

ALS Czech Republic, s.r.o.

Na Harfě 336/9
190 00 Praha 9, Česká republika
T: +420 226 226 228
E: info.cz@alsglobal.com



right solutions.
right partner.

Výzkumná zpráva projektu za rok 2023

Název projektu: Komplexní zhodnocení kontaminace půd pesticidními látkami a *in-situ* remediační opatření k eliminaci jejich vstupu do podzemních vod

Kód projektu: SS06020006

Řešitelé projektu:

ALS Czech Republic, s.r.o.
(hlavní řešitel projektu)



EPS biotechnology, s.r.o.
(další účastník projektu)



Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, v.v.i.
(další účastník projektu)



Vysoké učení technické v Brně
(další účastník projektu)



1 ALS CZECH REPUBLIC

1.1 Metodika

Pro účely projektu bylo zapotřebí upravit stávající analytické metody. Tyto úpravy se týkaly zejm. zažazení SPE extrakce a snížení detekčního limitu u chloracetanilidových pesticidů, včetně metabolitů.

Stanovení pesticidů ve vodě

Analýza širokého spektra reziduí pesticidů ve vzorcích vod (přibližně 350 různých látek rozdělených podle analytických metod stanovení do 5 skupin) byla provedena metodou LC-MS. Pro většinu analyzovaných parametrů byly vzorky vod připraveny jednoduchou metodou „přímého nástřiku“, kdy je ke vzorkům přidán interní standard a vzorky jsou před vlastní LC-MS analýzou pouze přefiltrovány přes 0.22 μ m celulosové mikrofiltry a převedeny do vialek.

Některé parametry musí před samotnou analýzou projít derivatizací (pomocí derivatizačního činidla FMOC, které reaguje s cílovými analyty v kyselém prostředí, které je v průběhu derivatizace udržováno přidávkem borátového pufru), aby je bylo možné pomocí metody LC-MS stanovit s dostatečnou citlivostí. Takové vzorky jsou podrobeny derivatizačnímu procesu a následně přečištěny přes SPE kolonky za účelem odstranění nežádoucích matričních vlivů. Po eluci okyseleným methanolem je takový extrakt analyzován metodou LC-MS.

Stanovení pesticidů v pevných maticích

Metoda LC-MS určená pro stanovení pesticidů ve vzorcích zemin a sedimentů zahrnuje stanovení přibližně 300 pesticidů a jejich metabolitů (rozdělených podle analytických metod stanovení do 5 skupin). Z větší části jsou analyty extrahovány a přečištěny přípravnou metodou QuEChERS, kdy je naváženo 5 g vzorku, ke kterému je přidán vnitřní standard a 10 ml MQ vody obsahující 1 % HCOOH. Vzorek je lehce manuálně promíchán. Ke vzorku se dále přidá 10 ml ACN a celý vzorek je takto extrahován na automatické třepačce po dobu 10 min. Ke vzorku jsou následně přidány QuEChERS soli (1g NaCl a 4g MgSO₄, 1g Na₃ citrát a 0,5g Na₂ citrát), se kterými je vzorek protřepán po dobu 1 min. Vzorek je dále centrifugován a horní acetonitrilová vrstva (200 μ L) je odebrána do vialky a naředěna 800 μ L 5mM octanu amonného. Vzorek je takto připraven k LC-MS analýze.

Podobně jako je tomu u vod, některé analyty je třeba před vlastní analýzou podrobit derivatizaci, které navíc předchází extrakce v zásaditém prostředí (extrakčním činidlem je roztok KOH). Po úpravě pH na požadovanou hodnotu a derivatizaci dochází opět k přečištění extraktu za pomoci SPE a po eluci methanolem nástřik na LC-MS.

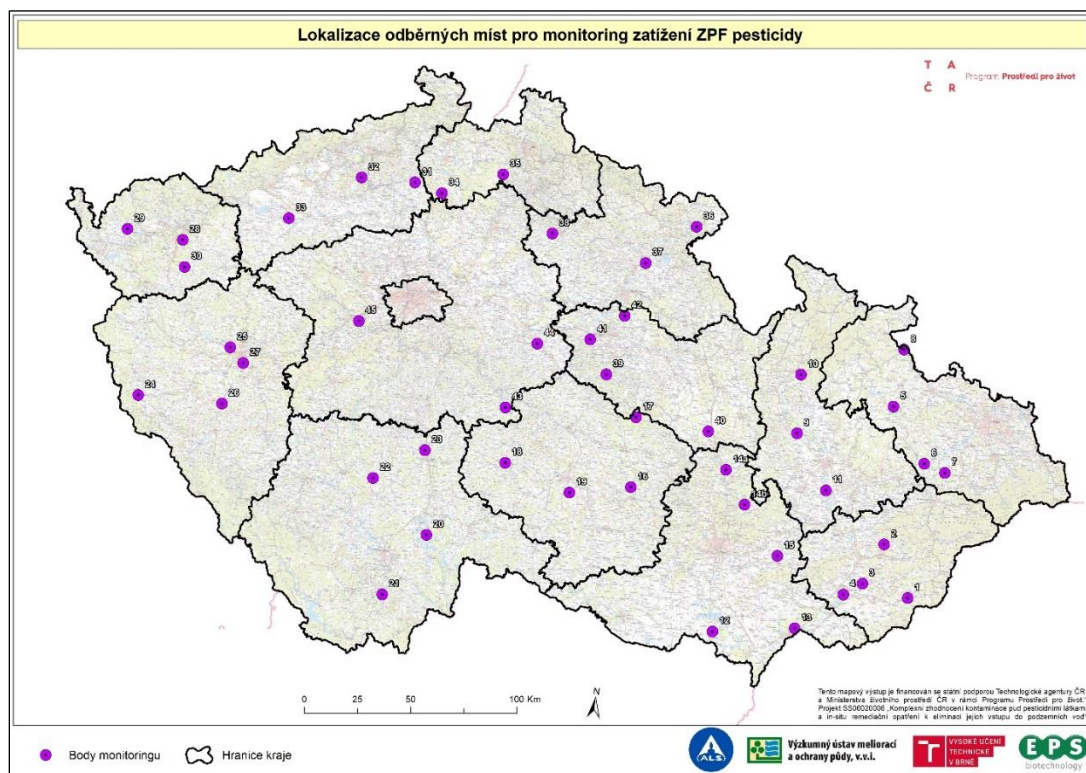
LC-MS analýza

Všechny cílové analyty byly stanoveny metodou kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní detekcí (UPLC-MS/MS). Separace analytů byla provedena pomocí kapalinové chromatografie na přístrojích Acquity UPLC I-Class od firmy Waters (USA), na kolonách Acquity UPLC BEH C18 1.7 μ m (2,1 x 100 mm), (Waters, USA). V metodách byla teplota kolon nastavena na 40-65°C a nástřikový objem vzorků 10-250 μ L v závislosti na konkrétní skupině látek. Ve všech případech byla použita gradientová eluce analytů. Mobilní

fáze A je tvořena 5mM octanem amonným (resp. 5mM octanem amonným s 0,1% HCOOH, případně 0,005% HCOOH) a mobilní fáze B je tvořena methanolem čistoty LCMS (resp. methanol LCMS s 0,1% HCOOH). Detekce analytů byla provedena na přístrojích XEVO TQ/TQ-XS (Waters, USA), pracující s elektrosprejem v pozitivním i negativní módu (ESI+/ESI-). Nastavení základních parametrů MS metod bylo následující: Capillary voltage 1000-2000 V, cone voltage dle specifického nastavení jednotlivých analytů, desolvation temperature 400-600°C, source temperature 150°C, desolvation gas flow 1000 L/Hr. Cílové analyty byly identifikovány dle specifických MRM přechodů a retenčních časů (jejich přesný výčet a popis je obsáhlý a přesahuje rozsah této zprávy). Kvantifikace všech analytů probíhá za použití vnitřních standardů, kdy každý analyt má přiřazený vnitřní standard, na jehož výtěžnost se koriguje výsledek.

1.2 Monitoring výskytu pesticidů v půdách a vodách ČR

V období od 13. června do 31. července 2023 byla na území České republiky uskutečněna vzorkovací kampaň s cílem zhodnotit kontaminaci zemědělské půdy a přilehlých povrchových vod účinnými pesticidními látkami a jejich metabolity. Do kampaně bylo zahrnuto celkem 45 odběrových míst (Obr. 1 a Tab. 1), která byla rovnoměrně rozprostřena po celé České republice. V každém kraji (s výjimkou Hlavního města Prahy) bylo odebráno 2 až 5 vzorků zemědělské půdy a okolní povrchové vody. Výběr odběrných míst byl konzultován s Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (ÚKZÚZ) a bylo při něm zohledněno, zda je odběrné místo 1) odvodněno, 2) zda se nachází v chráněném území, 3) zda se nachází v ochranném pásmu vodní nádrže nebo vodního zdroje a 4) zda je erozně ohroženo.



Obr. 1: Mapa odběrných míst

Tab. 1: Seznam odběrových míst

Název odběrného místa	Číslo	Kraj	Odvodnění	Eroze	CHKO	Ochranné pásmo	
						VN	VZ
Hostětín	01	Zlínský	ano	NEO	ano	ano	ne
Dolní Ves	02	Zlínský	ano	MEO	ne	ano	ne
Nedachlebice	03	Zlínský	ano	SEO	ne	ne	ne
Kunovice u Uherského Hradiště	04	Zlínský	ne	NEO	ne	ne	ne
Staré Lublice	05	Moravskoslezský	ano	SEO	ne	ne	ne
Jeseník nad Odrou	06	Moravskoslezský	ano	NEO	ano	ne	ne
Žilina u Nového Jičína	07	Moravskoslezský	ano	MEO	ne	ne	ne
Krnov-Horní Předměstí	08	Moravskoslezský	ne	NEO	ne	ne	ano
Mladeč	09	Olomoucký	ne	NEO	ano	ne	ano
Nový Malín	10	Olomoucký	ne	MEO	ano	ne	ne
Věřovany	11	Olomoucký	ne	NEO	ne	ne	ano
Klentnice	12	Jihomoravský	ne	MEO	ano	ne	ano
Rohatec	13	Jihomoravský	ano	NEO	ne	ne	ano
Míchov u Boskovic	14a	Jihomoravský	ne	NEO	ne	ne	ne
Ostrov u Macochy	14b	Jihomoravský	ne	-	ano	ne	ne
Bohaté Málkovice	15	Jihomoravský	ano	NEO	ne	ne	ne
Vídeň	16	Vysočina	ne	NEO	ne	ano	ne
Český Herálec	17	Vysočina	ne	NEO	ano	ne	ne
Starý Pelhřimov	18	Vysočina	ano	NEO	ne	ano	ne
Příseka	19	Vysočina	ne	MEO	ne	ne	ano
Lomnice nad Lužnicí	20	Jihočeský	ano	NEO	ano	ne	ne
Svatý Jan nad Malší	21	Jihočeský	ano	MEO	ne	ano	ne
Dražič	22	Jihočeský	ne	NEO	ne	ne	ne
Náchod u Tábora	23	Jihočeský	ano	MEO	ne	ne	ano
Hvozdňany u Poběžovic	24	Plzeňský	ano	MEO	ano	ne	ano
Křimice	25	Plzeňský	ne	NEO	ne	ne	ne
Borovy	26	Plzeňský	ano	NEO	ne	ne	ano
Radobyčice	27	Plzeňský	ne	NEO	ne	ne	ano
Háje u Karlových Var	28	Karlovarský	ano	NEO	ano	ano	ne
Markvarec u Krajkové	29	Karlovarský	ne	MEO	ne	ano	ne
Krásné Údolí	30	Karlovarský	ano	MEO	ne	ne	ne
Tetčiněves	31	Ústecký	ne	MEO	ne	ne	ano
Chotiměř	32	Ústecký	ne	MEO	ano	ne	ano
Žatec	33	Ústecký	ne	NEO	ne	ne	ne
Dubá	34	Liberecký	ne	MEO	ano	ne	ne
Hrubý Lesnov	35	Liberecký	ano	MEO	ne	ne	ano
Velká Ledhuje	36	Královéhradecký	ano	SEO	ano	ne	ano
Jaroměř	37	Královéhradecký	ano	MEO	ne	ne	ano
Hlásná Lhota u Jičína	38	Královéhradecký	ano	MEO	ne	ne	ne
Křižanovice	39	Pardubický	ano	MEO	ano	ne	ne
Banín	40	Pardubický	ne	SEO	ne	ne	ano
Choltice	41	Pardubický	ano	NEO	ne	ne	ano
Újezd u Sezemic	42	Pardubický	ano	NEO	ne	ne	ne
Bernartice u Dolních Kralovic	43	Středočeský	ne	MEO	ne	ano	ne
Kutná Hora	44	Středočeský	ano	NEO	ne	ne	ne
Tetín u Berouna	45	Středočeský	ne	MEO	ano	ne	ne

MEO: mírně erozně ohrožená půda, NEO: erozně neohrožená půda, SEO: silně erozně ohrožená půda, VN: vodní nádrž, VZ: vodní zdroj

Výsledky monitoringu jsou shrnuty v Tab. 2 a na Obr. 2 a Obr. 3. Sumární koncentrace byla vypočtena jako součet všech kvantitativně zjištěných účinných pesticidních látek a jejich metabolitů, relevantních i nerelevantních, a pro každý vzorek porovnána s legislativními limity – dříve platným limitem pro půdu 0,1 mg/kg sušiny (ČR 1994), neboť současná EU a ČR legislativa výskyt pesticidů v půdách neupravuje, a navrhaným limitem pro povrchovou vodu 0,5 µg/l (EU 2022), do něhož byly pro přehlednost započítány i nerelevantní metabolity.

Půda

Pesticidy byly zjištěny ve všech vzorcích půdy. Jejich sumární koncentrace se pohybovala v rozsahu 0,011-0,733 mg/kg sušiny, přičemž průměrná sumární koncentrace byla 0,234 mg/kg sušiny. Dříve platný legislativní limit 0,1 mg/kg sušiny (ČR 1994) byl překročen ve 25 vzorcích ze 45, tedy v 56 % případů. Sledováno bylo celkem 308 analytů, z toho nad LOR (limit of reporting) bylo zjištěno 50.

Povrchová voda

Pesticidy byly zjištěny ve 43 vzorcích povrchové vody z 45 odebraných, a to v sumární koncentraci 0,013 µg/l až 14,1 µg/l. Průměrná sumární koncentrace byla 1,4 µg/l. Navrhovaný limit 0,5 µg/l (EU 2022) byl překročen ve 24 vzorcích, tedy v 53 % případů. Sledováno bylo celkem 352 analytů, z toho nad LOR bylo zjištěno 61.

Tab. 2a: Pesticidy v zemědělské půdě (S: mg/kg sušiny) a okolní povrchové vodě (W: µg/l) ČR

Pesticidy Účinné látky a metabolity	01		02		03		04		05		06	
	S	W	S	W	S	W	S	W	S	W	S	W
Amidové			0,021		0,042	0,012						
Azolové		0,032	0,028	0,025		0,333		0,064	0,292			0,025
Fenoxy		0,189						0,037				
Glyfosátové		0,816	0,065		0,029	1,021		0,849	0,024		0,048	0,148
Chloracetanilidové				0,320	0,007	0,171		0,030	0,012	0,681	0,006	0,176
Chloridazonové				0,060		0,094	0,013	0,142				0,037
Karbamátové												
Močovinnové												
Nikotinové												
Organochlorové	0,025											
Ostatní	0,012			0,047	0,012	0,060	0,018		0,126	0,016		
Pyrethroidy												0,008
Triazinové		0,011		0,033		0,053		0,017		0,064	0,020	0,025
Sumární koncentrace	0,037	1,048	0,114	0,485	0,090	1,744	0,031	1,139	0,454	0,761	0,082	0,411
Pesticidy Účinné látky a metabolity	07		09		10		11		12		13	
	S	W	S	W	S	W	S	W	S	W	S	W
Amidové			0,102						0,030			
Azolové	0,026		0,014	0,036	0,046	0,021	0,064	0,050		0,025		
Fenoxy				0,019				0,016		0,033		
Glyfosátové	0,462		0,032	0,285	0,454			0,596	0,033	0,974	0,041	
Chloracetanilidové		0,586		0,012	0,006	0,091				0,053		
Chloridazonové		0,054		0,116				0,168				
Karbamátové												
Močovinnové			0,022				0,071					
Nikotinové												0,013
Organochlorové												
Ostatní	0,014		0,190		0,012		0,053			0,025		
Pyrethroidy			0,001									
Triazinové						0,065				0,176	0,010	
Sumární koncentrace	0,502	0,640	0,361	0,468	0,518	0,177	0,188	0,830	0,063	1,286	0,051	0,013
Pesticidy Účinné látky a metabolity	14a		14b		15		16		17		18	
	S	W	S	W	S	W	S	W	S	W	S	W
Amidové						0,043		0,038	0,031			0,063
Azolové	0,019	0,064		0,902		0,353		0,046				
Fenoxy		0,022		0,095						0,046		
Glyfosátové		1,024			0,012	1,148	0,011		0,094		0,127	0,053
Chloracetanilidové		0,074				0,027		0,585	0,024	0,454		2,426
Chloridazonové		1,305			0,018	0,628						
Karbamátové				0,018								
Močovinnové		0,035										
Nikotinové				0,060								
Organochlorové												
Ostatní						1,678			0,031			
Pyrethroidy												
Triazinové		0,041	0,012	0,049		0,010		0,025		0,045	0,011	0,210
Sumární koncentrace	0,019	2,565	0,012	1,124	0,030	3,962	0,011	0,694	0,180	0,545	0,138	2,752

Červeně jsou vyznačeny hodnoty sumární koncentrace, které překročily dříve platný legislativní limit pro půdu (ČR 1994) a navrhovaný legislativní limit pro povrchovou vodu (EU 2022), upravený pro potřeby této zprávy.

Tab. 2b: Pesticidy v zemědělské půdě (S: mg/kg sušiny) a okolní povrchové vodě (W: µg/l) ČR

Pesticidy Účinné látky a metabolity	19		20		21		22		23		24	
	S	W	S	W	S	W	S	W	S	W	S	W
Amidové			0,031	0,080		0,036			0,032			
Azolové			0,078	0,030		0,242		0,077				
Fenoxy						0,038		0,030				
Glyfosátové	0,020		0,464	0,461	0,017	0,116	0,035	0,052	0,328	0,276	0,078	
Chloracetanilidové		0,353		0,898		1,913	0,202	12,59		0,868		0,439
Chloridazonové				0,062		0,033		0,106		0,032		0,041
Karbamátové						0,010						
Močovinnové				0,048		0,125		0,346				
Nikotinové												
Organochlorové												
Ostatní			0,035	0,010		0,030	0,021	0,668	0,233			
Pyrethroidy					0,007							
Triazinové		0,069	0,091	0,193	0,011	0,896		0,224	0,014	0,050		
Sumární koncentrace	0,020	0,422	0,699	1,782	0,035	3,439	0,258	14,09	0,607	1,226	0,078	0,480
Pesticidy Účinné látky a metabolity	25		26		27		28		29		30	
	S	W	S	W	S	W	S	W	S	W	S	W
Amidové			0,028									
Azolové	0,035	0,021	0,150	0,040	0,014	0,037			0,011			
Fenoxy	0,014							0,050				
Glyfosátové	0,013	0,081	0,154	0,322	0,141	0,362			0,380		0,088	
Chloracetanilidové	0,034											
Chloridazonové												
Karbamátové	0,015											
Močovinnové	0,177				0,012							
Nikotinové	0,026											
Organochlorové												
Ostatní	0,094	0,016	0,034		0,019				0,173			
Pyrethroidy	0,001										0,001	
Triazinové	0,012	0,013	0,010		0,042	0,021	0,097		0,124		0,010	0,014
Sumární koncentrace	0,421	0,131	0,376	0,362	0,228	0,420	0,097	0,050	0,688		0,099	0,014
Pesticidy Účinné látky a metabolity	31		32		33		34		35		36	
	S	W	S	W	S	W	S	W	S	W	S	W
Amidové					0,338				0,035			0,219
Azolové						0,057	0,029		0,050			
Fenoxy												0,043
Glyfosátové	0,044		0,020		0,020	0,628			0,447		0,333	
Chloracetanilidové								0,043				
Chloridazonové								0,286				
Karbamátové												0,022
Močovinnové			0,012									
Nikotinové				0,020	0,010	0,027						0,013
Organochlorové												
Ostatní				0,794	0,095				0,023		0,023	
Pyrethroidy			0,004									
Triazinové			0,010	0,115	0,044			0,112		0,039		0,010
Sumární koncentrace	0,044		0,046	0,929	0,507	0,712	0,029	0,441	0,555	0,039	0,356	0,307

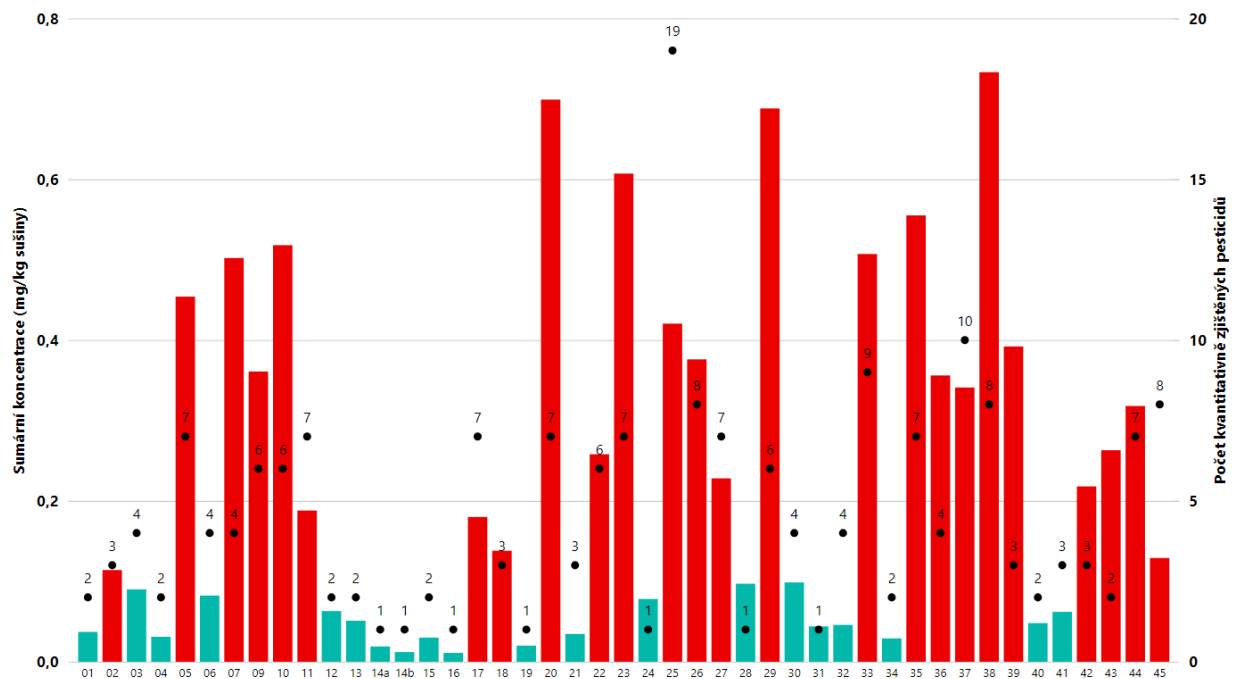
Červeně jsou vyznačeny hodnoty sumární koncentrace, které překročily dříve platný legislativní limit pro půdu (ČR 1994) a navrhovaný legislativní limit pro povrchovou vodu (EU 2022), upravený pro potřeby této zprávy.

