

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Ing. Jana Tremlová

.....
Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin

**Celkové obsahy a speciace arsenu a selenu v rostlinách rostoucích na půdách
s různými fyzikálně-chemickými vlastnostmi**

.....
autoreferát disertační práce

Studijní program: Zemědělská specializace

Studijní obor: Využití a ochrana přírodních zdrojů

Školitel: **prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.**

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin

Konzultant: **prof. Ing. Pavel Tlustoš, CSc.**

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin

Oponenti: doc. Mgr. Petr Drahota, Ph.D., Přírodovědecká fakulta, UK Praha

prof. Ing. Jan Vymazal, CSc., Fakulta životního prostředí, ČZU Praha

doc. Dr. Jan Šíma, Ph.D., Zemědělská fakulta, JU České Budějovice

Obhajoba disertační práce se koná dne: v hod.
na Fakultě agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU v Praze.

S doktorskou disertační prací se lze seznámit na děkanátě FAPPZ ČZU v Praze.

Praha 2016

Obsah

1. SUMMARY	1
2. LITERÁRNÍ REŠERŠE	3
3. VĚDECKÉ HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE.....	8
4. MATERIÁL A METODY	9
5. VÝSLEDKY A DISKUZE.....	16
6. ZÁVĚR.....	22
7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	24
8. SEZNAM PUBLIKACÍ K ŘEŠENÉ PROBLEMATICE	32

1. SUMMARY

Total content and speciation analysis of arsenic and selenium in plants growing under different content of these elements in environment were assessed in this dissertation thesis. Almost 100 wild growing plant species from 27 different plant families originated from 3 different arsenic contaminated locations (Roudný, Kutná Hora, Nalžovské Hory) were analysed for the total content and distribution of individual compounds (species) in their aboveground biomass. Results showed that the total contents of arsenic in their biomass reached between values under detection limit (*Stellaria* spp.) and 39.30 ± 6.32 mg As kg⁻¹ (*Daucus carota*). Speciation analysis showed that the most prevalent compounds were arsenite (As^{III}) and arsenate (As^V) with minor occurrence of methylarsonic acid (MA), dimethylarsinic acid (DMA), tetramethylarsonium ion (TETRA), trimethylarsine oxide (TMAO) but also in terrestrial plants not that common compounds as arsenobetaine (AB) and arsenocholine (AC). AB was found in significant concentrations in *Carex praecox* (28 % of the extractable As amount) and *Plantago lanceolata* (1.2 % of extractable As amount).

To verify the presence of AB and AC in individual plant species, the distribution of arsenic compounds in *Plantaginaceae* and *Cyperaceae* were further investigated in pot experiments. *P. lanceolata* (*Plantaginaceae*), *C. praecox*, *C. vesicaria* and *Scirpus sylvaticus* (*Cyperaceae*) were grown in soils highly contaminated with arsenic (Mokrsko). Results indicated As^{III} and As^V as dominant compounds with small abundance of DMA. Small percentage of AB and AC were also found but only in *Cyperaceae* plants, suggesting the ability of these plants to transform inorganic arsenic into less toxic compounds.

Total arsenic content and speciation analysis were also performed for selected vegetables (*Brassica napus* var. *napobrassica*, *Brassica oleracea* convar. *acephala*, *Raphanus sativus* var. *nigra*, *Scorzonera hispanica*, *Pastinaca sativa*, *Lactuca sativa*) that were growing in 2 arsenic contaminated soils (Příbram, Kutná Hora) that differed in main physico-chemical soil properties including different level of arsenic contamination. Total contents of arsenic in edible vegetable parts reached from 1.6 ± 0.80 mg As kg⁻¹ (*S. hispanica*) up to 64 ± 2.1 mg As kg⁻¹ (*P. sativa*). Results suggested that risks connected with consumption of vegetables growing in arsenic contaminated soils can be reduced by choosing the right type of vegetable. In general tuber types of vegetables tempted to accumulate higher amounts of arsenic than leafy vegetables. The dominant compounds in all investigated vegetables were again As^{III} and As^V with minor occurrence of DMA and MA.

In case of selenium there were analysed 73 plant species from 29 different families growing in two uncultivated meadows at two different locations (Humpolec, Nalžovské Hory). Pseudototal contents of selenium in soils on both sites were relatively low (0.2 – 1.4 mg Se kg⁻¹). The selenium contents in aboveground plant biomass varied between undetectable levels (e.g. *Lotus corniculatus*) and 0.158 mg Se kg⁻¹ (*Veronica arvensis*). The selenium levels were in general one magnitude lower compared to other elements with similar soil content, such as cadmium and molybdenum suggesting that plant bioavailability of selenium is low. Speciation analysis in plant biomass could not be performed due to very low selenium contents in plant biomass.

Therefore, next study focused on increasing of selenium content in wild growing plants using foliar application of selenate. The results showed that selenium levels increased due to foliar application and that this process is depending on the plant species. The highest selenium content was determined in *Veronica chamaedrys* 1.052±0.024 mg Se kg⁻¹. Among the selenium compounds, selenate (Se^{VI}) and selenomethionine (SeMet) were the predominant ones regardless of plant species documenting relatively low ability of investigated wild growing plants to transform the applied selenate to the organoselenium compounds.

The possibility selenate foliar application to increase total selenium content and especially contents of organoselenium compounds with health protective and anti-cancer effects (e.g. Se-MeSeCys) was investigated in four varieties of *Brassica oleracea convar. italica* in the last study. The total content of selenium in all aboveground parts (heads, leaves, stems) increased significantly, suggesting that the most effective was application of solution at a rate of 25 g Se ha⁻¹, whereas higher rate (50 g Se ha⁻¹) did not result in a substantial increase of selenium content compared to the lower rate in all the varieties. Moreover, selenium application resulted in an adequate increase of the main organic compounds of selenium, such as SeMet, selenocysteine (SeCys) and selenomethylselenocysteine (Se-MetSeCys).

In general the effect of plant species was confirmed for both, arsenic and selenium. The effect of different physico-chemical soil properties was not conclusively confirmed beside for the total content of arsenic or selenium in the soils.

2. LITERÁRNÍ REŠERŠE

Arsen

Výskyt arsenu v životním prostředí

Arsen je prvek, který se v životním prostředí vyskytuje zcela běžně. Je součástí hornin, půd, přírodních vod a ve stopových množstvích se vyskytuje ve všech živých organismech (Wang et Mulligan, 2006). Arsen je přirozenou součástí několika stovek různých minerálů, v 60 % z nich se pak vyskytuje jako arseničnan (Kabata-Pendias et Pendias, 2001). Takovými příklady jsou farmakosiderit, pitticit, skorodit a jiné (Filippi et al., 2004), nejznámějším minerálem obsahujícím arsen je však arsenopyrit (FeAsS) (Jiang et al., 2008). Průměrné obsahy arsenu v horninách se pohybují od 0,5 do 2,5 mg As kg⁻¹, v sedimentárních horninách mohou dosahovat až 13 mg As kg⁻¹.

V nekontaminovaných půdách mohou obsahy arsenu v závislosti na typu půd, podloží a místních podmínkách dosahovat až 93 mg As kg⁻¹ sušiny (Kabata-Pendias et Pendias, 2001). Ačkoliv minerály a sloučeniny arsenu jsou snadno rozpustné ve vodě, jeho mobilita v půdě a půdním roztoku je z velké části limitována jeho silnou sorpcí na hydratované oxidy železa, kde může koncentrace arsenu dosáhnout až několika hmotnostních procent (Manning et Goldberg, 1996), dále na hydratované oxidy hliníku a manganu, jílové minerály i organickou hmotu. Jeho mobilita v půdě je tak ve srovnání s jinými prvky jako je např. kadmium nebo zinek poměrně nižší (Kabata-Pendias et Pendias, 2001; De Brouwere et al., 2003).

Příjem arsenu rostlinami

Rostliny přijímají arsen v největší míře z půdního roztoku (Ma et al., 2010), ale mohou ho přijímat i přes kutikulu listů (Schreck et al., 2012). Příjem prvků suchozemskými rostlinami je obecně ovlivněn koncentrací prvku v půdě, jeho dostupnými sloučeninami, fyzikálně-chemickými vlastnostmi půd, rostlinným druhem a celkovým výživovým stavem rostliny (Jedynak et al., 2009; Vithanage et al., 2012). Arsen vstupuje do rostliny přes kořenový apoplast. Bravin et al. (2008) uvádějí, že obsah arsenu v apoplastu může být až tak významný, že např. u rýže (*Oryza sativa* L.) pěstované v redukčních podmínkách může tvořit až 60 % celkového obsahu arsenu v kořeni. Dle Chen et al. (2005) u *Pteris vittata* L. se může až 1/6 z celkového obsahu arsenu v rostlině nacházet právě v apoplastu. Z apoplastu může arsen přestupovat do buněčného cytosolu. Meharg et Jardine (2003) uvádějí, že arseničnan k prostupu

přes buněčnou membránu používá transportéry fosforu, arsenitan, dimethylarsenitan (DMA) a methylarseničnan (MA) pak aquaroporiny.

Ačkoliv je arsen rostlinám málo dostupný (Pickering et al., 2000), jeho dostupnost mohou rostliny zvýšit prostřednictvím kořenových exudátů. Jsou to kořenové výměšky různého chemického složení, nejčastěji na bázi slabých organických kyselin (citrónová, jantarová, šťavelová,...), sacharidů, mastných kyselin, enzymů apod., které výrazně pomáhají a urychlují přestupu prvků vázaných v půdě do půdního roztoku (Moreno-Jiménez, 2012; Bergqvist et al., 2014). Silva-Gonzaga et al. (2012) tento mechanismus mobilizace arsenu z půdy sledovali např. u kapradin *Pteris vittata* L. a *Pteris biaurita* L..

Dalším důležitým faktorem, který ovlivňuje dostupnost arsenu rostlinám je mikrobiální činnost v půdě. Mikroorganismy svými biochemickými pochody významně působí na zvětvávání hornin, ze kterých získávají živiny jako např. železo, síra, molybden, měď nebo zinek. Společně s nimi však do prostředí uvolňují i další prvky, které jsou v horninách přítomny, často tedy i rizikové prvky včetně arsenu (Drewniak et Sklodowska, 2013). Svými procesy se také podílejí na tvorbě těkavých sloučenin arsenu (arsanu, methylarsanu, dimethylarsanu a trimethylarsanu), které pak mohou unikat do ovzduší (Michalke et al., 2000). Mohou se podílet i na celkové změně dostupnosti arsenu v půdě, přeměnou jeho sloučenin ve sloučeniny jiné s odlišnými fyzikálně-chemickými a biologickými vlastnostmi. Bylo prokázáno, že vlivem mikrobiální aktivity dochází k tvorbě methylovaných sloučenin MA a DMA, a ke změně poměru As^{III} a As^V (Dopp et al., 2004; Jia et al. 2013; Xu et al., 2016).

