



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí



Půdní ekotoxikologie v Centru pro výzkum toxických látek v prostředí

Doc. RNDr. Jakub Hofman, Ph.D.

hofman@recetox.muni.cz

Úvod



Proč nás zajímá půda ?



- Klíčová složka přírody, neobnovitelný přírodní zdroj
- Produkční schopnosti půdy
- Počátek i konec potravního řetězce a cyklů látek
- Filtrační a dekontaminační prostředí
- Zásobárna biodiverzity



Půda je v ohrožení - celosvětově

→ **NUTNOST UDRŽENÍ PŮDNÍ KVALITY A ZDRAVÍ**



JAK LZE PŮDU CHRÁNIT ?

- Politika a legislativa
- Výchova, vzdělávání, komunikace
- Výzkum





Půdní ekotoxikologie

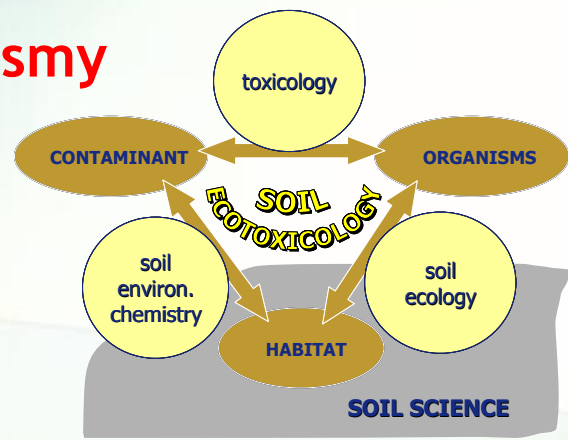
- zkoumá efekty kontaminace na **půdní organismy**

ROLE:

Výzkumná podpora ochrany půdy proti kontaminaci a dalším stresorům (vědecká báze ochrany půd)

ÚKOL:

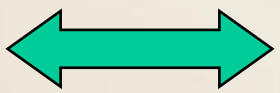
Sledovat vztahy mezi organismy a kontaminanty v půdním prostředí v celé jeho komplexnosti ... **A** vyvozovat závěry, navrhopvat řešení a nástroje pro účinnou a racionální ochranu půd ...



HLAVNÍ AKTIVITY

Vývoj **nástrojů** použitelných v rutinní praxi

- Testování chemikálií a přípravků
- Testování odpadů, kalů
- Hodnocení kvality půd

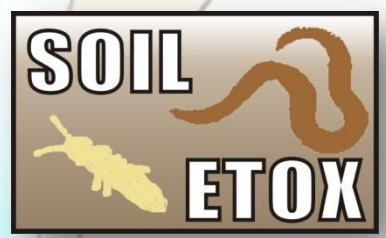


Vědecký **výzkum** komplexních témat jako:

- Osud kontaminantů v půdě a biodostupnost
- Toxicita směsí
- Biodiversita apod.....



Skupina půdní ekotoxikologie

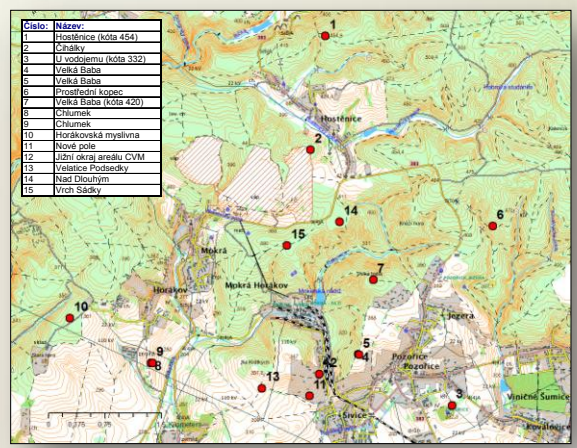
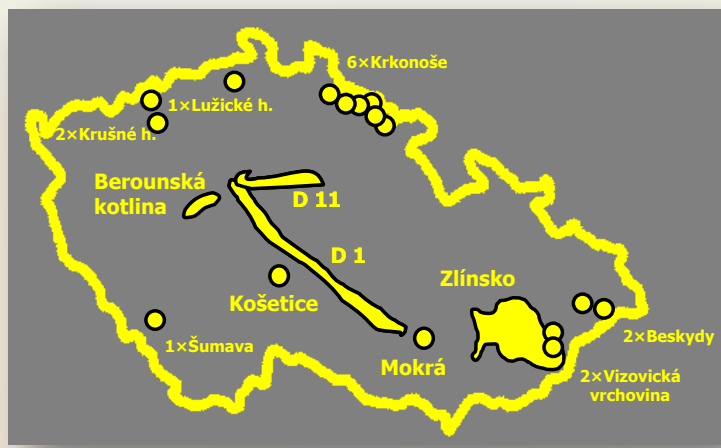


(Bio)monitoring pūd



Monitoring půd prováděný centrem RECETOX

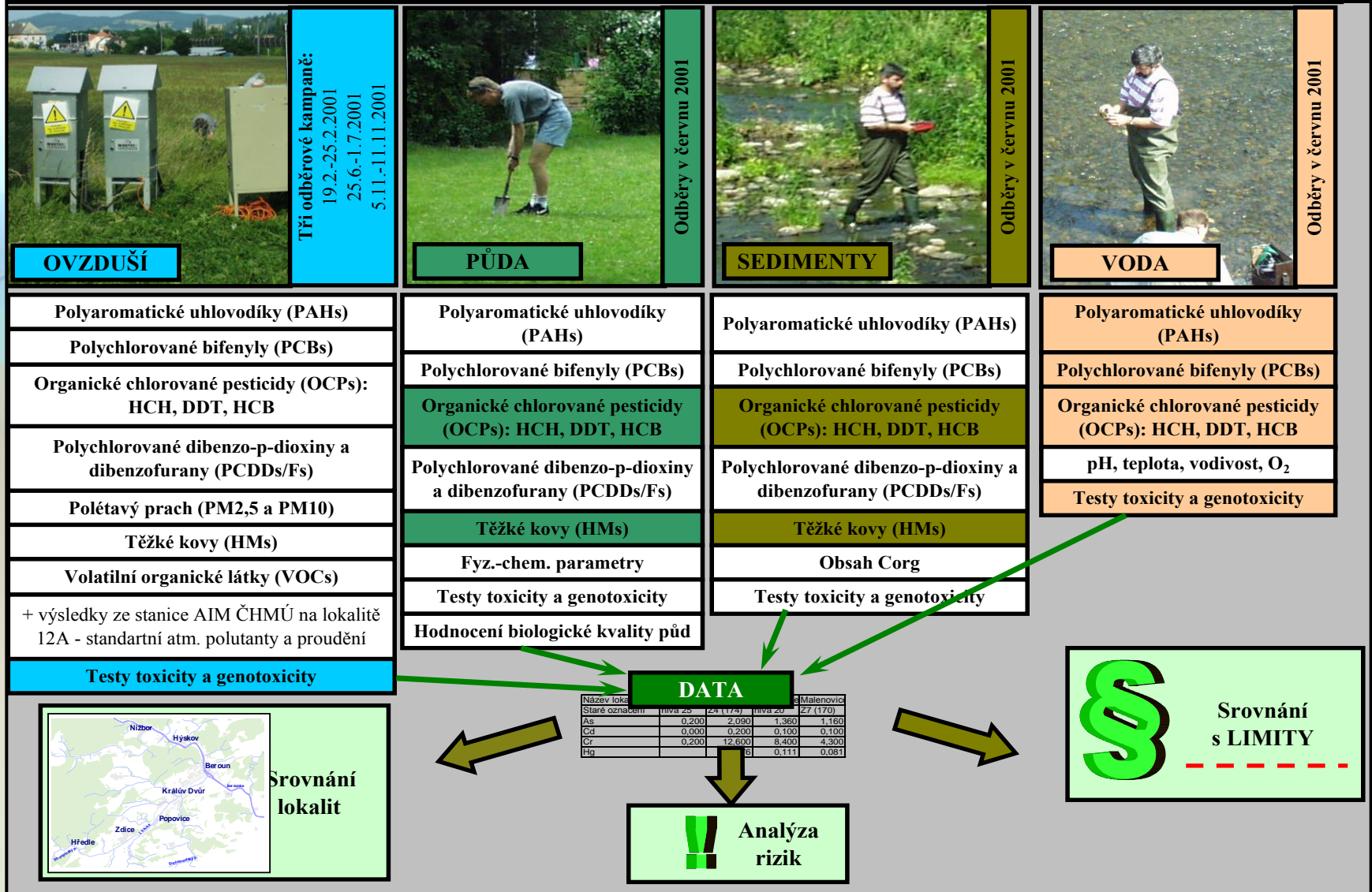
- **Rozsáhlá síť lokalit:**
 - regionální pozad'ový monitoring na observatoři Košetice
 - monitoring lesních ekosystémů
 - půdy v okolí průmyslových zdrojů (cementárna Mokrá či Beroun)
 - půdy zatížených regionech (Zlínsko, Liberecko, Berounsko ...)
 - půdy v okolí silnic a dálnic
 - nivní půdy v celé ČR
- zahrnuje několik set lokalit a tisíce vzorků (opakování kampaní)





Komplexní studie

- Zaostřeno nejen na půdu!



