

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta životního prostředí

Katedra geoenvironmentálních věd



Remediace půd kontaminovaných rizikovými prvky a interakce
s rostlinami

Bakalářská práce

Autor: Denisa Trávníčková

Vedoucí práce: Ing. Zuzana Michálková

2016

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Denisa Trávníčková

Územní technická a správní služba

Název práce

Remediace půd kontaminovaných rizikovými prvky a interakce s rostlinami

Název anglicky

Remediation of soils contaminated with risk elements and interactions with plants

Cíle práce

Cílem bakalářské práce je formou literární rešerše shrnout hlavní poznatky důležité pro přiblížení problematiky kontaminace půd rizikovými prvky a technikách remediace, které se pro takto postižené půdy využívají. Obzvláštní pozornost přitom bude věnována interakcím s rostlinami, toxickému působení rizikových prvků na rostliny a technikám remediace, které s rostlinami pracují.

V experimentální části práce bude pomocí experimentu v rhizoboxech sledován vliv aplikace amorfního oxidu manganu na mobilitu kovů v kontaminované půdě, charakteristiky rhizosféry a růst rostlin slunečnice.

Metodika

1. Rešerše je vypracována na základě ověřených literárních zdrojů.
2. Experiment je veden ve 4 replikách, potřebná měření a analýzy jsou pečlivě provedeny.
3. Výsledná data jsou zpracována a statisticky vyhodnocena. K získaným výsledkům je vypracována odpovídající diskuze a jsou vyvozeny jasné formulované závěry.

Doporučený rozsah práce

30-40 stran dle potřeby

Klíčová slova

stabilizace, kovy, polokovy, kontaminace, amorfni oxid manganu

Doporučené zdroje informací

Adriano D. C., 2001. Trace elements in the terrestrial environments: Biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals. Springer-Verlag. New York. Berlin. Heidelberg. 867 p. ISBN: 0-387-98678-2

Komárek M., Vaněk A., Ettler V., 2013. Chemical stabilization of metals and arsenic in contaminated soils using oxides – A review. Environmental Pollution 172: 9-22.

Kumpiene J., Lagerkvist A., Maurice C., 2008. Stabilization of As, Cr, Cu, Pb and Zn in soil using amendments – A review. Waste Management 28: 215-225.

Liphadzi M. S., Kirkham, M. B., 2005. Phytoremediation of soil contaminated with heavy metals: a technology for rehabilitation of the environment. South African Journal of Botany 71: 24-37.

Pulford I. D., Watson C., 2003. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees-a review. Environment International 29: 529-540.

US EPA. 2000. Introduction to phytoremediation. Washington: U.S. Environmental Protection Agency. EPA/600/R-99/107.

Předběžný termín obhajoby

2015/16 LS – FŽP

Vedoucí práce

Ing. Zuzana Michálková

Garantující pracoviště

Katedra geoenvironmentálních věd

Elektronicky schváleno dne 18. 3. 2016

prof. RNDr. Michael Komárek, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 21. 3. 2016

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 10. 04. 2016

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Remediacce půd kontaminovaných rizikovými prvky a interakce s rostlinami vypracovala samostatně pod vedením Ing. Zuzany Michákové a použila jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů. Jsem si vědoma, že zveřejněním bakalářské práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V..... dne.....

Podpis autora

Poděkování:

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucí bakalářské práce, Ing. Zuzaně Micháلكové, za odborné vedení, velkou pomoc s vysvětlováním, za trpělivost při opravách a za ochotu věnovat této práci čas.

V Praze dne 12. 4. 2016

Abstrakt

Remediace půdy znamená postup k odstranění nebo úplnému přerušení cesty kontaminantů k receptorům jako jsou lidé, živočichové a voda. Fytoremediace je jedna z technik remediace, kdy dochází k využití rostlinného systému pro odstranění kontaminantů, v tomto případě kovů a polokovů z půdy. Rostliny extrahují polutanty z půdy kořenovým systémem. Příjem kontaminujících látek rostlinou může být také zvýšen použitím transgenních rostlin. Transgenní rostliny jsou metodami genového inženýrství upraveny v jejich dědičném základu za účelem zlepšení jejich vlastností.

V experimentální části je zhodnocena interakce činidla použitého pro chemickou stabilizaci rizikových prvků v půdě s rhizosférou slunečnice. Pro účely experimentu byla použita modelová půda kontaminovaná více kovy. Půda (fluvizem) byla odebrána z aluvia řeky Litavky, silně znečištěného As, Cd, Pb a Zn. Půda byla extrahovaná vodou a chloridem vápenatým a množství vyloužených kovů bylo porovnáno vzhledem ke změnám v jejich mobilitě.

Z výsledků je patrné, že přidané činidlo ovlivňuje pH, které se po přidání zvýšilo z kyselých hodnot na hodnoty neutrální. Dále ovlivňuje mobilitu téměř všech obsažených kontaminantů, jako jsou Zn, Pb, Cd a As. Především v rhizosferní vrstvě mobilita velmi výrazně klesla. Imobilizace rizikových prvků samotnou rostlinou bez přidaného činidla nebyla sama o sobě příliš efektivní.

Klíčová slova: kontaminovaná půda, kovy, polokovy, fytoremediace, stabilizace

Abstract

Soil remediation process is designed to eliminate or completely interrupt the path of contaminants to receptors such as people, animals and water. Phytoremediation is one of the remediation techniques that uses plant systems from the soil – the metals and metalloids in this case. Plants extract pollutants from the soil through the root system. Contaminant uptake by plant can also be increased using transgenic plants. Transgenic plants are modified by genetic engineering in their hereditary basis in order to improve their properties. The experimental part aids at evaluating the interactions between the stabilizing agent and the rhizosphere of sunflower. A model multi-metal contaminated soil was used for the purpose of the experiment. Soil (Fluvisol) was collected in the Litavka River alluvium heavily polluted with As, Cd, Pb and Zn. The soil was extracted with water and calcium chloride, the amount of leached metals was compared with respect to changes in their mobility.

It is visible that the added agent influences the pH, which increased from acidic to neutral value after the addition. Furthermore, the agent affects the mobility of almost all contained contaminants such as Zn, Pb, Cd and As. The decrease in their mobility was the most pronounced especially in the rhizosphere soil. Immobilization of risk elements using sunflower plant itself without added agent wasn't so effective

Key words: contaminated soil, metals, metalloids, phytoremediation, stabilization

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Cíl práce	2
3. Rešeršní část.....	3
3.1 Kontaminovaná půda.....	3
3.2 Kovy a polokovy v půdách.....	3
3.2.1 Olovo.....	3
3.2.2 Chróm	4
3.2.3 Rtuť	4
3.2.4 Arsen	4
3.2.5 Kadmium.....	5
3.2.6 Zinek	5
3.3 Nebezpečí kontaminovaných půd pro člověka a životní prostředí.....	6
3.4 Remediacce	6
3.4.1 Techniky remediace	7
3.5 Chemická stabilizace	7
3.6 Fytoremediace	7
3.7 Fytoremediační procesy	8
3.8 Fytoextrakce	9
3.9 Fytostabilizace.....	9
3.9.1 Příklad využití fytostabilizace.....	9
3.10 Rostliny využívané k fytoremediaci.....	10
3.11 Transgenní rostliny vs. přírodní hyperakumulátory	11
4. Experimentální část.....	12
4.1 Materiálové shrnutí a charakterizace.....	12
4.2 Půdní vlastnosti	12
4.2.1 Výsledky půdní charakteristiky.....	13
4.3 Experiment s rhizoboxy.....	13
4.3.1 Výsledky rhizoboxového experimentu	14
5. Statistické vyhodnocení.....	17
6. Diskuze.....	18
7. Závěr.....	19
8. Citace.....	20

1. Úvod

Kontaminovaná půda je celosvětový problém. Do půdy se dostávají znečišťující látky z průmyslových činností, z odpadů atd.

