

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Příjem a transformace sloučenin arsenu rostlinami  
jitrocele kopinatého (*Plantago lanceolata* L.)**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor práce: Babková Radka

Vedoucí práce: prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.

2013

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Příjem a transformace sloučenin arsenu rostlinami jitrocele kopinatého (*Plantago lanceolata L.*) vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

**V Praze dne:** .....

**Podpis autora práce:**.....

**Poděkování:**

Chtěla bych touto cestou poděkovat své vedoucí diplomové práce prof. Ing. Jiřině Szákové, CSc. za její pomoc, odborné vedení, konzultace a trpělivost při tvorbě teoretické části této diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala Ing. Janě Najmanové a Ing. Janě Tremlové za pomoc a cenné rady při laboratorní činnosti a za vytvoření příjemného pracovního prostředí.

## SOUHRN

Arsen je všudypřítomný prvek nacházející se v atmosféře, půdě a horninách, přírodních vodách a organismech. Do přírodního prostředí se dostává prostřednictvím kombinace přírodních procesů a antropogenních činností. Lze tedy říci, že rizikové prvky jsou přirozenou součástí půd a vegetace, která je pokrývá. Nicméně nadměrné množství těchto prvků může představovat riziko pro organismus. V České republice existuje několik oblastí se zvýšenými obsahy As v půdě. Mezi tyto lokality s bývalou těžbou rudy patří například Kutná Hora, Mokrsko, Roudný a Kašperské hory.

Předmětem této práce bylo zjistit v nádobovém pokusu schopnost jitrocele kopinatého (*Plantago lanceolata* L.) přijímat arsen z kontaminované půdy. Dále zjistit v jaké části rostliny se As nejvíce akumuluje a které sloučeniny arsenu můžeme v jednotlivých částech rostlin najít. Následně vyhodnotit, zda jeho obsahy v rostlinách ve zmíněných oblastech překračují maximální přípustné obsahy v objemovém krmivu a mohou tedy představovat riziko pro volně žijící zvěř.

Zkoumané rostliny pocházely z lokalit Kutná Hora a Roudný, zatímco kontaminovaná půda arsenem byla odebrána z lokality Mokrsko. Vzorky nadzemní biomasy byly odebírány pravidelně během vegetačního období. Rostlinný materiál byl rozložen metodou mokrého rozkladu za zvýšeného tlaku s fokusovaným mikrovlnným ohřevem. Obsah As byl stanoven pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICPMS). Určení sloučenin arsenu probíhalo pomocí spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s využitím hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICPMS) jako detektoru.

Byly stanoveny celkové obsahy arsenu u listů, stonků a květů. Tyto hodnoty byly porovnány se směrnici 2002/32/ES o nežádoucích látkách v krmivech, která udává maximální limity pro obsah arsenu  $2 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Nadlimitní koncentrace byly zjištěny v listech a stoncích rostlin z lokality Roudný a také v listech z lokality Kutná Hora, přičemž nejvyšší hodnota byla zjištěna v listech z lokality Roudný, kde převýšila u třetího odběru tento limit více než šestinásobně ( $13,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Při porovnání obou lokalit bylo patrné, že celkové obsahy As ve všech částech rostlin jsou vyšší u rostlin z lokality Roudný. Ze sloučenin As převládaly anorganické formy, a to arsenitan a arseničnan. Byl však nalezen i malý podíl dimethylarsinátu, což dokumentuje schopnost rostlin methylovat a tím pravděpodobně i detoxikovat přijaté sloučeniny arsenu.

**Klíčová slova:** jitrocel kopinatý, arsen, speciace, kontaminace, transformace

## ABSTRACT

Arsenic is an ubiquitous element, which is found in the atmosphere, soil and rocks, natural waters and organisms. It is getting into the environment through a combination of natural processes and anthropogenic activities. Therefore, the risk elements are a natural part of soils and vegetation, which covers them. However, excessive amounts of these elements may pose a risk to the organism. In the Czech Republic there are several areas with elevated contents of As in soils. These localities with the former ore mining are for example Kutná Hora, Mokrsko, Roudný and Kašperské hory.

The issue of this study was to determine in model pot experiment the ability of narrowleaf plantain (*Plantago lanceolata* L.) receiving arsenic from contaminated soils. Furthermore, to determine in what parts of the plant is arsenic most accumulated and which arsenic compounds can be found in different parts of the plant and to evaluate whether the contents in plants exceed the maximal acceptable levels in feed representing a risk to wildlife.

The investigated plants originated in localities Kutná Hora and Roudný, while arsenic contaminated soil was removed from the site Mokrsko. Aboveground biomass samples were taken regularly during the growing season. The plant material was decomposed by wet decomposition under elevated pressure with focused microwave heating. Content of arsenic was determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS). Determination of arsenic compounds was accomplished by high-performance liquid chromatography (HPLC) using mass spectrometry with inductively coupled plasma (ICPMS) as a detector.

Total arsenic content in leaves, stems and flowers were determined. These values were compared with the directive 2002/32/EC on undesirable substances in animal feed, which determines maximal levels for arsenic  $2 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Higher concentrations were found in the leaves and stems of plants from the site Roudný and also in the leaves from Kutná Hora, whereas the highest value was found in the leaves from Roudný, where this limit was exceeded at the third sampling more than sixfold ( $13.1 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Comparing the two localities, it was clear that the total content of As in all parts of the plant are higher in plants from the locality Roudný. Dominant arsenic compounds were inorganic ones, thus arsenite and arsenate. But there was a small participation of dimethyl arsenic acid as well documenting the ability of plants to methylate and therefore probably detoxify the accumulated arsenic compounds.

**Key words:** narrowleaf plantain, arsenic, speciation, contamination, transformation

## **OBSAH:**

1. ÚVOD.....	1
2. CÍLE PRÁCE.....	2
3. LITERÁRNÍ PŘEHLED .....	3
3.1. Arsen.....	3
3.1.1. Základní charakteristika.....	3
3.1.2. Formy arsenu .....	4
3.1.3. Toxicita .....	4
3.1.4. Výskyt.....	5
3.1.5. Vliv arsenu na zvířata .....	10
3.1.6. Vliv arsenu na člověka.....	12
3.1.7. Vliv arsenu na rostliny.....	15
3.2. Jitrocel kopinatý ( <i>Plantago lanceolata</i> ) .....	22
3.2.1. Taxonomické zařazení .....	22
3.2.2. Popis.....	22
3.2.3. Zastoupené látky .....	23
3.2.4. Rozšíření .....	23
3.2.5. Využití .....	23
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	25
4.1. Materiál a metodika .....	25
4.1.1. Založení nádobového pokusu .....	25
4.2. Charakteristika lokalit.....	26
4.2.1. Roudný.....	26
4.2.2. Kutná Hora.....	28
4.2.3. Mokrsko .....	29
4.3. Celkové obsahy As .....	31

4.4. Stanovení sloučenin arsenu.....	32
5. VÝSLEDKY A DISKUZE.....	34
5.1. Celkové obsahy As .....	34
5.2. Speciace sloučenin arsenu .....	37
6. ZÁVĚR .....	44
7. SEZNAM LITERATURY .....	45
8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ .....	53

# 1. ÚVOD

V posledních letech je stále více pozornosti věnováno znečišťování životního prostředí rizikovými prvky. Mezi nejvýznamnější toxické prvky životního prostředí patří arsen, olovo, kadmium, zinek, chrom, nikl a rtuť. Arsen se v životním prostředí vyskytuje přirozeně, je dvacátým nejběžnějším prvkem zemské kůry a je součástí více než 245 minerálů.

Nicméně, vlivem narůstající lidské populace dochází ke zvyšování množství tohoto prvku v životním prostředí, při hornické činnosti, spalování fosilních paliv, používáním pesticidů a herbicidů (méně časté), přísad do krmiv pro hospodářská zvířata a pro ochranu dřeva. Působení arsenu má negativní vliv nejen na rostliny a zvířata, ale také na lidské zdraví. Lidé jsou vystaveny toxickému vlivu arsenu ze vzduchu, jídla a vody. Tisíce lidí po celém světě trpí toxickými účinky způsobenými kontaminací podzemní vody a také průmyslovými odpadními vodami a problémy s kanalizací. Nejohroženějšími oblastmi jsou Bangladéš a Západní Bengálsko, Indie.

Na území České republiky je známo několik míst, která se vyznačují zvýšenými obsahy As v půdě. Jde zejména o místa v bývalých zlatých a stříbrných dolů. As a jeho minerály přirozeně doprovází zlatou a stříbrnou rudu. Nejvýznamnější naleziště se nacházejí v okolí Českého masívu ve středních Čechách. Kutná Hora, Mokrsko, Roudný, Kašperské hory jsou jedny z nejznámějších příkladů míst s bývalou těžbou rudy, kde se nyní vyskytuje vysoký obsah arsenu v půdě. Mobilita arsenu v půdě je ve srovnání s kadmíem a zinkem velmi nízká, přesto je tento prvek dále přijímán rostlinnou biomasou. Fytotoxicita arsenu je dobře známa. Obsahy 3 – 10 mg.kg<sup>-1</sup> jsou již fytotoxické, což se projevuje plazmolýzou pletiv kořenů, žloutnutím listů a nekróze okrajů a špiček listů. Akumulace arsenu v rostlině se mění s druhem rostliny a s lokalitou.

Tato práce se zabývá schopností rostlin jitrocele kopinatého (*Plantago lanceolata* L.) přijímat a transformovat arsen a jeho sloučeniny. Jde o léčivou vytrvalou bylinu, vyskytující se hojně v Evropě, západní Asii a severní Africe, zavlečenou v řadě oblastí všech světadílů. Rostliny použité k tomuto účelu pocházely z kontaminovaných oblastí Kutné Hory, v místě s bývalou těžbou stříbra, a Roudného, bývalého zlatodolu. Půda byla odebrána u obce Mokrsko, kde bylo objeveno největší známé ložisko zlata ve střední Evropě.



## 2. CÍLE PRÁCE

Přestože arsen patří mezi málo přijatelné rostlinami, jeho obsahy v rostlinách v oblastech s bývalou těžbou rudy překračují maximální přípustné obsahy v objemovém krmivu a mohou tedy představovat riziko pro volně žijící býložravce. Pro určení toxického vlivu však není důležitý pouze celkový obsah arsenu, ale především sloučenina, v jaké se arsen nachází, protože toxicita jednotlivých sloučenin se od sebe význačně liší. Dosavadní publikované výsledky naznačují v rostlinné biomase dominantní zastoupení sloučenin arsenu jako např. As (III), As (V), methylarsonát (MA), dimethylarsinát (DMA), arsenobetain (AB), arsenocholin (AC), tetramethylarsenoxid (TETRA), tetramethylarsoniový ion (TMAO) popř. arsenová analoga cukrů. V zástupcích čeledi Plantaginaceae můžeme dle práce, kterou publikovali Geiszinger et al. (2002) a také dle našich předchozích dosud nepublikovaných výsledků očekávat zvýšená množství zejména arsenobetainu. Cílem práce je v modelových podmínkách sledovat schopnost rostlin tuto sloučeninu syntetizovat.

## 3. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 3.1. Arsen

#### 3.1.1. Základní charakteristika

Název arsen se odvozuje z řeckého slova arsenikon, což znamená mocný, silný, účinný (Bencko a kol., 1995). Sloučeniny arsenu, jako je oxid  $\text{As}_2\text{O}_3$  neboli bílý arsenik, byly používány jako jed k vraždám a sebevraždám již od starověku až do středověku (Baird, 2005). Izolování elementárního arsenu je někdy připisováno alchymistovi Albertu Magnusovi (1193 až 1280), který jej získal zahříváním auripigmentu ( $\text{As}_2\text{S}_3$ ) s mýdlem (Greenwood, 1993). V sedmáctém století se v některých evropských společnostech věřilo, že arsen není pouhým jedem, ale také magickou substancí pro léčbu některých chorob, včetně impotence, a ochrana proti moru. Sloučeniny arsenu jsou terapeuticky používány již 2000 let a dodnes jsou součástí více než 50ti čínských léčiv (Baird, 2005).

Arsen vlastně není kovem, jedná se o polokov – má některé vlastnosti typické pro kovy a některé naopak typické pro polokovy (Baird, 2005). Arsen (atomové číslo 33) je ocelově šedý, křehký a krystalický se třemi alotropickými formami, a to žlutou, černou a šedou. Při styku se vzduchem je matný a při zahřívání je rapidně oxidován na oxid arsenitý ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ), který zapáchá po česneku. Patří do skupiny V-A v periodické tabulce prvků, má atomovou hmotnost 74,92 a chemicky blízce připomíná fosfor. Šedý arsen, obvyklá stálá forma, má hustotu  $5,73 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ , bod tání při  $817 \text{ }^\circ\text{C}$  a sublimuje při  $613 \text{ }^\circ\text{C}$  (Adriano, 2001). Zapálen v kyslíku hoří arsen oslnivým plamenem za tvorby  $\text{As}_4\text{O}_6$  a  $\text{As}_4\text{O}_{10}$  (Greenwood, 1993).

Elektronová konfigurace As v základním stavu obsahuje tři nepárové elektrony p ( $\text{ns}^2\text{np}^3$ ). Projevuje se u něj výrazná elektronová afinita k získání jednoho elektronu, ale pro přijetí dalších dvou elektronů se musí překonat značný coulumbický odpor. V souladu s tím neexistují žádné iontové sloučeniny, které by obsahovaly arsenidový anion, a sloučeniny jako  $\text{Na}_3\text{As}$  jsou buď intermetalické sloučeniny, nebo slitiny. Ale i přes metaloidní charakter volného prvku je ionizační energie a elektronegativita arsenu podobná jako u fosforu a As snadno vytváří s většinou nekovů silné kovalentní vazby (Greenwood, 1993).

### 3.1.2. Formy arsenu

Oxidační stavy arsenu jsou  $\text{As}^{3-}$ ,  $\text{As}^0$ ,  $\text{As}^{3+}$  a  $\text{As}^{5+}$ . Arsiny a methylarsiny, které mají oxidační stav  $-III$ , jsou zpravidla nestálé na vzduchu. Elementární arsen ( $\text{As}^0$ ) je tvořen při redukci oxidů arsenu. Oxid arsenitý je produktem tavení a je surovým materiálem používaným na výrobu většiny sloučenin arsenu. Je oxidován katalyticky nebo bakteriemi na arseničnan nebo na kyselinu trihydrogenarseničnou ( $\text{H}_3\text{AsO}_4$ ). Sloučeniny arsenu soupeří s podobnými sloučeninami fosforu o chemická vazebná místa. Arsen se kovalentně váže na většinu nekovů i kovů a tvoří stálé organické sloučeniny v oxidačním stavu  $\text{As}^{3+}$  i stavu  $\text{As}^{5+}$  (Adriano, 2001).

Běžné organické formy arsenu v přírodním prostředí nejsou jednoduché methyl deriváty, jako u rtuti a olova, ale jsou to ve vodě rozpustné kyseliny, které mohou být vyloučeny z těla, a proto jsou méně toxické než některé anorganické formy. Arsen se nejčastěji vyskytuje ve vodě jako  $\text{H}_3\text{AsO}_4$  nebo ve formě arseničnanového iontu. Biologická methylace v přírodním prostředí způsobuje výměnu jedné nebo více  $-OH$  skupin u kyseliny za  $-CH_3$  skupiny. Monomethylace v lidských játrech a ledvinách přeměňuje většinu požitého anorganického arsenu na  $(\text{CH}_3)(\text{OH})_2\text{AsO}$  a následně do dimethyl kyselin, které jsou snadno vylučovány (Baird, 2005).

V mořských plodech jsou běžnými formami  $(\text{CH}_3)_4\text{As}^+$  nebo ion s jednou methyl skupinou nahrazenou  $-CH_2CH_2OH$  nebo  $-CH_2COOH$ . Organické sloučeniny arsenu v mořských plodech jsou mnohem méně toxické než formy anorganické. Naopak, neutrální trojmocné sloučeniny jako arsenovodík ( $\text{AsH}_3$ ) a trimethylarsin ( $\text{As}(\text{CH}_3)_3$ ) jsou nejvíce toxické sloučeniny arsenu (Baird, 2005).

### 3.1.3. Toxicita

Z předchozího textu je zřejmé, že toxicita arsenu závisí na jeho formě a na jeho oxidačním stupni (Slyemi a Bonnefoy, 2012). Závisí také na dalších faktorech jako je fyzický stav, plyn, roztok, rychlost absorpce do buňky, rychlost odstranění, charakter chemických substituentů v toxické sloučenině a samozřejmě předchozí stav organismu (Mandal a Suzuki, 2002).

Anorganický arsen zahrnuje arsenitan [As ( III )] a arseničnan [As ( V )], a může být buď methylován a tím vytvořit monomethylarsenovou kyselinu [MMA(V)], nebo dimethylován na dimethylarzinovou kyselinu [DMA( V)]. Metabolismus anorganického arsenu zahrnuje redukci dvou elektronů pětimocného arsenu na trojmocný arsen, zprostředkované glutathionem, následuje oxidační methylace tvořící pětimocný organický arsen (Jomova a kol., 2011).