Tab. 2c: Pesticidy v zemědělské půdě (S: mg/kg sušiny) a okolní povrchové vodě (W: µg/l) ČR

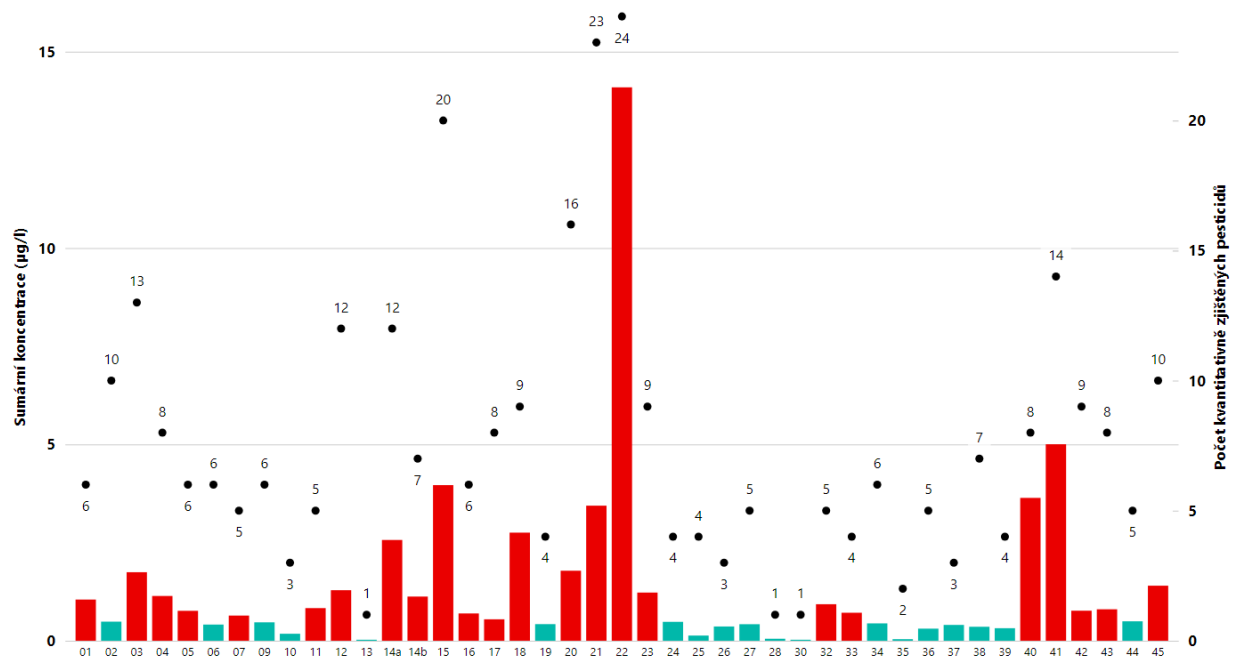
Pesticidy Účinné látky a metabolity	37		38		39		40		41		42	
	S	W	S	W	S	W	S	W	S	W	S	W
Amidové	0,010			0,054			0,021					
Azolové	0,085	0,022				0,023		0,072	0,012	0,169		
Fenoxy				0,032		0,040				0,011		0,044
Glyfosátové	0,020	0,380	0,111		0,380		0,027	0,661		4,345	0,185	0,129
Chloracetanilidové	0,031			0,175		0,255		0,146		0,059		0,256
Chloridazonové	0,025			0,059				2,748	0,050	0,270		
Karbamátové												
Močovinnové												0,015
Nikotinové								0,010		0,060		
Organochlorové												
Ostatní	0,170		0,601								0,033	
Pyrethroidy			0,021									
Triazinové				0,035	0,012					0,089		0,320
Sumární koncentrace	0,341	0,402	0,733	0,355	0,392	0,318	0,048	3,637	0,062	5,003	0,218	0,764

Pesticidy Účinné látky a metabolity	43		44		45	
	S	W	S	W	S	W
Amidové		0,015	0,013	0,080	0,035	
Azolové		0,015	0,035	0,012	0,038	0,053
Fenoxy						
Glyfosátové	0,263		0,081	0,319		0,982
Chloracetanilidové		0,756			0,008	0,280
Chloridazonové			0,155	0,083	0,014	
Karbamátové						
Močovinnové						
Nikotinové						
Organochlorové						
Ostatní			0,034		0,031	0,014
Pyrethroidy					0,003	
Triazinové		0,014				0,072
Sumární koncentrace	0,263	0,800	0,318	0,494	0,129	1,401

Červeně jsou vyznačeny hodnoty sumární koncentrace, které překročily dříve platný legislativní limit pro půdu (ČR 1994) a navrhovaný legislativní limit pro povrchovou vodu (EU 2022), upravený pro potřeby této zprávy.



Obr. 2: Sumární koncentrace účinných pesticidních látek a jejich metabolitů v zemědělských půdách České republiky. Červeně jsou vyznačeny vzorky, které nevyhověly dříve platnému legislativnímu limitu (ČR 1994).



Obr. 3: Sumární koncentrace účinných pesticidních látek a jejich metabolitů v povrchových vodách České republiky. Červeně jsou vyznačeny vzorky, které nevyhověly navrhovanému legislativnímu limitu (EU 2022), upravenému pro potřeby této zprávy.

V půdě byly nejvíce zastoupeny pesticidy glyfosátové > ostatní > azolové. Nejčastěji kvantitativně zjištěným pesticidem byla AMPA, metabolit herbicidu glyfosát, která byla nalezena ve 35 vzorcích. V povrchové vodě byly nejvíce zastoupeny pesticidy chloracetanilidové > glyfosátové > chloridazonové > ostatní > triazinové > azolové. Nejčastěji kvantitativně zjištěným pesticidem byl 1,2,4-triazol, relevantní metabolit azolových pesticidů, který byl zjištěn ve 26 vzorcích. Zastoupení skupin je shrnuto v Tab. 3, nejčastěji zjištěné pesticidy v Tab. 4 a všechny kvantitativně zjištěné pesticidy v Tab. 5.

Tab. 3: Zastoupení jednotlivých skupin pesticidů ve 45 vzorcích zemědělské půdy a povrchové vody České republiky

Pesticidy Účinné látky a jejich metabolity	Sumární koncentrace		Počet pozitivních nálezů	
	Půda mg/kg sušiny	Povrch. voda µg/l	Půda	Povrchová voda
Amidové	0,769	0,640	17	11
Azolové	1,026	2,846	32	34
Fenoxy	0,014	0,745	1	18
Glyfosátové	5,081	16,028	53	41
Chloracetanilidové	0,330	24,716	16	79
Chloridazonové	0,275	6,324	8	23
Karbamátové	0,015	0,050	1	3
Močovinnové	0,294	0,614	7	9
Nikotinové	0,036	0,233	3	9
Organochlorové	0,025		1	
Ostatní	2,087	3,358	42	22
Pyrethroidy	0,046		8	
Triazinové	0,530	3,110	18	78

Tab. 4: Nejčastěji (10 a více pozitivních nálezů) kvantitativně zjištěné pesticidy ve 45 vzorcích zemědělské půdy a povrchové vody České republiky

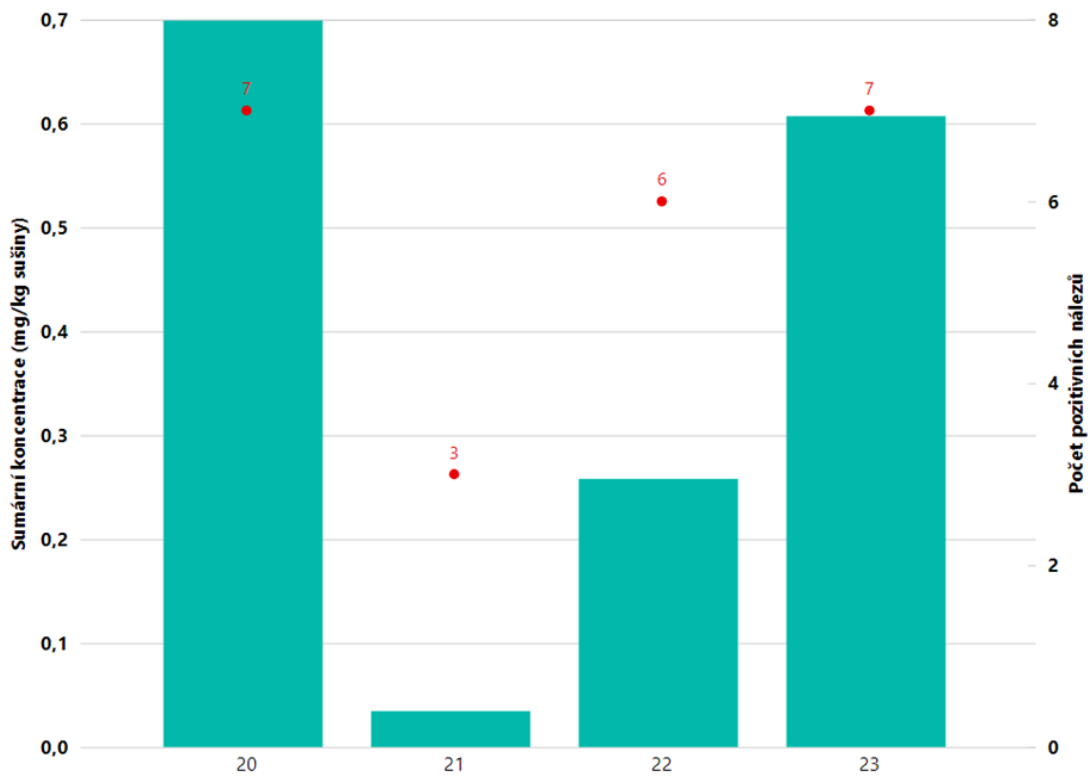
Půda			Povrchová voda		
Pesticid	Skupiny	Počet nálezů	Pesticid	Skupina	Počet nálezů
AMPA	glyfosátové	35	1,2,4-Triazole	azolové	26
Glyphosate	glyfosátové	18	AMPA	glyfosátové	24
Fenpropidin	ostatní	12	Atrazine-2-hydroxy	triazinové	22
Tebuconazole	azolové	11	Metazachlor ESA	chloracetanilidové	22
Terbutylazine-hydroxy	triazinové	10	Terbutylazine-hydroxy	triazinové	21
			Chloridazon-desphenyl	chloridazonové	19
			Glyphosate	glyfosátové	17
			Metazachlor OA	chloracetanilidové	16
			Terbutylazine-desethyl	triazinové	11
			Alachlor ESA	chloracetanilidové	10

Tab. 5: Všechny kvantitativně zjištěné pesticidy ve 45 vzorcích zemědělské půdy a povrchové vody České republiky

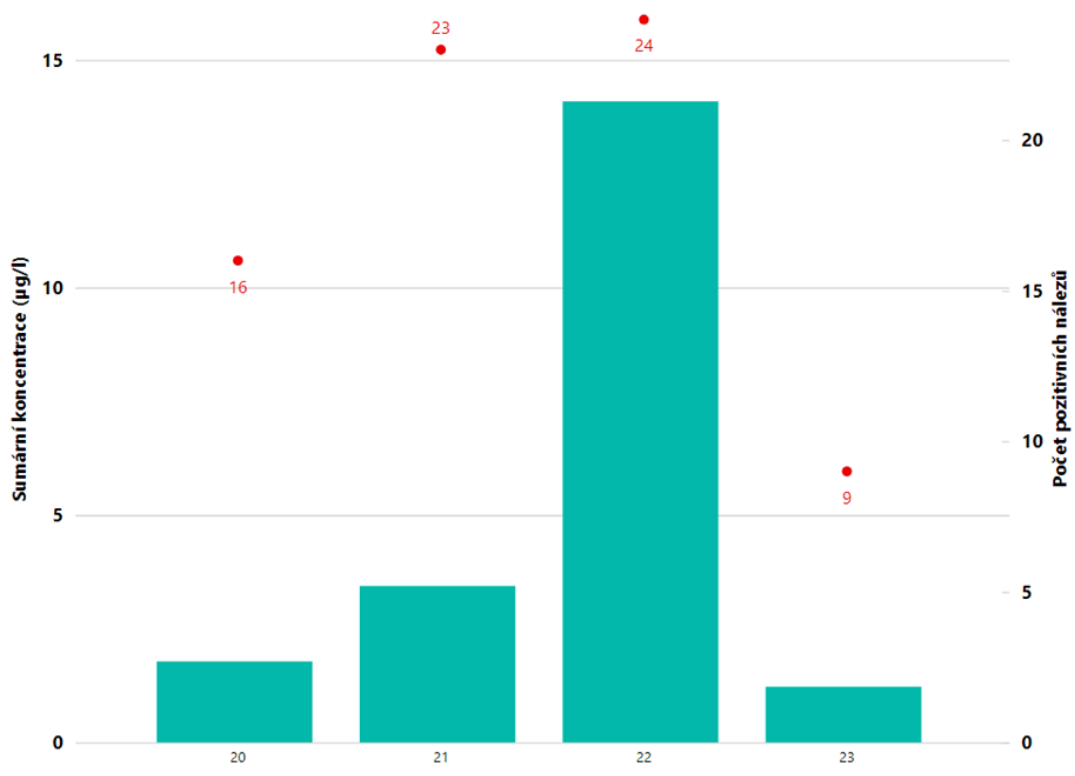
Amidové	BAM, boscalid, diflufenican, dimethenamid, flufenacet ESA, mandipropamid, metalaxyl, naptalam, pethoxamid ESA, prochloraz
Azolové	1,2,4-triazole, difenoconazole, epoxiconazole, fludioxonil, metconazole, sedaxane, tebuconazole
Fenoxy	2,4-DP (isomers), fluazifop, MCPA, MCPP (isomers), quizalofop
Glyfosátové	AMPA, glyphosate
Chloracetanilidové	acetochlor ESA, alachlor, alachlor ESA, dimetachlor CGA 369873, dimethachlor ESA, metazachlor, metazachlor ESA, metazachlor OA, metolachlor (isomers), metolachlor CGA 368208, metolachlor ESA, metolachlor NOA 413173, metolachlor OA
Chloridazonové	chloridazon-desphenyl, chloridazon-methyl desphenyl
Karbamátové	carbendazim, pirimicarb, propoxur
Močovinnové	foramsulfuron, chlorotoluron, chlorotoluron-desmethyl, methabenzthiazuron, nicosulfuron, thifensulfuron-methyl
Nikotinové	acetamiprid, imidacloprid, thiacloprid, thiamethoxam
Organochlorové	clofentezine
Ostatní	azoxystrobin, azoxystrobin-o-demethyl, bentazone, bentazone methyl, clopyralid, dimethomorph, dimoxystrobin, ethofumesate, fenpropidin, fluopicolide, fluopyram, fluroxypyr, imazamox, mesotrione, pendimethalin, picloram, pyraclostrobin, pyriproxifen, quinmerac, spiroxamine
Pyrethroidy	cypermethrin (isomers), deltamethrin (isomers)
Triazinové	atrazine, atrazine-2-hydroxy, atrazine-desethyl, metribuzin-desamino diketo, sebumeton, simazine-2-hydroxy, terbuthylazine, terbuthylazine-desethyl, terbuthylazine-desethyl-2-hydroxy, terbuthylazine-hydroxy, terbutryn

Z krajů dopadl nejhůře Jihočeský, ve kterém byla zvolena 4 odběrová místa. V půdě byla průměrná koncentrace pesticidů v rámci krajů druhá nejvyšší, v povrchové vodě nejvyšší. Výsledky pro Jihočeský kraj jsou graficky zpracovány na Obr. 4-6. Totožným způsobem byly zpracovány výsledky pro všechny kraje, což bude následně využito při tvorbě výstupu specializovaná mapa s odborným obsahem.

Jihočeský kraj: půda

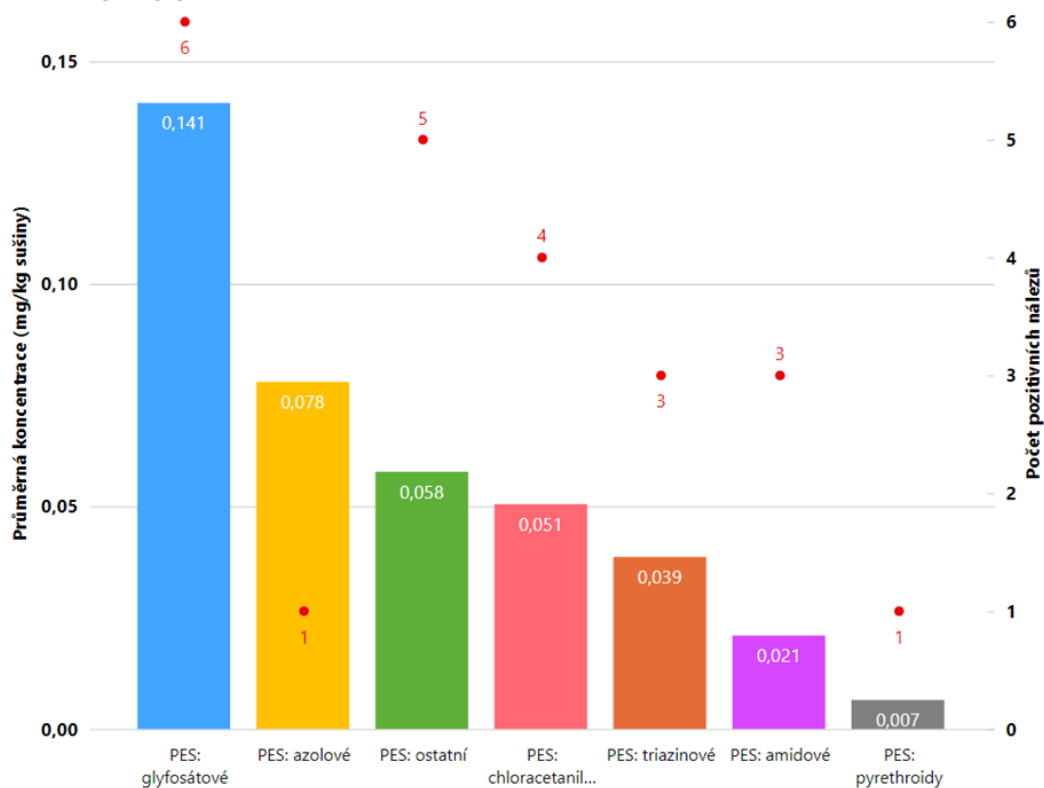


Jihočeský kraj: voda

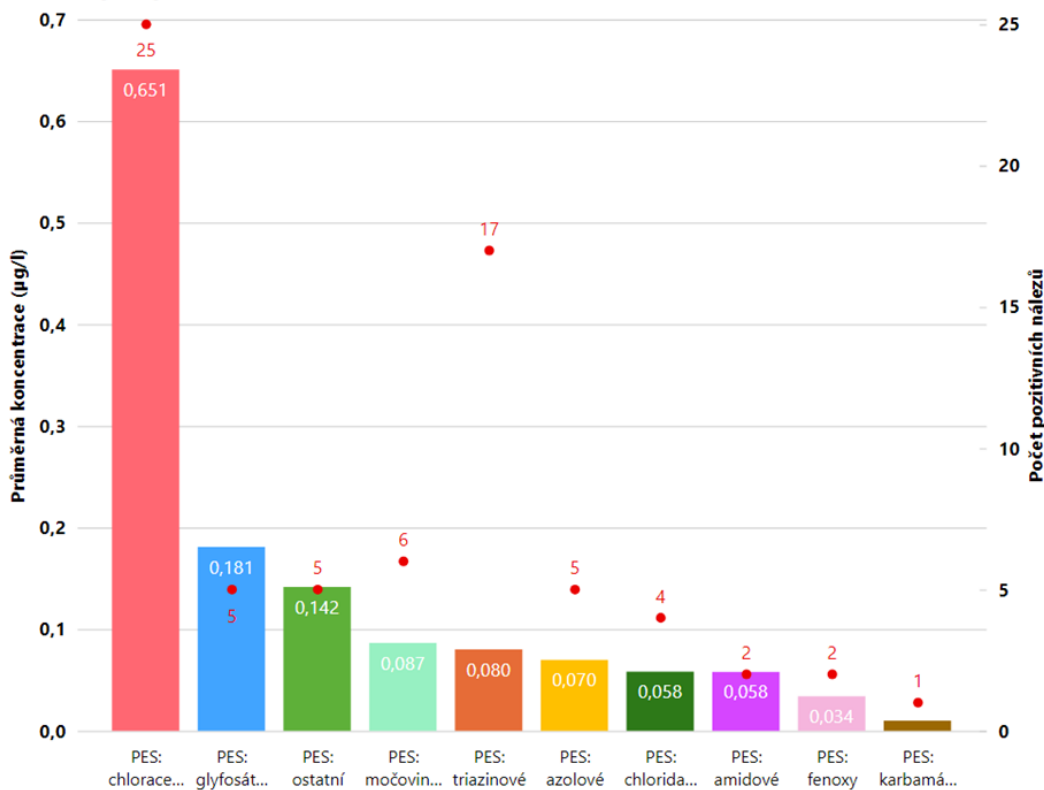


Obr. 4: Sumární koncentrace pesticidů v Jihočeském kraji

Jihočeský kraj: půda



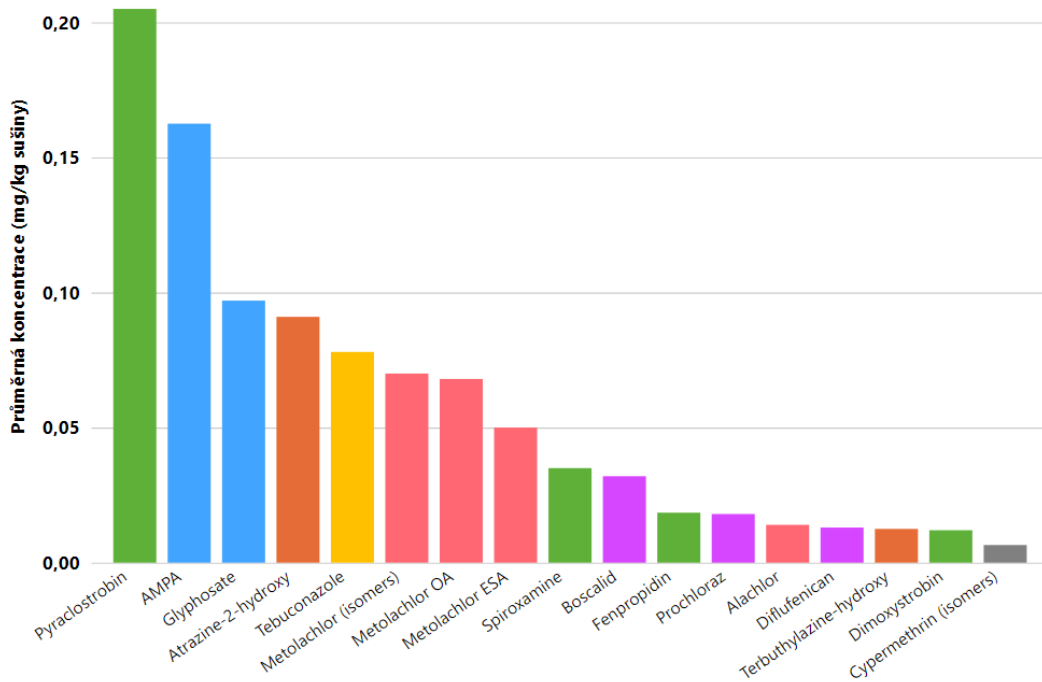
Jihočeský kraj: voda



Obr. 5: Zastoupení skupin pesticidů v Jihočeském kraji

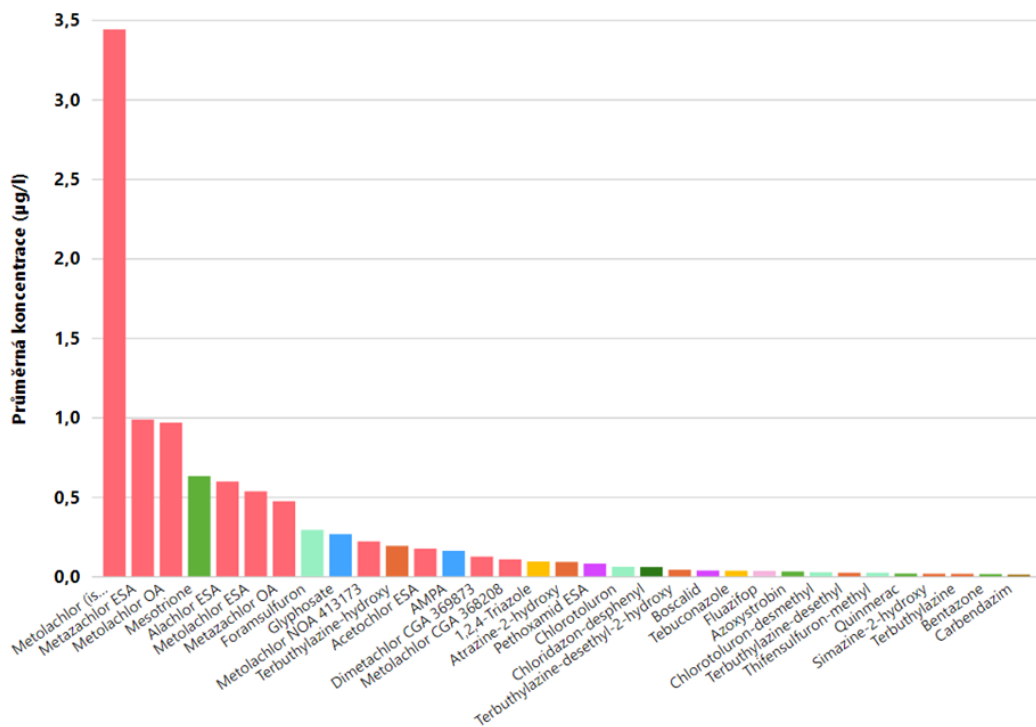
Jihočeský kraj: půda

● PES: amidové ● PES: azolové ● PES: chloracetanilidové ● PES: glyfosátové ● PES: ostatní ● PES: pyrethroidy ● PES: triazinové