Vzhledem k tomu, že z půdy se dostává do vody a potravního řetězce mnoho škodlivých látek, je nutné tento problém řešit. Kovy a polokovy ovlivňují jak lidský organismus, tak i další organismy a životní prostředí. Existují způsoby jak se tímto problémem zabývat. Jedním z nich je mobilizace kovů a polokovů pomocí rostlin (fytoremediace). Fytoremediační metody jsou fytodegradace, fytoextrakce a fytostabilizace. Fytostabilizační metoda je stále populárnější a využívána hlavně proto, že je efektivní, cenově přístupnější a lépe přijímána veřejností. Její velká výhoda je také v tom, že esteticky obohacuje zdevastovanou krajinu.

Rostliny se využívají na půdách silně znečištěných kovy a polokovy nebo dalšími znečišťujícími látkami, ale také k dočištění půdy po použití jiných postupů. Je důležité vybrat vyhovující typ rostlin s rozsáhlým kořenovým systémem a zachování co nejmenší translokaci kovů z kořenů do výhonků kvůli omezení šíření kovů do potravního řetězce. K fytostabilizaci může být přidána chemická stabilizace, která je jednou z in situ sanačních technologií. Tato technologie znamená, že ke stabilizaci dochází např. pomocí přídatků oxidů železa, manganu nebo hliníku. Oxidy manganu jsou díky svým příznivým vlastnostem a jejich přirozenému výskytu v půdách dobrým sorbentem toxických kovů a polokovů.

2. Cíl práce

Cílem práce je teoretický přehled o problematice půd kontaminovaných rizikovými prvky, které ohrožují člověka, životní prostředí a další organismy. Dále je cílem přiblížení vlastností rizikových prvků, jejich možné odstranění nebo usměrnění pomocí remediačních technik. Cílem experimentu bylo zjištění vlivu aplikovaného stabilizačního činidla na mobilitu prvků v půdě kontaminované rizikovými prvky a jeho další interakce v rhizosféře slunečnice ve srovnání s půdou neovlivněnou přítomností rostliny.

3. Rešeršní část

3.1 Kontaminovaná půda

Kontaminace půdy je celosvětovým problémem a může být považován za hlavní překážku udržitelného rozvoje. Narušuje rovnováhu ekosystémů a způsobuje zvýšení ekonomických ztrát a poškození lidského zdraví. Kontaminace půdy je způsobena především emisemi z průmyslu, činností nakládání s odpady a důlními hlušinami. Převládající půdní kontaminanty zahrnují potenciálně toxické kovy a polokovy, toxické organické látky a radionuklidy (Tabak et al., 2005). Zvýšené hladiny kovů a polokovů v půdě byly zaznamenány v mnoha průmyslových zemích a oblastech. Tyto látky, jako je například chrom, kadmium, rtuť a olovo mohou ohrozit ekosystémy a lidské zdraví prostřednictvím vstupu do potravinového řetězce nebo přímého vystavení kontaminované půdě/vodě (Wuana, Okieimen, 2011).

Organické znečišťující látky, například těkavá chlorovaná rozpouštědla, polychlorované bifenylly (PCB) a ropné produkty jsou další všudypřítomné kontaminanty vzhledem ke své toxicitě, mobilitě a hojnosti druhů. Tyto organické polutanty stěží degradují v půdě, jsou škodlivé pro člověka a životní prostředí (Arias-Estévez et al., 2008).

3.2 Kovy a polokovy v půdách

Mezi kovy a polokovy se řadí železo, zinek, měď, mangan, cín, chrom, kadmium, olovo, rtuť aj. Některé kovy jsou v malých množstvích nezbytné pro život (například stopové prvky měď, zinek a mangan). Jiné kovy však nejsou nezbytné pro život a působí toxicky na člověka, zvířata a rostliny (například rtuť, olovo a kadmium), (Kalina, 2004).

3.2.1 Olovo

Olovo (Pb) je vysoce toxická látka pro živé organismy. Jeho schopnost bioakumulace často způsobuje akutní chronická onemocnění, která poškozují lidský organismus, je-li vdechnuto nebo požit (Duruibe et al., 2007 a Wuana, Okieimen, 2011). Olovo bylo široce používáno jako surovina ve výrobních procesech, jako

střelivo, baterie, ložiska vodoinstalace, glazury, závaží, tmely, barviva, pigmenty a pesticidy (Wuana, Okieimen, 2011 a McCartor, Becker, 2010).

3.2.2 Chróm

Zemská kůra je tvořena z 0,037% až 0,044% sloučeninami chromu. Chrom má vysokou teplotní odolnost a je velmi tvrdý. Chrom neoxiduje na vzduchu, je obecně známý ve dvou oxidačních stavech jako Cr (III) a Cr (VI). Podle Světové zdravotnické organizace (WHO) je Cr (VI) jedním z nejtoxičtějších kovů v přírodě (Ramamurthy et al., 2015 a Mandal et al., 1983).

Chrom v šestimocném stavu je v životním prostředí nežádoucí. Vzhledem ke své toxicitě, vysoké rozpustnosti a mobilitě ve vodě je 500 krát toxičtější než Cr (III) (Rashid et al., 2011). Ve zdravotnictví je uznán jako plicní karcinogen a působí dalšími účinky na dýchání, kůži, ledviny, játra a způsobuje hematologické problémy (Saha et al., 2011).

3.2.3 Rtuť

Rtuť (Hg) je přirozeně se vyskytující toxický prvek přítomný v prostředí v nízkých koncentracích (Göthberg, Greger, 2006). Přirozená koncentrace rtuti má tendenci zůstat ve velmi úzkých mezích (mezi 10 a 200 mg.kg⁻¹ (Adriano, 2001 a Tack et al., 2005), aby byla zajištěna optimální ekologická rovnováha. Rtuť je jedním ze šesti nejzávažnějších znečišťujících látek na naší planetě v souladu s mezinárodním programem OSN o chemické bezpečnosti (Keeler et al., 2006). Protože se jedná o vysoce toxický kov (Cooper et al., 2001), má u většiny živých organismů nepříznivé účinky (Diet z et al., 2000) jako jsou neurologická poškození zejména u dětí (Zhang, Wong, 2007 a Counter et al., 2002).

3.2.4 Arsen

Arsen je metaloid s vlastnostmi kovů i nekovů a je obecně charakterizován jako toxický kov. Arsen je vysoce toxický a způsobuje vážné zdravotní následky, jako jsou například diabetes, kardiovaskulární poruchy, poruchy nervového systému a rakovina. Na molekulární úrovni jsou tyto účinky způsobeny v důsledku zvýšeného oxidačního stresu, poškození DNA a inhibice různých proteinů, zejména

transkripčních faktorů regulačních proteinů a indukce nebo inhibice apoptózy. Použití arsenu jako smrtícího jedu je známo po mnoho let. Vzhledem k jeho používání k vraždění (Steck-Flynn, 2007) a jeho silným účinkům je arsen nazýván "král jedů" (Jones, 2007). Kontaminace životního prostředí arsenem, zejména zdrojů pitné vody, je způsobena především lidskou činností.

Dnes je kontaminace arsenem hlášena v mnoha částech světa a jsou zprávy o velkoplošném znečištění arsenem v regionu delty řeky Gangy v Bangladéši a Indii, které přinesly nesmírnou pozornost. V této části světa je vysoká početnost vzniku zdravotních následků souvisejících s arsenem. Za účelem kontroly kontaminace arsenem v přírodních zdrojích vody, vydala Světová zdravotnická organizace pokyny, podle nichž maximální povolená hodnota arsenu v pitné vodě je 10 ppb (ppb = parts per billion). Mnoho zemí však tuto hodnotu překračuje, například Argentina (200 ppb), Mexiko (400 ppb) a Indo-Bangladéšská oblast (800 ppb). Tyto země mají extrémně vysoké koncentrace arsenu v pitné vodě (Flora, 2011).