Sloučeniny arsenu

Pro celkové hodnocení toxického působení arsenu na organismus však není důležitý jen celkový obsah arsenu, ale i sloučenina (tzv. specie), ve které se arsen vyskytuje. Základní dělení arsenových specií je na aniontové (anorganické např. arsenitan – As^{III} , arseničnan – As^V , organické např. methylarseničnan – MA^V , dimethylarsenitan – DMA^{III}) a kationtové sloučeniny (např. arsenobetain – AB, arsenocholin – AC, tetramethylarsoniový ion – TETRA, trimethylarsenoxid – TMAO) (Fattorini et al., 2006).

Každá z těchto sloučenin vykazuje jinou míru toxicity pro různé organismy. Ruiz-Chancho et al. (2008) a další autoři jako Geiszinger et al.^a (2002), Dembitsky et Řezanka (2003), Kuehnelt et Goessler (2003), Fattorini et al. (2006) shrnuli nejčastěji se v rostlinách vyskytující sloučeniny arsenu a jejich toxicitu pro člověka následovně:

$As^{III} \gg As^V > DMA \sim MA \sim TETRA \sim TMAO > AB \sim AC \sim AsS$ (arsenocukry), přičemž posledně zmiňované sloučeniny (AB, AC, AsS) jsou považovány za více méně netoxické.

Výskyt jednotlivých sloučenin arsenu ve vyšších rostlinách a jejich distribuce do nadzemních částí těchto rostlin je jednoznačně ovlivněn druhem rostliny (Kuehnelt et al., 2000; Schmidt et al., 2004). Kuehnelt et al. (2000) stanovili ve 12 druzích rostlin rostoucích v oblasti kontaminované arsenem široké spektrum sloučenin arsenu, které sestávalo z As^{III} , As^V , DMA, MA, TMAO, TETRA a jednoho typu oxidu dimetyl- ribosyl arseničného. Vliv druhu rostliny na výskyt sloučenin arsenu a jejich koncentraci demonstrovali i Geiszinger et al.^a (2002). Zatímco v extraktech nadzemní biomasy srhy laločnaté (*Dactylis glomerata* L.) a jitrocelu kopinatého (*Plantago lanceolata* L.) rostoucích v oblasti kontaminované arsenem byly stanoveny převážně anorganické sloučeniny arsenu, v extraktech nadzemní biomasy jetele lučního (*Trifolium pratense* L.) rostoucího na téže lokalitě byly stanoveny převážně organické sloučeniny arsenu, kdy dominantní sloučeninou byla MA. Sledování metylace arsenu v rostlinách psinečku tenkého (*Agrostis tenuis* Sibth.) ukázalo, že As^V , který byl přidán do kultivačního média, byl přijat kořeny rostlin, přeměněn na As^{III} , a později došlo k jeho metylaci v listech, kde byla zaznamenána zvýšená aktivita enzymu metyltransferasy (Wu et al., 2002). Tlustoš et al. (2002) našli v kořenech ředkvičky (*Raphanus sativus* L.) jako dominantní sloučeninu As^{III} , zatímco As^V byl více zastoupen v listech. Vysoké podíly DMA v rostlinách (17 % v kořenech a 18 % v listech) ve srovnání s půdou, kde bylo více než 90 % arsenu přítomno ve formě As^V , rovněž naznačují schopnost rostlin ředkvičky metylovat sloučeniny arsenu. Obdobné výsledky byly zaznamenány i v rostlinách paprik (*Capsicum annum* L.) pěstovaných v substrátu kontaminovaném sloučeninami arsenu (Száková et al. 2007).

Výskyt komplexních arsenových sloučenin jako je např. AB, AC nebo různé AsS je zcela běžný u mořských rostlin a živočichů (Ruiz-Chancho, 2008), přesto Mattusch et al. (2000) dokládají, že se tyto sloučeniny mohou v menších množstvích vyskytovat i u suchozemských rostlin, což bylo dále potvrzeno i v této disertační práci.

Selen

Výskyt selenu v životním prostředí

Selen se vyskytuje ve všech složkách životního prostředí (Lemly, 2004; Zhang et al., 2014), i když jeho přirozené obsahy v pedosféře se napříč světadíly velice liší. Plant et al. (2004)

uvádějí v zemské kůře průměrný obsah selenu $0,05 \text{ mg Se kg}^{-1}$, dle Lemly (2004) je to $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$. Jeho obsah v horninách závisí na typu horniny, jejích vlastnostech a zejména geologickém původu. Selen je jednou z nejtěkavějších složek magmatu, proto jeho obsah v horninách záleží na tom, zda se jedná o horniny vyvřelé či výlevné. U sedimentárních a přeměněných pak záleží na tom, z jakých původních hornin vznikly (Sharma et al., 2015).

Některé oblasti jako např. Finsko, Čína, Nový Zéland jsou na obsah selenu v půdách velice chudé (Cuvardic, 2003; Li et al., 2007). Naopak některé regiony v USA, zvláště pak ty s aridním klimatem jako je Kalifornie, v Evropě pak oblasti Francie a Německa jsou na obsahy selenu bohaté (Kabata-Pendias et Pendias, 2001), a tento prvek zde může dosahovat až koncentrací, které mohou být toxické pro rostliny i živočichy (Bañuelos et al., 2013). Za nízké obsahy v půdách Sigrist et al. (2012) považují obsahy menší než 5 mg Se kg^{-1} , za vysoké pak pokládají koncentrace větší než 5 mg Se kg^{-1} . Obsah selenu v půdách se běžně pohybuje v rozmezí $0,01 - 2 \text{ mg Se kg}^{-1}$, avšak existují i půdy s extrémně nízkým obsahem selenu, které vznikly např. zvětráváním pískovců nebo vápenců. Na druhé straně ale existují i půdy s extrémně vysokým obsahem selenu přesahujícím 1200 mg kg^{-1} , které vznikly zvětráváním černých břidlic (Plant et al., 2004).

Příjem selenu rostlinami

Tak jako u ostatních prvků je nejvýznamnějším vstupem selenu do rostliny příjem tohoto prvku z půdního roztoku. Transportní mechanismus selenu je úzce spojen s transportním mechanismem síry a je zajišťován stejnými transportéry, které zajišťují příjem síry do rostliny (Severi, 2001; White et al., 2007). To dokládají i Sors et al. (2005), kteří prokázali stejný princip přenosu selenanů i síranů pomocí ATPázy přes rhizodermální buňky proti biochemickému gradientu tj. cestou symplastickou. Gen kódující schopnost přenosu síranů byl poprvé objeven u kvasinek rodu *Saccharomyces* (Smith et al., 1995) později pak i u vyšších rostlin např. rodu *Arabidopsis* (Shibagaki et al., 2002). Uplatnění sulfát transportního genu závisí na aktuální koncentraci síry a glutathionu v rostlině a ne vždy se proto jeho vliv projeví (Hirai et al., 2003). Naproti tomu seleničitany využívají pro svůj vstup do rostliny výhradně pasivní přechod pomocí difúze po směru biochemického gradientu, tedy cestu apoplastickou.

Mikrobiální aktivita v půdě hraje i u selenu důležitou roli v biopřístupnosti tohoto prvku rostlinám. Ovlivňuje oxidačně – redukční procesy a je zodpovědná zejména za volatilizaci anorganického selenu v půdě. Bylo zdokumentováno, že fakultativně anaerobní

bakterie *Enterobacter cloacae* SLD1-a1, která je schopná redukovat selenany na seleničitany a dále na elementární selen, je zodpovědná za jeho volatilizaci v podobě dimethylselenu do ovzduší (Losi et Frankenberger, 1997).

Sloučeniny selenu

Za nejběžněji se vyskytující sloučeniny selenu v suchozemských rostlinách se považují anorganický selenan (Se^{VI}) a seleničitan (Se^{IV}), dále pak organické sloučeniny selenocystein (SeCys), Se-methylselenocystein (Se-MeSeCys) a selenomethionin (SeMet) (Thosaikham et al., 2014). Aureli et al. (2012) zmínili v rostlinách také výskyt některých selenových mono- a di-sacharidů, které se velice často nacházejí jako detoxifikační produkty v moči savců (Juresa et al., 2007; Jackson et al., 2013), ale jejichž výskyt v rostlinách do této doby zatím nebyl zmíněn. Další, méně časté sloučeniny selenu, ve své studii zmínil Whanger (2002), který uvádí v obilkách pšenice (*Triticum aestivum* L.) výskyt selenohomocysteinu, γ -glutamyl-selenocystathioninu, γ -glutamyl-Se-methylselenocysteinu, selenocysteinselenové kyseliny, Se methylselenomethioninu a dalších. Tyto sloučeniny se však podle tohoto autora vyskytují jen v nepatrných množstvích, a až 56 – 83 % z celkového obsahu selenových sloučenin tvoří právě SeMet , následovaný Se^{VI} (12 – 19 %), SeCys (4 – 12 %), Se-methylselenocysteinem (1 – 4 %). Podobné zastoupení sloučenin selenu uvádí i u rýže, sojových bobů, kukuřice a potravinářských kvasnic. Funes-Collado et al. (2013) ve své studii uvádějí, že pěstovali-li vybrané plodiny (zelí, salát, mangold a petržel) v médiu s přísadkou Se^{IV} a Se^{VI} , rostliny jej následně metabolizovaly výhradně na organický SeMet . Zdá se tedy, že SeMet je jedním z nejvýznamnějších metabolitů selenu u suchozemských rostlin.

3. VĚDECKÉ HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE

Příjem, akumulace a přeměna arsenu a selenu rostlinami jsou závislé na různých biotických a abiotických faktorech. Významný vliv na příjem, akumulaci a přeměnu těchto prvků má rostlinný druh. Dalším důležitým faktorem jsou fyzikálně-chemické charakteristiky půd, zejména celkové obsahy těchto prvků v půdách, na kterých rostliny rostou.

Mezi vybranými zemědělskými plodinami a společenstvy rostlin volně rostoucích na území ČR se vyskytují rostlinné druhy schopné zvýšené akumulace arsenu/ selenu a transformace těchto sloučenin do sloučenin pro člověka netoxických (v případě arsenu) nebo dokonce zdraví prospěšných (v případě selenu).

