

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Vliv kontaminace půdy kadmíem na metabolismus
vybrané rostliny**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Lucie Čapková

Vedoucí práce: prof. Ing. Daniela Pavlíková, CSc.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv kontaminace půdy kadmíem na metabolismus vybrané rostliny" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 8.4.2016

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Daniele Pavlíkové, CSc. za její pomoc, konzultace, odborné vedení a trpělivost, kterou mi poskytla při tvorbě této diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala Ing. Veronice Zemanové za pomoc, předané zkušenosti a vstřícný přístup.

Vliv kontaminace půdy kadmiiem na metabolismus vybrané rostliny

Souhrn

Cílem této diplomové práce je vyhodnotit působení stupňované dávky kadmia v půdě na metabolismus rostliny. V pokusu jsou hodnoceny následující charakteristiky: výnos čerstvé biomasy, výnos sušiny rostlin, obsah kadmia a vybraných prvků v rostlině (Cu, Fe, Mn, Mg, Zn) a obsah vybraných volných aminokyselin (kyselina asparagová, kyselina glutamová, asparagin, glutamin, alanin).

V nádobovém vegetačním pokusu byly pěstovány rostliny špenátu setého (*Spinacia oleracea* L. cv. Matador), plodiny s vysokou afinitou k rizikovým prvkům. Kadmium bylo přidáno do jednotlivých nádob jako $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ ve stupňované dávce 0, 30, 60 a 90 mg $\text{Cd} \cdot \text{kg}^{-1}$ (varianty Kontrola, Cd1, Cd2 a Cd3).

Z výsledků je patrné, že obsah kadmia v rostlině se zvyšoval s nárůstem kadmia v půdě a došlo tak k poklesu výnosu nadzemní biomasy u rostlin špenátu, byla tedy potvrzena fytotoxicita kadmia. Obsah mědi se mírně snižoval se zvyšující se dávkou kadmia v půdě. Obsah železa vykazoval střídající trend se zvyšující se dávkou kadmia v půdě, u rostlin byla zjištěna slabá závislost. Obsah manganu se lineárně snižoval se zvyšující se dávkou kadmia v půdě. Obsah hořčíku vykazoval slabou závislost na dávce kadmia v půdě. V případě zinku byl vykazován klesající trend, vyskytovala se zde vysoká závislost obsahu zinku na zvyšujícím se obsahu kadmia.

Analýza obsahu aminokyselin potvrdila naši hypotézu a ukázala změny v obsahu aminokyselin v závislosti na změně obsahu kadmia a ostatních mikroprvků (Cu, Zn) v rostlinách špenátu setého. Obsah kyseliny asparagové vykazoval klesající trend a byla zjištěna významná závislost mezi koncentrací kadmia v biomase a obsahem kyseliny asparagové v rostlině. Obsah glutamové kyseliny vykazoval opět klesající trend a byla prokázána lineární závislost mezi koncentrací kadmia a obsahem této aminokyseliny v rostlině. Obsah asparaginu vykazoval stoupající trend, byla prokázána silná závislost mezi koncentrací kadmia a asparaginem v nadzemní biomase rostliny. Obsah glutaminu naopak vykazoval klesající trend. Obsah alaninu vykazoval stoupající trend, byla prokázána lineární závislost mezi koncentrací kadmia a obsahem alaninu v nadzemní části rostlin.

Klíčová slova: aminokyseliny; kadmium, metabolismus dusíku; rostlina; stres

The effect of cadmium soil contamination on plant metabolism

Summary

The aim of this thesis is to evaluate the effect of increasing cadmium concentrations in the soil on the metabolism of plants. In this experiment was evaluated these characteristics: the fresh biomass yield, dry matter yield of spinach plants, the cadmium content and the selected elements in the plant (Cu, Fe, Mn, Mg, Zn), and the contents of selected free amino acids (aspartic acid, glutamic acid, asparagine, glutamine, alanine).

Adaptation of spinach (*Spinacia oleracea* L. cv. Matador) plants, which have high affinity to risk elements, was investigated in pot experiment to excessive cadmium levels in soil. Cadmium was added to individual pots in $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ with increasing concentrations of 0, 30, 60 and 90 mg Cd.kg^{-1} (Control variants, Cd1, Cd2, and Cd3).

Results show increasing cadmium accumulation in plant aboveground biomass grown under the increasing Cd content in the soil. There was a decreased aboveground biomass in the yield in spinach plants, so the cadmium phytotoxicity was proved. The Cu content was slightly decreasing with increasing content of cadmium in soil. The Fe content showed alternating trend with increasing content of cadmium in plants. The Mn content has decreased with increasing content of cadmium in soil. The mg content showed weak dependence on the cadmium content in soil. The Zn content was reported declining trend, with a high dependence on increasing cadmium content.

Analysis of amino acids confirmed our hypothesis and showed changes in the amino acids contents in response to cadmium and other trace elements (Cu, Zn) changes in spinach plants. Aspartic acid content showed a decreasing trend and here was observed significant correlation between the concentration of cadmium in the biomass content and aspartic acid in the plant. The content of glutamic acid showed a downward trend again and here was a linear relationship between the concentrations of cadmium and the content of this amino acid in the plant. Contents of asparagine showed an upward trend, here was demonstrated a strong association between cadmium concentrations and asparagine in the aboveground plants biomass. Glutamine content conversely showed a decreasing trend. Alanine content showed an upward trend. Here was a linear relationship between the concentrations of cadmium and the content of alanine in the aboveground parts of plants.

Keywords: amino acids, cadmium, nitrogen metabolism, plant, stress

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíl práce a vědecká hypotéza	2
3	Literární rešerše	3
3.1	Rizikové prvky	3
3.1.1	Zdroje rizikových prvků	4
3.1.2	Hlavní zdroje kontaminace životního prostředí rizikovými prvky	5
3.2	Obecné fyzikálně – chemické vlastnosti kadmia	6
3.2.1	Stručná charakteristika	6
3.2.2	Chemické vlastnosti	6
3.2.3	Interakce kadmia s ostatními prvky	7
3.3	Výskyt kadmia	8
3.3.1	Výskyt kadmia v přírodě	8
3.3.2	Antropogenní (nepřírodní) zdroje	8
3.3.3	Lokality zvýšeného obsahu kadmia v České republice	9
3.4	Toxicita kadmia	10
3.4.1	V živých organismech	10
3.4.2	Kadmium ve vodách	11
3.4.3	Kadmium v půdách	11
3.4.4	Kadmium v rostlinách	13
3.4.4.1	Příjem kadmia v rostlinách	15
3.4.4.2	Stres rostliny	17
3.4.4.3	Aminokyseliny	18
3.4.4.4	Metabolismus dusíku	19
3.4.4.5	Fytotoxicita	20
4	Materiál a metody	22
4.1	Vegetační pokus	22
4.2	Stanovení kadmia a dalších vybraných prvků	23
4.3	Stanovení volných aminokyselin	24
4.4	Zpracování naměřených dat	24
5	Výsledky	25
5.1	Výnos biomasy	25
5.2	Obsah kadmia a dalších vybraných prvků v nadzemní biomase	26
5.3	Aminokyseliny	32
6	Diskuze	37

7 Závěr	42
8 Seznam literatury.....	43

1 Úvod

Na naší Zemi se vyskytuje celá řada toxických látek, které znečišťují životní prostředí a mají negativní vliv na živé organismy. Významnou složku těchto nebezpečných látek pro životní prostředí představuje skupina rizikových prvků, mezi něž řadíme například olovo, rtuť, arsen a také kadmium. Kadmium se nachází ve všech složkách životního prostředí. Řadí se mezi jeden z nejrizikovějších prvků, který se dostává do životního prostředí zejména díky antropogenní činnosti.

V dnešní době je kontaminace půd rizikovými prvky velmi závažným problémem po celém světě, Českou republiku nevyjímaje. S tím je spojeno i potenciální nebezpečí pro lidské zdraví a životní prostředí. Půda poskytuje rostlinám potřebné živiny a vodu, rostliny přijímají a kumulují největší podíl kadmia pomocí kořenů a tím se kadmium dostává do potravního řetězce až k člověku.

Následky kontaminace životního prostředí jsou povětšinou nepřímého rázu a mohou se projevit až za několik let nebo daleko od místa původu.

Kadmium je do životního prostředí uvolňováno především vlivem antropogenních zdrojů, jako je těžba, spalování fosilních paliv a odpadů, metalurgie a použití fosfátových hnojiv. Mezi přirozené zdroje patří například sopečné výbuchy a výbuchy podmořských sopek. Kadmium je kov chemicky příbuzný zinku a jeho přirozený výskyt je spojen právě se zinkem a olovem, v rudách jako sulfid těchto kovů.

Kadmium působí nepříznivě na metabolismus rostliny, kdy při vysokých koncentracích v rostlině může docházet k hnědnutí kořenových vlásků, případně špiček kořenů rostlin, červenohnědé zbarvení žilnatiny listů a především redukce listů. V extrémních případech se může vyskytnout usychání a opad listů.

V současné době se s ohledem na zhoršující se stav životního prostředí využívá tzv. fytoremediace. Jedná se o použití zelených rostlin k odstranění znečišťujících látek ze životního prostředí nebo učinění těchto látek neškodnými. Využívá se hyperakumulátorů rostlin, které akumulují těžké kovy z půdy prostřednictvím kořenů. Fytoremediace patří mezi zajímavou alternativu v současných čistících metodách, protože není energeticky náročná, drahá, nenarušuje ráz krajiny, je velmi efektivní a ekologicky udržitelná.

2 Cíl práce a vědecká hypotéza

Cílem práce je vyhodnocení změn metabolismu dusíku, ke kterým dochází v rostlině rostoucí na půdě kontaminované kadmíem. Současně budou hodnoceny obsahy vybraných makro- a mikroprvků ovlivňující příjem a využití N rostlinou.

Hypotéza:

Rostoucí obsah Cd v rostlině omezí příjem některých mikroprvků (Cu, Zn apod.) nezbytných pro přeměnu N v rostlině. Důsledkem budou změny obsahu aminokyselin v biomase rostliny.

3 Literární rešerše

3.1 Rizikové prvky

Rizikové prvky je označována skupina prvků, které mohou být potenciálně nebezpečné. Sloučeniny těchto prvků mohou být buď toxické, nebo vyvolávají zhoubné bujení (jsou karcinogenní), nebo mohou jinak ohrožovat zdraví člověka (Beneš, 1994).

Dle vyhlášky Ministerstva životního prostředí (MŽP) č. 13/94 Sb. se při hodnocení kontaminace půd za rizikové prvky považují tyto kovy: arsen (As), beryllium (Be), kadmium (Cd), kobalt (Co), chrom (Cr), měď (Cu), fluor (F), rtuť (Hg), molybden (Mo), nikl (Ni), olovo (Pb), vanad (V) a zinek (Zn).

Rizikové prvky se vyskytují přirozeně v půdách v důsledku jejich uvolňování zvětráváním matečních hornin (Adriano, 2001). V nízkých koncentracích jsou tyto prvky přirozenou součástí zemské kůry. V přírodě se mohou nacházet jako ryzí substance, či ve formě solí, a to v různých skupenstvích – kapaliny, tuhé látky, plyny a aerosoly (Soudek et al., 2008).

V půdách se mohou nacházet v různých formách, které odlišujeme svou pohyblivostí a přístupností pro rostliny. Nejvíce nebezpečné jsou formy, které jsou v půdě nejvíce mobilní a přijatelné (Lombi et al., 2000).

Za obzvlášť zdraví škodlivé se považuje kadmium, rtuť, chrom a olovo. Další prvky, jako je molybden, měď nebo zinek, se řadí mezi esenciální, ve vysokých koncentracích se však mohou projevit toxicky (Kňákal, 1994). Jejich toxicita spočívá všeobecně v záměně esenciálních kovů v enzymech, tím dochází k inhibici jejich funkce (Makovníková et al., 2006).

Zařazení prvků mezi toxické má pouze omezenou platnost, jelikož z hlediska vztahu dávka – účinek a délky expozice lze za toxické považovat všechny prvky, pokud jsou přijímány po dostatečně dlouhou dobu a v dostatečně vysoké dávce. V životním prostředí, ale také ve vnitřním prostředí organismu prvky neustále interagují navzájem i s organickými látkami (Cibulka, 1991).

V některých regionech, kde se nachází například průmyslové oblasti, se rizikové prvky vyskytují v mnohem vyšších koncentracích, což způsobuje potenciální zdravotní rizika. (Volesky et Holan, 1995).

Za důležitou skupinu rizikových prvků se považují těžké kovy. Tímto termínem obvykle definujeme prvky, které mají specifickou hmotnost větší než 5 g.cm^{-3} . Vymezuje tak

kovy i polokovy, které jsou spojeny se znečišťováním životního prostředí a s toxicitou (Adriano, 2001; Alloway, 1995).

Těžké kovy se řadí mezi významné environmentální kontaminanty, které mají vysokou toxicitu, jsou snadno akumulovány organismy a jejich přítomnost v potravním řetězci ohrožuje i lidské zdraví. Existuje mnoho různých zdrojů těžkých kovů v životním prostředí. Patří sem například přírodní zdroje, průmysl, zemědělství, odpadní vody a atmosférické zdroje (Nagayjoti et al., 2010).

Hojné množství těžkých kovů, které jsou přítomny v prostředí, se ukládá v půdě, především v povrchové vrstvě humózního horizontu. Akumulace těžkých kovů v půdě však není trvalá, ale závisí na vlastnostech půdy, zejména na pH půdy, množství půdní organické hmoty a také zastoupení jílovité frakce (Kabata – Pendias et Pendias, 2001).

Nebezpečí anorganických kontaminantů se zakládá na jejich biologické dostupnosti a potřebě pro organismy (Adriano et al., 2004). Stopové prvky, jako je Cd, Ni, Pb, Hg, Cr a As, mají toxické účinky a jsou proto považovány za kontaminanty (Wang et Sun, 2003).

Existují však prvky, mezi které patří například Cu, Mn, Fe, Zn, Mo a B, které jsou nezbytné pro růst rostlin. Kromě boru jsou všechny tyto prvky zároveň i těžkými kovy a ve vysokých koncentracích jsou tak pro rostliny naopak toxické (Kabata - Pendias et Mukherjee, 2007; He et al., 2005).

Na konci roku 2003 vešel v České republice v platnost Protokol o těžkých kovech, jehož cílem je snížit emise těžkých kovů způsobených lidskou činností. Emise se dálkovým přenosem dostávají do ovzduší a mohou tak výrazně poškozovat lidské zdraví a životní prostředí. Protokol sleduje především snížení celkových ročních emisí u vybraných těžkých kovů (kadmia, rtuť a olovo) a stanovuje pravidla pro jejich redukci (MŽP).

3.1.1 Zdroje rizikových prvků

Rizikové prvky se ukládají do životního prostředí z mnoha různých zdrojů. Mohou tak být výsledkem aktivity přirozených cest, například sopečné činnosti, atmosférické depozice a zvětrávání minerálů. Zvýšené koncentrace jsou pak výsledkem antropogenní činnosti člověka (Stiborová et al., 2004).

Mezi nejvýznamnější zdroje patří různá odvětví průmyslu a zemědělství, ať již jako zdroje lokální či bodové. Hlavními zdroji kontaminace ekosystémů je spalování fosilních paliv, výrobní procesy, automobilový průmysl a využívání minerálních hnojiv.

Za další důležitý zdroj se považuje zvětšující se množství produkovaných odpadů, které nadále neúměrně zatěžuje životní prostředí nejen rizikovými prvky, ale i dalšími kontaminanty (Kafka et Punčochářová, 2002).

3.1.2 Hlavní zdroje kontaminace životního prostředí rizikovými prvky

Mezi nejvýznamnější kontaminanty patří procesy zpracování rud, jejich mletí, drcení, či pražení. Do životního prostředí se uvolňují zejména As, Se, Pb, Cd, Ni a Hg. Zdrojem rizikových prvků je také spalování fosilních paliv (Balík et al., 2004).

Mezi hlavní zdroje znečištění kadmíem patří atmosférické depozice a fosforečná hnojiva (Kabata – Pendias et Mukherjee, 2007). Do ovzduší se dostává zejména při těžbě, výrobě a zpracování jako lokální znečištění (Cibulka, 1991).