Jihočeský kraj: voda

● PES: amidové ● PES: azolové ● PES: chloracet... ● PES: chlorid... ● PES: fenoxi ● PES: glyfosát... ● PES: karba... ● PES: močovi... ● PES: ostatní ● PES: triazinové



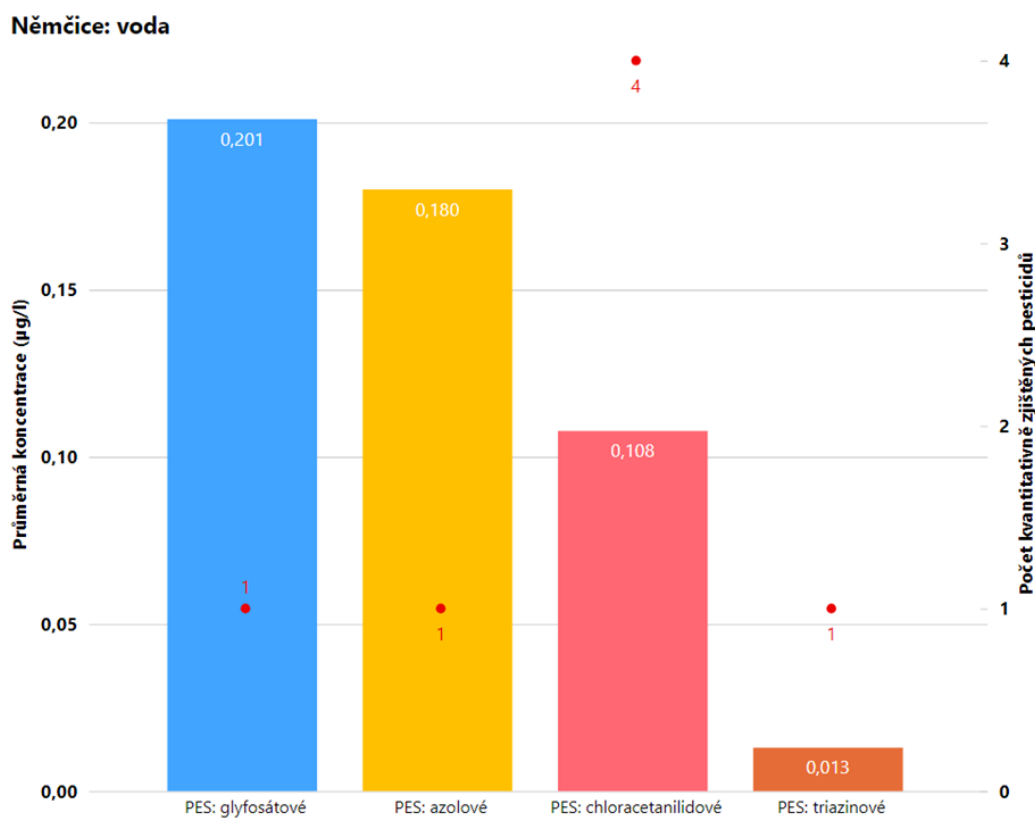
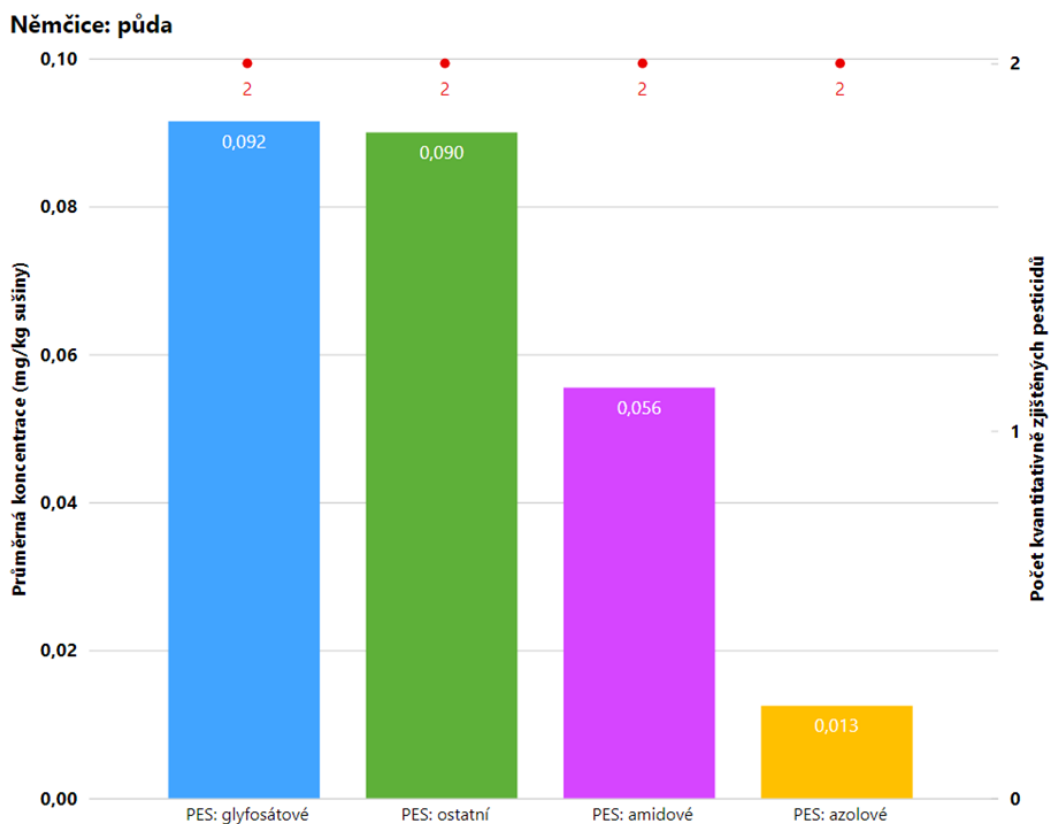
Obr. 6: Jednotlivé účinné pesticidní látky a jejich metabolity v Jihočeském kraji

1.3 Testovací lokalita Němčice

Před výstavbou poloprovozního zařízení byl na testovací lokalitě v Němčicích proveden screening pesticidů (Obr. 7 a 8). V půdě bylo zjištěno celkem 8 pesticidních látek v sumární koncentraci 0,455 mg/kg sušiny, v povrchové vodě celkem 7 pesticidních látek v sumární koncentraci 0,825 µg/l. V obou případech došlo k překročení výše popsaných legislativních limitů. Zastoupení pesticidů je uvedeno v Tab. 6.

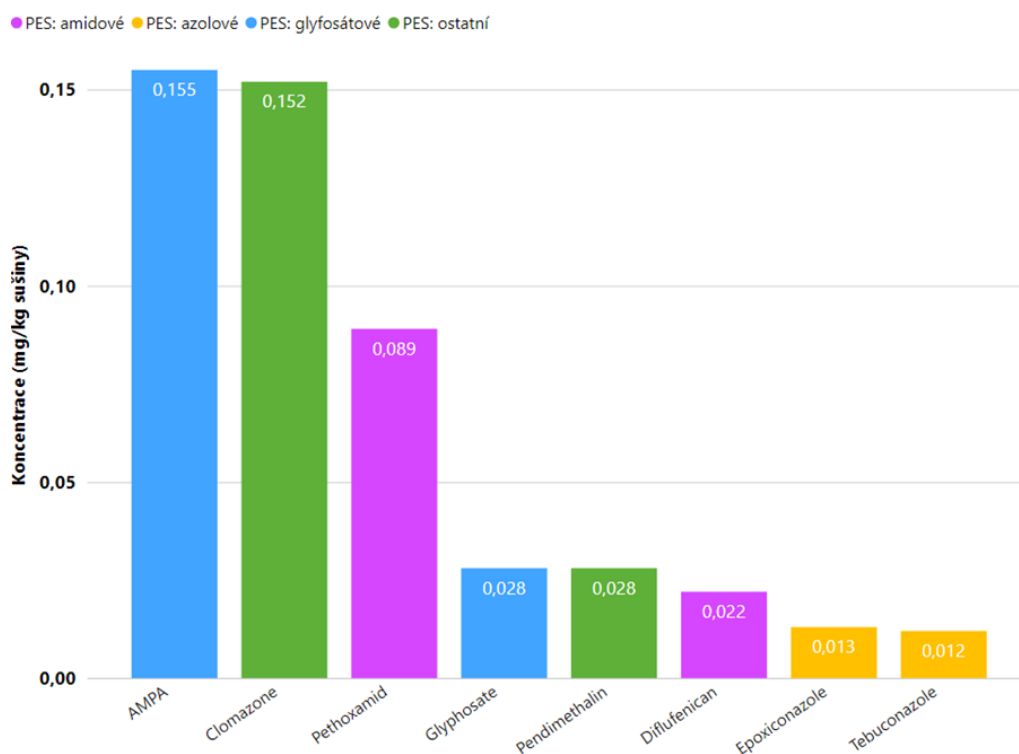
Tab. 6: Zastoupení jednotlivých skupin pesticidů na testovací lokalitě Němčice

Pesticidy Účinné látky a jejich metabolity	Sumární koncentrace		Počet pozitivních nálezů	
	Půda mg/kg sušiny	Povrch. voda µg/l	Půda	Povrchová voda
Amidové	0,111		2	
Azolové	0,025	0,180	2	1
Fenoxy				
Glyfosátové	0,183	0,201	2	1
Chloracetanilidové		0,431		4
Chloridazonové				
Karbamátové				
Močovinnové				
Nikotinové				
Organochlorové				
Ostatní	0,180		2	
Pyrethroidy				
Triazinové		0,013		1

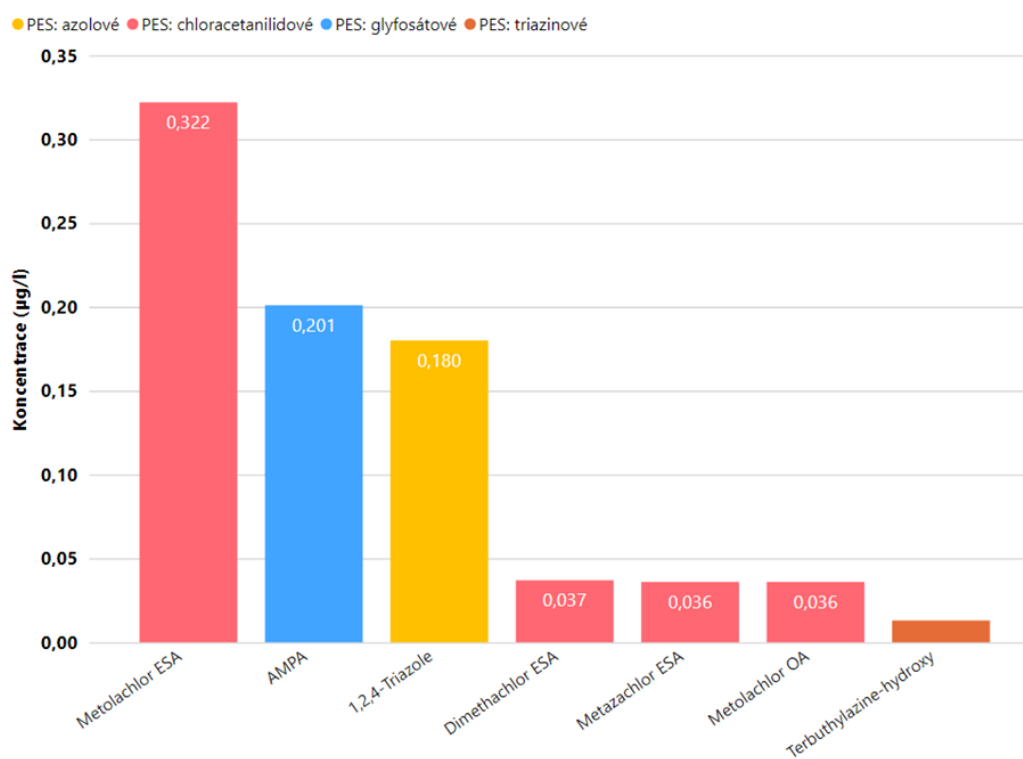


Obr. 7: Zastoupení skupin pesticidů na testovací lokalitě Němčice

Němčice: půda



Němčice: voda

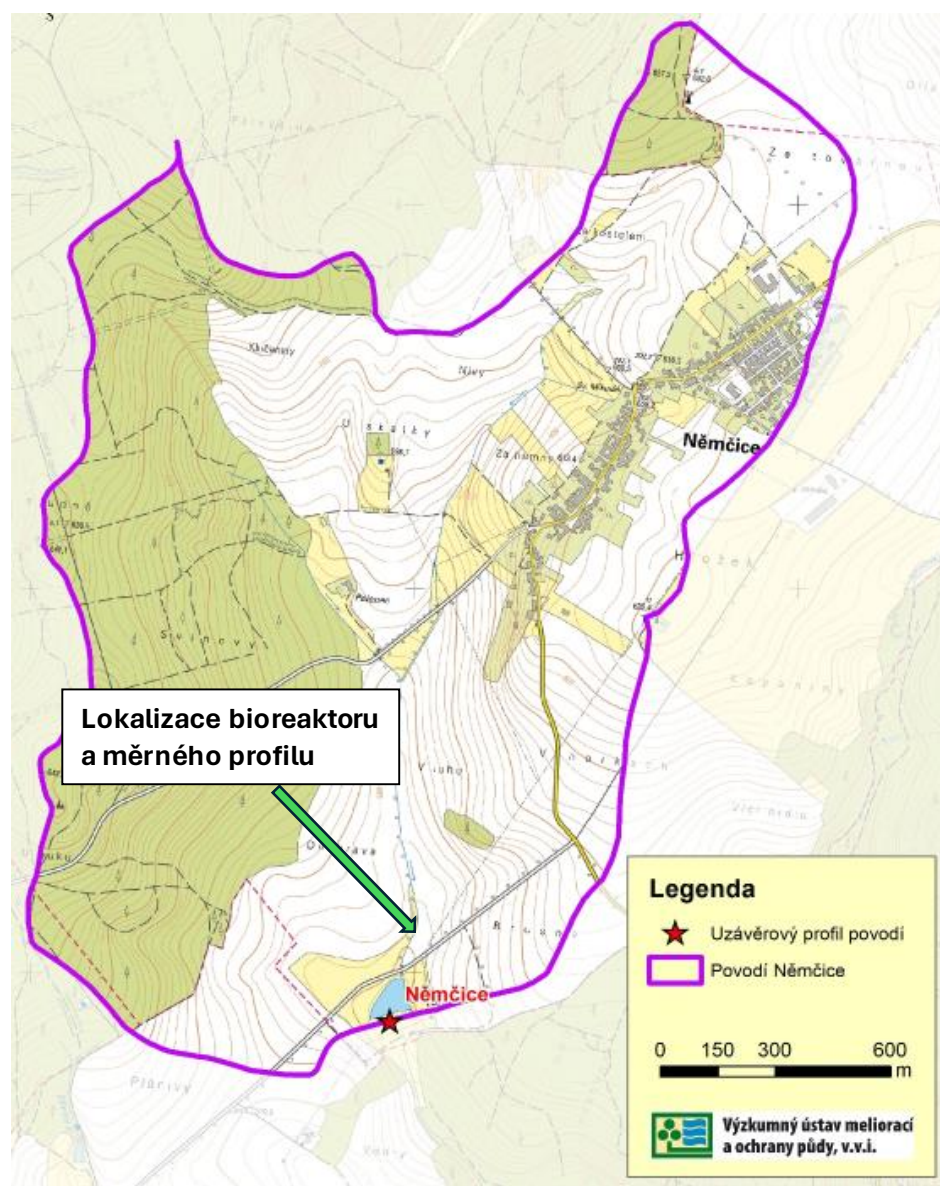


Obr. 8: Jednotlivé účinné pesticidní látky a jejich metabolity na testovací lokalitě Němčice

2 VÝZKUMNÝ ÚSTAV MELIORACÍ A OCHRANY PŮDY

2.1 Návrh, výstavba a realizace kombinovaného bioreaktoru

Projekt experimentálního kombinovaného bioreaktoru je řešen v experimentálním povodí VÚMOPu na rozhraní obcí Němčice a Žďár (okr. Blansko). Toto povodí je kontinuálně sledováno od roku 2005 a je jednou z modelových lokalit, kde VÚMOP, v.v.i. dlouhodobě provádí výzkumné aktivity. Povodí má rozlohu 347 ha (po uzávěrový profil protipovodňové nádrže – poldru). Zornění povodí dosahuje cca 50 %, jedná se o intenzivně zemědělsky využívané území, z části odvodněné drenáží. Drenážní soustavy jsou zaústěny do bezejmenné vodoteče protékající skrz povodí a ústící do uzávěrového profilu. Právě na této vodoteči je vybudováno měrné zařízení VÚMOP a kombinovaný bioreaktor.



Obr. 9: Přehledka zájmového povodí včetně polohy měrného profilu a bioreaktoru



Obr. 00: Pohled na zájmové povodí Němčice



Obr. 01: Ukázka z extrémní srážkoodtokové události dne 13.9.2023, kdy vodním tokem po přívalové bouři teklo až 700 l/s.

Řešení projektu ze strany Výzkumného ústavu meliorací a ochrany půdy, v.v.i. se v roce 2023 neslo v duchu návrhu, realizace, zprovoznění experimentálního kombinovaného bioreaktoru v lokalitě Němčice.

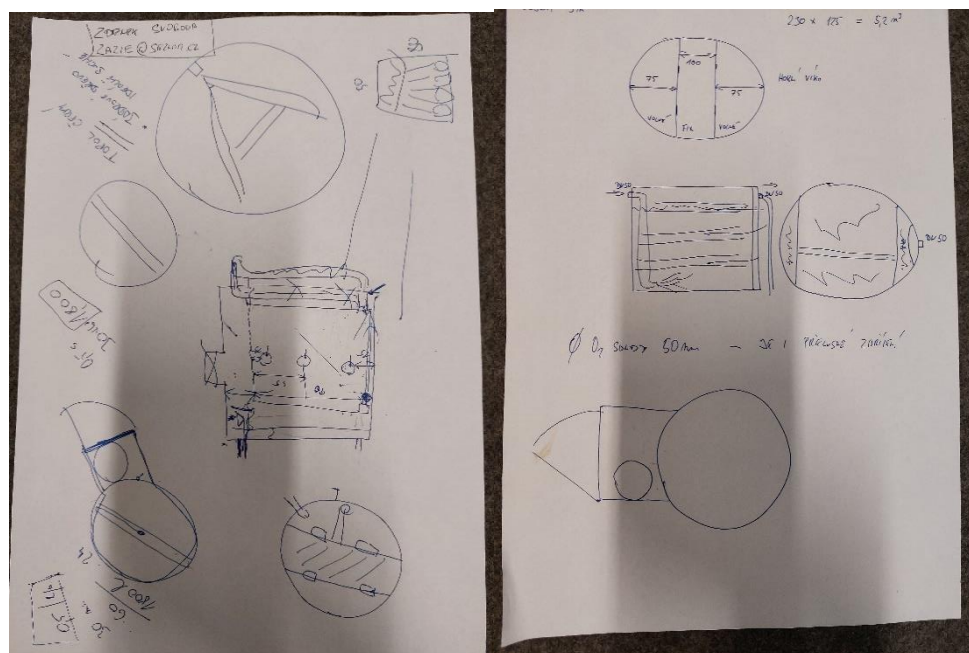
Činnosti lze rozdělit na několik základních fází:

1. Návrh konstrukce kombinovaného bioreaktoru.
2. Realizace výroby kombinovaného bioreaktoru.
3. Příprava lokality Němčice k instalaci kombinovaného bioreaktoru.
4. Instalace kombinovaného bioreaktoru.

5. Úpravy vnitřní konstrukce a instalace měřící techniky.
6. Naplnění kombinovaného bioreaktoru štěpkou z topolu.
7. Zahájení testovacího provozu kombinovaného bioreaktoru.
8. Zahájení plného funkčního provozu kombinovaného bioreaktoru.
9. Instalace vodoměru na přívodní potrubí.
10. Odběry vzorků vody.
11. Zajištění dálkového dohledového systému (kamery).

Návrh konstrukce kombinovaného bioreaktoru

Konstrukce kombinovaného bioreaktoru byla rámcově navržena již v době podání návrhu projektu. Základem konstrukce je válcová nádrž o objemu cca 5 m³. Nádrž má ve vnitřní bocích 2 oddělené komory (bez štěpky), které slouží pro přívod vody, odvod vody, instalaci měřící techniky. Nádrž je dále vybavena vnitřními rozvody vody, vnitřní instalací postupů pro odběr vzorků vody z hloubek 30, 60, 90 cm, vnitřní instalací senzorů pro sledování jakosti vody v hloubkách 30, 60, 90 cm. Součástí nádrže je i venkovní uzamykatelný box, kde jsou umístěny kohouty pro odběr vzorků vody z různých hloubek nádrže, výpustný kohout, box pro elektroinstalaci měřící techniky, aj. Nádrž má odnímatelné víko. Tato nádrž je naplněna dřevní štěpkou a osazena měřící technikou pro sledování kvalitativních parametrů vody v nádrži.