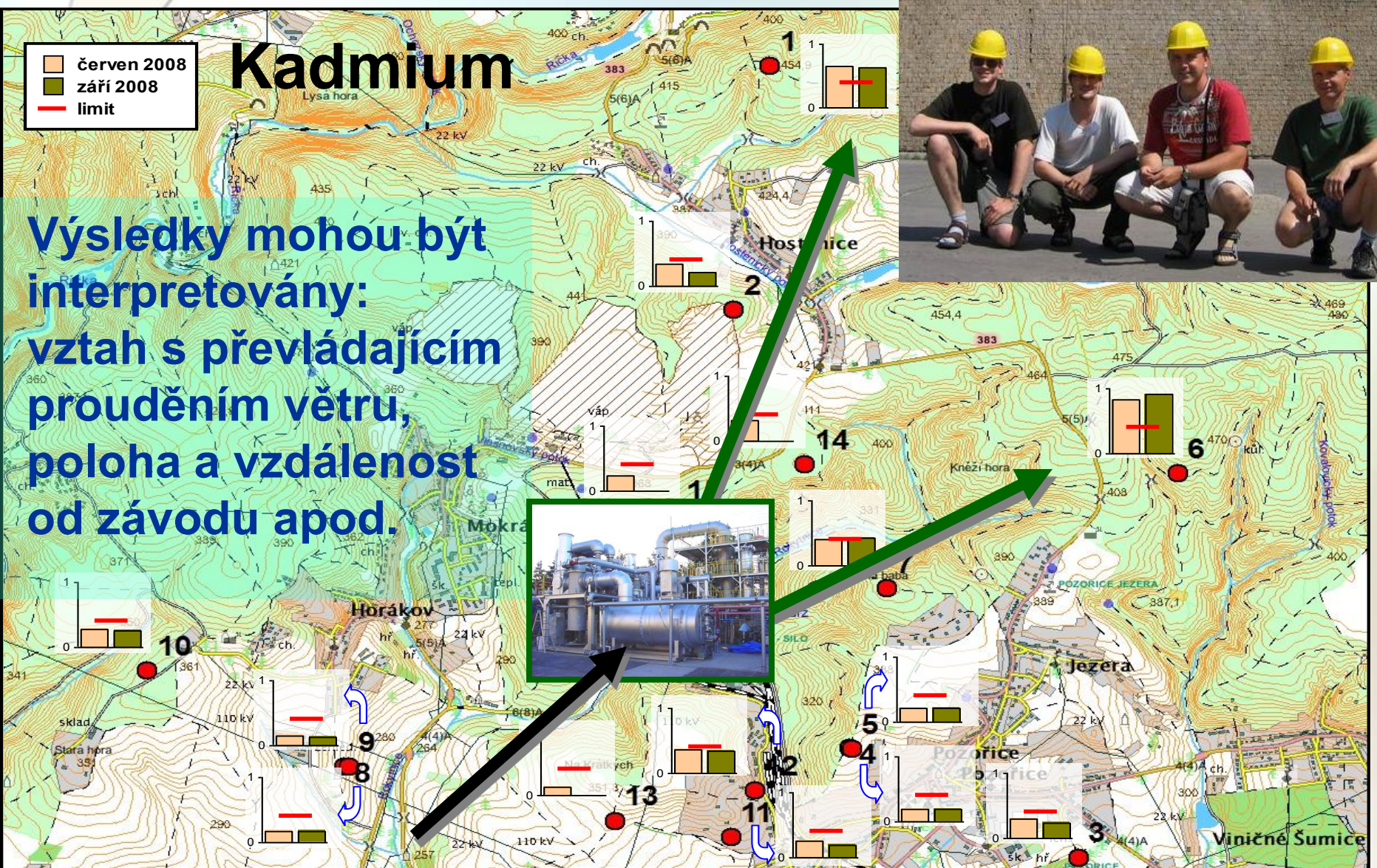


Studie vlivu průmyslových zdrojů

červen 2008
 září 2008
 limit

Kadmium

**Výsledky mohou být interpretovány:
 vztah s převládajícím prouděním větru,
 poloha a vzdálenost od závodu apod.**





Základní baterie mikrobiálních parametrů

- velikost mikrobiální biomasy **C_{bio}**
- respirační aktivita - bazální respirace - **BR** a substrátem indukovaná respirace - **SIR**, respirometrie - **OxiTOP**



Example of application using MG/... measuring vessels

- mineralizace dusíku: amonifikace a nitrifikace (**AMO**, **NIT**) či potenciální amonifikace a nitrifikace (**PAMO**, **PAO**)
- enzymatické aktivity (dehydrogenázová aktivita)
- diverzita společenstva půdních mikroorganismů



Příklady studentských prací - půdní mikrobiologie

Diplomky:

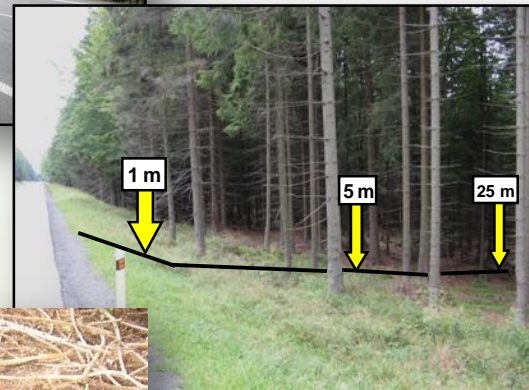
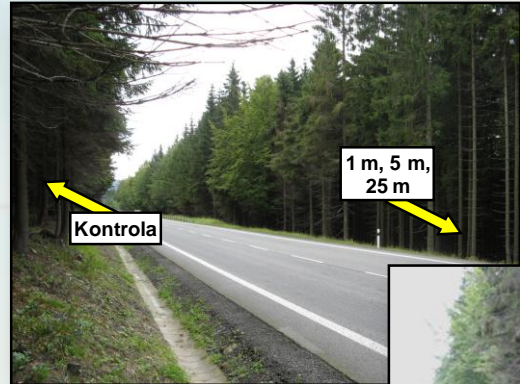
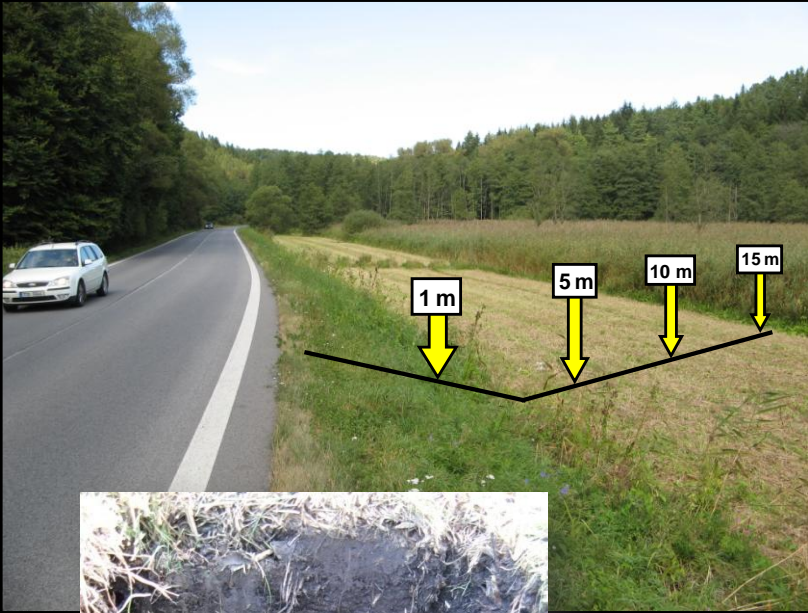
- Metodická standardizace kinetických testů substrátem indukované respirace u kontaminovaných půd
- Testování vlivu POPs na půdní mikrobiální společenstva - laboratorní kultivace jako standardní test ekotoxicity
- Validace metody hodnocení funkční diverzity systémem BIOLOG pro ekotoxikologické studie
- Validace a optimalizace postupů odběrů, transportu a úpravy vzorků půd pro mikrobiální analýzy
- Vliv zimního chemického ošetření silnic na mikrobiální společenstvo okolních půd

Disertace:

- Efekty perzistentních organických polutantů (POPs) na vybrané parametry půdních mikrobiálních společenstev
- Výzkum půdních mikroorganismů na úrovni biomasy, procesu a společenstva



Vliv solení na půdní chemismus a MO



Půdní ekotoxikologické biotesty



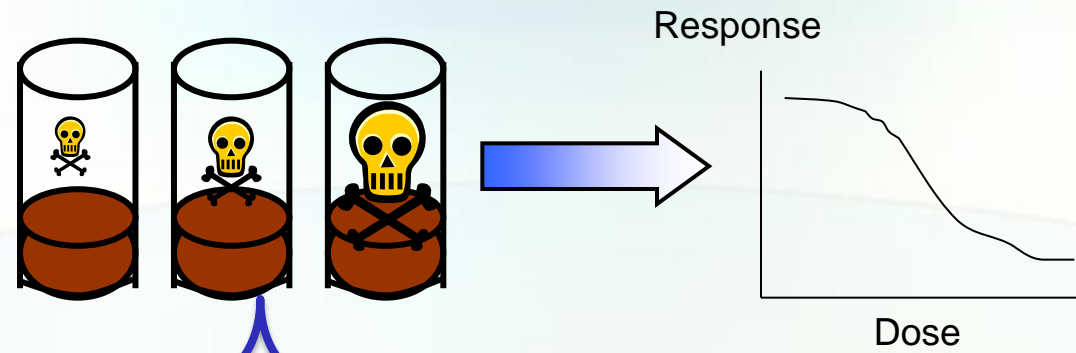
Proč ekotoxikologické biotesty ?

