho prováděcími předpisy. S novelou zákona o odpadech byly prováděcí vyhlášky č. 437/2016 a 305/2019 zrušeny a v současné době se čeká na nové prováděcí předpisy, pravděpodobně by však nemělo dojít ke změnám ve sledovaných mikrobiologických kritériích pro upravené kaly.

Tabulka 1: Mikrobiologická kritéria pro upravený kal pro aplikaci na zemědělské půdě – příloha č. 4

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.

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 písčitých 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 průjmky, infekce močového ústrojí a nozokomiální nákazy včetně septikemie a meningitidy, ale některé kmeny jsou i primárními patogeny. V současné době je velká pozornost věnována enterohemoragickým 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). Přírozený 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 (ačkoli 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. Zbývajících 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 zakáží 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
	Životoschopná vajíčka helmintů	1	vajíčko kgDM ⁻¹
Česká republika	<i>Salmonella</i>	žádný výskyt	CFU gDM ⁻¹
	<i>Escherichia coli</i> nebo	<10 ³	CFU gDM ⁻¹
	<i>Enterokoky</i>		
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. Nejnížší 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 postřikem. 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., Whittmore, 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.

1 ÚVOD

Aplikace upravených kalů na zemědělskou půdu byla v České republice legalizována v roce 2001 vyhláškou č. 382/2001 Sb. Jedním z důvodů přijetí jmenované vyhlášky byl pokles dávek aplikovaných statkových hnojiv související se snižováním stavů hospodářských zvířat po roce 1990 a snaha částečně dorovnat vstupy organických látek do půdy.

Spolu s organickými látkami/hmotou však s aplikací kalu vstupuje do půdy množství dalších eventuálně kontaminujících látek. Jedná se o rizikové prvky a látky, z nichž koncentrace některých jsou upraveny vyhláškou (polychlorované bifenyly (PCB), polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH)), jiných však nikoli (zpomalovače hoření (PBDE), perfluoralkylové sloučeniny (PFAS)), dále o mikroplasty, léčiva jak humánního, tak veterinárního původu a jejich rezidua. Riziko představuje také široká škála mikroorganismů přítomných v kalu. Některé mikroorganismy jsou ukazateli fekálního znečištění (termotolerantní koliformní bakterie, *E. coli*, enterokoky), a tudíž mohou představovat zdroj onemocnění, některé mohou ve svém genomu nést kódy vedoucí k rezistenci k používaným antibiotikům.

Co se týče kontaminace půdy rizikovými prvky, ze sledování ÚKZÚZ nevyplývá potvrzení průkazně vyšších obsahů rizikových prvků v půdách po aplikaci upravených kalů vzhledem k půdám bez aplikace (Prášková et Němec, 2018). Podobně také nebyly prokázány zvýšené obsahy prvků v plodinách pěstovaných na pozemcích po aplikaci kalů proti pozemkům bez aplikace (Prášková et Reininger, 2019).

Zodpovědět otázku, zda aplikace kalů způsobuje kontaminaci půdy a pěstovaných plodin patogenními organismy, je velmi náročné. Už jen proto, že dosud nebyly definovány hranice/limity určující kontaminaci půdy (a plodin) patogenními organismy. Pro kaly používané v zemědělství byly stanoveny limitní hodnoty (hraniční počty kolonií tvořících jednotky (KTJ) pro tzv. indikátorové organismy (*Salmonella* spp., termotolerantní koliformní bakterie, *E. coli*, enterokoky). Indikátorové organismy používáme k odhadu kontaminace kalů patogenními organismy, abychom nemuseli sledovat všechny mikroorganismy vyskytující se v kalech, což by bylo značně časově a finančně náročné.

V české legislativě tedy platí mikrobiologická kritéria pro upravené kaly určené k aplikaci na zemědělskou půdu a pro půdu, na kterou má být aplikován upravený kal (vyhl. č. 437/2016 Sb., v aktuálním znění) a pro organická hnojiva a substráty, při jejichž výrobě byly použity odpady z čistíren odpadních vod (vyhl. č. 474/2000 Sb., v aktuálním znění).

Z pohledu možných zdravotních rizik plynoucích z aplikace kalů ČOV na půdu bylo v zahraničí provedeno několik epidemiologických studií, z nichž jednoznačně nevyplývá negativní vliv prostředí (pozemku s aplikovaným kalem) na exponované skupiny obyvatel žijících v určité vzdálenosti od pozemků s aplikací kalů (Khuder et al., 2007, Viau et al., 2011). Jako největší riziko pro tyto exponované skupiny obyvatel byla definována inhalace aerosolů produkovaných při aplikaci kalů a jejich následném zapravování do půdy a přímé požití. Následuje požití kontaminované podzemní vody a kontaminovaných produktů (Brooks et al., 2005b, Gale, 2005, Eisenberg et al., 2008, Viau et al., 2011). Brooks et al. (2005a) uvádí pro inhalaci aerosolu s *E. coli* hraniční rizikovou vzdálenost od kraje pozemku s aplikovaným kalem 20 m a 30 m pro viry.

V současné době slouží identifikace indikátorových organismů spíše než jako ukazatel přímého nebezpečí plynoucího z nich samotných, jako ukazatel nedostatečnosti procesu úpravy kalů a přítomnosti jiných mikroorganismů (např. nositelů genů rezistence) a kontaminantů. Cílem dílčí části je zjistit, zda aplikace kalů způsobila kontaminaci půdy a pěstovaných plodin patogenními (indikátorovými) organismy.

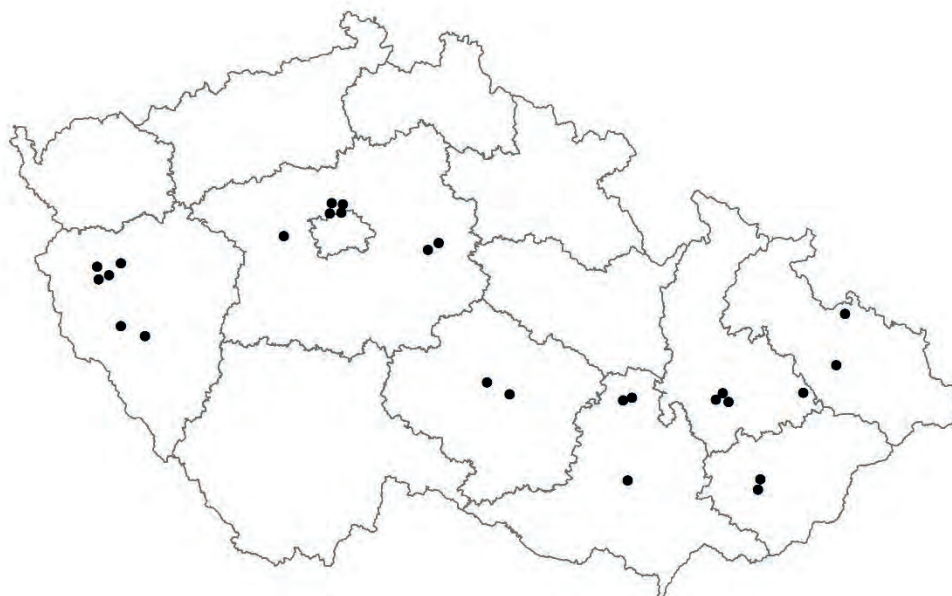
2 METODIKA

Jedním z kroků ověření vlivu aplikace kalů na kvalitu zemědělské produkce ve smyslu její kontaminace patogenními organismy bylo provedení šetření v terénu.

Bylo vybráno 24 subjektů, které na podzim 2019, případně na jaře 2020 aplikovaly čistírenské kaly na zemědělskou půdu. Při výběru vzorkovaných lokalit byl kladen důraz na 1) různorodost původu kalů (různorodost ČOV) a 2) pěstované plodiny. Ze všech těchto pozemků byly odebrány vzorky půdy a pěstovaných plodin.

Současně byly odebrány i kontrolní vzorky z pozemků, na něž kal nikdy aplikován nebyl.

Obrázek 2.1: Lokalizace odběrových míst



Tabulka 2.1: Plodiny odebírané v rámci projektu, včetně kontrolních vzorků pšenice a kukuřice na siláž.

ječmen	3
kukuřice	8+1
pšenice	9+1
řepka	2
cukrovka	2
CELKEM	24+2

Odběry plodin a půdy probíhaly současně a uskutečnily se v období 14. 7. 2020 až 19. 10. 2020. Uprostřed vybraného pozemku byl vytyčen čtyřúhelník o délce strany přibližně 50 m. V rozích čtyřúhelníku a uprostřed bylo odebráno 5 dílčích vzorků půdy a rostlin. 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 otřena lihem a vzorkaři používali jednorázové rukavice.

Každý dílčí vzorek půdy i rostlin byl vložen do samostatného sterilního sáčku a v chladícím boxu dopraven do Laboratoře MORAVA s.r.o.

U vybraných plodin se pro analýzu odebíral pouze hlavní produkt tak, aby nedošlo k jeho kontaminaci – u obilovin se do vzorkovnice odstříhly klásky, podobně tomu bylo u kukuřice na zrno, kdy 1 dílčí vzorek tvořily 2 celé palice, u kukuřice na siláž tvořila dílčí vzorek 1 celá rostlina, u řepky se odebíraly šešule, 1 bulva cukrovky tvořila opět 1 dílčí vzorek. Teprve v laboratoři proběhlo oddělení zrna/semena od nejedlých částí, případně k očištění bulvy od zeminy a do analýzy byly zařazeny pouze rostlinné části určené k výrobě potravin nebo krmiv. Stejným způsobem byly odebrány i vzorky z kontrolního pozemku nacházejícím se v areálu ZS ÚKZÚZ Chrlice (pšenice) a v k.ú. Zhoř u Jihlavy (kukuřice).

O každém odběru byl zpracován dokumentační list. Ten obsahuje také informace o případném hnojení organickými hnojivy v roce 2019 a na jaře 2020.

Všechny odběry vzorků realizovali pracovníci Odboru kontroly zemědělských vstupů a Oddělení půdy a lesnictví ÚKZÚZ.

Ve vzorcích byly stanoveny tyto parametry:

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

Obrázek 2.2: Odběr řepky na lokalitě Lom u Stříbra 2



Způsob hodnocení

Vzhledem k tomu, že laboratorním šetřením byl v mnoha případech zjištěn počet KTJ nižší než 5×10^1 , bylo přikročeno k hodnocení výsledků pomocí grafického zpracování s využitím výsečových grafů. Tento postup podobně jako např. kontingenční tabulky umožňuje identifikovat lokality s pozitivním nálezem, tedy hodnotou vyšší, než 5×10^1 KTJ buď v půdním

vzorku (enterokoky, termotolerantní koliformní bakterie) nebo v rostlinném vzorku (enterokoky) případně v půdním i rostlinném vzorku. Kombinací pozitivních a negativních nálezů došlo k rozdělení lokalit do šesti klasifikačních skupin (tabulka 2.2).

Tabulka 2.2: Klasifikační skupiny podle pozitivních nálezů indikátorových mikroorganismů na lokalitě

Klasifikační skupina	Počet KTJ vyšší než 5×10^1 minimálně v jednom dílčím vzorku na lokalitě		
	enterokoky v půdním vzorku	termotolerantní koliformní bakterie v půdním vzorku	enterokoky v rostlinném vzorku
AAA	Ano	Ano	Ano
AAN	Ano	Ano	Ne
ANN	Ano	Ne	Ne
NAN	Ne	Ano	Ne
NNA	Ne	Ne	Ano
NNN	Ne	Ne	Ne

Pro zjednodušení lze také použít označení „A“ pro lokalitu s minimálně jedním pozitivním nálezem, bez ohledu na to, zda nález indikátorových bakterií byl v půdním či rostlinném vzorku a označení „N“ pro lokality, kde nebyl zjištěn ani jeden pozitivní nález.

Lokality byly posuzovány vzhledem ke kategorii aplikovaného kalu a k ne/aplikaci organického hnojení.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

Celkem bylo analyzováno 130 vzorků půd a 130 vzorků rostlin (vždy 5 dílčích vzorků z lokality) z 26 lokalit.

Tabulka 2.3: Rozsah počtu KTJ termotolerantních koliformních bakterií a enterokoků v rostlinných vzorcích

termotolerantní koliformní bakterie (KTJ/g)				enterokoky (KTJ/g)			
třídění	počet vz.	min	max	třídění	počet vz.	min	max
celkem	130	< 5×10	< 5×10	celkem	130	< 5×10	$1,6 \times 10^3$
pšenice	50	< 5×10	< 5×10	pšenice	50	< 5×10	$1,6 \times 10^3$
ječmen	15	< 5×10	< 5×10	ječmen	15	< 5×10	8×10^2
cukrovka	10	< 5×10	< 5×10	cukrovka	10	< 5×10	< 5×10
kukuřice na siláž	40	< 5×10	< 5×10	kukuřice na siláž	40	< 5×10	$4,5 \times 10^2$
kukuřice na zrno	5	< 5×10	< 5×10	kukuřice na zrno	5	< 5×10	< 5×10
řepka	10	< 5×10	< 5×10	řepka	10	< 5×10	< 5×10

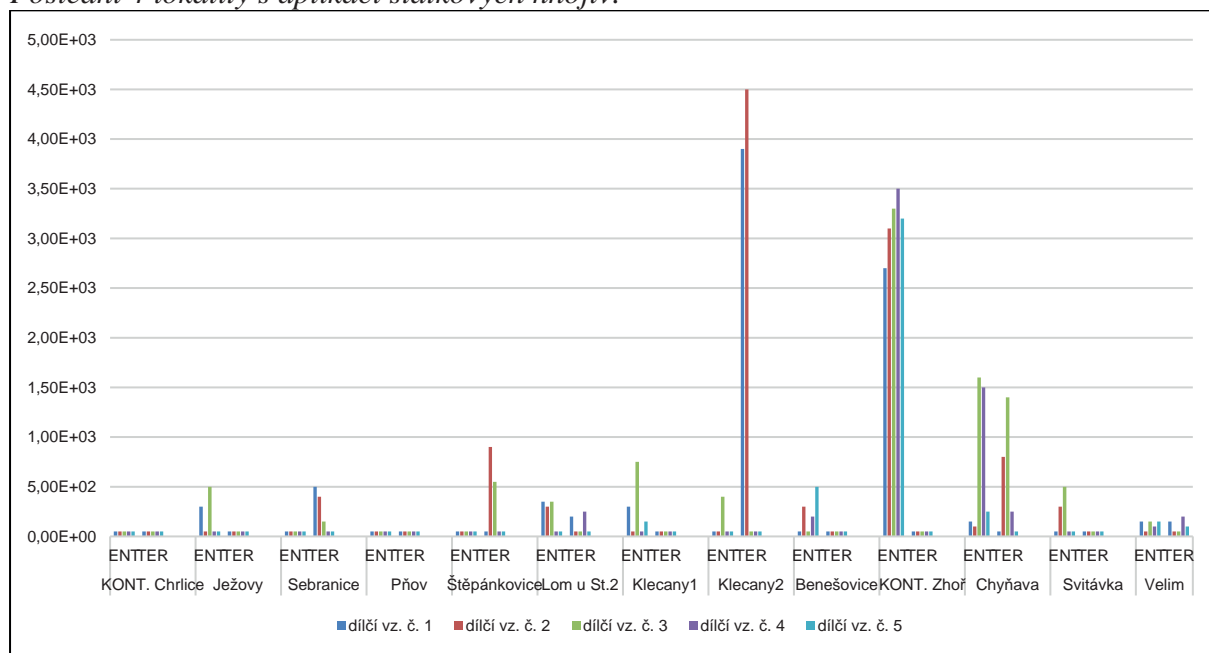
Tabulka 2.4: Rozsah počtu KTJ termotolerantních koliformních bakterií a enterokoků v půdních vzorcích

termotolerantní koliformní bakterie (KTJ/g)				enterokoky (KTJ/g)			
třídění	počet vz.	min	max	třídění	počet vz.	min	max
celkem	130	$<5 \times 10^1$	$4,5 \times 10^3$	celkem	130	$<5 \times 10^1$	$3,5 \times 10^3$
pšenice	50	$<5 \times 10^1$	$4,5 \times 10^3$	pšenice	50	$<5 \times 10^1$	$7,5 \times 10^2$
ječmen	15	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	ječmen	15	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
cukrovka	10	$<5 \times 10^1$	9×10^2	cukrovka	10	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
kukuřice na siláž	40	$<5 \times 10^1$	$1,4 \times 10^3$	kukuřice na siláž	40	$<5 \times 10^1$	$3,5 \times 10^3$
kukuřice na zrno	5	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	kukuřice na zrno	5	$<5 \times 10^1$	5×10^2
řepka	10	$<5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^2$	řepka	10	$<5 \times 10^1$	$3,5 \times 10^2$

Na 13 lokalitách byly počty KTJ sledovaných indikátorových mikroorganismů ve všech vzorcích (tzn. půdních i rostlinných) $<5 \times 10^1$.