Obr. 02: Pracovní náčrty a skici při vývoji podoby bioreaktoru

Na základě těchto požadavků bylo osloveno několik výrobců plastových nádrží, z nichž byl nakonec vybrán dodavatel, který byl schopen garantovat požadované parametry a termín realizace nádrže.

Vzhledem k tomu, že se jedná o prototyp nádrže, její vývoj probíhal i v průběhu samotné realizace. Proto podrobná technická dokumentace bude zpracována až v dalším průběhu řešení projektu.

Realizace výroby kombinovaného bioreaktoru

Při samotné realizaci bylo nutné vyřešit celou řadu technických záležitostí. Základem bioreaktoru (nádrže) je polypropylenová plastová nádoba. Ta je vyrobena na zakázku (na míru), jako atypická válcová nádrž z materiálu (polypropylen) o nadstandardní tloušťce 10 mm. Tato síla materiálu byla zvolena z důvodu vyšší odolnosti samotné nádrže. Proto byly průběžně s výrobcem nádrže pořádány kontrolní dny a konzultována realizace nádrže a požadované úpravy. Realizace nádrže proběhla v termínu červen-srpen 2023.



Obr. 03: Realizace nádrže bioreaktoru externím dodavatelem

Příprava lokality k umístění kombinovaného bioreaktoru

Současně s výrobou skeletu kombinovaného bioreaktoru probíhaly přípravné práce v lokalitě Němčice. V první fázi byla vybrána přesná lokalita umístění bioreaktoru. Lokalita se nachází v těsné blízkosti vodního toku pod experimentálním měrným zařízením VÚMOPu. Experimentální profil VÚMOPu na Němčickém potoce je vybaven Thompsonovým měrným přelivem, ultrazvukovou měřicí sondou, a datovou stanicí FIEDLER, která kontinuálně měří průtok vody v toku, teplotu, srážky. Dále je profil osazen automatickým vzorkovačem ISCO. Ten odebírá v závislosti na průtoku vzorky vody z toku při srážkoodtokových událostech (zvýšených průtocích).

Lokalita pro umístění kombinovaného bioreaktoru se nachází cca 30 m pod tímto měrným profilem VÚMOP. Místo pro usazení bioreaktoru bylo nutné nejprve připravit - vysekat náletové dřeviny a urovnat terén.



Obr. 14: Thomsonův měrný přeliv (vlevo) a poloha budoucího bioreaktoru (vpravo)

Z důvodu odlehlosti dané lokality bylo nutné vyřešit problémy se zásobováním bioreaktoru elektrickou energií. Ta není sama o sobě nutná pro jeho provoz - ten je navržen jako bezúdržbový. Elektrická energie je ovšem nezbytná pro měřicí zařízení, kterými je bioreaktor osazen (sondy teploty, pH, ORP, rozpuštěný kyslík, zařízení pro odběr vzorků ISCO, datová stanice FIEDLER, aj.). Pro tyto zařízení byl navržen k zásobování elektrickou energií solární panel.

Pro dodávky vody bylo zvoleno bezúdržbové řešení gravitační metodou. Vzhledem k absenci elektrické energie ze sítě a poměrně velké elektrické náročnosti čerpadel, která by mohla dodávat vodu z toku do bioreaktoru, byla zvolena jako nejvhodnější možnost kontinuálního zásobování vodou z vodního toku varianta gravitační. Tedy přivedení vody z vyšších partií vodního toku trubním vedením přímo do bioreaktoru. Geodeticky byla celá lokalita výškově zaměřena. Samotný bioreaktor je usazen cca 70 cm pod úrovní terénu. Dále proti proudu toku (cca 106 m od samotného bioreaktoru) je vybudována malá hrázka, která vzdouvá vodní hladinu toku o cca 60 cm nad stávající úroveň. Vzhledem k mírné svažitosti koryta vodního toku bylo nutné hrázku umístit do takto vzdálené oblasti. Z hrázky je vedeno plastové vodovodní potrubí o průměru 5/4 (palce) korytem toku přímo k bioreaktoru. Na jeho ústí je osazen škrťací ventil 5/4, který umožňuje regulovat množství průtoku vody do bioreaktoru.

Rovněž bylo nutné zajistit prostup přívodního potrubí přes stávající betonový objekt Thompsonova měrného přelivu. K tomu bylo využito externího dodavatele, který zajistil jádrové vrtání betonového objektu.



Obr. 15: Ukázka výstavby vzdouvací přehrážky v korytě toku



Obr. 16: Jádrové vrtání prostupu stávajícího měrného profilu pro vodovodní potrubí

Následovala úprava samotné plochy pro umístění bioreaktoru. Vzhledem k výškovým poměrům a omezení rizika promrzání byla nádrž bioreaktoru umístěna cca 70 cm pod stávajícím terénem. Výkop byl proveden bagrem dne 31.8.2023 a následně urovnán tak, aby bylo připraveno pevné lůžko pro usazení nádrže.



Obr. 17: Terénní práce při výkopu lokality pro budoucí usazení bioreaktoru dne 31.8.2023

Instalace nádrže kombinovaného bioreaktoru

Samotná nádrž bioreaktoru byla vyrobena v termínu do 31.8.2023. Její převezení na lokalitu a usazení proběhlo 6.9.2023.



Obr. 18: Prvotní usazení bioreaktoru dne 6.9.2023

Úprava vnitřní konstrukce bioreaktoru a instalace měřicí techniky

Následovaly dokončovací práce na samotném bioreaktoru. Tedy instalace přívodního a odpadního potrubí, dokončovací práce vnitřního uspořádání nádrže, osazení stožáru se solárním panelem, přívodního elektrického vedení, osazení stožáru a datové stanice FIEDLER, osazení měřicí technikou.

Skrz nádrž bioreaktoru vedou 3 prostupy v hloubkách 30 cm, 60 cm, 90 cm (ode dna). Každý tento vstup je osazen 1x sondou pro měření pH, teploty a ORP (oxidačně-redukční potenciál). Dále je na výstupu vody z nádrže osazen speciální snímač pro stanovení výstupního množství rozpuštěného kyslíku z nádrže.

Osazená měřicí technika:

- datová stanice FIEDLER (univerzální multikanálová měřicí a záznamová jednotka pro sběr dat a řízení navázané technologie - GSM/GPRS (Wi-Fi) Data Logger),
- 3 x sonda pH (PH485 sonda s výstupem RS485),
- 3x sonda ORP (ORP*485 - redox sondy s výstupem RS485),
- 1x sonda rozpuštěný kyslík (ESKO 12 - optický snímač rozpuštěného kyslíku ve vodě),
- 1x hydrostatický ponorný hladinoměr TSH22,
- 1x kontinuální vzorkovač ISCO 6712.



Obr. 19: Práce na konstrukci bioreaktoru (vlevo přívodní potrubí vody včetně škrťacího ventilu, vpravo úpravy vnitřních prvků bioreaktoru)



Obr. 20: Ukázka konstrukce bioreaktoru včetně okolních zařízení (datová stanice FIEDLER, vzorkovač ISCO, ...)



Obr. 21: Testovací naplnění bioreaktoru vodou (vlevo), vnitřní uspořádání vzorkovače ISCO (uprostřed), přívodní potrubí vody do bioreaktoru (vpravo)

Plnění bioreaktoru štěpkou

K naplnění bioreaktoru dřevní štěpkou byla zvolena na základě předchozích zkušeností a výzkumných aktivit VUT dřevní štěpka z topolu. Otázkou bylo, zda využít dřevní štěpku z topolu obecného, či topolu japonského. Z důvodu snadné dostupnosti byl zvolen topol japonský. Pěstuje se na velkoplošných plantážích jako energetická surovina. Je tedy snadno dostupný a případně výstavby podobných bioreaktorů v reálných podmínkách bude dostupnost suroviny (štěpky) zásadním faktorem. Proto pro testovací provoz byla zvolena tato varianta topolu.

Dřevní štěpka topolu japonského byla zajištěna ze soukromé plantáže z oblasti Havlíčkova Brodu. Suchá štěpka byla dodána v pytlích a drcena na frakci 0-80 mm. Tato frakce však byla pro účely testování bioreaktoru příliš hrubá. Proto byla štěpka dodatečně štěpkována (drcena) zapůjčeným přenosným štěpkovačem přímo na lokalitě Němčice na výslednou frakci 0-40 mm



Obr. 22: Dodatečné drcení dřevní štěpky a plnění do bioreaktoru dne 5.10.2023



Obr. 23: Ukázka frakce dřevní štěpky v bioreaktoru

Dřevní štěpka z měkkého dřeva topolu byla nasypána do bioreaktoru v množství odpovídající cca 50 % objemu nádrže. Následně byla zaplavena vodou. Důvod pouze částečného naplnění spočíval ve schopnosti štěpky plavat. Proto byla štěpka do bioreaktoru doplňována postupně, v závislosti na jejím nasycení vodou a usazováním na dně nádrže. Prokázalo se, že štěpka z topolu ztrácí schopnost plavat a sedá ke dnu nádrže po cca 5ti týdnech zatopení. Kontinuálně je tedy štěpka do nádrže doplňována tak, aby cílový stav byl 100% naplnění nádrže dřevní štěpkou.

V současnosti (počátek roku 2024) je bioreaktor naplněn cca z 90 % dřevní štěpkou. Předpoklad je takový, že v průběhu února-března 2024 bude naplněn na plnou kapacitu.

Zahájení testovacího provozu kombinovaného bioreaktoru

Za zahájení testovacího provozu bioreaktoru považujeme datum 5.10.2023. V tento den byl poprvé naplněn dřevní štěpkou a zaplaven vodou. Od tohoto termínu dochází k pravidelné kontrole bioreaktoru cca 1x týdně. Při každé návštěvě proběhne kontrola přívodního potrubí a sacího koše na hrázce přívodního potrubí, kontrola připojených sond, kontrola hladiny vody v nádrži a průtoku vody přes nádrž, doplnění chybějící dřevní štěpky. Současně dochází k odběrům vzorků vody (jak z nádrže, tak ze vzorkovačů).

Zahájení monitoringu provozu bioreaktoru

Osazená měřicí technika bioreaktoru je plně kompatibilní s datovou stanicí FIEDLER, která pravidelně odesílá data do webového prostředí. Tudíž je možný on-line monitoring parametrů jakosti vody v bioreaktoru a informace o stavu (průtocích) ve vodním toku. Veškerá data z měřících sond jsou zálohována a je možno vyhodnotit průběh vybraných parametrů za libovolné období. Prozatím vzhledem ke stále „nabíhající“ fázi bioreaktoru neuvádíme vyhodnocení parametrů.

Měřicí stanice: Némčice_profil

Měrný profil N2

UPOZORNĚNÍ: Veškerá uváděná data jsou bez právní záruky.

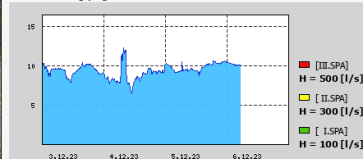
Poslední přenos: St 06.12 05:16:19

Poslední data: St 06.12 05:10:00

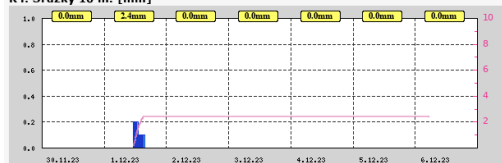
Kredit k 06.12.23 05:16:43: 210 Kč



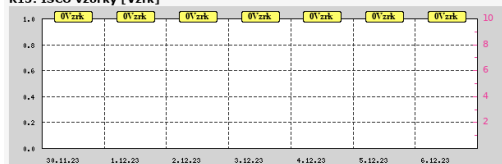
K2: Průtok [l/s]



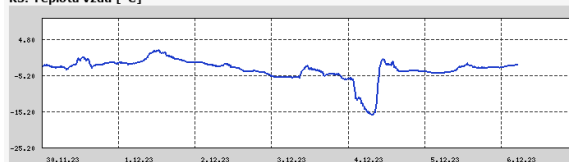
K4: Srážky 10 m. [mm]



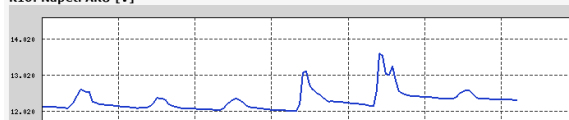
K15: ISCO vzorky [Vzrk]



K3: Teplota vzdu [°C]



K16: Napětí AKU [V]



Měřicí stanice: Némčice 21

Bioreaktor

UPOZORNĚNÍ: Veškerá uváděná data jsou bez právní záruky.

Poslední přenos: St 06.12 09:21:15

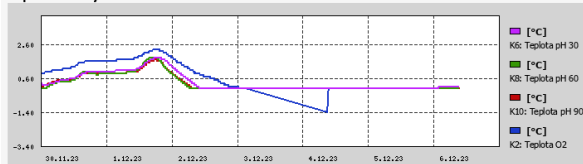
Poslední data: St 06.12 09:20:00



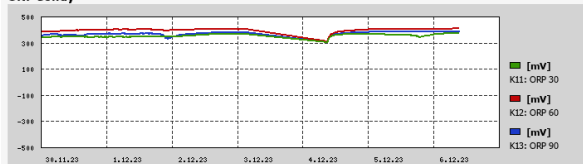
K1: Kyslík [mg/l]



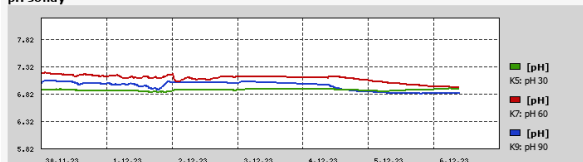
Teplotní sondy



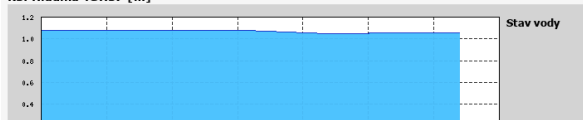
ORP sondy



pH sondy



K3: Hladina TSH37 [m]



Obr. 24: Ukázka webového prostředí online monitoringu parametrů jakosti vody v bioreaktoru a průtoků vody ve vodním toku

Instalace vodoměru na přívodní potrubí

Přívodní potrubí na vstupu do bioreaktoru bylo osazeno domovním vodoměrem. Ten umožní sledovat objem vody, které za časovou jednotku proteče do bioreaktoru. Při pravidelných odečtech budeme schopni stanovit průtok vody bioreaktorem a dobu zdržení vody v nádrži.



Obr. 25: Domovní vodoměr umístěný na přívodním potrubí do bioreaktoru

Odběr vzorků vody

Odběr vzorků vody k dalším rozborům je prováděn 1x týdně, či dle potřeby. Odebírány jsou jak vzorky referenční (z vodního toku), tak ze samotného bioreaktoru (jednotlivých hladin v nádrži a výstupu z něj). Dále jsou odebírány slévané vzorky ze vzorkovačů ISCO. Tyto vzorky jsou odebírány periodicky na základě zvoleného intervalu (např. odběr 20 ml vody každých 6 hodin).



Obr. 26: Vzorkovnice pro odběr vody

Zajištění dálkového dohledového systému (kamery)

Pro kontinuální možnost dálkového sledování lokality, stavu vodního toku, stavu bioreaktoru, stavu okolí (sněhová pokrývka, vítr, déšť) a i z hlediska bezpečnosti byla do bezprostřední blízkosti bioreaktoru instalována solárním panelem napájená webová kamera s dobíjecí

baterií. Tato kamera nepřetržitě sleduje bioreaktor a jeho okolí. Je napájena solárním panelem a při omezení slunečního svitu (noc, zatažené počasí) se napájí připojeným akumulátorem. Prostřednictvím datové SIM umožňuje přístup skrz mobilní aplikaci odkudkoliv.



Obr. 27: Ukázka snímku bioreaktoru pořízeného vzdáleným přístupem skrz instalovanou kameru



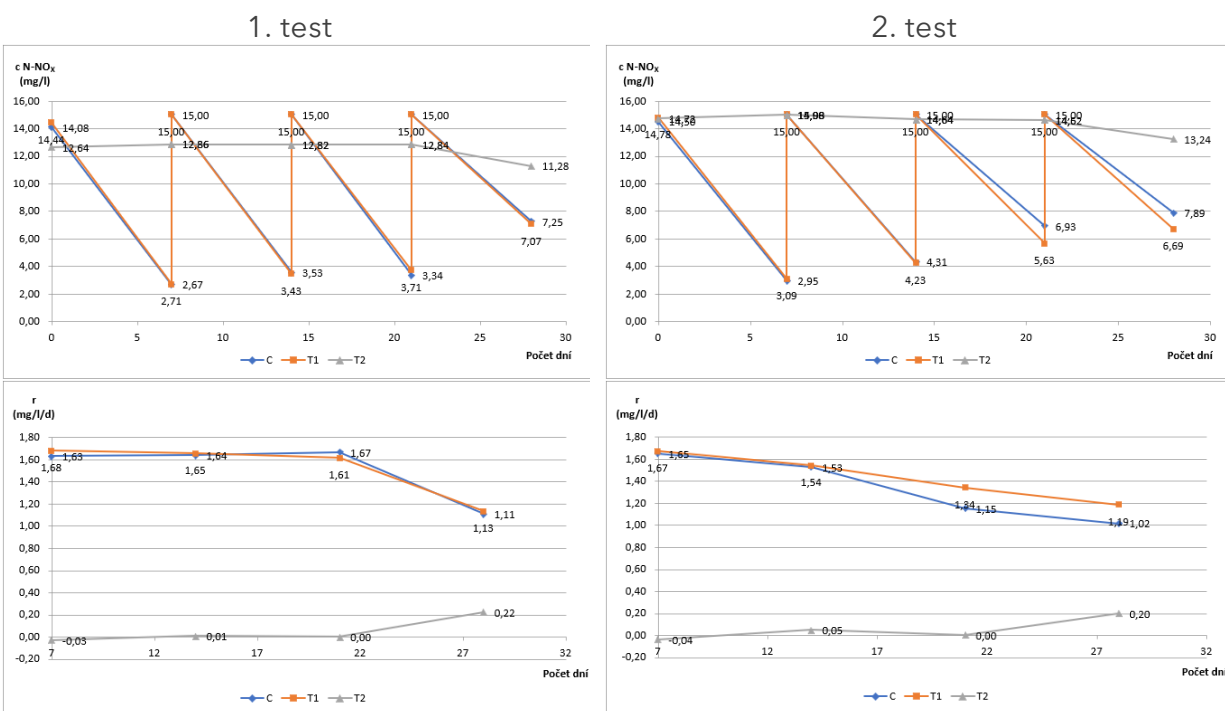
Obr. 28: Současný stav experimentálního kombinovaného bioreaktoru v zimním období 2023/2024

3 VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

3.1 Batch testy

Nejprve byly nastaveny a ověřeny podmínky semikontinuálního 28-denního laboratorního testu s hoblinami použitými v poloprovozním bioreaktoru (japonský topol). Metodika testu je popsána v Pániková et al. 2023. Test slouží k ověření využitelnosti denitrifikačních bioreaktorů pro souběžné odstranění pesticidních látek a dusičnanů - což je účel nového kombinovaného bioreaktoru. Bylo zjištěno, že dávku hoblin v testu je potřeba oproti původní metodice zvýšit na 25 g/2 l z důvodu nižšího uvolňování organických látek.

Byly provedeny 2 testy s metolachlorem, kterými byl stanoven vliv tohoto pesticidu v koncentraci 100 µg/l na denitrifikační rychlost. Byl zjištěn nepatrně stimulační účinek, a to 1,8 % v 1. testu a 8,8 % v 2. testu (viz Obr. 29).



Obr. 29: Vývoj koncentrace N-NO₃ a denitrifikační rychlosti v čase. Význam symbolů: r - denitrifikační rychlost, C - kontrola, T1 - vzorek s testovaným pesticidem, T2 - vzorek s testovaným pesticidem a inhibitory biochemických procesů.

3.2 Testovací provoz kombinovaného bioreaktoru

Po sestavení poloprovozní jednotky a technickém zajištění provozu kombinovaného bioreaktoru a vzorkovačů a naplnění reaktoru štěpkou, které proběhlo v termínu 5. a 6.10. 2023, byl poloprovozní reaktor spuštěn a od 18.10. 2023 jsou prováděny pravidelné týdenní odběry vzorků vody na vstupu a výstupu z reaktoru, a to jak bodových, tak slévaných týdenních vzorků. U těchto vzorků se v laboratoři VUT stanovuje pH, Konduktivita (µS/cm),

CHSK_{Cr} (mg/l), BSK₅ (mg/l), formy dusíku (N-NO₂, N-NO_x, N-NH₄, N_{Kjel} - mg/l) a koncentrace celkového fosforu (P_c - mg/l).

Vedle těchto měření probíhá on-line monitoring pomocí zabudovaných sond, které sledují tyto parametry: rozpuštěný kyslík (mg/l) a teplota na odtoku z reaktoru, hladina vody v reaktoru (m), pH, ORP (mV) a teplota (°C) ve výšce 30, 60 a 90 cm ode dna reaktoru). Měření probíhá od 13.10. 2023 a data jsou přenášena do webového prohlížeče naměřených dat dostupná na adrese <https://stanice.fiedler-magr.cz/index2.php>.

Původně měl být reaktor osazen i dalšími sondami na měření kyslíku v místě, kde jsou nyní umístěny ORP on-line sondy, ale z technických důvodů to nebylo možné, a tak je kyslík v těchto měrných profilech sledován při každotýdenním odběru vzorků pomocí přenosné sondy HACH.

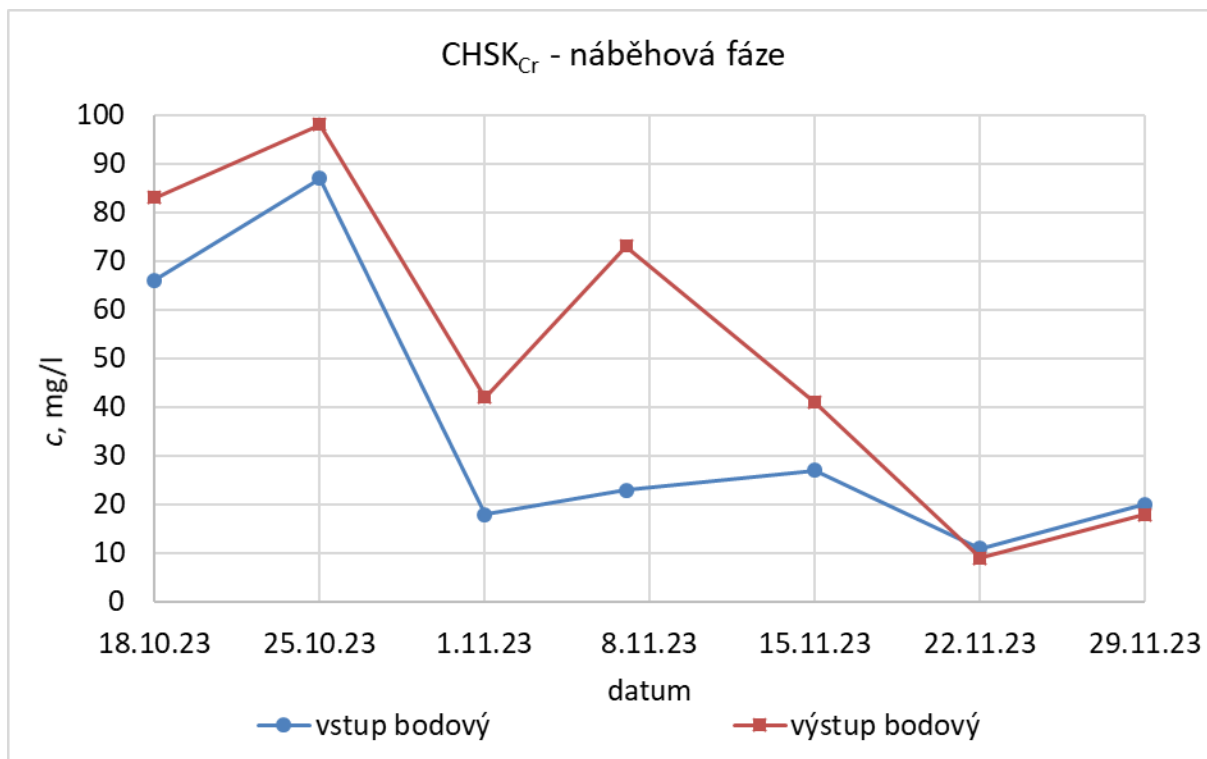
Pro stanovení doby zdržení vody (HRT - Hydraulic Retention Time, h) a dalších vyhodnocení byl u reaktoru instalován průtokoměr, nejdříve umístěný na odtoku (10.11. 2023), kde ale způsoboval vzednutí hladiny v reaktoru a část vody tak odtékala přepadovým odtokem. Proto byl přepojen na přívodní potrubí (12.12. 2023), a tím se eliminoval problém s vzednutím hladiny v reaktoru, nicméně při vyšších průtocích vody v recipientu dochází k zanášení sacího koše hrubými nečistotami, což snižuje průtok vody do reaktoru a velké kolísání HRT (až 252 h). Toto je zatím řešeno pravidelným čištěním sacího koše.