Trojmocný arsen je asi 60krát toxičtější než pětimocný arsen. Anorganický As je asi 100krát toxičtější než organické sloučeniny arsenu. Sloučeniny trojmocného arsenu jsou mnohem toxičtější než sloučeniny pětimocného arsenu z důvodu rozdílných rychlostí buněčného příjmu. Bylo zjištěno, že arsenitan sodný, který je více rozpustný než oxid arsenitý, je desetkrát toxičtější. Toxicita organickým sloučenin arsenu je inverzně ovlivněna stupněm methylace (Tapan, 2012). U anorganických sloučenin je methylace považována za detoxifikační mechanismus (Jomova a kol., 2011).

### **3.1.4. Výskyt**

Arsen je všudypřítomný prvek nacházející se v atmosféře, půdě a horninách, přírodních vodách a organismech. Je mobilizován prostřednictvím kombinace přírodních procesů, jako jsou reakce při zvětrávání, biologická aktivita a vulkanické emise, jakož i prostřednictvím rozsáhlých antropogenních činností (Smedley a Kinniburgh, 2002). Nadměrné užívání pesticidů na bázi arsenu a neřízená likvidace domácích (kanalizace) a průmyslových (dřevo, koželužny, barvy, galvanika, atd.) odpadů, stejně jako důlní činnost, mají za následek rozšíření kontaminace půd a vodních cest (Mahimairaja a kol., 2005).

#### **3.1.4.1. Litosféra**

Arsen v biosféře, hydrosféře i atmosféře pochází z litosféry (Pertold, 1998). Je široce distribuován do všech geologických materiálů o různých koncentracích. V kontinentální kůře země nacházíme průměrnou koncentraci As 1,5 až 2,0 mg . kg<sup>-1</sup>. Průměrné koncentrace se pohybují u vyvřelin v rozsahu 1,5 až 3,0 mg . kg<sup>-1</sup>, zatímco u sedimentů sahají až k hodnotám 1,7 - 400 mg . kg<sup>-1</sup> (Mahimairaja a kol., 2005). Arsen je koncentrován v některých

redukovaných mořských sedimentech, které mohou obsahovat až  $3000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (Mandal a Suzuki, 2002).

Arsen se přirozeně vyskytuje ve více než 200 různých minerálních formách, z nichž přibližně 60% jsou arseničnany, 20% sulfidy a sulfosoli a zbývajících 20 % zahrnují arsenidy, arsenitany, oxidy, silikáty a elementární arsen (As) (Mandal a Suzuki, 2002). Nicméně, tyto minerály jsou poměrně vzácné v přirozeném prostředí. Největší koncentrace těchto nerostů se vyskytují v mineralizovaných oblastech a nacházejí se v úzkém spojení s přechodovými kovy, jako je kadmium (Cd), olovo (Pb), stříbro (Ag), zlato (Au), antimon (Sb), fosfor (P), wolfram (W) a molybden (Mo) (Smedley a Kinniburgh, 2002). Je běžný u pyritu, galenitu, chalkopyritu a méně u sfaleritu. Nejběžnějším minerálem je arsenopyrit (Mandal a Suzuki, 2002).

Kromě běžných hornin se arsen koncentruje na některých ložiscích nerostných surovin. Průměrný obsah v uhlí je uváděn mezi  $12$  a  $18 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . V Českém Masivu je velkým rezervoárem arsenu hnědé uhlí. Uhelné sloje severočeské pánve obsahují arsen na hladině v průměru  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , kdežto v pánvi Sokolovské  $333 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (Pertold, 1998).

### **3.1.4.2. Atmosféra**

Koncentrace arsenu v ovzduší je obvykle nízká, ale jak je uvedeno výše, je zvyšována o vstupy z hutí a dalších průmyslových operací, spalováním fosilních paliv a sopečnou činností (Smedley a Kinniburgh, 2002). Arsen je převážně absorbován na prachových částicích a je obvykle přítomen jako směs arsenitanu a arseničnanu, organické sloučeniny mají zanedbatelný význam s výjimkou oblastí aplikace pesticidů nebo biotické činnosti (Mandal a Suzuki, 2002).

Atmosféra obsahuje v průměru  $1,74 \times 10^6$  kg arsenu. Toto množství je nerovnoměrně rozděleno mezi hemisférami, kdy v severní hemisféře je  $1,48 \times 10^6$  kg As a pouze  $0,26 \times 10^6$  kg As se nachází v jižní hemisféře. Tato nerovnost je vysvětlena větším zastoupením pevnin na severní polokouli a přítomnost vysoce vyspělých zemí s jejich konkrétními emisními profily (Matschullat, 2000). Absorpce inhalovaného arsenu se pohybuje v rozmezí 30 a 85 %, v závislosti na relativním podílu páry a prachových částic. Množství arsenu vdechnutého za den je asi 50 ng nebo méně (za předpokladu, že se za den inhaluje asi  $20 \text{ m}^3$  vzduchu) v

neznečištěných oblastech. Denní respirační příjem arsenu v ostatních oblastech je přibližně 120 ng, ze kterých je asi 30 ng absorbováno. Typické množství arsenu pro evropský region se v současné době pohybuje mezi 0,2 a 1,5 ng · m<sup>-3</sup> ve venkovských oblastech, 0,5 a 3 ng · m<sup>-3</sup> v městských oblastech, a ne více než 50 ng · m<sup>-3</sup> v průmyslových oblastech (Mandal a Suzuki, 2002).

Vysoké koncentrace atmosférického arsenu, zvyšujícího se v závislosti se spalováním uhlí, se stal hlavní příčinou rakoviny plic v části Číny (Guizhou Province), kde riziko bylo dáno přímou inhalací kouře při domácím spalování uhlí a především konzumací jídla sušeného v blízkosti lokálních topenišť, než pitím pitné vody ovlivněné atmosférickými vstupy (Smedley a Kinniburgh, 2002).

### 3.1.4.3. Hydrosféra

Arsen se v přírodních vodách nachází v nízkých koncentracích. Maximální přípustná koncentrace v pitné vodě je 50 µg · l<sup>-1</sup> a doporučená hodnota dle organizací EPA a WHO je 10 µg · l<sup>-1</sup>. Mořská voda obvykle obsahuje 0,001 - 0,008 mg l<sup>-1</sup> arsenu (Mandal a Suzuki, 2002).

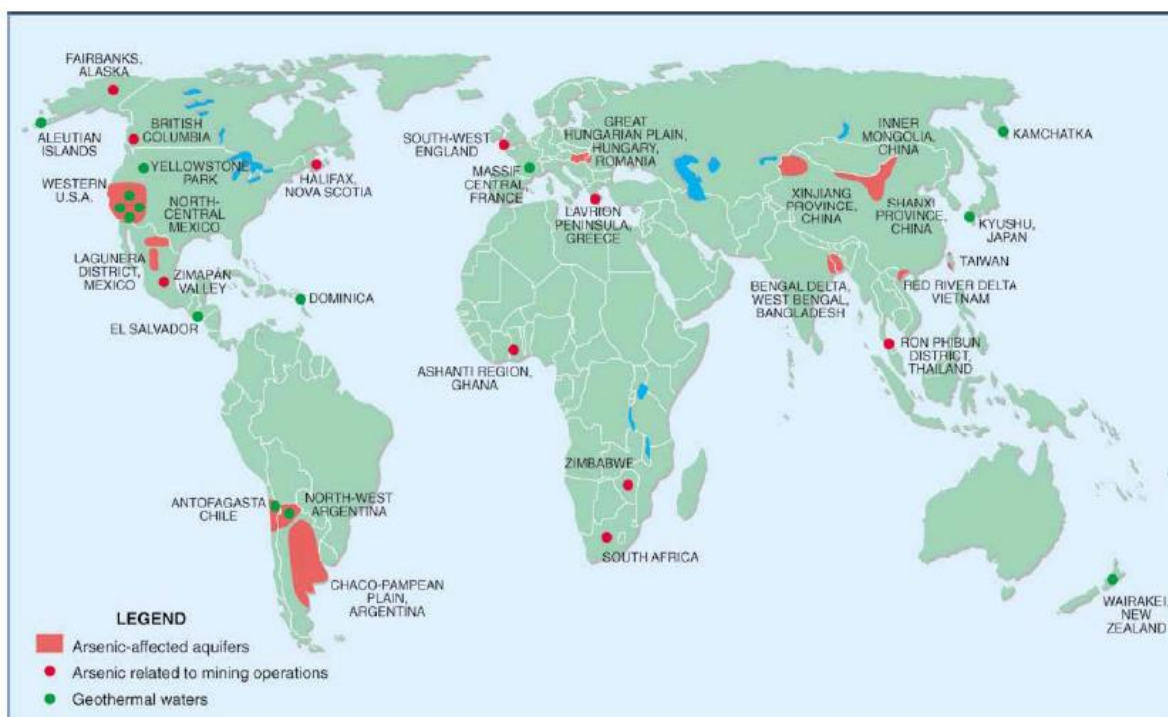
Arsen je unikátní mezi těžkými metaloidy jeho citlivostí na uvolňování při hodnotách pH typických pro podzemní vody (pH 6,5 – 8,5) a při oxidačních i redukčních podmínkách. Je ale známo, že v přírodních vodách se většinou nachází v anorganické formě jako trojmocný (As III) a pětímocný (As V). Organické formy arsenu mohou být produkovány biologickou aktivitou, především u povrchových vod, ale jejich zastoupení není ve většině případů významné. Mohou se však vyskytovat tam, kde jsou vody značně ovlivněné průmyslovým znečištěním (Smedley a Kinniburgh, 2002).

Základní koncentrace arsenu v říčních vodách jsou také nízké (v rozmezí od 0,1 – 0,8 µg · l<sup>-1</sup>, ale může se dostat až na hodnotu 2 µg · l<sup>-1</sup>). Nízké koncentrace byly nalezeny v řekách s podložím chudým na arsen. Relativně vysoké koncentrace se vyskytují v některých oblastech jako důsledek vstupů z geotermálních zdrojů nebo podzemních vod. Koncentrace arsenu v říčních vodách z geotermálních oblastí se pohybují mezi 10 – 70 µg · l<sup>-1</sup> (Obrázek 1). K výraznému navýšení koncentrací dochází také v důsledku odtoku z průmyslu a čistíren

odpadních vod. Arsen může také pocházet z důlních odpadů a továrních hlušin (Smedley a Kinniburgh, 2002).

Koncentrace arsenu v jezerech (v porovnání s těmi u řek nebo potoků) může být nižší kvůli adsorpci arsenu do oxidů železa při neutrálních podmínkách. Jezera a nádrže jsou však často ovlivněny geotermální činností, což může zvýšit koncentrace arsenu. Koncentrace arsenu v jezerech a vodních nádržích se mohou také zvýšit v důsledku nízkého toku vody a zadržování vody pomocí přirozených a antropogenních prostředků. Výstavba přehrad nebo nádrží na řekách může tudíž podporovat obohacování uzavřených vod (Duker a kol., 2005).

Průměrná koncentrace arsenu v otevřených mořských vodách vykazuje obvykle malé rozdíly a pohybuje se okolo  $1,5 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Zatímco koncentrace v ústí řek se liší významně v důsledku rozdílných vstupů z řek a salinitou, ale jsou také obvykle nízké, a to méně než  $4 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  (Smedley a Kinniburgh, 2002).



**Obr. 1: Distribuce zdokumentovaných světových problémů As v podzemních a důlních vodách a vodách z geotermálních zdrojů. Modré oblasti jsou jezera (Smedley a Kinniburgh, 2002).**

### 3.1.4.4. Pedosféra

Půdy nelze považovat za homogenní prostředí a obsahují vysoce variabilní koncentrace arsenu. Především vrstva humusu hraje klíčovou roli. V souvislosti s arsenem (a několika dalšími stopovými prvky) působí tato vrstva jako přirozená biogeochemická bariéra, která potlačuje perkolaci prvku s prosakující vodou, a tak silně hromadí prvek. V souladu s tím lze nejvyšší koncentrace najít v půdách bohatých na organický uhlík ( $C_{org}$ ) (Matschullat, 2000).

Přestože je dominantním zdrojem arsenu v půdách mateční hornina, také pesticidy a fosfáty mohou podstatně zvyšovat koncentraci arsenu v půdě. Arsen byl a v mnoha lokalitách stále je používán jako insekticid a pesticid (Duker a kol., 2005). V Evropské unii ale toto použití sloučenin arsenu povoleno není.

Množství arsenu se v půdách různých zemí pohybuje v rozmezí 0,1 až 40 mg . kg<sup>-1</sup> (průměr 6 mg . kg<sup>-1</sup> ), ale značně se liší mezi jednotlivými geografickými regiony. Arsen se vyskytuje v půdách ve vyšších koncentracích, než je tomu v podloží. Nekontaminované půdy obvykle obsahují 1 - 40 mg . kg<sup>-1</sup> arsenu, s nejnižšími koncentracemi v písčitéch půdách a půdách pocházejících ze žul, zatímco větší koncentrace se nacházejí v aluviálních a organických půdách (Mandal a Suzuki, 2002).

Rašeliny a bažiny mohou mít vyšší koncentrace ( průměrně 13 mg . kg<sup>-1</sup>), hlavně z důvodu zvýšené prevalence minerálních fází sulfidu za redukovaných podmínek. Kyselé půdy obsahující sírany, které jsou generovány oxidací pyritu v terénech bohatých na síru, jako jsou kyzové břidlice, minerální žíly a odvodněné mangrovové bažiny, mohou být také významně obohaceny arsenem (Smedley a Kinniburgh, 2002).

V půdách vytváří arsen různé anorganické a organické sloučeniny. Tvoří pevné sraženiny se železem (Fe), hliníkem ( Al ), vápníkem ( Ca ), hořčíkem ( Mg ) a niklem (Ni). Předchozí experimenty prokázaly, že se arsen vyskytuje ve frakcích půdy představujících amorfní a krystalické Fe a Al, což indikuje silnou afinitu na tyto půdní složky. Koncentrace rozpustného arsenu je v půdě významně ovlivněna redoxními podmínkami, pH, biologickou aktivitou a adsorpční reakcí. Arsen je předmětem chemické i biologické transformace v půdách, což vede k tvorbě různých sloučenin (Mahimairaja, 2005). Tlustoš a kol. (2002) našli ve vodném extraktu nekontaminované půdy 91 % arseničnanu, 6 % arsenitanu a 3 %



DMA. V této souvislosti byl diskutován i vliv typu a původu půdy, a také hladiny celkového arsenu v půdě (Bissen a Frimmel, 2000, Bowell 1994). Byly také popsány rozdílné sorpční charakteristiky jednotlivých sloučenin arsenu v závislosti na fyzikálně-chemických vlastnostech půdy (Smith a kol., 2002).

Půdní bakterie jsou schopny redukovat arseničnany na arsenitany a poté je metylovat na dimetylarsin. Rovněž houby jsou schopny konvertovat organické i anorganické sloučeniny arsenu na těkavé metylarsiny (Baker a kol., 1983, Frankenberger a Losi, 1995). Metabolická aktivita specifických mikrobiálních populací půdní biomasy hraje významnou roli ve speciaci anorganického arsenu v půdním roztoku. V aerobních půdních podmínkách byla v modelovém experimentu pozorována rychlá mikrobiální oxidace arsenitanu na arseničnan; redukce arseničnanu však zaznamenána nebyla (Macur a kol., 2004). Plynné sloučeniny arsenu jsou vytvářeny kmeny *Penicillium brevicaulis*, které se nazývají houby arsenu. Některé kmeny *Scopulariopsis fungi* vyvíjejí plyn obsahující arsen z agarových roztoků, které obsahují anorganický arsen. Je zjištěno, že běžné houby, kvasinky a bakterie mohou methylovat arsen na MMA, DMA a plynné deriváty arsenu a tento vzniklý methylovaný arsen je široce distribuován v půdě (Mandal a Suzuki, 2002).

### 3.1.5. Vliv arsenu na zvířata

Znečištění životního prostředí způsobené arsenem získalo v poslední době globální pozornost v důsledku mnoha škodlivých efektů na populace lidí a zvířat. Agentura pro toxické látky a registr onemocnění (The Agency for Toxic substances and Disease Registry) zařadila As mezi prvních sedm (z 275) nejvíce nebezpečných látek v přírodním prostředí. Tento seznam je založen na toxicitě látky a potenciálu pro její expozici z kontaminovaného ovzduší, vody či půdy (Roy a kol., 2012).