Na 13 lokalitách byly sledované mikroorganismy nalezeny alespoň v 1 dílčím půdním nebo rostlinném vzorku. Konkrétní naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce 2.5. Přibližná lokalizace ploch a nálezy indikátorových mikroorganismů jsou znázorněny na obrázcích 2.8 a 2.10.

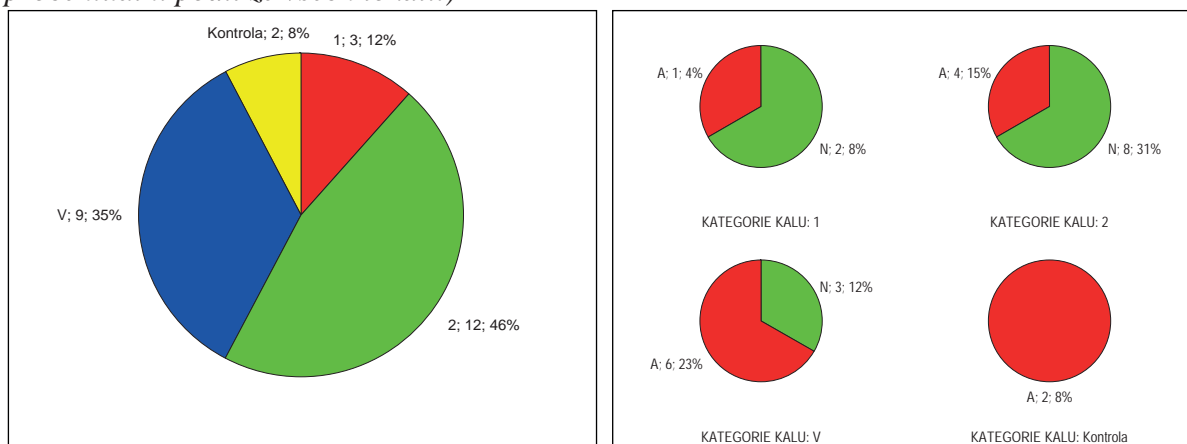
Obrázek 2.3: Počet enterokoků (ENT) a termotolerantních koliformních bakterií (TER) v půdních vzorcích z lokalit s pozitivním nálezem v půdním a/nebo rostlinném vzorku (v KTJ/g). Poslední 4 lokality s aplikací statkových hnojiv.



Lokality byly rozděleny podle kategorií aplikovaných kalů

- kal I. kategorie podle přílohy č. 7 vyhlášky č. 437/2016 Sb. (dále značen 1),
- kal II. kategorie podle přílohy č. 7 vyhlášky č. 437/2016 Sb. (dále značen 2),
- kal vyhovující příloze č. 4 vyhlášky 437/2016 Sb. – stanovení *Salmonella* spp. a *E. coli* (dále značen V)
- kontrola – bez aplikace kalu (kontrola).

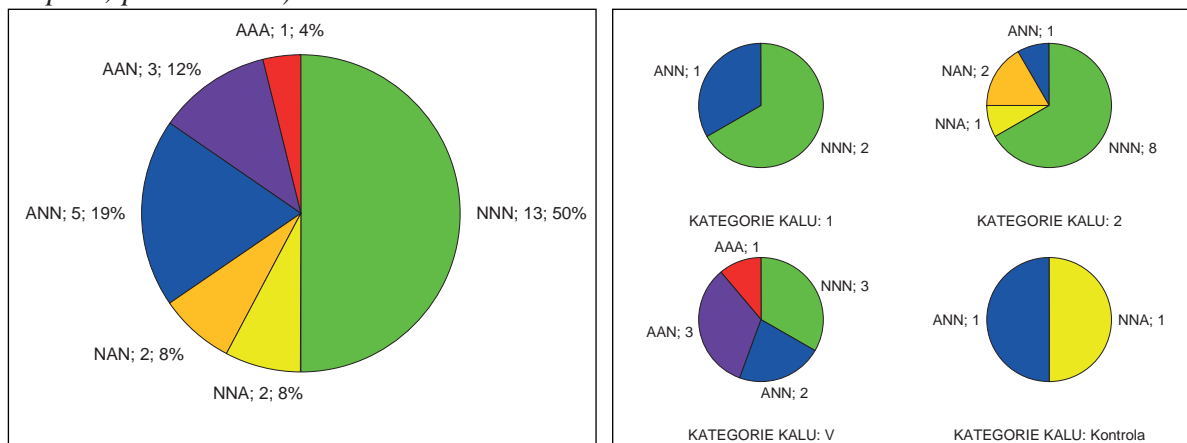
Obrázek 2.4: Vzorkované lokality rozdělené podle kategorie aplikovaného kalu (kategorie kalu; počet lokalit; procentuální podíl ze všech lokalit) a zastoupení lokalit s pozitivními (A) a negativními (N) nálezy podle kategorie aplikovaného kalu (pozitivní/negativní; počet lokalit; procentuální podíl ze všech lokalit)



Na polovině lokalit byl aplikován kal II. kategorie (2), přibližně na třetinu kal vyhovující příloze č. 4 (V) a na 3 lokality kal I. kategorie (1). Pozitivní nálezy, tzn. počty KTJ vyšší než 5×10^1 KTJ v jakémkoli vzorku (v grafech na pravé straně, A), se nachází na lokalitách se všemi kategoriemi kalů.

Následující graf zobrazuje rozdělení lokalit podle podrobnější klasifikace zohledňující pozitivní nálezy indikátorových mikroorganismů jak v půdních, tak v rostlinných vzorcích (dle tabulky 2.2).

Obrázek 2.5: Vzorkované lokality rozdělené podle nálezů indikátorových mikroorganismů (klasifikační skupina; počet lokalit; procentuální podíl ze všech lokalit) a rozdělení lokalit podle nálezů indikátorových mikroorganismů a podle kategorie aplikovaného kalu (klasifikační skupina; počet lokalit)



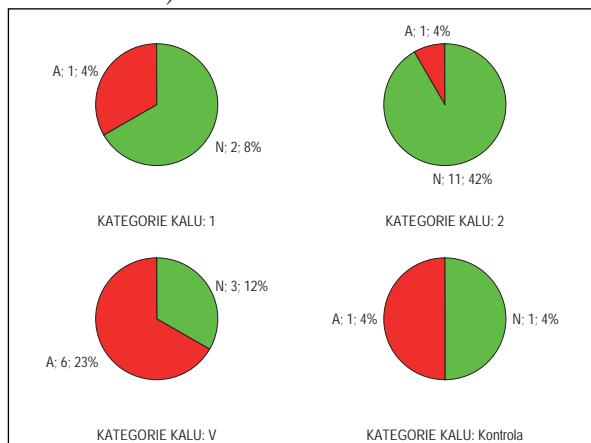
3.1 Salmonella spp.

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

3.2 Enterokoky

Enterokoky byly v půdních vzorcích nalezeny pod všemi kategoriemi kalů, vč. kontroly, a to na 9 lokalitách, z toho je 6 lokalit po aplikaci kalu vyhovujícím příloze č. 4.

Obrázek 2.6: Vzorkované lokality rozdělené podle kategorie aplikovaného kalu a nálezů enterokoků v půdních vzorcích kalu (pozitivní/negativní; počet lokalit; procentuální podíl ze všech lokalit)

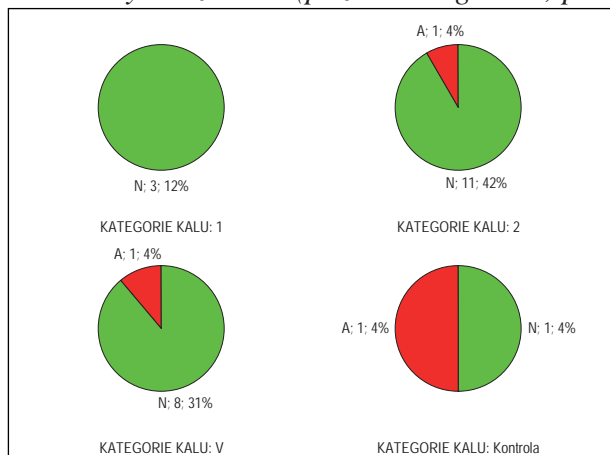


Počty enterokoků vyšší než 5×10^1 KTJ/g byly u půdních vzorků zjištěny ve 28 dílčích vzorcích (9 lokalit). Rozsah počtů enterokoků činí $<5 \times 10^1$ až $3,5 \times 10^3$ KTJ/g (tabulka 2.4). Vůbec nejvyšší počty enterokoků v půdě byly zjištěny na kontrolním pozemku Zhoř u Jihlavy, a to ve všech pěti dílčích vzorcích! Zjištěné počty se pohybovaly v rozmezí $2,7 \times 10^3$ až $3,5 \times 10^3$ KTJ/g (všechny ostatní nálezy v půdních a rostlinných vzorcích z této lokality byly $<5 \times 10^1$ KTJ/g). Na tento pozemek byl na podzim 2019 aplikován hnůj v dávce 40 t/ha.

Uvedených 28 případů, kdy zjištěné počty enterokoků přesáhly počet 5×10^1 KTJ/g, se nalézají na 9 lokalitách, pod pšenicí, kukuřicí na siláž i na zrno a řepkou. Nejvyšší počty sledovaných bakterií byly zjištěny pod kukuřicí na siláž v již zmiňované lokalitě Zhoř u Jihlavy a v lokalitě Chyňava (všech 5 dílčích vzorků více než 10^2 KTJ/g, z toho ve dvou vzorcích zjištěno více než 10^3 KTJ/g). Nad 10^2 KTJ/g pod kukuřicí na siláž bylo dále zjištěno v lokalitě Benešovice.

V rostlinných vzorcích byly obsahy enterokoků vyšší než 5×10^1 KTJ/g nalezeny pouze na 3 lokalitách s třemi kategoriemi kalů – po aplikaci kalu II. kategorie, kalu vyhovujícího podle přílohy č. 4 a na kontrolním pozemku.

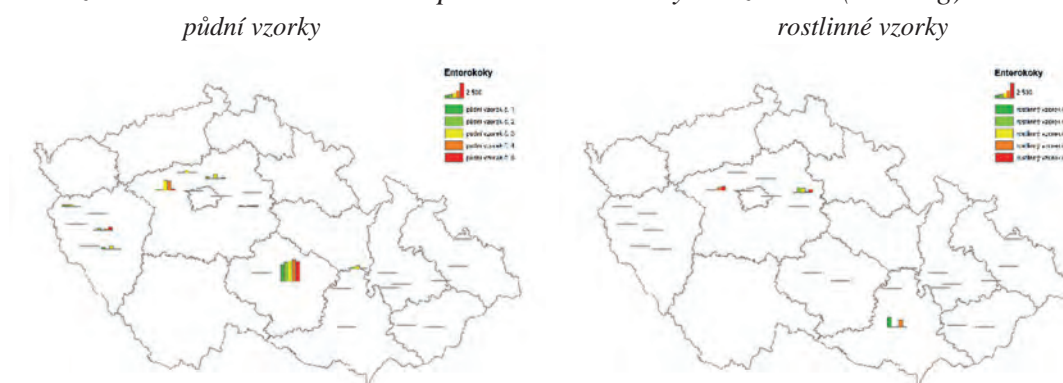
Obrázek 2.7: Vzorkované lokality rozdělené podle kategorie kalu a nálezů enterokoků v rostlinných vzorcích (pozitivní/negativní; počet lokalit; procentuální podíl ze všech lokalit)



Rozsah počtů enterokoků v rostlinných vzorcích činí $<5 \times 10^1$ až $1,6 \times 10^3$ KTJ/g. Nejvyšší nález, tj. $1,6 \times 10^3$ KTJ/g, byl nečekaně zjištěn ve vzorku pšenice z kontrolního pozemku v ZS ÚKZÚZ Chrlice. Ve vzorcích pšenice z uvedené kontrolní lokality byl zjištěn i druhý nejvyšší počet enterokoků – $1,2 \times 10^3$ KTJ/g; ve zbývajících třech dílčích vzorcích z této lokality byly počty KTJ $<5 \times 10^1$. Nutno podotknout, že ZS Chrlice se nachází v těsné blízkosti ČOV Modřice, kontrolní pozemek je vzdálený cca 200 m a že sklizeň proběhla v deštivém období mezi dvěma srážkovými epizodami. Počet KTJ vyšší, než 5×10^1 byl nalezen v pouhých 10 dílčích vzorcích ze 130 analyzovaných. Kromě již zmíněné pšenice se jednalo o ječmen a kukuřici na siláž ze dvou lokalit. Počty KTJ v ječmeni z lokality Pňov překročily ve všech pěti dílčích vzorcích 5×10^1 KTJ/g a pohybovaly se v rozsahu 1×10^2 až 8×10^2 KTJ/g. Dále byly obsahy nad 10^2 KTJ/g ($1-6 \times 10^2$) zjištěny ve třech dílčích vzorcích kukuřice z lokality Chyňava. Na této lokalitě byl na jaře 2020 aplikován hnůj v dávce 25 t/ha.

Zvýšené nálezy enterokoků v pšenici a ječmeni nemají svůj protějšek v půdních vzorcích. Počty KTJ v půdních vzorcích z těchto dvou lokalit jsou $<5 \times 10^1$. Naproti tomu na lokalitě Chyňava jsou i v půdě počty enterokoků vyšší než 5×10^1 KTJ/g.