3.2 Obecné fyzikálně – chemické vlastnosti kadmia

3.2.1 Stručná charakteristika

Kadmium (Cd) je kov chemicky příbuzný zinku. Jeho přirozený výskyt je spojen právě se zinkem a také olovem. Ve formě dvojmocných kationtů se kadmium vyskytuje v celé řadě organických i anorganických sloučenin (Bencko et al., 1995).

V elementární formě se jedná o měkký kov stříbritého lesku. Na rozdíl od zinku nepatří mezi esenciální prvky a působí značně toxicky na organismy. Vzhledem k podobnosti obou těchto prvků může toxické kadmium nahrazovat zinek v biochemických procesech (Kafka et Punčochářová, 2002).

Kadmium se do organismu živočichů dostává trávicí soustavou nebo inhalací spolu s prachovými částicemi. Jako převládající zdroj kontaminace u živočichů se považuje akumulace kadmia v rostlinných pletivech a jejich následné požití. Bioobohacování potravního řetězce kadmiiem je podstatně vyšší než u jiných toxických kovů, a to díky jeho vyšší mobilitě v prostředí, vyšší toxicitě v prostředí a delší době zadržení v organismu (Gil et al., 1995).

Kadmium, shodně jako ostatní těžké kovy na rozdíl od různých organických polutantů, nemůže být degradováno. Představuje proto dlouhodobou hrozbu pro životní prostředí (Cibulka, 1991).

3.2.2 Chemické vlastnosti

Název prvku je odvozován z řečtiny, kde kadmium znamenalo oxid zinku. Kadmium bylo objeveno roku 1817 C. Hermannem a F. Stromeyerem. Má chalkofilní charakter a jedná se o typický rozptýlený prvek, který tvoří vlastní nerosty pouze výjimečně. V zemské kůře patří kadmium k poměrně vzácným prvkům (Beneš et Pabiánová, 1986).

Kadmium má osm stabilních izotopů. Tak jako zinek a rtuť patří kadmium mezi přechodné kovy II. B skupiny periodické tabulky. V přírodě se nenachází v čistém stavu, nejběžněji se vyskytuje jako sloučenina CdS, tvoří hydroxidy a komplexní ionty s kyanidem, různé druhy komplexních organických aminů, sirných komplexů, chloro – komplexů a chelátů. Kadmiové ionty vytvářejí nerozpustné, obvykle hydratované bílé sloučeniny s fosfáty, arseničnany, uhličitany, kyanoželeznatany a oxalátami. Kadmium je se dobře rozpouští v kyselině dusičné a málo rozpustné v kyselině chlorovodíkové a kyselině sírové (Adriano, 2001).

Kadmium často nahrazuje v oxidech železo a mangan. Kadmium z antropogenních zdrojů bývá mnohem dostupnější, než kadmium, které pochází z přirozených zdrojů. V půdním roztoku se nejčastěji vyskytuje jako volný Cd^{2+} iont, může být ale i vázáno (Bradl, 2004).

3.2.3 Interakce kadmia s ostatními prvky

Kadmium interferuje s nezbytnými základními živinami, a tím může narušovat výživu rostlin (Brune et Dietz, 1995).

Příjem kovů rostlinami může být ovlivněn také prostřednictvím vzájemného působení s některými mikroelementy. Množství prací se věnuje výzkumu interakce kadmia a zinku, a to především pro jejich chemickou příbuznost. Výsledky těchto studií prokázaly, že přidáním zinku do živného média se sníží příjem kadmia rostlinami. Vyskytují se však i názory, že mechanismy příjmu kadmia a zinku jsou navzájem nezávislé (Hart et al., 2002).

Při nízkých koncentracích obou prvků můžeme předpokládat, že interakce kadmia a zinku se nezakládá jen na jevu kompetitivní inhibice, kdy kadmium se zinkem zápasí nejen o vazebná místa v půdě, ale také o podobná aktivní centra přenašečů. Ionty obou těchto kovů mají podobnou elektronegativitu, jejich rozdíl však spočívá v iontovém poloměru, což by mohl být jednou z příčin, proč rostliny vykazují selektivitu pro zinek (Abdel – Sabour et al., 1988).

Jestliže koncentrace jednoho prvku překročí kritickou hranici toxicity, převažuje synergismus i přesto, že koncentrace jednoho prvku je netoxická (Sharma et al., 1999).

3.3

3.4 Výskyt kadmia

Kadmium se přirozeně vyskytuje v celé zemské kůře i v dalších složkách životního prostředí, tj. v půdách, vodách, horninách, rostlinách, ale i v potravinách. Riziko ohrožení ekologického řetězce vzniká při jeho zvýšené koncentraci (Baker et al., 1990; Bencko et al., 1995).

3.4.1 Výskyt kadmia v přírodě

Z přirozených zdrojů kadmia patří k nejvýznamnějším sopečné výbuchy a výbuchy podmořských sopek. Emise kadmia do ovzduší, způsobené člověkem, jsou zhruba 8x vyšší, než emise přirozené. Kadmium je součástí několika hornin, které se zvětřováním postupně rozpadají a tímto se stávají součástí půdy. Kadmium se do bažinatých půd a sedimentů dostává díky vlivu přírodních pochodů tím, že rostliny, které na těchto půdách vyrůstají, obsahují vyšší množství kadmia. Mezi další zdroj kadmia patří sladkovodní ryby, které se chovají v rybnících, kde se kadmium přirozeně kumuluje v bahně. Dalším velmi podstatným zdrojem kadmia je také cigaretový dým. Do tabákových listů se kadmium dostává z půdy, na které tabáková rostlina vyrůstala (Horáková, 2003).

3.4.2 Antropogenní (nepřirodní) zdroje

Kontaminace životního prostředí kadmiem je v poslední době vyvolána jeho rostoucím použitím v průmyslu, především ve slévárnách kovů a průmyslu barviv. Kadmium je díky své vlastnosti chránit železo před korozi používáno při výrobě plechů, zejména v automobilovém průmyslu (Trebichavský et al., 1997). Dále se využívá v průmyslu sklářském, fotografickém, keramickém a polygrafickém, mezi další zdroje patří odpadní vody z výroby Ni – Cd baterií a z galvanického pokovování. Kadmium slouží jako stabilizátor některých termoplastů (např. PVC). Během spalování těchto plastových odpadů přechází pak kadmium do atmosféry, kde má významný podíl na její kontaminaci. Ke kontaminaci atmosféry kadmiem dochází také při spalování nafty, fosilních paliv, a topných olejů. Mezi další důležitý antropogenní zdroj znečištění prostředí patří používání pesticidů a fosforečných hnojiv, které obsahující tento prvek (Pitter, 2009).

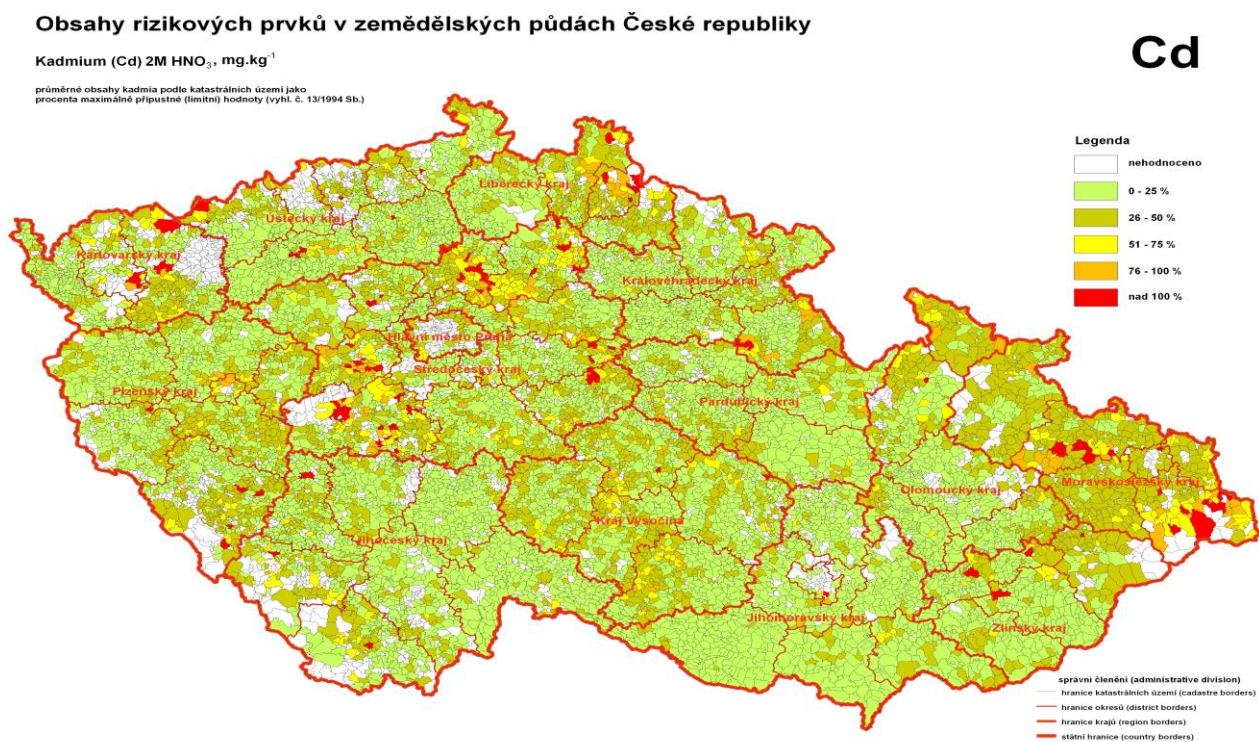
Do organismu se kadmium může dostávat dvojí cestou, v podobě dýchání a v podobě potravy. Některé člověkem běžně využívané přírodniny (fosfáty) a produkované odpady (odpadní kaly) mají vysoký obsah kadmia. Organické sloučeniny kadmia (například methylkadmium aj.) jsou mnohonásobně toxičtější než sloučeniny anorganické (Bencko et al., 1995).

3.4.3 Lokality zvýšeného obsahu kadmia v České republice

V České republice byly nejvyšší obsahy kadmia nalezeny u řek znečištěných starými hornickými pracemi, například na dolním toku Litavky vlévající se do Berounky, v řekách západní části Krušných hor, a v řekách znečištěných odpady z pokovovacích lázní (Lužická Nisa). Pokud se takové znečištění dostane do drobného vodního toku, mohou se koncentrace kadmia v sedimentech až deseti tisíckrát zvýšit oproti přirozeným koncentracím (Veselý, 1994).

Takto výjimečně vysoké znečištění kadmiiem bylo v roce 1986 nalezeno ve Vinořském potoce a přilehlých rybnících na okraji Prahy. Oblast byla znečištěna kadmiiem a dalšími těžkými kovy, které pocházely z galvanovny (Městská část Praha - Vinoř).

Obr. č. 1 – Obsah kadmia v zemědělských půdách v České republice



Zdroj: <http://eagri.cz/public/web/file/288302/cdus13cd.jpg>

3.5 Toxicita kadmia

3.5.1 V živých organismech

Kadmium není esenciálním prvkem pro organismy. Patří mezi velmi nebezpečné jedy, což se dříve velmi podceňováno. Pokud jde o kovy, tak se v řadě podle klesající toxicity nachází na druhém místě hned za rtutí. Setrvává velmi dlouho v těle, jelikož na rozdíl od rtuti netvoří těkavé alkylderiváty biochemickou cestou. Detoxikace je díky tomu velmi pomalá a hrozí také nebezpečí chronických otrav (Pitter, 2009).

Mezi projevy toxického působení na organismus patří poškození reprodukčních orgánů, vysoký krevní tlak, destrukce erytrocytů a také nádorové bujení v plicích. Zmiňovaná je i souvislost se zborcením kostního skeletu (Kafka et Punčochářová, 2002).

Kadmium velmi snadno přijímají rostliny, díky tomu tedy vstupuje do lidského organismu prostřednictvím potravinového řetězce v podobě kontaminovaných potravin či nápojů. Ačkoliv je kadmium rozpustné ve vodě, pouze 1-5 % z vypité (nebo požité) dávky je absorbováno trávicí soustavou, v případě vdechnutí se může absorbovat 10 – 40 % kadmia. Nebezpečí spočívá především ve schopnosti kadmia se akumulovat (Alloway, 1995).

Další způsob intoxikace kadmiiem v lidském organismu je tedy přes dýchací cesty, nejčastěji z průmyslových exhalací, výfukových plynů a tabákového kouře. Vykouření jedné cigarety (obsahující 1 – 2 μg Cd) znamená inhalaci 0,1 – 0,2 μg kadmia (Bencko et al., 1995). Trebichavský et al. (1997) uvádějí, že kadmium přijímané z tabákového kouře může být až 60 x toxičtější než kadmium přijímané z potravy (důsledkem vyšší teploty a synergického působení dalších škodlivin).

V lidském organismu je se vyskytuje průměrně okolo 0,4 mg Cd.kg⁻¹. V těle novorozenců kadmium téměř není, s věkem se postupně kumuluje zejména v ledvinách, ale také v játrech, v srdci, plicích, mozku a v dalších tkáních. Může přispívat i ke vzniku osteoporózy (Alloway, 1995).

V ČR se denní příjem kadmia pohybuje přibližně okolo 0,006 – 0,12 mg. Z toho je 15 – 30 % vstřebáno a 70 až 85 % člověk vyloučí močí a stolicí (Trebichavský et al., 1997).

Onemocnění, které způsobuje kadmium, bylo poprvé popsáno v roce 1969 v Japonsku a bylo nazvané „itai-itai“ („bolí-bolí“). Kadmium je ukládáno v kůře nadledvinek a způsobuje tak jejich dysfunkci. Kromě toho způsobuje pomalý růst kostí a dochází tak k jejich bolestivému zkracování (Pitter, 2009).

Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (International Agency for Research on Cancer – IARC) zařazuje kadmium do II. skupiny karcinogenů, tzn. k těm látkám, u kterých je pravděpodobná karcinogenita pro člověka (Hálová, 2002).

Stejně jako zinek je i kadmium značně toxické pro vodní organismy. Škodlivé působení na zooplankton a ryby bylo pozorováno již při koncentracích řádově v jednotkách až desítkách $\mu\text{g.l}^{-1}$. Podle očekávání nejcitlivěji reagují lososovité ryby. Stejně jako u zinku závisí toxické působení na formách výskytu kadmia ve vodě a přípustná koncentrace pro daný organismus se může proto značně lišit v závislosti na celkovém složení vody. Toxicky působí především jednoduchý ion (Pitter, 2009).

3.5.2 Kadmium ve vodách

Kadmium se nachází hlavně v sedimentech na dnech vodních nádrží. Kontaminace pitné vody je způsobena nejčastěji kadmiiem obsaženým v pozinkovaných nebo pokadmiovaných vodovodních kohoutech a trubkách (Bencko et al., 1995).

V požadavcích na jakost pitné vody pro individuální a hromadné zásobování je kadmium limitováno nejvyšší mezní hodnotou $5 \mu\text{g.l}^{-1}$. Nejvyšší přípustná koncentrace ve stolní a kojenecké vodě je $2,5 \mu\text{g.l}^{-1}$ ($22,24 \text{ nmol.l}^{-1}$). V plněných minerálních vodách se nachází kadmium o koncentracích asi od $0,01 \mu\text{g.l}^{-1}$ do $0,23 \mu\text{g.l}^{-1}$ (Pitter, 2009).

U vodárenských toků je přípustná koncentrace nejvýše $1 \mu\text{g.l}^{-1}$, u ostatních toků $5 \mu\text{g.l}^{-1}$. Ve vodě vhodné pro závlahu je nejvyšší přípustná koncentrace kadmia $10 \mu\text{g.l}^{-1}$ a při koncentraci nad $20 \mu\text{g.l}^{-1}$ lze již považovat vodu pro tyto účely za nevhodnou. Pražský kanalizační řád limituje znečištění vody kadmiiem v jednotné a splaškové kanalizaci hodnotou $20 \mu\text{g.l}^{-1}$ a v dešťové kanalizaci hodnotou $10 \mu\text{g.l}^{-1}$ (Pitter, 2009).

Podstatně vyšších koncentrací kadmium dosahuje podle Eislera (2007) v nekontaminovaných říčních a jezerních sedimentech, kde může dosáhnout až $5\,000 \mu\text{g.l}^{-1}$. V mořských sedimentech je koncentrace kadmia $30 - 1\,000 \mu\text{g.l}^{-1}$.