K potvrzení výše uvedených hypotéz byly stanoveny následující cíle:

Cíle práce:

- Posoudit mají-li vybrané fyzikálně-chemické vlastnosti půd, zejména rozdílný celkový obsah arsenu/ selenu, vliv na příjem arsenu/ selenu rostlinami, a jaká je míra tohoto vlivu ve srovnání s dalšími faktory.
- Posoudit zda a do jaké míry má rostlinný druh vliv na příjem arsenu/ selenu rostlinami.
- Sledovat a zhodnotit příjem, akumulaci a přeměny arsenu/selenu a jejich sloučenin ve vzorcích volně rostoucích rostlinných společenstev v rámci vybraných lokalit na území ČR s ohledem na možnost vstupu těchto prvků do organismu volně žijících živočichů.
- Sledování a zhodnocení příjmu, akumulace a přeměny arsenu/ selenu ve vybraných zemědělských plodinách pěstovaných za různých koncentrací arsenu/ selenu v prostředí s cílem posoudit jejich možný dopad na zdraví člověka.

4. MATERIÁL A METODY

Materiál

Vzorkování v terénu

Volně rostoucí rostlinná společenstva I

Odebírání vzorků v terénu má za cíl zmapovat zastoupení sloučenin arsenu a selenu v široké škále rostlinných druhů rostoucích na lokalitách s různými fyzikálně chemickými vlastnostmi půd, včetně různých úrovní celkového obsahu zkoumaných prvků. Je známo, že fyzikálně-chemické vlastnosti půd mají vliv na výskyt jednotlivých sloučenin prvků v půdě (Kabata-Pendias et Pendias, 2001).

Mezi lokality, ve kterých byly rostliny sbírány za účelem stanovení arsenu, patří Roudný, Kutná Hora a Nalžovské Hory. Tyto lokality jsou místy bývalé těžby drahých kovů, která je často doprovázena kontaminací arsenem a dalšími prvky. Na každé lokalitě bylo vybráno několik jednotlivých stanovišť (do 5 stanovišť na lokalitu), která byla svými vlastnostmi a polohou vhodná pro tento typ výzkumu. Na těchto vytyčených stanovištích o rozměrech 1 x 1 m byly odebrány vzorky nadzemní biomasy všech rostlinných druhů, které na dané parcelce rostly.

Volně rostoucí rostlinná společenstva II

V případě selenu byla vybrána lokalita Nalžovské Hory, kde byla sledována především případná interakce mobility a příjmu selenu rostlinami s mobilitou a příjmem rizikových prvků, zejména kadmíem, olovem a arsenem. Jako druhá lokalita byl zvolen Humpolec. Půdy v okolí Humpolce jsou na rozdíl od půd v Nalžovských Horách mírně kyselé, můžeme se tedy domnívat, že selen je zde přítomen spíše v méně dostupných formách. Pokus na nekultivovaných loukách probíhal tak, že na každé lokalitě bylo vytyčeno 6 vzorkovacích stanovišť (1 x 1 m) a z těchto stanovišť byly odebrány vzorky nadzemní biomasy jednotlivých rostlinných druhů, které se na daném stanovišti nacházely.

Volně rostoucí rostlinná společenstva III

Při posledním vzorkování v terénu byly na nekultivovaných loukách lokality Humpolec vytyčeny plochy o rozměrech 25 m², které byly ošetřeny postřikem roztoku selenanu sodného (Na₂SeO₄)

o koncentraci odpovídající: i) kontrolní varianta Se0 – 0 g Se ha⁻¹; ii) Se25 – 25 g Se ha⁻¹; iii) Se50 – 50 g Se ha⁻¹. Cca po 4 týdnech byly odebrány vzorky nadzemní biomasy jednotlivých druhů rostlin.

Ve všech případech sběru volně rostoucích rostlin sloužilo několik rostlin od každého druhu k přesnému určení rostlinného druhu. Zbývající rostliny byly sušeny v sušárně Venticell (BMT, a.s., ČR) při teplotě 60 °C, následně rozemlety, zhomogenizovány a připraveny k měření.

Nádobové pokusy

Nádobové pokusy I

V zástupcích čeledí jitrocelovité (*Plantaginaceae*) a šáchorovité (*Cyperaceae*) jsme dle našich předchozích výsledků, a výsledků, které publikovali Geiszinger et al.^b (2002) očekávali zvýšená množství organických kationtových sloučenin, zejména arsenobetainu. Z toho důvodu byly vybrány následující druhy rostlin: jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata* L.), ostřice časná (*Carex praecox* L.), ostřice měchýřkatá (*Carex vesicaria* L.) a skřípina lesní (*Scirpus sylvaticus* L.) pocházející z lokalit Roudný, Mokrsko, Malín a Kutná Hora. Ty byly následně pěstovány v modelových nádobových pokusech s cílem popsat příjem, přeměnu a akumulaci arsenu v těchto rostlinách v průběhu vegetačního období.

Postup vlastního nádobového pokusu byl takový, že do jednotlivých nádob bylo naváženo 5 kg kontaminované zeminy odebrané v arsenem kontaminované oblasti Mokrsko. Tato zemina byla předem zhomogenizována, vysušena a byly z ní odstraněny hrubé nečistoty. Po navážení bylo do zeminy přidáno NPK hnojivo ve formě vodných roztoků NH₄NO₃ a K₂HPO₄ a to v dávkách 0,5 g N, 0,16 g P, 0,4 g K. Poté bylo hnojivo se zeminou řádně promícháno. Následně byly do nádob vysázeny vzrostlé rostliny odebrané předešlé léto z kontaminovaných lokalit, které přezimovaly v nádobách s nekontaminovanou půdou. Takto bylo připraveno 6 opakování od každého rostlinného druhu po 10 rostlinách v každé nádobě. Nádobky byly umístěny ve venkovní vegetační hale a denně zalévány deionizovanou vodou na úroveň 60 % maximální vodní kapacity pro zástupce z čeledi jitrocelovitých, případně 80 % maximální vodní kapacity pro zástupce z čeledi šáchorovitých.

V průběhu vegetace byla průběžně sledována speciace sloučenin v jednotlivých fyziologických částech rostlin (stonek, list, květ, na konci vegetační doby i kořen) s cílem zjistit, zda sledována druhy opravdu vykazují schopnost kationtové, ale i další arsenové sloučeniny syntetizovat, popř. v jakých fyziologických částech je nejčastěji ukládají. U jitrocele kopinatého byly během

vegetační doby provedeny 3 odběry, u ostatních rostlin díky delší době potřebné k tvorbě generativních orgánů byly provedeny odběry 4.

Odebrané vzorky rostlin byly lyofilizovány (Lyovac GT-2, Německo), rozemlety, zhomogenizovány a připraveny k měření.

Nádobové pokusy II

Šest různých druhů zeleniny: tuřín (*Brassica napus* var. *napobrassica* L.), kadeřávek (*Brassica oleracea* convar. *acephala* L.), černá ředkev (*Raphanus sativus* var. *nigra* L.), černý kořen (*Scorzonera hispanica* L.), pastinák (*Pastinaca sativa* L.) a salát (*Lactuca sativa* L.) bylo pěstováno v nádobových pokusech na půdách s odlišnými fyzikálně-chemickými půdními vlastnostmi (Kutná Hora, Příbram). Rostliny, 4 opakování od každé varianty, byly pěstovány v 6 L nádobách naplněných 5 kg zeminy smíchané s NPK hnojivem (stejně jako viz výše). Nádoby byly umístěny ve venkovní vegetační hale a denně zalévány deionizovanou vodou na úroveň 60 % maximální vodní kapacity.

Jedlé části rostlin byly sklizeny v různých termínech v závislosti na vegetačním cyklu jednotlivých plodin. Rostliny byly jemně omyty deionizovanou vodou, byly odstraněny odumřelé části, a následně byly vzorky lyofilizovány (Lyovac GT-2, Německo), rozemlety, zhomogenizovány a připraveny k měření.

Parcelkové pokusy

Parcelkové pokusy I

Pro tento polní pokus s pěstováním selenem obohacených brokolic (*Brassica oleracea* var. *italica* L.) byl použit pozemek univerzitního polička v lokalitě Praha Suchdol, jehož půda je charakterizovaná jako černozem s jílovitě-hlinitou strukturou. Před výsadbou byla do půdy zapravena minerální hnojiva v dávce odpovídající 500 kg NPK ha⁻¹. Rostliny byly pěstovány na přesně vyznačené parcele o velikosti 8 x 10 m, rozdělené na 12 menších parcel (variant). Na takto připravených a vyznačených parcelkách byly pěstovány 4 odrůdy brokolice: Heraklion F1, Marathon F1, Parthenon F1 a Naxos F1. Sazeničky byly předpěstovány v substrátu na bázi rašeliny, zalévány deionizovanou vodou a umístěny ve skleníku při teplotě pohybující se mezi 18 a 21 ° C. Pět týdnů po vyklíčení byly sazenice přesazeny do polních podmínek. Fungicidy a insekticidy byly aplikovány v souladu s požadavky rostlin během celé doby vegetace.

Vodný roztok Na₂SeO₄ byl aplikován postřikem na list na každou variantu v období začátku

tvorby hlávky následujícím způsobem: i) Se0 – kontrolní varianta; ii) Se25 – odpovídající dávce 25 g Se ha⁻¹; iii) Se50 – odpovídající dávce 50 g Se ha⁻¹. Tři náhodně vybrané rostliny z každé varianty byly sklizeny v době, kdy byly hlávky připravené ke konzumaci (tj. asi 4 týdny po aplikaci selenu). Sklizené rostliny byly rozděleny na hlávku, stonky, listy a kořeny. Jednotlivé části byly zváženy a získaná biomasa byla opatrně omyta deionizovanou vodou, lyofilizována, jemně rozemleta za použití laboratorního mlýnku (Retsch SM 100, Německo), zhomogenizována a připravena k analýze.

Analytické metody

Analýzy rostlinného materiálu

Speciální analýzy – arsen

Pro získání obsahů jednotlivých sloučenin arsenu ve vzorcích byla použita vysoce sofistikovaná metoda spojení HPLC s ICP-MS. Při analýzách bylo částečně využito přístrojové vybavení a zkušenosti výzkumného týmu Ústavu chemie Karl-Franzens Univerzity v Grazu (Rakousko).

Pro extrakci sloučenin arsenu byla použita již dříve publikovaná metoda (Száková et al. 2011): jemně namleté a zhomogenizované vzorky byly extrahovány 0,02 M dihydrogenfosforečnanem amonným (NH₄H₂PO₄) (pH 6) v poměru 1+9 nebo 1+25 (w/v) po dobu 14 hod, upevněné do rotační třepačky (Biosan MultiRS 60, Litva) při otáčkách 45 rpm. Poté byly vzorky zcentrifugovány (Boeco C28A, Německo) při 3000 otáčkách po dobu 10 minut a nakonec přefiltrovány přes stříkačkové nitrátovo-celulosové filtry o velikosti porů 0,45 μm a průměru filtrů 0,25 mm (Roth, Německo) do vialek. Vzorky byly skladovány v lednici při 5 °C a během několik dní v nich byly proměřeny obsahy jednotlivých sloučenin.