Veškerá data jsou schraňována a ukládána do sdíleného tabulkového souboru, ke kterému mají přístup všichni členové výzkumného týmu (https://vutbr.sharepoint.com/:x:/s/ELIPES/ERmTCd--_K9JrFnmj94i0oBsDj3kwMRZbczr0ptbfN7tw?e=pB5j9e).

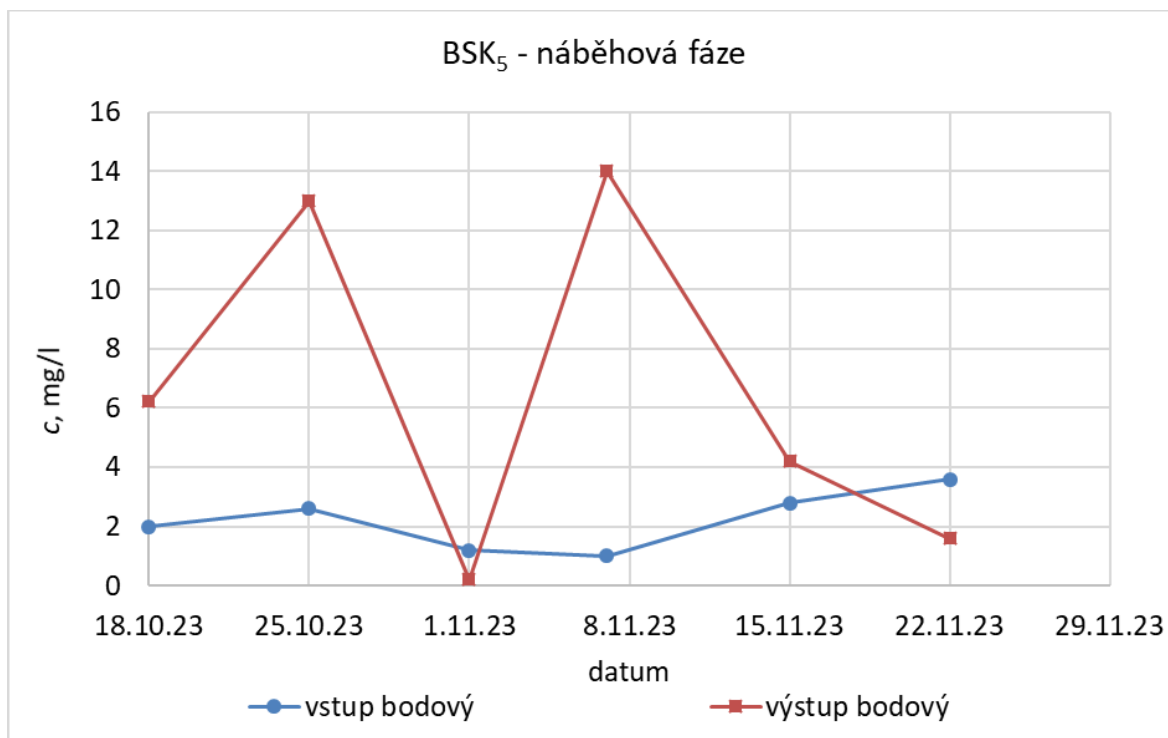
Na přípravě a realizaci sestavení poloprovozní jednotky kombinovaného denitrifikačního bioreaktoru v lokalitě Němčice se podíleli zejména členové týmu VÚMOP a VUT, stejně jako na technickém zajištění provozu reaktoru a vzorkovačů. Původní plán, že bude reaktor spuštěn v polovině září byl narušen nečekanou extrémní srážkovou událostí (14.9.), která vyplavila prázdný reaktor nachystaný na naplnění štěpkou, a bylo nutné znovu usadit reaktor na místo.

Od spuštění reaktoru, tedy od 6.10.2023 probíhá náběhová fáze bioreaktoru, kdy by mělo dojít k maximalizaci denitrifikační účinnosti. Tato fáze obvykle probíhá během prvních devíti týdnů provozu reaktoru. Plánována byla záměrně v třetím kvartálu roku 2023, kdy dochází k pozvolnému uvolňování CHSK_{Cr} díky mírnějším teplotám. Podle předchozích zkušeností při vyšších teplotách, které jsou v letních měsících, by mohlo docházet k prudkému vyluhování CHSK_{Cr} a tedy k vyššímu zatěžování toku těmito látkami. Optimální koncentrace CHSK_{Cr} na odtoku by měla být kolem 100 mg/l (viz Obr. 30). Z toho organické látky souhrnně označené jako BSK₅ se pohybovaly v množství řádově jednotek, maximálně do 14 mg/l (viz Obr. 31). Nejen množství vyluhovaného CHSK_{Cr}, resp. BSK₅ je závislé na teplotě, ale hlavně aktivita mikroorganismů, na kterých je založen hlavní princip celého denitrifikačního bioreaktoru, a to redukce dusičnanů, resp. dusitanů až na plynný dusík. Proto je teplota sledována nejen na výstupu z reaktoru, ale i ve výškových profilech v náplni reaktoru (30, 60 a 90 cm ode dna reaktoru). Jak je patrné z Obr. 32, teplota vody v reaktoru klesla téměř k nule, kdy se většina mikrobiologických procesů úplně zastaví nebo rapidně klesne aktivita mikroorganismů. Tomu odpovídají i naměřené hodnoty rozpuštěného kyslíku a ORP. Pro optimální průběh

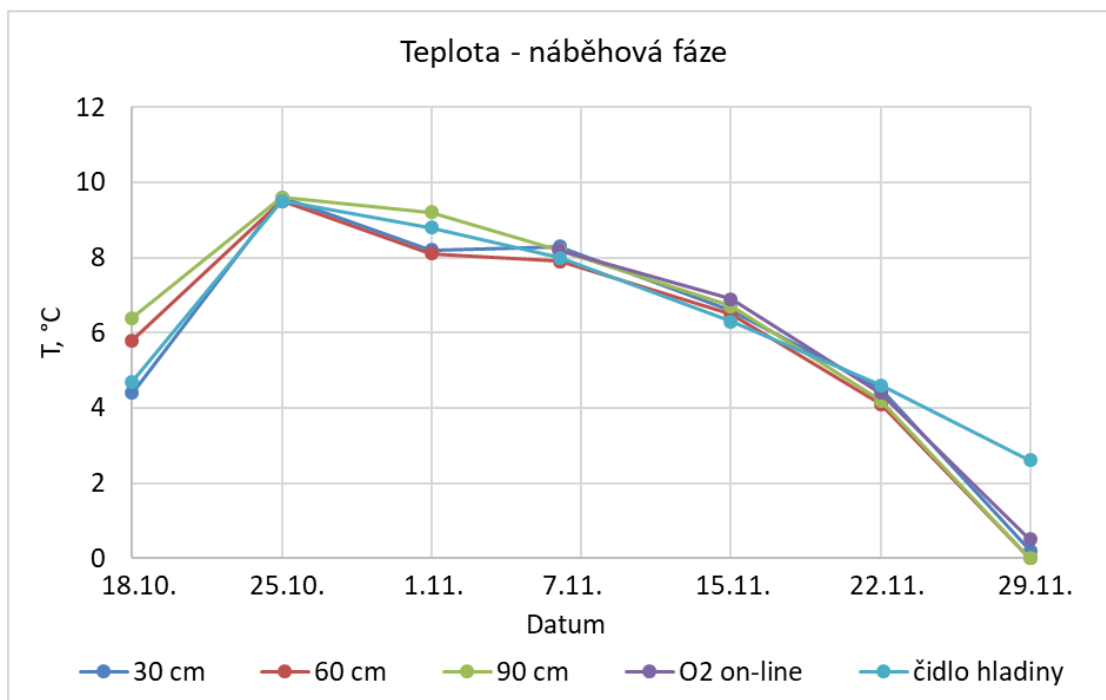
denitrifikace je vhodné anoxické prostředí (bez přítomnosti kyslíku) a nízké hodnoty ORP, které díky mikrobiální aktivitě aerobních organismů. Ti nejdříve vyčerpají rozpuštěný kyslík ve vodě, následně tedy vznikne vhodné prostředí pro denitrifikaci. Takový stav nastal v období do 15.11.2023 (Obr. 32), pak už byla teplota příliš nízká. To koresponduje i s tím, že nejvyšší dosažená účinnost denitrifikace neboli procento odstranění dusičnanů byla dosažena 7.11., kdy byla naměřena účinnost téměř 86 % (Obr. 33), zároveň dochází k optimálnímu vyluhování $CHSK_{Cr}$ (do 100 mg/l). Jak už bylo řečeno, díky klesající teplotě začala aktivita denitrifikačních bakterií klesat a účinnost odstranění dusičnanů se snížila na 10 %. Důležitým sledovaným parametrem je také koncentrace dusitanového dusíku (Obr. 34). Během náběhové fáze, ale i po ní, by vyšší koncentrace dusitanů mohla negativně ovlivňovat účinnost denitrifikace (při vyšších koncentracích dochází k inhibici procesu), což se během náběhové fáze nestalo (koncentrace nepřekročila 1 mg/l $N-NO_2$). V kombinovaném poloprovozním reaktoru byla sledována celá škála pesticidních látek a jejich metabolitů. Během náběhové fáze byly ve vzorcích vod na přítoku a odtoku z reaktoru zjištěny pozitivní hodnoty pěti pesticidů: DNOC (4,6-dinitro-o-cresol), dimethylaminosulfanilid, glyfosát, isoproturon a propamokarb. Tyto látky byly zjištěny jak ve vzorcích bodových, tak ve slévaných týdenních vzorcích, ale pouze sporadicky a ve velmi nízkých koncentracích (setiny $\mu\text{g/l}$). Více pozitivních nálezů bylo u metabolitů, zejména 1,2,4-triazol, AMPA (kyselina aminomethanfosfonová), dimethylaminosulfanilid, metolachlor ESA, metolachlor NOA 413173 a pethoxamid ESA. Ale i u těch koncentrace nepřesáhly desetiny $\mu\text{g/l}$. Osud těchto látek v bioreaktoru naznačuje Obr. 35, kde jsou uvedeny rozdíly koncentrací na vstupu a výstupu reaktoru vybraných látek. Kladné hodnoty znamenají, že se látky pravděpodobně sorbují na štěpku (např. 1,2,4-triazol), záporné hodnoty znamenají, že se tyto látky ze štěpky pravděpodobně uvolňují nebo v reaktoru vznikají (např. AMPA). Vzhledem k tomu, že je reaktor stále v náběhové fázi a dat je doposud relativně málo, je na podrobnější vyhodnocení stále příliš brzy.



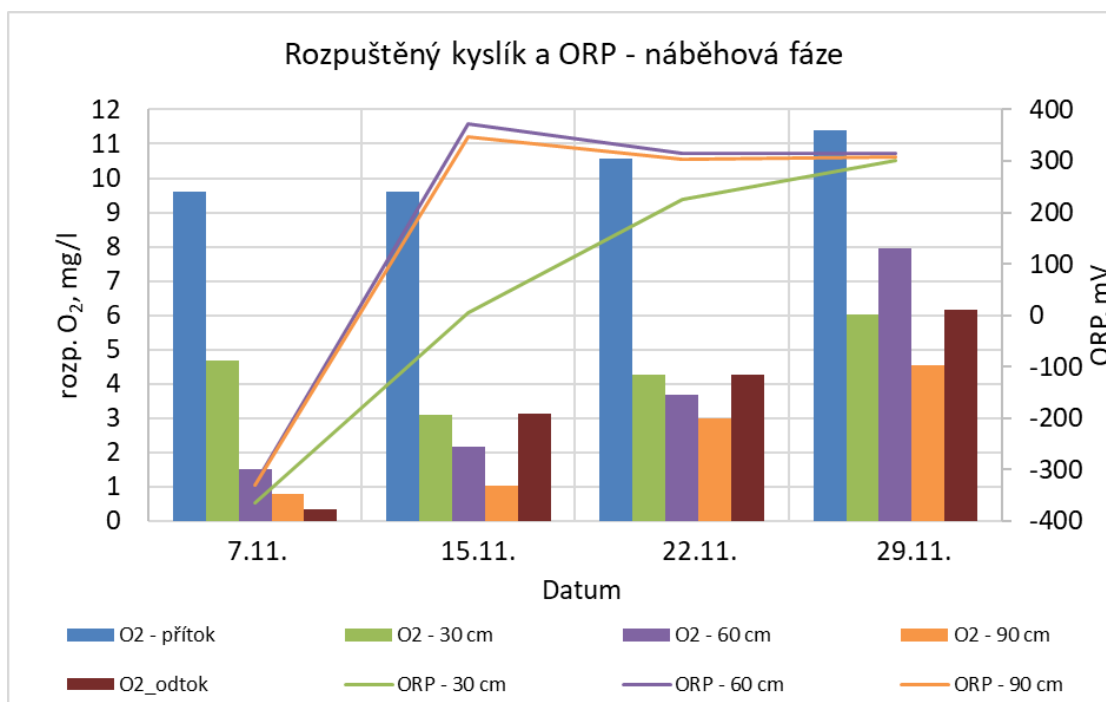
Obr. 30: Koncentrace CHSK_{Cr} v náběhové fázi



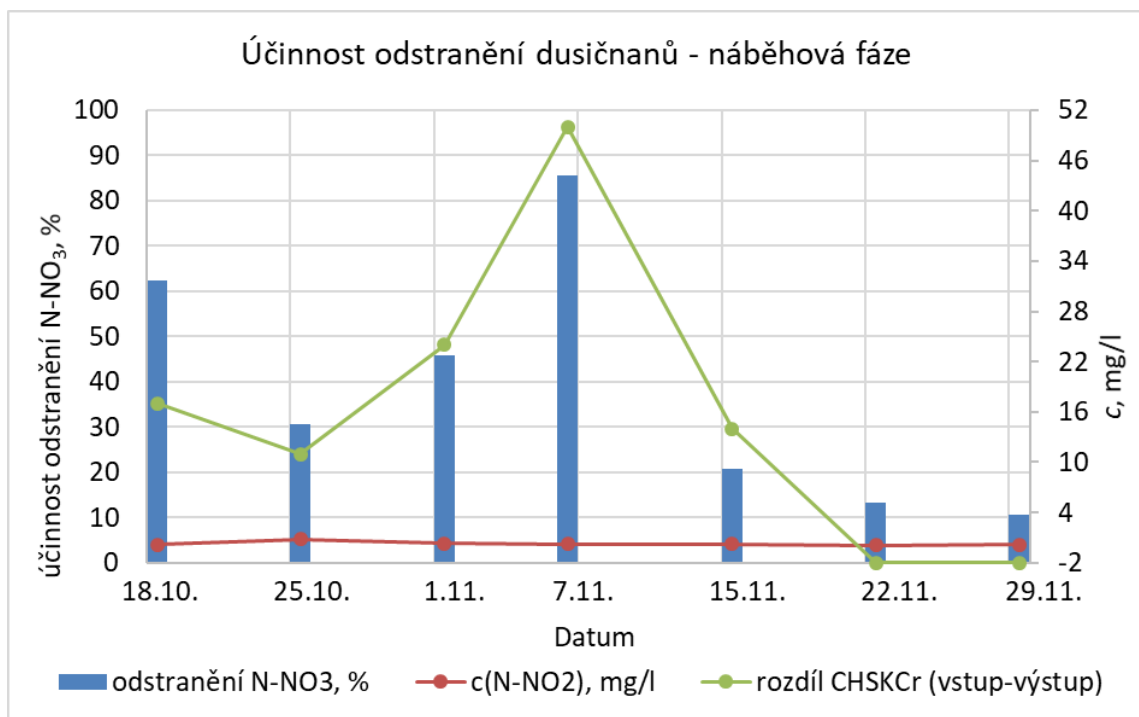
Obr. 31: Koncentrace BSK₅ v náběhové fázi



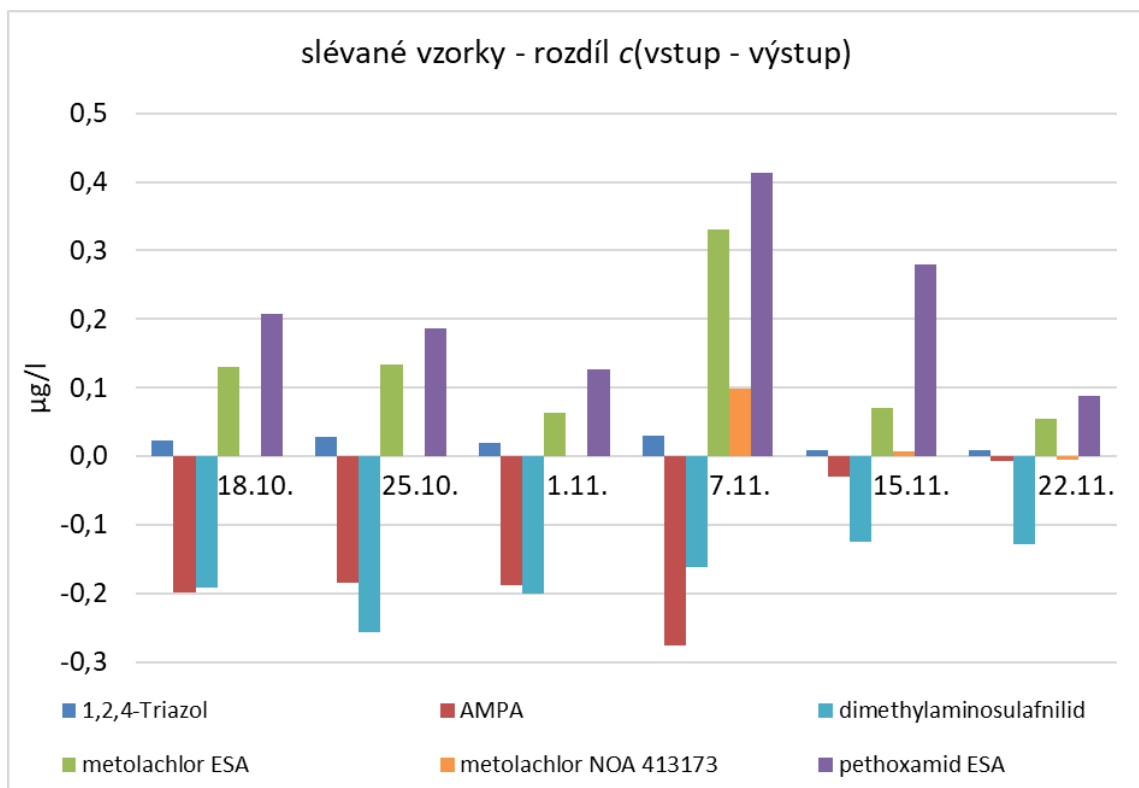
Obr. 32: Průběh teplot v různých profilech reaktoru, označení 30, 60 a 90 cm - teplota změřená na ORP sondách ve výšce 30, 60 a 90 cm ode dna reaktoru; O2 on-line - teplota změřená na kyslíkové sondě umístěné na odtoku z reaktoru (u hladiny); čidlo hladiny - teplota změřená pomocí čidla hladiny.



Obr. 33: O₂ - přítok - měřeno přenosnou sondou HACH přímo v toku; O₂ - 30 cm, O₂ - 60 cm a O₂ - 90 cm - měřeno přenosnou sondou HACH ve vzorcích vody z profilů v reaktoru; O₂ odtok - měřeno on-line sondou umístěnou na odtoku z reaktoru.



Obr. 34: Modrý sloupec - účinnost odstranění dusičnanového dusíku (%); červená čára - koncentrace dusitanového dusíku (mg/l); zelená čára - CHSK_{Cr} (mg/l), která se uvolní vyluhováním štěrky v reaktoru.



Obr. 35: Rozdíl koncentrací vybraných metabolitů, po průtoku kombinovaným bioreaktorem.

4 EPS BIOTECHNOLOGY

4.1 Screening degradujících mikroorganismů z lokality němčický potok

Základní mikrobiologický rozbor

Vzorky, které byly v červnu 2023 odebrány na lokalitě Němčický potok a převezeny do laboratoře environmentálních technologií společnosti EPS, byly do 24 hodin od jejich dodávky zpracovány a mikrobiologicky vyšetřeny. Počty celkových heterotrofních kultivovatelných mikroorganismů včetně pracovního označení a místa jejich původu jsou shrnuty v následující tabulce.

Tab. 7: Seznam environmentálních vzorků.

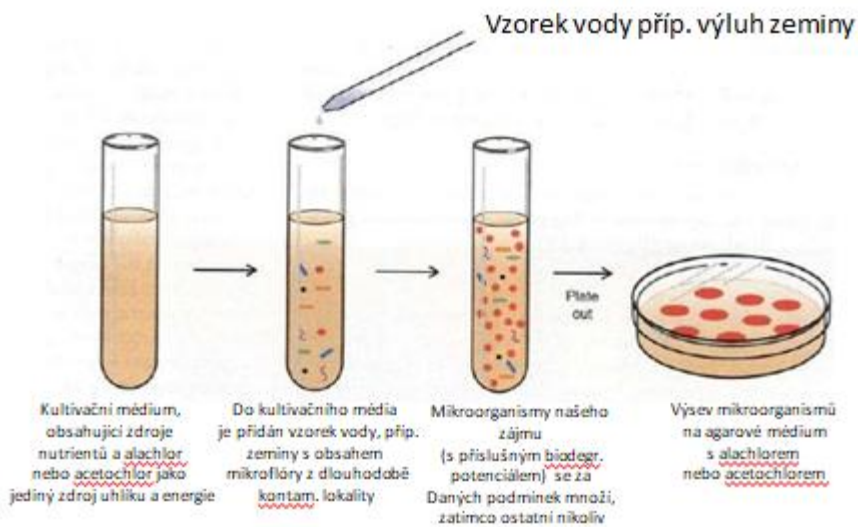
Místo odběru	Typ vzorku	Označení vzorku	CFU celk./ml nebo g _{suš.}
Voda pod hrází 1	voda	VPH 1	4,4E+04
Voda nad hrází 2	voda	VNH 1	3,2E+04
Sediment pod hrází 1	sediment	SPH 1	3,1E+06
Sediment pod hrází 2	sediment	SPH 2	2,3E+06
Sediment pod hrází 3	sediment	SPH 3	5,8E+05
Sediment pod hrází 4	sediment	SPH 4	1,1E+06

Selekce degradujících mikroorganismů v kapalných médiích

Vzorky matric, které byly uvedeny v Tab. 7, prošly dvěma sériemi neobohacovacích experimentů, tak jak je popsáno dále. Při těchto experimentech byl původní vzorek doplněn minerálními nutrieny nebo/a zdrojem uhlíku a energie, kterým byly vybrány pesticidy.