3.2.5 Kadmium

Kadmium může být ve velmi malém množství prospěšné pro zvířata, avšak obecně je považováno za neesenciální prvek jak pro zvířata, tak pro rostliny. Lze tedy říci, že není škodlivé pro rostliny, ale je považováno za jednu z nejnebezpečnějších látek znečišťujících životní prostředí (Sillanpää, Jansson, 1992).

Kadmium je jedním z kovů emitovaných do životního prostředí z průmyslové činnosti a z různých chemických produktů. Může snadno vstoupit do potravního řetězce, protože je slabě vázán na půdní složky ve srovnání s jinými stopovými prvky. Vzhledem k tomu, že se kadmium váže s několika lidskými onemocněními a způsobuje vážné onemocnění ledvin a plic a další patologické symptomy, byl projeven značný zájem o chování kadmia v prostředí půdy (Bruemmer et al., 1986, Nriagu, 1980 a Zaman et al., 2009).

3.2.6 Zinek

Zinek (Zn) je esenciální stopový prvek pro většinu organismů a je všudypřítomný v půdním prostředí. Kontaminace půdního prostředí nadměrným množstvím zinku pochází z různých zdrojů, jako jsou těžební činnost, doprava Zn rudy, tavení a Zn

průmysl (Lamb et al., 2009). Kromě toho byly vysoké hladiny zinku nalezeny v půdě od různých předmětů, které zinek obsahovaly (Lock, Janssen, 2001). V kontaminovaných lokalitách se Zn běžně vyskytuje v poměrně vysokých koncentracích v porovnání s jinými kovy, jako jsou arsen, kadmium, olovo a měď. I když je zinek nezbytný pro mnoho funkcí v organismu, jeho přebytek může vést k toxicitě. Zn v mimořádně vysoké koncentraci v půdě způsobuje toxicitu i u člověka, proto je toxicita pro ekologické receptory vážný problém. Zinek je relativně mobilní stopový prvek v aerobním půdním prostředí ve srovnání s jinými přechodnými kovy, jako měď a olovo (McBride et al., 1997).

3.3 Nebezpečí kontaminovaných půd pro člověka a životní prostředí

Kromě nepříznivého ovlivňování růstu rostlin mají rizikové prvky nepříznivý vliv na životní prostředí jako takové. Mezi významné zdroje kovů a polokovů v půdě patří průmyslová činnost, těžební aktivity, znečištěná voda a čistírenské kaly (Lebeau et al., 2008). Byly použity různé metody pro remediaci životního prostředí znečištěného rizikovými prvky, nicméně použití biologických metod se prokázalo jako účinnější a levnější (Lynch, Moffat, 2005 a Salt et al., 1995).

3.4 Remediac

Pojem remediace znamená dekontaminaci, nebo postupy pro odstranění či přerušení cesty kontaminantů k různým receptorům jako jsou například lidé, rostliny a podzemní vody (Helmut, 2013).

3.4.1 Techniky remediace

Remediační techniky lze rozdělit do dvou skupin: nepřímé a přímé. Nepřímé remediace (ex situ) se zabývají úpravou (sanací) vytěžené půdy a to buď na místě (on situ) nebo speciálními úpravami mimo místa znečištění podle konkrétních podmínek. Přímé remediace (in situ) se uskutečňují přímo na místě úpravou znečištěné půdy

anebo podzemní vody (Cao et al, 2002, Mendez a Maier, 2008, Sun et al., 2013 a Zanussi et al., 2013).

3.5 Chemická stabilizace

Stabilizace kovů a metaloidů ke snížení jejich mobility a biologické dostupnosti v půdě může být dosaženo použitím živých rostlin a souvisejících mikrobiálních společenstev v kořenové zóně (fytostabilizace), použitím imobilizačních činidel (chemická stabilizace) nebo kombinací obou postupů (podporovaná fytostabilizace) (Komárek et al., 2013 a Kumpiene et al., 2008). Metoda chemické stabilizace je založena na aplikaci činidel, které jsou účinnými sorbenty snižujícími mobilitu a následnou biologickou dostupnost rizikových prvků v kontaminovaných půdách. Remediaci založené na in situ chemické imobilizaci je aplikace nenákladného materiálu, jako jsou například alkalické materiály (Illera et al., 2011), jílové minerály (Liang et al., 2014 a Sun et al., 2013) a organické doplňky (Liu et al., 2009 a Park et al., 2011). Tyto materiály minimalizují biologickou dostupnost a transport kovů a polokovů v půdním prostředí vzrůstajícím pH půdy, zvýšení adsorpce, iontovou výměnou, komplexací či srážecími reakcemi (Cao et al., 2008, Sun et al., 2009 a Udeigwe et al., 2011). Chemická imobilizace se od nedávna dostává do popředí díky svým efektivním nákladům, rychlé implementaci a udržitelnosti životního prostředí. Je také považována za potenciálně hodnotnou alternativní techniku pro rozlehlé průmyslové areály a zemědělské půdy, skládky či půdy, které byly silně znečištěné (Illera et al., 2004 a Zanussi et al., 2013).

3.7 Fytoremediace

Fytoremediace je použití rostlin k degradaci (fytodegradace), extrakci (fytoextrakce) či imobilizaci (fytostabilizace) kontaminující látky z půdy a vody (Sharma and Reddy, 2004). Fytoremediace může být podpořena buď zvýšením schopnosti příjmu kontaminantů rostlinou, nebo změnou půdních vlastností za účelem zvýšení biologické dostupnosti těchto kontaminujících látek. Příjem kontaminujících látek rostlinou může být také zvýšen použitím transgenních rostlin (Bhargava a Srivastava, 2014), nebo naočkováním umělou endofytickou bakterií (Bell et al., 2014).

Fytoremediace byly vyvinuté pro širokou škálu aplikací nejen pro anorganické, ale i pro organické polutanty. Pro remediaci kovů, polokovů a radionuklidů se využívá především fytoextrakce a fytostabilizace (Dercová et al., 2005).

3.8 Fytoremediační procesy

Rostliny (obrázek č. 1) jsou vysázeny na kontaminovanou půdu a dochází zde k fytoremediačním procesům:

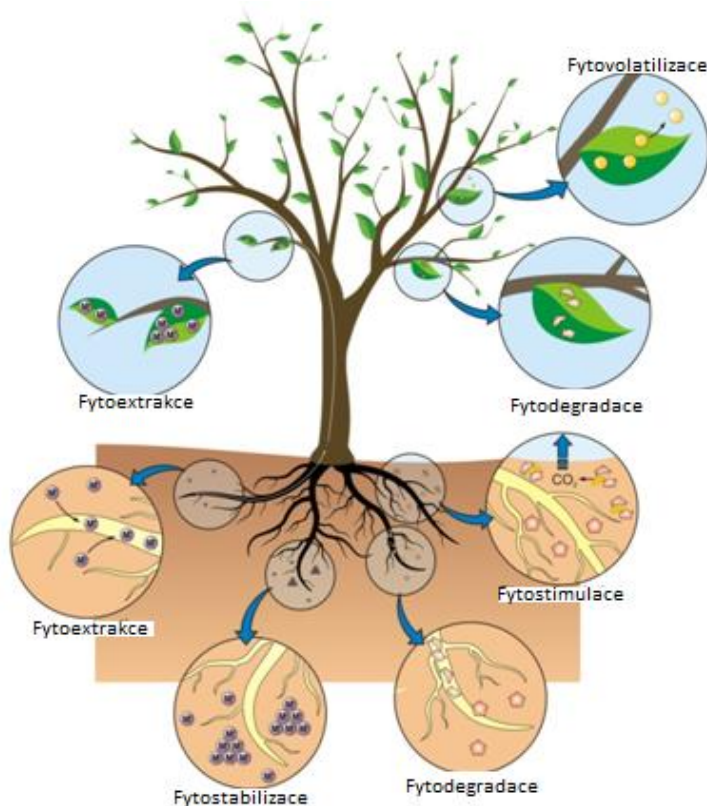
Fytoextrakce – Rostliny odstraňují kovy z půdy koncentrací do sklíditelných částí.