Některé mikroorganismy se mohou adaptovat na toxicitu arsenu a velké množství mikroorganismů může vzkvétat v toxickém prostředí bohatém na arsen. Aby tyto mikroorganismy prosperovaly a fungovaly v takovém prostředí, vyvinuly si některé kmeny rezistenci k toxicitě arsenu. Tato rezistence je dána snížením příjmu arseničnanů a zvýšením koncentrací fosfátů transportovaných do bakteriálních buněk. Tento fenomén vyplývá z intracelulární kompetice mezi arseničnany a fosfáty. Kromě schopnosti rezistence na toxicitu jsou některé mikroorganismy schopny redukovat méně toxické formy (arseničnany)

na více toxické (arsenitany). Redukce je pro mikroorganismy procesem získávání energie, avšak vliv těchto reakcí v anoxických systémech nesmí být podceňován, především s ohledem na mobilizaci arsenu (Duker a kol., 2005).

Mořské prostředí je důležité pro globální cyklus As. Množství arsenu v mořské vodě je menší než  $2 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ , což je srovnatelné s vodou sladkovodní. Je však dobře známo, že koncentrace arsenu v mořských živočiších jsou mnohem vyšší než je tomu u organismů obývajících terestrické prostředí. Je to dáno jejich specifickým potenciálem akumulovat arsen z mořské vody a konzumací kontaminované kořisti. Mořské řasy, které jsou základem potravního řetězce, akumulují anorganické formy arsenu z mořské vody a přetvářejí je na formy organické. Koncentrace arsenu v mořských řasách je 1000 – 500 000 krát vyšší než v okolní vodě. V mořských živočiších pak obvykle nacházíme vyšší obsahy organických sloučenin arsenu než anorganických. Mnoho studií se již zabývalo akumulací arsenu u nižších trofických organismů. Na rozdíl od terestrických živočichů, byla zaznamenána vysoká schopnost zachování organického arsenu u ryb, mušlí a krevet. U láčkovců, měkkýšů a korýšů se akumulace arsenu pohybuje v rozmezí  $0,005 - 0,3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Průměrný obsah arsenu u sladkovodních ryb je  $0,54 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  na základě celkové mokré hmotnosti, ale například v jaterním tuku okouna dosahuje až  $77,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (Mandal a Suzuki, 2002).

Hmyz je také vystaven mnoha sloučeninám arsenu. To často vede ke změnám trávení, pohybu a reprodukčního chování. Některé druhy mají například tendenci zvyšovat pohyb, aby unikly z míst se zvýšenou hladinou znečištění, zatímco ostatní hmyz výrazně snižuje všechny pohyby nesouvisející se sháněním potravy. U některých se zase projevuje chování vedoucí ke zvýšení náchylnosti k predaci, včetně pozitivní fototaxe způsobující jejich pohyb na nechráněná místa. Neschopnost se vyhybat i mírně znečištěným místům při kladení vajíček může vést ke ztrátě vajíček a snížení životaschopnosti u potomstva (Mogren a Trumble, 2010).

Akutní toxicita se vyskytuje vzácně, jelikož otravy arsenem mají kumulativní charakter. Akutní toxicita As je dána jeho chemickou formou a oxidačním stavem. Obecně je akutní toxicita trojmocného arsenu větší než u pětímocného. Většinou nastává smrt před zjištěním příčiny a správnou léčbou. Znakem jsou u skotu například kolika, zvracení, průjem, deprese a dermatitida, obvykle způsobené zvýšenou kapilární propustností a buněčnou nekrózou (Roy a kol., 2013). Bylo zjištěno, že u savců se hromadí arsen v určitých oblastech ektodermální tkáně, především v srsti a drápech. Domestikovaná zvířata obvykle obsahují

méně než  $0,3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  jejich hmotnosti. Anorganický arsen má zvláštní afinitu k srsti a dalším na keratin bohatým tkáním (Mandal a Suzuki, 2002). Smrtelná dávka u domácích zvířat kolísá od 1 do  $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  tělesné hmotnosti ve formě arsenitanu sodného (Roy a kol., 2013).

Chronická otrava byla zaznamenána u zvířat žijících v intoxikovaných oblastech. Projevuje se to většinou hubnutím, vrtošivou chutí k jídlu, zánětem spojivek a mukózními lézemi včetně ulcerace v ústech a sníženou produkcí mléka. Tento kumulativní jed má dlouhý retenční čas uvnitř těla, a proto představuje hrozbu pro různé fyziologické funkce těla. Zvíře vykazuje známky abdominální bolesti, průjem, hemoragické slinění, zvracení, zácpa, anorexie, ztráta hmotnosti, tmavou moč a kožní vyrážky. Játra a ledviny jsou primárními cílovými orgány pro toxické účinky As, o čemž svědčí klinické projevy a biochemické změny. Také bylo zjištěno, že chronická otrava As zahrnuje anémie, poškození jater a ledvin, hyperpigmentaci a keratózu. K symptomům u koz patří potraty, kožní problémy, bílá a černá místa na těle, někdy průjem s krví, opožděný růst, slabost, nechutenství, temná a zakalená moč (Roy a kol., 2013).

### **3.1.6. Vliv arsenu na člověka**

Arsen je běžným environmentálním kontaminantem a ohrožení člověka pochází z kontaminované vody a půdy, stejně jako z jídla bohatého na sloučeniny arsenu (např. mořské plody). Další zdroj expozice arsenu je spojen s pracovní činností, od té doby, co je arsen používán v pesticidech, prostředcích na ochranu dřeva, při výrobě skla, papíru a polovodičů. Navzdory své vysoké toxicitě je arsen běžně používán ve farmacii a v léčebných procesech, např. na léčbu chronické myeloidní leukémie, leishmaniózy a trypanosomiázy (Florea a Busselberg, 2006).

Existuje mnoho epidemiologických studií, které prokázaly karcinogenní účinky anorganického arsenu při inhalaci a orálním příjmu. Dlouhodobá expozice arsenu způsobuje chronickou otravu arsenem (arsenicosis). Ta byla hlášena u lidí, kteří žijí v endemických oblastech s vysokou koncentrací arsenu v pitné vodě nebo v oblastech masivního spalování uhlí. Otrava arsenem byla také zjištěna u lidí v důsledku pracovní činnosti. To může vést k redukci kapacity methylace, což je indikováno zvýšením nemetabolizovaného anorganického arsenu v moči. Kožní léze, které zahrnují změnu pigmentace (např. melanózu)

a keratózu na rukou a nohou, jsou projevy chronické otravy arsenem a obvykle se objeví 5 - 15 let po expozici. Chronická otrava arsenem může také vést k poškození vnitřních orgánů, dýchacího, trávicího, oběhového, nervového a ledvinového systému. Nejdůležitějším důsledkem chronické expozice arsenu je výskyt rakoviny v různých orgánech, zejména kůže, plic a močového měchýře (Ng a kol., 2003). Obecně platí, že existují čtyři uznávané fáze arsenicosis neboli chronické otravy arsenem:

- Preklinické: Pacient nevykazuje žádné příznaky, ale arsen se může nacházet v moči nebo ve vzorcích tělesných tkání.
- Klinické: V této fázi můžeme pozorovat různé účinky na kůži. Ztmavnutí kůže (melanóza) je nejčastějším příznakem, často pozorované na dlaních. Také byly nalezeny tmavé skvrny na hrudi, zádech, končetinách a dásních. Často se také objevuje edém (otok rukou a nohou). Vážnějším příznakem je keratóza nebo ztvrdnutí kůže vytvářející uzlíky, často na dlaních a chodidlech. Světová zdravotnická organizace (WHO) odhaduje, že tato fáze vyžaduje 5 - 10 let expozice arsenu.
- Komplikace: Klinické příznaky jsou zřetelnější a jsou ovlivněny vnitřní orgány. Bylo hlášeno zvětšení jater, ledvin a sleziny. Některé výzkumy naznačují, že zánět spojivek, bronchitida a diabetes mohou být spojeny s touto fází.
- Malignita: Nádory nebo rakoviny (karcinom) ovlivňují kůži a další orgány. U postižené osoby se může vyvinout sněť nebo rakovina kůže, plic a močového měchýře (Choong a kol., 2007).

Úroveň toxicity arsenu závisí na stupni expozice a u člověka se liší podle zeměpisné oblasti. Například Karagas a kol. (2002) zjistili nízkou úroveň ( $10 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) expozice pro obyvatelstvo New Hampshire, Ghosh a kol. zjistili vyšší úroveň ( $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) expozice pro určité oblasti Západního Bengálska, Indie, a Smith a kol. (2000) našli velmi vysokou úroveň ( $750\text{-}800 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) expozice v populaci Severní Chile. Současná literatura uvádí, že chronická otrava arsenem může měnit expresi několika genů v různých důležitých fyziologických procesech (Ghosh a kol., 2008).

Globálně je kontaminace pitné vody arsenem hlavním problémem veřejného zdraví. Podzemní voda je hlavním zdrojem pitné vody v mnoha částech světa, zejména v zemích

v oblasti jihovýchodní Asie (Ng a kol., 2003). Zprávy o kontaminaci vody jsou k dispozici z více než 30 zemí světa. Nicméně, hlavní postižené oblasti jsou v povodí řek Ganga, Brahmaputra a Meghna v Indii, Bangladéši a v Číně. Vědci se domnívají, že asi 6 milionů lidí v Západním Bengálsku a Indii je vystaveno podzemní vodě kontaminované arsenem. Výskyt velkého počtu případů kožních lézí vyvolaných arsenem byl hlášen z Kalkaty a Západního Bengálska v roce 1984 (Mazumder a Gasgupta, 2011).

WHO doporučila pro arsen maximální přípustný obsah v pitné vodě  $0,05 - 0,01 \text{ mg.l}^{-1}$  v roce 1993. Vzhledem k tomu snížilo Německo svůj povolený limit arsenu na  $0,01 \text{ mg.l}^{-1}$  v roce 1996, zatímco Australské limity pitné vody byly také sníženy  $0,05 - 0,007 \text{ mg.l}^{-1}$ . Současný francouzský standard je  $0,015 \text{ mg.l}^{-1}$ , Vietnamská a Mexická norma je  $0,05 \text{ mg.l}^{-1}$ . Jako cíl, který zaručuje adekvátní stupeň ochrany zdraví, doporučuje US EPA u arsenu, stejně jako u ostatních látek podezřelých z karcinogenity, nulovou koncentraci v pitné vodě (Pomykačová a kol., 2010). V Evropské unii je nyní standardní úroveň nastavena na  $0,01 \text{ mg.l}^{-1}$  (Choong a kol., 2007).

Mezi nejčastěji používané metody odstraňování arsenu z vody patří koagulace a flokulace. Koagulace je destabilizace koloidů tím, že se zneutralizují síly držící je od sebe. Flokulace je činnost polymerů, která vytváří mosty mezi většími částicemi nebo vločkami a váže tyto částice do velkých aglomerací nebo shluků (Choong a kol., 2007). V České republice se k odstraňování arsenu z vody používá technologie sorpce na granulovaný hydroxid železitý, která je selektivní a velmi účinná, schopná snížit obsah As pod hranici  $0,01 \text{ mg.l}^{-1}$  (Pomykačová a kol., 2010).

### 3.1.7. Vliv arsenu na rostliny

#### 3.1.7.1. Příjem a transport arsenu rostlinou

Kolonizace země rostlinami, asi před 400 miliony let, byla spojena s kolonizací jejich kořenů vláknitými mykorrhizními houbami (Garg a Singla, 2007). Mykorrhiza je nejrozšířenějším mutualistickým symbiotickým spojením mezi mikroorganismy a vyššími rostlinami a může mít velký význam pro minerální výživu hostitelské rostliny (Soudek a kol., 2006). Arbuskulární mykorrhiza (AM) je mezi mnoha mykorrhizními symbiózami nejhojnější. Asi 95 % druhů světových rostlin patří k typicky mykorrhizním rodinám a potenciálně těží z minerální výživy zprostředkované arbuskulární mykorrhizou vzhledem k zásadní úloze těchto hub při koloběhu biogeochemických prvků. Arbuskulární mykorrhizní symbióza se vyskytuje téměř ve všech lokalitách a podnebí, včetně půd narušených těžební činností (Garg a Singla, 2007). Mykorrhizní houby mohou zmírnit toxicitu prvku, protože představují bariéru pro příjem kovu (Soudek a kol., 2006). Rostlina jako součást potravního řetězce, představuje prostředníka mezi kontaminovanou půdou a možným ohrožením zdraví člověka. Obsah rizikových prvků v rostlině koreluje s jeho mobilním podílem v půdě (Tlustoš a kol., 2007). Pokud jsou rostliny vystaveny arsenu v půdě nebo v roztoku, vykazují toxické příznaky jako je inhibice klíčení semen, snížení výšky rostlin, snížené odnožování, redukce růstu kořenů, redukce růstu výhonků, nižší výnos plodů a zrn a v některých případech následný úhyn (Azizur Rahman a kol., 2007).

Arsen patří mezi nejintenzivněji studované rizikové prvky z důvodu jeho toxicity pro člověka i ostatní živočichy. Rovněž fytotoxicita tohoto prvku je známa (Száková a kol., 2007). Při vyšších koncentracích je arsen toxický pro většinu rostlin (Azizur Rahman a kol., 2007). Akumulace arsenu v rostlině se mění s druhem rostliny a s lokalitou. Příjem arsenu z půdy terestrickými rostlinami je většinou nízký (Bergquist a kol., 2011). Platí, že koncentrace se v rostlinách rostoucích na nekontaminované půdě pohybuje mezi 0,009 až 1,5 mg · kg<sup>-1</sup>, přičemž listová zelenina představuje horní mez a ovoce dolní mez (Larios a kol., 2011). Obsahy 3 – 10 mg · kg<sup>-1</sup> mohou být již fytotoxické (Tlustoš a kol., 2006). Toxicita a příjem arsenu jsou spojeny s jeho oxidačním stavem a konkrétní sloučeninou. Proto je pouhé zjištění celkového množství arsenu ve vzorku nedostatečné pro odhad rizikivosti pro prostředí (Soudek a kol., 2006). O tom, zda rizikový prvek z půdy vstoupí do rostliny, nerozhodují jen půdní vlastnosti, ale i rostlina sama. Chemické složení rostlin do určité míry

odráží složení růstového média. Přístupnost rizikových prvků rostlinám je dána jejich vazbou na půdní složky. Rostliny nejnáze přijímají z půdního roztoku ionty nebo cheláty, popř. organické sloučeniny. Příjem prvku a jeho transformace v rostlině je ovlivněn enzymatickými procesy, koncentrací a formou výskytu, projevem nedostatku a toxicity, iontovou kompeticí a interakcí (Tlustoš a kol., 2007).

Rostliny lze rozdělit do tří základních skupin na základě jejich chování v kontaminované půdě na: excludery, indikátory a akumulátory (Vithanage a kol., 2011). Strategie nepřijetí arsenu (excluder) zahrnuje zabránění příjmu arsenu nebo omezení transportu arsenu do nadzemních částí rostliny. Tuto strategii uplatňuje např. orobinec širokolistý (*Typha latifolia*) hojně rostoucí na půdě kontaminované arsenem. Akumulační strategie předpokládá silnou akumulaci arsenu v rostlině. Přestože je rostlina schopna akumulovat velké množství arsenu, na to aby mohla být označena za hyperakumulátor, je nutné splnit ještě jednu podmínku. Biokoncentrační faktor musí být větší než 1, tedy koncentrace kovu v rostlině musí být větší než koncentrace kovu v půdě (Soudek a kol., 2006). Kapradina *Pteris vittata* může tolerovat koncentraci arsenu až  $1500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  v půdě, její biokoncentrační faktor je 193. Koncentrace As v rostlině může dosahovat až 2,3 % (suché hmotnosti) (Zhang a kol., 2002). Rostliny mají k dispozici tři různé systémy pro příjem arsenu: (1) pasivní příjem přes apoplast, (2), přímý transcelulární transport z prostředí do cévního systému rostlin a (3) aktivní příjem přes symplast. Existuje řada faktorů ovlivňujících příjem stopových prvků z půdy, jako je acidifikace půdy kořenovými výměškami, aktivita a selektivita translokátorů, činnost kořenové membrány, strategické mechanismy zamezující a uvolňující stopové prvky, kořenová exkrece chelátů, kyselin a iontů vodíku (Vithanage a kol., 2011).). Kritériem, kterým lze hodnotit schopnost rostlin odebírat z půdy rizikové prvky a transportovat je do nadzemních částí, je transferfaktor (Tf), který udává poměr obsahu prvku v rostlině a celkového obsahu prvku v půdě (Tlustoš a kol., 2006). Schopnost translokace je považována za jeden z důležitějších faktorů, protože určuje schopnost fytoremediace jednotlivých druhů rostlin (Vithanage a kol., 2011). Hodnotu transferfaktoru ovlivňuje i sama rostlina.