CHEMICKÉ ANALÝZY samotné NEDOKÁŽOU postihnout reálné riziko pro živé organismy:

- 1) reálná expozice se liší podle **biodostupnosti** toxických látek v dané situaci,
- 2) jde vždy o **směs toxikantů**, která působí jinak než jednotlivé toxikanty zvlášť
- 3) Negativní **vlivy matrice** samotné bez ohledu na obsah toxikantů a interakce vlivu matrice s efekty toxikantů
- 4) spektrum analytických metod (tedy i limitů) je omezené a ve vzorku mohou být přítomny **neanalyzované** významně toxické látky



Půdní biotesty - koncepce

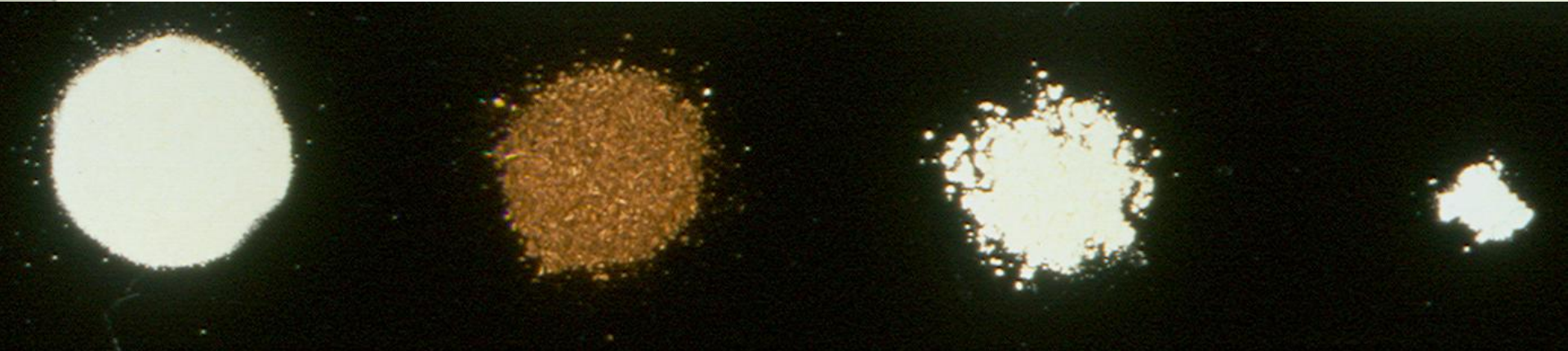


1. Testuje se chemická látka → koncentrační řada, např. 1, 10, 100, 1000 mg Cd / kg_{suché půdy}
2. Testuje se materiál typu kontaminovaná půda, sediment, kal ČOV apod. → koncentrační řada vzniká „ředěním“ s referenční půdou, např. 10, 20, 40, 80, 100 % kalu s čistou půdou



Artificiální půda

- 10% Suchá a jemně namletá rašelina
- 20% Kaolinitový jíl obsahující minimálně 30% kolinitu
- 70% Křemenný písek jemný obsahující minimálně 50% zrn o velikosti 0,05 - 0,2 mm
- 0,3 - 1% Uhličitanu vápenatého, který je přidán tak, aby výsledné pH bylo $6 \pm 0,5$



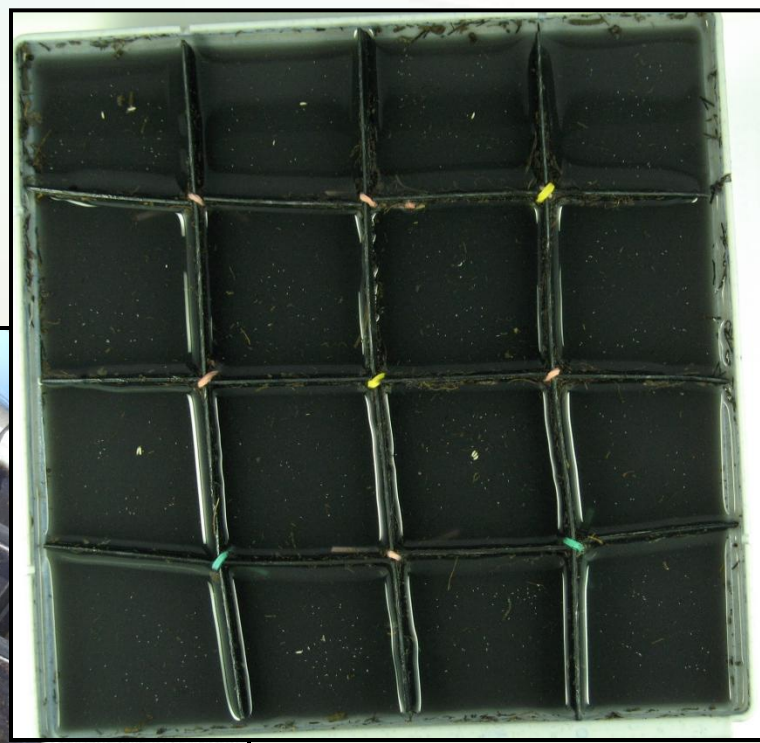
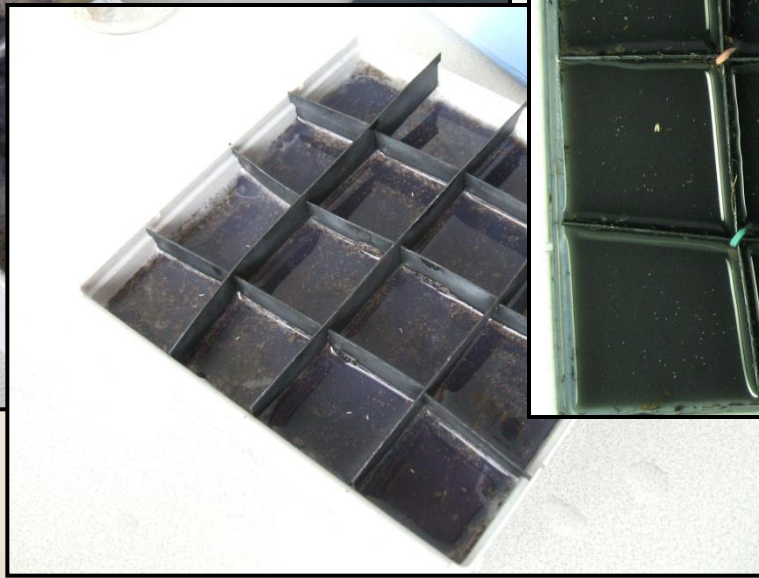
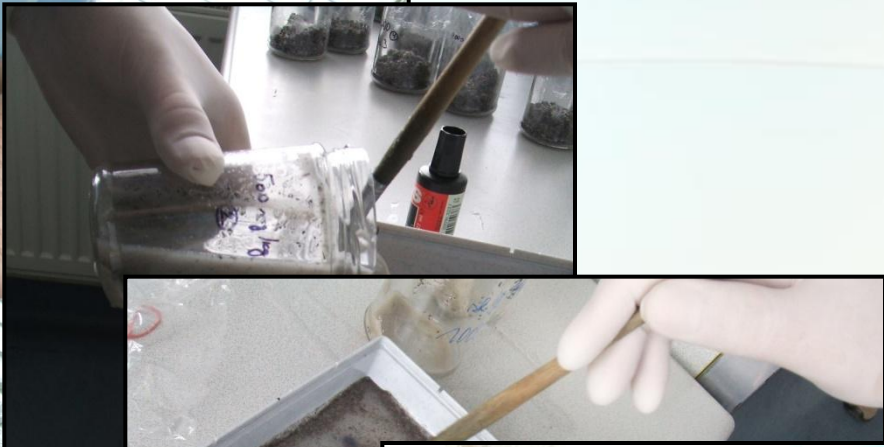