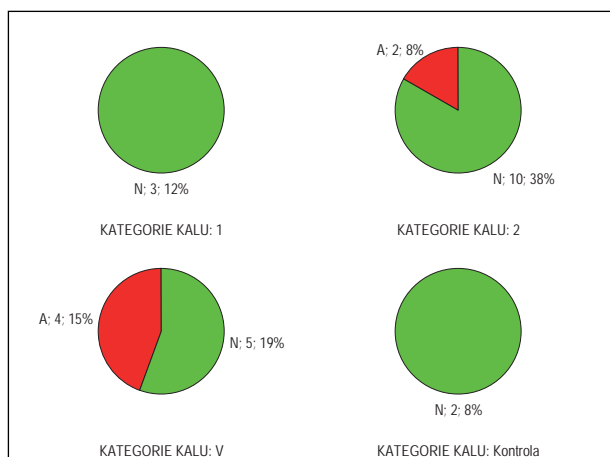
Obrázek 2.8: Počet enterokoků v půdních a rostlinných vzorcích (v KTJ/g)



3.3 Termotolerantní koliformní bakterie

V půdních vzorcích byly počty KTJ termotolerantních koliformních bakterií přesahující 5×10^1 nalezeny na 6 lokalitách se dvěma kategoriemi kalu – na dvou lokalitách po aplikaci kalu II. kategorie a na čtyřech po aplikaci kalu vyhovujícího příloze č. 4 (na těchto čtyřech lokalitách byly zjištěny i pozitivní nálezy enterokoků). Půdní vzorky pocházely z porostů pšenice, kukuřice na siláž, řepky a cukrovky. Jedná se o 15 dílčích vzorků.

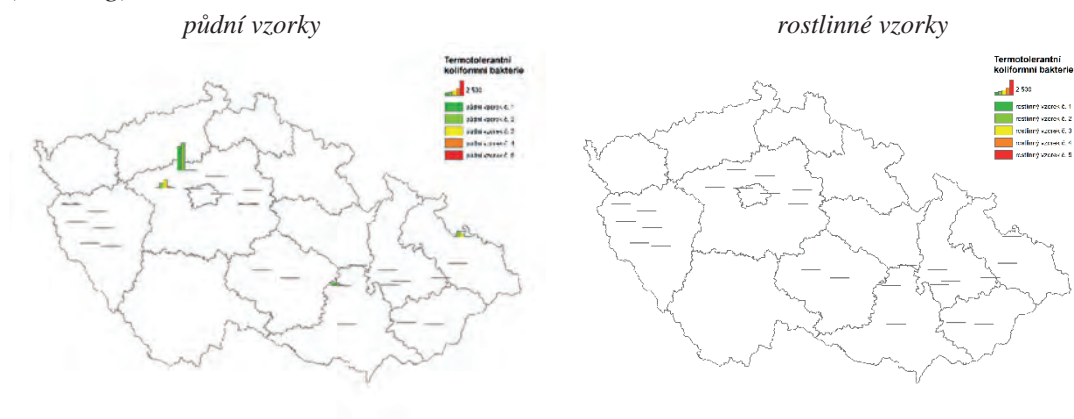
Obrázek 2.9: Vzorkované lokality rozdělené podle kategorie kalu a nálezů termotolerantních koliformních bakterií v půdních vzorcích (pozitivní/negativní; počet lokalit; procentuální podíl lokalit ze všech lokalit)



Počty KTJ se pohybují v rozsahu $<5 \times 10^1$ až $4,5 \times 10^3$. Maximální obsah byl nalezen v půdním vzorku z k.ú. Klecany 2 pod pšenicí, na stejné lokalitě bylo v dalším dílčím vzorku nalezeno více než 10^3 KTJ/g a ve zbývajících třech pak $<5 \times 10^1$ KTJ/G. Více než 10^3 KTJ/g bylo nalezeno již jen na lokalitě Chyňava v jednom půdním dílčím vzorku. V dalších dílčích vzorcích z této lokality byly zjištěny počty KTJ nad 10^2 (dva vzorky) a $<5 \times 10^1$ (dva vzorky). Na těchto šesti pozitivních lokalitách byl v jednom případě aplikován hnůj, a to na lokalitě Chyňava. Na 2 lokalitách byla zapravena sláma.

Počty termotolerantních koliformních bakterií v rostlinných vzorcích byly vždy nižší než 5×10^1 KTJ/g.

Obrázek 2.10: Termotolerantní koliformní bakterie v půdních a rostlinných vzorcích (v KTJ/g)

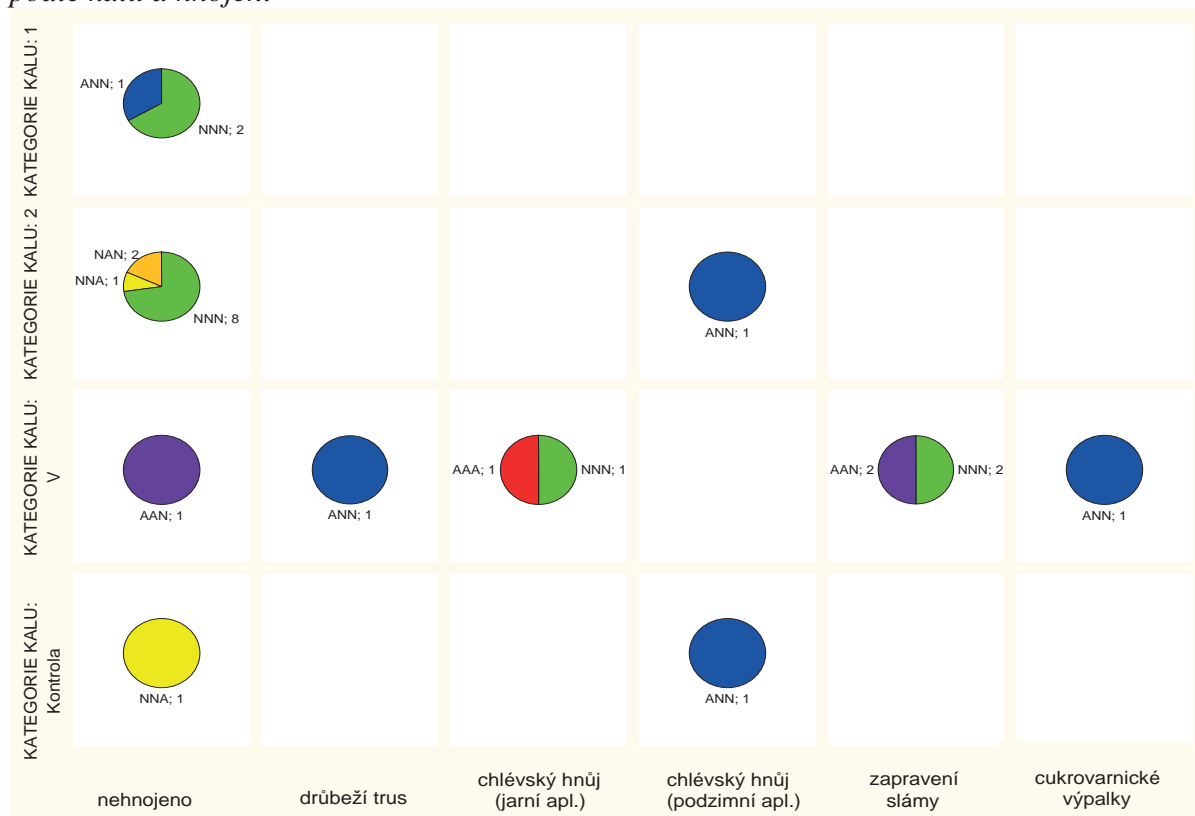


3.4 Aplikace organických hnojiv

Celkem na 5 lokalitách byla v průběhu roku 2019, případně na jaře 2020 aplikován chlévský hnůj a drůbeží trus, a dále došlo v roce 2019 na 4 lokalitách k zapravení slámy a na 1 lokalitě k zapravení cukrovarnických výpalků.

Po aplikaci organických hnojiv (hnůj, výpalky, sláma) byly pozitivní nálezy (v půdě nebo rostlině) na 7 lokalitách z 10, tj. v 70 % případů. Pro srovnání: na lokalitách bez aplikace organického hnojení byly pozitivní nálezy v 6 případech ze 16, což je přibližně 37 %. Po aplikaci hnoje lze pozitivní nález očekávat téměř s jistotou (4 lokality z 5).

Obrázek 2.11: Lokality se zobrazením nálezů indikátorových mikroorganismů kategorizované podle kalu a hnojení



Pozitivní nálezy indikátorových mikroorganismů jsou tedy často spojené s lokalitami po aplikaci kalů vyhovujících příloze č. 4 a/nebo s aplikací organických hnojiv. V kalech schválených podle přílohy č. 4 byl před jejich aplikací stanoven počet KTJ *E. coli* a přítomnost *Salmonella* spp. O přítomnosti či nepřítomnosti enterokoků či termotolerantních koliformních bakterií v těchto kalech není nic známo. Je tedy možné, že takový kal může způsobit nárůst ostatních indikátorových bakterií v půdě. Výsledky polních pokusů prezentované v kapitole III ukazují, že nálezy *E. coli* v půdních a rostlinných vzorcích jsou velmi sporadické (v podstatě byly *E. coli* nalezeny pouze v půdních vzorcích z Jaroměřic) ve srovnání s nálezy termotolerantních koliformních bakterií a zejména s nálezy enterokoků. Podobná zjištění jsou prezentována také v kapitole IV.

V rámci projektu byly enterokoky a termotolerantní koliformní bakterie nalezeny v půdních vzorcích z července až října, tedy přibližně tři čtvrtě roku až rok od aplikace kalu. Takovou dobu přežití patogenních bakterií v půdě uvádí Gerba et Smith (2005) jako maximální. Za běžnou dobu přežívání patogenních organismů v půdě považuje autor dva měsíce. Významnou redukci počtů koliformních bakterií v půdě po 8 týdnech od aplikace popisuje (dle aplikovaného kalu nula až stovky KTJ) např. Hernández et al. (2018) a pokles koliformních bakterií pod detekovatelnou hranici za 4–12 týdnů po aplikaci kalu popisují i Gibbs et al. (1997), Lang et al. (2003) a Estrada et al. (2004). V roce 2018 publikovali Parsai et al. svoje poznatky týkající se metodiky umožňující výpočet času nutného k 90% redukci patogenů v půdě (T_{90}). Pro enterokoky v mírném klimatu uvádí 37 dní (bohužel jen jeden případ, daleko více dat k *E. coli* nebo *Salmonella* spp.), pro koliformní bakterie 3,3 dny v létě a 13,4 dny v zimě.

Vzhledem k průběhu počasí v roce 2020 je možné, že nálezy sledovaných mikroorganismů byly ovlivněny zvýšenou vlhkostí v průběhu celé vegetační sezóny a předchozí mírnou zimou. Celá řada autorů (Santamaría et Toranzos, 2003, Horswell et al., 2010, Hernández et al., 2018) udává jako jeden z hlavních faktorů ovlivňujících přežívání sledovaných patogenů právě půdní vlhkost a teplotu půdy, sluneční svit; nárůst populace koliformních bakterií způsobný dešťovou epizodou popisuje Gibbs et al. (1997). Parsai et al. (2018) popsali jakýsi „roční chod“ populace *E. coli* a *Salmonella* spp. jejichž koncentrace v půdě na jaře vzrůstají díky vhodným podmínkám pro růst (přiměřená teplota, zvýšená vlhkost), poté během léta klesají zejména kvůli suchu a vysokým teplotám, případně slunečnímu svitu, aby na podzim opět vzrostly. Dále má na přežívání populace vliv např. střídání mrazivých a teplejších period spojených s táním sněhu v zimě (Zaleski et al., 2005) – čím méně těchto period je, tím lépe mikroorganismy přežívají. Patogeny pocházející z kalů se dále v půdě setkávají s původními půdními organismy, se kterými soutěží o zdroje, případně se stávají obětí predace (Zaleski et al., 2005).

Hnůj je považován za významný zdroj sledovaných mikroorganismů. Aby bylo možné spolehlivěji odfiltrovat vliv organického hnojení na výskyt indikátorových mikroorganismů bylo by vhodné provést v roce 2021 šetření na lokalitách s aplikací kalů různých kategorií, na které buď nebyl vůbec hnůj aplikován.

4 ZÁVĚRY TERÉNNÍHO ŠETŘENÍ

Na 13 lokalitách byly počty KTJ sledovaných indikátorových mikroorganismů ve všech vzorcích (tzn. půdních i rostlinných) $<5 \times 10^1$ KTJ/g. Na zbývajících 13 lokalitách byly sledované mikroorganismy nalezeny alespoň v jednom dílčím půdním nebo rostlinném vzorku. Tyto lokality zmiňujeme jako pozitivní. Enterokoky byly v půdních vzorcích nalezeny na 9 lokalitách, v rostlinných vzorcích na 3 lokalitách, termotolerantní koliformní bakterie byla nalezeny v půdních vzorcích ze 6 lokalit. Výskyt *Salmonella* spp. byl ve všech odebraných vzorcích negativní.

Pozitivní nálezy sledovaných mikroorganismů byly zaznamenány na lokalitách s kaly různých kategorií, včetně kontrolních lokalit. Nejvíce pozitivních lokalit bylo zjištěno po aplikaci kalů vyhovujících příloze č. 4 vyhlášky č. 437/2016 Sb. (6 lokalit). Mezi pozitivní bylo také zařazeno 7 z 10 lokalit, na které byla aplikována organická hnojiva současně s kalem.

Aby se odfiltroval možný vliv statkových a případně i dalších organických hnojiv na přežívání a výskyt sledovaných indikátorových mikroorganismů v půdě a rostlinách, bylo by vhodné v roce 2021 do sledování zahrnout shodný počet lokalit s kaly II. kategorie a s kaly vyhovujícími příloze č. 4, které zároveň nebyly hnojeny organickými, a především statkovými hnojivy.

5 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Brooks, J.P., Tanner, B.D., Gerba, C.P., Haas, C.N., Pepper, I.L., 2005a. Estimation of bioaerosol risk of infection to residents adjacent to a land applied biosolids site using an empirically derived transport model. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 397–405.
2. Brooks, J.P., Tanner, B.D., Josephson, K.L., Gerba, C.P., Haas, C.N., Pepper, I.L., 2005b. A national study on the residential impact of biological aerosols from the land application of biosolids. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 310–322.
3. Eisenberg, J.N.S., Moore, K., Soller, J.A., Eisenberg, D., Colford Jr., J. M., 2008. Microbial Risk Assessment Framework for Exposure to Amended Sludge Projects. *Environmental Health Perspectives*, 116 (6), 727–733.
4. Estrada, I.B., Aller, A., Aller, F., Gómez, X., Morán, 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.
5. Gale, P., 2005. Land application of treated sewage sludge: quantifying pathogen risks from consumption of crops. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 380–396.
6. Gerba, C.P., Smith Jr., J.E., 2005. Sources of Pathogenic Microorganisms and Their Fate during Land Application of Wastes. *Journal of Environmental Quality*, 34, 42–48.
7. 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 and Technology*, 35 (11–12), 269–275.
8. Hernández, J.R.R., Gómez–Lucas, I., Navarro–Pedreno, J., Jordán, M.M., Bech, J., Nieto Asencio, V.M., Portell Iniguez, N., 2018. Environmental consequences from the use of ss in soil restoration related to microbiological pollution. *Journal of Soils and Sediments*, 18, 2172–2178.
9. Horswell, J., Hewit, J., Prosser, J., Van Schaik, A., Croucher, D., Macdonald, C., Burford, P., Susarla, P., Bickers, P., Speir, T., 2010. Mobility and survival of *Salmonella Typhimurium* and human adenovirus from spiked sewage sludge applied to soil columns. *Journal of Applied Microbiology*, 108, 104–114.
10. Khuder, S., Milz, S.A., Bisesi, M., Vincent, R., McNulty, W., Czajkowski, K., 2007. Health Survey of Residents Living Near Farm Fields Permitted to Receive Biosolids. *Archives of Environmental and Occupational Health*, 62 (1), 5–11.
11. Lang, N.L., Smith, S.R., Bellett–Travers, D.M., Pike, E.B., Rowlands, C.L., 2003. Decay of *Escherichia coli* in Soil Following the Application of Biosolids to Agricultural Land. *Water Environment Management Journal*, 17(1), 23–28.
12. Parsai, T., Wier, M.H., Miller, A., Gurian, P.L. and Kumar, A., 2018. The Persistence of Pathogens in Biosolids-amended Soil: Knowns, Unknowns and Future Directions. In: J.B. Rose and B. Jiménez–Cisneros, (eds) *Global Water Pathogens Project*, <http://www.waterpathogens.org> (M. Yates (eds) Part 4 Management of Risk from Excreta and Wastewater) <http://www.waterpathogens.org/book/persistence-of-pathogens-inbiosolids>
13. Prášková, L., Němec, P., 2018. Sledování kvality zemědělských půd na pozemcích po aplikaci kalů, 1996–2017 (průběžná zpráva). ÚKZÚZ: Brno.
14. Prášková, L., Reininger, D., 2019. Sledování kvality zemědělských plodin na pozemcích po aplikaci kalů, 2003–2017. ÚKZÚZ: Brno.
15. Santamaría, J., Toranzos, G.A., 2003. Enteric pathogens and soil: a short review, *International Microbiology*, 6, 5–9.
16. 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 Science and Technology*, 62, 5459–5469.