Fytodegradace – Rostliny a související mikroby degradují organické polutanty.

Rhizofiltrace – Kořeny rostlin absorbují kovy z odpadních vod.

Fytostabilizace - Rostliny snižují mobilitu a biologickou dostupnost znečišťujících látek v životním prostředí buď imobilizací, nebo zabráněním jejich migrace (PULFORD, 2003).

Fytovolatilizace - Znečišťující látky se mění pomocí rostlin na formu, která vytěká do okolí.



Obrázek č. 1: Schéma fytoremediačních strategií (Favas et al., 2014).

3.9 Fytoextrakce

V procesu fytoextrakce rostliny extrahují polutanty z půdy svým kořenovým systémem a uskladňují je převážně v zelené biomase (jen částečně v kořenech), přičemž celý proces je možné periodicky opakovat až do požadovaného snížení celkového znečištění. Získaná biomasa se následně zpracuje tak, aby došlo ke zkoncentrování polutantu a to mikrobiálně (kompostováním), tepelně (zpopelněním nebo spalováním), anebo chemicky (extrakcí), (Dercová et al., 2005).

3.10 Fytostabilizace

Fytostabilizace je technika zaměřená na využití rostlin ke snížení negativního vlivu znečišťujících látek v půdě a na přiléhající složky životního prostředí, včetně vodních ploch, zemědělské půdy atd. Fytostabilizace je nejúčinnější na pozemku, který je vysoce kontaminován těžkými kovy, ostatními anorganickými znečišťujícími látkami, a také kde jsou zbytky ropy. Taková půda je charakterizována okrajovou nebo neexistující vegetací, degenerací půdy a povrchových ekosystémů. Tato půda je proto velmi náchylná a slouží jako sekundární zdroj znečišťování v důsledku silného větru, vodní eroze, vysoké úrovně povrchového odtoku a vyplavování do podzemních vod (Gupta, 2013).

3.10.1 Příklad využití fytostabilizace

Při zániku těžby zůstávají průmyslové doly často opuštěné (Tordoff et al. 2000). Podle ministerstva obchodu, průmyslu a energetiky v Koreji (Kmotie, 2010) existuje v Koreji ~2200 dolů k těžbě rud, z nichž 96% je nyní uzavřeno a mohou být označovány za dlouhodobé zdroje znečištění životního prostředí (Kmotie, 2010). U důlních odpadů a hlušin je známo, že mají největší dopad na životní prostředí, protože mají největší koncentrace toxických prvků a jsou nejvíce náchylné k rozptýlení větrem a vodní erozí (Dudka, Adriano, 1997 a Wong et al., 1998).

Konvenční technologie používané při nakládání s půdní hlušinou se zaměřily na fyzikální a chemické stabilizace. Fyzikální stabilizace zahrnuje pokrytí nestabilního důlního odpadu neškodnými materiály, aby došlo ke snížení větrné disperze a vodní

eroze. Chemická stabilizace má za cíl zabránit šíření těžkých kovů za použití chemických látek, které poskytují vrstvu rezistentní vůči větru a vodě. Použití chemických metod je omezeno kvůli jejich nedostatečné stálosti a potřebě pravidelných kontrol. Kromě toho, rozšířená aplikace těchto fyzikálně-chemických metod je omezena dostupností vhodných materiálů a vysokými náklady na dopravu (Tordoff et al., 2000).

Fytostabilizace, zřízení vegetačního pokryvu na hlušině pomocí rostlin je sanační strategie, která je v současné době předmětem zkoumání (Mendez, Maier, 2008, Alvarenga et al., 2009a, Alvarenga et al., 2009b, Cunningham et al., 1995).

Mnoho opuštěných, dříve využívaných dolů má zpomalenou přirozenou vegetační kolonizaci. K běžným fyzikálně-chemickým omezením růstu rostlin na hlušinách patří extrémní pH, vysoký obsah solí, nedostatek potřebných živin, přebytek kovů, vysoká objemová hmotnost, nevhodná struktura, pomalá infiltrace vody, špatné zadržování vody a nízká propustnost vzduchu (Wong, 2003). K překonání těchto omezení mohou být přidána další opatření. Stabilizace kovů může být kombinována s fytostabilizací k překonání fyzikálně-chemických omezení a vytvoření vegetačního pokryvu. Pokud je takové ozelenění v kombinaci s imobilizujícími prostředky, může být považována za podporovanou fytostabilizaci (Alvarenga et al., 2009a, Alvarenga et al., 2009b).

Výběr vhodných rostlinných druhů je zásadní pro dosažení úspěšné fytostabilizace. Zvolené rostliny by měly vytvořit rozsáhlý kořenový systém a velké množství biomasy v přítomnosti vysokých koncentrací těžkých kovů, a to při zachování translokace kovů z kořenů do výhonků tak nízkých, jak je to možné a tím omezení šíření kovů do potravního řetězce (Pulford, Watson, 2003, Rizzi et al., 2004).

3.11 Rostliny využívané k fytoremediaci

Při vysokých koncentracích kovů v prostředí existují různé mechanismy využívané rostlinami, pro udržení iontové homeostázy, čímž mohou eliminovat nepříznivé účinky přítomných kovů (Clemens, 2001). Kořenové exudáty jsou schopné chelatace rizikových prvků a buněčné stěny tak mohou tyto prvky vázat. Uvnitř buněk produkují sloučeniny jako fytochelatiny a metalothiony s vysokou afinitou pro tyto

kovy, které tak mohou vázat a řídit jejich cytoplazmatické koncentrace tím, že je přepraví přes tonoplast a následně uloží do vakuoly (Hall, 2002).

K dispozici jsou rostliny zvané hyperakumulátory, které jsou schopné absorbovat velké množství rizikových prvků, zatímco jejich růst není ovlivněn. Tato schopnost může být účinná pro odstraňování kovů a polokovů ze znečištěných půd. Některé z těchto rostlin patří do čeledi *Brassicaceae*, ve které je omezený počet druhů rostlin (Assuncao et al., 2001). Hyperakumulátory musí mít schopnost homeostaze během růstu ve znečištěném prostředí (Verbruggen et al., 2009).

3.12 Transgenní rostliny vs. přírodní hyperakumulátory

Transgenní rostliny jsou takové, do jejichž dědičného základu byly metodami genového inženýrství vpraveny geny z jiných, nepříbuzných organismů (Ondřej M. 2008).

Ideální rostlina s praktickým využitím ve fyto-remediační technice musí nutně mít značnou schopnost absorpce a akumulace kovů, aby mohla snížit délku remediačního procesu. Rostliny hyperakumulující kovy byly nalezeny v celé řadě čeledí cévnatých rostlin, velmi často jsou zastoupené u dvouděložných rostlin čeledi brukvovité (*Brassicaceae*). Nicméně, většina známých druhů rostlin hyperakumulujících kovy je selektivních, co se příjmu kovů týče, rostou pomalu, produkují relativně malé množství biomasy a většina z nich může být použita pouze v jejich přirozeném prostředí. Navíc aplikace hyperakumulujících rostlin může být dále omezena, protože je málo známo o jejich agronomických vlastnostech, ochraně proti škůdcům, schopnosti rozmnožování a fyziologii. Rostou často v odlehlých oblastech a v některých případech je jejich stanoviště ohroženo těžbou, rozvojem a dalšími aktivitami. Z tohoto důvodu se zdá, že vývoji transgenních rostlin je slibnou alternativou vzhledem ke zlepšení absorpce a akumulace kovů a tolerance jejich toxicity. Taková akumulace kovů a tolerance by mohla být zvýšena expresí přírodních nebo modifikovaných genů kódujících antioxidantní enzymy nebo ty, které jsou zapojeny do biosyntézy glutathionu a fytochelatinů (Gratao, 2005)

4. Experimentální část

4.1 Materiál a metody

Amorfní oxid manganu (AMO) byl syntetizován dle Della Puppa et al., (2013) za použití modifikované metody pro přípravu birnessitu (Ching et al., 1997). Hodnota pH studovaných oxidů byla měřena v deionizované vodě při poměru 1:10 w/v, bod nulového náboje (pH_{zpc}) byl stanoven pomocí imerzní techniky (Fiol a Villaescusa, 2009). Specifický povrch AMO byl stanoven Brunauer-Emmett-Teller (BET) metodou s využitím analyzátoru Nova e-series (Quantachrome Instruments, USA).