Test s chvostoskokem *Folsomia candida*

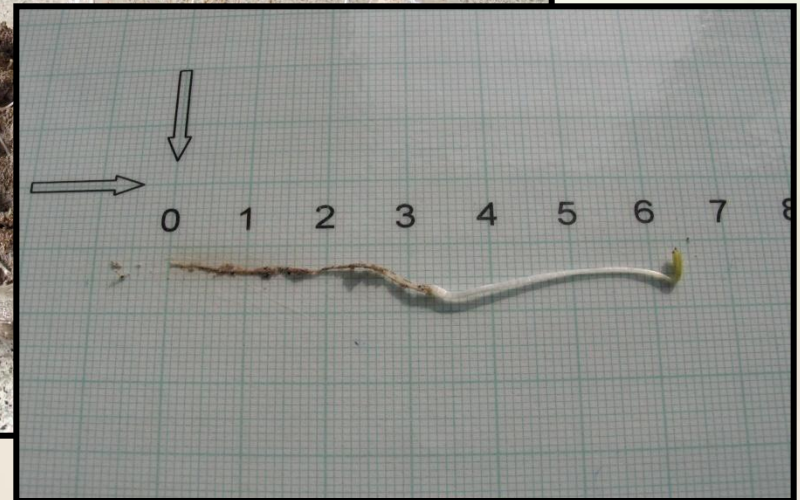




Test s chvostoskokem *Folsomia candida*



Test se salátem *Lactuca sativa*





Příklady studentských prací

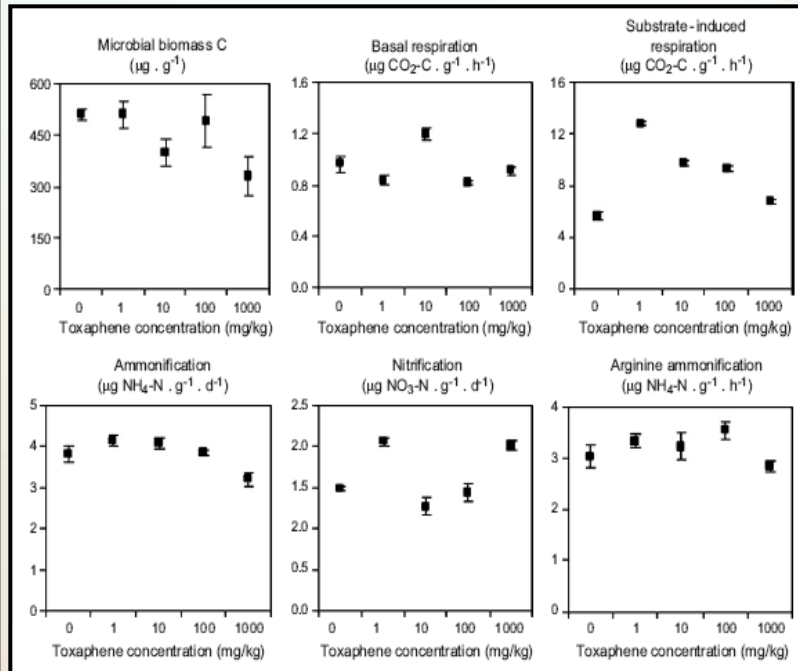
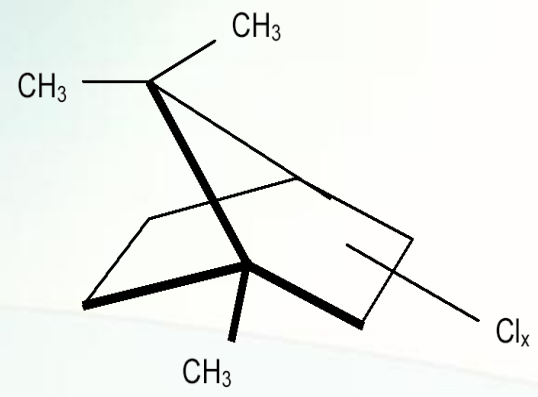
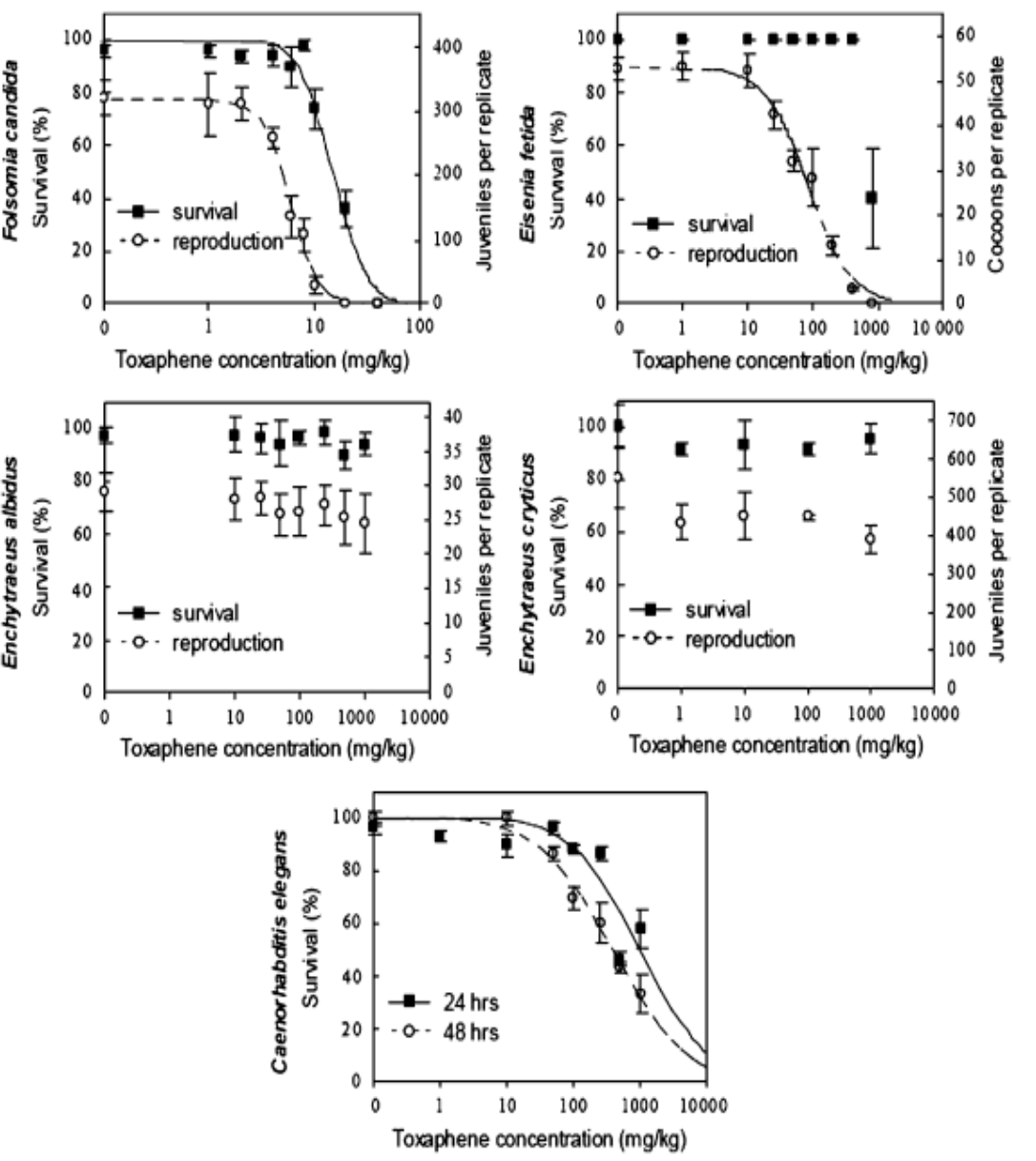
BP a DP:

- Testování ekotoxicity POPs na půdních roupicích
- Efekty perzistentních organických polutantů (POPs) na půdní chvostokoky
- Zavedení a optimalizace metod pro vybrané biomarkery půdních bezobratlých
- Efekty organicky bohatých kalů a sedimentů na půdní biotu v terestrických modelových ekosystémech
- Vliv vytěžených sedimentů na nitrifikaci v půdě po aplikaci na zemědělskou půdu
- Využití testu toxicity s *Caenorhabditis elegans* pro hodnocení kontaminovaných půd a sedimentů

Disertace:

- Ekotoxikologie půdních bezobratlých: žížaly, roupice a chvostokoci
- Využití hlistic (Nematoda) pro výzkum efektů POPs na receptory v půdním prostředí

Toxicita toxafenu půdní organismy



Bezchlebová, J., Černošlávková, J., Lána, J., Sochová, I., Kobetičová, K., and Hofman, J. (2007): Effects of toxaphene on soil organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 68, 326-334.