Měření probíhalo pomocí spřažení HPLC (HPLC 1100, případně 1260 Infinity, Agilent Technologies Inc., USA) s ICP-MS (ICP-MS 7500ce, případně 7700x, Agilent Technologies Inc., U.S.), kde byla pro odstranění případných interferencí použita kolizní cela plněná heliem o průtoku 8 ml min⁻¹.

Analýza aniontových sloučenin probíhala za následujících podmínek: i) jako mobilní fáze (MF) byl použit 0,02 mol L⁻¹ roztok NH₄H₂PO₄ o pH 6, který byl přiváděn na aniontově výměnnou kolonu PRPX100 (4,6 x 150 mm, částice o velikosti 5 μm, Hamilton, U. S.) průtokem 1,5 ml

min^{-1} a objemu vzorku 10 μL ; ii) jako MF byl použit roztok 2 mM dihydrogenfosforečnanu sodného (NaH_2PO_4) s přídatkem 20 mol L^{-1} disodné soli ethylendiamintetraoctové kyseliny (EDTA-2Na) o pH 6. Tato MF byla spolu se vzorkem přiváděna do kolony Agilent Technologies Inc. (U.S.) 4,6 mm x 150 mm i.d., s částicemi o velikosti 5 μm , a náplní tvořenou hydrofilní polymetakrylátovou pryskyřicí. Průtok mobilní fáze byl optimalizován na 1 mL min^{-1} a dávkovaný objem vzorku na 10 μL .

Analýza kationtových sloučenin arsenu probíhala za podmínek: jako MF byl použit 10 mol L^{-1} roztok pyridinu o pH 2,3, který byl spolu se vzorkem přiváděn do kationtově výměnné kolony Zorbax 300-SCX (Agilent Technologies Inc., U.S.), 250 mm x 4.6 mm i.d., s částicemi o velikosti 5 μm a náplní tvořenou porózními silikátovými mikrosféramy o velikosti 300 Å. Průtok MF byl optimalizován na 1,5 mL min^{-1} a dávkovaný objem vzorku na 20 μL .

Speciální analýzy – selen

Analýzy byly provedeny s využitím instrumentace Ústavu analytické chemie na VŠCHT v Praze s využitím jejich již dříve publikovaných metod (Balan et al, 2014, Klognerova et al, 2015). Lyofilizované a zhomogenizované vzorky rostlinné biomasy byly extrahovány enzymatickou hydrolýzou následovně: ~0,5 g vzorku bylo naváženo do polyfluorovaných zkumavek a bylo k němu přidáno 25 mg proteázy XIV (Sigma-Aldrich, Japonsko) a 10 ml 0,02 mol L^{-1} tris-(hydroxymethyl)-amino-methanu (pH 7,5) (Fluka, Švýcarsko). Směs byla soustavně míchána po dobu 23 hodin a udržována při teplotě 37 °C. Následně byla zcentrifugována při 15000 rpm a 5 °C (centrifuga Sigma 2-16 K, Sigma, Německo), přefiltrována přes nylonový stříkačkový filtr s póry o velikosti 0,45 μm (Whatman, Velká Británie) a proměřena na obsah jednotlivých selenových sloučenin.

K měření byla použita spřažená technika HPLC s ICP-MS. Systém HPLC se skládal z těchto částí: vysokotlaké čerpadlo (Série 200, Perkin Elmer, U.S.), odplyňovač, vzorkovací ventil (Rheodyne 9010, IDEX Health and Science, U.S.) doplněný 50 μL PEEK vzorkovací smyčkou a analytickou kolonou PR-C8 (Purosphere STAR-C8e, 4,6 x 250 mm, velikost částic 5 μm , Merck, U.S.). ICP-MS (Elan DRC-e, Perkin Elmer, U.S.) bylo vybaveno koncentrickým PTFE zmlžovačem a cyklonickou mlžnou komorou a vysoce účinnou plazmovou hlavicí. K potlačení případných interferencí byla použita reakční cela s methanem o průtoku 0,6 ml min^{-1} . Jako MF byla použita směs: 0,8 g l^{-1} butan-1-sulfonát sodný, 2,9 g l^{-1} hydroxid

tetramethylamonný, 0,42 g l⁻¹ malonové kyseliny a 1 % (v/v) methanolu. pH směsi bylo upraveno chlorovodíkovou kyselinou na hodnotu 5,0, a její průtok byl optimalizován na 1 ml min⁻¹.

Celkové obsahy

Celkové obsahy arsenu a selenu v biomase rostlin byly stanoveny za pomoci ICP-MS po předchozím rozkladu na mokré cestě v uzavřeném systému s fokusovaným mikrovlnným ohřevem Discover SPD-Plus (CEM Inc., U.S.) podle metodiky, kterou publikovali Kelly et al. (2013): 0,5 g vzorku bylo naváženo do křemenných zkumavek, bylo přidáno 10 mL koncentrované HNO₃ (67 %, Analytika, čistota Analpure) a za teploty 200 °C, maximálního příkonu 300 W a maximálním tlaku 28 bar rozloženo. Následně byly vzorky kvantitativně převedeny do 50 mL polyethylenových zkumavek a uloženy při laboratorní teplotě do doby měření. Alternativně byly některé vzorky rozloženy na suché cestě ve směsi oxidačních plynů v mineralizátoru Apion dle Miholové et al. (1993).

Analýzy půd

Vybrané fyzikálně-chemické analýzy

Půdy odebrané z jednotlivých stanovišť byly usušeny při laboratorní teplotě, přesáty přes síto o velikosti ok 2 mm tak, aby vznikl reprezentativní homogenní vzorek vhodný k analýzám. V půdách byly podle potřeb jednotlivých pokusů stanoveny tyto fyzikálně-chemické parametry: pseudocelkové obsahy prvků (Száková et al., 2016), výměnná půdní reakce (Novozamsky et al., 1993), obsah oxidovatelného uhlíku (Sims et Haby, 1971), kationtová výměnná kapacita (ISO, 1994), dostupné živiny extrakčním činidlem Mehlich III (Mehlich, 1984), mobilní obsahy prvků (Quevauviller et al., 1993), maximální vodní kapacita (Gardner, 1986).

Celkové obsahy

Celkové obsahy prvků v půdách byly stanoveny z mineralizátů získaných po totálním rozkladu: ~0,5 g půdního vzorku bylo rozloženo na mokré cestě v uzavřeném systému s mikrovlnným ohřevem v zařízení Ethos 1 (MLS GmbH, Německo) po dobu 33 min při teplotě 210 °C ve směsi 8 ml HNO₃, 5 mL HCl a 2 ml HF. Po ochlazení byla reakční směs kvantitativně převedena do 50 mL Teflon[®] nádoby a odpařována do sucha při 160 °C. Odparek byl poté rozpuštěn ve 3 mL směsi HNO₃ a HCl (1+3), převeden do 25 mL skleněné zkumavky,

doplněn deionizovanou vodou a uschován při laboratorní teplotě do doby měření (Száková et al., 2010).

Obsah prvků v připravených mineralizátech byl stanoven pomocí ICP-OES s axiální orientací plazmové hlavice na přístroji Varian VistaPro (Varian, Austrálie).

Zpracování a hodnocení naměřených dat

Výsledky a grafické výstupy byly zpracovány za použití různých programů v závislosti na vhodnosti jejich užití, jejich dostupnosti na pracovištích a především nároků kladených na statistickou analýzu a grafické zpracování jednotlivých pokusů.

Pro zpracování statistických analýz a tvorbu grafických výstupů byly použity následující programy: Microsoft Office ExcelTM 2007, Microsoft Office ExcelTM 2010 (Microsoft, U.S.), StatisticaTM 10CZ, StatisticaTM 12CZ (StatSoft, U.S.), SigmaPlotTM 11.0 (SyStat Software, U.S.). Mezi použité statistické testy se řadí jednofaktorová analýza rozptylu ANOVA, s následným použitím Tukeyho nebo Scheffého post hoc testu, a korelační analýza pro odhad závislosti mezi proměnnými za použití Pearsonova korelačního koeficientu (Meloun et Militký, 2004). Hladina významnosti u všech provedených testů byla stanovena jako $\alpha = 0,05$. Transfer faktor, tedy ukazatel, který charakterizuje přestup prvku z půdy do rostliny, byl definován jako poměr celkového obsahu prvku v rostlině a v půdě (Huang et al., 2005).

5. VÝSLEDKY A DISKUZE

Arsen a jeho sloučeniny

Byly provedeny analýzy téměř sta volně rostoucích rostlinných druhů pocházejících z arsenem kontaminovaných lokalit – Nalžovské Hory, Roudný a Kutná Hora. Výsledky poukazují na značnou odolnost ruderalních druhů rostlin vůči kontaminaci půd arsenem, která na odběrových stanovištích dosahovala celkových obsahů od $21.8 \pm 1 \text{ mg As kg}^{-1}$ (Nalžovské Hory) až $1120 \pm 10 \text{ mg As kg}^{-1}$ (Roudný). Hodnoty extrahovatelného arsenu dosahovaly hodnot od $0,072 \pm 0,024 \text{ mg As kg}^{-1}$ (Roudný) do $14,1 \pm 0,2 \text{ mg As kg}^{-1}$ (Kutná Hora). Je tedy zřejmé, že velká část celkového obsahu arsenu byla pevně vázána na půdní částice a nebyla rostlinám dostupná. Celkové obsahy naměřené v rostlinné biomase pak dosahovaly hodnot od $0,02^* \text{ mg As kg}^{-1}$ stanovené v ptačinci (*Stellaria* spp.) do $39.30 \pm 6,32 \text{ mg As kg}^{-1}$ v mrkvi obecné (*Daucus carota* L.). Pitten et al. (1999) uvádějí, že běžně se vyskytující celkové obsahy arsenu v rostlinné biomase rostoucí na nekontaminovaných půdách jsou nižší než $3,6 \text{ mg As kg}^{-1}$. Zdá se, že v našem případě je celkový naměřený obsah arsenu v biomase závislý jak na rostlinném druhu, tak na fyzikálně-chemických vlastnostech půd, zejména pak celkovém obsahu arsenu na jednotlivých lokalitách.

Výsledky speciálních analýz ukazují, že As^{III} a As^{V} jsou dominantními sloučeninami vyskytujícími se v rostlinné biomase námi sledovaných volně rostoucích rostlinných druhů. MA, DMA, TETRA a TMAO byly zastoupeny významně méně. Zajímavým objevem je výskyt AB v ostřici časné (*Carex praecox* Schreb.), který dosahoval až 28 % extrahovatelného obsahu arsenu v biomase, a v jitroceli kopinatém (*Plantago lanceolata* L.), kde dosahoval až 1,2 % extrahovatelného obsahu arsenu v rostlinné biomase. AB patří mezi složitější organické sloučeniny arsenu, o kterých se předpokládalo, že jsou tvořeny pouze v mořských organismech (Ruiz-Chancho, 2008) a jeho přítomnost v suchozemských rostlinách byla prokázána jen velmi sporadicky (Mattusch et al. 2000).