4.2 Půdní vlastnosti

Pro účely této studie byla použita modelová půda kontaminovaná více kovy. Půda (fluvizem) byla odebrána z aluvia řeky Litavky, silně znečištěného As, Cd, Pb a Zn v důsledku blízké historické činnosti huti v Příbrami. Základní fyzikálně-chemické vlastnosti studovaných půd jsou shrnuty v tabulce č. 1. Vzorky půdy byly odebrány z povrchové vrstvy (0-20 cm), usušeny na vzduchu, zhomogenizovány a prosety přes 2mm nerezové síto. Zrnitostní složení půdy bylo stanoveno hydrometrickou metodou (Gee and Or 2002). Hodnota pH půdy byla měřena v suspenzi deionizovanou vodou/ 1M KCl (1:2,5, w/v), (ISO 10390:1994). Celkový obsah organického uhlíku (TOC) byl stanoven pomocí analyzátoru uhlíku TOC-L CPH (Shimadzu, Japonsko). Kationtová výměnná kapacita byla stanovena extrakcí 0,1 M BaCl₂ (Carter a Gregoriche 2008). Pseudo celkové koncentrace prvků byly stanoveny rozkladem v lučavce královské (US EPA metoda 3051a) s působením mikrovlnného záření (SPD-Discover, CEM, USA). Obsah kovů v digestátu byl následně určen pomocí optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES, Agilent 730, Agilent Technologies, USA). Standardní referenční materiál 2710a Montana Soil I (NIST, USA) byl použit pro kontrolu přesnosti analýz. Všechny použité chemikálie byly v analytické kvalitě.

4.2.1 Výsledky půdní charakteristiky

Použitá půda (tabulka č. 1) pocházející z blízkosti hutního průmyslu, což je hlavní důvod kontaminace, má zvýšené obsahy As, Cd, Pb a Zn. Koncentrace těchto prvků v půdě (tabulka č. 1) vysoce překračuje limitní hodnoty stanovené Ministerstvem životního prostředí České republiky (vyhláška č. 13/1994 Sb.). Z kontaminantů má v půdě největší podíl Pb.

4.3 Experiment s rhizoboxy

Rhizoboxy jsou speciální boxy pro pěstování rostlin, umožňující snadné a uživatelsky jednoduché oddělení rhizosféry půdy od kořenů rostlin za pomoci nylonové nano-membrány (Wenzel et al., 2001). Experimenty v rhizoboxech byly provedeny za účelem vyhodnocení vlivu použitého stabilizačního činidla (AMO) na mobilitu kovů v půdě a jeho interakcí ve rhizosféře slunečnice (*Helianthus annuus* L). Nejprve byla půda smíchána s AMO (1%, w/w) a zalévána deionizovanou vodou po dobu 4 týdnů při zachování 60-70% vlhkosti půdy. Poté byly půdní kompartmenty těchto rhizoboxů naplněny půdou a do každého rhizoboxu bylo zasazeno 10 slunečnicových semen. Rhizoboxy byly zalévány deionizovanou vodou a po 30 dnech růstu byly celé rostliny (tzn. stonky a kořeny) sklizeny. Vzorky rhizosféry půdy byly odebrány jako 0,5 mm tenká vrstva pod membránou ovlivněná přítomností kořenů. Vzorky volné půdy (tj. půdy, která nebyla v kontaktu s kořenovými exudáty) byly odebrány z opačné části rhizoboxu.

Vzorky byly sušeny na vzduchu a následně analyzovány. Hodnota pH (tabulka č. 3) u vzorků byla stanovena v suspenzi s deionizovanou vodou (1:2,5 w/v). Vzorky půdy byly poté extrahovány 0,01 M CaCl₂ (Quevauviller, 1998) a deionizovanou vodou (1:10 w/v) po dobu 2 hodin, odstředěny a poté přefiltrovány přes 0,45 µm nylonový stříkačkový filtr. Ve filtrátu byla změřena hodnota Eh a obsah kovů a rozpuštěného organického uhlíku (DOC) byl stanoven pomocí ICP-OES a TOC/DOC analyzátoru.

4.3.1 Výsledky rhizoboxového experimentu

Hodnota pH půdy (tabulka č. 2) byla měřena po extrakci deionizovanou pro půdu rhizosferní kontrolní a s přidavkem AMO a půdu volnou kontrolní a s přidavkem AMO. U půdy rhizosferní a volné je pH téměř stejné hodnoty a po přidání AMO se pH u obou půd zvýší o cca 1,2 jednotky.

Tabulka č. 1 Základní fyzikálně-chemické vlastnosti studované půdy. Limitní koncentrace kovů / metaloidů v zemědělských půdách jsou nastaveny podle vyhlášky Ministerstva životního prostředí České republiky č. 13/1994 Sb.

pH _{H2O}	5,95	
pH _{KCl}	4,97	
TOC (%)	2,35	
Zrnitostní složení (%)		
Jíl (%)	5	
Prach (%)	20	
Písek (%)	75	
Půdní druh	Fluvizem	
Celková koncentrace kovů (mg kg⁻¹) ¹⁾ (n = 3)		Limitní koncentrace (mg kg⁻¹)
As	332 ± 20	30
Pb	4234 ± 429	140
Cd	42 ± 2	1
Zn	4107 ± 179	200
Cu	72 ± 3	100
Fe	36 563 ± 1120	není limit
Mn	4785 ± 581	není limit

Tabulka č. 2: Hodnota pH stanovena v suspenzi s deionizovanou vodou

(RHIZO - rhizosferní vrstva, BULK - volná půda, C - kontrolní půda, Amo - amorfní oxid Mn)