Hodnocení kalu ÚČOV Praha

Obsah kontaminantů ve srovnání s limity (mg/kg_{DW})

	Limit ČR	Limit EU	Limit EU návrh	Kal v této studii
As	30			6.1
Cd	5	20-40	10	2.7
Cr	200		1000	133
Hg	4	16-25	10	3.8
Ni	100	300-400	300	67.5
Pb	200	750-1200	750	60.4
Zn	2500	2500-4000	2500	2958
PCBs	0.6		0.8	0.16
PAHs	6		6	8.9

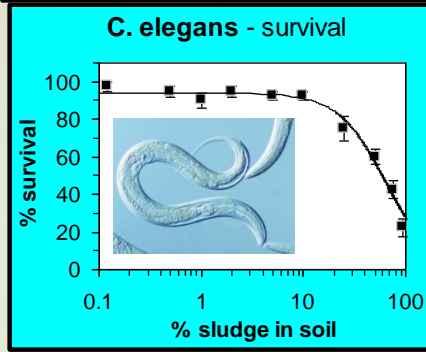
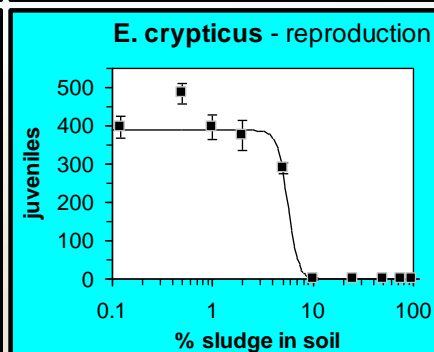
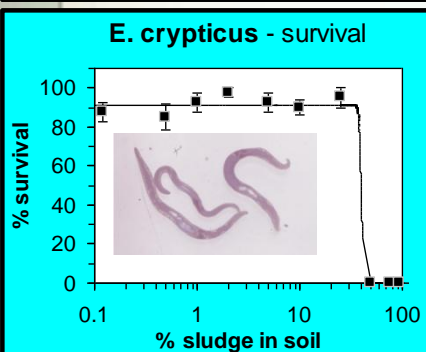
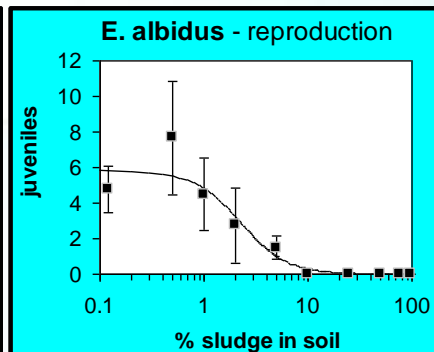
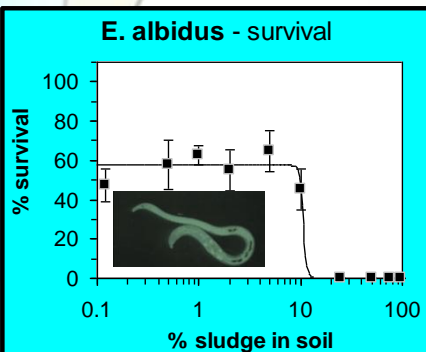
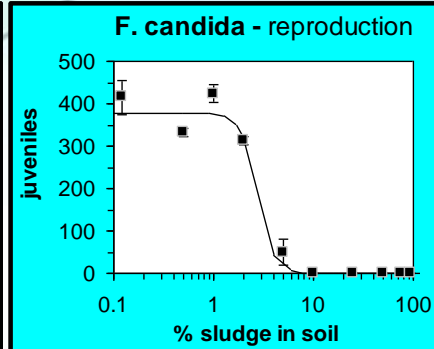
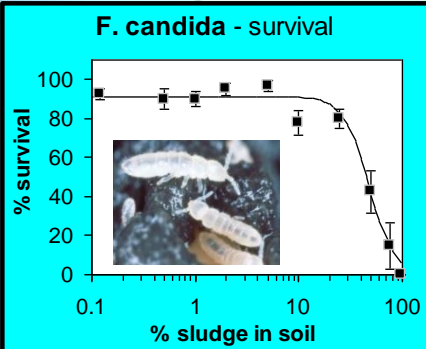
Hodnocení kalu ÚČOV Praha

SURVIVAL	NOEC	LOEC	LC ₁₀ (95% C.I.)	LC ₅₀ (95% C.I.)
<i>F. candida</i>	25	50	25,6 (15,9 - 35,3)	47,2 (40,3 - 54,1)
<i>E. crypticus</i>	25	50	36,5 (NS)	39,8 (NS)
<i>E. albidus</i>	10	25	9,5 (NS)	10,5 (NS)
<i>C. elegans</i>	10	25	19,4 (12,4 - 26,5)	62,5 (55,1 - 70,0)
REPRO.	NOEC	LOEC	EC ₅₀ (95% C.I.)	EC ₁₀ (95% C.I.)
<i>F. candida</i>	1	2	2,7 (2,3 - 3,2)	1,8 (1,5 - 2,0)
<i>E. crypticus</i>	5	10	5,6 (3,6 - 7,6)	4,4 (2,4 - 6,3)
<i>E. albidus</i>	5	10	2,2 (0,3 - 4,2)	0,7 (0 - 2,1)

Doporučená aplikační dávka kalů

je 5 t_{suš.}/ha ~ cca 0,5% kalu v půdě

Na této úrovni nebyl pozorován efekt a proto **riziko aplikace kalu z pražské ČOV je malé, ale nelze ho vyloučit například u půdních roupic**





Hodnocení dopadů vytěžených sedimentů



Nová vyhláška 257/2009 Sb.

- limity kovů, BTEX, PCBs, PAHs pro půdu na místě určení a limity pro aplikovaný sediment a regulováno je aplikované množství, textura a množství mikroorganismů
- Jsou zde **testy ekotoxicity**



ISO 16387 (2004)



11269-1 (1993)



ISO 15685 (2004)



ISO 11267 (1999)

Měření biotesty a použitá kritéria

Test	Norma	Sledované parametry	Podmínky testu	Navážka, počet opakování	Délka testu	Kritéria validity v kontrole	Kritérium toxicity
Kontaktní testy							
Reprodukční test s roupicí <i>E. crypticus</i>	ISO 16387 (2004), OECD (2004b), ČSN ISO 11267, 2010	Počet juvenilů a dospělců	20 °C, 50% WHC, krmení ovesné vločky, světlo/tma	15 g, 4x vzorky, 8x kontrola	28 dní	mortalita ≤ 20%, juvenilové > 25 na nádobu, CV ≤ 50%	^a počet juvenilů nižší o 50% než v kontrole ^b mortalita ≥ 20%
Reprodukční test s chvostoskoky <i>F. candida</i>	ČSN ISO 11267 (2010), ISO 11267 (1999), OECD (2009)	Počet juvenilů a dospělců	20 °C, 50% WHC, krmení kvasnice, světlo/tma	30 g, 4x vzorky, 6x kontrola	28 dní	mortalita ≤ 20%, juvenilové > 100 na nádobu, CV ≤ 30%	^a počet juvenilů nižší o 50% než v kontrole ^b mortalita ≥ 20%
Test inhibice potenciální oxidace amoniaku	ISO 15685 (2004)	Aktivita potenciální oxidace amoniaku	25 °C, pH suspence 7,2, původní WHC půdy 60%	10 g, 3x vzorky, 5x kontrola	< 1 den	0,2-0,8 µg NO ₂ ⁻ -N/g/hod	^a aktivita směsi + její SD je nižší než Acald (0,25x aktivita půdy + 0,75x aktivita sedimentu)
Test inhibice růstu kořene salátu <i>L. sativa</i>	ISO 11269-1 (1993), ASTM E 1963-09 (2009)	Délka kořínků	24 °C, 60% WHC, tma	300 g, 4x vzorky, 6x kontrola	4 dny	Délka kořene ≥ 15 mm, CV ≤ 20%	^a délka kořene menší o 30% než v kontrole
Reprodukční test s žížalou <i>E. fetida</i>	ISO 11268-2 (1998), OECD, (2004a)	Počet juvenilů, kokonů a dospělců, změna váhy	20 °C, 50% WHC, krmení hnůj, světlo/tma	500 g, 5x vzorky i kontrola	56 dní	mortalita ≤ 10%, juvenilové > 30 na nádobu, CV ≤ 30%	^c reprodukce inhibována o 50% vůči kontrole ^c mortalita ≥ 20% ^b úbytek váhy ≥ 20%
Únikový test s žížalou <i>E. fetida</i>	ISO 17512-1 (2008)	Únik žížal z testovaného vzorku do kontroly	20 °C, 50% WHC, světlo/tma	200 g, 5x vzorky, 10x kontrola	2 dny	mortalita ≤ 20%	^d únik ≥ 60%
Test mortality s hlísticí <i>C. elegans</i>	ASTM E2172-01 (2008), ISO 10872 (2010)	Počet dospělců	20 °C, tma	3 g, 5x vzorky i kontrola	1 den	mortalita ≤ 20%	^b mortalita ≥ 20%
Testy výluhů							
Test imobilizace hrotnatek <i>D. magna</i>	ČSN EN ISO 6341 (1997), ISO 6341 (1996)	Imobilizace dospělců	20 °C, pH 7,8, tma	10 ml	2 dny	mortalita ≤ 10%	^c inhibice vůči kontrole ≥ 20%
Test inhibice růstu řas <i>P. subcapitata</i>	ČSN ISO 8692 (2005), ISO 8692 (2004)	Růst	23 °C, pH 8,3, světlo	< 1 ml	3 dny	Zvýšení populace 16x	^c inhibice vůči kontrole ≥ 25%
Test inhibice luminiscence bakterie <i>V. fischeri</i>	ČSN EN ISO 11348-3 (2009), ISO 11348-3 (1998)	Luminiscence	15 °C, pH 7	1 ml	< 1 den		^c inhibice vůči kontrole ≥ 20%

^a Kritérium toxicity pro reprodukci roupic, chvostoskoků, pro inhibici růstu salátu a inhibici oxidace amoniaku dle vyhlášky č. 257/2009 Sb.