Druhá studie se zabývá schopnosti příjmu, přeměny a ukládání arsenu rostlinami jitrocele kopinatého (*Plantago lanceolata* L.) z čeledi jitrocelovitých, a tří druhů mokřadních rostlin z čeledi šáchorovitých, jmenovitě skřipiny lesní (*Scirpus silvaticus* L.), ostřice časné (*Carex praecox* Schreb.) a ostřice měchýřkaté (*Carex vesicaria* L.), které se přirozeně vyskytují i na půdách s významně zvýšeným obsahem arsenu v okolí Kutné Hory a Roudného. Zvýšená odolnost vůči vysokým obsahům arsenu v půdě může být závislá nejen

na rostlinném druhu, ale i na mikrobiální aktivitě v oblasti rhizosféry, jak dokládá Orlowska et al. (2012), a jejíž mechanismus může vysvětlovat výskyt DMA v biomase (viz níže).

První studie prokázala přítomnost složitějších organických sloučenin arsenu, jako například AB, v nadzemní biomase některých druhů analyzovaných rostlin. Některé z těchto druhů byly tedy vybrány pro nádobový experiment s cílem popsat podrobněji příjem a transformaci sloučenin arsenu těmito rostlinami v průběhu vegetačního období. Rostliny byly pěstovány za kontrolovaných podmínek v nádobových pokusech na půdách s celkovým obsahem arsenu $735 \text{ mg As kg}^{-1}$. Celkové obsahy arsenu v takto pěstovaných rostlinách dosahovaly až $8,3 \text{ mg As kg}^{-1}$ v listech, a až $155 \text{ mg As kg}^{-1}$ v kořenech (skřípina lesní). Je zde patrné zvýšené ukládání arsenu v podzemních částech oproti nadzemním, které bude diskutováno dále. Kromě toho byla ještě potvrzena důležitá role vazby As^{V} na železitý povlak kořenového systému rostlin z čeledi šáchorovitých a také to, že k tvorbě DMA pravděpodobně nedochází v rostlině samotné, ale mikrobiální aktivitou nacházející se v oblasti rhizosféry a DMA je následně rostlinou pouze přijímána společně s půdním roztokem (Lomax et al., 2012).

Také v tomto pokusu byly dominantními sloučeninami v biomase rostlin As^{III} a As^{V} , navíc však s výskytem malého množství DMA nacházejícím se ve všech zkoumaných rostlinných druzích. U čeledi šáchorovitých pak byly nalezeny i malé obsahy AB a AC, pravděpodobně jako produkty detoxikačních mechanismů rostlin. Výsledky tedy potvrdily závěry naší první studie i starší poznatky známé z literatury (Mattusch et al. 2000).

Výsledky předchozích dvou studií prokázaly jednak zvýšené obsahy arsenu v kořenech rostlin, ale také vysoký obsah arsenu v nadzemní biomase mrkve obecné (*Daucus carota* L.). Přestože se jednalo o planý druh mrkve, lze uvažovat o případné akumulaci arsenu i v kulturních druzích rostlin, zejména v kořenové zelenině. V této studii jsme se tedy zaměřili na sledování příjmu arsenu a zastoupení jeho sloučenin v konzumních částech vybraných druhů zelenin. Šest různých druhů zeleniny: tuřín (*Brassica napus* var. *napobrassica* L.), kadeřávek (*Brassica oleracea* convar. *acephala* L.), černá ředkev (*Raphanus sativus* var. *nigra* L.), černý kořen (*Scorzonera hispanica* L.), pastinák (*Pastinaca sativa* L.) a salát (*Lactuca sativa* L.) bylo pěstováno v půdách pocházejících ze dvou arsenem kontaminovaných oblastí – Příbram a Kutná Hora. Tyto půdy s celkovým obsahem $36,0 \pm 1,0 \text{ mg As v kg}^{-1}$, respektive s $473 \pm 10 \text{ mg As v kg}^{-1}$ překračují v obou případech maximální doporučený obsah arsenu v zemědělských půdách, který je Vyhláškou č. 13/1994 (Anonym, 1994) stanoven na 30 mg As kg^{-1} . Pokud jsou tyto půdy

využívány pro zemědělské účely, zejména pak pro pěstování vlastních výpěstků, které je v těchto lokalitách velice oblíbené, představuje to pro občany konzumující plodiny z takto kontaminovaných oblastí zvýšené zdravotní riziko.

Pomocí spřažení HPLC s ICP-MS byly v jedlých částech pěstovaných zelenin stanoveny obsahy čtyř nejběžnějších aniontových sloučenin arsenu: As^{III} , As^{V} , DMA a MA. Obsahy jednotlivých sloučenin arsenu v jedlých částech se snižovaly v následujícím pořadí: $\text{As}^{\text{V}} \sim \text{As}^{\text{III}} \gg \text{DMA} \sim \text{MA}$. Jasnou převahu As^{V} a As^{III} v biomase rostlin dokládají naše předchozí studie i některé starší práce, např. Tlustoš et al. (2002).

Výsledky také naznačují, že distribuce sloučenin arsenu se liší hlavně na základě jednotlivých druhů rostlin a jejich jedlých částí. S výjimkou černého kořene výsledky potvrzují omezený přesun arsenu do nadzemních částí rostlin a jeho zvýšené ukládání zejména v podzemních částech, což je v souladu např. se studií Smith et al. (2009). I přes obecně nízké transfer faktory, které se pohybovaly v rozmezí od 0,005 u kadeřávku až po 0,18 u hlávkového salátu, byl u pastináku, černého kořene a černé ředkve (Kutná Hora) překročen maximální přípustný obsah arsenu v zelenině, který je dán Vyhláškou č. 53/2002 (Anonym 2002). Mnohem nižší obsahy arsenu se našly v listové zelenině (hlávkový salát, kadeřávek), což naznačuje, že správná volba plodin může potenciální zdravotní riziko významně snížit. Nebyl pozorován žádný statisticky průkazný rozdíl v důsledku odlišných fyzikálně-chemických vlastností, kromě celkového obsahu arsenu v půdě. Významně vyšší obsahy arsenu v půdě Kutná Hora měly za následek vyšší celkové obsahy arsenu v nadzemních i podzemních částech rostlin pěstovaných na této půdě.

Selen a jeho sloučeniny

Celkem 73 rostlinných druhů ze dvou vybraných lokalit bylo sesbíráno a následně zanalyzováno na celkový obsah selenu v jejich biomase. Rostliny pocházely z lokalit Humpolec a Nalžovské Hory, které mají přirozený obsah selenu v půdě $0,248 \pm 0,031 \text{ mg Se kg}^{-1}$, respektive $1,104 \pm 0,306 \text{ mg Se kg}^{-1}$. Půdy z těchto lokalit se tak řadí mezi půdy na selen relativně chudé. I tak však půdy z lokalit Humpolec a Nalžovské Hory odpovídají evropskému průměru, který se uvádí mezi 0,1 a 5 mg Se kg^{-1} (Bitterli et al., 2010).

Transfer faktory nalezených rostlinných druhů byly nízké a pohybovaly se mezi $<0,001$ a 0,146, přičemž nejvyšší hodnota byla zaznamenána u rozrazilu rolního (*Veronica arvensis* L.). Tyto hodnoty však nedosahují transfer faktorů, které uvádí ve své studii Bitterli et

al. (2010) a naznačují tak nízkou schopnost příjmu selenu rostlinnými druhy rostoucími v podmínkách námi zkoumaných lokalit. Relativně malou schopnost příjmu selenu rostlinami dokládá i porovnání obsahu selenu v biomase vůči obsahu prvků s řádově podobným obsahem v půdě jako selen. V tomto případě obsahy kadmia v biomase dosahovaly o jeden řád vyšších obsahů než obsahy selenu. Obdobně pak vycházely i obsahy molybdenu.

Na nízkém obsahu selenu v rostlinách se může podílet i interakce s jinými prvky, jako je např. arsen, který vykazuje vůči příjmu selenu antagonistický efekt (Malik et al., 2012), a je ve zvýšené míře přítomen v půdách na lokalitě Nalžovské Hory.

Můžeme tedy shrnout, že přirozeně nízké obsahy selenu v půdách vybraných lokalit spolu s nízkou schopností příjmu selenu nalezenými druhy rostlin, vedou k nízkému obsahu selenu v biomase rostlin nezávisle na lokalitě. Nízký obsah selenu ve volně rostoucích rostlinných společenstvech tak může ve volné přírodě přispívat k deficitu selenu napříč celým potravním řetězcem.

Můžeme tedy předpokládat, že efektivní zvýšení obsahu selenu v lučních porostech by mohlo vést ke zlepšení obsahu selenu v organismu volně žijících býložravců. Například Kursá et al. (2010) zaznamenali deficitní obsahy selenu ve svalovině volně žijících sudokopytníků v České republice. Naše další studie se tedy zaměřuje na obohacení biomasy volně rostoucích rostlinných společenstvech selenem pomocí aplikace roztoku Na_2SeO_4 na list. Při jeho aplikaci byly použity dvě různé koncentrace roztoku, které odpovídají dávce 25 a 50 g Se ha^{-1} . 12 rostlinných druhů rostoucích na všech variantách, včetně kontrolní, byly analyzovány na celkové obsahy selenu, jeho jednotlivé sloučeniny a celkové obsahy vybraných esenciálních prvků.

Výsledky ukazují, že hnojení selenem na list zvyšuje jeho celkový obsah v biomase rostlin, a že v tomto procesu hraje důležitou roli rostlinný druh, což potvrzují například i De Temmerman et al. (2014). Celkové obsahy selenu v biomase se pohybovaly od obsahů pod detekčním limitem ($0,007 \text{ mg Se kg}^{-1}$) u většiny druhů na neošetřené variantě až do $1,052 \pm 0,024 \text{ mg Se kg}^{-1}$ u rozrazilu rezekvítka (*Veronica chamaedrys* L.) po aplikaci 50 g Se ha^{-1} . Ani u varianty s nejvyšší dávkou hnojení se u rostlin neprojeví žádné viditelné známky fytotoxicity.

Celkem bylo v rostlinné biomase nalezeno 10 různých sloučenin selenu, avšak pouze 4 z nich byly jednoznačně identifikovány. Se^{VI} a SeMet patřily mezi nejčastěji se vyskytující

sloučeniny selenu nezávisle na rostlinném druhu, což naznačuje relativně nízkou schopnost rostlin přeměnit selen přijatý listy na složitější organické sloučeniny. V daleko menší míře se pak objevily sloučeniny SeCys a Se-MeSeCys, které však ukázaly na zajímavý rozdíl mezi jednoděložnými a dvouděložnými rostlinami. U jednoděložných rostlin převažovala tvorba Se-MeSeCys, zatímco u zástupců dvouděložných tvorba SeCys.