Z každého dodaného vzorku kontaminované matrice bylo odebráno 10 g suš. sedimentu nebo 10 ml vody a umístěno do sterilních Erlenmeyerových baněk s 90 ml minerálního média (BSM), případně s vybraným pesticidem. Baňky byly obaleny alobalem, což byla ochrana proti fotodegradaci pesticidů a byly umístěny na třepačku. Po 1 týdnu od započetí experimentu bylo provedeno v pořadí druhé vyšetření na celkové heterotrofní a rovněž i degradující kultivovatelné mikroorganismy dle příslušné SOP. Nový odběr a třetí mikrobiologické vyšetření pak proběhlo po dalším týdnu (tedy po 14 dnech od počátku pokusu). Všechny experimenty probíhaly při běžné laboratorní teplotě, která se pohybovala mezi 20 - 23 °C.

Základní kroky neobohacovacích experimentů jsou ilustrovány následujícím obrázkem.



Obr. 36: Princip selekce degradující mikroflóry.

Za těchto podmínek byly mikroorganismy kultivovány pod selekčním tlakem vybraného pesticidu a průběžně byla měřena optická denzita, pH a počty heterotrofních a degradujících mikroorganismů (kultivačně).

Vzorky, které vykázaly pozitivní odezvu na výše uvedený selekční tlak, jsou uvedeny v následující tabulce a byla u nich provedena izolace mikroorganismů s pravděpodobným degradačním potenciálem.

Z matic uváděných v Tab. 7 byly po provedení nabohacovacích experimentů izolovány přítomné mikrobiální taxony s pravděpodobným biodegradačním potenciálem vůči vybraným pesticidům. Tyto izoláty byly odebírány z agarů ve formě monokoloniových izolátů, případně byly dále přečišťovány, pokud to situace vyžadovala. Tyto izoláty byly mikroskopicky a makroskopicky vyšetřeny, popsány a uloženy k dalším experimentům ve formě šikmých agarů.

Tab. 8 je pak souhrnem všech izolátů, které byly získány a které zároveň vstoupily do screeningové fáze jejich degradačního potenciálu, jak je popsáno v následující kapitole.

Tab. 8: Počet a názvy monokoloniových izolátů s pravděpodobným degradačním potenciálem vůči pesticidním látkám.

Typ vzorku	Označení vzorku	Počet izolátů pravděpodobných degradérů	Označení izolátů
voda	VPH 1	4	V 1/1 V 1/2 V 1/3 V 1/4
voda	VNH 1	1	V 2/1

sediment	SPH 1	5	S 1/1 S 1/2 S 1/3 S 1/4 S 1/5
sediment	SPH 2	2	S 2/1 S 2/2
sediment	SPH 3	2	S 3/1 S 3/2
sediment	SPH 4	2	S 4/1 S 4/2

Jak je zřejmé z výčtu všech monokloniových izolátů, ze 6 vzorků kontaminovaných matric bylo získáno 16 mikrobiálních taxonů. Všechny byly rozřazeny podle Grammova barvení (pokud se nejednalo o Gramm labilní bakterie) a popsány z hlediska morfologie a mikroskopického obrazu (tyto informace nejsou součástí této zprávy z důvodu jejich rozsahu). Následně byly tyto taxony identifikovány. Výsledky provedené identifikace a vhodnost dalších taxonů pro další využití (na základě výsledků základního screeningu v průběhu nabohacovacích experimentů, kde byla sledována četnost kolonií jednotlivých izolátů) je shrnuta v následující tabulce. V rámci zjednodušení je do Tab. 9 vložen sloupec s názvem „Test“, který na základě semaforového principu dělí izoláty na ty, které měly vyšší abundanci ve vyšetřovaných médiích a nebyly zařazeny mezi potenciální patogeny (zelená barva) a na ty, které byly zachyceny ve vzorcích buď v minimálním množství nebo patří do zdravotně rizikové skupiny (červená barva).

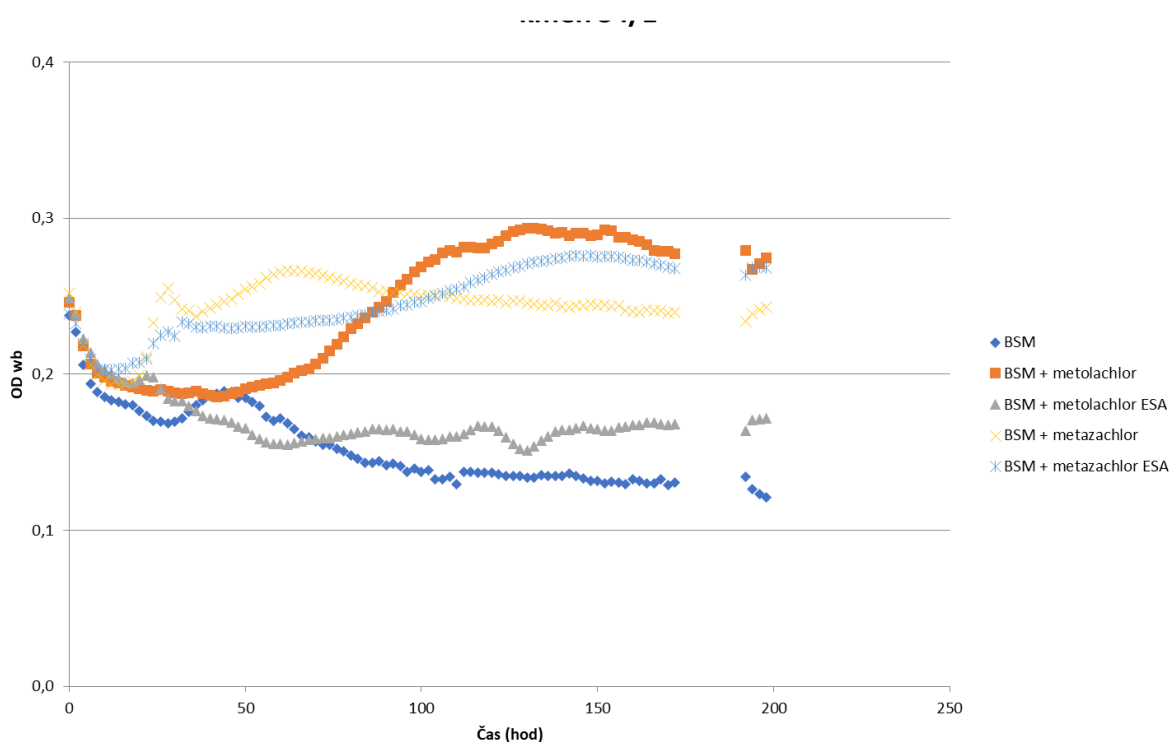
Tab. 9: Identifikace a základní popis monokloniových izolátů s pravděpodobným degradačním potenciálem vůči pesticidním látkám.

Izolát	Identifikace	Grammovo barvení	Tvar buněk	Test
V 1/1	<i>Pantoea agglomerans</i>	-	tyčinky	
V 1/2	<i>Shewanella oncorhynchi</i>	-	tyčinky	
V 1/3	<i>Enterobacteriaceae</i> (nemožné přesnější zařazení)	-	koky	Zdravotní riziko
V 1/4	<i>Pseudomonas sivasensis</i>	-	tyčinky	
V 2/1	<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i>	-	tyčinky	Patogen ryb
S 1/1	<i>Bacillus mycoides</i>	+	tyčinky	
S 1/2	<i>Chryseobacterium luteum</i>	-	tyčinky	
S 1/3	<i>Exiguobacterium artemiae</i>	+	koky	
S 1/4	<i>Pseudomonas canadensis</i>	-	tyčinky	
S 1/5	<i>Bacillus toyonensis</i>	+	tyčinky	
S 2/1	<i>Pseudomonas paraversuta</i>	-	tyčinky	
S 2/2	<i>Pseudarthrobacter psychrotolerans</i>	+	tyčinky	
S 3/1	<i>Bacillus licheniformis</i>	+	tyčinky	

S 3/2	<i>Aeromonas popoffii</i>	-	tyčinky	
S 4/1	<i>Pantoea agglomerans</i>	-	tyčinky	Duplikát V1/1
S 4/2	<i>Aeromonas encheleia</i>	-	tyčinky	

Po primární selekci izolaci byla provedena identifikace všech získaných taxonů a bylo zjištěno, že minikolekce 16 bakterií obsahuje pouze 1 duplikát. S 15 zbylými taxony byl tedy proveden sekundární screening v mikrokultivačním zařízení Bioscreen C a pro každý taxon byla naměřena jeho růstová křivka v přítomnosti jednoho z 12 pesticidů, který v minerálním médiu sloužil jako výhradní zdroj uhlíku a energie.

Příklad růstových křivek taxonu *Pantoea agglomerans* je uveden na následujícím obrázku. Jedná se o záznam růstu této bakterie v minerálním médiu BSM (bez přidaného kontaminantu) a dále o 4 růstové křivky v přítomnosti pesticidů nebo jejich metabolitů ze skupiny chloracetanilidů.



Obr. 37: Růstové křivky bakterie *Pantoea agglomerans* v minerálním médiu BSM na pozadí přítomnosti kontaminantů ze skupiny chloracetanilidových pesticidů a jejich metabolitů.

Z grafu je zřejmé, že na samotném minerálním médiu BSM bez přídavku C-zdroje, nebyla schopna testovaná bakterie žádného růstu. Stejného výsledku bylo dosaženo rovněž po přídavku metolachloru ESA do kultivačního prostředí. U mateřské látky, metolachloru, se objevila dlouhá lag fáze, nicméně po této cca 3denní adaptační periodě došlo k poměrně dobrému nárůstu. Taktéž metazachlor a metazachlor ESA se jeví jako substráty umožňující nárůst a budou tedy biodegradovány nebo alespoň biotransformovány.

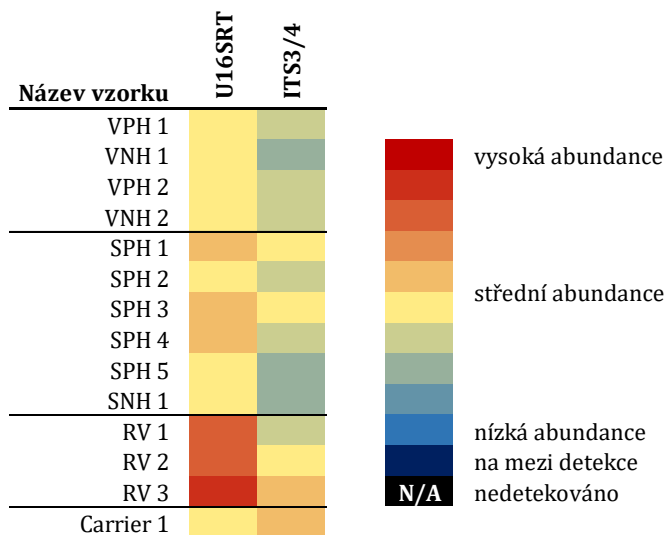
Na základě vyhodnocení růstových křivek všech izolátů na pozadí následujících 12 kontaminantů (metolachlor, metolachlor ESA, metolachlor OA, metazachlor, metazachlor ESA, metazachlor OA, dimetachlor, dimetachlor ESA, 1,2,4 -triazol, atrazin-2hydroxy, glyfosát a AMPA) byly z dalších testů, pro špatné růstové vlastnosti vyřazeny následující taxony: V 1/2, S1/4, S1/5 a S2/1. Z důvodu duplicity byl vyřazen kmen S 4/1. Z důvodu zdravotního rizika byly taxony V 1/3 a V 2/1. Z původních 16 taxonů tak bylo vyřazeno 7. Zbýlých 9 postoupilo do dalších testů. Jedná se o následující taxony, které jsou shrnuty v níže uvedené tabulce.

Tab. 10: Výsledná skupina izolátů, která prošla primární i sekundární selekcí.

Izolát	Identifikace
V 1/1	<i>Pantoea agglomerans</i>
V 1/4	<i>Pseudomonas sivasensis</i>
S 1/1	<i>Bacillus mycoides</i>
S 1/2	<i>Chryseobacterium luteum</i>
S 1/3	<i>Exiguobacterium artemiae</i>
S 2/2	<i>Pseudarthrobacter psychrotolerans</i>
S 3/1	<i>Bacillus licheniformis</i>
S 3/2	<i>Aeromonas popoffii</i>
S 4/2	<i>Aeromonas encheleia</i>

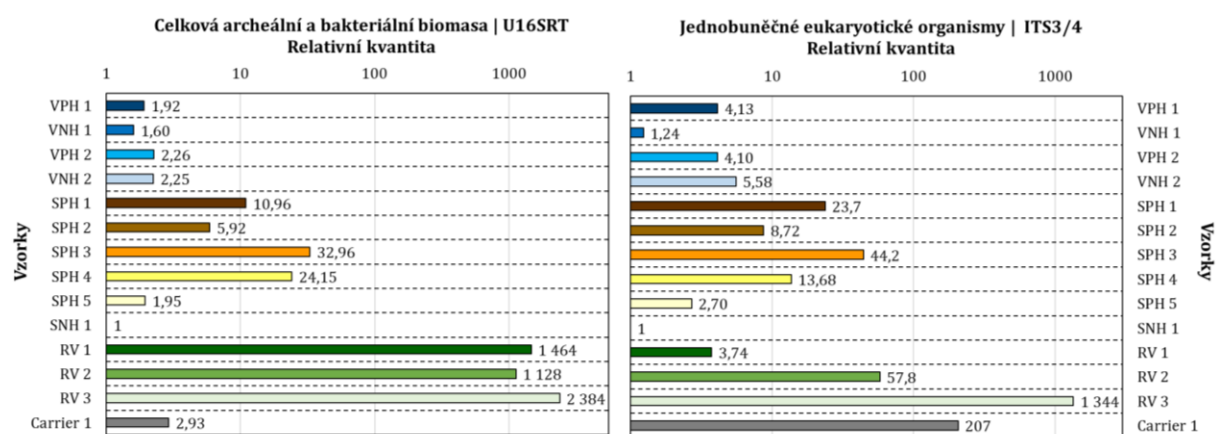
qPCR analýza

Ve všech vzorcích (Obr. 38) bylo celkové archeální a bakteriální oživení (U16SRT) na vysoké úrovni, nejvíce ve vzorcích z reaktoru (RV 1, RV 2 a RV 3). Množství jednobuněčných eukaryotických mikroorganismů (ITS3/4) bylo nejvyšší ve vzorku štěpky (Carrier 1) a ve vzorku z reaktoru (RV 3).



Obr. 38: Heatmapa průměrných Ct hodnot testovaných biologických markerů

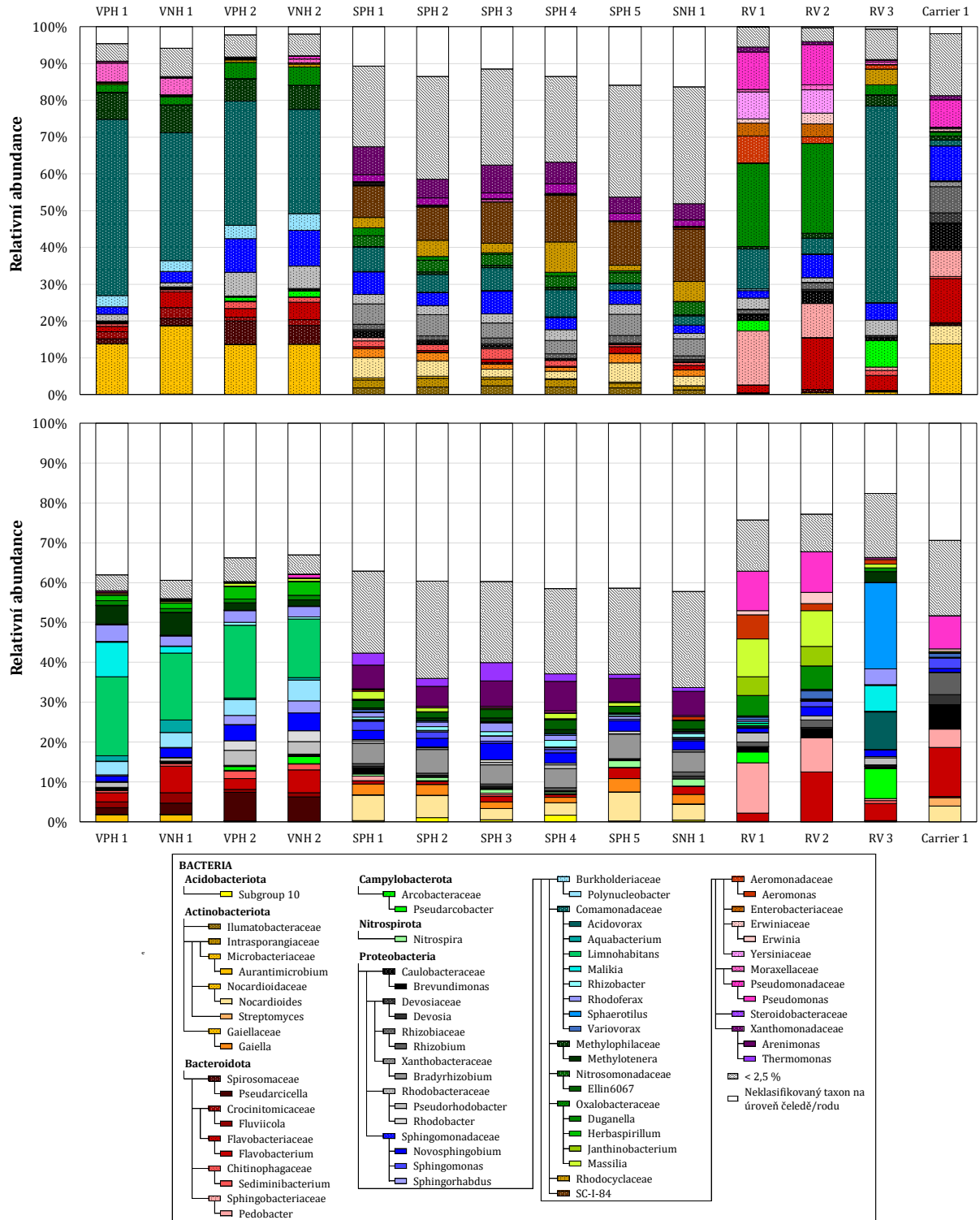
Porovnání množství celkové mikrobiální biomasy mezi vzorky bylo vyjádřeno pomocí relativní kvantifikace (Obr. 39), u které byl referenčním vzorkem vzorek s nejnižším mikrobiálním oživením, kterým byl u archeí a bakterií i u jednobuněčných eukaryot konkrétně vzorek SNH 1. Množství mikrobiální biomasy bylo vyšší ve vzorcích sedimentů odebraných v červnu než ve vzorcích vody odebrané nad/pod hrází v obou odběrech. Zatímco u mikrobiálního oživení vodních vzorků odebraných nad/pod hrází nebyl mezi odběry pozorován významný rozdíl, u vzorků sedimentů byl zaznamenán pokles mikrobiální biomasy. V případě suspenze z reaktoru bylo ve všech vzorcích podobné vysoké archeální a bakteriální oživení, ale byl u nich zaznamenán výrazný nárůst množství jednobuněčných eukaryot mezi odběry. U vzorku štěpky (Carrier 1) byla abundance archeální a bakteriální biomasy na podobné úrovni jako ve vzorcích vody odebrané nad/pod hrází, ale abundance jednobuněčných eukaryot byla ve vzorku štěpky vyšší než ve vzorcích sedimentů.



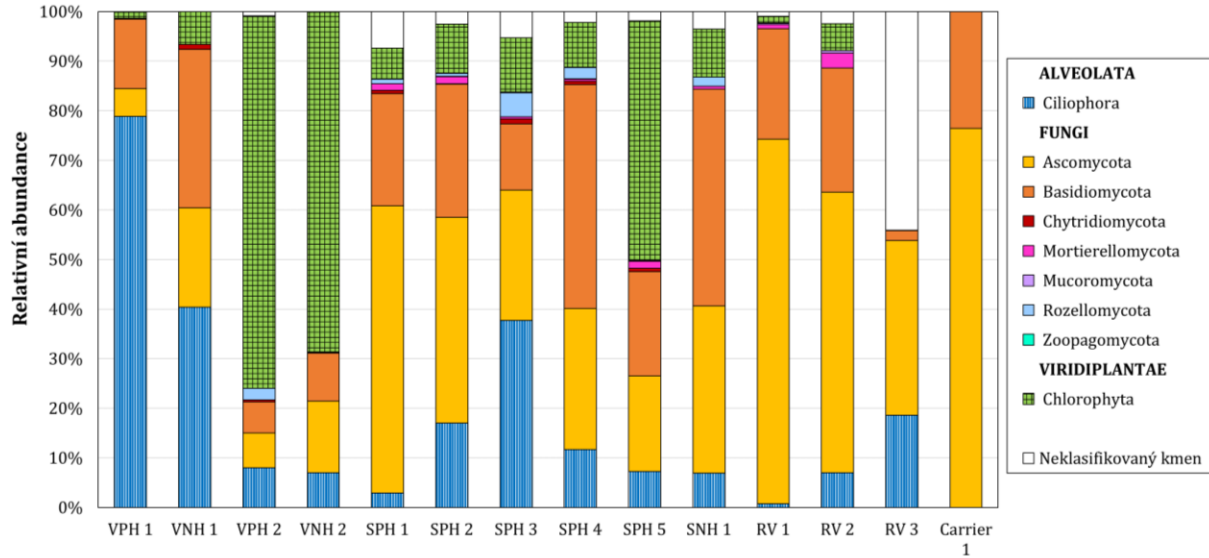
Obr. 39: Relativní kvantifikace celkové mikrobiální biomasy v environmentálních vzorcích. Referenčním vzorkem je vzorek s nejnižším mikrobiálním oživením, kterým byl konkrétně vzorek SNH 1 u archeí a bakterií i u jednobuněčných eukaryot.