3.5.3 Kadmium v půdách

Kadmium se vyskytuje v půdách ve formě: vodorozpustné, organicky vázané, okludované s oxidy Fe a Mn, výměnné, ve formě definovaných sloučenin (fosforečnany, karbonáty, sulfidy) a vázané ve struktuře silikátů (tzv. reziduální frakce) (Cibulka, 1991).

Kadmium se přirozeně vyskytuje spolu se zinkem a olovem v rudách, které obsahují sulfidy těchto kovů. Množství kadmia v těchto rudách se pohybuje v rozmezí od 0,1 do 5 % (Baker et al., 1990; Bencko et al., 1995).

Průměrný obsah kadmia v nekontaminovaných půdách se pohybuje mezi 0,06 – 1,0 mg.kg⁻¹. Množství, které je vyšší než 1 mg Cd.kg⁻¹ půdy, se již označuje jako rizikový (Kabata – Pendias et Pendias, 2001). Cibulka (1991) uvádí, že koncentrace kadmia v půdách kolísá v rozmezí 0,01 – 15 mg.kg⁻¹, oproti tomu Alloway (1990) uvádí, že kadmium je přítomno v půdách v koncentracích, které jsou menší než 1 mg.kg⁻¹. Jako průměrnou koncentraci kadmia v půdě označuje Cibulka (1991) hodnotu 0,6 mg.kg⁻¹. K tomu se přiklání i Eisler (2007). Obsah kadmia v půdách se v ČR pohybuje v rozmezí 0,01 – 15 mg.kg⁻¹ (Beneš et Pabianová, 1986).

Přirozený obsah kadmia je velkou měrou závislý na mateční hornině, intenzitě zvětrávání a následném transportu. Nejvíce kadmia se vyskytuje v sedimentárních horninách vzniklých za redukčních podmínek. Obsah kadmia v půdách se pak dále odráží i v rostlinách na nich rostoucích (Cibulka, 1991).

Kadmium migruje velmi snadno půdním profilem, v porovnání s jinými kovy (Borůvka et al., 2005). Kadmium se považuje za nejpohyblivější z těžkých kovů bez ohledu na typ a druh půdy (Kabata – Pendias et Pendias, 2001). Přesto se nejvíce kadmium hromadí ve svrchních horizontech půdy v důsledku atmosférické depozice, působení vegetace a aplikace hnojiv (Alloway, 1990). Kadmium je poměrně rozpustné a spolu se zinkem, v porovnání s mědí a olovem, je slabě poutáno na povrchu půdních částic (Borůvka et al., 2005).

Vyšší koncentraci kadmia v zemědělských půdách způsobují městské průmyslové aerosoly vzniklé metalurgickými závody a ostatním průmyslem, spalováním paliv, průmyslové a zemědělské chemikálie, tekuté a pevné odpady zvířat a lidí, odpady po těžbě a některá minerální fosforečná hnojiva. Fosforečná hnojiva prezentují v průměru 3 – 4 g Cd na hektar za rok vnášené dávky do půd evropských zemí (Cibulka, 1991).

Adriano (2001) dále uvádí, že koncentrace prvků v půdním roztoku má rozhodující vliv pro jejich příjem rostlinami. Jejich uvolňování do půdního roztoku může být ovlivněno celkovým obsahem prvků v půdě, jejich formami, ale i dalšími faktory, jako jsou půdní reakce a půdní druh, obsah organické hmoty, kationtová výměnná kapacita (KVK), redoxní potenciál půdy a také působení ostatních iontů.

V půdách se příjem kadmia rostlinami snižuje vápněním, tedy zvyšováním pH půdy. Vysoké koncentrace kadmia v půdě nevratně a nepříznivě ovlivňují schopnost půdních

mikroorganismů rozložit organickou hmotu a organické polutanty. Tato inhibice má za následek zúžení spektra bakterií a částečně tedy vyhubení populací bakterií.

Na chování kadmia v půdách má výrazný vliv jeho adsorpce. Kadmium má celkem odlišnou sorpci za nízkých koncentrací a s malou mobilitou. Na chování kadmia v půdě má taktéž vliv i přítomnost dalších prvků v půdním roztoku. Přidáním olova k roztoku kadmia se výrazně sníží rozsah adsorpce kadmia. Vyšší koncentrace tzv. konkurenčních iontů mohou vést ke snížení adsorpce ostatních sledovaných rizikových prvků, a také adsorpce kadmia je tímto způsobem snadno ovlivnitelná. Následkem je zvýšení mobility kadmia v půdě, a tím i jeho snadnější přijatelnost rostlinami (Cibulka, 1991).

V silně oxidačních podmínkách může kadmium tvořit minerály (CdO , CdCO_3) a rovněž se hromadit ve fosfátech a biogenních usazeninách. Kabata – Pendias et Pendias (2001) se domnívají, že při zvětrávání hornin přechází kadmium snadno do roztoku a vyskytuje se tak jako kation Cd^{2+} . V půdním roztoku se vyskytuje v oxidačních podmínkách u kyselých půd ve formě CdCl , Cd_2 , CdHCO_3 , CdSO_4 , u alkalických jako CdCl , Cd_2 a CdSO_4 (Alloway, 1990).

Převládající forma kadmia v půdním roztoku může rozhodovat o jeho mobilitě a dostupnosti pro rostliny. Množství dostupného kadmia v půdě tak závisí na vlastnostech konkrétní zeminy. Ve výměnné frakci, která se váže na oxidy, a reziduální frakci, se nachází zpravidla nejvyšší koncentrace kadmia (Szaková et al., 1999; Adriano, 2001).

Koncentrace kadmia se v půdním roztoku se podle jednotlivých autorů liší. Kabata – Pendias et Pendias (2001) uvádějí, že běžné půdy obsahují kadmium v koncentraci 0,2 – 6 $\mu\text{g Cd.l}^{-1}$. V kontaminovaných půdách byly však zjištěny i hodnoty 300 – 400 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Maximální koncentrace kadmia, při které nebyl pozorován žádný toxický efekt, je udáván zhruba 6 mg.kg^{-1} půdy (Cibulka, 1991). Podle Adriana (2001) se koncentrace kadmia může pohybovat v rozmezí 0,1 – 38 $\mu\text{g Cd.l}^{-1}$. Rozpustnost kadmia velmi silně závisí na pH roztoku. Při koncentraci 2 248 $\mu\text{g Cd.l}^{-1}$ se již projeví toxicita kadmia. Pokud půdní roztok obsahuje více než 3 924 $\mu\text{g.l}^{-1}$, jsou jedinými rostlinami, které dokáží na takto kontaminované půdě přežít, hyperakumulátory kadmia (např. *Thlaspi caerulescens* J. et C. Presl).

3.5.4 Kadmium v rostlinách

Nejvyšší obsah kadmia je zpravidla v pletivech kořenů, dále pak ve stoncích, listech, plodech a zásobních orgánech a nejnižší obsah se vyskytuje v semenech. Většina zdrojů poukazuje na 60 – 88 % retenci kadmia v kořenech rostlin. Vysoká retence v kořenech je

vysoce žádoucí u obilnin, píceň, a nekořenových zelenin kvůli omezení vstupu kadmia do potravního řetězce. U některých druhů rostlin se však uvádějí nejvyšší obsahy kadmia v listech – např. u tabáku, což je z hygienického a komerčního hlediska obzvlášť nežádoucí jev (Cibulka, 1991).

V rostlinách je kadmium vcelku mobilní, ale jeho přemístění v rostlinných pletivech může být omezené, vzhledem k poutání kadmia hlavně záměnou místa aktivních sloučenin, které jsou lokalizovány v buněčných stěnách (Kabata – Pendias et Pendias, 2001).

V nízkých koncentracích je kadmium obvyklou součástí všech rostlinných pletiv. Obsah kadmia v biomase rostlin v rozmezí 0,005 – 0,02 mg.kg⁻¹ sušiny se většinou považuje za přirozený. Množství, které může na rostlinu působit již toxicky, je dle Mulligana et al. (2001) koncentrace 5 – 20 ppm kadmia.

Obsah kadmia v pletivech rostliny je přímo závislé na koncentraci kadmia, které je dostupné z živného prostředí, a také na délce expozice (Beneš, 1993). Prokázalo se, že k výraznému nárůstu obsahu kadmia v jedlých podílech některých zelenin dochází již při koncentracích 0,1 µg Cd.ml⁻¹ živného roztoku. K poklesu výnosu může u některých plodin dojít už při obsahu 7 µg.g⁻¹ Cd v listech (Cibulka, 1991).

Bencko et al. (1995) uvádějí, že většina rostlin je však vůči kadmii velmi tolerantní (např. brambory, paprika a rajčata), a nevadí jim ani koncentrace nad 15 mg.kg⁻¹ v půdě. Citlivější rostliny mohou reagovat negativně na koncentraci již 4 – 13 mg.kg⁻¹ kadmia v půdě. Mezi tyto citlivé rostliny řadíme například tabák, sóju a tabák. Listová a kořenová zelenina kumuluje nejvíce kadmia. Vysoké koncentrace kadmia mají negativní dopad na citlivé rostliny, projevuje se u nich poškozením membránových systémů, sníženou fotosyntetickou aktivitou při zvýšení respiračních procesů, chlorózou a nekrózou listů a také celkovým poklesem biomasy s možným snížením výnosů o 5 až 22 % (Beneš, 1994).

Za jednu z příčin toxického působení kadmia může patřit uzavření průduchů nebo vzrůstající odpor průduchů listového mezofylu při příjmu CO₂. Pokusy s izolovanými chloroplasty ukázaly, že kadmium může přímo ovlivňovat fotosyntetickou reakci, zejména v důsledku inhibice aktivit fotosystémů, změn v obsahu a složení fotosyntetických pigmentů a inhibice fosforylace a rozpojování elektronového transportního toku (Cibulka, 1991).

Cibulka (1991) dále uvádí, že krycí pletiva rostlin, které jsou kontaminovány kadmii, se vyznačují především vyšším výskytem trichomů na jednotku listové plochy, trvalým uzavřením svěracích buněk průduchů a redukcí intercelulárních prostorů. Kadmium může vyvolat i změny v mitochondriích, například vchlipování vnitřní membrány a vytváření nefunkčních fosfolipidových struktur. Vlivem tohoto těžkého kovu může také docházet

k inhibici dělení buněk, a to jak v v kulturách *in vitro*, tak v meristematických pletivech (např. kořenové špičky), tak.

3.5.4.1 Příjem kadmia v rostlinách

Kabata - Pendias et Pendias (2001) uvádějí, že za normálních podmínek přijme rostlina z půdy pouze menší množství kadmia. Na půdách s vyšší koncentrací kadmia se však tento příjem naopak zvyšuje. Většinou lze najít lineární vztah mezi obsahem kadmia v rostlině a jeho obsahem v půdě. Podle Adriana (2001) mají na celkový příjem kadmia rostlinou také vliv druh rostliny a její genotyp, a také množství kadmia v půdě.

Soudek et al. (2008) uvádějí, že akumulace kadmia není ještě kompletně objasněna. Předpokládá se, že je zde možnost příjmu kovu kořenovým systémem spolu s transportem jiného prvku, a to především esenciálního zinku. Protože je zinek chemickým analogem kadmia, rostlina nedokáže rozlišit mezi těmito ionty. Podle Benavides et al. (2005) kadmium vstupuje do rostliny kořeny, kde zůstává také nejvíce kumulováno. V komplexu s ligandy např. phytochelatinů nebo organických kyselin se pak v menším množství transportuje do nadzemních částí rostliny.

Absorpce kořeny patří mezi hlavní cestu při vstupu těžkých kovů do rostlinného organismu, ale také další rostlinná pletiva mohou hrát při příjmu těžkých kovů významnou roli. Bradl (2004) usuzuje, že absorpci můžou mimo zinku ovlivnit také dvojmocné ionty vápníku. Tak jako u ostatních rizikových prvků, absorpce kadmia je ovlivněna celou řadou faktorů, mezi které patří například půdní minerály, pH, tvorba komplexů, oxidační stupeň kadmia a redoxní potenciál. Na příjmu těžkých kovů do rostliny se kromě rozdílů mezi rostlinnými druhy podílí také vodní režim, půdní faktory, obsah jílových minerálů, rovnováha živin, množství organické hmoty, klimatické podmínky, a také koncentrace jiných stopových prvků. Zejména vyšší okolní teplota může způsobovat zvýšení příjmu těžkých kovů. Schopnost rostlin přijímat prvky z okolí může být vyjádřena jako poměr koncentrace prvků v rostlině a koncentrace prvků v půdě (či jiném médiu). Nazývá se biologický absorpční koeficient nebo také transfer faktor (Kabata - Pendias et Pendias, 2001).

Při kontaktu rostliny s kadmii se uplatňuje imobilizace pomocí buněčné stěny kořene, vliv mykorhizy a tvorba slizových výměšků. Dále může probíhat chelatační proces, kdy je kov navázán na ligand a vzniká tak komplex ligand – kov. Kadmium se následně transportuje do vakuol (Benavides et al., 2005).

Do xylému se část kovu dostane přes kořenový symplast. Vyskytuje se jako chelát nebo ve formě komplexů kov – chelát. Po dosažení apoplastu listových buněk se kov dále ukládá ve vakuolách (Soudek et al., 2008). Rostliny se s vysokým obsahem kadmia vyrovnávají sníženým transportem přes buněčnou membránu, vazbou kovu na buněčnou stěnu, aktivním odtokem nebo chelatací (Prasad, 1995). Dle Fuksové et al. (2007) jsou příjem rizikových prvků rostlinami, jejich transport a tolerance, na sobě nezávislé charakteristiky, které jsou řízené různými genetickými faktory.

I když je kadmium přijímáno převážně kořeny, existuje také možnost příjmu z atmosféry prostřednictvím znečištěných listů. Pohyb ke kořenům se děje difúzí a hromadným půdním tokem. K chelataci kovu organickými kyselinami vylučovanými rostlinou dochází v bezprostřední blízkosti kořenů, urychluje se tak příjem prvku a zvyšuje se difúzní gradient (Cibulka, 1991).

Zrůst (2002) rovněž zmiňuje mimokořenový příjem kadmia rostlinami, který do značné míry závisí na druhu rostliny a je patrný především v okolí frekventovaných komunikací. Kabata – Pendias et Pendias (2001) ale uvádějí, že pokud prvky ulpívají na povrchu rostlin, stačí ke snížení jejich koncentrace omytí.

Podle Wagnera (1993) má kadmium ve srovnání s jinými toxickými kovy nebo metaloidy (např. arsenem) vyšší sklon hromadit se v jiných tkáních, než jsou kořeny. Přesto je však obvykle více kadmia obsaženo v kořenech než v listech a nejnižší obsah kadmia lze nalézt u plodů a semen. Adriano (2001) uvádí, že u pokusů na obilninách se více kadmia v nadzemní biomase hromadilo v listech a ve stoncích, než v dalších částech jako jsou např. zrna, slupky, klasy nebo vlákna. Zároveň poukazuje na omezení pohyblivosti a koncentrace kadmia v listech rostliny související s postavením listu na stonku a jeho stářím. Na základě experimentu s rostlinami tabáku byla zjištěna nižší koncentrace kadmia u výše položených listů. To potvrzuje i Beneš (1994), který uvádí, že nejvíce kadmia akumuluje listová zelenina, hlavně salát a špenát, a to až desítky $\text{mg Cd}\cdot\text{kg}^{-1}$. Tendence rostlin tabáku přemísťovat efektivně kadmium do listů, jak uvádějí Lugan – Moulin et al. (2004), přispívá ke skutečnosti, že tabákový kouř je podstatným zdrojem vstupu kadmia do organismu kuřáků.

Příjem iontů kadmia se uskutečňuje v kompetici s některými transmembránovými přenašeči prvků jako je vápník, draslík, železo, hořčík, mangan, měď, nikl nebo zinek (Sanita di Toppi et Gabrielli, 1999; Basic et al., 2006). Kadmium může rostlina přijímat převážně jako kationt Cd^{2+} a $(\text{CdOH})^+$, a to buď z půdy, nebo z atmosféry (Zrůst, 2002).

Příjem kadmia a jiných kovů rostlinou může být ovlivněno také mykorrhizou. Ektomykorrhizní symbióza může hrát rozhodující roli v ochraně kořenů rostlin před vlivem

toxických kovů. Byla zjištěna velká specifika vůči jednotlivým kovům a také velká druhová specifika (Hall, 2002).