^b Kritérium toxicity pro test s hlísticí, pro mortalitu u chvostoskoků a roupic a změnu váhy žížal je navrženo na základě kritéria toxicity pro mortalitu žížal v ISO/FDIS 17616 (2007)

^c Kritérium toxicity pro reprodukční test se žížalou, testy s dafniemi, řasami a *V. fischeri* dle ISO/FDIS 17616 (2007)

^d Kritérium toxicity pro únikový test se žížalou a dle ISO 17512-1 (2008)



Výsledky

Celkové výsledky:

→ málo významných vztahů ($r < 0,60$)

→ Vzorky identifikované jako toxické, jen pár možných důvodů, např.

→ vz. 9 - pH 2,8

→ vz. 18 pro půdní organismy - nejvyšší koncentrace PAHs + zvýšený obsah kovů (Cd, Zn) a to i dostupné formě

→ vz. 32 - vysoké koncentrace kovů i v mobilní formě

→ Naopak celá řada vzorků identifikována jako toxická, aniž z výsledků analýz patrná zátěž kontaminanty či nevhodné fyz.-chem. vlastnosti

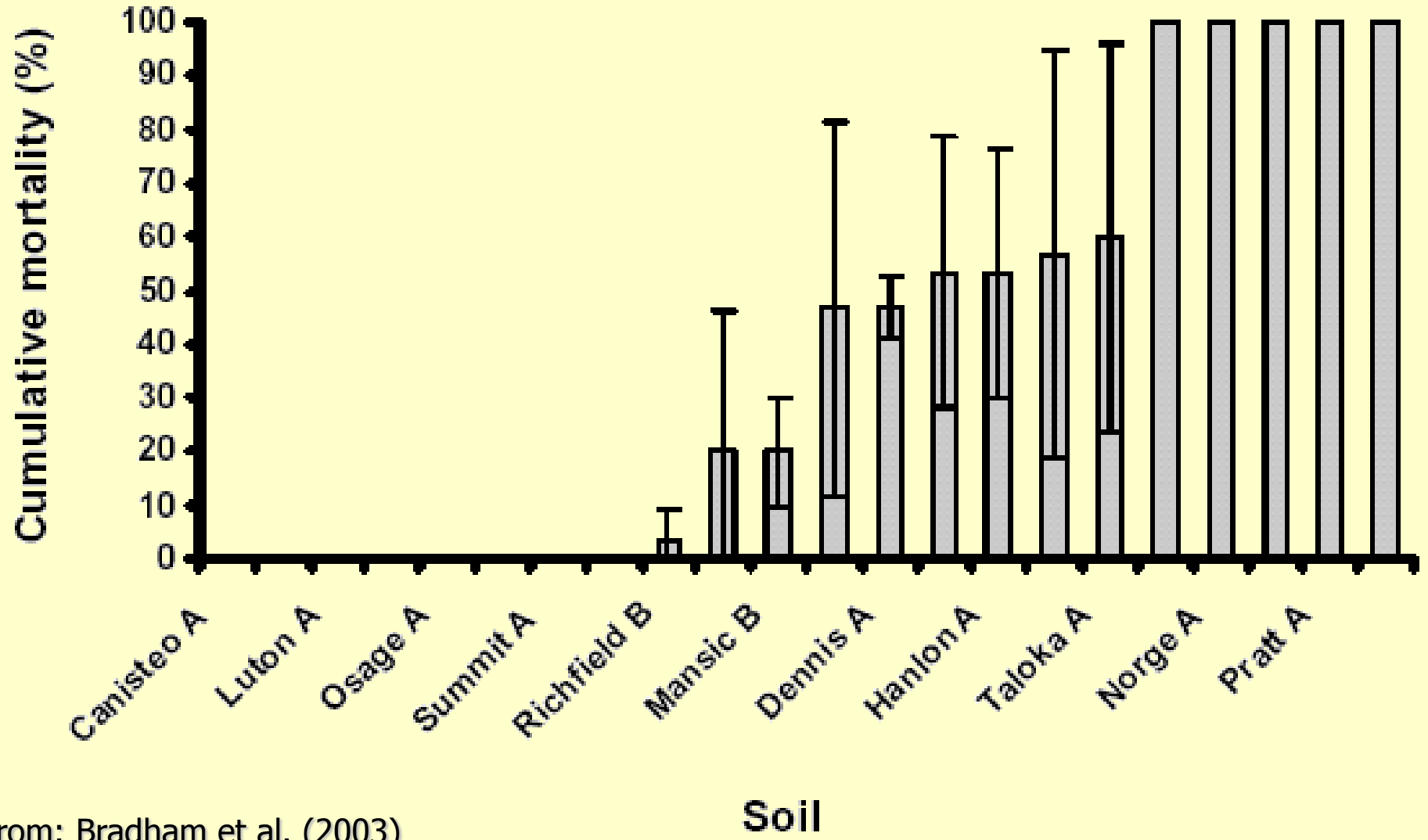
	Počet indikací půdní (vyhláška)	Počet indikací půdní (alternativní)	Počet indikací půdní (celkem)	Počet indikací (výluh)	Počet indikací (celkem)	pH H2O	Hg	As	As mob	Cd	Cd mob	Pb	Pb mob	Zn	Zn mob	PAHs	PCBs	DDT
1	2	2	4	4	4	11,6	0,01	0,31	0,03	0,03	35	0,03	123	0,8	959	10	6,5	
2	1		1	1	1	5,0	0,08	4,1	0,01	0,47	0,11	14	0,07	82	2,1	143	15	10,7
3	1		1	1	1	5,8	0,04	6,8	0,01	0,26	0,01	29	0,01	123	0,8	2 170	14	15,0
4						5,2	0,13	16,9	0,01	0,78	0,08	50	0,03	216	3,1	9 040	22	23,6
5	1	1	2	1	3	4,6	0,03	2,8	0,01	0,16	0,10	3	0,09	46	1,3	314	11	7,6
6	1		1	1	2	4,7	0,05	76,5	0,05	0,45	0,07	775	21,99	410	9,7	1 090	13	9,4
7	1		1	1	2	4,1	0,44	10,2	0,01	0,23	0,10	35	0,54	87	23,2	1 360	15	12,3
9	1	1	2	3	5	2,8	0,19	8,9	0,01	0,17	0,07	33	0,47	43	7,1	495	1010	16,7
10	3		3	1	4	4,1	0,23	14,3	0,01	0,10	0,05	29	0,20	27	6,5	383	104	9,8
11	2		2	2	2	5,9	0,10	9,3	0,01	0,20	0,01	18	0,02	51	0,1	258	14	16,5
12	1	2	3	3	3	6,2	0,08	7,6	0,01	0,22	0,00	61	0,01	38	0,0	428	5	6,9
13		1	1	1	1	3,8	0,09	9,2	0,01	0,24	0,08	79	0,55	29	1,2	370	34	11,9
14	1		1	1	1	6,6	0,07	6,7	0,01	0,23	0,00	29	0,01	75	0,0	1 810	35	9,9
15		1	1	1	2	6,4	0,06	7,3	0,01	0,18	0,00	19	0,01	80	0,0	1 470	18	9,2
16	1		1	1	2	4,1	0,11	14,8	0,01	0,20	0,09	30	0,91	121	3,1	13 600	18	10,3
17	1		1	1	1	4,8	0,08	10,7	0,01	0,22	0,02	49	0,01	81	1,3	431	28	9,0
18	3	1	4	4	4	4,8	0,18	11,1	0,01	0,08	0,10	63	0,08	236	10,2	45 700	30	12,1
19	2		2	2	2	4,7	0,07	9,9	0,01	0,56	0,10	39	0,16	145	3,7	510	17	8,6
20	1		1	1	1	4,4	0,07	8,9	0,01	0,47	0,09	57	0,75	169	13,3	662	14	8,8
21	1		1	1	2	5,3	0,06	9,3	0,01	0,17	0,02	12	0,03	133	0,6	6 140	11	10,0
22	2	1	3	3	3	5,4	0,02	12,3	0,01	0,12	0,01	10	0,01	39	0,3	597	10	8,0
23	2	2	4	4	4	16,0	0,01	0,21	0,01	0,01	0,01	19	0,02	78	0,4	580	27	10,3
24	1	1	2	2	2	5,6	0,07	20,6	0,03	0,42	0,01	20	0,01	166	1,0	3 530	37	32,3
25	2	1	3	3	5	22,4	0,04	0,78	0,03	0,03	0,03	57	0,03	308	8,1	4 040	41	14,5
26	3		3	3	3	6,0	0,06	19,4	0,02	0,20	0,01	3	0,01	116	0,1	7 670	11	11,3
27	1	1	2	2	2	7,1	0,04	10,1	0,01	0,15	0,00	11	0,01	59	0,0	1 290	26	8,3
28	2		2	1	3	7,1	0,03	9,2	0,01	0,18	0,00	10	0,01	52	0,0	182	14	2,8
29	1	1	2	1	3	6,4	0,04	9,1	0,01	0,24	0,00	7	0,01	47	0,0	327	13	8,6
30	1	2	3	2	5	29,4	0,03	0,38	0,03	0,03	0,03	18	0,05	142	2,1	694	10	8,8
31	1	1	2	1	2	6,8	0,08	8,4	0,02	0,01	0,01	58	0,08	818	0,8	286	213	996,6
32	4	2	6	2	8	6,1	1,17	647,6	0,45	108,17	0,57	10900	74,62	7940	453,8	2 774	18	4,0
33	1	2	3	1	4	7,0	6,08	977,7	0,41	19,77	0,00	128	0,00	2750	1,5	330	0	3,0
34	1	1	2	1	3	6,7	0,08	4,9	0,01	0,06	0,00	14	0,01	26	0,1	7 872	10	13,2
35	3	1	4	1	5	5,7	0,28	13,9	0,04	1,12	0,19	479	13,66	271	22,0	1 880	20	9,0
36	1	0	1	1	2	4,9	0,12	26,9	0,01	0,40	0,19	1300	144,65	132	20,8	621	0	1,1

Biodostupnost kontaminantů v půdách



Proč se zabývat biodostupností ?