NGS analýza

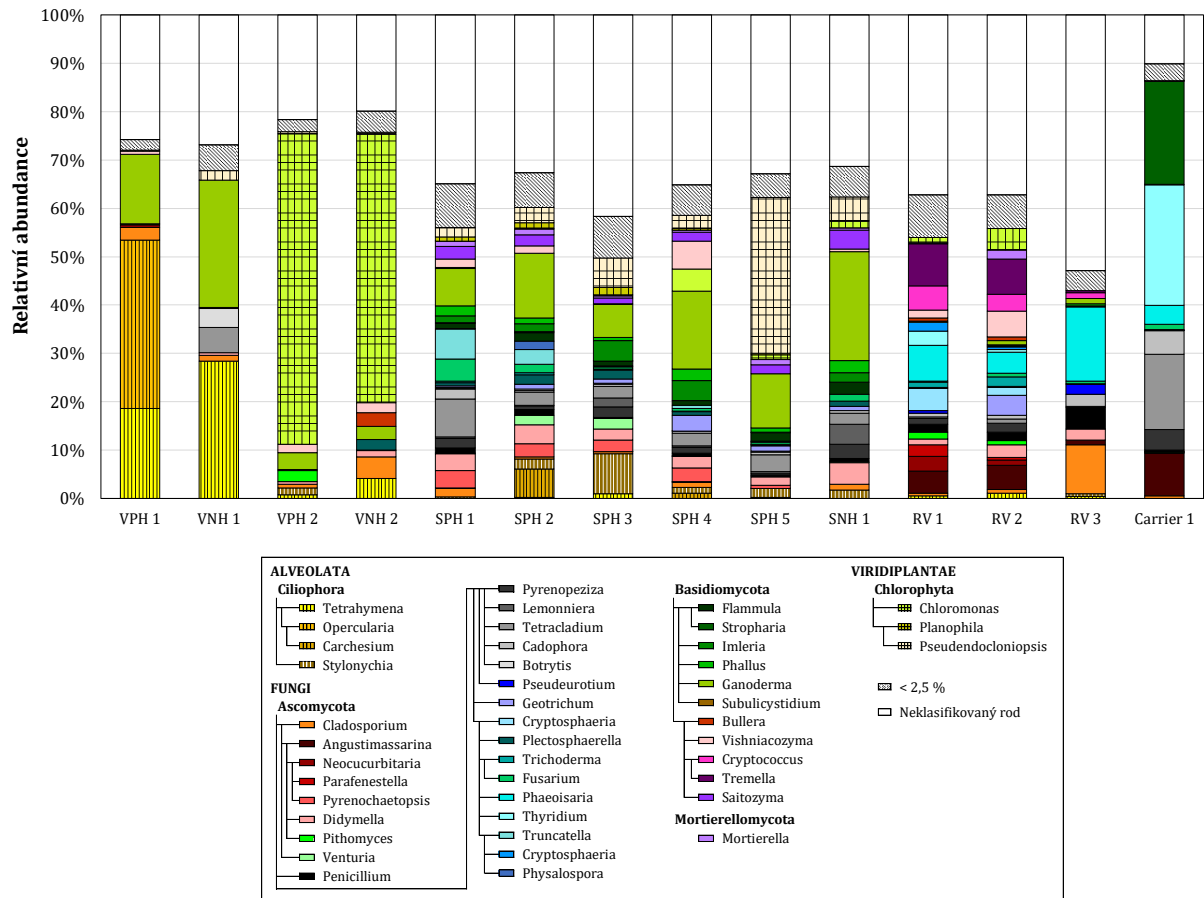
Identifikace složení mikrobiální konsorcia přítomného v environmentálních vzorcích je zobrazena pomocí ASV grafů na Obr. 40–42. Identifikované mikrobiální rody, u jejichž zástupců byla prokázána schopnost degradace jednoho ze sledovaných pesticidů (AMPA, glyfosát, 1,2,4-triazol, metolachlor) anebo schopnost denitrifikace, jsou uvedeny v Tab. 11. Ve vzorcích nebyl identifikován žádný mikroorganismus, u kterého by byla v předchozích studiích prokázána schopnost degradace pethoxamidu.



Obr. 40: Relativní zastoupení bakteriálních mikroorganismů v environmentálních vzorcích - znázorněny mikroorganismy na úrovni čeledě a rodu s abundancí > 2,5 %.



Obr. 41: Relativní zastoupení jednobuněčných eukaryotických mikroorganismů v environmentálních vzorcích - znázorněny mikroorganismy na úrovni kmene.



Obr. 42: Relativní zastoupení jednobuněčných eukaryotických mikroorganismů v environmentálních vzorcích - znázorněny mikroorganismy na úrovni rodu s abundancí > 2,5 %.

Tab. 6: Identifikované mikrobiální rody, u jejichž zástupců byla prokázána schopnost degradace jednoho ze sledovaných pesticidů anebo schopnost denitrifikace.

Pesticid	Mikroorganismus	Reference	Denitrifikační mikroorganismy	
			Mikroorganismus	Reference
AMPA	<i>Acidovorax</i>	(Rossi et al. 2021)	<i>Acidovorax</i>	(Heylen et al. 2008)
	<i>Flavobacterium</i>	(Sviridov et al. 2015)	<i>Aeromonas</i>	(Chen et al. 2014)
	<i>Novosphingobium</i>	(Rossi et al. 2021)	<i>Aquabacterium</i>	(Xu et al. 2022)
	<i>Pseudomonas</i>	(Sviridov et al. 2015)	<i>Arenimonas</i>	(Wang et al. 2022a)
	<i>Rhizobium</i>	(Singh et al. 2020)	<i>Bradyrhizobium</i>	(Mania et al. 2020)
	<i>Streptomyces</i>	(Singh et al. 2020)	<i>Brevundimonas</i>	(Tsubouchi et al. 2014)
	<i>Fusarium</i>	(Singh et al. 2020)	<i>Devosia</i>	(Wang et al. 2022a)
	<i>Penicillium</i>	(Sviridov et al. 2015)	<i>Duganella</i>	(Chen et al. 2023)
glyfosát	<i>Trichoderma</i>	(Sviridov et al. 2015)	<i>Flavobacterium</i>	(Pishgar et al. 2019)
	<i>Acidovorax</i>	(Rossi et al. 2021)	<i>Herbaspirillum</i>	(Wang et al. 2020a)
	<i>Aeromonas</i>	(Saleh 2023)	<i>Janthinobacterium</i>	(Yang et al. 2018)
	<i>Flavobacterium</i>	(Singh et al. 2020)	<i>Limnohabitans</i>	(Xue et al. 2023)
	<i>Novosphingobium</i>	(Rossi et al. 2021)	<i>Malikia</i>	(Ruprecht et al. 2021)
	<i>Pseudomonas</i>	(Singh et al. 2020)	<i>Massilia</i>	(Zhou et al. 2019)
	<i>Rhizobium</i>	(Liu et al. 1991)	<i>Methylothera</i>	(Mustakhimov et al. 2013)
	<i>Sphingomonas</i>	(Korkmaz et al. 2021)	<i>Novosphingobium</i>	(Zhou et al. 2019)
	<i>Streptomyces</i>	(Rebai et al. 2023)	<i>Pseudarcobacter</i>	(Wang et al. 2022b)
	<i>Fusarium</i>	(Guo et al. 2022)	<i>Pseudomonas</i>	(Chen et al. 2020)
	<i>Penicillium</i>	(Singh et al. 2020)	<i>Rhizobium</i>	(Zablotowicz et al. 1978)
metolachlor	<i>Trichoderma</i>	(Singh et al. 2020)	<i>Rhodobacter</i>	(Wang et al. 2020b)
	<i>Brevundimonas</i>	(Sun et al. 2022)	<i>Rhodoferrax</i>	(McIlroy et al. 2016)
	<i>Massilia</i>	(Lee et al. 2017)	<i>Sphaerotilus</i>	(Liang et al. 2022)
	<i>Pseudomonas</i>	(Farooq et al. 2013)	<i>Sphingomonas</i>	(Zhou et al. 2019)
	<i>Streptomyces</i>	(Shelton et al. 1996)	<i>Streptomyces</i>	(Zhang et al. 2021)
	<i>Fusarium</i>	(Saxena et al. 1987)	<i>Thermomonas</i>	(McIlroy et al. 2016)
	<i>Penicillium</i>	(Chang et al. 2020)	<i>Fusarium</i>	(Aldossari a Ishii 2021)
1,2,4-triazol	<i>Trichoderma</i>	(Nykiel-Szymańska et al. 2020)		
	<i>Pseudomonas</i>	(Wu et al. 2018)		
	<i>Rhizobium</i>	(Gu et al. 2014)		
	<i>Shinella</i> ¹	(Wu et al. 2016)		
	<i>Sphingomonas</i>	(Wu et al. 2018)		
	<i>Streptomyces</i>	(Wu et al. 2018)		
	<i>Trichoderma</i>	(Obanda et al. 2008)		

V následujícím textu jsou dominantní (> 2,5 %) mikrobiální rody schopné degradace alespoň jednoho ze sledovaných pesticidů (AMPA, glyfosát, 1,2,4-triazol, metolachlor, pethoxamid; viz Tab. 7) vyznačeny **modrou barvou**, denitrifikační mikroorganismy **zelenou barvou** a denitrifikační mikroorganismy schopné degradace alespoň jednoho ze sledovaných pesticidů **fialovou barvou**. Pro rozlišení mezi bakteriálními taxony a taxony jednobuněčných

¹ Bakteriální rod *Shinella* byl detekován ve velmi nízké abundanci ve vzorcích RV 2 (0,02 %), RV 3 (0,03 %) a Carrier 1 (0,09 %).

eukaryot je procentuální zastoupení jednobuněčných eukaryotických mikroorganismů vyznačeno **oranžovou barvou**. Ve vzorcích vody a sedimentů byly identifikovány všechny základní skupiny nálevníků (rozlišení dle pohybu a výskytu), konkrétně volně žijící nálevníci rodu *Tetrahymena* ve vodních vzorcích VPH 1, VNH 1 a VNH 2, nálevníci přisedlí k povrchu rodů *Opercularia* a *Carchesium* ve vodním vzorku VPH 1 a ve vzorku sedimentu SPH 2 a nálevníci lezoucí po povrchu rodu *Stylonychia* ve vzorcích sedimentů SPH 2, SPH 3 a SPH 5. Ve vzorcích vody i sedimentů byly dále identifikovány zelené řasy *Chloromonas*, *Planophila* a *Pseudendoconiopsis*, zejména v říjnovém odběru. Kromě jednobuněčných eukaryotických mikroorganismů byla ve vodních vzorcích a zejména ve vzorcích sedimentů zaznamenána DNA pravděpodobně z výtrusů mnohobuněčných hub, konkrétně šupinovky (*Flammula*), límcovky (*Stropharia*), hříbu (*Imleria*), hadovky (*Phallus*), lesklokorky ploské (*Ganoderma applanatum*) a kornatce (*Subulicystidium*).

Ve vzorku **VPH 1** byly dominantní mikrobiální taxony:

- *Aurantimicrobium* z čeledě *Microbacteriaceae* (2,9 %),
- *Pseudarcicella* z čeledě *Spirosomaceae* (2,8 %),
- **Flavobacterium** z čeledě *Crocinitomicaceae* (3,7 %),
- *Polynucleobacter* z čeledě *Oxalobacteraceae* (5,5 %),
- **Limnohabitans** z čeledě *Oxalobacteraceae* (32,1 %),
- **Malikia** z čeledě *Nitrosomonadaceae* (13,9 %),
- **Rhodoferax** z čeledě *Comamonadaceae* (6,7 %),
- **Methylotenera** z čeledě *Comamonadaceae* (7,4 %),
- *Tetrahymena* z čeledě *Tetrahymenidae* (25 %),
- *Opercularia* z čeledě *Operculariidae* (47 %),
- *Cladosporium* z čeledě *Cladosporiaceae* (3,5 %),
- *Ganoderma* z čeledě *Ganodermataceae* (19,3 %).

Ve vzorku **VNH 1** byly dominantní mikrobiální taxony:

- *Aurantimicrobium* z čeledě *Microbacteriaceae* (2,9 %),
- *Pseudarcicella* z čeledě *Spirosomaceae* (4,6 %),
- *Fluviicola* z čeledě *Flavobacteriaceae* (4,4 %),
- **Flavobacterium** z čeledě *Crocinitomicaceae* (11 %),
- **Novosphingobium** z čeledě *Sphingomonadaceae* (3,9 %),
- *Polynucleobacter* z čeledě *Oxalobacteraceae* (6,2 %),
- **Aquabacterium** z čeledě *Oxalobacteraceae* (5,1 %),
- **Limnohabitans** z čeledě *Oxalobacteraceae* (27,7 %),
- **Malikia** z čeledě *Nitrosomonadaceae* (2,7 %),
- **Rhodoferax** z čeledě *Comamonadaceae* (4,1 %),
- **Methylotenera** z čeledě *Comamonadaceae* (9,4 %),
- *Tetrahymena* z čeledě *Tetrahymenidae* (38,8 %),
- *Tetracladium* z čeledě *Helotiaceae* (7 %),
- *Botrytis* z čeledě *Sclerotiniaceae* (5,5 %),
- *Ganoderma* z čeledě *Ganodermataceae* (3,6 %),
- *Pseudendoconiopsis* z čeledě *Ulotrichaceae* (2,6 %).

Ve vzorku **VPH 2** byly dominantní mikrobiální taxony:

- *Pseudarcicella* z čeledě *Spirosomaceae* (10,9 %),
- **Flavobacterium** z čeledě *Crocinitomicaceae* (4,2 %),
- *Sediminibacterium* z čeledě *Chitinophagaceae* (2,8 %),
- *Pseudorhodobacter* z čeledě **Rhodobacteraceae** (5,7 %),
- **Rhodobacter** z čeledě **Rhodobacteraceae** (3,6 %),
- **Novosphingobium** z čeledě *Sphingomonadaceae* (6,1 %),
- *Sphingorhabdus* z čeledě *Sphingomonadaceae* (3,4 %),
- *Polynucleobacter* z čeledě *Oxalobacteraceae* (6,1 %),
- **Limnohabitans** z čeledě *Oxalobacteraceae* (27,5 %),
- **Rhodoferax** z čeledě *Comamonadaceae* (4,3 %),
- **Methylotenera** z čeledě *Comamonadaceae* (2,8 %),
- **Herbaspirillum** z čeledě *Comamonadaceae* (4,7 %),
- *Pithomyces* z čeledě *Pleosporaceae* (3 %),
- *Ganoderma* z čeledě *Ganodermataceae* (4,4 %),
- *Chloromonas* z čeledě *Chlamydomonadaceae* (82,1 %).

Ve vzorku **VNH 2** byly dominantní mikrobiální taxony:

- *Pseudarcicella* z čeledě *Spirosomaceae* (9,2 %),
- **Flavobacterium** z čeledě *Crocinitomicaceae* (8,6 %),
- **Pseudarcobacter** z čeledě *Arcobacteraceae* (2,7 %),
- *Pseudorhodobacter* z čeledě **Rhodobacteraceae** (4,7 %),
- **Rhodobacter** z čeledě **Rhodobacteraceae** (4,1 %),
- **Novosphingobium** z čeledě *Sphingomonadaceae* (6,6 %),
- *Sphingorhabdus* z čeledě *Sphingomonadaceae* (4,5 %),
- *Polynucleobacter* z čeledě *Oxalobacteraceae* (7,9 %),
- **Limnohabitans** z čeledě *Oxalobacteraceae* (22 %),
- **Rhodoferax** z čeledě *Comamonadaceae* (3,9 %),
- **Herbaspirillum** z čeledě *Comamonadaceae* (5 %),
- *Tetrahymena* z čeledě *Tetrahymenidae* (5,1 %),
- *Cladosporium* z čeledě *Cladosporiaceae* (5,6 %),
- *Plectosphaerella* z čeledě *Plectosphaerellaceae* (2,8 %),
- *Ganoderma* z čeledě *Ganodermataceae* (3,4 %),
- *Bullera* z čeledě *Bulleraceae* (3,6 %),
- *Vishniacozyma* z čeledě *Bulleribasidiaceae* (2,6 %),
- *Chloromonas* z čeledě *Chlamydomonadaceae* (69,2 %).

Ve vzorku **SPH 1** byly dominantní mikrobiální taxony:

- *Nocardioides* z čeledě *Nocardioideaceae* (10,1 %),
- *Gaiella* z čeledě *Gaiellaceae* (4,3 %),
- ***Brevundimonas*** z čeledě *Caulobacteraceae* (2,5 %),
- ***Bradyrhizobium*** z čeledě *Devosiaaceae* (8,2 %),
- ***Novosphingobium*** z čeledě *Sphingomonadaceae* (3,6 %),
- *Sphingomonas* z čeledě *Sphingomonadaceae* (3,7 %),
- *Ellin6067* z čeledě *Comamonadaceae* (3,1 %),
- ***Massilia*** z čeledě *Burkholderiaceae* (3,2 %),
- ***Arenimonas*** z čeledě *Xanthomonadaceae* (9,4 %),
- ***Thermomonas*** z čeledě *Xanthomonadaceae* (4,8 %),
- *Cladosporium* z čeledě *Cladosporiaceae* (2,6 %),
- *Pyrenochaetopsis* z čeledě *Cucurbitariaceae* (5,5 %),
- *Didymella* z čeledě *Didymellaceae* (5,3 %),
- *Pyrenopeziza* z čeledě *Dermateaceae* (2,9 %),
- *Tetracladium* z čeledě *Helotiaceae* (12 %),
- *Cadophora* z čeledě *Ploettnerulaceae* (3,1 %),
- ***Fusarium*** z čeledě *Nectriaceae* (7 %),
- *Truncatella* z čeledě *Bartaliniaceae* (9,4 %),
- *Phallus* z čeledě *Phallaceae* (3,3 %),
- *Ganoderma* z čeledě *Ganodermataceae* (11,6 %),
- *Vishniacozyma* z čeledě *Bulleribasidiaceae* (2,7 %),
- *Saitozyma* z čeledě *Trimorphomycetaceae* (3,9 %),
- *Pseudendoconiopsis* z čeledě *Ulotrichaceae* (2,9 %).

Ve vzorku **SPH 2** byly dominantní mikrobiální taxony:

- *Nocardioides* z čeledě *Nocardioideaceae* (9,1 %),
- *Gaiella* z čeledě *Gaiellaceae* (4,5 %),
- ***Bradyrhizobium*** z čeledě *Devosiaaceae* (9,8 %),
- ***Novosphingobium*** z čeledě *Sphingomonadaceae* (3,6 %),
- *Sphingomonas* z čeledě *Sphingomonadaceae* (2,6 %),
- *Ellin6067* z čeledě *Comamonadaceae* (2,6 %),
- ***Arenimonas*** z čeledě *Xanthomonadaceae* (8,5 %),
- ***Thermomonas*** z čeledě *Xanthomonadaceae* (3,2 %),
- *Carchesium* z čeledě *Vorticellidae* (8,8 %),
- *Stylonychia* z čeledě *Oxytrichidae* (3 %),
- *Pyrenochaetopsis* z čeledě *Cucurbitariaceae* (4 %),
- *Didymella* z čeledě *Didymellaceae* (5,9 %),
- *Venturia* z čeledě *Venturiaceae* (2,8 %),
- *Tetracladium* z čeledě *Helotiaceae* (4 %),
- *Plectosphaerella* z čeledě *Plectosphaerellaceae* (3 %),
- ***Fusarium*** z čeledě *Nectriaceae* (2,5 %),
- *Truncatella* z čeledě *Bartaliniaceae* (4,5 %),
- *Physalospora* z čeledě *Hyponectriaceae* (2,7 %),
- *Flammula* z čeledě *Strophariaceae* (2,6 %),
- *Ganoderma* z čeledě *Ganodermataceae* (19,9 %),
- *Saitozyma* z čeledě *Trimorphomycetaceae* (3,3 %),
- *Pseudendoconiopsis* z čeledě *Ulotrichaceae* (4,7 %).

Ve vzorku **SPH 3** byly dominantní mikrobiální taxony:

- *Nocardioides* z čeledě *Nocardioideaceae* (4,5 %),
- *Gaiella* z čeledě *Gaiellaceae* (2,7 %),
- ***Bradyrhizobium*** z čeledě *Devosiaaceae* (7,9 %),
- ***Novosphingobium*** z čeledě *Sphingomonadaceae* (6,9 %),
- ***Rhodoferax*** z čeledě *Comamonadaceae* (3,7 %),
- *Ellin6067* z čeledě *Comamonadaceae* (3,5 %),
- ***Arenimonas*** z čeledě *Xanthomonadaceae* (10,6 %),
- ***Thermomonas*** z čeledě *Xanthomonadaceae* (7,5 %),
- *Stylonychia* z čeledě *Oxytrichidae* (14,4 %),
- *Pyrenochaetopsis* z čeledě *Cucurbitariaceae* (4 %),
- *Didymella* z čeledě *Didymellaceae* (4 %),
- *Venturia* z čeledě *Venturiaceae* (3,6 %),
- *Pyrenopeziza* z čeledě *Dermateaceae* (3,7 %),
- *Lemonniera* z čeledě *Discinellaceae* (3,3 %),
- *Tetracladium* z čeledě *Helotiaceae* (4 %),
- *Plectosphaerella* z čeledě *Plectosphaerellaceae* (3,2 %),
- *Imleria* z čeledě *Boletaceae* (7,2 %),
- *Ganoderma* z čeledě *Ganodermataceae* (11,7 %),
- *Planophila* z čeledě *Chaetopeltidaceae* (2,6 %),
- *Pseudendoconiopsis* z čeledě *Ulotrichaceae* (10,5 %).

Ve vzorku **SPH 4** byly dominantní mikrobiální taxony:

- *Subgroup 10* z čeledě *Thermoanaerobaculaceae* (2,7 %),
- *Nocardioides* z čeledě *Nocardioideaceae* (5,4 %),
- ***Bradyrhizobium*** z čeledě *Devosiaaceae* (8,3 %),
- ***Novosphingobium*** z čeledě *Sphingomonadaceae* (4,4 %),
- *Rhizobacter* z čeledě *Methylophilaceae* (2,8 %),
- *Ellin6067* z čeledě *Comamonadaceae* (4,1 %),
- ***Arenimonas*** z čeledě *Xanthomonadaceae* (12,6 %),
- ***Thermomonas*** z čeledě *Xanthomonadaceae* (3,1 %),
- *Pyrenochaetopsis* z čeledě *Cucurbitariaceae* (4,3 %),
- *Didymella* z čeledě *Didymellaceae* (3,6 %),
- *Tetracladium* z čeledě *Helotiaceae* (4 %),
- *Geotrichum* z čeledě *Dipodascaceae* (4,8 %),
- *Imleria* z čeledě *Boletaceae* (6,4 %),
- *Phallus* z čeledě *Phallaceae* (3,7 %),
- *Ganoderma* z čeledě *Ganodermataceae* (24,7 %),
- *Subulicystidium* z čeledě *Hydnodontaceae* (6,9 %),
- *Vishniacozyma* z čeledě *Bulleribasidiaceae* (8,9 %),
- *Saitozyma* z čeledě *Trimorphomycetaceae* (2,8 %),
- *Pseudendoconiopsis* z čeledě *Ulotrichaceae* (4,2 %).

Ve vzorku **SPH 5** byly dominantní mikrobiální taxony:

- *Nocardioides* z čeledě *Nocardioideaceae* (12,4 %),
- *Gaiella* z čeledě *Gaiellaceae* (5,7 %),
- **Flavobacterium** z čeledě *Crocinitomicaceae* (4,6 %),
- *Nitrospira* z čeledě *Nitrospiraceae* (3 %),
- **Bradyrhizobium** z čeledě *Devosiaceae* (10,5 %),
- **Novosphingobium** z čeledě *Sphingomonadaceae* (4,4 %),
- *Ellin6067* z čeledě *Comamonadaceae* (2,8 %),
- **Arenimonas** z čeledě *Xanthomonadaceae* (9,9 %),
- *Stylonychia* z čeledě *Oxytrichidae* (2,7 %),
- *Didymella* z čeledě *Didymellaceae* (2,7 %),
- *Tetracladium* z čeledě *Helotiaceae* (5,2 %),
- *Flammula* z čeledě *Strophariaceae* (2,6 %),
- *Ganoderma* z čeledě *Ganodermataceae* (16,8 %),
- *Saitozyma* z čeledě *Trimorphomycetaceae* (2,7 %),
- *Pseudocloniopsis* z čeledě *Ulotrichaceae* (47,9 %).