Mechanismus využívaný houbami na buněčné úrovni k toleranci vůči kovům, se pravděpodobně podobá mechanismům, které jsou používány u vyšších rostlin. Jedná se zejména o zabudování kovů do extracelulárních sloučenin nebo vakuolární kompartmentaci. Rozdíly v mechanismech exkluze u jednotlivých druhů hub jsou pravděpodobně dány podstatnými rozdíly mezi specifickými interakcemi rostlina/houba. Mecháč písečný (*Pisolithus tinctorius*), který toleruje zinek a měď, akumuluje tyto kovy v extrahyfovém slizu, přičemž čechratka podvinutá (*Paxillus involutus*) akumuluje kadmium v buněčných stěnách a ve vakuole (Hall, 2002).

3.5.4.2 Stres rostliny

Po dobu svého života mohou být rostliny vystavovány různým nežádoucím vlivům, které negativně ovlivňují jejich životní funkce a mohou tak vést dokonce až k jejich úhynu. Tyto nežádoucí vlivy označujeme jako stresory, nebo také stresové faktory (DalCorso et al., 2008).

Působením stresových faktorů lze u rostlin vyvolat stres, který je obecně definován jako stav živého organismu, který je vystaven nepříznivým životním podmínkám (stresovým faktorům) a jeho následné obranné reakci, která má za cíl zachování homeostázy a zabránění poškození nebo smrti organismu (Gloser, 1998).

Rostlina, která je vystavená stresoru, spouští na obranu velké spektrum obranných mechanismů, které zahrnují fyzikální i chemické bariéry (například produkce proteinů nebo zesilování buněčné stěny). Tyto obranné mechanismy mohou mít trvalý důsledek v podobě určité evoluční změny rostliny, která má geneticky dané předpoklady pro odpověď na působení stresového faktoru, například tlustá kutikula na listech a výrazná impregnace buněčných stěn. Mezi další důsledek patří spuštění obranných reakcí, kdy se jedná o tzv. aktivní odolnost, která omezuje negativní dopad stresorů až po jejich proniknutí k plazmatické membráně buněk a do symplastu. V takovém případě dochází ke spuštění řetězce reakcí, který se označuje jako stresová reakce (Gloser, 1998).

Na samotném začátku působení stresového faktoru dochází k narušení buněčných struktur a funkcí (poplachová fáze). Pokud intenzita působení stresoru není letální, dojde k imobilizaci kompenzačních mechanismů (restituční fáze), které směřují ke zvýšení odolnosti rostliny (fáze rezistence). Ke zvýšení odolnosti a opětovnému ustavení homeostázy

dojde obvykle jen za cenu dodatečných energetických nákladů, zejména na syntézu specifických enzymů a metabolitů. Také některé další změny v metabolismu zajišťující vysokou odolnost mohou být často doprovázeny snížením rychlosti při získávání nových zdrojů hmoty a energie, a tedy snížením rychlosti tvorby biomasy. Při dlouhodobém a intenzivním působení stresového faktoru může být vystřídáno dalším poklesem (fáze vyčerpání) (Tlustoš et al., 2006).

Rostliny nemusejí být vystaveny působení pouze jednoho stresového faktoru, je totiž poměrně častá situace, kdy dojde k působení několika různých stresových faktorů najednou. Může se jednat např. o nedostatek vody způsobený vysokými teplotami. Charakter reakce se tedy může změnit a výsledkem se stane jiné působení stresorů na rostlinu, než při samostatném napadení. Stresory se mohou také soustředit pouze na jednu určitou část rostliny. Zde dochází ke stresové reakci, která je schopna způsobit stres i v dalších částech rostliny (Gloser, 1998).

Průběh stresové reakce a její konečný výsledek se odvíjí od intenzity a délky působení stresového faktoru na danou rostlinu, i na geneticky vázaných předpokladech odpovědi, souhrnně nazývaných jako adaptační schopnosti. Přejídné zvýšení odolnosti získané pod vlivem stresoru – aklimace, může být založeno jak na změnách rychle pomíjivých (tvorba specifických metabolitů), tak i na změnách trvalejších (změny v tvorbě nových orgánů a v jejich vnitřní struktuře) (Gloser, 1998).

Rostliny se během vývoje vybavily větším množstvím obranných drah, během kterých mohou vzniknout a zpětně se regenerovat sloučeniny, které rostlinám umožňují aktivně ovlivňovat nejen stresové faktory, ale také následky, které vzniknou jejich působením. Souhrnně je nazýváme stresové markery (Gloser, 1998).

3.5.4.3 Aminokyseliny

Aminokyseliny patří mezi základní stavební jednotky bílkovin a peptidů. Využívají se v energetickém metabolismu a mnoho z nich se stalo nezbytnou složkou potravy. Mimo tvorby proteinů mají aminokyseliny a jejich deriváty mnoho biologicky důležitých funkcí, např. působí jako chemičtí poslové v komunikaci mezi buňkami (Voet et Voetová, 1995). Analýza velkého počtu bílkovin ukázala, že se všechny proteiny skládají z 20 základních aminokyselin. Nejrozšířenějším způsobem, jak tyto základní aminokyseliny roztrdit, je rozdělení podle polaritý jejich postranních řetězců (R – skupin). Rozlišujeme tři hlavní skupiny aminokyselin:

- s nepolárními R – skupinami (glycin, alanin, valin, leucin, isoleucin, methionin, prolin, fenylalanin, tryptofan),
- s nenabitými polárními R – skupinami (serin, threonin, asparagin, glutamin, tyrosin, cystein)
- s polárními nabitými R – skupinami (lisin, arginin, histidin, kyselina asparagová, kyselina glutamová).

Syntéza mnoha aminokyselin může probíhat pouze v mikroorganismech a rostlinách. Tyto aminokyseliny se nazývají esenciální. Další aminokyseliny, které mohou savci syntetizovat, jsou nazývány neesenciální (Voet et Voetová, 1995).

Aminokyseliny hrají podstatnou roli při rezistenci rostlin vzhledem k abiotickým stresovým faktorům. Mezi jeden z těchto faktorů patří i působení 21 rizikových prvků přítomných v rostlině. Aminokyseliny napomáhají rostlinám být odolné vůči stresu, který jim rizikové prvky způsobují. Ke změnám zastoupení aminokyselin nacházejících se v rostlině dochází působením chronického stresu rizikovými prvky (Pavlík et al., 2010).

Sharma et Dietz (2006) uvádějí, že během podmínek zvýšené koncentrace kadmia, mědi, niklu a zinku dochází ke hromadění řady dusíkatých látek. Jedná se tak o odpověď na zvýšenou koncentraci kovu v prostředí. Dle Hasana et al. (2009) však již relativně velmi nízké koncentrace kadmia dokáží měnit metabolismus rostliny. Aminokyseliny mají stěžejní význam při interakci mezi N a C metabolismem za podmínek, kdy rostlina není ovlivněna přítomností žádného stresoru. V průběhu této interakce jsou aminokyseliny metabolity obsahujícími N a umožňují využití C pro růst rostlin (Fritz et al., 2006).

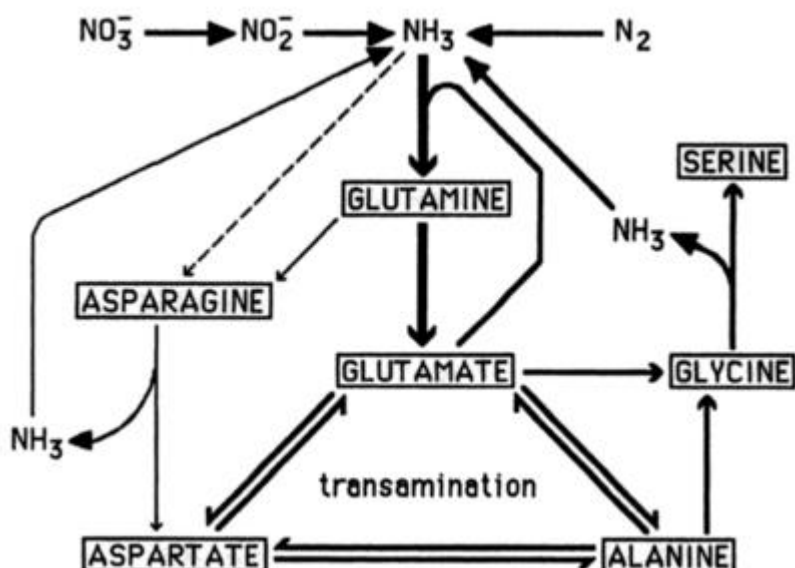
3.5.4.4 Metabolismus dusíku

Metabolismus dusíku je nejen jedním ze základních procesů fyziologie rostlin, ale také jedním z důležitých částí komplexního chemického cyklu. Asimilace dusíku rostlinami se přímo účastní syntézy a přeměny aminokyselin prostřednictvím redukce dusičnanů. Této fáze se účastní některé klíčové enzymy, například dusičnan reduktázy, glutamin syntetázy, glutamát dehydrogenázy, glutamát - pyruvát transaminázy a glutamin syntetázy (Buchanan et al., 2002).

Wu et al. (1989) zjistili, že na dostupnost kadmia pro rostliny by mohla mít vliv také převládající forma dusíku v půdním roztoku. Bylo ověřeno, že dostupnost kadmia pro rostliny se snižuje přidavkem NO_3^- , zatímco v přítomnosti NH_4^+ se prudce zvyšuje.

Všechny přijímaný dusík je v rostlině začleněn do kyseliny glutamové, která zároveň slouží jako substrát pro většinu aminotransferáz. Dvě nejvíce se vyskytující a nejdůležitější aminotransferázy nacházející se v rostlinných pletivech jsou: aspartát aminotransferáza a glutamát aminotransferáza. Mezi těmito aminotransferázami dochází k redistribuci dusíku. Hlavními aminokyselinami podílejícími se na této redistribuci jsou glutamát, aspartát, a alanin (Obr. č. 3), které následně poskytují dusík a uhlík pro syntézu ostatních aminokyselin (Singh et al., 1999).

Obr. č. 3 – Schéma primárních cest asimilace N v syntéze aminokyselin



Zdroj: Singh et al. (1999)

3.5.4.5 Fytotoxicita

Mezi projevy toxicity kadmia patří inhibice protažení kořenové špičky a narušení vodní rovnováhy. Kadmium také inhibuje fotosyntézu blokováním různých kroků v Calvinově cyklu. Dalšími toxickými projevy jsou inhibice enzymů, růstová retardace, odliv kationů, tvorba volných radikálů a poškození funkce průduchů (Prasad, 1995).

Mezi další účinky toxicity kadmia lze zařadit snížení příjmu dusičnanů a viditelné příznaky poruchy růstu. Kadmium patří mezi jeden z nejtoxičtějších kovů, díky své mobilitě a malé koncentraci (Benavides et al., 2005).

Mezi nejčastěji uváděné symptomy fytotoxicity kadmia patří hnědnutí kořenových vlásků, případně špiček kořenů rostlin, chlorózy listů, červenohnědé zbarvení listové žilnatiny a výskyt fialovohnědých skvrn na listech. V extrémních případech dochází k usychání a opadu listů (Cibulka, 1991).

4 Materiál a metody

4.1 Vegetační pokus

Pro pozorování vlivu kadmia na metabolismus rostlin byl založen nádobový pokus, který byl prakticky proveden ve vegetační hale katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin FAPPZ ČZU v Praze 6, Suchdole.

Byly použity rostliny špenátu (*Spinacia oleracea* L. odrůda Matador). Pro nádobový pokus byla použita zemina černoze modální z lokality Suchdol. V tabulce jsou uvedeny základní charakteristiky pokusné zeminy.

Půdní typ/subtyp	pHKCl	Corg. (%)	KVK(mmol(+).kg ⁻¹)	Cd (mg.kg ⁻¹)
Černoze(CE)/modální	7,1 ± 0,3	3,1 ± 0,7	225 ± 19,5	16 ± 1,7

Do plastových nádob bylo odváženo 5 kg homogenizované zeminy. Poté byla půda hnojena dávkou NPK. Do každé nádoby bylo ve formě NH₄NO₃ přidáno 0,5 g dusíku a ve formě K₂HPO₄ bylo přidáno 0,16 g fosforu a 0,4 g draslíku. Nakonec byly nádoby kontaminovány různými koncentracemi Cd(NO₃)₂.4 H₂O. Přídavek kadmia do nádob byl v obsazích 30, 60 a 90 mg Cd.kg⁻¹ půdy (tabulka č. 2).

Varianta	Dávka (mg Cd.kg ⁻¹ půdy)
Kontrola	0
Cd1	30
Cd2	60
Cd3	90

Byly založeny čtyři varianty vždy s pěti opakováními. Nádoby s rostlinami byly umístěny ve skleníku, kde byly pravidelně zalévány demineralizovanou vodou. Špenát byl sklizen za 75 dní od zasetí.

Obr. č. 4 – Rostliny *Spinacia oleracea* po 26ti - dnech růstu (zleva kontrola, Cd1, Cd2, Cd3)



Autor: V. Zemanová

4.2 Stanovení kadmia a dalších vybraných prvků

Rostlinný materiál byl rozložen na suché cestě v mineralizátoru Apion (Tessek, CZ). Usušený rostlinný materiál byl rozložen na suché cestě ve směsi oxidačních plynů ($O_2 + O_3 + NO_2$). Vzniklý popel byl rozpuštěn ve 20 ml 1,5% HNO_3 (v/v) (chemické čistoty, Analytika Ltd., Česká republika) a uchováván ve skleněných zkumavkách až do analýzy (Miholová et al., 1993).

Obsah vybraných prvků byl stanoven metodou optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP - OES, VarianVistaPro, Austrálie).

4.3 Stanovení volných aminokyselin

Pro stanovení obsahu volných aminokyselin byly vzorky zhomogenizovány v kapalném dusíku. Volné aminokyseliny byly extrahovány z čerstvé nadzemní biomasy (~0,5 g) 10 ml roztoku metanolu a redestilované vody (7:3 v/v). Po uplynutí 24 hodin byly vzorky centrifugovány při 9 000 g po dobu 20 min. Derivatizace volných aminokyselin v supernatantu byla provedena sadou EZ:faast firmy Phenomenex (Neuberg et al., 2010).

Obsah volných aminokyselin byl měřen metodou plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem (GC-MS) na přístroji Hewlett-Packard 6890N/5975 MSD (Agilent Technologies, USA) s kolonou Zebron ZB-PAA-MS 10 m x 0,25 mm, která je dodávána se sadou (Pavlík et al., 2010). Pro nástřik bylo použito 1,5 - 2 μ l vzorku s poměrem 1 : 10 a v režimu split. Jako nosný plyn bylo použito helium (He, čistoty 5,0) s konstantním průtokem 1,1 ml/min. Teplotní program pece: počáteční teplota 110 °C, rampa 30 °C min⁻¹ do teploty 320 °C. Teplota inletu byla 280 °C. Podmínky detektoru MS: MS zdroj 240 °C, kvadrupól 180 °C, aux 310 °C, energie elektronů 70eV, skenování m/z v rozmezí 45-450 a frekvence 3.5scans⁻¹.

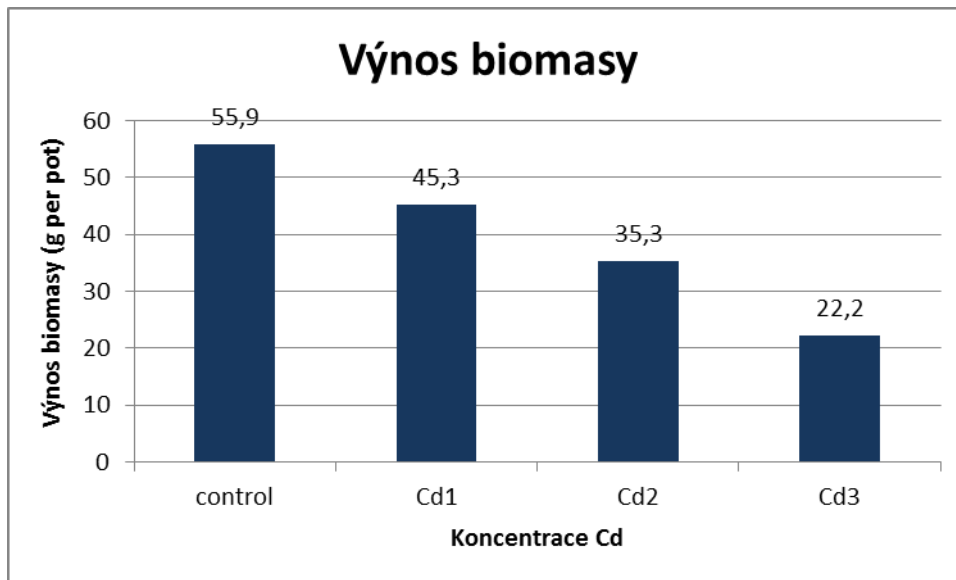
4.4 Zpracování naměřených dat

Naměřená data byla zpracována v programu MS Excel do grafů a tabulek. Také byl v tomto programu spočítán procentní rozdíl variant Cd1, Cd2, Cd3 oproti kontrole. Pro lineární korelaci a výpočet koeficientu determinace bylo taktéž využito programu MS Excel.