17. Zaleski, K.J., Josephon, K.L., Gerba, C.P., Pepper, I.L., 2005. Survival, Growth, and Regrowth of Enteric Indicator and Pathogenic Bacteria in Biosolids, Compost, Soil, and Land Applied Biosolids. *Journal of Residuals Science and technology*, 2 (1), 49–63.

Tabulka 2.5. Nálezy enterokoků, termotolerantních koliformních bakterií a *Salmonella* spp. v půdních a rostlinných vzorcích

označení p.vz. v protokolu	k.ú.	Datum odběru	půdní vzorky			plodina			rostlinné vzorky					hnojení	kategorie kalu		
			dílčí vz.	enterokoky	termot.k.b.	<i>Salmonella</i> spp.	dílčí vz.	enterokoky	termot.k.b.	<i>Salmonella</i> spp.	dílčí vz.	enterokoky	termot.k.b.			<i>Salmonella</i> spp.	
3/PRO	Blatec	28.07.2020	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	ječmen	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	-	2
			2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
12/HRA	Bělotín	19.10.2020	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	cukrovka	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	-	2
			2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
16/PLZ	Benešovice	22.09.2020	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	kukuřice na siláž	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	drůbeží trus, apl. 04/2020, 1,87 t/ha	V
			2	3x10 ²	<5x10 ¹	negativní		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	2x10 ²	<5x10 ¹	negativní		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	5x10 ²	<5x10 ¹	negativní		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
30/ŠUM	Bystročice	23.07.2020	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	pšenice	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	-	1
			2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
23/PRA	Chyňava	31.08.2020	1	1,5x10 ²	<5x10 ¹	negativní	kukuřice na siláž	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	hmůj, apl. 03/2020, 2,5 t/ha	V
			2	1x100	8x100	negativní		2	1x10 ²	<5x10 ¹	negativní	2	1x10 ²	<5x10 ¹	negativní		
			3	1,6x10 ³	1,4x1000	negativní		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	1,5x10 ³	2,5x100	negativní		4	4,5x10 ²	<5x10 ¹	negativní	4	4,5x10 ²	<5x10 ¹	negativní		
			5	2,5x10 ²	<5x10 ¹	negativní		5	6x10 ²	<5x10 ¹	negativní	5	6x10 ²	<5x10 ¹	negativní		
38/KDY	Ježovy	11.08.2020	1	3x10 ²	<5x10 ¹	negativní	pšenice	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	-	1
			2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	5x10 ²	<5x10 ¹	negativní		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		

Tabulka 2.5 (pokračování). Nálezy enterokoků, termotolerantních koliformních bakterií a *Salmonella* spp. v půdních a rostlinných vzorcích

označení p.vz. v protokolu	k.ú.	Datum odběru	půdní vzorky (KTJ/g)				plodina	rostlinné vzorky (KTJ/g)					hnojení	kategorie kalu
			dílčí vz.	enterokoky	termot.k.b.	<i>Salmonella</i> spp.		dílčí vz.	enterokoky	termot.k.b.	<i>Salmonella</i> spp.			
52/PRA	Klecany 1	21.07.2020	1	3×10^2	$<5 \times 10^1$	negativní	pšenice	1	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní	cukrovarmické výpalky, apl. 02/2019, 08/2019, 3 t/ha	V	
			2	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		2	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			3	$7,5 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$	negativní		3	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			4	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		4	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			5	$1,5 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$	negativní		5	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
56/DRA	Klecany 2	20.07.2020	1	$<5 \times 10^1$	$3,9 \times 10^3$	negativní	pšenice	1	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní	zapravení slámy	V	
			2	$<5 \times 10^1$	$4,5 \times 10^3$	negativní		2	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			3	4×10^2	$<5 \times 10^1$	negativní		3	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			4	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		4	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			5	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		5	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
28/STŘ	Kšice	27.07.2020	1	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní	pšenice	1	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní	-	2	
			2	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		2	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			3	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		3	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			4	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		4	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			5	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		5	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
20/STŘ	Lom u Stříbra 1	28.07.2020	1	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní	pšenice	1	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní	-	1	
			2	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		2	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			3	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		3	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			4	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		4	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			5	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		5	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
20/PLZ	Lom u Stříbra 2	20.7.202	1	$3,5 \times 10^2$	2x100	negativní	řepka	1	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní	-	V	
			2	3×10^2	$<5 \times 10^1$	negativní		2	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			3	$3,5 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$	negativní		3	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			4	$<5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^2$	negativní		4	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			5	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		5	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
13/NAP/1902/4	Napajedla 1	15.09.2020	1	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní	kukuřice na siláž	1	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní	-	2	
			2	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		2	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			3	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		3	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			4	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		4	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			
			5	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní		5	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	negativní			

Tabulka 2.5 (pokračování). Nálezy enterokoků, termotolerantních koliformních bakterií a *Salmonella* spp. v půdních a rostlinných vzorcích

označení p.vz. v protokolu	k.ú.	Datum odběru	půdní vzorky (KTJ/g)				plodina	rostlinné vzorky (KTJ/g)				hnojení	kategorie kalu
			dílčí vz.	enterokoky	termot.k.b.	<i>Salmonella</i> spp.		dílčí vz.	enterokoky	termot.k.b.	<i>Salmonella</i> spp.		
13/ZL1/1102/1	Napajedla 2	08.09.2020	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	kukuřice na siláž	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	-	2
			2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
3/PRO/2	Nemilany	16.09.2020	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	kukuřice na siláž	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	-	2
			2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
21/PLZ	Osvračín	15.09.2020	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	kukuřice na siláž	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	chlévký hnůj, apl. 04/2020, 21,65 t/ha	V
			2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
47/NOV	Přívov	27.07.2020	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	ječmen	1	1x10 ²	<5x10 ¹	negativní	-	2
			2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		2	8x10 ²	<5x10 ¹	negativní		
			3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		3	7x10 ²	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		4	1,5x10 ²	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		5	5x10 ²	<5x10 ¹	negativní		
VSE/14	Pohořky u Kujav	13.08.2020	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	pšenice	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	-	2
			2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
56/PRA/p	Přemýšlení	28.07.2020	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	ječmen	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	zapravení slámy	V
			2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		

Tabulka 2.5 (pokračování). Nálezy enterokoků, termotolerantních koliformních bakterií a Salmonella spp. v půdních a rostlinných vzorcích

označení p.vz. v protokolu	k.ú.	Datum odběru	půdní vzorky (KTU/g)			plodina	rostlinné vzorky (KTU/g)			hnojení	kategorie kalu	
			dílčí vz.	enterokoky	termot.k.b.		Salmonella spp.	dílčí vz.	enterokoky			termot.k.b.
50/TIS/5701/1	Sebranice	21.07.2020	1	<5x10 ¹	5x10 ²	pšenice	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	-	2
			2	<5x10 ¹	4x10 ²		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	<5x10 ¹	1,5x10 ²		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
50/TIS/5702/1	Svitávka	21.09.2020	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	kukuřice na zmo	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	chlévký hnůj, apl. 09/2019, 26.8 t/ha	2
			2	3x10 ²	<5x10 ¹		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	5x10 ²	<5x10 ¹		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
OPA	Štěpánkovice	15.10.2020	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	cukrovka	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	-	2
			2	<5x10 ¹	9x10 ²		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	<5x10 ¹	5,5x10 ²		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
26806/Ž.n.S.	Štoky	08.09.2020	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	kukuřice na siláž	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	-	2
			2	<5x10 ¹	<5x10 ¹		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	<5x10 ¹	<5x10 ¹		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
5/PRA	Velim	14.07.2020	1	1,5x10 ²	1,5x10 ²	řepka	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	zapravení slámy	V
			2	<5x10 ¹	<5x10 ¹		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	1,5x10 ²	<5x10 ¹		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	1x10 ²	2x10 ²		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	1,5x10 ²	1x10 ²		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
56/PRA	Zlúby	20.07.2020	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	pšenice	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	zapravení slámy	V
			2	<5x10 ¹	<5x10 ¹		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	<5x10 ¹	<5x10 ¹		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		

Tabulka 2.5 (pokračování). Nálezy enterokoků, termotolerantních koliformních bakterií a *Salmonella* spp. v půdních a rostlinných vzorcích

označení p.vz. v protokolu	k.ú.	Datum odběru	půdní vzorky (KTJ/g)			plodina	rostlinné vzorky (KTJ/g)					hnojení	kategorie kalu
			dílčí vz.	enterokoky	termot.k.b.		<i>Salmonella</i> spp.	dílčí vz.	enterokoky	termot.k.b.	<i>Salmonella</i> spp.		
46552/KON	KONT. Chřlice	03.08.2020	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	pšenice	1	1,6x10 ³	<5x10 ¹	negativní	-	-
			2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		4	1,2x10 ³	<5x10 ¹	negativní		
			5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
26822	KONT. Zhoř u Jihlavy	22.09.2020	1	2,7x10 ³	<5x10 ¹	negativní	kukuřice na sílaž	1	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní	chlévkový hnůj, apl. 10/2019, 40 t/ha	-
			2	3,1x10 ³	<5x10 ¹	negativní		2	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			3	3,3x10 ³	<5x10 ¹	negativní		3	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			4	3,5x10 ³	<5x10 ¹	negativní		4	<5x10 ¹	<5x10 ¹	negativní		
			5	3,2x10 ³	<5x10 ¹	negativní		5	<5x10 ¹	<5x10 ¹	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 stacionární zkoušky: ověření možné kontaminace polní produkce při použití neupraveného kalu na zemědělské půdě. Posuzována byla kontaminace rostlinných produktů po aplikaci kalu, ve kterém výskyt patogenních mikrobů překračoval hodnoty kritérií stanovených vyhláškou č. 437/2016 Sb. na polní produkci. Hodnotil se rovněž výskyt patogenů v půdě. 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 namísto podzimní, dále testování plodin přímo vstupujících do potravního řetězce namísto zařazení technických plodin.

Druh zkoušky: zkouška byla založena na zkušebních stanicích ÚKZÚZ Hradec nad Svitavou (HRA), Lípa (LIP), Jaroměřice nad Rokytou (JAR) a Pusté Jakartice (PJA).

1.1 Organizace polní zkoušky

Zkoušené plodiny: Na všech pokusných stanicích byly pěstovány shodné plodiny i odrůdy.

1. Ječmen jarní odrůda Laudis 550 je sladovnická odrůda doporučena pro „České pivo“, středně raná odrůda s velmi dobrou odnoživostí a středně vysokou hmotností tisíce zrn.
2. Kukuřice silážní odrůda Figaro je dvouliniový hybrid silážní kukuřice s rychlým počátečním růstem, odolností vůči chladu, suchu a celkovému stresu.

Variety hnojení:

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

Pokusné parcely byly přizpůsobeny požadavkům pro odběry mikrobiologických vzorků. V polní zkoušce byly zařazené na každé ze čtyř zkušebních stanic 2 varianty, tj. celkem čtyři pokusné parcely. Všechny parcely byly odděleny pěšinami a bočními ochrannými pásy z důvodu vyloučení vzájemného ovlivnění obou variant. Plocha parcel je určena 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 shodné pro všechny pokusné plochy

Kukuřice silážní	2. Kal ČOV	Ječmen jarní	2. Kal ČOV
	1. Kontrola		1. Kontrola

Tabulka 3.2: Plocha hnojených parcel

Zkušební stanice	Plocha parcely m ²	Výměra zkoušky m ²
Hradec n. Svitavou (HRA)	37,5	150
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)	půd. typ	půd. druh
Hradec n. Svit.	SY	BVO	460	427	616	9,2	7,4	HN	H
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

Pro založení zkoušky byl použit nehygienizovaný čistírenský kal z ČOV Ledec nad Sázavou. Analýza použitého kalu v LABTECH s.r.o., Brno ve dnech 25.2. – 3.3.2020. (Tabulka 3.4) prokázala překročení limitu daného vyhláškou č. 437/2016 Sb. pro počet termotolerantních koliformních bakterií a intestinálních enterokoků.

Tabulka 3.4: Analýza pěti vzorků kalu ČOV Ledec n. Sázavou

Parametr	jednotka	Nejistota měření	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
Sušina	%	10 %	24,83	–	–	–	–
Termotolerantní koliformní bakterie	KTJ/ g	40 %	1,05x10 ⁶	9,4x10 ⁵	1,14x10 ⁶	9,8x10 ⁵	1,36x10 ⁶
Intestinální enterokoky	KTJ/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 3.5: Hodnocení výsledků analýzy s mikrobiologickými kritérii kalu Ledeč n. Sázavou

Parametr	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.	nesplňuje	splňuje	nesplňuje	splňuje	nesplňuje
Intestinální enterokoky	Kritéria kalu kategorie I.	nesplňuje	nesplňuje	nesplňuje	nesplňuje	nesplňuje
	Kritéria kalu kategorie II.	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje
<i>Salmonella</i>	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje	splňuje

Tabulka 3.6: Termíny aplikace čistírenského kalu a dávky

Zkušební stanice	datum aplikace	sušina kalu (%)	dávka kalu ve 100 % sušině (t/ha)	plocha parcely m ²	dávka kalu (kg/parcely)
Hradec n. Svitavou	8.4.	24,83	20,14	37,5	75,5
Lípa	5.4.	24,83	20,14	40,5	82
Jaroměřice n. Rokytinou	19.3.	24,83	20,14	37	74,5
Pusté Jakartice	25.3.	24,83	20,14	50	101

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 variantami byl vrták 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. Při vzorkování 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.