Dále byl zkoumán vliv selenu na příjem ostatních esenciálních prvků. Výsledky naznačují, že vliv selenu na příjem esenciálních prvků je z velké části závislý na rostlinném druhu a jeho biochemických procesech. Např. u hořčiku byl v obou hnojených variantách jeho obsah v biomase některých rostlinných druhů významně snížen, v určitých případech až o polovinu. Snížené obsahy lze pozorovat i u jiných prvků, nejméně ovlivněný se však zdá příjem železa. Snížení obsahů esenciálních prvků může, jak naznačují Bannister et al. (1991), souviset se změnami v aktivitě antioxidantní superoxid dismutázy, která je produkována na ochranu rostlin, v tomto případě proti možnému oxidačnímu stresu způsobenému zvýšenými obsahy selenu.

Zástupci čeledi *Brassicaceae* jsou všeobecně považovány za rostliny se zvýšenou schopností příjmu a akumulace selenu a tvorby sloučenin selenu vyznačujících se protirakovinovým účinkem (Bañuelos et Mayland, 2000). V posledním pokusu jsme se tedy zaměřili na změny v příjmu a akumulaci selenu ve 4 různých odrůdách brokolice (*Brassica oleracea* L. convar. *italica*) v závislosti na různých dávkách hnojení selenu aplikací na list. Cílem pokusu bylo ověřit, zda je možno touto cestou zvýšit potenciální dietární příjem selenu.

Analýzami jednotlivých částí rostlin brokolice jsme zjistili, že se takto aplikovaný selen akumuluje nejvíce v hlávkách, a to do obsahu až $1,01 \pm 0,15$ mg Se kg^{-1} suché biomasy, v listech, méně pak ve stoncích a nejméně v kořenech. Vliv odrůdy prokazatelný nebyl. Statistické analýzy u rostlin po aplikaci selenu prokázaly zvýšený příjem a zvýšenou akumulaci tohoto prvku ve všech nadzemních částech rostlin. Nepotvrdilo se, že by tento zvýšený příjem selenu následně jakkoli ovlivnil příjem a akumulaci dalších vybraných esenciálních prvků.

Jako nejefektivnější se ukázala aplikace roztoku Na_2SeO_4 odpovídající dávce 25 g Se ha^{-1} , jelikož další zvýšení dávky již nepřinášelo téměř žádné navýšení obsahu selenu v biomase rostlin. Tuto dávku pak můžeme považovat za efektivní pro pěstování selenem obohacených brokolic určených ke konzumaci.

Celkově bylo nalezeno 17 různých sloučenin selenu, ale pouze 4 z nich byly jednoznačně identifikovány. Speciační analýzy naznačují schopnost brokolice tvořit z jednoduchých anorganických sloučenin selenu sloučeniny organické a daleko složitější, nejčastěji: SeMet, SeCys a Se-MeSeCys, které byly společně se Se^{VI} v biomase rostlin brokolice rovnoměrně zastoupené. Na rozdíl od pokusu s volně rostoucími rostlinami, nejvíce zastoupenou sloučeninou selenu u brokolice byla sloučenina SeMet. K podobným závěrům došli i Maneetong et al. (2013) u rostlin brukve čínské (*Brassica oleracea* var. *alboglabra* L.).

6. ZÁVĚR

Analýzy širokého spektra volně rostoucích rostlinných druhů ukazují na značnou odolnost volně rostoucích ruderalních druhů rostlin vůči kontaminaci půd arsenem. Výsledky naznačují, že existují druhově specifické mechanismy, které některé rostliny chrání od nadměrného příjmu arsenu z půdy. Na druhou stranu řada z analyzovaných rostlinných druhů přesahovala maximální limit celkového obsahu arsenu v biomase ve výši 2 mg As kg^{-1} daný Vyhláškou č. 52/2002 Sb. pro maximální obsahy prvků v krmivech. Rostliny využívající strategii akumulace arsenu proto teoreticky mohou zvyšovat riziko vstupu arsenu do potravního řetězce skrze pasoucí se skot a volně žijící divokou zvěř.

Zajímavým zjištěním je výskyt AB v ostřici časně (*Carex praecox* Schreb.) a jitroceli kopinatém (*Plantago lanceolata* L.), kde se jeho extrahovatelný obsah v biomase ostřice pohyboval až do 28 % z celkového obsahu arsenu v biomase, a 1,2 % v případě jitrocele. Tato skutečnost byla dále zkoumána v nádobových pokusech a schopnost tvorby AB některými suchozemskými rostlinami z čeledí *Plantaginaceae* a *Cyperaceae* byla potvrzena.

Příjem, akumulace a transformace arsenu byla zkoumaná nejen na rostlinách volně rostoucích, ale následně i na vybraných druzích zeleniny. Ty se v daných kontaminovaných lokalitách často pěstují pro vlastní spotřebu a mohou tak významně navyšovat vstup arsenu do potravního řetězce člověka. Výsledky naznačují, že příjem a akumulace sloučenin arsenu se liší hlavně na základě jednotlivých druhů plodin a jednotlivých jedlých částí, což znamená správná volba plodin může snížit potenciální zdravotní riziko plynoucí z konzumace plodin rostoucích v arsenem kontaminovaných oblastech.

Nejvíce zastoupenými sloučeninami arsenu v námi zkoumaných rostlinách a plodinách jsou jednoznačně As^{V} a As^{III} . V daleko menší míře se pak v rostlinách nacházejí DMA, MA, AB, AC, TETRA a TMAO, u kterých můžeme předpokládat, že je jejich syntéza druhově specifická, protože ne všechny tyto sloučeniny se vyskytují ve všech druzích analyzovaných rostlin. Obecně lze říci, že statistické analýzy potvrdily silnou závislost celkového obsahu arsenu v biomase a jeho jednotlivých sloučenin na rostlinném druhu. Závislost příjmu a akumulace arsenu rostlinami na vybraných fyzikálně-chemických vlastnostech nebyla, až na celkový obsah arsenu v půdě, dostatečně průkazně potvrzena.

V případě selenu se jeho relativně nízké přirozené obsahy v půdě projeví v celkově nízkém obsahu selenu v biomase rostlin. Avšak další důležitou roli pravděpodobně hraje malá schopnost příjmu selenu rostlinnými druhy rostoucími v podmínkách námi zkoumaných lokalit.

Relativně malou schopnost příjmu selenu rostlinami dokládá i porovnání obsahu selenu v biomase vůči obsahu prvků s řádově podobným obsahem v půdě jako selen. V tomto případě obsahy kadmia a molybdenu v biomase dosahovaly o jeden řád vyšších obsahů než obsahy selenu. Můžeme tedy shrnout, že přirozeně nízké obsahy selenu v půdách vybraných lokalit spolu s nízkou schopností příjmu selenu zkoumanými druhy rostlin, vedou k nízkému obsahu selenu v biomase rostlin nezávisle na lokalitě, což může ve volné přírodě přispívat k deficienci selenu napříč celým potravním řetězcem.

Z tohoto důvodu jsme se v další části zaměřili na přihnojování volně rostoucích rostlin. Výsledky naznačují, že tento typ hnojení zvyšuje celkový obsah selenu v biomase rostlin a také to, že v tomto procesu hraje důležitou roli rostlinný druh. Aplikace selenu vedla k významnému zvýšení obsahu tohoto prvku v biomase rostlin.

Výše uvedené poznatky byly aplikovány na pěstování selenem obohacených brokolice (*Brassica oleracea* var. *italica* L.). Analýzami jednotlivých částí rostlin brokolice jsme zjistili, že se takto aplikovaný selen akumuluje nejvíce v hlávkách a v listech, méně pak stoncích a kořenech, bez statisticky významných rozdílů mezi odrůdami. Statistické analýzy u rostlin po aplikaci selenu prokázaly zvýšený příjem a zvýšenou akumulaci tohoto prvku ve všech jejich nadzemních částech. Jako neefektivnější se ukázala aplikace roztoku Na_2SeO_4 odpovídající dávce 25 g Se ha^{-1} , jelikož další navýšení této dávky již nepřinášelo téměř žádné navýšení obsahu selenu v biomase rostlin. Tuto dávku pak můžeme považovat za efektivní pro pěstování selenem obohacených brokolice určených ke konzumaci.

Se^{VI} a SeMet patřily mezi nejčastěji se vyskytující sloučeniny selenu nezávisle na rostlinném druhu, což naznačuje relativně nízkou schopnost rostlin přeměnit selen přijatý listy na složitější organické sloučeniny. V případě brokolice speciální analýzy naznačují schopnost brokolice tvořit z jednoduchých anorganických sloučenin selenu sloučeniny organické a daleko složitější, nejčastěji pak SeMet, SeCys a Se-MeSeCys, které byly společně se Se^{VI} v biomase rostlin brokolice zastoupeny nejčastěji. Příznivé zastoupení selenových sloučenin spolu se zvýšeným, ne však toxickým, obsahem selenu v biomase brokolice naznačuje, že běžná konzumace selenem obohacené brokolice by mohla zvyšovat celkový denní příjem selenu a tím by následně měla celkově kladný vliv na lidské zdraví.

Byl prokázán vliv rostlinného druhu na příjem, akumulaci a transformaci selenu v rostlině, i když obsahy selenu přijatelné rostlinami z půdy byly všeobecně nízké. Nezdá se, že by vybrané fyzikálně-chemické půdní vlastnosti měly statisticky významný vliv na obsahy selenu v biomase.

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Adriano, D. C. 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. Nakladatelství Springer. 867. ISBN 0-387-98678-2.

Anonym 1994. Výhláška č. 13/1994 Sb. upravující některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu. Ministerstvo životního prostředí ČR.

Anonym 2002. Vyhláška č. 52/2002 Sb. stanovující chemické požadavky na zdravotní nezávadnost jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin. Ministerstvo zdravotnictví ČR.

Balan, J., Vosmanska, M., Szakova, J., Mestek, O. 2014. Speciation analysis of selenium in the defatted rapeseed meal. *Chem. Listy* 108. 256-263

Bannister, W. H., Bannister, J. V., Barra, D., Bond, J., Bossa, F., 1991. Evolutionary aspects of superoxide dismutase. The copper/zinc enzyme. *Free Radical Research* 12. 349-361.

Bañuelos, G. S., Mayland, H. F. 2000. Absorption and distribution of selenium in animals consuming canola grown for selenium phytoremediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 46. 322- 328.

Bañuelos, G. S., Bitterli, C., Schulin, R. 2013. Fate and movement of selenium from drainage sediments disposed onto soil with and without vegetation. *Environmental Pollution* 180. 7-12.