5 Výsledky

5.1 Výnos biomasy

Graf č. 1 – Výnos biomasy rostlin *Spinacia oleracea* v závislosti na dávce kadmia v půdě



Z grafu č. 1 je patrné, že nejvyšší výnos nadzemní biomasy rostlin byl v kontrolní dávce a se zvyšující se dávkou kadmia v půdě výnos biomasy klesal. Vyšší dávka kadmia v půdě tedy negativně ovlivňuje nárůst biomasy rostliny *Spinacia oleracea*.

Nejnižší výnos biomasy byl tak u dávky Cd3 (Cd3 = 22,2 g sušiny na nádobu) a nejvyšší obsah biomasy byl naměřen u kontroly (K = 55,9 g sušiny na nádobu).

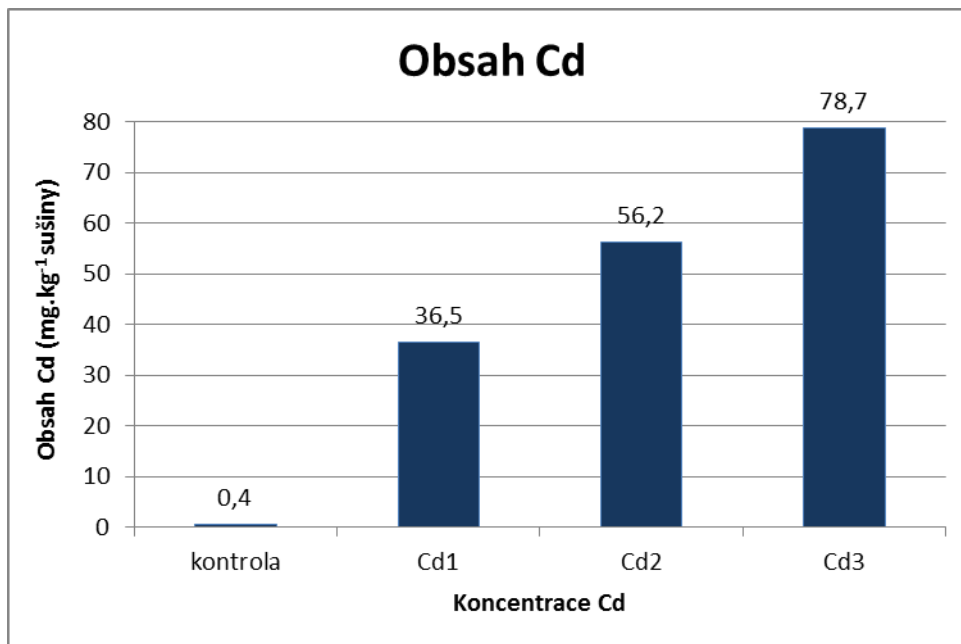
Ve srovnání s kontrolou byl výnos biomasy ve všech dávkách nižší, a to konkrétně v dávce Cd1 o 19 % nižší, v dávce Cd2 o 36,9 % nižší a v dávce Cd3 dokonce o 60,3 % nižší.

Byla zjištěna vysoká nepřímá lineární závislost mezi dávkou kadmia v půdě a výnosem nadzemní biomasy ($R^2 = 0,996$).

5.2 Obsah kadmia a dalších vybraných prvků v nadzemní biomase

V diplomové práci byl sledován obsah kadmia, mědi, železa, manganu, hořčíku a zinku v nadzemní biomase rostlin v závislosti na postupném zvyšování dávek kadmia v půdě. Obsahy prvků byly stanoveny po sklizni špenátu za 75 dní.

Graf č. 2 – Obsah kadmia v biomase rostlin *Spinacia oleracea* v závislosti na dávce kadmia v půdě

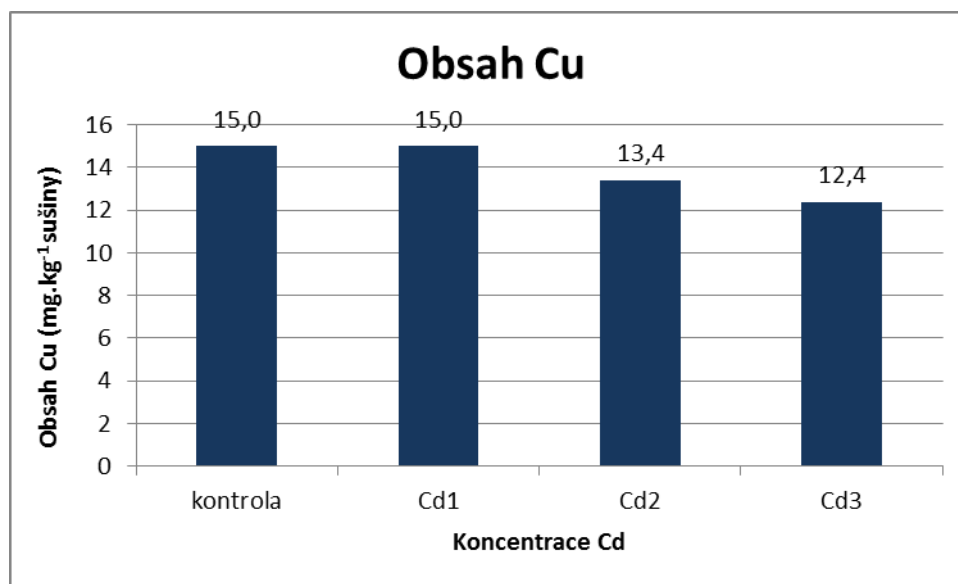


Z grafu č. 2 je viditelné, že se zvyšující dávkou kadmia se zvyšoval i obsah kadmia v nadzemní biomase rostlin *Spinacia oleracea*. Nejnižší obsah kadmia byl naměřen u kontroly ($K = 0,4 \text{ mg Cd.kg}^{-1}$ sušiny), a nejvyšší obsah byl u dávky Cd3 ($Cd3 = 78,7 \text{ mg Cd.kg}^{-1}$ sušiny).

Ve srovnání s kontrolou byl obsah kadmia v nejvyšší koncentraci téměř dvěstěkrát vyšší.

Koncentrace kadmia v nadzemní biomase se lineárně zvyšovala díky zvyšující se dávce kadmia v půdě. Byla tedy zjištěna významná závislost, tedy že dávka kadmia ovlivňuje koncentraci kadmia v nadzemní biomase ($R^2 = 0,981$).

Graf č. 3 – Obsah mědi v biomase rostlin *Spinacia oleracea* v závislosti na dávce kadmia v půdě

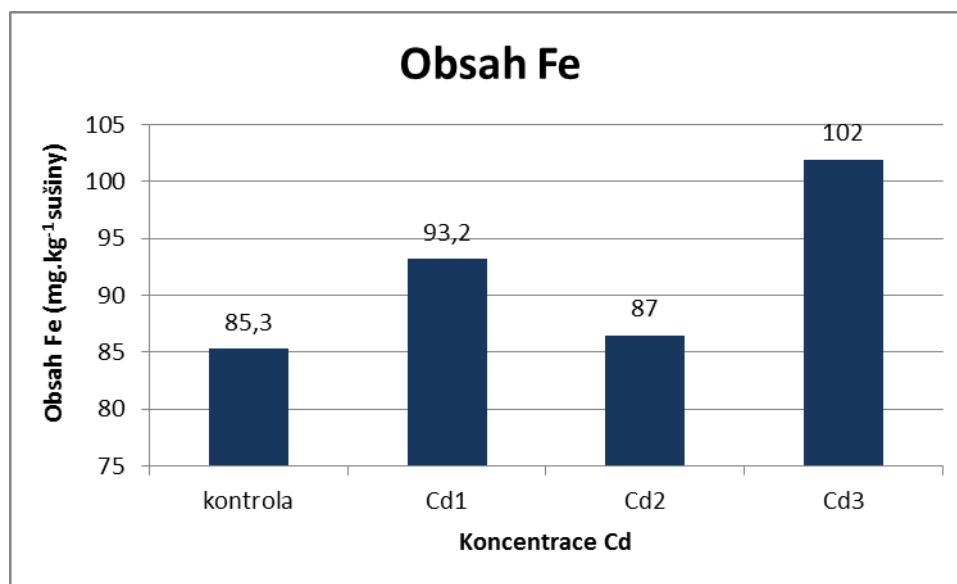


Z grafu č. 3 je patrné, že nejvyšší obsah mědi byl naměřen u dávky Cd3 (Cd3 = 12,4 mg Cu.kg⁻¹ sušiny). Nejvyšší obsah mědi byl u kontrolní dávky (K = 15,0 mg Cu.kg⁻¹ sušiny) a stejná hodnota byla naměřena i u dávky Cd1.

Ve srovnání s kontrolou byl obsah mědi v dávce Cd1 stejný. V dávce Cd2 byla hodnota oproti kontrole o 10,7 % nižší a v dávce Cd3 byl zaznamenán pokles oproti kontrole o 17,3 %.

Byla zjištěna vysoká nepřímá lineární závislost mědi v nadzemní biomase rostlin se zvyšující se dávkou kadmia v půdě ($R^2 = 0,899$).

Graf č. 4 – Obsah železa v biomase rostlin *Spinacia oleracea* v závislosti na dávce kadmia v půdě

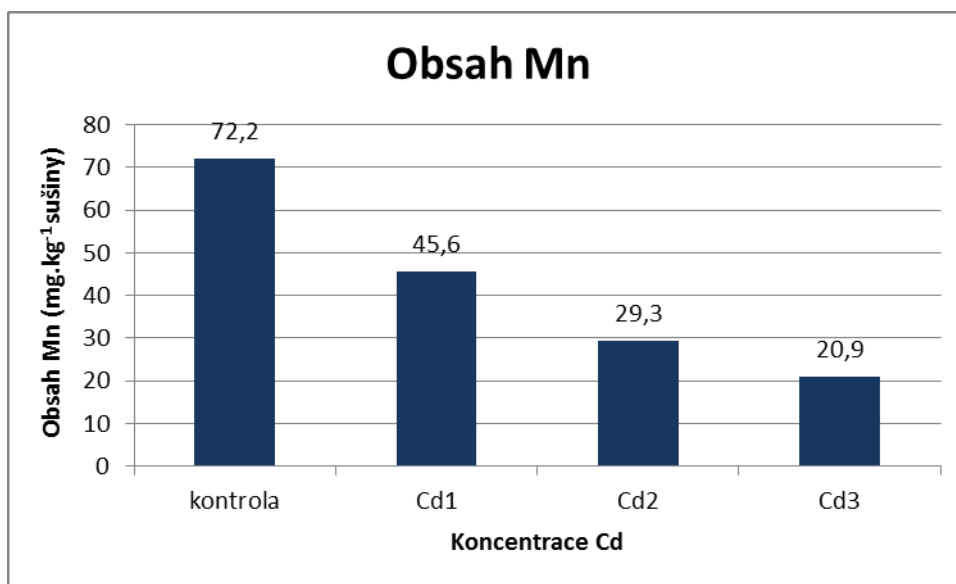


Graf č. 4 znázorňuje, že nejvyšší obsah železa v nadzemní biomase rostlin se vyskytoval u dávky Cd3 (Cd3 = 102 mg Fe.kg⁻¹ sušiny). Nejnižší obsah železa byl naměřen u kontroly (K = 85,3 mg Fe.kg⁻¹ sušiny).

Ve srovnání s kontrolou byl obsah železa ve všech dávkách vyšší (v dávce Cd1 o 9,3 %, v dávce Cd2 pouze o 2 % vyšší a v dávce Cd3 již o 19,6 % vyšší), avšak koncentrace Cd2 (Cd2 = 60 mg Cd.kg⁻¹) se oproti nižší koncentraci Cd1 (Cd1 = 30 mg Cd.kg⁻¹) snížila, a to o 6,7 %.

Byla zjištěna vyšší přímá lineární závislost. Dokazuje to, že dávka kadmia v půdě ovlivňuje slabě obsah železa v nadzemní biomase se silou závislosti $R^2 = 0,563$.

Graf č. 5 – Obsah manganu v biomase rostlin *Spinacia oleracea* v závislosti na dávce kadmia v půdě

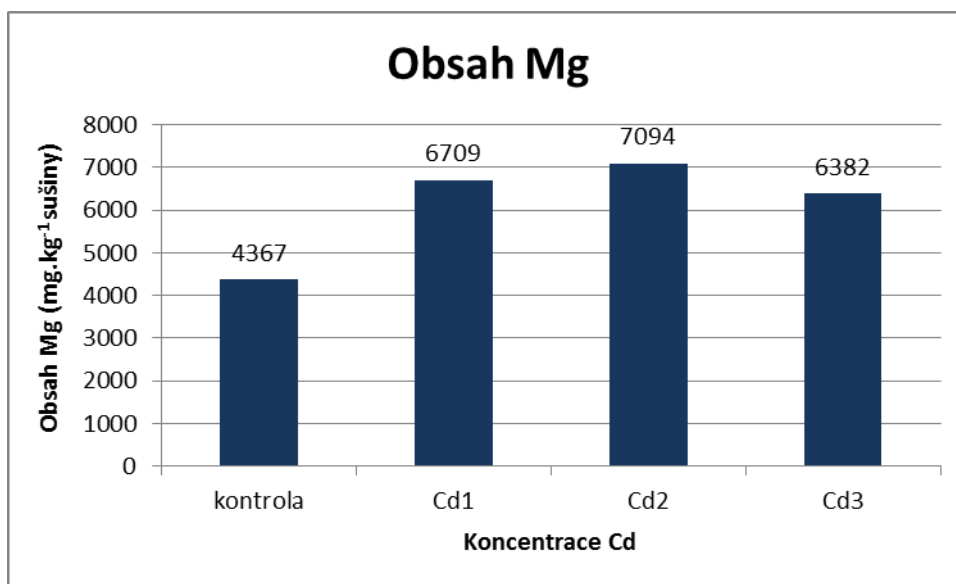


Z grafu č. 5 je viditelné, že nejvyšší obsah manganu v nadzemní biomase rostlin se vyskytoval u kontrolní dávky (K = 72,2 mg Mn.kg⁻¹ sušiny). Nejnižší obsah manganu byl naměřen u dávky Cd3 (Cd3 = 20,9 mg Mn.kg⁻¹ sušiny).

Ve srovnání s kontrolou byl obsah manganu ve všech dávkách nižší, a to konkrétně v dávce Cd1 o 36,9 % nižší, v dávce Cd2 o 59,4 % nižší a v dávce Cd3 o 71,1 % nižší.

Byla zjištěna vysoká nepřímá lineární závislost mezi dávkou kadmia v půdě a obsahem manganu v nadzemní biomase se silou závislosti $R^2 = 0,946$.