Neexistuje důkaz, že by arsen byl pro rostliny esenciálním prvkem, přestože v nízkých koncentracích stimuluje růst rostliny (Soudek a kol., 2006). U rostlin je As nahromaděný především v kořenovém systému, v menší míře v nadzemních orgánech (Garg a Singla, 2007). Tlustoš a kol. (2006) také uvedli, že nejvyšší koncentrace rizikových prvků se nachází

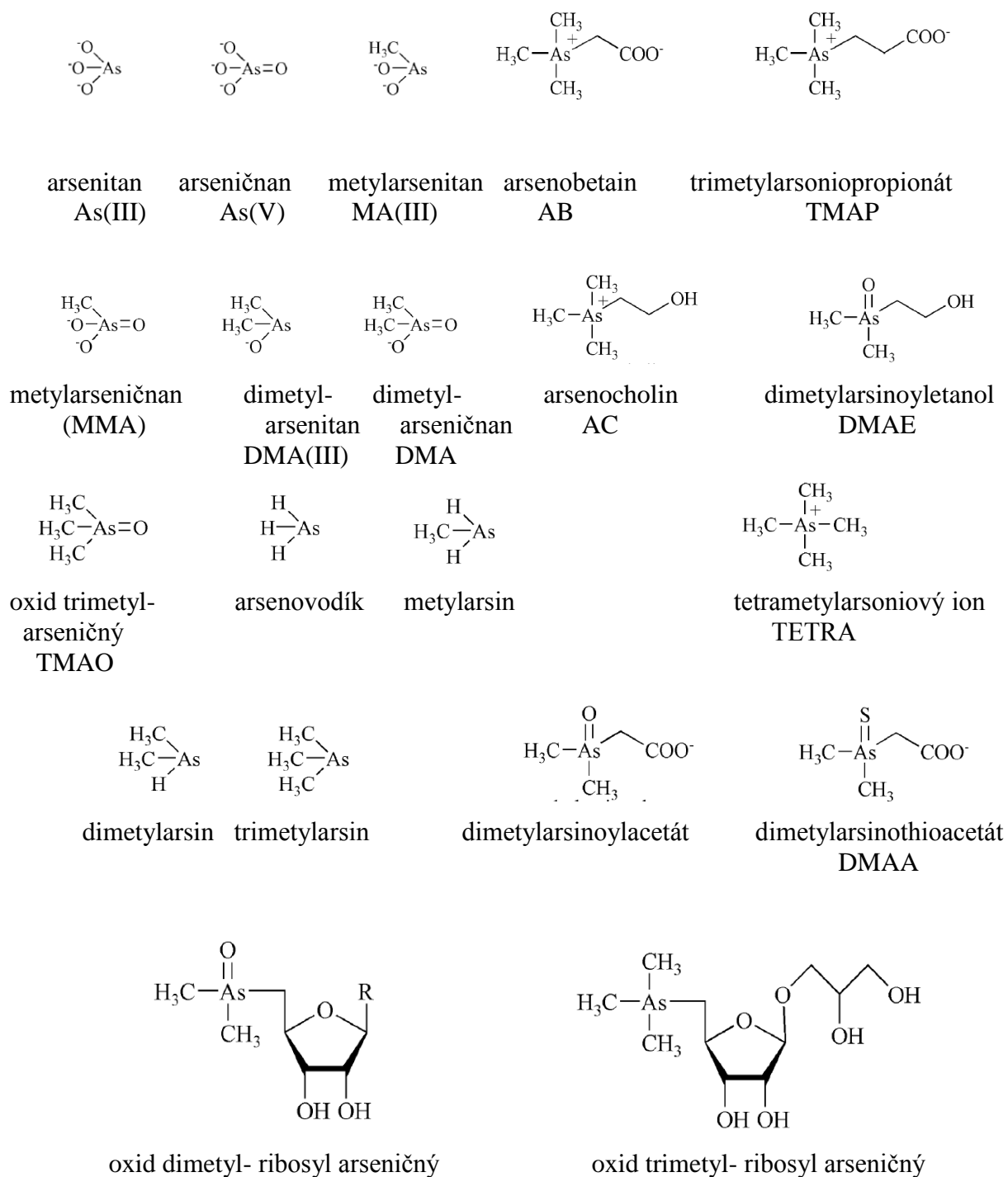
v kořenech, dále ve vegetativních orgánech a nejnižší koncentrace se stanovovány v generativních orgánech. Většina terestrických rostlin má nízký poměr  $(As)_{\text{výhonek}} : (As)_{\text{kořen}}$  (Bergquist a kol., 2011). Akumulace arsenu nadzemní biomasou suchozemských rostlin může být omezena různými faktory (Száková a kol., 2008). Zdá se, že dvouděložné rostliny přemísťují do nadzemní části více arsenu než jednoděložné rostliny, ale dominantní podíl tohoto prvku (až 90%) zůstává v kořenech (Soudek a kol., 2006, Jedyňak a kol., 2008). Přenos arsenu z kořene do výhonku je prováděn vaskulárním systémem, buď jako arsenitan a arseničnan, nebo jako komplex arsenitan – fytochelatin (Bergquist a kol., 2011). Lokalizace a identifikace sloučenin arsenu u suchozemských rostlin je důležitá pro pochopení absorpce, transformace a translokace v rámci těchto organismů a přispívá k našemu porozumění koloběhu arsenu v životním prostředí (Smith a kol., 2007).

Z hypodronických experimentů, ve kterých byl testován příjem arsenu rostlinou, je známo, že chemická forma je důležitější než celkové množství arsenu v roztoku (Soudek a kol., 2006). Široké spektrum anorganických a organických sloučenin bylo identifikováno v různých částech vyšších rostlin (Száková a kol., 2008). Anorganické formy jako je arsenitan, arseničnan a obzvláště arsin jsou nejtoxičtější formy pro organismy. Organické formy arsenu jsou mnohem méně škodlivé. Některé z organických forem (arsenobetain, arsenocholin) jsou považované za netoxické. Arsen se v terestrických rostlinách vyskytuje převážně jako anorganické arseničnany a arsenitany, zatímco organické formy jsou dominantní u mořských organismů. Avšak některé terestrické druhy rostlin obsahují i organické formy (Jedyňak a kol., 2008). Dostupnost živin pro rostliny, stejně jako potenciálně rizikových prvků, je převážně řízena půdními podmínkami v rhizosféře. Kořenové exudáty, obsahující směs organických kyselin, chelátů, vitamínů, aminokyselin, purinů, nukleosidů, anorganických iontů ( $HCO_3^-$ ,  $OH^-$ ,  $H^+$ ), molekul plynu ( $CO_2$ ,  $H_2$ ) a enzymů, hrají důležitou roli v tomto procesu (Száková a kol., 2008). Kořenový příjem rizikového prvku může být pasivní i aktivní (metabolický) a je v pozitivní korelaci s jeho přístupným množstvím na povrchu kořenů. Koncentrace prvků na povrchu kořenů je ovlivněna i aktivitou mykorrhizy, která má také schopnost zpřístupňovat prvky rostlinám. To, zda budou rizikové prvky rostlinou snáze přijímány, rozhoduje mimo jiné i morfologická stavba kořene (Tlustoš a kol., 2006).

Arseničnan, dominantní anorganický druh arsenu v aerobním prostředí, je přijímán rostlinami prostřednictvím fosfátového transportního systému, jelikož ionty fosfátu jsou



podobné iontům arseničnanu (Vithanage a kol., 2011). Arsenitan inaktivuje řadu enzymů, protože má vysokou afinitu k thiolovým skupinám proteinů (Dembitsky a Řezanka, 2003). Arsenitan lze nalézt v anaerobních půdách, a bylo zjištěno, že rostliny rýže aktivně přepravují arsenitan do kořenů (Smith a kol., 2007). U terestrických rostlin je arseničnan přednostně přijímán, a to čtyřikrát rychleji než arsenitan (Dembitsky a Řezanka, 2003). Arsenobetain (AB) je méně často pozorován u suchozemských rostlin, ale byl zaznamenán např. u jetele červeného a jitrocele kopinatého, u kterých byl později objeven také obsah arsenocholinu (AC), způsob vzniku těchto sloučenin arsenu není však dobře znám (Smith a kol., 2007). Přehled hlavních sloučenin arsenu, z nichž většina byla již v rostlinných tkáních popsána, je znázorněn v obrázku 2.



**Obrázek 2. Přehled vybraných anorganických a organických sloučenin arsenu**  
(Francesconi a Kuehnelt 2004)

### 3.1.7.1. Transformace sloučenin arsenu v rostlině

Aby se ochránily před intoxikací těžkými kovy, musely rostlinné buňky vytvořit mechanismus, při kterém je ion kovu vstupující do cytosolu buňky okamžitě vázán do komplexu a inaktivován, a tím předchází tomu, aby tento kov inaktivoval katalyticky aktivní nebo strukturní proteiny (Zenk, 1996). Zejména arsenitan má vysokou afinitu k sulfhydrylovým zbytkům nacházejících se na molekulách, jako je glutathion (GSH) a fytochelatiny (PC) a in vitro studie prokázaly tyto komplexy v obou případech (Smith a kol., 2007). Fytochelatiny patří do rodiny peptidů bohatých na cystein a reagujících s thiolem, které hrají významnou roli při zpracování mnoha toxických látek reagujících s thiolem (Garg a Singla, 2011). Fytochelatiny jsou glutathionem derivované peptidy a obecnou strukturou ( $\gamma$ -Glu-Cys) $_n$ -Gly ( $n=2-11$ ). Hrají důležitou roli při snižování toxicity u kationtů jako  $Ag^+$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$  nebo  $Pb^{2+}$  (Jedynak a kol., 2008). Glutathion má dvojí roli při reakci na stres vyvolaný kovem a bylo navrženo, že produkce fytochelatinů způsobující spotřebování glutathionu, může sama o sobě způsobit oxidační stress (Garg a Singla, 2011). GSH se skládá ze zbytku  $\gamma$ -glutamát - cystein - glycinu ( $\gamma$ -Glu-Cys-Gly). V rostlinách se většina GSH nachází v chloroplastech (50-70%), kde působí jako silný antioxidant. Široká škála arsen-PC komplexů byla popsána a mezi převládající komplexy patří: arsenitan-PC<sub>3</sub> v *H. lanatus*, GS-arsenitan-PC<sub>2</sub> v *P. cretica*, PC<sub>2</sub>-arsenitan-PC<sub>2</sub> v *R. serpentini*, a PC<sub>3</sub> a homoPC<sub>3</sub> v *C. arietinum* (Smith a kol., 2007). PC<sub>2</sub>-As-PC<sub>2</sub> je hlavním typem formovaného As komplexu. U tolerantního *C. striatus* je hlavním typem PC<sub>4</sub> (Garg a Singla, 2011).

Biomethylace arsenu má vliv na jeho mobilitu a toxicitu. Fotosyntetické organismy mohou hrát významnou roli v geochemickém cyklu As jeho methylovací na jiné formy, ale je známo jen málo o mechanismech těchto procesů (Ye a kol., 2012). Methylované sloučeniny arsenu jako MMA a DMA byly identifikovány v rýži, trávě a bambusových výhoncích (Jedynak a kol., 2008). Ve vzorcích extraktu buněk tkáňové kultury barvínku menšího (*Vinca minor* L.) pěstovaného v médiu s přísadkou arseničnanu byly stanoveny obsahy arsenitanu, arseničnanu a též menší podíly MA a DMA. Tyto výsledky naznačují, že vyšší rostliny jsou schopny methylovat sloučeniny arsenu (Száková a kol., 2007). U mnoha vzorků rostlin rostoucích na poli byly nalezeny formy arsenu jako MAs(V), DMA(V) a TMAO. Mezi těmito vzorky byla nejintenzivněji studována rýže. MAs(V) a DMA(V) byly často zjištěny ve vegetačních tkáních a zrn rýže rostlin (Ye a kol., 2012). Sledování methylování arsenu v rostlinách psinečku tenkého (*Agrostis tenuis* Sibth.) ukázalo, že arseničnan, který byl přidán

do kultivačního média, byl přijat kořeny rostlin, přeměněn na arsenitan, a později metylován v listech, kde byla zaznamenána zvýšená aktivita enzymu methyltransferasy (Száková a kol., 2007).

Mezi rostlinnými druhy s vysokou tolerancí k rizikovým prvkům je často zmiňován jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata*), který byl schopen vegetovat (ale již s příznaky fytotoxického účinku) v půdě s obsahem arsenu až 21000 mg.kg<sup>-1</sup> (Orlowska a kol., 2012). Geiszinger a kol. (2002) a Pacáková (2011) zaznamenali výskyt tohoto druhu na místech s vysokým obsahem As v půdě a také pozorovali přítomnost organických sloučenin arsenu, zejména arsenobetainu v rostlinné biomase. Proto byl tento druh zvolen pro tuto práci jako modelový pro studium transformace sloučenin arsenu v průběhu vegetačního období.

## 3.2. Jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata*)

### 3.2.1. Taxonomické zařazení

Říše: *Plantae* (rostliny)

Oddělení: *Magnoliophyta* (rostliny krytosemenné)

Třída: *Rosopsida* (vyšší dvouděložné rostliny)

Řád: *Lamiales* (hluchavkotvaré)

Čeleď: *Plantaginaceae* (jitrocelovité)

Druh: *Plantago lanceolata* (jitrocel kopinatý)

### 3.2.2. Popis

Rostlina 10 – 50 centimetrů vysoká, lysá nebo vlnatá, s přízemní růžicí listů. Listy jsou vzpřímené, s podlouhlou, žlábkovitou, celokrajnou nebo oddáleně zubatou čepelí, zúženou v pochvovitý řapík. Ze středu růžice vyrůstá několik přímých nebo vystoupavých, podélně rýhovaných stvolů. Květenstvím je koncový, krátce vejcovitý až válcovitý klas. Drobné květy v paždí podpůrných, suchomázdřitých, hnědých listenů jsou obojaké, kromě pestíku čtyřčetné, s rozlišenými a srostlými obaly. Kalich je suchomázdřitý a vytrvává až do zralosti plodu, koruna řepicovitá, také suchomázdřitá, s hnědými cípy. Tyčinky 2 – 3krát delší než koruna. Semeník je svrchní ze dvou plodolistů, jednopouzdrý. Plodem je vejcovitá tobolka, otvírající se obřízně víčkem. Semena dvě, podlouhlá, černavá, se slizovatějším osemením (Jirásek, 1986). Rozmnožování probíhá převážně generativně. Tobolka 3 - 4 mm velká se dvěma semeny. Na jedné rostlině dozrává přibližně 1000 semen. Semena vzcházejí dobře po dozrání z povrchu půdy, z hloubky větší než jeden cm vzchází špatně (Mikulka a kolektiv, 1999). Na travnatých plochách má středně vysokou konkurenční schopnost. Nesnáší zpracování půdy, proto se vyskytuje na orné půdě zřídka. Používá se ve farmacii i v lidovém léčitelství. Znehodnocuje píci svojí hořkostí, u zvířat způsobuje zažívací problémy (Mikulka, Kneifelová a kolektiv, 2005).

### 3.2.3. Zastoupené látky

Obsahové látky jitrocele jsou dosud, a to jak po stránce chemické, tak i pokud jde o jejich účinky, relativně málo prozkoumány. Na druhé straně se jim v lidovém léčitelství přisuzují mnohé léčivé účinky, které jsou z odborného hlediska, na základě poznatků o příčinách vzniku chorob, u kterých se použití jitrocele doporučuje, jen málo věrohodné (např. u astmatu, dny, poruch funkce štítné žlázy, tuberkulózy, trombózy, rakoviny) (Jaroš, 1992).

Droga obsahuje především glykosid aukubin, flavonoidy, enzymy, sliz, třísloviny, pektiny, saponin, vitamín C, kyselinu křemičitou, soli vápníku a draslíku a další látky (Janča a Zentrich, 1995). Vzhledem k obsahu slizu, snad i aukubinu, se jitrocel uplatňuje při onemocněních dýchacího ústrojí doprovázených značným zahleněním (Jaroš, 1992). Aukubin je velmi nestálý, vlhkem se rozkládá a působí hnědnutí (Jirásek a Starý, 1986).

### 3.2.4. Rozšíření

V České republice je hojný, obývá sušší louky, pastviny, písčiny, meze, pole a u cest z nížiny do hor, místy pospolitě (Jirásek a Starý, 1986). Dává přednost vlhké půdě nebo středně úrodné půdě, slunci nebo částečnému stínu. Obvykle roste jako zahradní plevel, snadno se množí semeny (Kindersley, 2011). Druh roste v Evropě a západní Asii z mírného pásu do pohoří subtropů a severní Afriky. Zavlečené v řadě oblastí všech světadílů (Jirásek a Starý, 1986).

### 3.2.5. Využití

Předmětem sběru je především list (*Folium plantaginis*), sbíraný od května do srpna, nejlépe kolem čtrnácté hodiny. Stále častěji se ovšem sbírá i semeno (*Semen plantaginis*) (Janča a Zentrich, 1995).

Jitrocel kopinatý je nejlepší rostlinný lék (spolu s řebříčkem) na rány. Různé rány se po přiložení podrceného listu jitrocele velmi rychle a pěkně hojí. To je způsobeno tím, že rostlina obsahuje látky ničící bakterie. Schopnosti jitrocele ničit bakterie se využívá i při

omývání a obkladech popálenin. Čerstvou šťávou z listů natíráme zanícené oči, bolavá místa po bodnutí hmyzem a popálení kopřivou (Dugasová a Dugas, 2002).