Bergqvist, C., Herbert, R., Persson, I., Greger, M. 2014. Plants influence on arsenic availability and speciation in the rhizosphere, roots and shoots of three different vegetables [online]. *Environmental Pollution* 184. 540-546.

Bitterli, C., Bañuelos, G. S., Schulin, R. 2010. Use of transfer factors to characterize uptake of selenium by plants. *Journal of Geochemical Exploration* 107. 206-216.

Bravin, M. N., Travassac, F., Le Floch, M., Hinsinger, P., Garnier, J. M. 2008. Oxygen input controls the spatial and temporal dynamics of arsenic at the surface of a flooded paddy soil and in the rhizosphere of lowland rice (*Oryza sativa* L.): a microcosm study. *Plant Soil* 312. 207-218.

Cuvaradic, M. 2003. Selenium in soil. *Proceedings for Natural Sciences* 104. 23-37.

- De Brouwere, K., Smolders, E., Merckx, R. 2003. Soil properties affecting the solid-liquid distribution of As(V) in soil. *European Journal of Soil Sciences* 55. 165-173.
- De Temmerman, L., Waegeneers, N., Thiry, C., Du Laing, G., Tack, F., Ruttens, A. 2014. Selenium content of Belgian cultivated soils and its uptake by field crops and vegetables. *Science of the Total Environment* 468-469. 77-82.
- Dembitsky, V. M., Rezanika, T. 2003. Natural occurrence of arseno compounds in plants, lichens, fungi, algal species, and microorganisms. *Plant Science* 135. 1177-1192.
- Dopp, E., Hartmann, L. M., Florea, A. M., Rettenmeier, A. W., Hirner, A. V. 2004. Environmental distribution, analysis, and toxicity of organometal(loid) compounds. *Critical reviews in toxicology* 34. 301-304.
- Drewniak, L., Sklodowska, A. 2013. Arsenic-transforming microbes and their role in biomining processes. *Environmental Science and Pollution Research* 20. 7728-7739.
- Fattorini, D., Notti, A., Regoli, A. F. 2006. Characterization of arsenic content in marine organisms from temperate, tropical, and polar environments. *Chemistry and Ecology* 22. 405-414.
- 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.
- Funes-Collado, V., Morell-Garcia, A., Rubio, R., López-Sánchez, J. F. 2013. Selenium uptake by edible plants from enriched peat. *Scientia Horticulturae* 164. 428-433.
- Gardner, W. H. 1986. Water content. In *Methods of Soil Analysis - Physical and Mineralogical Methods*. Klute, A. (editor). American Society Agronomy. 493-544.
- ^aGeiszinger, A. E., Goessler, W., Francesconi, K. A. 2002. The marine polychaete *Arenicola marina*: its unusual arsenic compound pattern and its uptake of arsenate from seawater. *Marine Environmental Research* 53, 37-50.
- ^bGeiszinger, A. E., Goessler, W., Kosmus W. 2002. Organoarsenic compounds in plants and soil on top of an ore vein. *Applied Organometallic Chemistry* 16, 245-249.
- Hirai, M. Y., Fujiwara, T., Awazuhara, M., Kimura, T., Noji, M., Saito, K. 2003. Global expression profiling of sulfur-starved *Arabidopsis* by DNA microarray reveals

the role of O-acetyl-L-serine as a general regulator of gene expression in response to sulfur. *Plant Journal* 33. 651-663.

Huang, B., Kuo, S., Bembenek, R. 2005. Availability to lettuce of arsenic and lead from trace element fertilizers in soil. *Water, Air and Soil Pollution* 164. 223-239.

Chen, T., Yan, X., Liao, X., Xiao, X., Huang, Z., Xie, H., Zhai, L. 2005. Subcellular distribution and compartmentalization of arsenic in *Pteris vittata* L. *Chinese science bulletin* 50. 2843-2849.

ISO 11260. 1994. Standard of Soil Quality - Determination of Effective cation Exchange Capacity and Base Saturation Level Using Barium Chloride Solution. International Organization for Standardization.

Jackson, M. I., Lunøe, K., Gabel-Jensen, Ch., Gammelgaard, B., Combs Jr., G. F. 2013. Metabolism of selenite to selenosugar and trimethylselenonium in vivo: tissue dependency and requirement for S-adenosylmethionine-dependent methylation. *Journal of Nutritional Biochemistry* 24. 2023-2030.

Jedynak, L., Kowalska, J., Harasimowicz, J., Golimowski, J. 2009. Speciation analysis of arsenic in terrestrial plants from arsenic contaminated area. *Science of the Total Environment* 407. 945-952.

Jia, Y., Huang, H., Zhong, M., Wang, F. H., Zhang, L. M., Zhu, Y. G. 2013. Microbial Arsenic Methylation in Soil and Rice Rhizosphere. *Environmental Science and Technology* 47. 3141-3148.

Jiang, T., Li, Y., Yang, Q., Li, G., Qiu, G. 2008. Bio-oxidation of arsenopyrite. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* 18. 1433-1438.

Juresa, D., Blanusa, M., Francesconi, K. A., Kienzl, N., Kuehnelt, D. 2007. Biological availability of selenosugars in rats. *Chemico-Biological Interactions* 168. 203-210.

Kabata-Pendias, A., Pendias, H. 2001. Trace Elements in Soils and Plants. Nakladatelství CRC Press LCC. 403. ISBN 0-8493-1575-1.

Kelly, D. G., White, S. D., Weir, R. D. 2013. Elemental composition of dog foods using nitric acid and simulated gastric digestions. *Food and Chemical Toxicology* 55. 568-577.

Klognerova, K., Vosmanska, M., Szakova, J., Mestek, O. 2015. Effect of growing conditions on selenium speciation in rapeseed (*Brassica napus*) tissue. *Chem. Listy* 109. 216-222.

- Kursa, J., Herzig, I., Trávníček, J., Illek, J., Kroupová, V., Fuksová, Š. 2010. Iodine and selenium contents in skeletal muscles of red deer (*Cervus elaphus*), roe deer (*Capreolus capreolus*) and wild boar (*Sus scrofa*) in the Czech Republic. *Acta Veterinaria* 79. 403-407.
- Kuehnelt D., Goessler W. 2003. Organoarsenic Compounds in the Terrestrial Environment. In: *Organometallic Compounds in the Environment*. Craig, P. J. (editor). 223-275. ISBN: 978-0-471-89993-8.
- Kuehnelt, D., Lintschinger, J., Goessler, W. 2000. Arsenic compounds in terrestrial organisms. IV. Green plants and lichens from an old arsenic smelter site in Austria. *Applied Organometallic Chemistry* 14. 411-420.
- Lemly, A. D. 2004. Aquatic selenium pollution is a global environmental safety issue. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 59. 44-56.
- Li, N., Gao, Z., Luo, D., Tang, X., Chen, D., Hu, Y. 2007. Selenium level in the environment and the population of Zhoukoudian area, Beijing, China, *Science of the Total Environment* 381. 105-111.
- Lomax, C., Liu, W. J., Wu, L., Xue, K., Xiong, J., Zhou, J., McGrath, S. P., Meharg, A. A., Miller, A. J., Zhao, F.J. 2012. Methylated arsenic species in plants originate from soil microorganisms. *New Phytologist* 193. 665-672.
- Losi, M. E., Frankenberger Jr., W. T. 1997. Reduction of selenium oxyanions by *Enterobacter cloacae* strain SLD1a-1: isolation and growth of the bacterium and its expulsion of selenium particles. *Applied and Environmental Microbiology* 63. 3079-3084.
- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., Kolmakov, A. 2010. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the Total Environment* 16. 3053-3061.
- Malik, J. A., Goel, S., Kaur, N., Sharma, S., Singh, I., Nayyar, H. 2012. Selenium antagonises the toxic effects of arsenic on mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) plants by restricting its uptake and enhancing the antioxidative and detoxification mechanisms. *Environmental and Experimental Botany* 77. 242-248.
- Maneetong, S., Chookhampaeng, S., Chantiratikul, A., Chinrasri, O., Thosaikham, W., Sittipout, R., Chantiratikul, P. 2013. Hydroponic cultivation of selenium-enriched kale (*Brassica oleracea* var. *alboglabra* L.) seedling and speciation of selenium with HPLC–ICP-MS. *Microchemical Journal* 108. 87-91.

- Manning, B. A., Goldberg, S. 1996: Modeling Competitive Adsorption of Arsenate with Phosphate and Molybdate on Oxide Minerals. *Soil Science Society of America Journal* 1. 121-131.
- Mattusch, J., Wennrich, R., Schmidt, A. Ch., Reisser, W. 2000. Determination of arsenic species in water, soils and plants. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 366. 200-203.
- Meharg, A. A., Jardine, L. 2003. Arsenite transport into paddy rice (*Oryza sativa*) roots. *New Phytologist* 157. 39-44.
- Mehlich, A. 1984. Mehlich 3 Soil Test Extractant: A modification of Mehlich 2 Extractant. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 15. 1409-1416.
- Meloun, M., Militký, J. 2004. *Statistická analýza experimentálních dat v chemometrii, biometrii, ekonometrii a v dalších oborech přírodních, technických a společenských věd.* Praha, Academia. ISBN 80-200-1254-0.
- Miholová, D., Mader, P., Száková, J., Slámová, A., Svatoš, Z. 1993. Czechoslovakian biological certified reference materials and their use in the analytical quality assurance system in trace elements laboratory. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 345. 256-260.
- Michalke, K., Wickenheiser, E. B., Mehring, M., Hirner, A. V., Hensel, R. 2000. Production of volatile derivatives of metal(loid)s by microflora involved in anaerobic digestion of sewage sludge. *Applied and Environmental Microbiology* 66. 2791-2796.
- Novozamsky, J., Lexmond, T. M., Houba, V. J. G. 1993. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 51. 47-58.
- 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.
- Pickering, I. J., Prince, R. C., George, M. J., Snith, R. D., George, D. N., Salt, D. N. 2000. Reduction and coordination of arsenic in Indian mustard. *Plant Physiology* 122. 1171-1177.
- Pitten, F. A., Müller, G. König, P., Schmidt, D., Thurow, K. 1999. Risk assessment of former military base contaminated with organoarsenic-based warfare agents: uptake of arsenic by terrestrial plants. *Science of the Total Environment* 226. 237-245.