Graf č. 6 – Obsah hořčíku v biomase rostlin *Spinacia oleracea* v závislosti na dávce kadmia v půdě

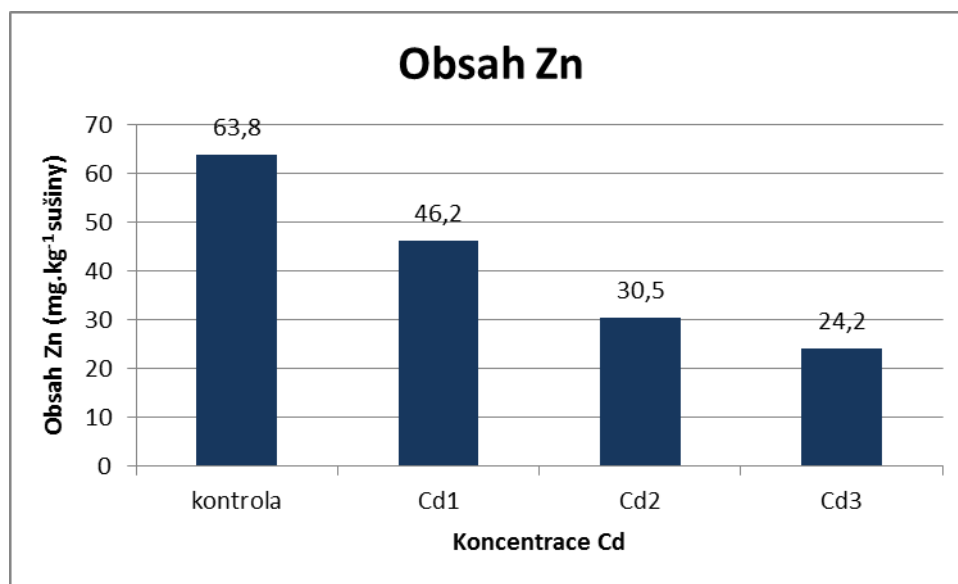


Graf č. 6 znázorňuje, že nejvyšší obsah hořčíku v nadzemní biomase rostlin se vyskytoval v dávce Cd2 (Cd2 = 7 094 mg Mg.kg⁻¹ sušiny). Nejnižší obsah hořčíku byl naměřen u kontrolní dávky (K = 4 367 mg Mg.kg⁻¹ sušiny).

Ve srovnání s kontrolou byl obsah hořčíku ve všech dávkách vyšší, a to konkrétně v dávce Cd1 o 52,9 % vyšší, v dávce Cd2 o 58,8 % vyšší a v dávce Cd3 pouze o 37,5% vyšší. V nejvyšší koncentraci Cd3 (Cd3 = 90 mg Cd.kg⁻¹) však nastal pokles oproti nižší variantě Cd2 (Cd2 = 60 mg Cd.kg⁻¹), a to o 10,1 %.

Byla zjištěna nízká přímá lineární závislost se silou závislosti $R^2 = 0,466$. Dokazuje to tedy, že obsah hořčíku v nadzemní biomase rostliny je slabě ovlivněn zvyšující se koncentrací kadmia.

Graf č. 7 – Obsah zinku v biomase rostlin *Spinacia oleracea* v závislosti na dávce kadmia v půdě



Z grafu č. 7 je patrné, že nejvyšší obsah zinku v nadzemní biomase rostlin se vyskytoval u kontroly (K = 63,8 mg Zn.kg⁻¹ sušiny). Nejnižší obsah zinku byl naměřen v dávce Cd3 (Cd3 24,2 mg Zn.kg⁻¹ sušiny).

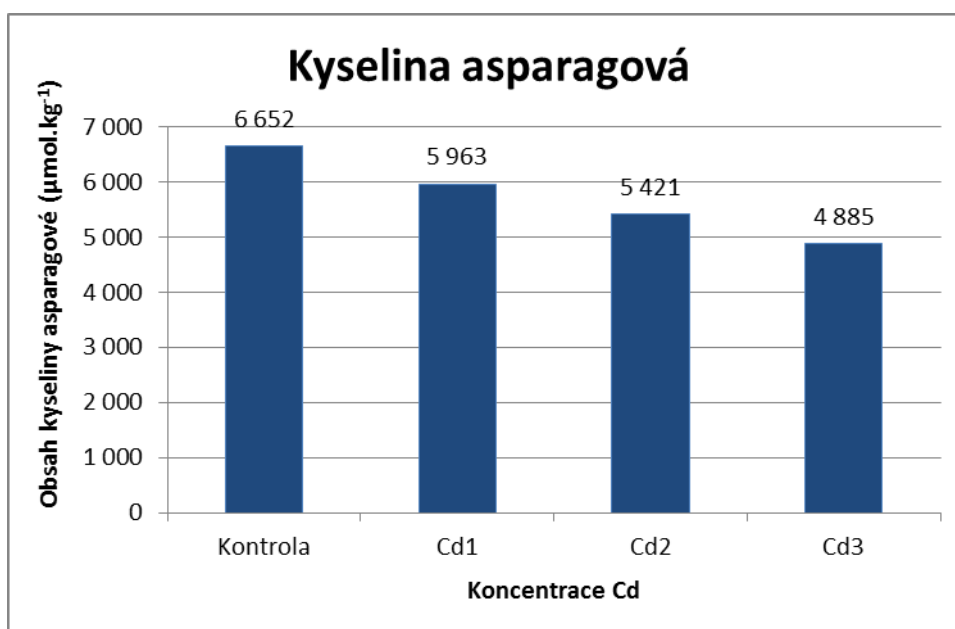
Ve srovnání s kontrolou byl obsah zinku ve všech dávkách nižší, a to konkrétně v dávce Cd1 o 27,6 % nižší, v dávce Cd2 o 52,2 % nižší a v dávce Cd3 o 62,1 % nižší.

Byla zjištěna vysoká nepřímá lineární závislost mezi dávkou kadmia v půdě a obsahem zinku v nadzemní biomase se silou závislosti $R^2 = 0,963$, znamená to tedy, že obsah zinku v nadzemní biomase rostliny je ovlivněn zvyšující se koncentrací kadmia.

5.3 Aminokyseliny

Jednou ze sledovaných charakteristik v této práci bylo stanovení obsahu volných aminokyselin v rostlině při změně koncentrace kadmia v půdě. Mezi sledované aminokyseliny byly vybrány tyto: kyselina asparagová (ASP), kyselina glutamová (GLU), asparagin (ASN), glutamin (GLN) a alanin (ALA). Obsah volných aminokyselin byl zkoumán u rostlin *Spinacea oleracea*. Naměřené hodnoty jsou z konečné sklizně špenátu, kdy se jedná o průměr ze dvou stanovení. Byly hodnoceny varianty K (0 mg Cd.kg⁻¹), Cd1 (30 mg Cd.kg⁻¹), Cd2 (60 mg Cd.kg⁻¹) a Cd3 (90 mg Cd.kg⁻¹).

Graf č. 8 – Obsah kyseliny asparagové v biomase rostlin *Spinacia oleracea* v závislosti na dávce kadmia v půdě



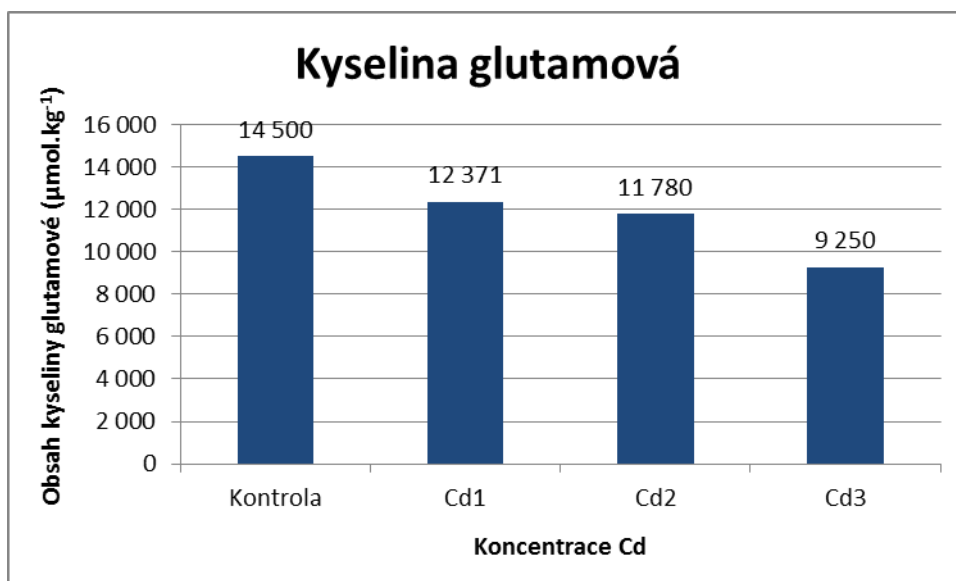
Graf č. 8 znázorňuje obsah kyseliny asparagové v rostlinách *Spinacia oleracea* při zvyšující se dávce kadmia v půdě. Nejvyšší koncentrace kyseliny asparagové byla u kontrolní varianty (K = 6 652 μmol.kg⁻¹). Nejnižší koncentrace byla nalezena u třetí varianty (Cd3 = 4 885 μmol.kg⁻¹).

Z grafu č. 7 je patrné, že se zvyšující se dávkou kadmia se snižuje i koncentrace kyseliny asparagové v rostlině.

Ve srovnání s kontrolou je koncentrace kyseliny asparagové v nadzemní biomase rostlin o 10,4 % nižší u dávky Cd1, o 18,5 % nižší u dávky Cd2 a o 26,6 % nižší u dávky Cd3.

Existuje vysoká nepřímá lineární závislost mezi dávkou kadmia v nadzemní biomase a obsahem kyseliny asparagové v biomase rostlin se silou závislosti $R^2 = 0,996$.

Graf č. 9 – Obsah kyseliny glutamové v biomase rostlin *Spinacia oleracea* v závislosti na dávce kadmia v půdě



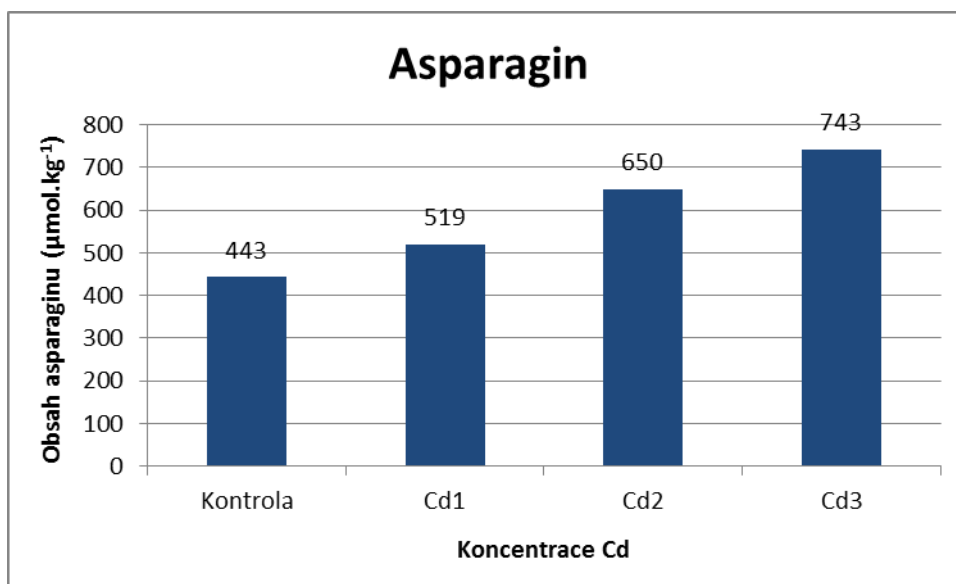
V grafu č. 9 je znázorněn obsah kyseliny glutamové v rostlinách *Spinacia oleracea* při zvyšující se dávce kadmia v půdě. Nejvyšší koncentrace kyseliny glutamové byla u kontrolní varianty (K = 14 500 μmol.kg⁻¹). Nejnižší koncentrace byla nalezena u třetí varianty (Cd3 = 9 250 μmol.kg⁻¹).

Koncentrace kyseliny glutamové v nadzemní biomase špenátu se s rostoucí dávkou kadmia v půdě snižovala.

Ve srovnání s kontrolou je koncentrace kyseliny glutamové v nadzemní biomase rostlin o 14,7 % nižší u dávky Cd1, o 18,8 % nižší u dávky Cd2 a o 36,2 % nižší u dávky Cd3.

Byla prokázána vysoká nepřímá lineární závislost mezi dávkou kadmia v nadzemní biomase a obsahem kyseliny glutamové v biomase rostlin se silou závislosti $R^2 = 0,954$.

Graf č. 10 – Obsah asparaginu v biomase rostlin *Spinacia oleracea* v závislosti na dávce kadmia v půdě



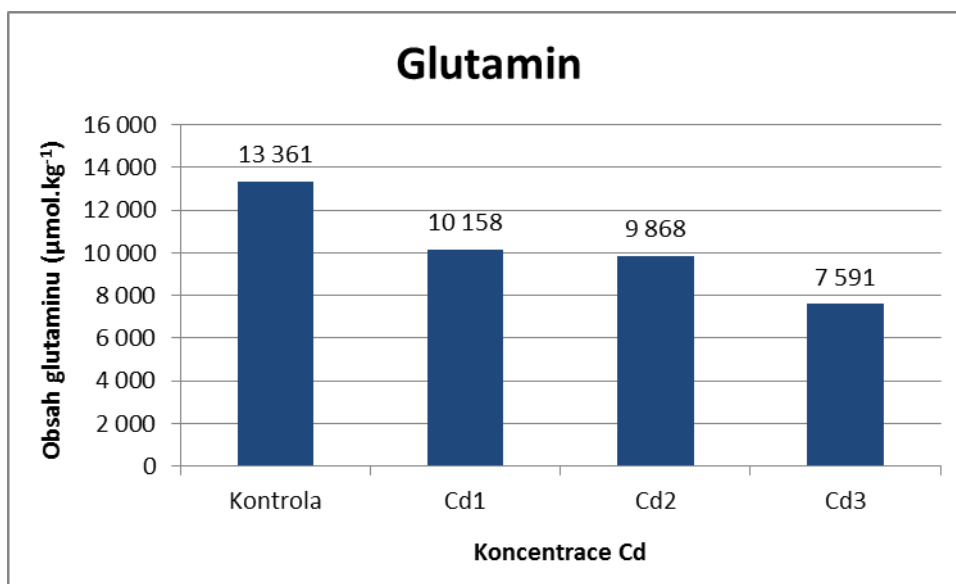
Graf č. 10 zobrazuje obsah asparaginu v rostlinách *Spinacia oleracea* při zvyšující se dávce kadmia v půdě. Nejnižší koncentrace asparaginu byla u kontrolní varianty (K = 443 µmol.kg⁻¹). Nejvyšší koncentrace byla nalezena u třetí varianty (Cd3 = 743 µmol.kg⁻¹).

Koncentrace asparaginu v nadzemní biomase špenátu se s rostoucí dávkou kadmia v půdě zvyšovala.

Ve srovnání s kontrolou je koncentrace asparaginu v nadzemní biomase rostlin o 17,2 % vyšší u dávky Cd1, o 46,7 % vyšší u dávky Cd2 a již o 67,7 % vyšší u dávky Cd3.

Byla prokázána vysoká přímá lineární závislost mezi dávkou kadmia v nadzemní biomase a obsahem asparaginu v biomase rostlin se silou závislosti $R^2 = 0,991$.

Graf č. 11 – Obsah glutaminu v biomase rostlin *Spinacia oleracea* v závislosti na dávce kadmia v půdě



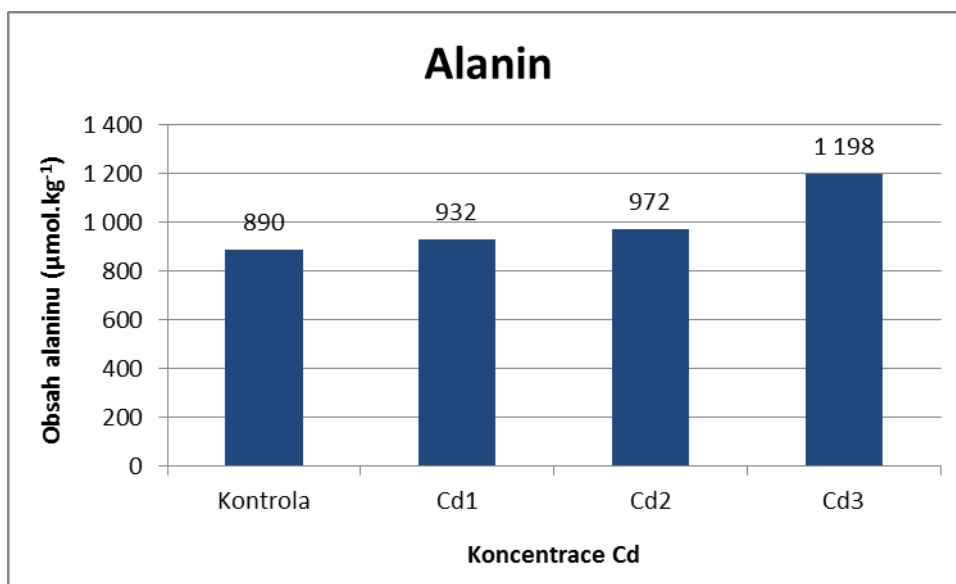
V grafu č. 11 je znázorněn obsah glutaminu v rostlinách *Spinacia oleracea* při zvyšující se dávce kadmia v půdě. Nejvyšší koncentrace glutaminu byla u kontrolní varianty (K = 13 361 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$). Nejnižší koncentrace byla nalezena u třetí varianty (Cd3 = 7 591 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$).