Rostlinné vzorky

- Hmotnost a odběr vzorků ječmene: ruční odběr klasů (min 250 g), zahradnickými nůžkami, do sterilních sáčků typu BagLight PolySilk 400, které se vkládaly do dalšího ochranného (běžného) sáčku. Při vzorkování byly použity latexové jednorázové rukavice.
- 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.
- Nakládání a transport vzorků: vzorky byly transportovány v den odběru 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 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 podrobeno zrno ječmene a kukuřice, tedy přímo konzumované nebo dále zpracovávané části rostlin. Z klasů ječmene byly odstraněny pluchy a plušky, které zrno obalují. Z palic kukuřice byly odstraněny veškeré obalové listeny.

2 PRŮBĚH VEGETACE

2.1 Agrotechnické záznamy

V Hradci byl před založením pokusu pozemek dvakrát vláčen branami dne 7. 4., dne 8. 4. byl použit kompaktor pro přípravu půdy pro ječmen a 5.5. pro kukuřici. Na Lípě byla provedena střední orba dne 2. 4. Pokusná plocha byla připravena kompaktorem pro ječmen 6. 4. a pro kukuřici 23. 4. V Jaroměřicích byla plocha 4x vláčena branami 17.4., poté byly použity 19. 3. rotační brány pro obě plodiny. Pro kukuřici byla plocha navíc upravena kompaktorem 22. 4. V Pustých Jakarticích byl pozemek 26. 3. dvakrát upraven kombinátorem, 3.4. kompaktorem pro ječmen. Pro kukuřici byl použit kompaktor dne 20. 4.

Čistírenský kal byl zapraven do hloubky 10 – 15 cm při přípravě půdy. Během vegetace nebyly provedeny žádné další agrotechnické operace, při nichž by se narušil povrch půdy a části rostlin, které byly analyzovány by se významně kontaminovaly půdním prachem.

Tabulka 3.7: Přehled pracovních úkonů na zkušebních stanicích

úkon na pokusu	Hradec n. Svitavou	Lípa	Jaroměřice n. Rokytanou	Pusté Jakartice
vzorkování půdy před založením	8.4.	5.4.	19.3.	25.3.
aplikace kalu ČOV	8.4.	5.4.	20.3.	26.3.
setí ječmen jarní	9.4.	7.4.	26.3.	3.4.
setí kukuřice	7.5.	24.4.	23.4.	22.4.
vzorkování půdy po ječmeni	29.7.	29.7.	28.7.	29.7.
vzorkování klasů ječmene	29.7.	29.7.	28.7.	29.7.
vzorkování půdy po kukuřici	9.9.	9.9.	19.8.	25.8.
vzorkování palic kukuřice	9.9.	9.9.	19.8.	25.8.

2.2 Klimatické podmínky

Hradec nad Svitavou: po srážkově podnormálním počátku vegetace (do poloviny května) byly srážky pravidelné až nadnormální (červen 205 % normálu) až do sklizně.

Jaroměřice nad Rokytanou: období od 7. 3. do 18. 4. bylo téměř bez srážek, porost vzešel částečně nevyrovnaně, v období metání byl vyrovnaný. Poslední dekáda dubna a květen byly srážkově téměř normální, následné období vegetace až do sklizně bylo srážkově nadnormální (červen 203 %, červenec 148 % a srpen 239 % normálu srážek).

Lípa: v březnu a dubnu byl výskyt srážek minimální a půda vysychala. Nedostatek vláhy byl zčásti doplněn v květnu, byly ale zaznamenány i noční a ranní mrazy. Od června do srpna byly srážky nadnormální, po celé toto období se vyskytovaly přeháňky s bouřkami.

Pusté Jakartice: po zasetí pokusu byl duben teplotně i srážkově podnormální s extrémními rozdíly nočních (resp. ranních) a denních teplot. Květen byl srážkově i teplotně průměrný. V červnu spadlo 205,2 mm oproti normálu 86 mm. Červenec byl srážkově i teplotně průměrný, srpen srážkově i teplotně nadprůměrný.

Průměrné měsíční teploty a měsíční úhrn srážek za rozhodující období pokusného roku byly porovnány s normálem a jsou zhodnoceny za období 9/2019 – 8/2020 v tabulkách 3.8 a 3.9

Tabulka 3.8: Průměrné měsíční srážky v r. 2019/2020

Stanice	Průměrné měsíční srážky (mm)											
	IX	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Hradec n. Svitavou												
suma denních srážek	85	44	43	38	16	87	31	11	50	164	77	131
měsíční normál	57	40	42	42	35	28	37	41	63	80	79	72
% normálu	149	110	102	90	46	311	84	27	79	205	97	182
Jaroměřice n. R.												
suma denních srážek	66	25	34	31	10	32	18	25	50	130	105	139
měsíční normál	40	29	32	27	24	22	25	32	57	71	71	58
% normálu	165	86	106	115	42	145	72	78	88	183	148	240
Lípa												
suma denních srážek	58	31	48	32	17	63	29	21	95	199	102	103
měsíční normál	51	36	42	39	36	28	38	36	59	77	81	71
% normálu	114	86	114	82	47	225	76	58	161	258	126	145
Pusté Jakartice												
suma denních srážek	75	54	32	35	17	34	30	7	80	201	101	103
měsíční normál	56	36	38	24	18	22	29	45	74	86	92	64
% normálu	134	150	84	146	94	155	103	16	108	234	110	161

Tabulka 3.9: Průměrné měsíční teploty v r. 2019/2020

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

3 MIKROBIOLOGICKÉ ANALÝZY ROSTLINNÉHO MATERIÁLU

V polních pokusech byl hodnocen vliv aplikace čistírenského kalu na ječmen jarní a kukuřici, což jsou z pohledu fyziologie rostlin plodiny náležející do zcela odlišných skupin, lišící se anatomicky, biochemicky a fyziologicky. Ječmen náleží do skupiny tzv. C3, kukuřice je zástupcem skupiny C4 (Procházka et al. 1998). Rovněž z pohledu morfologické stavby pokusných plodin existuje několik významných rozdílů, které mohou významně ovlivnit možnosti přežívání sledovaných mikroorganismů v půdě i na rostlinách.

Ječmen je plodinou s kratší vegetační dobou, porost obvykle nedosahuje více než 100 cm. Porostem celkem snadno prostupuje sluneční záření díky úzkým kopinatým listům, které během zrání ztrácí chlorofyl a usychají.

Kukuřice dosáhla ve vegetačním roce 2020, který byl bohatý na srážky, výšky rostlin více než 200 cm. Díky širokým listům vytvořila kukuřice poměrně hustý porost s omezenou propustností slunečního záření a proudění vzduchu. V termínu odběru vzorků rostliny plně vegetovaly.

3.1 Počet *Escherichia Coli* v rostlinách

V zrně ječmene jarního 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 3.10: Počet *Escherichia Coli* (KTJ/g) v původní hmotě zrna ječmene

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
HRA	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	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
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 3.11: Statistické hodnocení *Escherichia Coli*, ječmen

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, $p < 0,05$).

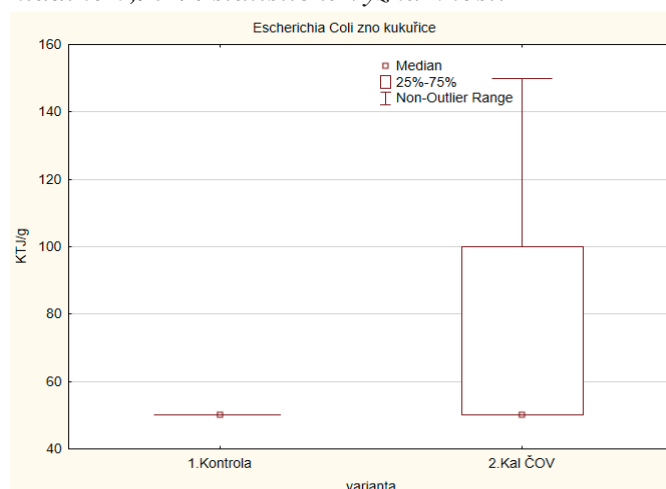
Tabulka 3.12: Počet *Escherichia Coli* (KTJ/g) v původní hmotě kukuřice

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
HRA	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	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
JAR	1.Kontrola	$1,5 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1 - 1,5 \times 10^2$
	2.Kal ČOV	5×10^2	$1,5 \times 10^2$	3×10^2	6×10^2	1×10^3	$1 \times 10^3 - 6 \times 10^2$
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 3.13: Statistické hodnocení *Escherichia Coli*, kukuřice

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	55	a
2.Kal ČOV	165	b

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

Obrázek 3.1: Krabicový diagram *Escherichia Coli* - kukuřice, varianty kontrola a ČOV kal na hladině 0,95 % statistické významnosti

Pouze na jedné lokalitě v zrně kukuřice bylo zjištěno po aplikaci kalu v průměru 700 KTJ/g *Escherichia Coli*. V průměru všech ploch u kontroly bylo zjištěno 55 KTJ/g a po kalu 165 KTJ/g, mezi variantami byly nalezeny statisticky průkazné rozdíly. Výskyt *Escherichia coli* v rostlinách objasňuje Society for General Microbiology (2014) schopností průniku přes buněčné stěny díky bičíku. Má-li *Escherichia Coli* kompletní bičíky, může proniknout pomocí molekul lipidů přes membrány rostlinných buněk. Jakmile *Escherichia coli* prostoupí do buněk, má schopnost růst a podějí kolonizovat povrch rostliny. Tento poznatek může vysvětlit vyšší výskyt po aplikaci kalu v zrně kukuřice ve voskově mléčné zralosti. Naproti tomu u ječmene, jehož zrno bylo v době vzorkování zcela suché nebyl výskyt potvrzen.

3.2 Počet enterokoků v rostlinách

V zrně ječmene byl počet enterokoků na všech pokusných lokalitách obou variant menší než 5×10^1 KTJ/g, mezi variantami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

Tabulka 3.14: Počet *enterokoků* (KTJ/g) v původní hmotě zrna ječmene

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
HRA	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	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
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 3.15: Statistické hodnocení *enterokoků*, ječmen

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, $p < 0,05$)

V zrně kukuřice bylo zjištěno významné zvýšení kontaminace enterokoky, po aplikaci kalu v průměru $8\,847$ KTJ/g a u kontroly $2\,290$ KTJ/g. Mezi variantami byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

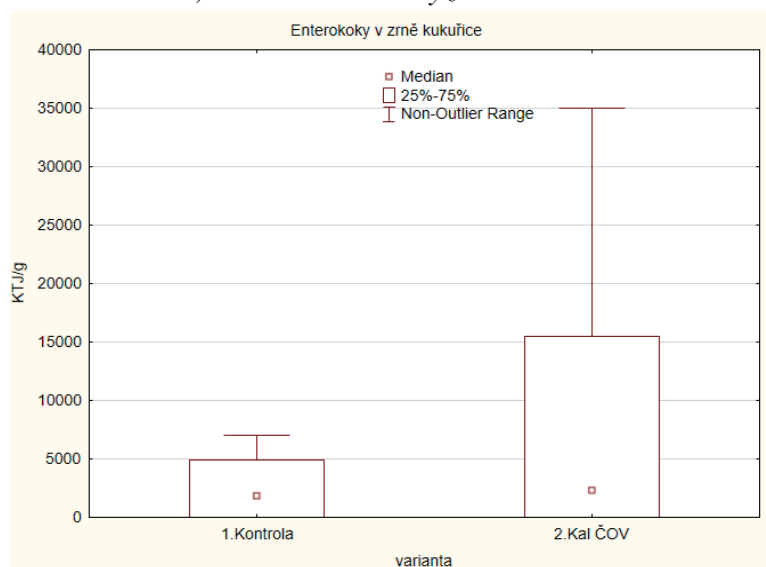
Tabulka 3.16: Počet *enterokoků* (KTJ/g) v původní hmotě kukuřice

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
HRA	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	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
JAR	1.Kontrola	$4,5 \times 10^3$	4×10^3	$3,4 \times 10^3$	$1,5 \times 10^4$	$5,1 \times 10^3$	$3,4 \times 10^3 - 1,5 \times 10^4$
	2.Kal ČOV	$3,5 \times 10^4$	$2,8 \times 10^4$	$3,4 \times 10^4$	$2,5 \times 10^4$	3×10^4	$2,8 \times 10^4 - 3,5 \times 10^4$
LIP	1.Kontrola	$2,5 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1 - 2,5 \times 10^2$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	6×10^2	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1 - 6 \times 10^2$
PJA	1.Kontrola	7×10^3	$5,5 \times 10^3$	$4,8 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3$	$5,3 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3 - 7 \times 10^3$
	2.Kal ČOV	6×10^3	$4,8 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3$	4×10^3	$4,6 \times 10^3$	$4 \times 10^3 - 6 \times 10^3$

Tabulka 3.17: Statistické hodnocení *enterokoků*, kukuřice

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	2 990	a
2.Kal ČOV	8 848	b

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

Obrázek 3.2: Krabicový diagram *enterokoků* - kukuřice, varianty kontrola a ČOV kal na hladině 0,95 % statistické významnosti

Objasnění vyššího výskytu enterokoků v kukuřici není jednoznačné, mohlo dojít k přenosu patogenu emisemi prachu z půdy větrem a ulpěním na povrchu rostlin. Studie zabývající se interakcí patogenů s rostlinami připouští i penetraci a translokaci patogenů z kořenů do nadzemních částí rostliny (Lim et al. 2014). K pravděpodobnosti průniku patogenu u kukuřice může přispívat i značná produkce hmoty a věčité, tj. parenchymatický typ cévních svazků.

3.3 Počet termotolerantních koliformních bakterií v rostlinách

V zrně ječmene počet termotolerantních koliformních bakterií na všech pokusných lokalitách obou variant nepřekročil hodnotu $< 5 \times 10^1$ KTJ/g, mezi variantami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

Tabulka 3.18: Počet *termotolerantních koliformních bakterií* (KTJ/g) v původní hmotě ječmene

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
HRA	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	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$
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 3.19: Statistické hodnocení *termotolerantních koliformních bakterií*, ječmen

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 3.20: Počet *termotolerantních koliformních bakterií* (KTJ/g) v původní hmotě kukuřice

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
HRA	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	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$
JAR	1.Kontrola	$4,3 \times 10^3$	5×10^2	3×10^2	$1,5 \times 10^2$	$5,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2 - 4,3 \times 10^3$
	2.Kal ČOV	$2,3 \times 10^3$	2×10^3	$2,4 \times 10^3$	3×10^3	$4,8 \times 10^3$	$2 \times 10^3 - 4,8 \times 10^3$
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	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$	$< 5 \times 10^1$

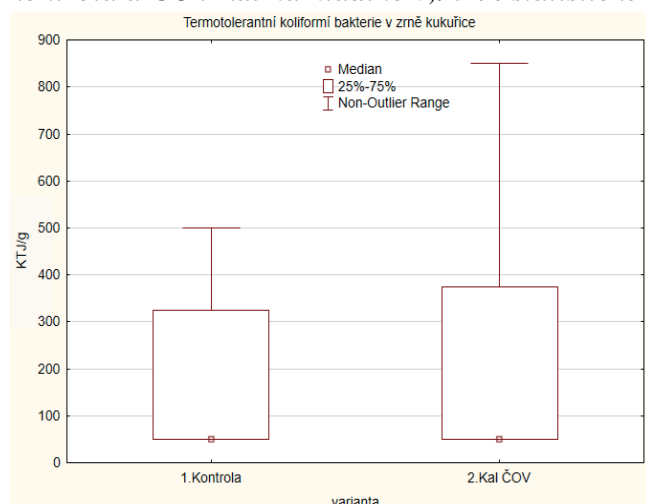
V zrně kukuřice na lokalitě Jaroměřice bylo nalezeno po aplikaci kalu v průměru pěti odebíraných vzorků 2900 KTJ/g (maximální počet až 4 800 KTJ/g). Průměrný počet termotolerantních koliformních bakterií u kontrolních variant všech ploch byl 327,5 KTJ/g a po kalu 762,5 KTJ/g. Mezi variantami nebyly pozorovány statisticky průkazné rozdíly.