Semeno jitrocele snižuje hladinu krevního cukru, léčí žaludek a játra, mírně stimuluje krevtvorbu a účinně upravuje peristaltiku tlustého střeva při zácpě (Janča a Zentrich, 1995). Listy jitrocele mohou být vhodnou součástí různých čajových směsí ztekucujících vazký hlen, zlepšujících vykašlávání. Tekutý extrakt jitrocele *Extractum plantaginis fluidum* je obsažen v dětském sirupu. Pro obsah slizu, snad i protizánětlivě působících fytoncidů, mohou nálevy z jitrocele příznivě ovlivnit potíže doprovázející vředovou chorobu žaludku, a to např. v čajových směsích s natí mochny husí, meduňky, s kořeny proskurníku, s květy heřmánku, plody anýzu. Vzhledem k obsahu kyseliny křemičité, která může přispívat k zvýšení močení, lze listy jitrocele použít jako součásti čajů močopudných (Jaroš, 1992).

Jitrocel můžeme kombinovat s mnoha drogami. Osvědčila se kombinace s mateřídouškou, dobromyslí, proskurníkem, pelyňkem, kmínem, fenyklem, listem podbělu, ale také se zemědýmem, vlašovičnickem i s lékořicí. Droga nemá žádné toxické účinky a nehrozí ani předávkování. Je vhodná i k dlouhodobému podávání (Janča a Zentrich, 1995).

## 4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 4.1. Materiál a metodika

#### 4.1.1. Založení nádobového pokusu

Nádobový pokus byl založen 2.dubna 2012, a to ve sklenicích Katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin FAPPZ ČZU v Praze. Pro pokus byly využity rostliny jitrocele kopinatého (*Plantago lanceolata*). Tyto rostliny byly odebrány v kontaminovaných lokalitách: Roudný a Kutná Hora, tedy rostliny, u kterých jsme předpokládali, že jsou přizpůsobené vysokým obsahům prvků v půdě.

Do jednotlivých nádob bylo naváženo 5 kilogramů kontaminované zeminy odebrané v arsenem kontaminované oblasti Mokrsko. Tato zemina byla předem homogenizována, vysušena a byly odstraněny hrubé nečistoty. Po navážení byla do zeminy přidána hnojiva:

- 10 ml hydrogenfosforečnanu draselného ( $K_2HPO_4$ )
- 10 ml dusičnanu amonného ( $NH_4NO_3$ ).

První odběr vzorků byl proveden 21. května 2012. Následně byly odběry opakovány každé tři týdny. Celkově bylo provedeno pět odběrů, přičemž poslední odběr proběhl na začátku srpna. Během pokusu byly rostliny zalévány demineralizovanou vodou.

Tab. 1. Schéma založení nádobového pokusu ve sklenicích Katedry agrochemie a výživy rostlin FAPPZ ČZU v Praze.

Schéma pokusu – založení 2.4.2012				
Číslo nádoby	Plodina	Lokalita	Půda	Hnojení
1, 2, 3, 4, 5, 6	Jitrocel kopinatý ( <i>Plantago lanceolata</i> )	Roudný	Mokrsko	$K_2HPO_4, NH_4NO_3$
			Mokrsko	$K_2HPO_4, NH_4NO_3$
7, 8, 9, 10, 11		Kutná Hora	Mokrsko	$K_2HPO_4, NH_4NO_3$
			Mokrsko	$K_2HPO_4, NH_4NO_3$



## 4.2. Charakteristika lokalit

### 4.2.1. Roudný

Obr.3. Satelitní mapa (maps.google.cz)



Zájmové území se nalézá na katastrálním území obce Zvěstov. Obec Zvěstov se nachází v okrese Benešov, kraji Středočeském. Geograficky je oblast součástí Středočeské pahorkatiny, která se zde stýká se západní Českomoravskou vrchovinou. Blíže patří území celku Vlašimská pahorkatina a podcelku Mladovožická pahorkatina. Nadmořská výška se pohybuje mezi 400 a 500 m n. m. Nejvyšší vrcholy v zájmovém území jsou Roudný (503 m n. m.) a Vinice (508 m n. m.). Hydrograficky je oblast součástí povodí řeky Blanice. Průměrný úhrn srážek je kolem 700 mm. Klimaticky náleží oblast Roudného k mírně teplému, mírně vlhkému, pahorkatinnému okrsku s mírnou zimou. Průměrná teplota je 7 °C (obr. 1).

Bývalý zlatodůl Roudný se nalézá na Podblanicku, vzdálený asi 17 km jihozápadně od města Vlašimi. Nejhojněji jsou v této lokalitě zastoupeny hlubinné vyvřeliny, z nich především granodiority a diority. Převládající horninou na roudenském ložisku a v jeho nejbližším okolí je biotitická pararula, která obsahuje hlavně křemen, živce a slídy, zvláště biotit. Dále jsou v ní menší míře přítomny sillimanit, apatit, pyrit a granáty. Z dalších hornin

se na Roudném v menší míře vyskytly kvarcicity a pyroxenická hornina, která nebyla blíže zařazena. Nověji jsou ještě z ložiska uváděny skarn a amfibol, které tvoří polohy pararule.

V Čechách se zlato těžilo již od nepaměti a ložiska zlata se zde nacházejí na šestině území. Také v okolí ložiska Roudný se pravděpodobně rýžovalo zlato už za doby Keltů. Stará rýžoviště se vyskytovala především na řece Blanici a na jejích přítocích. Zde se získávalo takzvané zlato sekundární (zlato odnesené z původního ložiska vodou a uložené v náplavech). Zlato se patrně získávalo i na ostatních potocích v okolí Roudného. V dobách středověku se hlavní zájem zkušených těžařů přesunul na primární ložisko (na vrch Roudný). V devadesátých letech žádaly různé firmy o průzkum na Roudném, to však nebylo povoleno z důvodů možného narušení okolní krajiny při případném zahájení těžby. Prognózy zásob zlata jsou dnes, po přehodnocení starých údajů a vyhodnocení nových prací, stanoveny na 25 – 30 tun ryzího zlata. Dále je zde ještě 37 – 45 t stříbra, ale z tohoto množství by bylo možné vytěžit jen část. Zájem o využití tohoto dolu neochabuje ani v dnešní době, kdy se o těžbu zajímala kanadská firma. Záměr byl již jednou vylouhovaný písek odvozit a přelouhovat ho znovu. V současnosti se roudenské ložisko nevyužívá a podzemní prostory jsou z větší části zatopeny.

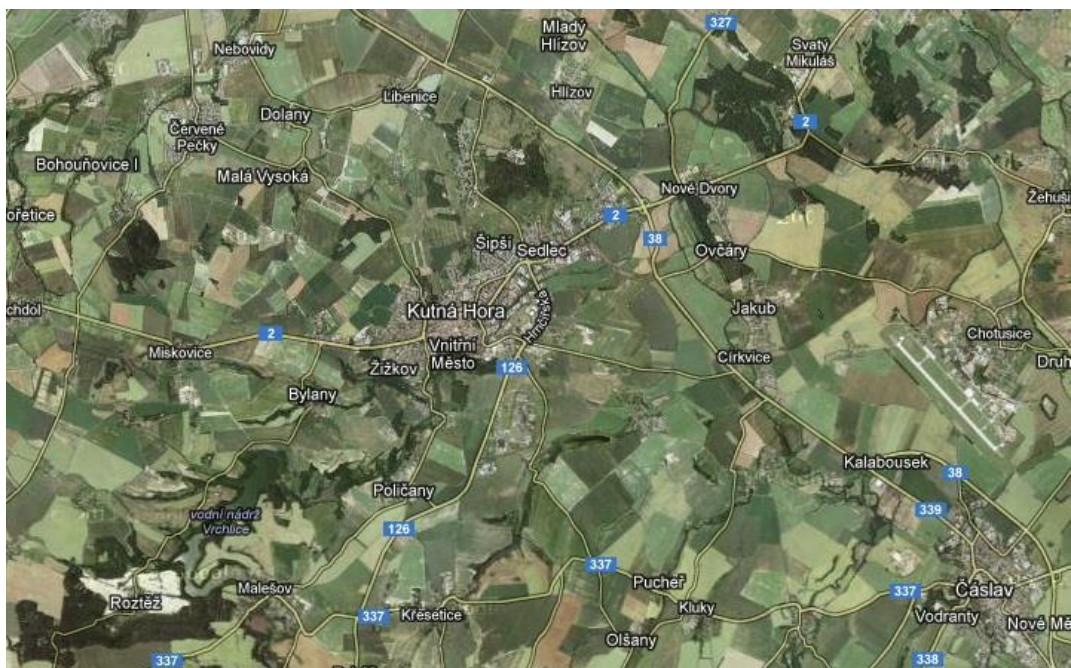
Hydrograficky je oblast součástí povodí řeky Blanice. Síť menších přítoků Blanice je tektonicky predisponovaná. V lesích v současné době převažují převážně smrkové porosty, které nahradily značně rozšířené doubravy a dubohabřiny. Ve vrcholových partiích Velkého i Malého Blaníku najdeme ještě bučiny, které byly spolu s jedlí původně převažujícím lesním porostem. Na loukách a pastvinách se nacházejí dvojsečné ovsíkové louky, v údolních luzích vlhké pcháčové a tužebníková lada, v polohách se střídavou vlhkostí, na nehojených plochách charakteristická společenstva smilkových trávníků (Farářová, 2010).

Farářová (2010) zkoumala obsah prvků v půdě na pěti stanovištích. Obsahy As přesáhly maximální přípustné hodnoty dané vyhláškou 13/1994 Sb. u všech stanovišť. Na třech stanovištích, kde se vyskytoval jitrocel kopinatý, byly naměřeny hodnoty v rozmezí od 675 do 1105 mg.kg<sup>-1</sup> (norma 30 mg.kg<sup>-1</sup>). Z ostatních prvků překročilo maximální přípustnou hodnotu (0,4 mg.kg<sup>-1</sup>) pouze kadmium (na stanovišti, kde se jitrocel kopinatý nevyskytoval), u kterého byl naměřen obsah 1.19±0.10 mg.kg<sup>-1</sup>.

#### 4.2.2. Kutná Hora

Zájmové území se nachází v severovýchodní části katastrálního území Kaňk, předměstí města Kutné Hory. Kutná Hora náleží do okresu Kutná Hora, kraje Středočeského (obr. 2). Nadmořská výška katastrálního území Kaňk se pohybuje v rozmezí 250 – 353 m n. m. a patří do teplé, mírně vlhké oblasti. Průměrná roční teplota zde nabývá hodnot 8 – 9 °C a průměrný roční úhrn srážek 550 – 650 mm (Pacáková, 2011).

Obr.4 Satelitní mapa (maps.google.cz)



V celém řešeném území výrazně převažuje pedologická asociace hnědých lesních půd přírodních a hnědých půd zemědělsky zkuřtvených. Oblast Kutné Hory a okolí je považována za oblast významně kontaminovanou toxickými prvky, především arsenem, kadmíem, mědí a zinkem. Kontaminace složek životního prostředí je primárně způsobena existencí rudních ložisek. Toxické prvky pocházejí z těžných rudnin. Vysoké koncentrace arsenu jsou důsledkem těžby stříbra, která zde v minulosti probíhala. Za významné sekundární zdroje rizikových prvků je možno považovat důlní a hutní haldy, odvaly, mineralizované vody čerpané z vododajných vrstev, dále půdu kontaminovanou rozvlečením hald a odkaliště (Peksová, 2010)

Staré doly, jejich odvaly a haldy leží na katastrech obcí Kutná Hora, Kaňk, Sedlec, Malín, Libenice, Grunta, Hořany, Přítoky, Bylany, Poličany, Malešov a Křesetice, patřící

okresům Kutná Hora a Kolín. Morfologicky nápadné pozůstatky dávné důlní a hutní činnosti jsou nejlépe zachovány v drobných lesících údolích říčky Vrchlice a potoka Bylanka a na vrších okolních kopců.

Území je budováno složitě provrásněnými krystalickými břidlicemi kutnohorského krystalinika, na které nasedají sedimenty křídý, terciéru a kvartéru. Nejrozšířenějším půdním typem jsou typické hnědozemě na spraších a sprašových hlínách. V Rovinách se na spraši a sprašových hlínách s příměsí štěrku vytvořila luvizemní hnědozem. Celkově v území převažují půdy vysoce produkční a produkční, i když je místy jejich kvalita snížena vysokým obsahem těžkých kovů.

Velice důležitým jevem v typech a kvalitě půd v okolí Kutné Hory jsou antropogenní půdy, vzniklé následkem důlní činnosti. Vyskytují se zejména podél hlavních rudních žil. Množství hald a výsypek, postupně aplanovaných, bylo postupným obděláváním zúrodněno (Pacáková, 2011).

Pacáková (2011) zjistila, že se obsah As v půdách této lokality pohybuje v rozmezí od 101 do 152 mg.kg<sup>-1</sup>, což několika násobně převyšuje normu (30 mg.kg<sup>-1</sup>). Obsahy prvků byly zkoumány na pěti stanovištích. Na všech zájmových plochách byly překročeny maximální přípustné hodnoty pro kadmium. Dále byly u dvou stanovišť zjištěny nadlimitní koncentrace zinku. Obsah olova překročil limit pouze na jediném stanovišti, zatímco obsahy mědi a niklu nepřevýšily maximální přípustnou mez.

### **4.2.3. Mokrsko**

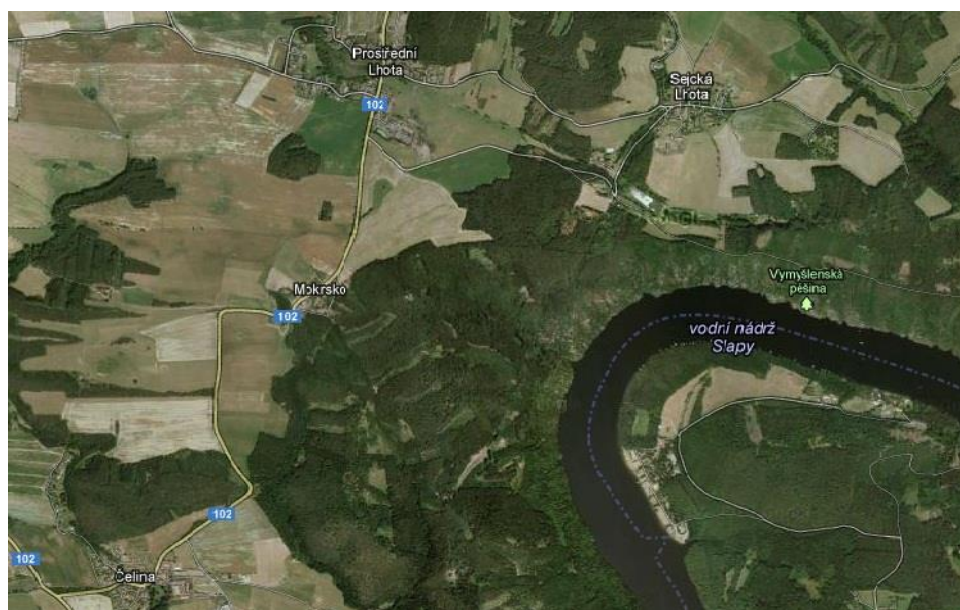
Vesnice Mokrsko se nachází ve středních Čechách mezi 400 až 488 metry nad mořem, s ročními srážkami 500 – 550 mm a s průměrnou teplotou 7,8 °C. Mezotermální ložisko zlata na západ od Mokrska je pravidelně vrstvený žilnatý komplex složený z křemitých žil, jejichž tloušťka se mění od 100 do 300 m (obr. 3). Ložisko je tvořeno z biotit – amfibol granodioritu z Variského období, rozšiřující se přes kontakt do horního proteozoického vyvěřelinosedimentárního komplexu, který je metamorfován do facií zelené břidlice. Granodiorit je relativně nezměněn hydrotermálními procesy, proto není primární rudná mineralizace ovlivněna transformací do sekundárních minerálů. Mineralizace je reprezentována křemenem s relativně běžným kalcitem a minoritním chloritem, biotitem, amfibolem, mikroklinem a dalšími minerály. Arsenopyrit je nejběžnější sulfid v rudě a je



hlavním zdrojem kontaminace As v oblasti (Filippi, 2007). Na rozdíl od předchozích dvou lokalit není tato lokalita zatím zatížena těžbou.