Koncentrace glutaminu v nadzemní biomase špenátu se s rostoucí dávkou kadmia v půdě snižovala.

Ve srovnání s kontrolou je koncentrace glutaminu v nadzemní biomase rostlin o 24 % nižší u dávky Cd1, o 26,2 % nižší u dávky Cd2 a o 43,2 % nižší u dávky Cd3.

Byla prokázána vysoká nepřímá lineární závislost mezi dávkou kadmia v nadzemní biomase a obsahem glutaminu v biomase rostlin se silou závislosti $R^2 = 0,954$.

Graf č. 12 – Obsah alaninu v biomase rostlin *Spinacia oleracea* v závislosti na dávce kadmia v půdě



Graf č. 12 znázorňuje obsah alaninu v rostlinách *Spinacia oleracea* při zvyšující se dávce kadmia v půdě. Nejnižší koncentrace alaninu byla u kontrolní varianty ($K = 890 \mu\text{mol.kg}^{-1}$). Nejvyšší koncentrace byla nalezena u třetí varianty ($\text{Cd3} = 1198 \mu\text{mol.kg}^{-1}$).

Koncentrace alaninu v nadzemní biomase špenátu se s rostoucí dávkou kadmia v půdě zvyšovala.

Ve srovnání s kontrolou je koncentrace alaninu v nadzemní biomase rostlin o 4,7 % vyšší u dávky Cd1, o 9,2 % vyšší u dávky Cd2 a již o 34,6 % vyšší u dávky Cd3.

Byla prokázána vysoká přímá lineární závislost mezi dávkou kadmia v nadzemní biomase a obsahem alaninu v biomase rostlin se silou závislosti $R^2 = 0,82$.

6 Diskuze

Kadmium se vyskytuje přirozeně v celé zemské kůře i v ostatních složkách životního prostředí, tj. v horninách, půdách, vodách, rostlinách, ale i potravinách (Baker et al., 1990; Bencko et al., 1995). Proto i u kontrol *Spinacia oleracea* byl naměřen obsah kadmia v nadzemní biomase rostlin. Obsah kadmia v rostlinných pletivech je v přímé závislosti na koncentraci kadmia dostupného v živném prostředí a délce expozice (Beneš, 1993). To se v tomto pokusu potvrdilo, byla zjištěna významná závislost, tedy že dávka kadmia v půdě ovlivňuje koncentraci kadmia v nadzemní biomase ($R^2 = 0,981$). Koncentrace kadmia v nadzemní biomase se lineárně zvyšovala díky zvyšující se dávce kadmia v půdě. Toto bylo zaznamenáno u mnoha autorů (Kabata - Pendias et Pendias, 2001; Adriano, 2001). Nejvyšší obsah kadmia v nadzemní biomase rostlin byl nalezen u dávky Cd3 ($Cd_3 = 78,7 \text{ mg Cd.kg}^{-1}$ sušiny). V experimentu Pavlíkové et al. (2008) byly do půdy přidávány stejné koncentrace (30, 60 a 90 mg Cd.kg^{-1}) a obsahy kadmia v nadzemních částech špenátu se pohybovaly ve srovnatelných hodnotách, jako bylo naměřeno v našem pokusu. Špenát patří mezi méně citlivé rostliny na kontaminaci vlivem kadmia, jeho výnos však klesal se zvyšující se dávkou kadmia v půdě. Ve srovnání s kontrolou došlo ke snížení výnosu biomasy, např. v dávce Cd1 (30 mg Cd.kg^{-1}) o 19 %, v dávce Cd2 (60 mg Cd.kg^{-1}) o 36,9 % a v dávce Cd3 (90 mg Cd.kg^{-1}) bylo až o 63 % nadzemní biomasy méně. Obdobné výsledky byly zjištěny v experimentech u Pavlíkové et al. (2008) a Salaskara et al. (2011) u špenátu setého (*Spinacia oleracea* L.) rostoucího v půdě kontaminované kadmiem. Kadmium má tedy negativní dopad na růst a vývoj rostlin špenátu setého.

Mezi jeden z faktorů, které mají vliv na efekt kadmia v metabolismu a fyziologických procesech rostlin, patří jeho vztah s dalšími minerálními prvky (Dias et al., 2013). Příjem mědi, železa, manganu, hořčíku a zinku ve špenátu byl působením kadmia ovlivněn rozdílně. Nárůst obsahu kadmia v nadzemní biomase testovaných rostlin špenátu vedl k poklesu obsahu manganu a zinku. Naopak k nerovnoměrnému zvyšování obsahu došlo u železa a hořčíku.

Měď plní v rostlině funkci katalytického prvku, kde se bezprostředně váže na molekulu bílkoviny. Interakce Cd - Cu patří mezi komplexní. Inhibiční účinek mědi na absorpci kadmia patří mezi nejčastěji zmiňovaný (Adriano, 2001). V rostlinách jsou zřejmé souvislosti mezi mědí a metabolismem dusíku, měď zlepšuje příjem a metabolismus dusíku (Bencko et al., 1995). Při nedostatku mědi se snižuje využití dusíku, což se negativně projevuje na množství sklizně, např. u obilnin se tvoří méně zrna jako důsledek narušení tvorby generativních orgánů (Vaněk et al., 2007). Průměrný obsah mědi v rostlinných pletivech kolísá od 1,5 do 8,5 ppm v

sušině. V našem pokusu se hodnoty mědi pohybovaly v rozmezí od 12,4 mg.kg⁻¹ u nejvyšší koncentrace, do 15 mg.kg⁻¹ u kontrolní varianty a nejnižší koncentrace kadmia v půdě, byla tedy téměř dvojnásobně překročena hraniční hodnota. V případě mědi došlo v první dávce ke stagnaci, druhá a třetí dávka způsobila snížení obsahu mědi v biomase rostlin (o 10,7 % u Cd2 a o 17,3% u Cd3). V našem pokusu tedy byla zjištěna u rostlin *Spinacia oleracea* závislost mědi v nadzemní biomase rostlin se zvyšující se dávkou kadmia v půdě ($R^2 = 0,899$).

Železo je důležitou živinou pro rostliny a ovlivňuje i proteinový metabolismus; při jeho nedostatku se snižuje obsah proteinů a roste hladina rozpustných organických dusíkatých sloučenin. Jedná se o mikroprvek, u kterého se obsah v rostlinách v sušině pohybuje okolo 100 ppm a soustředí se povětšinou v listech (Vaněk et al., 2007). V tomto pokusu byla hranice překročena pouze u dávky Cd3, a to jen minimálně (102 mg Fe.kg⁻¹). V ostatních dávkách byl obsah železa nižší, k hraniční hodnotě se však přibližoval (85,3 mg Fe.kg⁻¹, 93,2 mg Fe.kg⁻¹ a 87 mg Fe.kg⁻¹). V tomto pokusu u železa docházelo ke zvyšování a následnému snižování obsahu v průběhu koncentrací. První dávka byla oproti kontrole vyšší, při druhé dávce došlo ke snížení obsahu železa (oproti první dávce), a při nejvyšší koncentraci kadmia došlo opět ke zvýšení, byla zde naměřena i nejvyšší koncentrace železa v biomase rostlin. Dokazuje to tedy, že dávka kadmia v půdě slabě ovlivňuje obsah železa v nadzemní biomase ($R^2 = 0,563$).

Podle Adriana (2001), kadmium snižuje příjem manganu rostlinami. Mangan je také nezbytný pro redukci přijatých nitrátů. Nedostatek prvku v rostlinách se projevuje poruchami metabolismu dusíkatých sloučenin (Obata et Umebayashi, 1997). Jak již bylo řečeno, v případě manganu docházelo k postupnému snižování obsahu u nadzemních rostlin na základě zvyšování koncentrací kadmia v půdě (v nejvyšší koncentraci až o 71,1 % nižší oproti kontrolní variantě). Byla tedy zjištěna silná závislost mezi dávkou kadmia v půdě a obsahem manganu v nadzemní biomase ($R^2 = 0,946$).

U hořčíku lze říci, že podobně jako u železa docházelo ke zvyšování a následnému snižování obsahu v průběhu koncentrací. V první a druhé dávce kadmia došlo ke zvýšení obsahu hořčíku v biomase rostlin, avšak při nejvyšší koncentraci kadmia došlo oproti předchozím dávkám k poklesu obsahu hořčíku. Nebyla tedy zjištěna vysoká závislost mezi zvyšujícím se obsahem kadmia v půdě na obsah hořčíku v nadzemní biomase rostlin ($R^2 = 0,466$). Vysoké koncentrace kadmia (0,3 a 1,0 mg.dm⁻³) v živném roztoku způsobily u rostlin rýže seté (*Oryza sativa*) a kukuřice seté (*Zea mays*) snížení obsahu hořčíku (Obata et Umebayashi, 1997), což se v našem pokusu nepotvrdilo. Při nedostatku hořčíku se zvyšuje obsah volných aminokyselin.

Řada prací byla věnována studiu interakce Cd - Zn a to zejména vzhledem k jejich chemické příbuznosti. Obecně se předpokládá, že interakce těchto dvou prvků je založena na jevu kompetitivní inhibice, kdy kadmium a zinek soutěží o podobná aktivní centra přenašečů (Cibulka, 1991). Podobně jako mangan se zinek podílí na dusíkatém metabolismu rostlin. Nedostatek tohoto prvku v rostlinách se projevuje také poruchami metabolismu dusíkatých sloučenin (Obata et Umebayashi, 1997). Hart et al. (2002) sledovali vzájemný vztah kadmia a zinku na klíčících rostlinách pšenice a zjistili, že po přidavku kadmia dojde k poklesu příjmu zinku, a naopak zvýšený příjem zinku inhibuje příjem kadmia. Toto bylo potvrzeno v našem pokusu, kde stejně jako u manganu, i v případě zinku docházelo k poklesu obsahu zinku v biomase rostlin (v nejvyšší koncentraci až o 62,3 % méně). Byla tedy zjištěna silná závislost mezi dávkou kadmia v půdě a obsahem zinku v nadzemní biomase ($R^2 = 0,963$).

Výsledky našeho pokusu se shodují s experimentem u špenátu setého s pokusem u Salaskar et al. (2011) v případě manganu a zinku. U železa a mědi docházelo v našem pokusu k rozdílným hodnotám, nikoliv k poklesu.

Při zvýšené koncentraci rizikových prvků v půdě dochází v rostlinách k hromadění řady dusíkatých látek, jako jsou některé aminokyseliny, oligopeptidy, polyaminy a další (Sharma et Dietz, 2006). V této práci byly sledovány změny obsahu volných aminokyselin – kyseliny asparagové, kyseliny glutamové, asparaginu, glutaminu a alaninu v biomase rostlin *Spinacea oleracea* při zvyšující se dávce kadmia v půdě. V rostlinách špenátu setého byl potvrzen podstatný vliv kontaminace kadmia na celkový obsah volných aminokyselin. Aminokyseliny jsou důležitou součástí ve výživě dusíku během růstu rostlin v různorodých podmínkách, kde slouží jako zdroj organického dusíku (Hirner et al.).

Při dlouhodobém působení kadmia se obsah celkových volných aminokyselin snížil v porovnání s kontrolní variantou (v případě kyseliny asparagové o 26,6 %, u kyseliny glutamové o 36,2 % a u glutaminu dokonce o 43,2 %). Podobné výsledky byly pozorovány v experimentu Pavlíkové et al. (2014a,b) u rostlin tabáku (*Nicotiana tabacum* L.) při stresu vlivem zinku. V případě asparaginu se obsah celkových volných aminokyselin naopak zvýšil v porovnání s kontrolou až o 67,7 %, u alaninu nebylo zvýšení volných aminokyselin tak radikální, obsah se zvýšil o 34,6 %.

Kyselina asparagová je kyselá aminokyselina, a při pH vyšším než 3,0 bývá nabitá negativně. V tomto ionizovaném stavu se o ní často mluví jako o aspartátu. Z aspartátu také může být fixací dusíku syntetizována aminokyselina asparagin. U rostlin a mikroorganismů je kyselina asparagová také prekursorem při syntéze esenciálních aminokyselin methioninu, threoninu, lysinu a rozvětvených aminokyselin leucinu, isoleucinu a valinu (Voet et Voetová,

1995). Kyselina glutamová a asparagová jsou klíčové aminokyseliny pro biosyntézu nukleových kyselin, cytokininů, ATP a chlorofylu (Pavlík et al., 2012). Obě aminokyseliny mají důležitou roli v růstu, obraně i reprodukčních procesech rostlin. V našem pokusu se obsah kyseliny asparagové snižoval se zvyšujícím se obsahem kadmia v biomase rostlin, v nejvyšší dávce (90 mg Cd.kg⁻¹) bylo o 26,6 % méně oproti kontrolnímu vzorku. U rostlin špenátu byla ve všech třech odběrech zjištěna významná lineární závislost mezi obsahem kadmia a obsahem aminokyseliny. Se zvyšujícím se obsahem kadmia se zvyšoval obsah kyseliny asparagové ($R^2 = 0,996$).

Sánchez - Pardo et al. (2013) konstatují, že glutamin a kyselina glutamová jsou organické formy přeměněného amoniaku v rostlinách a jsou tedy zdrojem dusíku v biosyntéze esenciálních aminokyselin a dalších sloučenin, které obsahují dusík. Glutamin a kyselina glutamová mohou být následně využity pro tvorbu asparaginu a kyseliny asparagové.

V rostlinách rostoucích na variantách s vyšším obsahem kadmia (60 mg Cd.kg⁻¹ a 90 mg Cd.kg⁻¹) bylo omezeno využití N a tedy následně i tvorba transportních aminokyselin. Došlo ke snížení obsahu těchto volných aminokyselin (u kyseliny glutamové o 36,2 % a u glutaminu o 43,2 %). Tyto výsledky se však neshodují s pracemi Pavlíka et al. (2010) a Sharmy et Dietze (2006), kteří sledovali zvýšení obsahu kyseliny glutamové při stresu rostlin vlivem přítomnosti rizikových prvků. Kyselina glutamová je kyselá aminokyselina, a při pH vyšším než 3,0 bývá nabitá negativně. V tomto ionizovaném stavu se o ní často hovoří jako o glutamátu. V tomto pokusu se obsah kyseliny glutamové snižoval se zvyšujícím se obsahem kadmia v biomase rostlin. U rostlin špenátu byla zjištěna významná lineární závislost mezi obsahem kadmia a obsahem volné aminokyseliny. Se zvyšujícím se obsahem kadmia se snižoval obsah kyseliny glutamové ($R^2 = 0,954$). Naše výsledky potvrdily i práce jiných autorů, jako například v experimentu Pavlíka a kol. (2010), ve které byla zjištěna také lineární závislost kyseliny glutamové na koncentraci arsenu v rostlinách *Spinacia oleracea* L..

Glutamin vznikne amidací kyseliny glutamové. Tato reakce je katalyzována glutaminsyntézou (GS) a energie je dodávána štěpením adenosintrifosfátu (ATP). Glutamin je donorem aminoskupiny při biosyntéze mnoha různých látek. Slouží také jako zásobárna amoniaku (Voet et Voetová, 1995). V našem pokusu se obsah glutaminu, stejně jako v případě kyseliny glutamové, snižoval se zvyšujícím se obsahem kadmia v biomase rostlin. V experimentu Costa et Spitz (1997) a Boussama et al. (1999) způsobila koncentrace kadmia na rostlině kukuřice (*Zea mays* L.) snížení obsahu volného glutaminu a asparaginu. U rostlin špenátu byla zjištěna významná lineární závislost mezi obsahem kadmia a obsahem volného glutaminu ($R^2 = 0,954$).