Tabulka 3.21: Statistické hodnocení *termotolerantních koliformních bakterií*, kukuřice

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	327,5	a
2.Kal ČOV	762,5	a

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

Obrázek 3.3: Krabicový diagram *termotolerantní koliformní bakterie* – kukuřice, varianty kontrola a ČOV kal na hladině 0,95 % statistické významnosti



3.4 Výskyt *Salmonelly* spp. v rostlinách

Tabulka 3.22: Přítomnost *Salmonelly* spp. a důkazové testy *Salmonelly* spp., ječmen

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2.	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
HRA	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
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 3.23: Přítomnost *Salmonelly* spp. a důkazové testy *Salmonelly* spp., kukuřice

Pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
HRA	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
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

U obou plodin a na všech plochách byly zjištěny negativní testy na přítomnost *Salmonelly*, rovněž důkazové testy byly negativní.

4 MIKROBIOLOGICKÉ ANALÝZY PŮDNÍCH VZORKŮ

4.1 Počet *Escherichia Coli* v půdě

V půdě po ječmeni a 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 3.24: Hodnocení *Escherichia Coli* (KTJ/g), půda po ječmeni

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
HRA	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	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
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 3.25: Statistické hodnocení *Escherichia Coli*, půda po ječmeni

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 3.26: 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)
HRA	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	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
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 3.27: 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 ječmeni byl počet enterokoků na všech pokusných lokalitách obou variant $<5 \times 10^1$ KTJ/g. Pouze u dvou z pěti vzorků na kontrole (tabulka 3.28) byly zaznamenány vyšší hodnoty (300 a 650 KTJ/g), mezi variantami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

Tabulka 3.28: Počet *enterokoků* (KTJ/g), půda po ječmeni

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
HRA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	3×10^2	$6,5 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1 - 6,5 \times 10^2$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
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 3.29: Statistické hodnocení *enterokoků*, půda po ječmeni

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	92,5	a
2.Kal ČOV	50	a

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

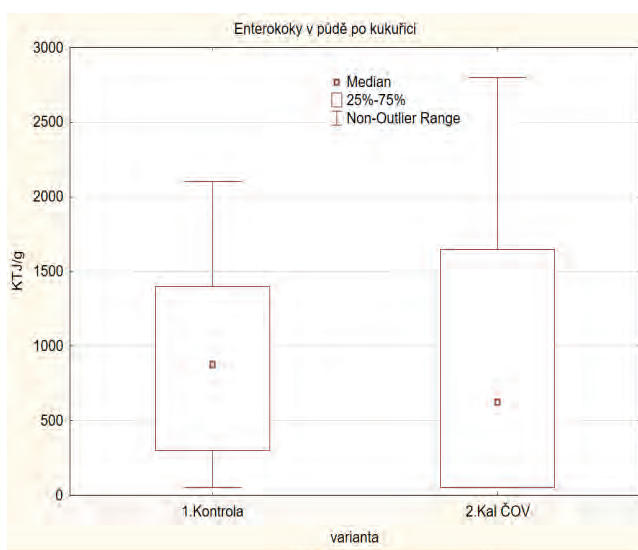
Tabulka 3.30: Počet *enterokoků* (KTJ/g), půda po kukuřici

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
HRA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	3×10^2	$6,5 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1 - 6,5 \times 10^2$
	2.Kal ČOV	$3,5 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$7,5 \times 10^2$	$<5 \times 10^1 - 7,5 \times 10^2$
JAR	1.Kontrola	$1,4 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$	$7,5 \times 10^2$	$1,3 \times 10^3$	$7,5 \times 10^2 - 1,7 \times 10^3$
	2.Kal ČOV	$9,5 \times 10^2$	$1,2 \times 10^3$	5×10^2	$1,5 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$	$5 \times 10^2 - 1,8 \times 10^3$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$1,1 \times 10^3$	4×10^2	3×10^2	5×10^2	$<5 \times 10^1 - 1,1 \times 10^3$
	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	$1,8 \times 10^3$	$2,1 \times 10^3$	1×10^3	$1,3 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$	$1 \times 10^3 - 2,1 \times 10^3$
	2.Kal ČOV	$3,5 \times 10^4$	$4,6 \times 10^3$	$2,8 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3 - 3,5 \times 10^4$

Tabulka 3.31: Statistické hodnocení *enterokoků*, půda po kukuřici

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	890	a
2.Kal ČOV	2 693	b

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

Obrázek 3.4: Krabicový diagram *enterokoků – půda po kukuřici*, varianty kontrola a ČOV kal na hladině 0,95 % statistické významnosti

V půdě po kukuřici byl zjištěn vyšší počet enterokoků po aplikaci kalu, v průměru 2 692,5 KTJ/g a u kontrolní varianty 890 KTJ/g, mezi variantami byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

4.3 Počet termotolerantních koliformních bakterií v půdě

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

Tabulka 3.32: Hodnocení *termotolerantních koliformních bakterií (KTJ/g)*, půda po ječmeni

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
HRA	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	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
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 3.33: Statistické hodnocení *termotolerantních koliformních bakterií*, půda po ječmeni

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

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

Tabulka 3.34: Počet termotolerantních koliformních bakterií (KTJ/g), půda po kukuřici

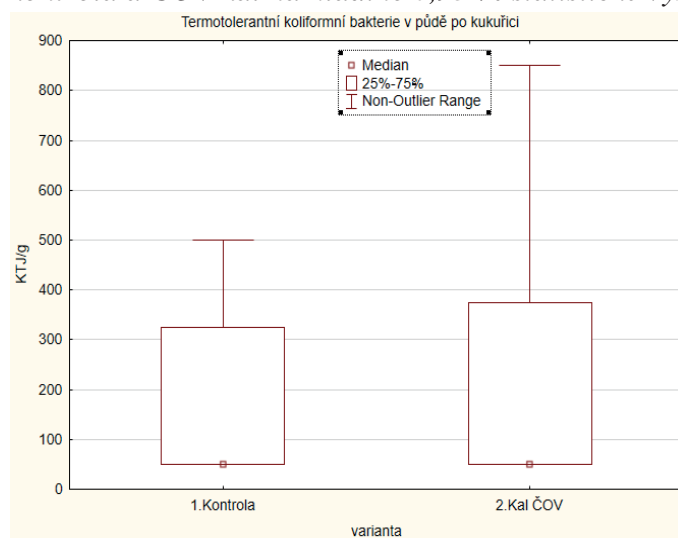
pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí počtu (KTJ/g)
HRA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	1×10^2	2×10^2	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1 - 2 \times 10^2$
	2.Kal ČOV	$1,5 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1 - 1,5 \times 10^2$
JAR	1.Kontrola	2×10^3	$1,3 \times 10^3$	$9,5 \times 10^2$	$4,5 \times 10^2$	5×10^2	$4,5 \times 10^2 - 2 \times 10^3$
	2.Kal ČOV	$1,2 \times 10^3$	$8,5 \times 10^2$	6×10^2	$1,2 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$6 \times 10^2 - 1,5 \times 10^3$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	1×10^2	$<5 \times 10^1$	2×10^2	$<5 \times 10^1 - 2 \times 10^2$
	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 termotolerantních koliformních bakterií, půda po kukuřici

pokusná varianta	Průměrný počet (KTJ/g)	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
1.Kontrola	318	a
2.Kal ČOV	310	a

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

Obrázek 3.5: Krabicový diagram termotolerantní koliformní bakterie - půda po kukuřici, kontrola a ČOV kal na hladině 0,95 % statistické významnosti



V půdě po kukuřici bylo stanoveno po aplikaci kalu v průměru 310 KTJ/g, obdobně u kontroly 317,5 KTJ/g. Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami nebyly zjištěny.

4.4 Výskyt *Salmonelly* spp. v půdě

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

Tabulka 3.36: Přítomnost *Salmonelly* spp. a důkazové testy *Salmonelly* spp., půda po ječmeni

pokusná lokalita	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
HRA	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
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 3.37: 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
HRA	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
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

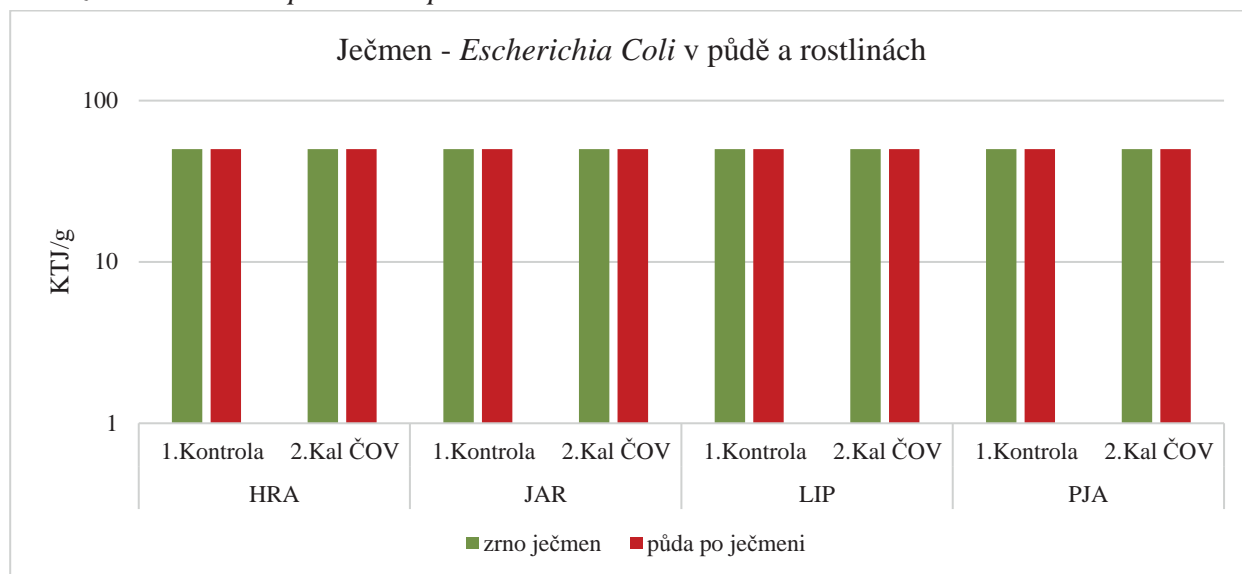
5 POROVNÁNÍ MIKROBIOLOGICKÝCH ANALÝZ ROSTLIN A PŮDY

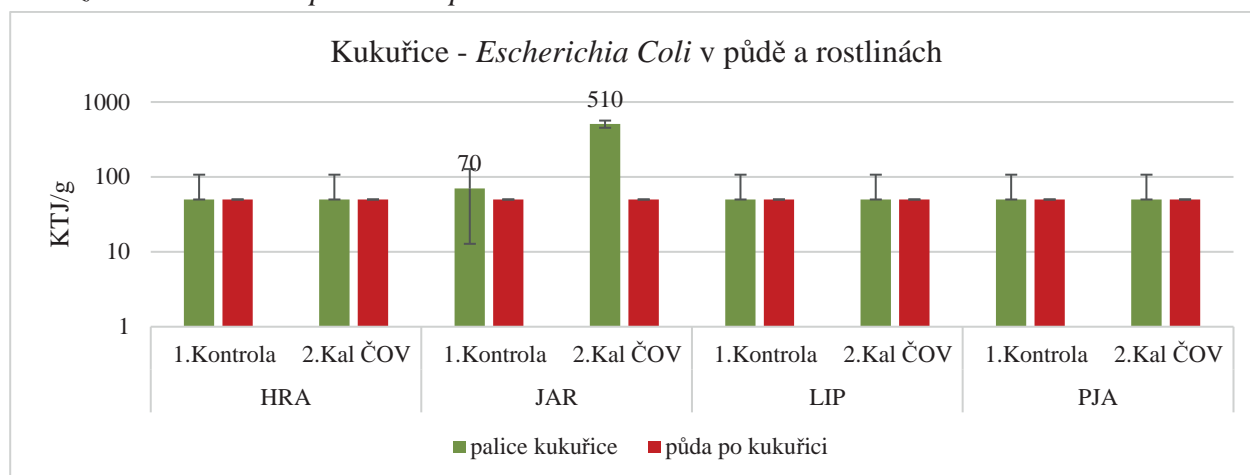
5.1 Porovnání *Escherichia Coli* v rostlinách a půdě

Tabulka 3.38: *Escherichia Coli* (KTJ/g), rozpětí pěti hodnocených vzorků

pokusná lokalita	pokusná varianta	rostliny zrno		půdy	
		ječmen	kukuřice	po ječmeni	po kukuřici
HRA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
JAR	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1 - 1,5 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$1 \times 10^3 - 6 \times 10^2$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
PJA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
Průměr	1.Kontrola	<50	55	<50	<50
	2.Kal ČOV	<50	165	<50	<50

Obrázek 3.6: Ječmen porovnání počtu *Escherichia Coli*



Obrázek 3.6: Kukuřice porovnání počtu *Escherichia Coli*

Po aplikaci neupraveného čistírenského kalu byl výskyt *Escherichia Coli* v zrna ječmene i kukuřice minimální, pod hranicí 50 KTJ/g, pouze u pěti vzorků kukuřice z celkového počtu bylo zjištěno nepatrné navýšení u varianty po kalu (Obrázek 3.6). V půdách všech lokalit byl výskyt *Escherichia Coli* <50 KTJ/g. Podle našich výsledků tento indikátor nepředstavoval riziko.