V Mokrsku se nacházejí jílovitopísčité nivní půdy s různým stupněm podmáčení a oglejení či zrašelinění. Geneticky se vyvinuly na různě hlubokých nivních uloženinách. Na údolních svazích a návršních planinách jsou hlinitopísčité hnědé půdy, místy podmáčené a oglejené. Geneticky to jsou kyselé kambizemě na kambrických sedimentech zejména břidlicích, prachovcích a slepencích; ve svazích též na svahových hlínách. V lesích se na zmíněných sedimentárních horninách vytvořily většinou mělké hnědé půdy a humusové podzoly. Ve vyšších polohách pak pseudogleje, gleje, glejové podzoly a místy i rašeliny. V oblasti středočeské vrchoviny to jsou převážně hnědé půdy a rendziny včetně jejich oglejených a illimerizovaných forem na žule a rulách středočeského plutonu (Peksová, 2010).

Obr. 5 Satelitní mapa (mapa.google.cz)



Nejdůležitější lokální vstupy As do půd a sedimentů jsou (kromě vulkanické činnosti) antropogenní zdroje spojené s těžbou a činností rudy (Filippi a kol., 2007). Rozšíření znečištění As na polích a lukách v oblasti ložiska zlata Mokrsko signalizuje, že množství As v půdách je větší než 200 mg/kg zhruba na 112 ha, větší než 500 mg/kg na 30 ha a větší než 1000 mg/kg na 13 ha (Filippi, 2007). Nejvyšší hodnoty As v půdách Mokrska se pohybují mezi 1500 – 2400 mg/kg. Vyskytují se na nebo blízko profilů v morfoloicky šikmé oblasti.

Nejnižší hodnoty se vyskytují v horních částech a kolísají mezi 330 a 700 mg/kg. V morfologicky rovné oblasti jsou nejvyšší hodnoty pod ornici v hloubce 0,2 – 0,7 m, ale vysoké koncentrace (>26,000 mg/kg) byly zjištěny také u vysoce zvětralého granodioritu. Tento anomální obsah je způsoben výskytem primárních minerálů As (arsenopyrit, löllingit) a velkým nadbytkem sekundárních arseničnanů (Filippi a kol., 2004).

Obsahy  $P_2O_5$ , MnO, BaO a částečně také  $TiO_2$  jsou nízké a relativně konstantní. Malé variace v obsazích oxidů vznikají v důsledku změny primárních akcesorických minerálů v podloží. Bylo objeveno větší množství dalších oxidů jako:  $Na_2O$ , MgO,  $Al_2O_3$ ,  $SiO_2$ ,  $K_2O$  a CaO. Půdy Mokrska mohou být klasifikovány jako málo vápnité. Vzhledem k pH mohou být půdy vyskytující se nad granodiority klasifikovány jako mírně kyselé a půdy vyskytující se nad vulkanickými sedimenty jako vysoce kyselé (Filippi a kol., 2007). Největší množství  $Fe_{tot}$  byla nalezeno v půdách Mokrska nad podložím tvořeným vulkanickými sedimenty (Filippi a kol., 2004).

V tomto případě šlo o půdu hlinito – jílovitou, u které Száková a kol. (2010) naměřili obsah As  $839 \pm 112 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Obsahy ostatních prvků vyhovovaly normě, a proto byla tato půda vybrána pro experiment.

### 4.3. Celkové obsahy As

Odebrané vzorky jitrocele kopinatého (*Plantago lanceolata*) byly vysušeny při 60 °C a namlety v mixeru na jemný prášek.

Vzorky byly rozloženy metodou mokrého rozkladu za zvýšeného tlaku s fokusovaným mikrovlnným ohřevem. Do křemenných nádobek o objemu 35 ml bylo naváženo 0,1 g takto zpracovaných vzorků. Dále bylo přidáno 5 ml koncentrované kyseliny dusičné ANALPURE ( $HNO_3$ ) od firmy Analytika s.r.o. Teplota rozkladu dosahovala maximální hodnoty 202 °C a tlak 17 bar. Délka trvání rozkladu byla 8 minut při výkonu 300 W. Mineralizát byl poté kvantitativně převeden do plastových zkumavek a doplněn deionizovanou vodou na objem 50 ml. Obsah As v mineralizátech byl stanoven pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICPMS) na přístroji Agilent 7700x (High Energy Helium) od firmy Agilent Technologies Inc., USA (Obrázek 4).

Obr. 6.: ICPMS 7700x (www.hpst.cz)



#### 4.4. Stanovení sloučenin arsenu

Pro extrakci bylo naváženo 0,1 g vzorku do polypropylenových zkumavek se šroubovacím uzávěrem o objemu 15ml. Ke vzorku bylo přidáno 2,5 ml 0,02 M roztoku dihydrogenfosforečnanu amonného ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ , při pH 6). Reakční směs byla třepána po dobu 14 hodin (Biosan MultiRS 60), poté se centrifugovalo při 3000 otáčkách (Boeco C28A, Německo) a nakonec následovala filtrace přes celuloso-nitrátový filtr (Roth, CME) o velikosti porů 0,22  $\mu\text{m}$  a průměru filtrů 0,25 mm.

Měření probíhalo pomocí spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC, Agilent 1260 Infinity od firmy Agilent Technologies Inc., USA, obrázek 5) s využitím hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICPMS) jako detektoru. Jako mobilní fáze byl použit 2 mM dihydrogenfosforečnan sodný ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) s přídavkem 0,2 mM disodné soli ethylendiamintetraoctové kyseliny (EDTA – 2Na). Tento proces také probíhá při pH 6. Byla použita As speciální kolona od firmy Agilent Technologies Inc. (USA) o průtoku 1 ml/min, délce 4,6 mm x 150 mm a jako náplň byla použita hydrofilní polymethacrylátová pryskyřice.

Obr. 7.: HPLC 1260 Infinity (www.agilent.com)





## 5. VÝSLEDKY A DISKUZE

### 5.1. Celkové obsahy As

Celkové obsahy As byly zjištěny u listů (viz tabulka 1), stonků (viz tabulka 2) a květů (viz tabulka 3) jitrocele kopinatého. Tyto hodnoty byly porovnány dle zákona č. 91/1996 Sb., o krmivech. Cílem bylo zjistit, zda představují rostliny jitrocele kopinatého riziko pro pasoucí se býložravce. Směrnice 2002/32/ES o nežádoucích látkách v krmivech uvádí maximální limity pro obsah As  $2 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Je zřejmé, že koncentrace As přesahují tento maximální limit u listů i stonků. U listů došlo k překročení limitu u rostlin z obou oblastí, přičemž listy z oblasti Roudného převýšily u třetího odběru tento limit více než šestinásobně ( $13,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Tato koncentrace by již mohla mít negativní vliv na herbivory žijící v okolí. Stonky z oblasti Roudného mírně překročily tento limit u druhého odběru ( $2,23 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), zatímco stonky z oblasti Kutné Hory měly obsahy As velmi nízké. U květů z obou oblastí nebylo v žádném z odběrů naměřeno vyšší množství než uvádí směrnice. Květy z lokality Roudný obsahovaly ve všech odběrech vyšší koncentrace As než květy z lokality Kutná Hora. Při porovnání lokalit Roudný a Kutná Hora je patrné, že rostliny z okolí Roudného mají průměrné obsahy As vyšší v listech, stoncích i květech. Jak již bylo zmíněno dříve, půdy z lokality Roudný mají mnohem vyšší koncentrace arsenu. Rostliny z této oblasti tudíž měly při jejich odběru menší vzrůst. Po zasazení do půdy pocházející z Mokrsko se ale tyto výškové rozdíly vyrovnaly. Lze spekulovat o dvou důvodech vyššího obsahu As v rostlinách z lokality Roudný: i) vyšší obsah As byl již v kořenovém systému přeneseném z lokality Roudný a uvolňoval se tedy ve vyšší míře do nadzemní biomasy, nebo ii) rostliny z oblasti s vyšší mírou kontaminace As si zachovaly vyšší schopnost příjmu tohoto prvku. Vzhledem k tomu, že vysoké obsahy As v listech a částečně i ve stoncích byly nalezeny spíše ve druhé polovině vegetačního období, zdá se být pravděpodobnější spíše druhá hypotéza. Tyto spekulace bude třeba před publikováním výsledků ve vědeckém tisku ještě ověřit sledováním příjmu As rostlinami ve druhém vegetačním období.

V našem experimentu bylo tedy zjištěno, že listy jitrocele akumulovaly arsen intenzivněji než stonky a květy. Naopak tomu bylo v rakouském Gasenu, kde Geiszinger a kol. (2002) zkoumali rostliny rostoucí nad rudnou žilou. Z devíti druhů byly nejvyšší koncentrace nalezeny právě u jitrocele, a to  $4,30 \text{ mg.kg}^{-1}$  v listech a větší množství  $5,93 \text{ mg.kg}^{-1}$  v květech.

Jak již bylo zmíněno dříve, obsahy 3 – 10 mg . kg<sup>-1</sup> mohou být již fyto toxické (Tlustoš a kol., 2006). V tomto experimentu došlo k překročení této hranice pouze v jediném případě, při třetím odběru listů z lokality Roudný, kde byla naměřena hodnota 13,1 mg . kg<sup>-1</sup>. Příznaky fyto toxicity arsenu, jako plazmolýza kořene a nekróza špiček listů, však nebyly v našem případě pozorovány. Jak již bylo zmíněno dříve, dalším faktorem ovlivňujícím příjem As je přítomnost arbuskulárních mykorhizních hub (AMH). Orłowska a kol. (2012) zkoumali vliv těchto houbových izolátů na růst a akumulaci As rostlinami *Plantago lanceolata* L. na substrátu pocházejícího z důlního odpadu. Všechny inokulované rostliny měly vyšší šanci na přežití (60 – 90 %), na rozdíl od neinokulovaných (30 %). U neinokulovaných rostlin byla pozorována silná inhibice růstu kořene. Laterální kořen byl kratší, oteklý, tmavě hnědý a mnohem tvrdší. Biomasa kořenů a výhonků byla u inokulovaných rostlin značně vyšší. Koncentrace As v kořenech byly velmi vysoké a 6,8 – 20,5 krát vyšší než u výhonků. U neinokulovaných rostlin dosahovaly hodnot až 2200 mg.kg<sup>-1</sup>, ale celkový obsah As v důlním odpadu v jejich případě dosahoval až 21000 mg.kg<sup>-1</sup>.

Tab. 2. Celkové obsahy As v listech jitrocele kopinatého.

Číslo nádoby	Plodina	Lokalita	Půda	Obsah As (mg/kg)
1, 2, 3, 4, 5, 6	Jitrocel kopinatý ( <i>Plantago lanceolata</i> )	Roudný	Mokrsko	1.odběr: <b>2,68 ± 0,84</b> 2.odběr: <b>1,99 ± 0,78</b> 3.odběr: <b>13,13 ± 12,39</b>
7, 8, 9, 10, 11		Kutná Hora	Mokrsko	1.odběr: <b>2,63 ± 2,84</b> 2.odběr: <b>1,15 ± 0,50</b> 3.odběr: <b>2,92 ± 1,24</b>

Tab. 3. Celkové obsahy As ve stoncích jitrocele kopinatého.

Číslo nádoby	Plodina	Lokalita	Půda	Obsah As (mg/kg)
1, 2, 3, 4, 5, 6	Jitrocel kopinatý ( <i>Plantago lanceolata</i> )	Roudný	Mokrsko	1.odběr: <b>0,49 ± 0,08</b> 2.odběr: <b>2,23 ± 3,32</b> 3.odběr: <b>1,35 ± 1,17</b>
7, 8, 9, 10, 11		Kutná Hora	Mokrsko	1.odběr: <b>0,26 ± 0,052</b> 2.odběr: <b>0,54 ± 0,30</b> 3.odběr: <b>0,29 ± 0,12</b>

Tab. 4. Celkové obsahy As v květech jitrocele kopinatého.

Číslo nádoby	Plodina	Lokalita	Půda	Obsah As (mg/kg)
1, 2, 3, 4, 5, 6	Jitrocel kopinatý ( <i>Plantago lanceolata</i> )	Roudný	Mokrsko	1.odběr: <b>1,99 ± 1,41</b> 2.odběr: <b>1,32 ± 0,57</b> 3.odběr: <b>0,95 ± 0,69</b>
7, 8, 9, 10, 11		Kutná Hora	Mokrsko	1.odběr: <b>1,38 ± 1,31</b> 2.odběr: <b>1,09 ± 0,81</b> 3.odběr: <b>0,53 ± 0,34</b>

**Červeně označené** – vzorky nevyhovující Směrnici 2002/32/ES.

Pacáková (2011) porovnávala se směrnicí 2002/32/ES na lokalitě Kutná Hora 25 druhů rostlin s největším zastoupením čeledi lipnicovité (*Poaceae*). Nadlimitní obsah As byl zaznamenán ve 12 z 25 nalezených druhů v zájmovém území, jednalo se o šťovík menší (*Rumex acetosella* L.) svízel syřišťový (*Galium verum* L.), kostřavu ovčí (*Festuca ovina* L.), ovsík vyvýšený (*Arrhenatherum elatius* (L.) Presl), kostival lékařský (*Symphytum officinale* L.), snědek chocholičnatý (*Ornithogalum umbellatum* L.), **jitrocel kopinatý** (*Plantago lanceolata* L.), mateřídouška vonná (*Thymus serpyllum* L.), rozrazil rezekvítek (*Veronica chamaedrys* L.), pcháček oset (*Cirsium arvense* (L.) Scop.), psineček výběžkatý (*Agrostis stolonifera* L.), bedrník obecný (*Pimpinella saxifraga* L.). Nejvyšší obsah arsenu byl stanoven v kostivalu lékařském (*Symphytum officinale* L.) 12,7 mg.kg<sup>-1</sup>.

Farářová (2010) zkoumala obsahy arsenu na lokalitě Roudný. Na tomto zájmovém území bylo nalezeno celkem 24 rostlinných druhů. Hladina As v rostlinách se pohybovala v rozsahu 0,23 a 79,4 mg.kg<sup>-1</sup>. Koncentrace As u jitrocele kopinatého se pohybovala v rozmezí 5,10 - 8,84 mg.kg<sup>-1</sup>. Extrémně vysoké hodnoty As byly naměřeny (79,4 mg.kg<sup>-1</sup>) u ostružiníku křovitého (*Rubus fruticosus*), dále (31,7 mg.kg<sup>-1</sup>) u mrkve obecné (*Daucus carota*), (28,8 mg.kg<sup>-1</sup>) u řebříčku obecného (*Achillea millefolium*) a vítodu obecného (*Polygala vulgaris*). Je tedy zřejmé, že na rozdíl od poznatků, které publikovali Geiszinger a kol. (2002) na našich zájmových lokalitách jitrocel nepatřil mezi druhy s nejvyšší schopností akumulace As. Další rostlinou, zkoumanou na lokalitách Kutná Hora a Mokrsko, byla máta vodní (*Mentha aquatica* L.). Tato rostlina patří mezi rostlinné druhy tolerující arsen, vhodné pro kultivaci v klimatických podmínkách střední Evropy. Száková a kol. (2011) zjistili, že listy máty vodní jsou schopny akumulovat arsen intenzivněji než stonky. V tomto ohledu je distribuce As v rostlinách jitrocele v našem experimentu podobná.

## 5.2. Speciace sloučenin arsenu

Mnohem důležitějším faktorem pro určení toxického vlivu As pro okolí je zastoupení jednotlivých sloučenin arsenu, jelikož se toxicita těchto sloučenin od sebe značně liší. Nejběžnějšími sloučeninami arsenu jsou As (III), As (V), MA, DMA, AB, AC, TETRA a TMAO. V tomto pokusu byly nalezeny sloučeniny arsenitan [As (III)], arseničnan [As (V)] a dimethylarsinát (DMA) (viz tabulka 5, 6 a 7).

Na grafu 1 je vidět, že listy rostlin z lokality Roudný obsahovaly pouze arsenitan a arseničnan. Obsahy arsenitanu byly u všech třech odběrů vyšší než obsahy arseničnanu. Naopak u lokality Kutná Hora byly u prvních dvou odběrů vyšší koncentrace arseničnanu, přičemž u odběru číslo dvě byl nalezen v malém množství také dimethylarsinát. Při třetím odběru byly koncentrace téměř stejné jako třetí odběr z lokality Roudný, kde arsenitan tvořil téměř 80 %.

U stonků byl na rozdíl od listů nalezen dimethylarsinát v každém z odběrů (viz graf 2). Větší množství bylo naměřeno u rostlin z lokality Kutná Hora. Koncentrace DMA se během vegetace výrazně snižovaly, snižovaly se také koncentrace arseničnanu. U lokality Roudný došlo také k poklesu dimethylarsinátu během vegetace, zatímco množství arseničnanu se při druhém odběru snížilo a při třetím opět došlo ke zvýšení jeho koncentrace. Arsenitan byl v obou případech dominantní sloučeninou.

Tab. 5. Speciace arsenu v listech listů jitrocele kopinatého.