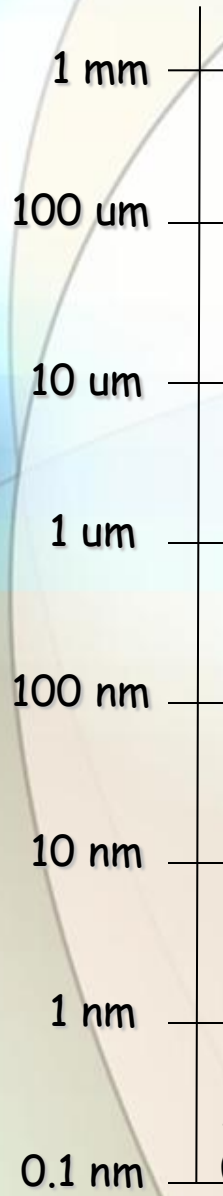
Eisenia andrei exposed to 2000 Pb mg/kg



From: Bradham et al. (2003)



Specifika půdního prostředí



Chvostoskok
1 - 2 mm



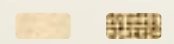
Houby
2-10 um



Bakterie
1-2 um



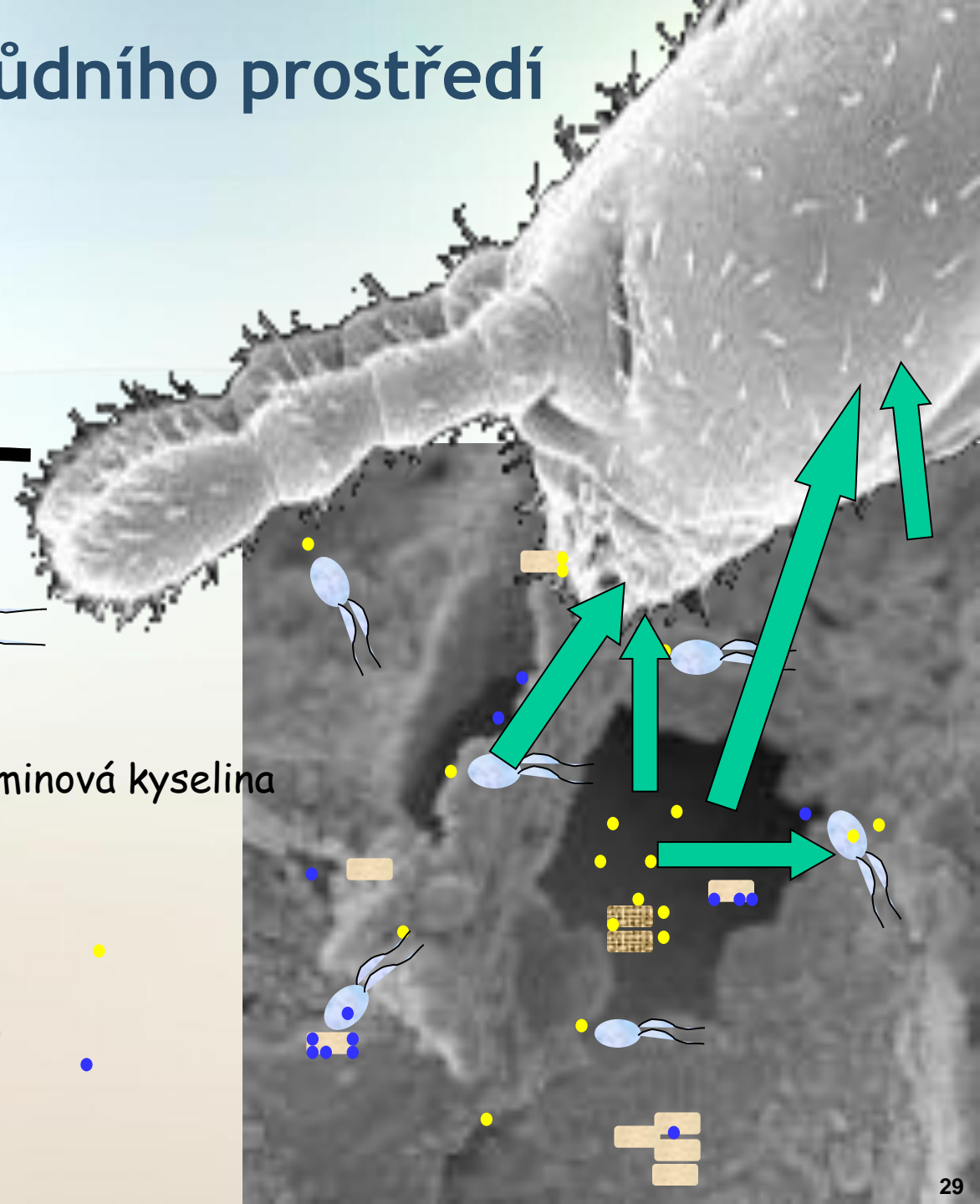
Jílová částice či huminová kyselina
2-0.2 um



Organický polutant
1 nm



Anorganický polutant
0.1 nm



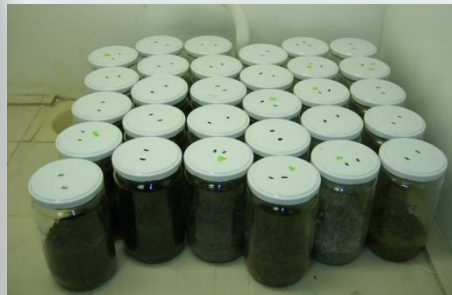
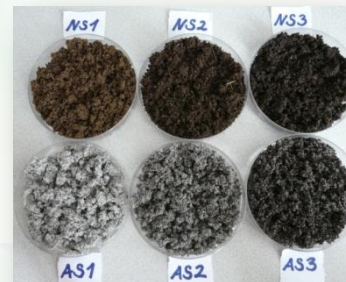
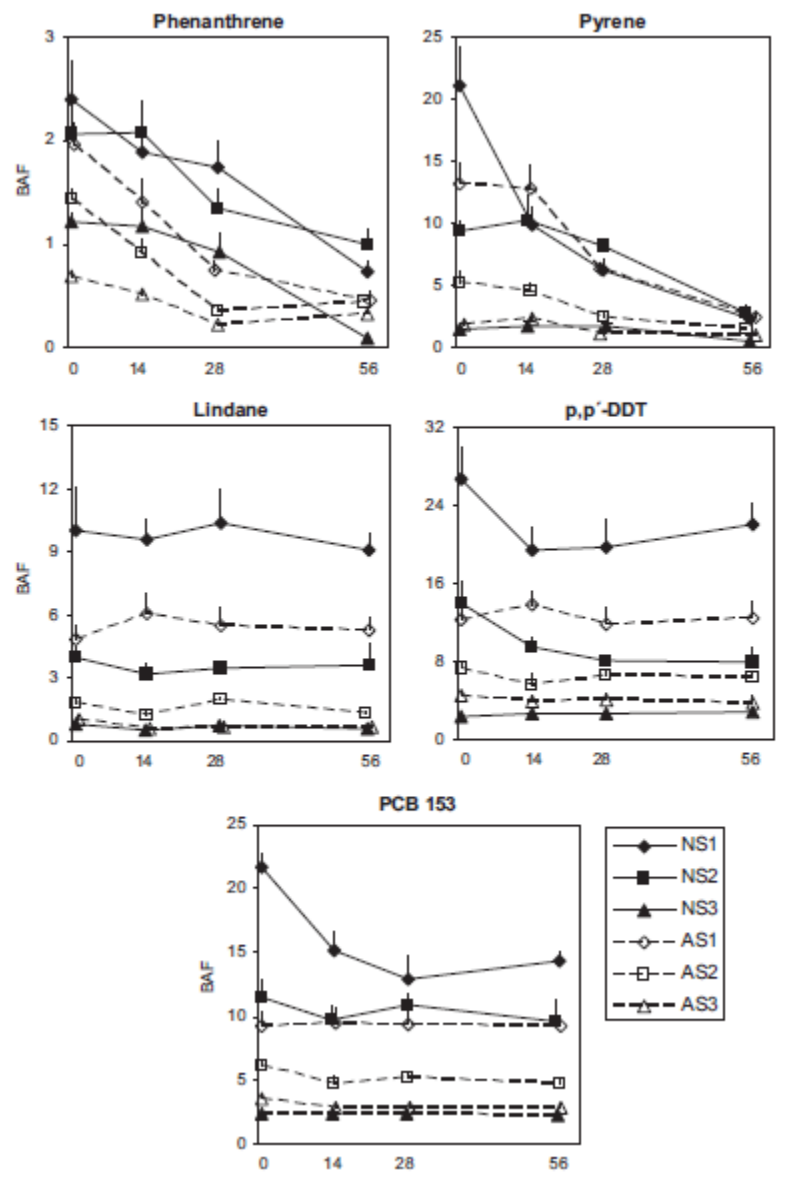