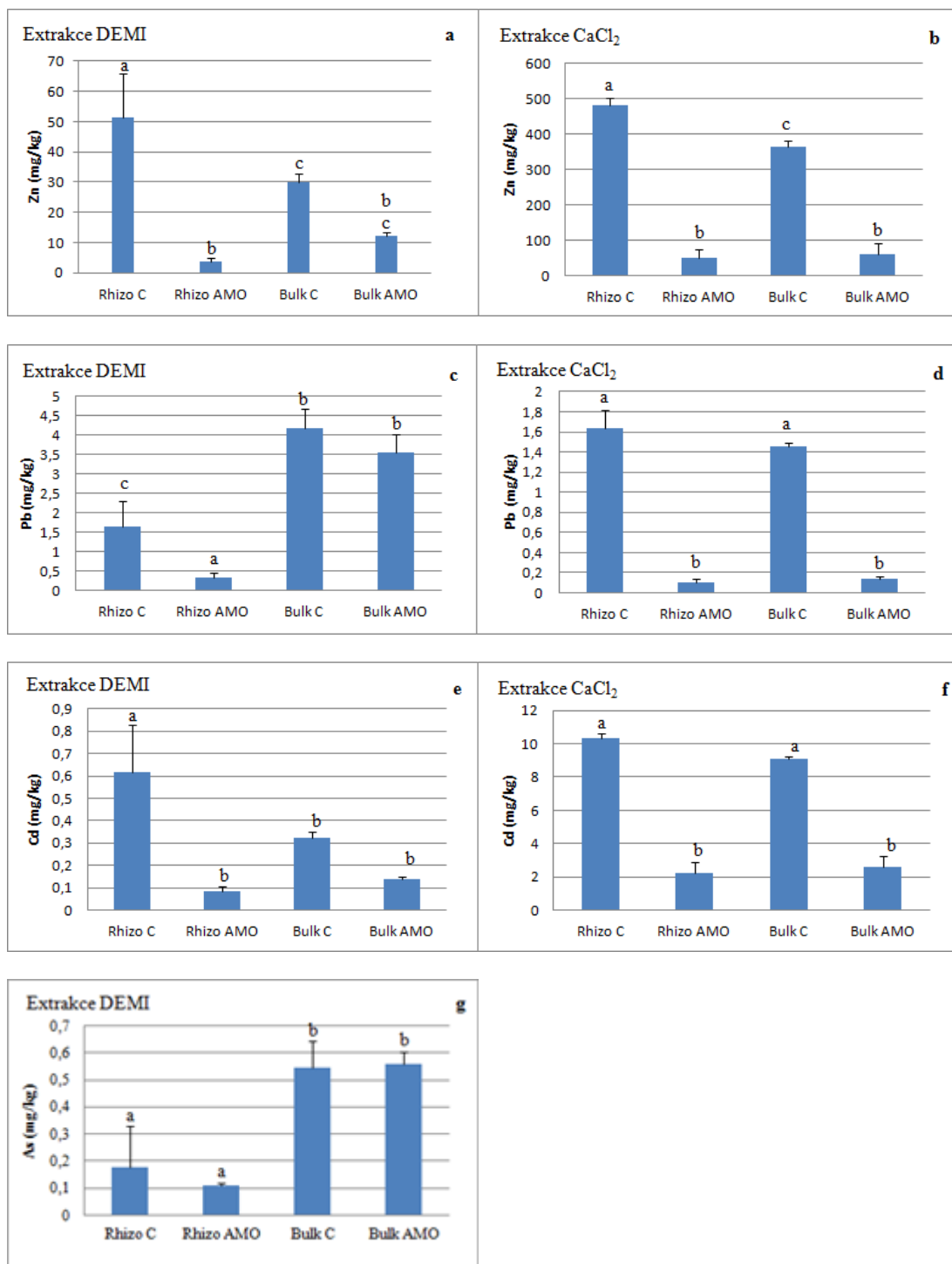
RHIZO		BULK	
C	5,98900 ± 0,309	C	5,83125 ± 0,42017
AMO	7,23100 ± 0,490	AMO	7,09150 ± 0,720513

AMO (tabulka č. 3) se ukázalo jako účinná změna ve stabilizaci. U všech daných prvků obsahuje půda s přidavkem AMO nejmenší hodnotu mg/kg kontaminantů vyloužených ve vodě.

Tabulka č. 3: Vlastnosti amorfního oxidu manganu (AMO)

	pH	pH_{zpc}	BET (m² g⁻¹)
AMO	6.45	6.97	135

Přidání AMO má největší vliv na mobilitu Zn (obrázek č. 2 a, b) jak v rhizosferní, tak ve volné půdě u obou extrakcí. Vliv rhizosferní půdy je očividný vzhledem k tomu, že hodnoty mobility kontaminantu jsou v této půdě nejnižší. U Pb (obrázek č. 2 c, d) má AMO také největší vliv na snížení mobility, ovšem není tomu tak ve volné půdě extrahované DEMI (obrázek č. 2 c). Zde je vidět, že mobilita prvku není nízká jako u vrstvy rhizosferní, která vykazuje nízkou hodnotu u obou extrakcí. Cd (obrázek č. 2 e, f) má nízkou mobilitu podobně jako u Zn ve všech případech s přidavkem AMO. Hodnoty nejsou tak nízké, ale jsou nejnižší oproti ostatním typům u obou extrakcí. U As (graf g) je uvedena extrakce pouze Demi, jelikož koncentrace As při extrakci CaCl₂ byla pod mezí detekce. I tady je nejnižší hodnota rhizosferní vrstvy půdy s přidavkem AMO. Volná půda s přidavkem AMO nejeví rozdílnou hodnotu oproti kontrole (obrázek č. 2 c).



Obrázek č. 2: Mobilita kovů jednotlivých půd po extrakci deionizovanou vodou a CaCl₂. Zn (a) extrakce Demi, Zn (b) extrakce CaCl₂, Pb (c) extrakce Demi, Pb (d) extrakce CaCl₂, Cd (e) extrakce Demi, Cd (f) extrakce CaCl₂, As (g) extrakce Demi, As (h) extrakce CaCl₂. Statistická analýza byla provedena zvlášť pro každou extrakci daného prvku. Data se stejným písmenem reprezentují statisticky totožné hodnoty (P<0,05) (n=3)

5. Statistické vyhodnocení

Všechny statistické analýzy byly provedeny pomocí programu SigmaPlot 12,5 (StatSoft Inc., USA). Experimentální data byla vyhodnocena pomocí analýzy rozptylu (ANOVA) při $<0,05$ za použití Tukeyho testu.

6. Diskuze

Při hodnocení výsledků půdní charakteristiky je jasná vysoká hodnota obsažených kontaminantů As, Cd, Pb a Zn oproti limitním hodnotám stanovených Ministerstvem životního prostředí. Hodnota pH se ve sledovaných variantách pohybovala v hodnotách od 6 do 7. Z výsledků je patrné, že pH půdy se po přidání AMO zvedlo v rhizosferní vrstvě z 5,9 na 7,2 a ve volné půdě z 5,8 na 7. Vliv na zvýšení pH může být celkové množství přidání činidla AMO.

U mobility prvků je jasná změna po přidání AMO. Největší změna v mobilitě je zaznamenaná v rhizosferní vrstvě po interakci s kořeny slunečnice. Pro experiment s rhizoboxy je důležité vybrat správný typ rostliny. Kořenové exudáty se považují za hlavní faktor řídící množství mikrobiální biomasy a aktivitu v rhizosféře (Grayston et al., 1997, Bais et al., 2006). Je pravděpodobné, že každý kořenový systém různých typů rostlin ovlivní rhizosferní vrstvu jinak, i když se může jednat o minimální hodnoty. Slunečnice je jednou z nejdůležitějších plodin na celém světě, rostlina užívána nejen jako potravina, ale i rostlina s energetickou hodnotou a fytoremediačním potenciálem. Je dokumentována jako kovový akumulátor (Cindy et al., 2006, Niu et al., 2007, Fässler et al., 2010 a Rojas-Tapias et al., 2012). Přidání činidla AMO nejvíce snížilo mobilitu v rhizosferní vrstvě pro Cd a Zn. Vypadá to tedy, že AMO nejlépe pracuje v interakci s rostlinou. Avšak rhizosferní vrstva půdy bez AMO jeví pouze minimální sníženou mobilitu, a to u prvku As a Pb. AMO snížil mobilitu kontaminantů a může být použit jako stabilizační doplněk na znečištěné půdy (Ettler et al., 2014). Porovnání extrakce DEMI s extrakcí CaCl_2 ukazují výkyvy, při pohledu na grafy je viditelný rozdíl v množství extrahovaných prvků.