Č. nádoby	Plodina	Lokalita	Půda	Sloučenina As	Obsah As (mg/kg)
1, 2, 3, 4, 5, 6	Jitrocel kopinatý ( <i>Plantago lanceolata</i> )	Roudný	Mokrsko	As III	1.odběr: <b>0,55 ± 0,11</b> 2.odběr: <b>0,67 ± 0,31</b> 3.odběr: <b>9,67 ± 9,69</b>
				DMA	1.odběr: <b>a</b> 2.odběr: <b>a</b> 3.odběr: <b>a</b>
				As V	1.odběr: <b>0,50 ± 0,06</b> 2.odběr: <b>0,56 ± 0,06</b> 3.odběr: <b>2,53 ± 2,44</b>
7, 8, 9, 10, 11		Kutná Hora	Mokrsko	As III	1.odběr: <b>0,27 ± 0,06</b> 2.odběr: <b>0,32 ± 0,19</b> 3.odběr: <b>3,02 ± 2,01</b>
				DMA	1.odběr: <b>a</b> 2.odběr: <b>0,08 ± 0,04</b> 3.odběr: <b>a</b>
				As V	1.odběr: <b>0,45 ± 0,09</b> 2.odběr: <b>0,63 ± 0,27</b> 3.odběr: <b>0,81 ± 0,33</b>

Tab. 6. Speciace arsenu v listech stonků jitrocele kopinatého.

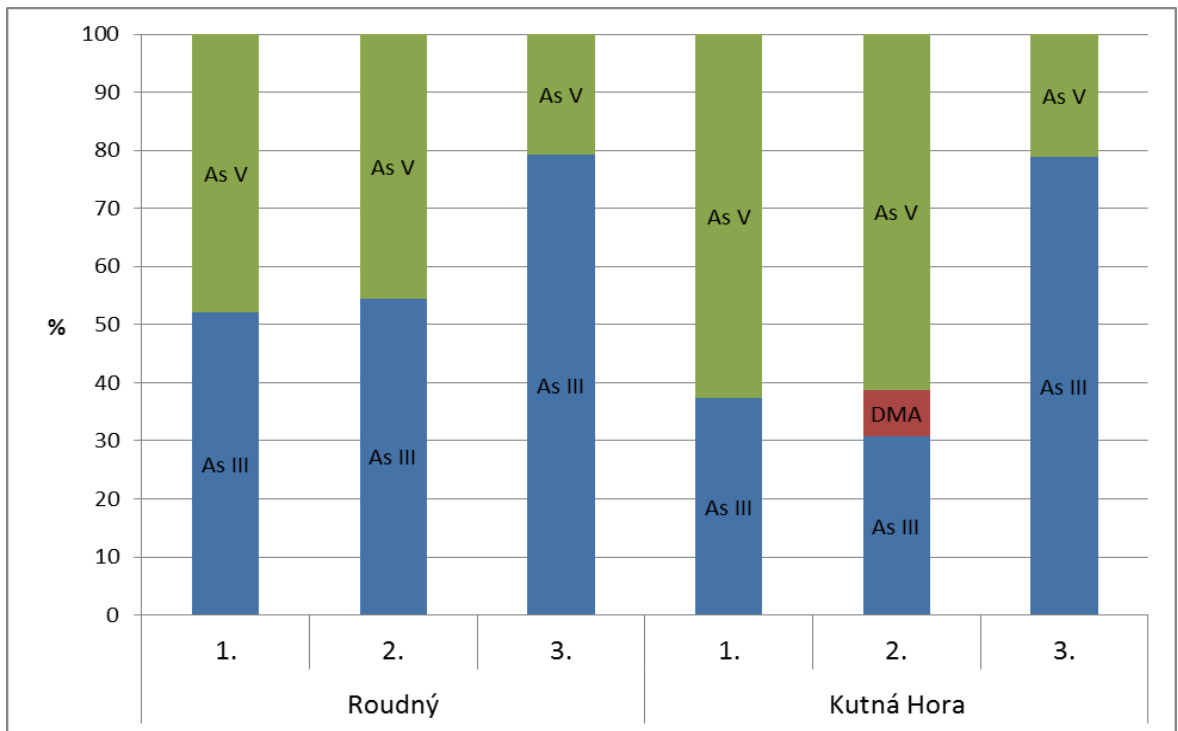
Č. nádoby	Plodina	Lokalita	Půda	Sloučenina As	Obsah As (mg/kg)
1, 2, 3, 4, 5, 6	Jitrocel kopinatý ( <i>Plantago lanceolata</i> )	Roudný	Mokrsko	As III	1.odběr: <b>0,10 ± 0,02</b> 2.odběr: <b>0,87 ± 1,71</b> 3.odběr: <b>0,40 ± 0,39</b>
				DMA	1.odběr: <b>0,04 ± 0,002</b> 2.odběr: <b>0,04 ± 0,13</b> 3.odběr: <b>0,15 ± 0,005</b>
				As V	1.odběr: <b>0,02 ± 0,002</b> 2.odběr: <b>0,76 ± 0,09</b> 3.odběr: <b>0,73 ± 0,08</b>
7, 8, 9, 10, 11		Kutná Hora	Mokrsko	As III	1.odběr: <b>0,04 ± 0,01</b> 2.odběr: <b>0,18 ± 0,20</b> 3.odběr: <b>0,10 ± 0,05</b>
				DMA	1.odběr: <b>0,03 ± 0,004</b> 2.odběr: <b>0,03 ± 0,01</b> 3.odběr: <b>0,01 ± 0,006</b>
				As V	1.odběr: <b>0,01 ± 0,002</b> 2.odběr: <b>0,02 ± 0,007</b> 3.odběr: <b>0,01 ± 0,007</b>

Tab. 7. Speciace arsenu v listech květů jitrocele kopinatého.

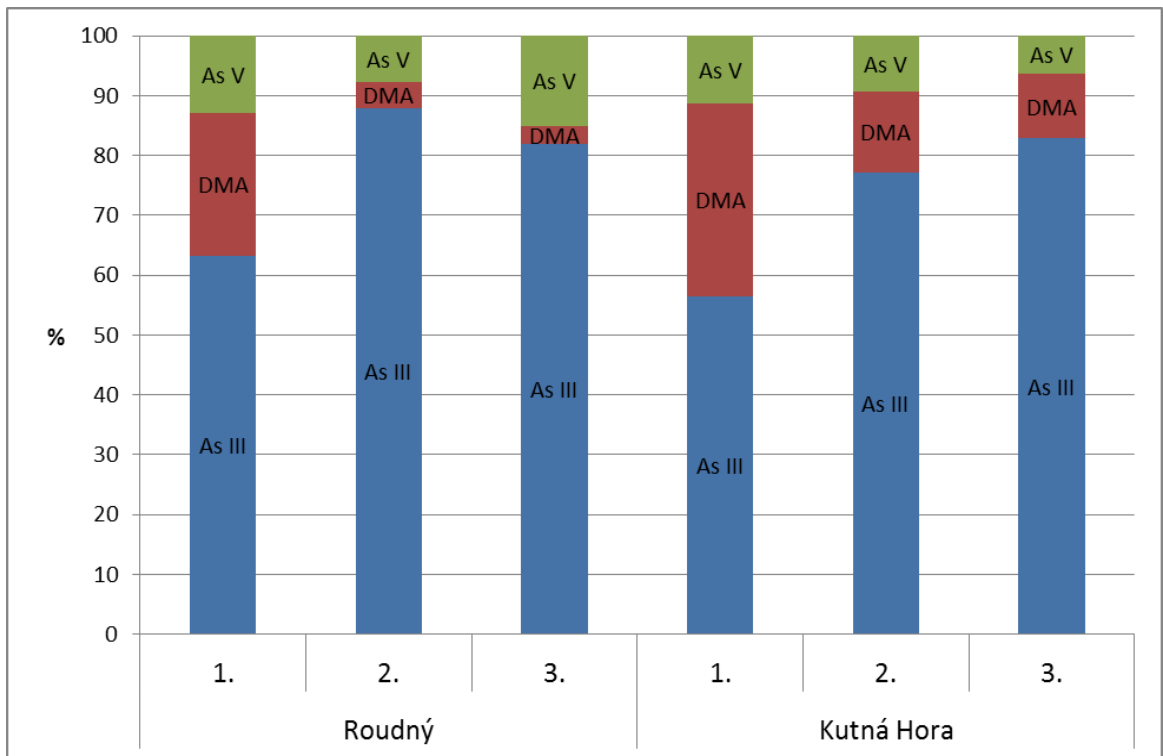
Č. nádoby	Plodina	Lokalita	Půda	Sloučenina As	Obsah As (mg/kg)
1, 2, 3, 4, 5, 6	Jitrocel kopinatý	Roudný	Mokrsko	As III	1.odběr: <b>0,24 ± 0,16</b> 2.odběr: <b>0,20 ± 0,08</b> 3.odběr: <b>0,24 ± 0,19</b>
				DMA	1.odběr: <b>0,14 ± 0,04</b> 2.odběr: <b>0,17 ± 0,11</b> 3.odběr: <b>0,15 ± 0,05</b>
				As V	1.odběr: <b>0,80 ± 0,17</b> 2.odběr: <b>0,66 ± 0,22</b> 3.odběr: <b>0,50 ± 0,19</b>
7, 8, 9, 10, 11	<i>(Plantago lanceolata)</i>	Kutná Hora	Mokrsko	As III	1.odběr: <b>0,13 ± 0,09</b> 2.odběr: <b>0,08 ± 0,06</b> 3.odběr: <b>0,06 ± 0,07</b>
				DMA	1.odběr: <b>0,07 ± 0,03</b> 2.odběr: <b>0,11 ± 0,08</b> 3.odběr: <b>0,11 ± 0,02</b>
				As V	1.odběr: <b>0,48 ± 0,12</b> 2.odběr: <b>0,42 ± 0,06</b> 3.odběr: <b>0,32 ± 0,04</b>

a...obsah byl pod mezí detekce stanovení

Graf 1: Podíl jednotlivých sloučenin As v listech jitrocele při 1., 2., a 3. odběru.

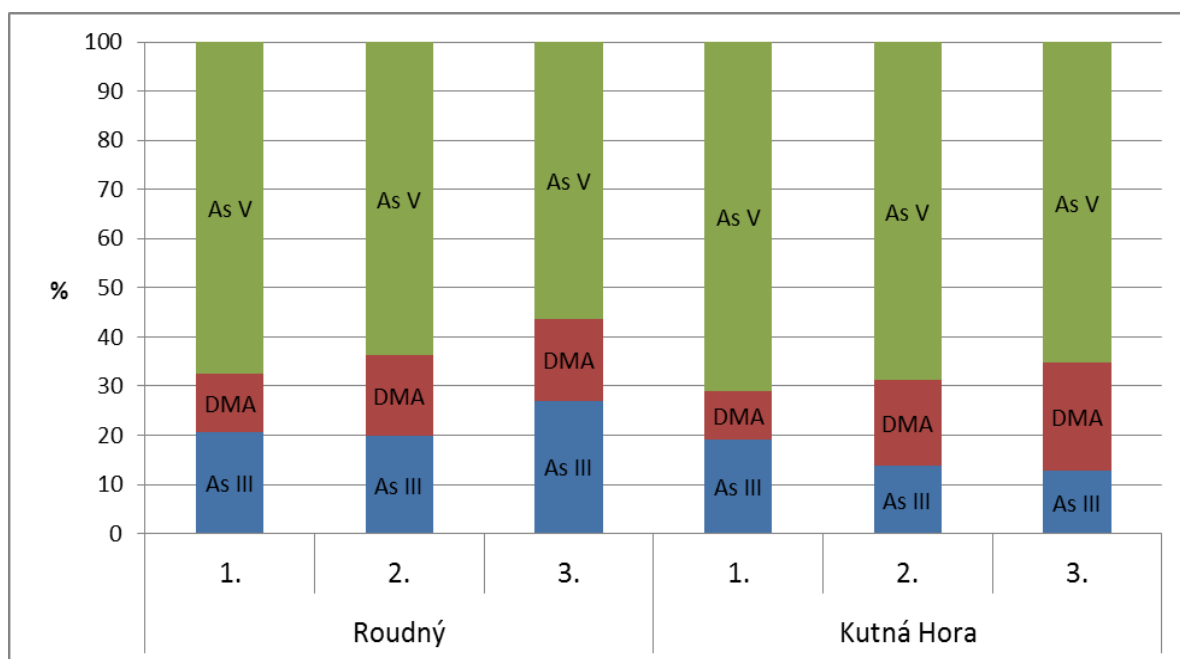


Graf 2: Podíl jednotlivých sloučenin As ve stoncích jitrocele.





Graf 3: Podíl jednotlivých sloučenin As v květech jitrocele.



U květů jitrocele byl na rozdíl od listů a stonků dominantní sloučeninou arseničnan (viz graf 3). Tato dominance byla prokázána v obou lokalitách, kde došlo k mírnému poklesu této sloučeniny během vegetace. Také množství dimethylarsinátu se v obou případech snižovalo. Rozdílné podíly byly nalezeny pouze u arsenitanu, kdy při třetím odběru květů z lokality Roudný byl tento podíl nejvyšší, zatímco u lokality Kutná Hora tomu bylo právě naopak.

Pacáková (2011) objevila v nadzemní biomase jitrocele kopinatého v oblasti Kutná Hora (*Plantago lanceolata*) také výše zmíněné sloučeniny. Další aniontovou sloučeninou byla kyselina methyarseničná (MA). Byly zjištěny obsahy arsenobetainu (AB), oxidu trimethylarseničného (TMAO), arsenocholinu (AC) a tetramethylarsonium oxidu (TETRA), které se pohybovaly v řádech tisícín či desetitisícín  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Tyto hodnoty se pohybovaly na hranici meze detekce stanovení pro dané sloučeniny. V našem případě ale zastoupení těchto kationtových sloučenin arsenu sledováno nebylo. Schmidt a kol. (2004) zkoumali příjem a metabolismus arsenu jako funkci, jak typu rostliny, tak chemické formy arsenu. Pro svůj experiment si vybrali silenku nadmutou (*Silene vulgaris*) a jitrocel větší (*Plantago major*). Ukázalo se, že silenka nadmutá byla mnohem tolerantnější než jitrocel. Hlavním komponentem v listech a stoncích silenky byl arsenitan, doprovázený stopami arseničnanu, DMA a neznámých komponentů tvořících méně než 10 % z celkového obsahu. Vyšší koncentrace sloučenin byly nalezeny v listech. U jitrocele většího byla množství v listech a

stoncích stejná. Dále bylo zjištěno, že vyšší koncentrace arsenitanu nejsou pro jitrocel větší únosné.

Szaková et al. (2007) sledovali v nádobovém experimentu vliv kontaminace půdy anorganickými a organickými sloučeninami arsenu na příjem, akumulaci a transformaci arsenu v rostlinách papriky. Nejvyšší obsahy arsenu byly stanoveny v kořenech, v dalších částech rostlin klesaly v pořadí stonky, listy a plody bez ohledu na to, která ze sloučenin arsenu byla do půdy přidána. Výsledky dále potvrdily schopnost generativních částí rostlin kumulovat přednostně DMA, zatímco v kořenech a nadzemní zelené biomase jsou přítomny zejména anorganické sloučeniny arsenu. Je tedy zřejmé, že zdroj kontaminace půdy arsenem významně ovlivňuje mobilní podíly arsenu v půdě a následně příjem a distribuci sloučenin arsenu v rostlině. Dominantní podíl anorganických sloučenin As v nadzemní biomase rostlin dokumentovali i Geiszinger a kol. (2002). Naše výsledky pak potvrdily rozdíly v chování jednotlivých organických i anorganických sloučenin arsenu v jednotlivých tkáních rostlin a ukázaly na možné rozdíly v translokaci těchto sloučenin do jednotlivých částí rostlin. Carbonell-Barrachina a kol. (1997) diskutovali mechanismus tolerance rostlin vůči kontaminaci arsenem a rozlišili i) omezený příjem arsenu kořeny nebo omezený transport tohoto prvku do nadzemní biomasy (odmítání), ii) zabudování arsenu do buněčné stěny a buněčných kompartmentů (detoxikace) a iii) specifické metabolické pochody (biochemická tolerance). V souvislosti s tímto bodem je v poslední době diskutována možnost tvorby komplexů arsenu s fytochelatiny (Raab a kol. 2004, Gupta a kol. 2004). Z našich výsledků lze usuzovat, že tolerance jitrocele kopinatého k vysokým obsahům As v půdě vyplývá zejména z jeho schopnosti omezit příjem tohoto prvku. Zároveň rostliny prokázaly schopnost částečné methylace přijatého As, což dokumentuje detoxikační schopnost pokusných rostlin.

## 6. ZÁVĚR

Byl proveden modelový nádobový pokus, kdy byl sledován příjem a translokace arsenu rostlinami jitrocele kopinatého v průběhu vegetačního období a také distribuce sloučenin arsenu v rostlině.

Rostliny pocházely z lokalit zatížených těžbou drahých kovů. Z oblasti bývalého zlatodolu Roudný, nacházejícího se nedaleko města Vlašimi, a Kutné Hory, kde jsou vysoké koncentrace arsenu důsledkem těžby stříbra, která zde v minulosti probíhala. Půda pocházela z lokality Mokrsko, kde docházelo k lokálním vstupům arsenu do půd a sedimentů prostřednictvím těžby a činností rudy.