- Plant, J. A., Kinniburgh, D. G., Smedley, P. L., Fordyce, F. M., Klinck, B. A. 2004. Arsenic and selenium. In: Treatise on Geochemistry. Lollar, B. S. (editor). Environmental Geochemistry 9. 17-66.
- Quevauviller, P., Ure, A., Muntau, H., Griepink, B. 1993. Improvement of Analytical Measurements within the BCR-Programme: Single and Sequential Extraction Procedures Applied to Soil and Sediment Analysis. International Journal of Environmental Analytical Chemistry 51. 129-134.
- Ruiz-Chancho, M. J., Lopez-Sanchez, J.F., Schmeisser, E., Goessler, W., Francesconi, K. A., Rubio, R. 2008. Arsenic speciation in plants growing in arsenic-contaminated sites. Chemosphere 71. 1522-1530.
- Severi, A. 2001. Toxicity of selenium to *Lemna minor* in relation to sulfate concentration. Physiologia Plantarum 113. 523-532.
- Sharma, V. K., McDonald, T. J., Sohn, M., Anquandah, G. A. K., Pettine, M., Zboril, R. 2015. Biochemistry of Selenium. A Review. Environmental Chemistry Letters 13. 49-58.
- Shibagaki, N., Rose, A., McDermott, J. P., Fujiwara, T., Hayashi, H., Yoneyama, T., Davies, J. P. 2002. Selenate-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana* identify Sultr1;2, a sulfate transporter required for efficient transport of sulfate into roots. Plant Journal 29. 475-486.
- Schmidt, A. C., Mattusch, J., Reisser, W., Wennrich, R. 2004. Uptake and accumulation behaviour of angiosperms irrigated with solutions of different arsenic species. Chemosphere 56. 305-313.
- Schreck, E., Foucault, A., Sarret, G., Sobanska, S., Cécillon, L., Castrec-Rouelle, M., Uzu, G., Dumat, C. 2012. Metal and metalloid foliar uptake by various plant species exposed to atmospheric industrial fallout: Mechanisms involved for lead. Science of the Total Environment 427-428. 253-262.
- Sigrist, M., Brusa, L., Campagnoli, D., Beldoménico, H. 2012. Determination of selenium in selected food samples from Argentina and estimation of their contribution to the Se dietary intake. Food Chemistry 134. 1932-1937.
- Silva-Gonzaga, M. I., Ma, L. Q., Pacheco, E. P., dos Santos, W., M. 2012. Predicting arsenic bioavailability to hyperaccumulator *Pteris Vittata* in arsenic-contaminated soils. International Journal of Phytoremediation 14. 939-949.

- Sims, J. R., Haby, V. A. 1971. Simplified colorimetric determination of soil organic matter. *Soil Science* 112. 137-141.
- Smith, F. W., Hawkesford, M. J., Prosser, I. M., Clarkson, D. T. 1995. Isolation of a cDNA from *Saccharomyces cerevisiae* that encodes a high-affinity sulfate transporter at the plasma membrane. *Molecular and General Genetics* 247. 709-715.
- Smith, E., Juhasz, A. L., Weber, J. 2009. Arsenic uptake and speciation in vegetables grown under greenhouse conditions. *Environmental Geochemistry and Health* 31. 125-132.
- Sors, T. G., Ellis, D. R., Salt, D. E. 2005. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Phytosynthesis Research* 86. 373-389.
- SzÁková, J., Tlustoš, P., Goessler, W., Pavlíková, D., Schmeisser, E. 2007. 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., Miholová, D., Tlustoš, P., ŠestÁková, I., Frková, Z. 2010. Effect of soil properties and sample preparation on extractable and soluble Pb and Cd fractions in soils. *Agricultural Sciences* 1. 119-130.
- SzÁková, J., Tlustoš, P., Goessler, W., Pokorný, P., Findenig, S., Balík, J. 2011. The effect of soil contamination level and plant origin on contents of arsenic, cadmium, zinc, and arsenic compounds in *Mentha Aquatica* L.. *Archives of the Environmental Protection* 37. 109-121.
- SzÁková, J., Krýchová, M., Tlustoš, P. 2016. The risk element contamination level in soil and vegetation at the former deposit of galvanic sludges. *Journal of Soils and Sediments* 16. 924-938.
- Thosaikham, W., Jitmanee, K., Sittipout, R., Maneetong, S., Chantiratikul, Piyanete Chantiratikul, A. 2014. Evaluation of selenium species in selenium-enriched pakchoi (*Brassica chinensis* Jusl var *parachinensis* (Bailey)) using mixed ion-pair reversed phase HPLC-ICP-MS. *Food Chemistry* 145. 736-742.
- 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.
- Vithanage, M., Dabrowska, B. B., Mukherjee, A. B., Sandhi, A., Bhattacharya, P. 2012. Arsenic uptake by plants and possible phytoremediation applications: a brief overview. *Environmental Chemistry Letters* 10. 217-224.

- Wang, S., Mulligan, C. N. 2006. Occurrence of arsenic contamination in Canada: Sources, behavior and distribution. *Science of the Total Environment* 366.701-721.
- Whanger, P. D. 2002. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. *Journal of the American College of Nutrition* 21. 223-232.
- White, P. J., Bowen, H. C., Marshall, B., Broadley, M. R. 2007. Extra-ordinarily high leaf selenium to sulfur ratios define ‘Se-accumulator’. *Annals of Botany* 100. 111-118.
- Wu, J. H., Zhang, R., Lilley, R. M. 2002. Methylation of arsenic in vitro by cell extracts from bentgrass (*Agrostis tenuis*): effect of acute exposure of plants to arsenate. *Functional Plant Biology* 29. 73-80.
- Xu, L., Wu, X., Wang, S., Yuang, Z., Xiao, F., Yang, M., Jia, Y. 2016. Speciation change and redistribution of arsenic in soil under anaerobic microbial activities. *Journal of Hazardous Material* 301. 538-546.
- Zhang, H., Feng, X., Larssen, T. 2014. Selenium Speciation, Distribution, and Transport in a River Catchment Affected by Mercury Mining and Smelting in Wanshan, China *Applied Geochemistry* 40. 1-10.

8. SEZNAM PUBLIKACÍ K ŘEŠENÉ PROBLEMATICE

Vědecké publikace s IF

TREMLOVÁ, J. – SEHNAL, M. – SZÁKOVÁ, J. – GOESSLER, W. – STEINER, O. – NAJMANOVÁ, J. – HORÁKOVÁ, T. – TLUSTOŠ, P. A profile of arsenic species in different vegetables growing in arsenic contaminated soils. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2016, přijato do tisku, DOI 10.1080/03650340.2016.1242721.

TREMLOVÁ, J. – SZÁKOVÁ, J. – GOLKA, V. – BABKOVÁ, R. – NAJMANOVÁ, J. – TLUSTOŠ, P. Distribution of arsenic compounds in *Plantaginaceae* and *Cyperaceae* plants growing in contaminated soils. *Chemistry and Ecology*, 2016, přijato do tisku, online od 2.8.2016 DOI 10.1080/02757540.2016.1216105.

DRAHOŇOVSKÝ, J. – SZÁKOVÁ, J. – MESTEK, O. – **TREMLOVÁ, J.** – KAŇA, J. – NAJMANOVÁ, J. – TLUSTOŠ, P. Selenium uptake, transformation and inter-element interactions by selected wildlife plant species after foliar selenate application. *Environmental and Experimental Botany*, 2016, č. 125, s. 12-19. ISSN 0098-8472.

TREMLOVÁ, J. – VAŠÍČKOVÁ, I. – SZÁKOVÁ, J. – GOESSLER, W. – STEINER, O. – NAJMANOVÁ, J. – HORÁKOVÁ, T. – TLUSTOŠ, P. Arsenic compounds occurring in ruderal plant communities growing in arsenic contaminated soils. *Environmental and Experimental Botany*, 2016, č. 123, s. 108-115. ISSN 0098-8472.

SZÁKOVÁ, J. – **TREMLOVÁ, J.** – PEGOVÁ, K. – NAJMANOVÁ, J. – TLUSTOŠ, P. Soil-to-plant transfer of native selenium for wild vegetation cover at selected locations of the Czech Republic. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2015, roč. 187, č. 6, s. 358-366. ISSN: 0167-6369.

ŠINDELÁŘOVÁ, K. – SZÁKOVÁ, J. – **TREMLOVÁ, J.** – MESTEK, O. – PRAUS, L. – KAŇA, A. – NAJMANOVÁ, J. – TLUSTOŠ, P. The response of broccoli (*Brassica oleracea* convar. *italica*) varieties on foliar application of selenium: uptake, translocation, and speciation. *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 2015, roč. 32, č. 12, s. 2027-2038. ISSN: 1944-0049.

Příspěvky na konferencích

SZÁKOVÁ, J. – SMAŽÍKOVÁ, P. – **TREMLOVÁ, J.** – HANČ, A. – TLUSTOŠ, P. Podtyp: Příspěvek ve sborníku (mimo kategorie RIV); The effect of vermicompost application on selenium immobilization in soil. 2014, Book of Abstracts, XVI International Biodeterioration and Biodegradation Symposium, 3.9.2014, Lodz, Poland. s. 188-188. ISBN 978-83-63929-24-4.

RUSOVÁ, M. – SZÁKOVÁ, J. – **TREMLOVÁ, J.** – KULHÁNEK, M. – TLUSTOŠ, P.

Podtyp: Příspěvek ve sborníku (mimo kategorie RIV); Příjem selenu rostlinami řepky olejné (*Brassica napus L.*). 2013, Racionální použití hnojiv 28.11.2013, Praha. ČZU v Praze. s. 141-144. ISBN: 978-80-213-2416-9.

TREMLOVÁ, J. – SZÁKOVÁ, J. – BABKOVÁ, R. – NAJMANOVÁ, J. – TLUSTOŠ, P. Podtyp: Příspěvek ve sborníku (mimo kategorie RIV); Distribution of arsenic compounds in *Plantago lanceolata L.* plants during vegetation period. 2013, XVII euroANALYSIS 25.8.2013, Warsaw, Poland. Polish Chemical Society, Warsaw. s. 558-558. ISBN: 978-83-7798-089-7.

SEHNAL, M. – **TREMLOVÁ, J.** – SZÁKOVÁ, J. – NAJMANOVÁ, J. – TLUSTOŠ, P. Podtyp: Příspěvek ve sborníku (mimo kategorie RIV); Risk elements uptake by less common types of vegetables. 2012, 5th International Symposium on Biosorption and Bioremediation , 24.-28.6. 2012, Praha. ICT Prague Press. s. 37-40. ISBN: 978-80-7080-825-2.

TREMLOVÁ, J. – SZÁKOVÁ, J. – NAJMANOVÁ, J. – TLUSTOŠ, P. Podtyp: Příspěvek ve sborníku (mimo kategorie RIV); Celkové obsahy rizikových prvků v rostlinných společenstvech volně rostoucích v blízkosti bývalých stříbrných dolů v Nalžovských Horách. 2011. In: Racionální použití hnojiv 30.11.2011, Praha. ČZU v Praze, 2011. s. 140-144. ISBN: 978-80-213-2224-0.