7. Závěr

Bylo zjištěno, že AMO ovlivnilo pH půdy v rhizosferní vrstvě i ve volné půdě tak, že byl jeho nárůst z hodnoty 6 na 7, dále se přidáním AMO do půdy jasně mění mobilita kontaminantů. Interakce AMO s kořeny slunečnice v rhizosferní vrstvě se jeví jako největší pozitivní změna na snížení mobility všech kontaminujících prvků, nejvíce u Zn a Cd. U As a Cd je mobilita nízká pouze v rhizosferní vrstvě s přidáním AMO extrahované deionizovanou vodou. Volná půda s přídavkem AMO bez interakce se slunečnicí ukazuje také snížené hodnoty mobility kontaminantů, a to zejména u Zn, Pb a Cd extrahovaných deionizovanou vodou. Oproti tomu samostatná rhizosferní vrstva půdy nevykazuje tak snížené hodnoty mobility kontaminantů, jako je tomu s přidáním AMO. Naopak, z grafů je jasné, že rhizosferní vrstva půdy ovlivněná kořeny slunečnice ukazuje největší hodnoty mobility kontaminantů Cd, Pb, Zn a to hlavně po extrakci CaCl_2 . Je tedy jasné, že samostatná fyto-stabilizace, tedy stabilizace kontaminantů v půdě působením kořenů slunečnice by nestačila ke snížení mobility kontaminantů do takové míry, jako je tomu ve vzájemné interakci s činidlem AMO. To se proto jeví jako činidlo s výbornými stabilizačními vlastnostmi a jeho vlastnosti dobře pracují ve vzájemné interakci s rostlinou, do budoucna by bylo vhodné zhotovit experiment AMO ve vzájemné interakci s jinou rostlinou a zjistit jeho vhodnost do všech typů půd.

8. Citace

Adriano D.C. Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals. Springer Verlag, New York (2001).

Alvarenga P., Goncalves A. P., Fernandes R. M., de Varennes A., Vallini G., Duarte E., Cunha-Queda A. C. Organic residues as immobilizing agents in aided phytostabilization: (I) effects on soil chemical characteristics. *Chemosphere*, 74 (2009), pp. 1292–1300

Alvarenga P., Palma P., Goncalves A.P., Fernandes R. M., de Varennes A., Vallini G., Duarte E., Cunha-Queda A. C. Organic residues as immobilizing agents in aided phytostabilization: (II) effects on soil biochemical and ecotoxicological characteristics. *Chemosphere*, 74 (2009), pp. 1301–1308

Arias-Estévez M., López-Periago E., Martínez-Carballo E., Simal-Gándara J., Mejuto J.C., García-Río L. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 123 (2008), pp. 247–260

Assuncao A.G.L., Martins P., Folter S., Vooijs R., Schat H., Aarts G. Elevated expression of metal transporter genes in three accessions of the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Cell Environment*, 24 (2001), pp. 217–226

Bais H.P., Weir T.L., Perry L.G., Gilroy S., Vivanco J.M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu. Rev. Plant Biology*, 57 (2006), pp. 233–266

Bell T.H., Joly S., Pitre F.E., Yergeau E. Increasing phytoremediation efficiency and reliability using novel omics approaches. *Trends Biotech.* (2014)

Bhargava A., Srivastava S. Transgenic approaches for phytoextraction of heavy metals. *Improvement of Crops in the Era of Climatic Changes*, Springer, New York (2014), pp. 57–80

Bruemmer G.W., Gerth J., Herms U. Heavy metal species, mobility and availability in soils. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkunde.*, 149 (1986), pp. 382–398

Cao X.D., Ma L.Q., Chen M., Singh S.P., Harris W.G. Impacts of phosphate amendments on lead biogeochemistry at a contaminated site. *Environmental Science of Technology*, 36 (2002), pp. 5296–5304

Cao X.D., Ma L.Q., Singh S.P., Zhou Q.X. Phosphate-induced lead immobilization from different lead minerals in soils under varying pH conditions. *Environmental Pollution*, 152 (2008), pp. 184–192

Clemens S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta*, 212 (2001), pp. 475–486

Cooper C.M., Gillespie Jr. W.B. Arsenic and mercury concentrations in major landscape components of an intensively cultivated watershed. *Environmental Pollution*, 111 (2001), pp. 67–74

Cindy H.W., Thomas K.W., Ashok M., Chen W. Engineering plant microbe symbiosis for rhizoremediation of heavy metals. *J. Applied and Environmental Microbiology*, 72 (2006), pp. 1129–1134

Coruh S., Geyikci F., Coruh U. Removal of Cu²⁺ from copper flotation waste leachant using sepiolite: full factorial design approach. *Acta Geodyn. Geomater.*, 10 (2013), pp. 453–458

Counter S.A., Buchanan L.H., Ortega F., Laurell G. Elevated blood mercury and neuro-otological observation in children of the ecuadorian gold mines. *J. Toxicology and Environmental Health A*, 65 (2002), pp. 149–163

Cunningham S.D., Berti W.R., Huang J.W. Phytoremediation of contaminated soils. *Trends Biotechnology*, 13 (1995), pp. 393–397

Dercová K., Makovníková J., Barančíková G., Žuffa J. Bioremediace toxických kovů kontaminující vody a půdy. *Chemické listy*. 2005, roč. 99, č. 10, s. 682-693.

Dietz R., Riget F., Born E.W. An assessment of selenium to mercury in Greenland marine animals. *Science of Total Environment*, 245 (2000), pp. 15–24

Dudka S., Adriano D. C. Environmental impacts of metal ore mining and processing: a review. *J. Environmental Quality*, 26 (1997), pp. 590–602

Duruibe J.O., Ogwuegbu M.O.C., Egwurugwu J. N. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *Int. J. Physical Sciences*, 2 (2007), pp. 112–118

Ettler V., Knytl V., Komárek M., Della Puppa L., Bordas F., Mihaljevič M., Klementová M., Šebek O. Stability of a novel synthetic amorphous manganese oxide in contrasting soils. *Geoderma*, 214–215 (2014), pp. 2–9

Fassler E., Robinson B.H., Stauffer W., Gupta S.K., Papritz A., Schulin R. Phytomanagement of metal contaminated agricultural land using sunflower, maize and Tobago. *Agriculture Ecosystem Environment*, 136 (2010), pp. 49–58

Favas P.J.C., Pratas J., Varun M., D'Souza R., Paul M.S. (2014). Phytoremediation of Soils Contaminated with Metals and Metalloids at Mining Areas: Potential of Native Flora, Environmental Risk Assessment of Soil Contamination, Dr. Maria C. Hernandez Soriano (Ed.)

Flora S. J S. *Free Rad. Biol. Med.*, 51 (2011), pp. 257–281

Göthberg A., Greger M. Formation of methyl mercury in an aquatic macrophyte. *Chemosphere*, 65 (2006), pp. 2096–2105

Gratao, Lupino P. et al. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment. *Braz. J. Plant Physiology* [online]. 2005, vol.17, n.1, pp. 53-64. ISSN 1677-9452.

Dostupné z:

http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S167704202005000100005&script=sci_arttext

Grayston S.J., Vaughan D., Jones D. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. *Applied Soil Ecology*, 5 (1997), pp. 29–56

Gupta D.K. *Plant-based remediation processes*. Berlin: Springer, 2013.

Hall J. L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J Exp Bot*, 53 (2002), pp. 1–11

Helmut M. *Soil remediation and rehabilitation treatment of contaminated and disturbed land*. Dordrecht: Springer, 2013.

Illera V., Garrido F., Serrano S., García-González M.T. Immobilization of the heavy metals Cd, Cu and Pb in an acid soil amended with gypsum-and lime-rich industrial by-products. *Eur. J. Soil Sci.*, 55 (2004), pp. 135–145

Jones F. T. *Poult. Sci.*, 86 (2007), pp. 2–14

Kalina M. *Kompostování a péče o půdu. 2., upr. vyd.* Praha: Grada, 2004, 116 s. Česká zahrada.