Celkové obsahy As v listech se pohybovaly v rozmezí 1,15 – 13,1 mg.kg<sup>-1</sup>, ve stoncích 0,26 – 2,23 mg.kg<sup>-1</sup> a v květech 0,53 – 1,99 mg.kg<sup>-1</sup>. Bylo tedy zjištěno, že listy jitrocele akumulovaly arsen intenzivněji než stonky a květy. Vyšší obsahy byly stanoveny v rostlinách z lokality Roudný. Obsahy se také lišily v závislosti na termínu odběru vzorků. Nejvyšší hodnoty v listech byly naměřeny u třetího odběru na konci vegetačního období, zatímco ve stoncích byly tyto hodnoty naměřeny u druhého odběru. V květech rostlin obou lokalit byly celkové obsahy As velmi nízké a docházelo k jejich postupnému snižování během vegetačního období. Ve srovnání s jinými druhy rostlin z daných lokalit (Pacáková, 2011; Farářová, 2010) lze tyto obsahy považovat za nízké. Přesto byl v listech a stoncích překročen limit pro nežádoucí látky v krmivech (směrnice č. 2002/32/ES). Riziko pro volně žijící zvěř tedy existuje.

Speciálně sloučenin arsenu se rovněž lišila v závislosti na části rostliny, termínu odběru i na lokalitě, ze které rostliny pocházely. V tomto pokusu byly nalezeny sloučeniny arsenitan, arseničnan a dimethylarsinát. V listech z lokality Roudný byl dominantní sloučeninou arsenitan. Jeho množství se během vegetačního období zvyšovalo. V listech z lokality Kutná Hora byl u prvních dvou odběrů dominantní arseničnan, u třetího odběru to byl arsenitan. Ve stoncích rostlin obou lokalit byl dominantní sloučeninou arsenitan. Jeho koncentrace se během vegetačního období také zvyšovaly. V květech byl dominantní arseničnan, jehož množství se mírně snižovalo.

Potvrdilo se, že u jitrocele kopinatého se arsen podobně jako u jiných druhů suchozemských rostlin vyskytuje zejména v anorganických sloučeninách, ale prokázala se i jeho schopnost methylace přijatých sloučenin As.

## 7. SEZNAM LITERATURY

Adriano, D. C. 2001. Trace elements in terrestrial environments. Springer-Verlag, New York, 866 s.

Azizur Rahman, M., Hasegawa, H., Mahfuzur Rahman, M., Nazrul Islam, M., Majid Miah, M.A., Tasmien, A. 2007. Effects of arsenic on photosynthesis, growth and yield of five widely cultivated rice (*Oryza sativa* L.) varieties in Bangladesh. *Chemosphere*. 67. 1072 - 1079.

Baird, C. 2005. Environmental chemistry. W.H. Freeman and Co. New York. 652 s. ISBN: 0 - 7167 - 4877 - 0.

Baker M.D., Innis W.E., Mayfield C.I., Wong P.T.S., Chau Y.K. (1983): Effect of pH on the methylation of mercury and arsenic by sediment microorganisms. *Environmental Technology Letters*. 4. 89 - 100.

Baroni, F., Boscagli, A., Protano, G., Riccobono, F. 2000. Antimony accumulation in *Achillea ageratum*, *Plantago lanceolata* and *Silene vulgaris* growing in an old Sb-mining area. *Environmental Pollution*. 109. 347 - 352.

Bencko, V., Cikrt, M., Lener, J. (1995): Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka. Praha, Grada Publishing, 282 str.

Bergquist, C., Greger, M. 2011. Arsenic accumulation and speciation in plants from different habitats. *Applied Geochemistry*. 27. 615 - 622.

Bini, C., Maleci, L., Romanin, A. 2008. The chromium issue in soils of the leather tannery district in Italy. *Journal of Geochemical Exploration*. 96. 194 - 202.

Bissen M, Frimmel F.H. (2000): Speciation of As(III), As(V), MMA and DMA in contaminated soil extracts by HPLC-ICP/MS. *Fresenius J. Analytical Chemistry*. 367. 51 - 55.

Bowell R.J. (1994): Sulphide oxidation and arsenic speciation in tropical soils. *Environmental Geochemistry and Health*. 16. 84.

Carbonell-Barrachina A.A., Burlo-Carbonell F., Burgos-Hernandez A., Lopez E. Mataix-Beneito J. (1997): The influence of arsenite concentration on arsenic accumulation in tomato and bean plants. *Scientia Horticulturae*. 71. 167 - 176.

Dembitsky, V. M., Řezanka, T. 2003. Natural occurrence of arsenic compounds in plants, lichens, fungi, algal species, and microorganisms. *Plant Science* 165. 1177 - 1192.

Dugasová, A., Dugas, D. 2002. *Babiččiny bylinky*. Ottovo nakladatelství. Praha. 216 s. ISBN: 80 - 7181 - 696 - 5.

Duker A.A, Carranza E.J.M., Hale M. (2005): Arsenic Geochemistry and Health. *Environment International*. 31(5). 631 - 641.

Farářová, M.: Úroveň kontaminace půdy v oblasti bývalých zlatých dolů v lokalitě Roudný u Vlašimi. Diplomová práce. ČZU Praha. 2010.

Filippi, M., Doušová, B., Machovič, V. 2007. Mineralogical speciation of arsenic in soils above the Mokrsko – west gold deposit, Czech Republic. *Geoderma*. 139. 154 - 170.

Filippi, M., Goliáš, V., Pertold, Z. 2004. Arsenic in contaminated soils and anthropogenic deposits at the Mokrsko, Roudný, and Kašperské Hory gold deposits, Bohemian Massif (CZ). *Environmental Geology*. 45. 716 - 730.

Florea, A.M., Busselberg, D. 2006. Occurrence, use and potential toxic effect of metals and metal compounds. *BioMetals*. 19. 419 - 427.

Francesconi K.A., Kuehnelt D. (2004): Determination of arsenic species: A critical review of methods and applications, 2000-2003. *Analyst*. 129. 373 - 395.

Frankenberger W.T. Jr, Losi M.E. 1995. Applications of bioremediation in the cleanup of heavy metals and metalloids. In: Skipper HD, Turco RF (eds.) *Bioremediation: Science and applications*. Soil Science Society of America a kol., Madison,; pp. 173 - 210.

Friesl – Hanl, W., Platzer, K., Horak, O., Gerzabek, M.H. 2009. Immobilising of Cd, Pb, and Zn contaminated arable soils close to a former Pb/Zn smelter: a field study in Austria over 5 years. *Environmental Geochemistry and Health*. 31. 581 - 594.

Garg, N., Singla, P. 2011. Arsenic toxicity in crop plants: physiological effect and tolerance mechanisms. *Environmental Chemistry Letters*. 9. 303 - 321.

Geiszinger A., Goessler W., Kosmus W. (2002): Organoarsenic compounds in plants and soil on top of an ore vein. *Applied Organometallic Chemistry*. 16. 245 - 249.

Ghosh, P., Banerjee, M., Giri, A.K., Ray, K. 2008. Toxicogenomics of arsenic: Classical ideas and recent advances. *Mutation research*. 659. 293 - 301.

Greenwood, N. N., Earnshaw, A. 1993. *Chemie prvků*. 1.vyd. Praha: Informatorium, 793 s. ISBN 80 - 85427 - 38 - 9.

Gupta, G. K., Tohoyama H., Joho M., Inouhe M. (2004): Changes in the levels of phytochelatins and related metal-binding peptides in chickpea seedlings exposed to arsenic and different heavy metal ions. *Journal of Plant Research*. 117. 253 - 256.

Choong, T.S.Y., Chuah, T.G., Robiah, Y., Gregory Koay, F.L., Azni, I. 2007. Arsenic toxicity, health hazards and removal techniques from water: an overview. *Desalination* 217. 139 - 166.

Janča, J., Zentrich, J.A. 1995. *Herbář léčivých rostlin 2. díl*. Nakladatelství EMINENT. Praha. 287 s. ISBN: 80 - 85876 - 04 - 3.

Jaroš, Z. 1992. *Léčivé látky z rostlin*. Nakladatelství DONA. České Budějovice. 79 s. ISBN: 80 - 85463 - 04 - 0.

Jedynak, L., Kowalska, J., Harazimowicz, J., Golimowski, J. 2008. Speciation analysis of arsenic in terrestrial plants from arsenic contaminated area. *Science of the Total Environment*. 407. 945 - 952.

Jirásek, V., Starý, F. 1986. Kapesní atlas léčivých rostlin. Státní pedagogické nakladatelství. Praha. 319 s. ISBN: 14 - 573 - 85.

Jomova, K., Jenisova, Z., Feszterova, M., Baros, S., Liska, J., Hudecova, D., Rhodes, C.J., Valko, M. 2010. Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. *Journal of Applied Toxicology*. 31. 95 - 107.

Karagas, M.R., Stukel, T.A., Tosteson, T.D. 2002. Assessment of cancer risk and environmental levels of arsenic in New Hampshire. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 205. 85 - 94.

Kindersley, D. 2011. Domáci bylinář. Euromedia Group. Praha. 352 s. ISBN: 978 - 80 - 249 - 1809 - 9.

Larios, R., Fernández - Martínez, R., LeHecho, I., Rucandio, I. 2011. A methodological approach to evaluate arsenic speciation and bioaccumulation in different plant species from two highly polluted mining areas. *Science of the Total Environment*. 414. 600 - 607.

Macur R.E., Jackson C.R., Botero L.M., McDermott T.R. Inskeep W.P. (2004): Bacterial populations associated with the oxidation and reduction of arsenic in an unsaturated soil. *Environmental Science and Technology*. 38. 104 - 111.

Mahimairaja, S., Bolan, N.S., Adriano, D.C., Robinson, B. 2005. Arsenic contamination and its risk management in complex environmental settings. *Advances in Agronomy, Volume 86*. 0065-2113/05.

Mandal B.K., Suzuki K.T. (2002): Arsenic round the world: a review. *Talanta*. 58(1). 201 - 235.

Matschullant, J. 2000. Arsenic in the geosphere – A review. *Science of the Total Environment*. 249. 297 - 312.

- Mazumder, G.B., Gasgupta, U.B. 2011. Chronic arsenic toxicity: Studies in West Bengal, India. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*. 27. 360 – 370.
- Meharg, A.A., Hartley-Whitaker, J. 2002. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist*. 154. 29 - 43.
- Mikulka, J. a kolektiv. 1999. Plevelné rostliny polí, luk a zahrad. *Farmář – Zemědělské listy*. 160 s. ISBN: 80 - 902413 - 2 - 8.
- Mikulka, J., Kneifelová, M. a kolektiv. 2005. Plevelné rostliny. Nakladatelství Profi Press, s.r.o. 148 s. ISBN: 80 - 86726 - 02 - 9.
- Mogren, Ch. L., Trumble, J.T. 2010. The impacts of metals and metalloids on insect behavior. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 135. 1 - 17.
- Ng, J.C., Wang, J., Shraim, A. 2003. A global health problem caused by arsenic from natural sources. *Chemosphere*. 52. 1353 - 1359.
- Orłowska E., Godzik B., Turnau K. (2012). Effect of different arbuscular mycorrhizal fungal isolates on growth and arsenic accumulation in *Plantago lanceolata* L. *Environmental Pollution*. 168. 121 - 130.
- Pacáková, I.: Obsahy arsenu, kadmia, mědi a zinku v půdě a vegetaci na haldách po bývalé těžbě v okolí Kutné Hory. Diplomová práce. ČZU Praha. 2011.
- Peksová, L.: Pěstování rostlin rodu *Pteris* na půdách kontaminovaných arsenem. Diplomová práce. ČZU Praha. 2010.
- Pertold, Z. 1998. Arzen v životním prostředí. *Vesmír*. 77. 323.
- Pomykačová, I., Kožíšek, F., Gari, D.W., Němcová, V., Nešpůrková, L. 2010. Problematika arsenu v pitné vodě v České Republice. Sborník konference Pitná voda 2010, s. 145-150. W&ET Team, České Budějovice. ISBN: 978 - 80 - 254 - 6854 - 8.



Raab A., Feldmann J., Meharg A.A. (2004): The nature of arsenic-phytochelatin complexes in *Holcus lanatus* and *Pteris cretica*. *Plant Physiology*. 134. 1113 - 1122.

Roy, D., Das, T.K., Vaswani, S. 2013. Arsenic: its extent of pollution and toxicosis: An animal perspective. *Veterinary World*. 6(1). 53 - 58.

Slyemi, D., Bonnefoy, V. 2012. How prokaryotes deal with arsenic. *Environmental Microbiology Reports*. 4(6). 571 - 586.

Smedley P.L., Kinniburgh D.G. (2002): A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*. 17. 517 - 568.

Schmidt, A.Ch., Mattusch, J., Reisser, W., Wennrich, R. 2004. Uptake and accumulation behaviour of angiosperms irrigated with solutions of different arsenic species. *Chemosphere*. 56. 305 - 313.

Smith, A.H., Arroyo, A.P., Mazumder, D.N., Kosnett, M.J., Hernandez, A.L., Beeris, M., Smith, M.M., Moore, L.E.T. 2000. Arsenic - induced skin lesions among Atacameño people in Northern Chile despite good nutrition and centuries of exposure. *Environmental Health Perspectives*. 108. 617 - 620.

Smith, E., Naidu, R., Alston, A.M. 2002. Chemistry of arsenic in soils: II. Effect of phosphorus, sodium, and calcium on arsenic sorption. *Journal of Environmental Quality*. 31. 557 - 563.

Smith, P.G., Koch, I., Reimer, K.J. 2007. Uptake, transport and transformation of arsenate in radishes (*Raphanus sativus*). *Science of the Total Environment*. 390. 188 - 197.

Soudek, P., Víchová, L., Valenová, Š., Podlipná, R., Malá, J., Vaněk, T. 2006. Arsen a jeho příjem rostlinami. *Chemické Listy*. 100. 323 - 329.

Szákóvá, J., Tlustoš, P., Gössler, W., Pavlíková, D., Schmeisser, E. 2007. The response of pepper plants (*Capsicum annum*, L.) on soil amendment by inorganic and organic compounds of arsenic. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 52. 38 - 46.

Száková, J., Havlík, J., Valterová, B., Tlustoš, P., Goessler, W. 2010. The contents of risk elements, arsenic speciation, and possible interactions of elements and betalains in beetroot (*Beta vulgaris*, L.) growing in contaminated soil. Central European Journal of Biology. 5. 692 - 701.

Száková, J., Mihaljevič, M., Tlustoš, P. 2007. Mobilita, transformace a základní metody stanovení sloučenin arsenu v půdě a rostlinách. Chemické listy. 101. 397 - 405.

Tlustoš P., Goessler W., Száková J., Balík J. (2002): Arsenic compounds in leaves and roots of radish grown in soil treated by arsenite, arsenate and dimethylarsinic acid. Applied Organometallic Chemistry. 16. 216 - 220.

Tlustoš, P., Száková, J., Šichorová, K., Pavlíková, D., Balík, J. 2007. Rizika kovů v půdě v agrosystémech ČR. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha. Dostupné z  $\leq$  [www.phytopsanitary.org/projekty/2007/VVF\\_08\\_2007.pdf](http://www.phytopsanitary.org/projekty/2007/VVF_08_2007.pdf)  $\geq$ .

Valko, M. 2011. Arsenic: toxicity, oxidative stress a human disease. Journal of Applied Toxicology. 31. 95 - 107.

Vithanage, M., Dabrowska, B.B., Mukherjee, A.B., Sandhi, A., Bhattacharya, P. 2011. Arsenic uptake by plants and possible phytoremediation applications: a brief overview. Environmental Chemical Letters. 10. 217 - 224.

Vyhláška č. 13/1994 Sb., kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu.

Vyhláška č. 356/2008 Sb., kterou se provádí zákon č. 91/1996 Sb., o krmivech, ve znění pozdějších předpisů.

Ye, J., Rensing, Ch., Rosen, B.P., Zhu, Y.G. 2012. Arsenic biomethylation by photosynthetic organisms. Trends in Plant Science. 17. 3.

Zenk, M. H. 1996. Heavy metal detoxification in higher plants- a review. Gene. 179. 21 - 30.

Zhang, W., Cai, Y., Tu, C., Ma, L. Q. 2002. Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant. *The Science of the Total Environment*. 300. 167 - 177.

## **8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ**

AB - arsenobetain

AC - arsenocholin

As – arsen

As (III) - arsenitan

As (V) - arseničnan

DMA - kyselina dimethylarseničná, dimethylarsinát

EPA - Environmental Protection Agency, Agentura pro ochranu životního prostředí

GSH - glutathion

MA - methylarsenitan

MMA - kyselina monomethylarseničná

např. - například

PC - fytochelatin

TETRA – tetramethylarsoniový ion

TMAO – oxid trimethylarseničný

WHO - World Health Organization, Světová zdravotnická organizace