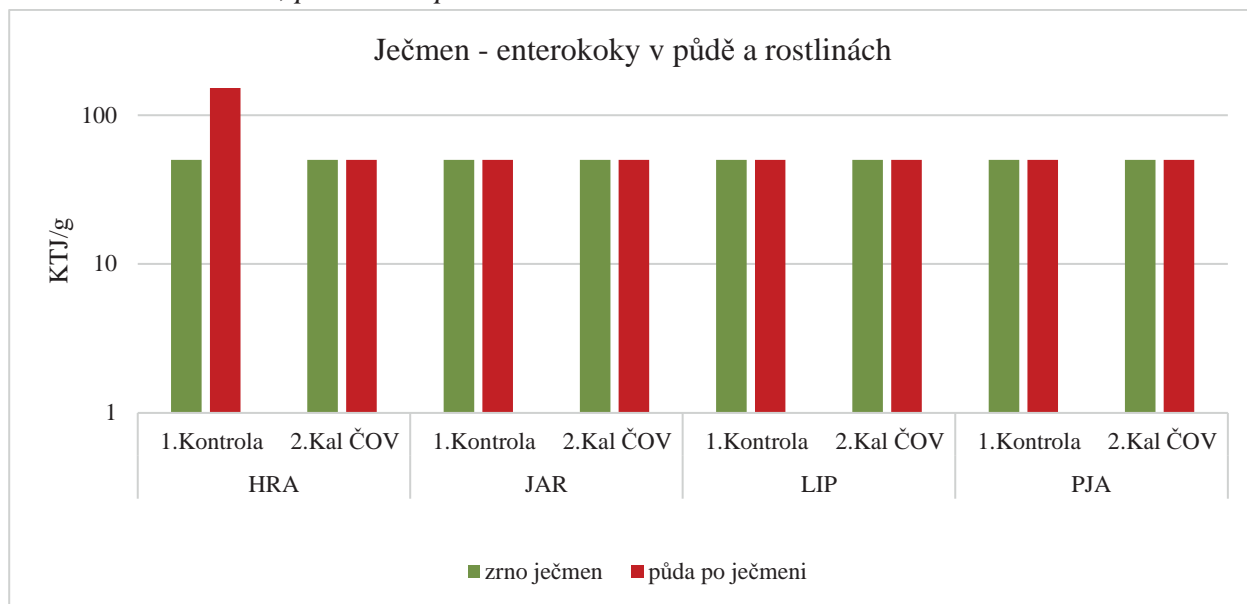
5.2 Porovnání enterokoků v rostlinách a půdě

Na variantě s čistírenským kalem, který nesplňoval kritéria kalu I. a II. kategorie byl v půdě po ječmeni zaznamenán téměř ve všech případech počet enterokoků <50 KTJ/g.

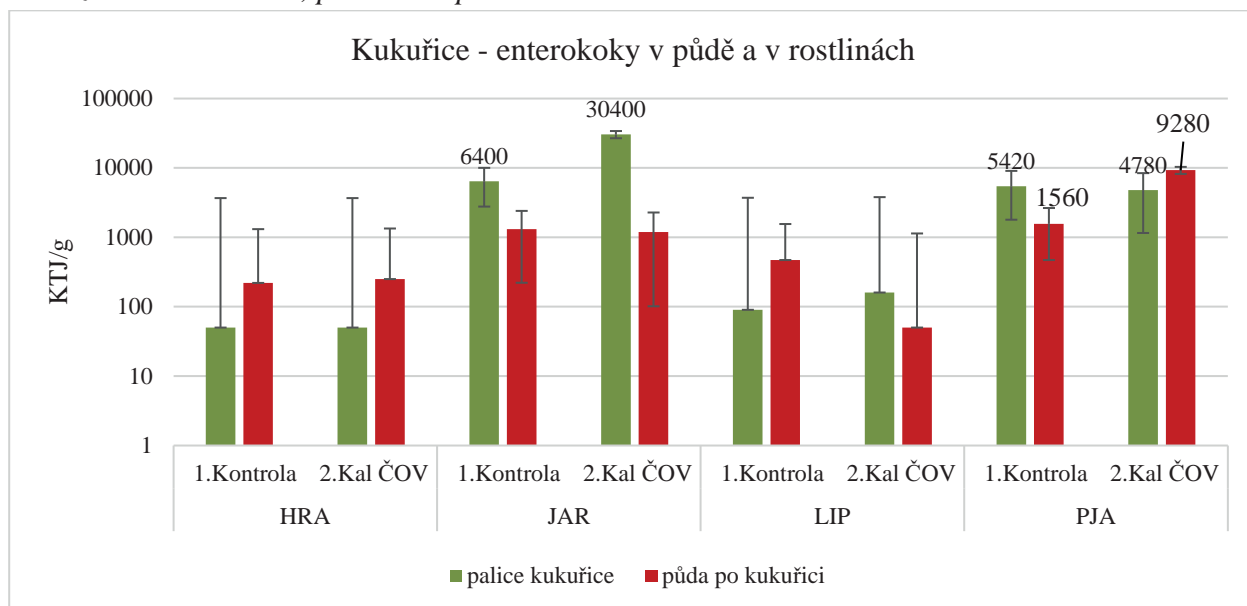
Tabulka 3.39: *Enterokoky* (KTJ/g), rozpětí pěti hodnocených vzorků

pokusná lokalita	pokusná varianta	rostliny zrno		půdy	
		ječmen	kukuřice	po ječmeni	po kukuřici
HRA	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹ – 6,5x10 ²	<5x10 ¹ – 6,5x10 ²
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹	<5x10 ¹ – 7,5x10 ²
JAR	1.Kontrola	<5x10 ¹	3,4x10 ³ – 1,5x10 ⁴	<5x10 ¹	7,5x10 ² – 1,7x10 ³
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	2,8x10 ⁴ – 3,5x10 ⁴	<5x10 ¹	5x10 ² – 1,8x10 ³
LIP	1.Kontrola	<5x10 ¹	<5x10 ¹ – 2,5x10 ²	<5x10 ¹	<5x10 ¹ – 1,1x10 ³
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	<5x10 ¹ – 6x10 ²	<5x10 ¹	<5x10 ¹
PJA	1.Kontrola	<5x10 ¹	4,5x10 ³ – 7x10 ³	<5x10 ¹	1x10 ³ – 2,1x10 ³
	2.Kal ČOV	<5x10 ¹	4x10 ³ – 6x10 ³	<5x10 ¹	<5x10 ¹ – 6,5x10 ²
Průměr	1.Kontrola	<50	2 990	92,5	890
	2.Kal ČOV	<50	8 847,5	<50	2 692,5

Obrázek 3.7: Ječmen, porovnání počtu *enterokoků*



Obrázek 3.8: Kukuřice, porovnání počtu *enterokoků*



Počty enterokoků v zrně kukuřice na dvou stanovištích převyšovaly zjištěný nález v půdě. Jde o lokality s nadnormálním úhrnem srážek v rozhodujícím vegetačním období června až srpna, což koresponduje s poznatky Santamaría (2003), kdy půdní vlhkost má na přežívání bakterií významný vliv. Příčina nálezů enterokoků u kontrolních půd na lokalitách v Jaroměřicích a Pustých Jakarticích není zřejmá.

5.3 Porovnání termotolerantních koliformních bakterií v rostlinách a půdě

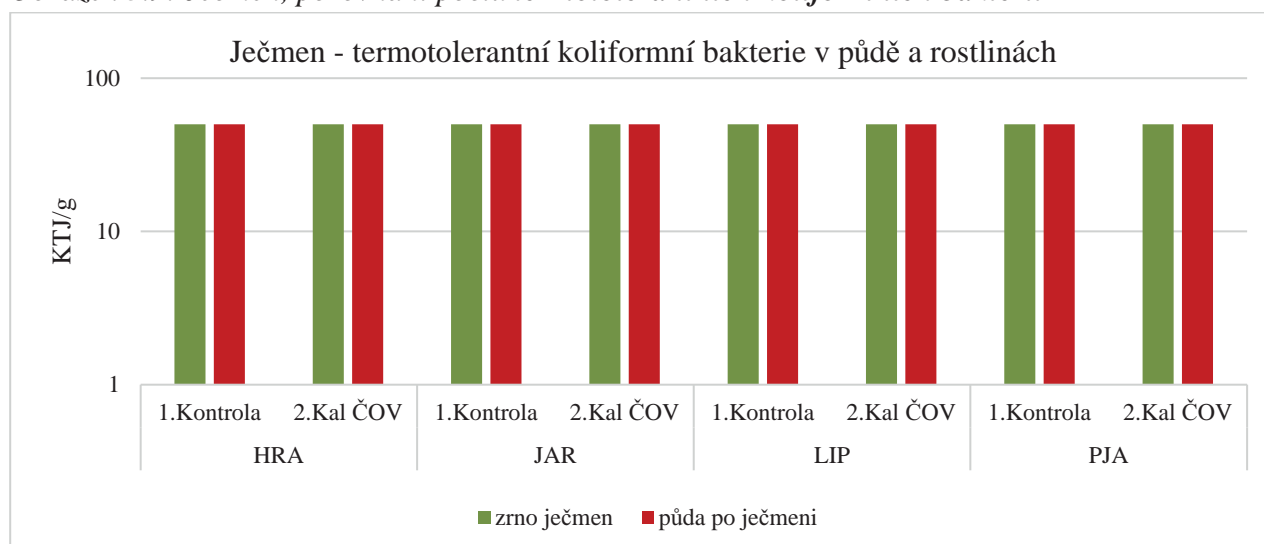
Tabulka 3.40: Termotolerantní koliformní bakterie (KTJ/g), rozpětí pěti hodnocených vzorků

pokusná lokalita	pokusná varianta	rostliny zrno		půdy	
		ječmen	kukuřice	po ječmeni	po kukuřici
HRA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1 - 2 \times 10^2$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1 - 1,5 \times 10^2$
JAR	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$1,5 \times 10^2 - 4,3 \times 10^3$	$<5 \times 10^1$	$4,5 \times 10^2 - 2 \times 10^3$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$2 \times 10^3 - 4,8 \times 10^3$	$<5 \times 10^1$	$6 \times 10^2 - 1,5 \times 10^3$
LIP	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1 - 2 \times 10^2$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
PJA	1.Kontrola	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
	2.Kal ČOV	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
Průměr	1.Kontrola	<50	327,5	<50	317,5
	2.Kal ČOV	<50	762,5	<50	310

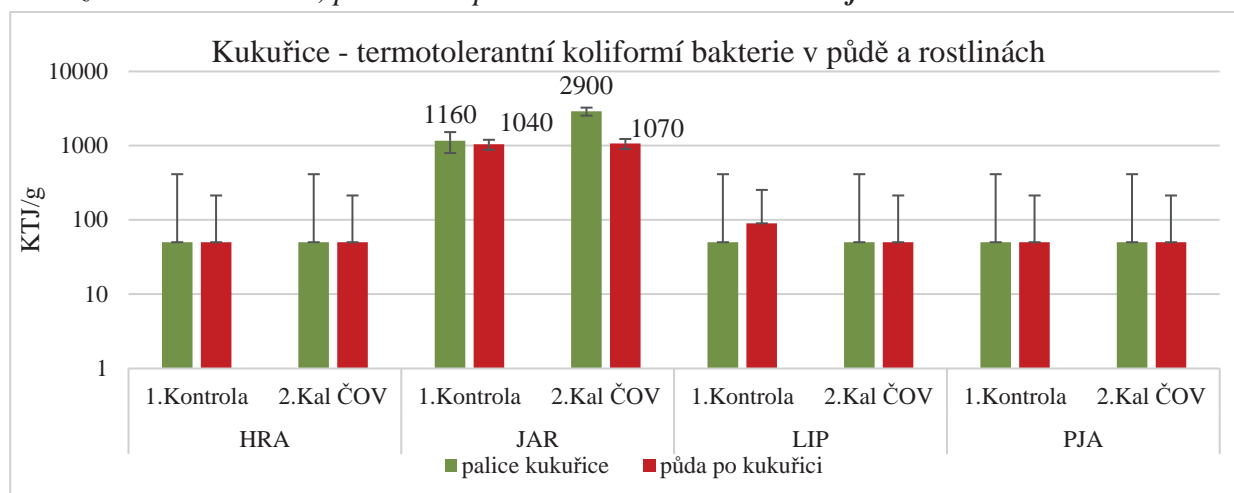
Výskyt termotolerantních koliformních bakterií v zrně ječmene a půdě byl minimální, ve všech případech bylo zjištěno $<5 \times 10^1$ KTJ/g. Na jednom stanovišti (Jaroměřice) byl zjištěn nález v zrně kukuřice v rozmezí $1,5 \times 10^2 - 4,8 \times 10^3$ KTJ/g obou variant, maximum bylo zjištěno v Jaroměřicích po kalu.

Příčinu výskytu termotolerantních koliformních bakterií v kontrolní půdě po kukuřici se nepodařilo objasnit. V půdách po kukuřici byly zjištěny počty od $<5 \times 10^1$ do 2×10^3 v Jaroměřicích a Hradci zejména v půdách hnojených kalem.

Obrázek 3.9: Ječmen, porovnání počtu termotolerantních koliformních bakterií



Obrázek 3.10: Kukuřice, porovnání počtu termotolerantních koliformních bakterií



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 3.41: Přítomnost *Salmonelly* spp. a důkazové testy *Salmonelly* spp., rozpětí pěti hodnocených vzorků

Pokusná lokalita	pokusná varianta	rostliny zrno		půdy	
		ječmen	kukuřice	po ječmeni	po kukuřici
HRA	1. Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní
	2. Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní
JAR	1. Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní
	2. Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní
LIP	1. Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní
	2. Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní
PJA	1. Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní
	2. Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní

6 FOTODOKUMENTACE POLNÍHO POKUSU

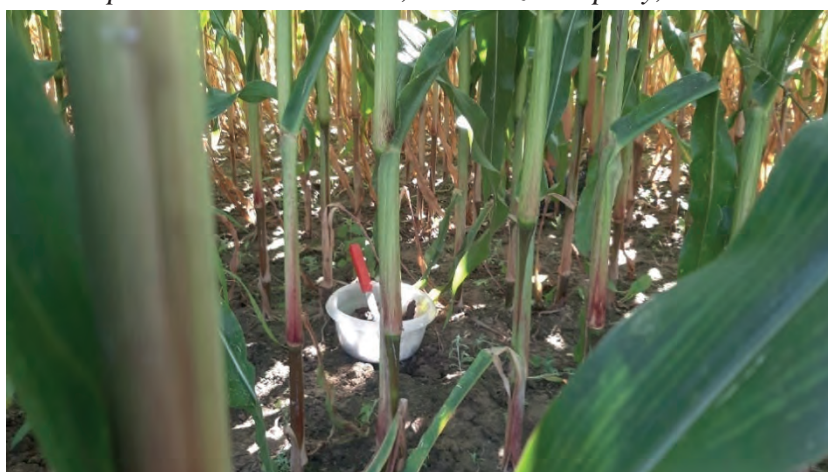
Obrázek 3.11: Pokusná lokalita Jaroměřice n. Rokytinou, ječmen, jarní fáze odnožování



Obrázek 3.12: Pokusná lokalita Pusté Jakartice, odběr vzorků kukuřice



Obrázek 3.13: Pokusná plocha Pusté Jakartice, odběr vzorků půdy, kukuřice



Obrázek 3.14: Předání zchlazených vzorků kukuřice a půdy k laboratorní analýze



Obrázek 3.15: Pokusná plocha Pusté Jakartice, vzorky klasů ječmene



7 ZÁVĚRY POLNÍHO POKUSU

Jednoletý polní pokus, v němž byl aplikován neupravený čistírenský kal, jehož mikrobiologické parametry nevyhovely kritériím vyhlášky č. 437/2016 Sb., úmyslně simuluje podmínky, které jsou pro zemědělskou praxi zcela nepřijatelné. Jde o nepovolený termín jarní aplikace namísto podzimní a dále o testování plodin přímo vstupujících do potravního řetězce namísto technických plodin.

Tyto kriticky záměrně nastavené podmínky provokačního pokusu prokázaly, že výskyt *Escherichia Coli* u ječmene a kukuřice a v půdách nepředstavoval riziko.

Nález enterokoků se potvrdil v klasech kukuřice a v půdě po kukuřici. Můžeme se domnívat, že u kukuřice došlo k přestupu z půdy do nadzemní hmoty buď emisemi anebo transportem rostlinou. Naopak v zrnu ječmene a v půdě po ječmeni výskyt enterokoků nebyl zaznamenán. V porostu ječmene mohla k eliminaci patogenů přispívat nízká vlhkost a zvýšená expozice rostlin slunečnímu záření.