Ve vzorku **SNH 1** byly dominantní mikrobiální taxony:

- *Nocardioides* z čeledě *Nocardioideaceae* (6,9 %),
- *Gaiella* z čeledě *Gaiellaceae* (4,1 %),
- **Flavobacterium** z čeledě *Crocinitomicaceae* (3,5 %),
- *Nitrospira* z čeledě *Nitrospiraceae* (3,2 %),
- **Bradyrhizobium** z čeledě *Devosiaceae* (8,7 %),
- **Novosphingobium** z čeledě *Sphingomonadaceae* (4 %),
- *Ellin6067* z čeledě *Comamonadaceae* (3,6 %),
- **Arenimonas** z čeledě *Xanthomonadaceae* (10,5 %),
- *Didymella* z čeledě *Didymellaceae* (6,5 %),
- *Pyrenopeziza* z čeledě *Dermateaceae* (4,4 %),
- *Lemonniera* z čeledě *Discinellaceae* (6 %),
- *Tetracladium* z čeledě *Helotiaceae* (3,3 %),
- *Flammula* z čeledě *Strophariaceae* (3,5 %),
- *Imleria* z čeledě *Boletaceae* (2,9 %),
- *Phallus* z čeledě *Phallaceae* (3,7 %),
- *Ganoderma* z čeledě *Ganodermataceae* (32,8 %),
- *Saitozyma* z čeledě *Trimorphomycetaceae* (5,7 %),
- *Pseudocloniopsis* z čeledě *Ulotrichaceae* (7,2 %).

Ve vzorku **RV 1** byly dominantní mikrobiální taxony:

- **Flavobacterium** z čeledě *Crocinitomicaceae* (2,7 %),
- *Pedobacter* z čeledě *Sphingobacteriaceae* (16,8 %),
- **Pseudarcobacter** z čeledě *Arcobacteraceae* (3,6 %),
- *Pseudorhodobacter* z čeledě **Rhodobacteraceae** (3 %),
- **Duganella** z čeledě *Comamonadaceae* (6,7 %),
- **Janthinobacterium** z čeledě *Comamonadaceae* (6,2 %),
- **Massilia** z čeledě *Burkholderiaceae* (12,5 %),
- **Aeromonas** z čeledě *Erwiniaceae* (8 %),
- **Pseudomonas** z čeledě *Pseudomonadaceae* (13,1 %),
- *Angustimassarina* z čeledě *Amorosiaceae* (7,1 %),
- *Neocucurbitaria* z čeledě *Cucurbitariaceae* (4,8 %),
- *Parafenestella* z čeledě *Cucurbitariaceae* (4 %),
- **Penicillium** z čeledě *Aspergillaceae* (2,6 %),
- *Cryptosphaeria* z čeledě *Valsaceae* (7,1 %),
- *Phaeoisaria* z čeledě *Pleurotheciaceae* (11,6 %),
- *Thyridium* z čeledě *Thyridiaceae* (4,6 %),
- *Cryptosphaeria* z čeledě *Diatrypaceae* (3 %),
- *Vishniacozyma* z čeledě *Bulleribasidiaceae* (2,6 %),
- *Cryptococcus* z čeledě *Tremellaceae* (8 %),
- *Tremella* z čeledě *Tremellaceae* (13,9 %).

Ve vzorku **RV 2** byly dominantní mikrobiální taxony:

- **Flavobacterium** z čeledě *Crocinitomicaceae* (16,2 %),
- *Pedobacter* z čeledě *Sphingobacteriaceae* (11 %),
- **Brevundimonas** z čeledě *Caulobacteraceae* (3,1 %),
- **Novosphingobium** z čeledě *Sphingomonadaceae* (3 %),
- *Variovorax* z čeledě *Comamonadaceae* (2,7 %),
- *Angustimassarina* z čeledě *Amorosiaceae* (7,8 %),
- *Didymella* z čeledě *Didymellaceae* (4,1 %),
- **Penicillium** z čeledě *Aspergillaceae* (2,7 %),
- *Pyrenopeziza* z čeledě *Dermateaceae* (3 %),
- *Geotrichum* z čeledě *Dipodascaceae* (6,5 %),
- *Cryptosphaeria* z čeledě *Valsaceae* (2,7 %),
- **Trichoderma** z čeledě *Hypocreaceae* (3,1 %),
- **Duganella** z čeledě *Comamonadaceae* (7,5 %),
- **Janthinobacterium** z čeledě *Comamonadaceae* (6,3 %),
- **Massilia** z čeledě *Burkholderiaceae* (11,6 %),
- *Erwinia* z čeledě *Aeromonadaceae* (3,7 %),
- **Pseudomonas** z čeledě *Pseudomonadaceae* (13,3 %),
- *Phaeoisaria* z čeledě *Pleurotheciaceae* (6,8 %),
- *Vishniacozyma* z čeledě *Bulleribasidiaceae* (8,4 %),
- *Cryptococcus* z čeledě *Tremellaceae* (5,4 %),
- *Tremella* z čeledě *Tremellaceae* (11,4 %),
- *Mortierella* z čeledě *Mortierellaceae* (2,9 %),
- *Chloromonas* z čeledě *Chlamydomonadaceae* (7 %).

Ve vzorku **RV 3** byly dominantní mikrobiální taxony:

- **Flavobacterium** z čeledě *Crocinitomicaceae* (5,2 %),
- **Pseudarcobacter** z čeledě *Arcobacteraceae* (9,2 %),
- **Acidovorax** z čeledě *Oxalobacteraceae* (11,4 %),
- **Malikia** z čeledě *Nitrosomonadaceae* (7,8 %),
- **Rhodoferax** z čeledě *Comamonadaceae* (4,8 %),
- *Cladosporium* z čeledě *Cladosporiaceae* (17,5 %),
- *Didymella* z čeledě *Didymellaceae* (3,9 %),
- **Penicillium** z čeledě *Aspergillaceae* (7,6 %),
- *Cadophora* z čeledě *Ploettnerulaceae* (4,2 %),
- *Pseudeurotium* z čeledě *Pseudeurotiaceae* (3,7 %),

- **Sphaerotilus** z čeledě Comamonadaceae (26,3 %),
- **Methylotenera** z čeledě Comamonadaceae (3,2 %),
- **Phaeoisaria** z čeledě Pleurotheciaceae (26,6 %).

Ve vzorku **Carrier 1** byly dominantní mikrobiální taxony:

- *Nocardioides* z čeledě Nocardioideaceae (5,6 %),
- **Streptomyces** z čeledě Streptomycetaceae (3 %),
- **Flavobacterium** z čeledě Crocinitomicaceae (17,4 %),
- *Pedobacter* z čeledě Sphingobacteriaceae (6,6 %),
- **Brevundimonas** z čeledě Caulobacteraceae (8,6 %),
- **Devosia** z čeledě Xanthobacteraceae (3,6 %),
- **Rhizobium** z čeledě Rhizobiaceae (7,8 %),
- *Sphingomonas* z čeledě Sphingomonadaceae (3,8 %),
- **Pseudomonas** z čeledě Pseudomonadaceae (11,7 %),
- *Angustimassarina* z čeledě Amrosiaceae (9,8 %),
- *Pyrenopeziza* z čeledě Dermateaceae (4,7 %),
- *Tetracladium* z čeledě Helotiaceae (17,2 %),
- *Cadophora* z čeledě Ploettnerulaceae (5,5 %),
- *Phaeoisaria* z čeledě Pleurotheciaceae (4,3 %),
- *Thyridium* z čeledě Thyridiaceae (27,7 %),
- *Stropharia* z čeledě Strophariaceae (23,8 %).

5 LITERATURA

ALDOSSARI, Noufa Satoshi ISHII, 2021. Fungal denitrification revisited – Recent advancements and future opportunities. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. 157, 108250. ISSN 0038-0717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2021.108250

ČR 1994: Vyhláška Ministerstva životního prostředí ze dne 29. prosince 1993, kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu.

EU 2022: Návrh směrnice Evropského parlamentu a Rady COM(2022) 540 final ze dne 26.10.2022, kterou se mění směrnice 2000/60/ES, kterou se stanoví rámec pro činnost Společenství v oblasti vodní politiky, směrnice 2006/118/ES o ochraně podzemních vod před znečištěním a zhoršováním stavu a směrnice 2008/105/ES o normách environmentální kvality v oblasti vodní politiky.

FAROOQ, S., Hashmi IMRAN, Muhammad ARSHAD a Ishtiaq QAZI, 2013. Acetanilide herbicide degradation using indigenous soil microorganisms [online]. ISBN 978-1-84564-744-5. Dostupné z: doi:10.2495/SAFE130611

GU, Tao, Li Na SUN, Jun ZHANG, Xin Hua SUI a Shun Peng LI, 2014. *Rhizobium flavum* sp. nov., a triazophos-degrading bacterium isolated from soil under the long-term application of triazophos. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* [online]. 64(Pt_6), 2017-2022. ISSN 1466-5026, 1466-5034. Dostupné z: doi:10.1099/ijs.0.061523-0

GUO, Jing, Xiuli SONG, Rongxing LI, Qi ZHANG, Shengwei ZHENG, Qiucheng LI a Bo TAO, 2022. Isolation of a degrading strain of *Fusarium verticillioides* and bioremediation of glyphosate residue. *Pesticide Biochemistry and Physiology* [online]. 182, 105031. ISSN 0048-3575. Dostupné z: doi:10.1016/j.pestbp.2021.105031

HEYLEN, Kim, Liesbeth LEBBE a PaulYR 2008 DE VOS, 2008. *Acidovorax caeni* sp. nov., a denitrifying species with genetically diverse isolates from activated sludge. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* [online]. 58(1), 73-77. ISSN 1466-5034. Dostupné z: doi:10.1099/ijs.0.65387-0

CHANG, Xingping, Junfeng LIANG, Yang SUN, Lixia ZHAO, Bin ZHOU, Xiaojing LI a Yongtao LI, 2020. Isolation, Degradation Performance and Field Application of the Metolachlor-Degrading Fungus *Penicillium oxalicum* MET-F-1. *Applied Sciences* [online]. 10(23), 8556. ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app10238556

CHEN, Zhaoming, Jinchuan MA, Yinxiu LIU, Jun ZHAO, Junwei MA, Qiaogang YU, Ping ZOU, Hui LIN a Qiang WANG, 2023. Differential responses of soil nirS- and nirK-type denitrifying microbial communities to long-term application of biogas slurry in a paddy soil. *Applied Soil Ecology* [online]. 182, 104711. ISSN 0929-1393. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsoil.2022.104711

CHEN, Zhao, Yuli JIANG, Zhiqiang CHANG, Jiajia WANG, Xiefa SONG, Zhitao HUANG, Shibo CHEN a Jian LI, 2020. Denitrification characteristics and pathways of a facultative anaerobic denitrifying strain, *Pseudomonas denitrificans* G1. *Journal of Bioscience and Bioengineering* [online]. 129(6), 715-722. ISSN 1389-1723. Dostupné z: doi:10.1016/j.jbiosc.2019.12.011

CHEN, Maoxia, Wenchao WANG, Ye FENG, Xiaohua ZHU, Houzhen ZHOU, Zhouliang TAN a Xudong LI, 2014. Impact resistance of different factors on ammonia removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium *Aeromonas* sp. HN-02. *Bioresource Technology* [online]. 167, 456-461. ISSN 09608524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2014.06.001

KORKMAZ, Volkan, Numan YILDIRIM, Gokhan Onder ERGUVEN, Barbaros DURMUS a Yasar NUHOGLU, 2021. The bioremediation of glyphosate in soil media by some newly isolated bacteria: The COD, TOC removal efficiency and mortality assessment for *Daphnia magna*. *Environmental Technology & Innovation* [online]. 22, 101535. ISSN 2352-1864. Dostupné z: doi:10.1016/j.eti.2021.101535

LEE, Hyosun, Dong-Uk KIM, Sooyeon PARK, Jung-Hoon YOON a Jong-Ok KA, 2017. *Massilia chloroacetimidivorans* sp. nov., a chloroacetamide herbicide-degrading bacterium isolated from soil. *Antonie van Leeuwenhoek* [online]. 110(6), 751-758. ISSN 1572-9699. Dostupné z: doi:10.1007/s10482-017-0845-3

LIANG, Yifan, Zengrui PAN, Hongbo FENG, Xiaoyu CHENG, Tao GUO, Anqi YAN a Jun LI, 2022. Biofilm coupled micro-electrolysis of waste iron shavings enhanced iron and hydrogen autotrophic denitrification and phosphate accumulation for wastewater treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering* [online]. 10(6), 108959. ISSN 2213-3437. Dostupné z: doi:10.1016/j.jece.2022.108959

LIU, C.-M., P. A. MCLEAN, C. C. SOOKDEO a F. C. CANNON, 1991. Degradation of the Herbicide Glyphosate by Members of the Family Rhizobiaceae. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. 57(6), 1799-1804. Dostupné z: doi:10.1128/aem.57.6.1799-1804.1991

MANIA, Daniel, Kedir WOLIY, Tulu DEGEFU a Åsa FROSTEGÅRD, 2020. A common mechanism for efficient N₂O reduction in diverse isolates of nodule-forming bradyrhizobia. *Environmental Microbiology* [online]. 22(1), 17-31. ISSN 1462-2912, 1462-2920. Dostupné z: doi:10.1111/1462-2920.14731

MCILROY, Simon Jon, Anna STARNAWSKA, Piotr STARNAWSKI, Aaron Marc SAUNDERS, Marta NIERYCHLO, Per Halkjær NIELSEN a Jeppe Lund NIELSEN, 2016. Identification of active denitrifiers in full-scale nutrient removal wastewater treatment systems. *Environmental Microbiology* [online]. 18(1), 50-64. ISSN 1462-2920. Dostupné z: doi:10.1111/1462-2920.12614

MUSTAKHIMOV, Ildar, Marina G. KALYUZHAYA, Mary E. LIDSTROM a Ludmila CHISTOSERDOVA, 2013. Insights into Denitrification in *Methylobacterium mobilis* from Denitrification Pathway and Methanol Metabolism Mutants. *Journal of Bacteriology* [online]. 195(10), 2207-2211. Dostupné z: doi:10.1128/JB.00069-13

NYKIEL-SZYMAŃSKA, Justyna, Przemysław BERNAT a Mirosława SŁABA, 2020. Biotransformation and detoxification of chloroacetanilide herbicides by *Trichoderma* spp. with plant growth-promoting activities. *Pesticide Biochemistry and Physiology* [online]. 163, 216-226. ISSN 0048-3575. Dostupné z: doi:10.1016/j.pestbp.2019.11.018

OBANDA, Diana N., Todd F. SHUPE a W. James CATALLO, 2008. Resistance of *Trichoderma harzianum* to the biocide tebuconazol - Proposed biodegradation pathways [online]. 62(5), 613-619. ISSN 1437-434X. Dostupné z: doi:10.1515/HF.2008.098

PISHGAR, Roya, John Albino DOMINIC, Zhiya SHENG a Joo Hwa TAY, 2019. Denitrification performance and microbial versatility in response to different selection pressures. *Bioresource Technology* [online]. 281, 72-83. ISSN 0960-8524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2019.02.061

Pániková, K., Weigelhofer, G., Bílková, Z., Malá, J. (2023). Denitrification Assays for Testing Effects of Xenobiotics on Aquatic Denitrification and Their Degradation in Aquatic Environments. *Water* 15(14), 2536. DOI: 10.3390/w15142536.

REBAL, Hadjer, Essam Nageh SHOLKAMY, Reem Mohammed ALHARBI, Neveen ABDEL-RAOUF, Oumeima BOUFERCHA, Paula CASTRO a Allaoueddine BOUDEMAGH, 2023. *Streptomyces* sp. Strain SRH22: A Potential Bioremediation Agent for Glyphosate-Contaminated Agricultural Soils. *Environment and Natural Resources Journal* [online]. 21(6), 1-12. ISSN 16865456, 24082384. Dostupné z: doi:10.32526/enrj/21/20230181

ROSSI, Florent, Louis CARLES, Florence DONNADIEU, Isabelle BATISSON a Joan ARTIGAS, 2021. Glyphosate-degrading behavior of five bacterial strains isolated from stream biofilms. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 420, 126651. ISSN 0304-3894. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2021.126651

RUPRECHT, J. E., S. C. BIRRER, K. A. DAFFORN, S. M. MITROVIC, S. L. CRANE, E. L. JOHNSTON, F. WEMHEUER, A. NAVARRO, A. J. HARRISON, I. L. TURNER a W. C. GLAMORE, 2021. Wastewater effluents cause microbial community shifts and change trophic status. *Water Research* [online]. 200, 117206. ISSN 0043-1354. Dostupné z: doi:10.1016/j.watres.2021.117206

SALEH, A., 2023. Potentiality Assessment of *Acidovorax* sp. and *Aeromonas* sp. for Degradation of Glyphosate and Paraquat Herbicides. e-Proceedings of the Faculty of Agriculture International Conference. 256-260.

SAXENA, A, R W ZHANG a J M BOLLAG, 1987. Microorganisms capable of metabolizing the herbicide metolachlor. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. 53(2), 390-396. Dostupné z: doi:10.1128/aem.53.2.390-396.1987

SHELTON, D. R., S. KHADER, J. S. KARNS a B. M. POGELL, 1996. Metabolism of twelve herbicides by *Streptomyces*. *Biodegradation* [online]. 7(2), 129-136. ISSN 1572-9729. Dostupné z: doi:10.1007/BF00114625

SINGH, Simranjeet, Vijay KUMAR, Jatinder Pal Kaur GILL, Shivika DATTA, Satyender SINGH, Vaishali DHAKA, Dhriti KAPOOR, Abdul Basit WANI, Daljeet Singh DHANJAL, Manoj KUMAR, S. L. HARIKUMAR a Joginder SINGH, 2020. Herbicide Glyphosate: Toxicity and Microbial Degradation. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 17(20), 7519. ISSN 1660-4601. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph17207519

SUN, Zhuanzhuan, Mawuli DZAKPASU, Dongxian ZHANG, Guochen LIU, Zhenzhen WANG, Miaowen QU, Rong CHEN, Xiaochang C. WANG a Yucong ZHENG, 2022. Enantioselectivity and mechanisms of chiral herbicide biodegradation in hydroponic systems. *Chemosphere* [online]. 307, 135701. ISSN 0045-6535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2022.135701

SVIRIDOV, A. V., T. V. SHUSHKOVA, I. T. ERMAKOVA, E. V. IVANOVA, D. O. EPIKTETOV a A. A. LEONTIEVSKY, 2015. Microbial degradation of glyphosate herbicides (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology* [online]. 51(2), 188-195. ISSN 0003-6838, 1608-3024. Dostupné z: doi:10.1134/S0003683815020209

TSUBOUCHI, Taishi, Sumihiro KOYAMA, Kozue MORI, Yasuhiro SHIMANE, Keiko USUI, Maki TOKUDA, Akihiro TAME, Katsuyuki UEMATSU, Tadashi MARUYAMA a Yuji HATADA, 2014. *Brevundimonas denitrificans* sp. nov., a denitrifying bacterium isolated from deep seafloor sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* [online]. 64(Pt_11), 3709-3716. ISSN 1466-5034. Dostupné z: doi:10.1099/ijs.0.067199-0

WANG, Depeng, Kailong HUANG, Xiwei HE, Xu-Xiang ZHANG a Yabing MENG, 2022a. Varied interspecies interactions between anammox and denitrifying bacteria enhanced nitrogen removal in a single-stage simultaneous anammox and denitrification system. *Science of The Total Environment* [online]. 813, 152519. ISSN 0048-9697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2021.152519

WANG, Zhiming, Mengqi ZHENG, Chunhua HE, Zhenhu HU, Yipeng YU a Wei WANG, 2022b. Enhanced treatment of low-temperature and low carbon/nitrogen ratio wastewater by corn-cob-based fixed bed bioreactor coupled sequencing batch reactor. *Bioresource Technology* [online]. 351, 126975. ISSN 0960-8524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2022.126975

WANG, Haicui, Zhaodong LIU, Lei MA, Dandan LI, Kailou LIU, Qinghai HUANG, Bingzi ZHAO a Jiabao ZHANG, 2020a. Denitrification Potential of Paddy and Upland Soils Derived From the Same Parent Material Respond Differently to Long-Term Fertilization. *Frontiers in Environmental Science* [online]. 8 [vid. 2024-01-12]. ISSN 2296-665X. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenvs.2020.00105>

WANG, Zichao, Shengyu YUAN, Zhiwei DENG, Yuejing WANG, Shilong DENG, Youtao SONG, Congting SUN, Naishun BU a Xinruo WANG, 2020b. Evaluating responses of nitrification and denitrification to the co-selective pressure of divalent zinc and tetracycline based on resistance genes changes. *Bioresource Technology* [online]. 314, 123769. ISSN 0960-8524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2020.123769

WU, Haobo, Jinyou SHEN, Xinbai JIANG, Xiaodong LIU, Xiuyun SUN, Jiansheng LI, Weiqing HAN a Lianjun WANG, 2018. Bioaugmentation strategy for the treatment of fungicide wastewater by two triazole-degrading strains. *Chemical Engineering Journal* [online]. 349, 17-24. ISSN 1385-8947. Dostupné z: doi:10.1016/j.cej.2018.05.066

WU, Haobo, Jinyou SHEN, Ruiqin WU, Xiuyun SUN, Jiansheng LI, Weiqing HAN a Lianjun WANG, 2016. Biodegradation mechanism of 1H-1,2,4-triazole by a newly isolated strain

Shinella sp. NJUST26. Scientific Reports [online]. 6(1), 29675. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep29675

XU, Liang, Junfeng SU, Amjad ALI, Qiao CHANG, Jun SHI a Yuzhu YANG, 2022. Denitrification performance of nitrate-dependent ferrous (Fe²⁺) oxidizing Aquabacterium sp. XL4: Adsorption mechanisms of bio-precipitation of phenol and estradiol. Journal of Hazardous Materials [online]. 427, 127918. ISSN 0304-3894. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2021.127918

XUE, Ruikang, Tinglin HUANG, Haihan ZHANG, Shangye YANG, Nan LI a Daojun HUANG, 2023. Aerobic denitrification of oligotrophic source water driven by reduced metal manganese. Chemosphere [online]. 317, 137764. ISSN 0045-6535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2023.137764

YANG, Mo, Dongwei LU, Bida QIN, Qianliang LIU, Yumeng ZHAO, Huiling LIU a Jun MA, 2018. Highly efficient nitrogen removal of a coldness-resistant and low nutrient needed bacterium, Janthinobacterium sp. M-11. Bioresource Technology [online]. 256, 366-373. ISSN 0960-8524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2018.02.049

ZABLOTOWICZ, R. M., D. L. ESKEW a D. D. FOCHT, 1978. Denitrification in Rhizobium. Canadian Journal of Microbiology [online]. 24(6), 757-760. ISSN 0008-4166. Dostupné z: doi:10.1139/m78-126

ZHANG, Haihan, Ben MA, Tinglin HUANG a Yinjie SHI, 2021. Nitrate reduction by the aerobic denitrifying actinomycete Streptomyces sp. XD-11-6-2: Performance, metabolic activity, and micro-polluted water treatment. Bioresource Technology [online]. 326, 124779. ISSN 0960-8524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2021.124779

ZHOU, Beibei, Jingjing DUAN, Lihong XUE, Jianwei ZHANG a Linzhang YANG, 2019. Effect of plant-based carbon source supplements on denitrification of synthetic wastewater: focus on the microbiology. Environmental Science and Pollution Research [online]. 26(24), 24683-24694. ISSN 1614-7499. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-019-05454-x