Kaya A., Onac C., Surucu A., Karapinar E., Alpoguz H. K., Tabakci B. Preparation of CTA-based polymer inclusion membrane using calix[4]arene derivative as a carrier for Cr(VI) transport. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.*, 79 (2014), pp. 103–111

Keeler G.J., Landis M.S., Norris G.A., Christianson E.M., Dvonch J.T. Sources of mercury wet deposition in Eastern Ohio, USA. *Environmental Science Technology*, 40 (2006), pp. 5874–5881

KMoTIE. *Annual Report of Environmental Status in Mining Areas*. Ministry of Trade, Industry and Energy of Republic of Korea (2010)

Komárek M., Vaněk A., Ettler V. Chemical stabilization of metals and arsenic in contaminated soils using oxides – a review. *Environ. Pollut.*, 172 (2013), pp. 9–22

Kumpiene J., Lagerkvist A., Maurice C. Stabilization of As, Cr, Cu, Pb and Zn in soil using amendments – a review. *Waste Manag.*, 28 (2008), pp. 215–225

Lebeau T., Braud A., Jezequel K. Performance of bioaugmentation-assisted phytoextraction applied to metal contaminated soils: A review. *Environ Pollut*, 153 (2008), pp. 497–522

Liang X.F., Han J., Xu Y.M., Sun Y.M., Wang L., Tan X. In situ field-scale remediation of Cd polluted paddy soil using sepiolite and palygorskite. *Geoderma*, 235 (2014), pp. 9–18

Lynch J., Moffat A. Bioremediation — prospects for the future application of innovative applied biological research. *Ann Appl Biol*, 146 (2005), pp. 217–221

McCarter A., Becker D. Blacksmith Institute's World Worst Pollution Problem Report 2010. Blacksmith Institute, New York (2010)

Mendez M. O., Maier R. M. Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environment – an emerging remediation technology. *Environ. Health Perspect.*, 116 (2008), pp. 278–282

Michálková Z., Komárek M., Šillerová H., Della Puppa L., Joussein E., Bordas F., Vaněk A., Vaněk O., Ettler V. Evaluating the potential of three Fe- and Mn-(nano) oxides for the stabilization of Cd, Cu and Pb in contaminated soils. *J. Environ. Manag.*, 146 (2014), pp. 226–234

Nriagu J.O. *Cadmium in the Environment*. John Wiley and Sons (1980)

Niu Z., Sun L., Sun T., Li Y., Wang H. Evaluation of phytoextracting cadmium and lead by sunflower, ricinus, alfalfa and mustard in hydroponic culture. *J. Environment. Sci.*, 19 (2007), pp. 961–967

Ondřej M. 2008: Transgenní rostliny a lektiny. Ústav molekulární biologie rostlin AV ČR, České Budějovice. [online]. 25. 6. 2008. Dostupné z: <http://abicko.avcr.cz/archiv/1999/9/obsah/transgenni-rostliny-a-lektiny.html>

Park J.H., Lamb D., Paneerselvam P., Choppala G., Bolan N., Chung J.-W. Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal (loid) contaminated soils. *J. Hazard. Mater.*, 185 (2011), pp. 549–574

Pulford I. D., Watson C. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees – a review. *Environ. Int.*, 29 (2003), pp. 529–540

Quevauviller, P., 1998. Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis I. Standardization. *Trends in Analytical Chemistry* 17, 289–298.

Ramamurthy G., Ramalingam B., Katheem M. F., Sastry T. P., Inbasekaran S., Thanveer V., Jayaramachandran S., Das S. K., Mandal A. B. Total elimination of polluting chrome shavings, chrome, and dye exhaust liquors of tannery by a method using keratin hydrolysate. *ACS Sustainable Chem. Eng.* (2015)

Ramamurthy G., Ramalingam B., Katheem M. F., Sastry T. P., Inbasekaran S., Thanveer V., Jayaramachandran S., Das S. K., Mandal A. B. Total elimination of polluting chrome shavings, chrome, and dye exhaust liquors of tannery by a method using keratin hydrolysate. *ACS Sustainable Chem. Eng.* (2015)

Rashid H., Takemura J., Farooqi A. M. Soil explorations and groundwater monitoring to evaluate subsurface contamination due to chromium in district Kasur, Pakistan. *J. Environ. Sci. Eng.*, 5 (7) (2011), pp. 835–843

Rizzi L., Petruzzelli G., Poggio G., Vigna Guidi G. Soil physical changes and plant availability of Zn and Pb in a treatability test of phytostabilization. *Chemosphere*, 57 (2004), pp. 1039–1046

D.F. Rojas-Tapias, R.B. Bonilla, J. Dussan. Effect of inoculation with plant growth promoting bacteria on growth and copper uptake by sunflowers. *Water Air Soil Pollut.*, 223 (2012), pp. 643–654

Saha R., Nandi R., Saha B. Sources and toxicity of hexavalent chromium. *J. Coordination Chemistry*, 64 (10), (2011), pp. 1782–1806

Salt D. E., Blaylok M., Kumar P. B A., Dushenkov V., Ensley B. D., Chet I., *et al.*. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology*, 13 (1995), pp. 468–474

Sharma H. D., Reddy K. R. *Geoenvironmental Engineering: Site Remediation, Waste Containment, and Emerging Waste Management Technologies*. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ (2004)

Shim H.Y., Lee K.S., Lee D.S., Jeon D.S., Park M.S., Shin J.S., Lee Y.K., Goo J.W., Kim S.B., Chung D.Y. Application of electrocoagulation and electrolysis on the precipitation of heavy metals and Particulate solids in washwater from the soil washing. *J. Agriculture Chemical Environment*, 3 (2014), p. 130

Sillanpää M., Jansson H. Status of cadmium, lead, cobalt, and selenium in soils and plants of thirty countries. Rome: FAO, 1992, xii, 195 p

Steck-Flynn K. *Law Enforcement Technology*, 34 (2007), pp. 118–126

Sun Y.B., Sun G.H., Xu Y.M., Wang L., Liang X.F., Lin D.S. Assessment of sepiolite for immobilization of cadmium-contaminated soils. *Geoderma*, 193 (2013), pp. 149–155

Sun Y.B., Zhou Q.X., An J., Liu W.T., Liu R. Chelator-enhanced phytoextraction of heavy metals from contaminated soil irrigated by industrial wastewater with the hyperaccumulator plant (*Sedum alfredii*Hance). *Geoderma*, 150 (2009), pp. 106–112

Tabak H.H., Lens P., Van Hullebusch E.D., Dejonghe W. Developments in bioremediation of soils and sediments polluted with metals and radionuclides -1. Microbial processes and mechanisms affecting bioremediation of metal contamination and influencing metal toxicity and transport. *Rev. Environmental Science Biotechnology*, 4 (2005), pp. 115–156

Tack F. M.G., Vanhaesebroeck T., Verloo M.G., Van Rompaey K., Van Ranst E. Mercury baseline levels in Flemish soils (Belgium). *Environmental Pollution*, 134 (2005), pp. 173–179

Tordoff G. M., Baker A. J. M., Willis A. J. Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous mine Wales. *Chemosphere*, 41 (2000), pp. 219–228

Udeigwe T.K., Eze P.N., Teboh J.M., Stietiya M.H. Application, chemistry, and environmental implications of contaminant-immobilization amendments on agricultural soil and water quality. *Environmental International*, 37 (2011), pp. 258–267

Verbruggen N., Hermans C., Schat H. Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. *New Phytol*, 181 (2009), pp. 759–776

Wong J. W. C., Ip C. M., Wong M. H. Acid-forming capacity of Pb-Zn mine tailings and its implications for mine rehabilitation. *Environmental Geochemistry and Health*, 20 (1998), pp. 149–155

Wong M. H. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*, 50 (2003), pp. 775–780

Wuana R. A., Okieimen F. E. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *Int. Scholarly Res. Network Ecol.*, 2011 (2011), pp. 1–20

Zaman M.I., Mustafa S., Khan S., Xing B. Heavy metal desorption kinetic as affected by of anions complexation onto manganese dioxide surfaces. *Chemosphere*, 77 (2009), pp. 747–755

Zanuzzi A., Faz A., Acosta J. Chemical stabilization of metals in the environment: a feasible alternative for remediation of mine soils. *Environment Earth Science*, 70 (2013), pp. 2623–2632

Zhang L., Wong M. Environmental mercury contamination in China: sources and impacts. *Environmental International*, 33 (2007), pp. 108–121