Příklady prací

- Ekotoxicita vybraných perzistentních organických polutantů v půdách ve vztahu k jejich biodostupnosti
- Nové chemické metody vhodné pro hodnocení biodostupnosti půdních kontaminantů
- Bioakumulace polutantů bezobratlými v půdě ve vztahu k jejich biodostupnosti
- Využití metody SFE k extrakci vybraných organických polutantů
- Osud a biodostupnost PAHs v artificiálních půdách
- Možnosti snížení rizikovosti arsenu v problematických kalech



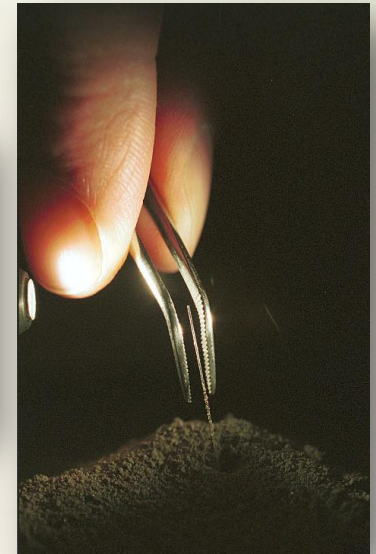
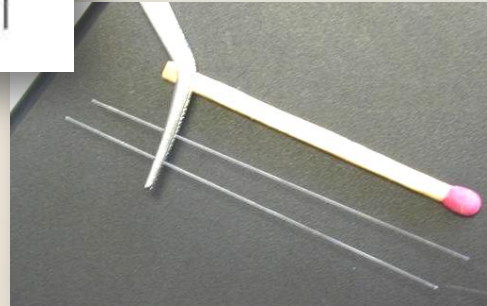
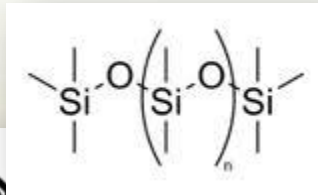
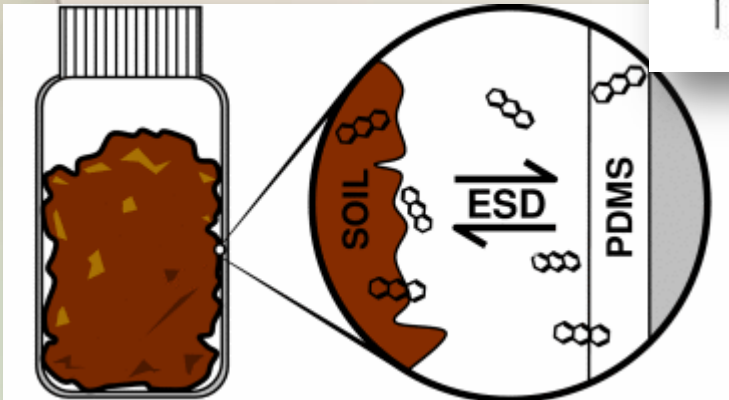
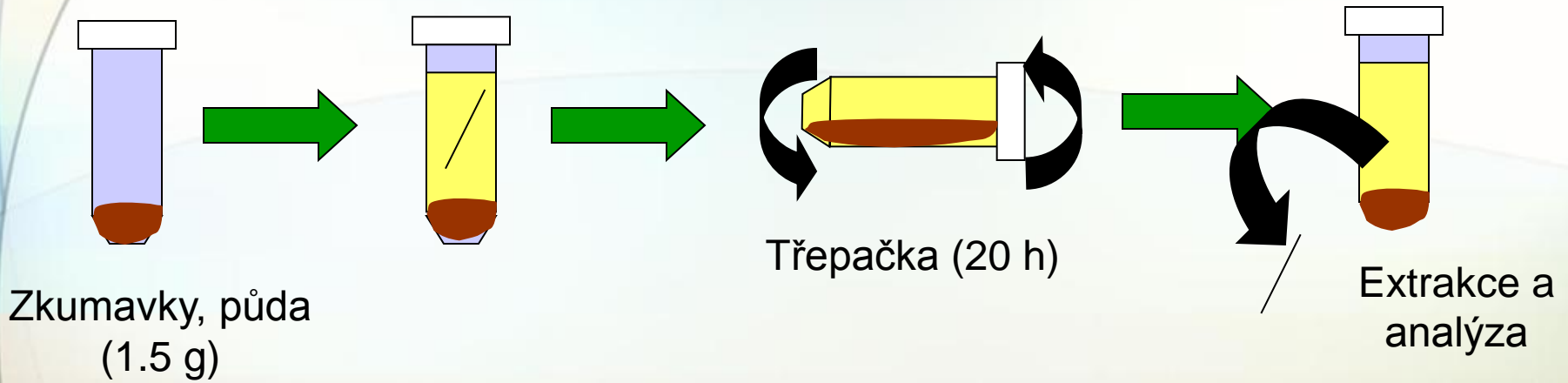
Sledování biodostupnosti pro žížaly





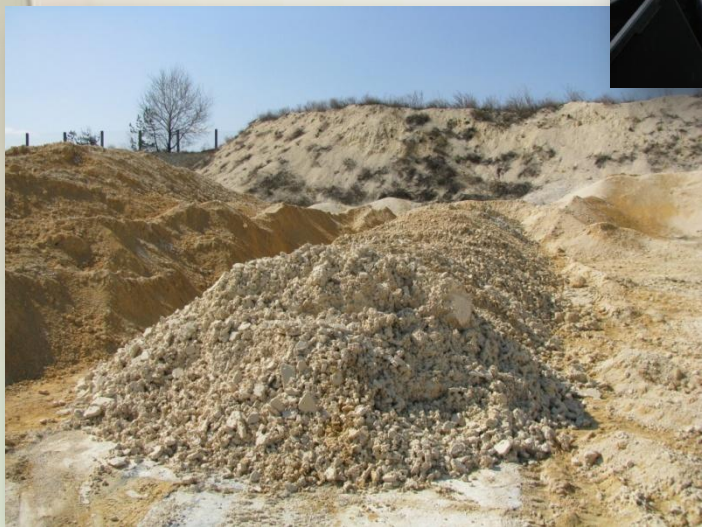
Metody pro odhad biodostupnosti

10 mM NaN₃ a
PDMS vlákno 30 μm





Sledování snížení rizikovosti kalu s As





Inovace výuky environmentálně zaměřených oborů



Inovace a rozšíření výuky zaměřené na problematiku životního prostředí na PŘF MU

(CZ.1.07/2.2.00/15.0213)

spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

- Cílem projektu je, aby výuka PŘF MU zaměřená na problematiku životního prostředí vzdělávala absolventy a absolventky lépe připravené na potřeby trhu práce a systematicky vzdělané v oblasti trvale udržitelného rozvoje.
- **Inovace zvýší u budoucích absolventů a absolventek flexibilitu, uplatnitelnost, konkurenceschopnost a přechod do praxe.**



Nové předměty od 2011

ENV001	Environmentalistika v dnešním světě
ENV002	Trvale udržitelný rozvoj
ENV003	Environmentální informace a modelování
ENV004	Stáž v environmentální praxi
ENV005	Politika a nástroje ochrany životního prostředí
ENV006	Statistické zpracování environmentálních dat
ENV007	Vzorkování a základní chemické a biologické analýzy v hodnocení životního prostředí
ENV008	Nápravy environmentálních škod
ENV009	Odpadové hospodářství v praxi
ENV010	LCA - hodnocení životního cyklu výrobků a služeb
ENV011	Přenositelné kompetence v environmentální praxi
ENV012	Chemická bezpečnost a hazardní materiály



evropský
sociální
fond v ČR



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost





Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí

Kamenice 126/3, Brno - Bohunice

Tel: 549 49 4267, 775 140 071

Fax: 549 492 840

E-mail: hofman@recetox.muni.cz

**[http://www.recetox-education.cz/index-
vyuka.php?page=uvod](http://www.recetox-education.cz/index-vyuka.php?page=uvod)**

www.recetox.muni.cz