Výskyt termotolerantních koliformních bakterií v zrně ječmene a půdě byl minimální. Mírný, avšak statisticky neprůkazný nález byl zjištěn v zrně kukuřice i půdě.

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

Ve vegetačním roce 2021 se polní pokus zaměří na sledování podzimní aplikace rovněž mikrobiologicky nevyhovujícího čistírenského kalu, jehož expozice přes zimní období v půdě bude téměř 10 měsíců. Testované plodiny budou ozimého typu, tzn. délka vegetačního období bude podstatně delší, než tomu bylo u jarních plodin testovaných v roce 2020. Zopakován bude i test s kukuřicí pro objasnění, popřípadě potvrzení vyšších nálezů patogenů.

8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Lim, J. A., Dong H. L., Sunggi H., 2014: The Interaction of Human Enteric Pathogens with Plants; The Korean Society of Plant Pathology 2014 Jun; 30(2): 109–116.
2. Procházka S. eds., 1993: Fyziologie rostlin, s. 128. Akademie věd České republiky, ISBN 80–200–0586–2.
3. Santamaría, J., Gary, C., Toranzos, A., 2003. Enteric pathogens and soil: a short review. *International Microbiology*, 6, 5–9.
4. Society for General Microbiology, 2014: Pathogenic *E. coli* binds to fresh vegetables. *ScienceDaily*. *ScienceDaily*, 15 April 2014.

9 POUŽITÉ ZKRATKY

KTJ/g	Kolonie tvořící jednotky
ČOV	čistírna odpadních vod
HRA	Zkušební stanice Hradec nad Svitavou
JAR	Zkušební stanice Jaroměřice nad Rokytinou
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 nehojenou kontrolou.

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 2020 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	dobrý	nízký	dobrý	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

Ječmen jarní (*Hordeum vulgare*) – odrůda Laudis 550

Paprika (*Capsicum annuum*) – odrůda Chronos F1

Brambory (*Solanum tuberosum*) – odrůda Vysočina

1.4 Dávky hnojiv a schéma nádobové zkoušky

Schéma vegetační zkoušky a dávky hnojiv uvádí tabulka 4.2. Kal byl aplikován v dávce odpovídající dávce sušiny kalu 5 t ha⁻¹.

Tabulka 4.2: Schéma vegetační nádobové zkoušky a dávky hnojiv

Plodina	Varianta	Počet nádob	Objem nádoby (l)	Navážka půdy (kg)	Dávka kalu v sušině t ha ⁻¹	Dávka kalu g nádoba ⁻¹
Ječmen	1.Kontrola	5	10	10	0	0
	2.Kal ČOV	5	10	10	5	99
Paprika	1.Kontrola	5	12	10	0	0
	2.Kal ČOV	5	12	10	5	99
Brambory	1.Kontrola	5	12	11	0	0
	2.Kal ČOV	5	12	11	5	99

1.5 Charakteristika čistírenského kalu a jeho použití

Pro založení zkoušky byl použit nehygienizovaný čistírenský kal z ČOV Ledeč nad Sázavou. Analýza použitého kalu v LABTECH s.r.o., Brno ve dnech 25. 2. – 3. 3. 2020 (Tabulka 4.3) prokázala překročení limitu daného vyhláškou č. 437/2016 Sb. pro počet termotolerantních koliformních bakterií a intestinálních enterokoků.

Tabulka 4.3: Mikrobiální kontaminace vzorků kalu

Parametr	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
Intestinalní 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

Aplikace kalu: navážka kalu byla promíchána s navážkou půdy jednotlivých nádob dne 10. 3. 2020.

1.6 Technika založení a rozsah zkoušky

Celkový rozsah zkoušky: 3 plodiny x 2 varianty x 5 opakování, celkem 30 vegetačních nádob

Ječmen

- rostliny ječmene byly pěstovány v plastových nádobách s 10 kg zhomogenizované zeminy
- do každé nádoby bylo 16. 3. 2020 vyseto 28 semen. Po vzejití (24. 3. 2020) bylo 9. 4. 2020 provedeno vyjednání na 21 vyrovnaných rostlin v každé nádobě. Sklizeň byla provedena 23. 7. 2020

Paprika

- výsev semen k předpěstování sazenic byl proveden 19. 2. 2020
- k předpěstování sazenic byl použit výsevní a pěstební substrát Rašelina Soběslav

- rostliny s dvěma pravými listy byly přesazeny do kontejnerů o objemu 1 l a umístěny ve vytápěném skleníku, později otužovány v nevytápěném skleníku
- před výsadbou do pokusných nádob byl vybrán vyrovnaný soubor předpěstovaných rostlin
- výsadba předpěstovaných a otužených sazenic z kontejnerů do vegetačních nádob o objemu 12 l byla provedena 18. 5. 2020
- sklizeň plodů pro mikrobiologické analýzy byla provedena 22. 7. 2020

Brambory

- rostliny brambor byly pěstovány v plastových nádobách s 11 kg zhomogenizované zeminy
- do každé nádoby byla 8. 4. 2020 vysazena 1 hlíza
- sklizeň byla provedena 8. 7. 2020

Obecné zásady

- pod každou vegetační nádobou byla umístěna miska pro případné zachycení přebytečné závlivkové 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 4.4.
- růstové rozdíly mezi variantami byly vyfotografovány
- v průběhu vegetace byla vlhkost zeminy v nádobách udržována pravidelnou závlivkou dle potřeby demineralizovanou vodou, upravenou reverzní osmózou MID 50 K (Pharmapur řady Aqua Complet) na hodnotu 60 % maximální vodní kapacity

Tabulka 4.4. Přípravky použité k ochraně proti chorobám a škůdcům v průběhu zkoušky

Plodina	Přípravek	datum	koncentrace (%)	Škůdce/choroba
Ječmen	Boogie XPro	4. 5. 2020	0,1	padlí
Paprika	Movento	1. 6. 2020	0,05	třásněnka
	Spintor	8. 6. 2020	0,04	třásněnka
	Movento	3. 7. 2020	0,05	třásněnka
Brambory	Acrobat MZ WG	8. 6. 2020	0,40	plíseň bramborová
	Merpan	23. 6. 2020	0,15	nespecifické půdní patogeny
	Topsin	23. 6. 2020	0,08	

1.7 Odběry vzorků

Odběr vzorků rostlin

- Z každé nádoby byl odebrán 1 dílčí vzorek klasů ječmene, plodů papriky a hlíz brambor, celkem 5 dílčích vzorků každé plodiny z každé varianty. Sklizené produkty byly odebrány do sterilních sáčků typu BagLight PolySilk 400
- 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 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 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 4.5).

Tabulka 4.5: 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 hodnot (KTJ/g)
Ječmen	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
Paprika	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
Brambory	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

2.2 Počet enterokoků ve vzorcích rostlinného materiálu

Počet enterokoků byl ve všech odebraných vzorcích nižší než 50 KTJ/g (Tabulka 4.6).

Tabulka 4.6: Počet *enterokoků* (KTJ/g) v původní hmotě sklizených produktů

pokusná plodina	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí hodnot (KTJ/g)
Ječmen	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
Paprika	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
Brambory	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

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 4.7).

Tabulka 4.7: 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 hodnot (KTJ/g)
Ječmen	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
Paprika	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
Brambory	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

2.4 Výskyt *Salmonelly* spp. ve vzorcích rostlinného materiálu

Přítomnost *Salmonelly* nebyla v žádném z testovaných vzorků zjištěna (Tabulka 4.8).

Tabulka 4.8: 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
Ječmen	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
Paprika	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
Brambory	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní

3 MIKROBIOLOGICKÉ ANALÝZY PŮDY

3.1 Počet *Escherichia Coli* ve vzorcích půdy

Počet E. Coli byl ve všech odebraných vzorcích nižší než 50 KTJ/g (Tabulka 4.9).

Tabulka 4.9: Počet *Escherichia Coli* (KTJ/g) v původní hmotě půdy

pokusná plodina	pokusná varianta	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	rozmezí hodnot (KTJ/g)
Ječmen	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
Paprika	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
Brambory	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

3.2 Počet enterokoků ve vzorcích půdy

Počet enterokoků byl ve všech vzorcích půdy odebraných po sklizni ječmene a papriky pod 50 KTJ/g (Tabulka 4.10). Ve vzorcích půdy odebrané po sklizni brambor byl zjištěn průkazně vyšší počet enterokoků v kontrole než v půdě hnojené čistírenským kalem (Tabulka 4.11).

Tabulka 4.10: 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)
Ječmen	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
Paprika	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
Brambory	1.Kontrola	450	2000	50	50	50	50 – 2 000
	2.Kal ČOV	200	50	50	50	50	50 – 200

Tabulka 4.11: 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
Ječmen	1.Kontrola	50	a
	2.Kal ČOV	50	a
Paprika	1.Kontrola	50	a
	2.Kal ČOV	50	a
Brambory	1.Kontrola	520	a
	2.Kal ČOV	80	b

3.3 Počet termotolerantních koliformních bakterií ve vzorcích půdy

Počet termotolerantních koliformních bakterií nebyl ve vzorcích půdy po sklizni ječmene a papriky průkazně ovlivněn aplikací kalu (Tabulka 4.12). Vyšší hodnoty byly zjištěny ve vzorcích půdy po sklizni brambor, mezi kontrolou a půdou hnojenou kalem nebyl průkazný rozdíl (Tabulka 4.13).

Tabulka 4.12: 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 hodnot (KTJ/g)
Ječmen	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	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$	$<5 \times 10^1$
Paprika	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	10^2	5×10^1	5×10^1	$2,5 \times 10^2$	5×10^1	$5 \times 10^1 - 2,5 \times 10^2$
Brambory	1.Kontrola	2×10^4	$4,5 \times 10^4$	$5,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	6×10^3	$1,5 \times 10^3 - 4,5 \times 10^4$
	2.Kal ČOV	4×10^3	5×10^3	$4,3 \times 10^4$	$2,5 \times 10^3$	8×10^2	$8 \times 10^2 - 4,3 \times 10^4$

Tabulka 4.13: Statistické hodnocení počtu termotolerantních koliformních bakterií (KTJ/g) v původní hmotě půdy

pokusná plodina	pokusná varianta	Průměr	Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
Ječmen	1.Kontrola	50	a
	2.Kal ČOV	50	a
Paprika	1.Kontrola	50	a
	2.Kal ČOV	50	a
Brambory	1.Kontrola	15 600	a
	2.Kal ČOV	11 060	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 4.14).

Tabulka 4.14: 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
Ječmen	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
Paprika	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
Brambory	1.Kontrola	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní
	2.Kal ČOV	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní

4 FOTODOKUMENTACE POLNÍHO POKUSU

Obrázek 4.1: Brambory; nádoba 1. kontrola, nádoba 2. hnojeno ČOV kalem



Obrázek 4.2: Ječmen jarní; nádoba 1. kontrola, nádoba 2. hnojeno ČOV kalem



Obrázek 4.3: Paprika roční; nádoba 1. kontrola, nádoba 2. hnojeno ČOV kalem



5 ZÁVĚRY NÁDOBOVÉHO POKUSU

V provedených nádobových zkouškách byl aplikován kal s nadlimitním výskytem patogenních bakterií sledovaných dle vyhlášky č. 437/2016 Sb. Předpokládaná kontaminace sklizených rostlinných produktů sledovanými patogeny však nebyla pozorována. Kontaminace půdy enterokoky a termotolerantními koliformními bakteriemi byla zaznamenána u brambor, vyšší hodnoty byly zjištěné v neošetřené kontrole.

V druhém pokusném roce (2021) bude pozornost zaměřena na testování rostlin, jejichž konzumní části budou v přímém kontaktu s neupraveným čistírenským kalem, jehož mikrobiologické limity budou překročeny. Znovu by mohla být testována kukuřice, u níž se v polním pokusu prokázaly pozitivní nálezy. Potenciálním zdrojem patogenních mikroorganismů mohou být i organická hnojiva, zejména stájového původu. Proto bude pro srovnání zařazena také varianta hnojená chlévským hnojem

6 POUŽITÉ ZKRATKY

KTJ/g	Kolonie tvořící jednotky
ČOV	Čistírna odpadních vod

ZÁVĚREČNÉ SHRNU TÍ PROJEKTU PO PRVNÍM ROCE

Výsledky prokázaly, že aplikace čistírenského kalu může být zdrojem sledovaných mikroorganismů, zejména termotolerantních koliformních bakterií a enterokoků, a může zvyšovat jejich výskyt v rostlinách i v půdě. Pouze výskyt *Salmonella* spp. nebyl zaznamenán v žádném vzorku a výskyt *E. Coli* pouze na jedné lokalitě v kukuřici. Lze tedy předpokládat, že tyto dva parametry prakticky nepředstavují z hlediska kontaminace půdy a plodin nebezpečí.

V terénním šetření byly zjištěny pozitivní nálezy termotolerantních koliformních bakterií a enterokoků jak v půdních, tak v rostlinných vzorcích, a to na 13 lokalitách z 26 sledovaných. Nejvíce pozitivních lokalit bylo zjištěno po aplikaci kalů vyhovujících příloze č. 4 vyhlášky č. 437/2016 Sb. Zároveň zde byla aplikována organická hnojiva, včetně statkových. V některých případech tak nelze zcela rozlišit vliv hnojení od aplikace kalů na výskyt sledovaných indikátorových organismů. Proto by bylo vhodné se v roce 2021 zaměřit na lokality, na něž byl aplikován kal dle přílohy č. 4 bez organického hnojení.

V průběhu polního pokusu nebyl zaznamenán výskyt sledovaných bakterií v zrně ječmene a v půdě po ječmeni. Byla však zjištěna jejich přítomnost ve sklizených klasech kukuřice a v půdě po kukuřici. To může souviset s odlišnými mikroklimatickými podmínkami v porostech těchto plodin.

V provedených nádobových zkouškách byl aplikován kal s nadlimitním výskytem patogenních bakterií sledovaných dle vyhlášky č. 437/2016 Sb. Předpokládaná kontaminace sklizených rostlinných produktů sledovanými patogeny však nebyla pozorována. Kontaminace půdy enterokoky a termotolerantními koliformními bakteriemi byla zaznamenána u brambor, hodnoty byly vyšší v neošetřené kontrole.

I když čistírenské kaly mohou být hlavním zdrojem, nelze vyloučit ani další zdroje, které mohou hodnocení vlivu kalů na přítomnost patogenů zkreslovat.

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

V roce 2021 se projekt v terénním šetření zaměří na sledování shodného počtu lokalit s čistírenskými kaly II. kategorie a s kaly vyhovujícími příloze č. 4, které nebudou hnojeny organickými, a především statkovými hnojivy. V polní zkoušce bude hodnocen vliv podzimní aplikace mikrobiologicky nevyhovujícího čistírenského kalu, jehož expozice v půdě bude téměř 10 měsíců. Zopakován bude i test s kukuřicí pro objasnění nálezů patogenů v prvním pokusném roce. Nádobová zkouška se zaměří na testování rostlin, jejichž konzumní části budou v přímém kontaktu s neupraveným čistírenským kalem. Znovu bude testována kukuřice, u níž se v polní zkoušce prokázaly pozitivní nálezy, přičemž odběry vzorků budou probíhat v různých fázích vegetace. Kromě čistírenského kalu bude jako možný zdroj sledovaných patogenů testován také hnůj.