Asparagin je důležitou transportní a zásobní formou dusíku v rostlinách, je spojen s klíčením semen a procesem stárnutí listů (Gaufichon et al., 2010). Může působit jako úložiště a transport molekuly, často současně v rámci jedné rostliny (Lea et al., 2007). Asparagin může být syntetizován fixací dusíku z aspartátu. Jsou-li rostliny vystaveny vysokým dávkám anorganického dusíku, zejména NH_4^+ , nastává hromadění asparaginu a glutaminu. Potvrdilo se, že glutamin a asparagin jsou hlavní látky, kterými je dusík transportován při minimální spotřebě uhlíku (Marschner 1995). V našem pokusu se obsah asparaginu zvyšoval se zvyšujícím se obsahem kadmia v biomase rostlin, při nejvyšší koncentraci (90 mg Cd.kg^{-1}) se oproti kontrole zvýšil 67,7 % volného asparaginu. Podobné výsledky zjistili Lea et al. (2007). U rostlin špenátu byla zjištěna vysoká lineární závislost mezi obsahem kadmia a obsahem volného asparaginu. Se zvyšujícím se obsahem kadmia se zvyšoval obsah asparaginu ($R^2 = 0,991$).

Biosyntéza alaninu probíhá pomocí transaminace ketokyseliny pyruvátu, kdy vzniká alanin. Podle Sawakiho et al. (2009) má tato aminokyselina v metabolismu rostlin různorodou roli, je součástí C - N metabolismu, energetické bilance, vývoje rostlin, obrany proti stresu a slouží jako signální molekula. V našem pokusu se obsah alaninu, stejně jako v případě asparaginu, zvyšoval se zvyšujícím se obsahem kadmia v biomase rostlin. Zvýšený obsah volného alaninu je způsoben snížením rychlosti syntézy proteinů a zvýšením syntézy alaninu v důsledku narušení reakce alaninaminotransféráz (Hjorth et al., 2006). V této práci byla u rostlin *Spinacia oleracea* zjištěna lineární závislost mezi obsahem kadmia v biomase rostlin a obsahem volného alaninu v rostlině ($R^2 = 0,82$). V pokusu Pavlíka et al. (2010) v nadzemní biomase rostlin *Spinacia oleracea* L. u arsenu tato závislost zjištěna nebyla ($R^2 = 0,05$).

7 Závěr

Cílem naší práce bylo vyhodnotit působení stupňované dávky kadmia v půdě na metabolismus rostliny špenátu. Současně byly zhodnoceny obsahy vybraných mikro- a makro prvků, které ovlivňují příjem a využití dusíku rostlinou.

Důležitým prvkem v metabolismu rostlin jsou aminokyseliny, na jejichž obsah a funkci v rostlině má kadmium velký vliv. Při přetrvávajících změnách rostliny reagují na stres poklesem produkce nadzemní biomasy a jinými protistresovými opatřeními. Z výsledků vyplývá, že nejvyšší dávka kadmia ($Cd_3 = 90 \text{ mg.kg}^{-1}$) má výrazný negativní vliv na metabolismus rostliny. K poklesu výnosu nadzemní biomasy došlo u rostlin špenátu u varianty Cd_1 o 18,9 %, u varianty Cd_2 o 36,9 % a varianta Cd_3 prokázala 60,3 % úbytek nadzemní biomasy. Tento nádobový vegetační pokus tedy potvrdil fytotoxicitu kadmia zejména u variant s vyšší kontaminací (60 mg Cd.kg^{-1} a 90 mg Cd.kg^{-1}).

Bylo potvrzeno, že zvyšující se obsah kadmia v rostlině omezí příjem některých mikroprvků nezbytných pro přeměnu dusíku v rostlině (Cu, Zn, Mn). Obsah mědi se mírně snižoval se zvyšující se dávkou kadmia v půdě. Obsah železa se zvyšující se dávkou kadmia v půdě vykazoval střídající trend. U rostlin byla zjištěna slabá závislost. Obsah manganu se lineárně snižoval se zvyšující se dávkou kadmia v půdě. Obsah hořčíku vykazoval slabou závislost na dávce kadmia v půdě. V případě zinku byl vykazován klesající trend, vyskytovala se zde vysoká závislost obsahu zinku na zvyšujícím se obsahu kadmia.

Důsledkem tohoto jsou změny obsahu aminokyselin v biomase rostliny. Obsah kyseliny asparagové vykazoval klesající trend a byla zjištěna významná závislost mezi koncentrací kadmia v biomase a obsahem kyseliny asparagové v rostlině. Obsah glutamové kyseliny vykazoval opět klesající trend a byla prokázána lineární závislost mezi koncentrací kadmia a obsahem této aminokyseliny v rostlině. Obsah asparaginu vykazoval stoupající trend, byla prokázána silná závislost mezi koncentrací kadmia a asparaginem v nadzemní biomase rostliny. Obsah glutaminu naopak vykazoval klesající trend. Obsah alaninu vykazoval stoupající trend, byla prokázána lineární závislost mezi koncentrací kadmia a obsahem alaninu v nadzemní části rostlin.

8 Seznam literatury

Abdel - Sabour, M. F., Mortvedt, J. J., Kelsoe, J. J. 1988. Cadmium - zinc interactions in plants and extractable cadmium and zinc fractions. *Soil Science*. 145: 424-431.

Adriano, D. C. 2001. Trace elements in terrestrial environments. Springer - Verlag, New York, 866 s. ISBN 0387986782.

Alloway, B. J. 1995. Heavy metals in soils. Springer Science & Business Media. New York. USA. 368. ISBN 978-94-010-4586-5.

Balík, J., Pavlíková, D., Hlušek, J., Provazník, K. 2004. Zdroje rizikových prvků v životním prostředí. In Racionální použití hnojiv, sborník z konference konané na ČZU v Praze dne 25. 11. 2004. ČZU v Praze, Katedra agrochemie a výživy rostlin, 2004, 22–29, ISBN 80-213-1232-7.

Basic N., Keller, C., Fontanillas, P., Vittoz, P., Besnard, G., Galland, N. 2006. Cadmium hyperaccumulation and reproductive traits in natural *Thlaspi caerulescens* population. *Plant Biology* 8. 64-72.

Benavides, M. P., Gallego, S. M., Tomaro, M. L. 2005. Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 17. 21-34.

Bencko, V., Cikrt, M., Lener, J. 1995. Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka. Grada Publishing. Praha. 288 s. ISBN: 80-7169-150-X.

Beneš, S. 1993. Obsahy a bilance prvků ve sférách životního prostředí I. část. 1.vyd. Praha Ministerstvo Zemědělství ČR v Agrospoj. 88. ISBN 80-7084-051 –X

Beneš, S. 1994. Obsahy a bilance prvků ve sférách životního prostředí II. část, Praha, Ministerstvo zemědělství České republiky, 159.

Beneš S., Pabiánová J. 1986. Přirozené obsahy distribuce prvků v půdách. Monografie, VŠZ Praha. 203.

- Borůvka, L., Vacek, O., Jehlička, J. 2005. Principal component analysis as a tool to indicate the origin of potentially toxic elements in soils, *Geoderma*, 128, 289-300.
- Bradl, H. B. 2004. Adsorption of heavy metal ions on soils and soils constituents. *Journal of Colloid and Interface Science*. 277. 1 -18.
- Brune A., Dietz K. J. 1995. A comparative - analysis of element composition of roots and leaves of barley seedlings grown in the presence of toxic cadmium, molybdenum, nickel, and zinc concentration. *Journal of Plant Nutrition* 18: 853-868.
- Buchanan B.B., Gruissem W., Jones R.L. 2000. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiology, Rockville, Maryland, 1367. ISBN 0-943088-37-2.
- Buchanan, B. B., Gruissem W., Jones R. L. 2002. *Biochemistry and molecular biology of plants*. Science Press, American Society of Plant Physiologists, Beijing, 568–675.
- Cibulka, J. 1991. Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře. *Academia Praha*. 432. ISBN 80-200-0401-7.
- DalCorso, G., Farinati, S., Maistri, S., Furini, A. 2008. How Plants Cope with Cadmium: Staking All on Metabolism and Gene Expression. *Journal of Integrative Plant Biology*. 50. 1268-1280.
- Dias, M. C., Monteiro, C., Moutinho - Pereira, J., Correia, C., Gonçalves, B., Santos, C. 2013. Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. *Acta Physiologiae Plantarum*. 35. 1281 -1289.
- Eisler, R. 2007. *Eisler's encyclopedia of environmentally hazardous priority chemicals*. Elsevier. Amsterdam. 950. ISBN 9780444531056.
- Fritz, Ch., Mueller, C., Matt, P., Feil, R., Stitt, M. 2006. Impact of C - N status on the amino acid profile in Tobago source leaves. *Plant, Cell and Environment*. 29. 2055-2076.

Fuksová, Z., Száková, J., Tlustoš, P., Pavlíková, D., Balík, J. 2007. Možnosti využití rostlin pro fytoextrakci toxických prvků z kontaminovaných půd (Revue) – část 1. *Agrochémia*, 2007, roč. 11, č. 3, s. 22 - 26. ISSN: 1335-2415.

Gaufichon, L., Reisdorf – Cren, M., Rothstein, S. J., Chardon, F., Suzuki, A. 2010. Biological functions of asparagine synthetase in plants. *Plant Science*. Vol. 179. Issue 3. 141–153.

Gil, J., Moral, R., Gomez, I., Navarropedreno, J., Mataix, J. 1995. Effect of cadmium on physiological and nutritional aspects of tomato plant - Soluble and RUBISCO proteins and nutrient evolution. *Fresenius Environmental Bulletin* 4: 436-440.

Gloser, J. *Fyziologie rostlin*. 1998. 2. rozšířené vydání. Brno: Masarykova univerzita. 157. skripta. ISBN 80-210-1789-9.

Hall, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*. 53. 1 -11.

Hart, J. J., Welch, R. M., Norvell, W. A., Kochian, L. V. 2002. Transport interaction between cadmium and zinc in roots of bread and durum wheat seedlings. *Physiologia Plantarum* 116: 73-78.

Hasan, S. A., Fariduddin, Q., Ali, B., Hayat, S., Ahmad, A. 2009. Cadmium: Toxicity and tolerance in plants. *Journal of Environmental Biology*. 30. 165-174.

He, Z. L., Yang, X. E., Stoffella, P. J. 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2 - 3, 19: 125 – 140.

Herawati, N., Suzuki, S., Hayashi, K., Rivai, I. F., Koyoma, H. 2000. Cadmium, copper and zinc levels in rice and soil of Japan, Indonesia and China by soil type. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. Volume 64. Issue 3. 33–39.

Hirner, A., Ladwig, F., Stransky, H., Okumoto, S., Keinath, M., Harms, A., Frommer, W. B., Koch, W. 2006. *Arabidopsis* LHT1 is a highaffinity transporter for cellular amino acid uptake in both root epidermis and leaf mesophyll. *Plant Cell*. 18. 1931 –1946.

Hjorth, M., Mathiassen, S. K., Kudsk, P., Ravn, H. W. 2006. Amino acids in loose silky-bent (*Apera spica-venti* (L.) Beauv.) responding to prosulfocarb exposure and the correlation with physiological effects. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 86. 138–145.

Horáková, M. 2003. *Analytika vody*. VŠCHT Praha. 80-7080-520-X. 335.

Kabata - Pendias A. Mukherjee A. B. 2007. *Trace elements from soil to human*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 550 s. ISBN 978-3-540-32713-4.

Kabata - Pendias, A., Pendias, H. 2001. *Trace elements in Soil and Plants*. 3rd ed. CRC Press. New York. 432. ISBN 0-8493-1575-1.

Kafka, Z., Punčochářová, J. 2002. Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chemické listy*. 96. 611-617.

Kňákal, P. 1994. *Obsah rizikových prvků v zemědělských půdách severočeského regionu (část I)*. Státní kontrolní a zkušební ústav zemědělský, odbor agrochemie půdy a výživy rostlin. Liberec. 70.

Lea, P. J., Sodek, L., Parry, M. A. J., Shewry, P. R., Halford, N. G. 2007. Asparagine in plants. *Annals of Applied Biology*. 150. 1 -26.

Lombi, E., Zhao, F. J., Dunham, S. J., McGrath, S. P. 2000. Cadmium accumulation in populations of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi goesingense*. *New Phytologist*. 145. 11-20.

Lugon - Moulin, N., Zhang, M., Gadani, F., Rossi, L., Koller, D., Krauss, M., Wagner, G. J. 2004. Critical review of the science and options for reducing cadmium in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) and other plants, *Advances in Agronomy* 83, 111–180.

Makovnikova, J., Barancikova, G., Dlapa, P., Dercova, K. 2006. Inorganic contaminants in soil ecosystems. *Chemické listy*. 100/6. 424-432.

Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London, 889. ISBN 0-12-473542-8.

Miholová D., Mader P., Száková J., Slámová A., Svato Z. 1993. Czechoslovak biological certified reference materials and their use in the analytical quality assurance system in a trace element laboratory. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*. 51. 256-260.

Mulligan, C. N., Yong, R. N., Gibbs, B. F. 2001. Remediations technologies for metalcontaminated soils and groundwater: and evaluation. *Engineering Geology*. 60. 193-207.

Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., Sreekanth, T. V. M. 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*. 8. 199-216.

Neuberg, M., Pavlíková, D., Pavlík, M., Balík, J. 2010. The effect of different nitrogen nutrition on proline and asparagine content in plant. *Plant, Soil and Environment*. 56. 305-311.

Obata, H., Umebayashi, M. 1997. Effects of cadmium on mineral nutrient concentrations in plants differing in tolerance for cadmium. *Journal of Plant Nutrition* 20: 97-105

Pavlík, M., Pavlíková, D., Balík, J., Neuberg, M. 2010. The contents of amino acids and sterols in maize plants growing under different nitrogen conditions. *Plant, Soil and Environment*. 56. 125-132.

Pavlík, M., Pavlíková, D., Zemanová, V., Hnilička, F., Urbanová, V., Száková, J. 2012. Trace elements present in airborne particulate matter – stressors for plant metabolism. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 79. 101 -107.

Pavlíková, D., Pavlík, M., Staszková, L., Motyka, V., Száková, J., Tlustoš, P., Balík, J. 2008. Glutamate kinase as a potential biomarker of heavy metal stress in plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 70. 223-230.

Pavlíková, D., Pavlík, M., Procházková, D., Zemanová, V., Hnilička, F., Wilhelmová, N. 2014a. Nitrogen metabolism and gas exchange parameters associated with zinc stress 142 in

tobacco expressing an ipt gene for cytokinin synthesis. *Journal of Plant Physiology*. 171. 559–564.

Pavlíková, D., Zemanová, V., Procházková, D., Pavlík, M., Száková, J., Wilhelmová, N. 2014b. The long - term effect of zinc soil contamination on selected free amino acids playing an important role in plant adaptation to stress and senescence. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 100. 166–170.

Pitter, P. 2009. *Hydrochemie*. 4. vydání. VŠCHT. Praha. 592 s. ISBN 9788070807019.

Prasad, M. N. V. 1995. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. *Environmental and Experimental Botany*. 35. 525-545.

Protokol o těžkých kovech k úmluvě o dálkovém znečišťování ovzduší přesahujícím hranice států – dostupné z
<[http://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/informacni_brozury_chemicke_latky/\\$FILE/OZV-protokol_o_tezkych_kovech-20120327.pdf](http://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/informacni_brozury_chemicke_latky/$FILE/OZV-protokol_o_tezkych_kovech-20120327.pdf)>.

Salaskar, D., Shrivastava, M., Kale, S. P. 2011. Bioremediation potential of spinach (*Spinacia oleracea* L.) for decontamination of cadmium in soil. *Current Science*. 101. 1359-1363.

Sánchez - Pardo, B., Carpena, R. O., Zornoza, P. 2013. Cadmium in white lupin nodules: Impact on nitrogen and carbon metabolism. *Journal of Plant Physiology*. 170. 265– 271.

Sanità di Toppi, L., Gabbrielli, R. 1999. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany*. 41. 105-130.

Sawaki, Y., Iuchi, S., Kobayashi, Y., Kobayashi, Y., Ikka, T., Sakurai, N., Fujita, M., Shinozaki, K., Shibata, D., Kobayashi, M., Koyama, H. 2009. STOP1 regulates multiple genes that protect Arabidopsis from proton and aluminum toxicities. *Plant Physiology*. 150. 281–294.

Sharma, S. S., Schat, H., Vooijs, R. 1999. In vitro alleviation of heavy metal - induced enzyme inhibition by proline. *Phytochemistry*. 49. 1531 -1535.

Sharma, S. S., Dietz, K. J. 2006. The significance of amino acids and amino acid - derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of Experimental Botany*. 57. 711 -726.

Singh, B. K. 1999. *Plant amino acids*. M. Dekker. Inc. New York. 621. ISBN 0-8427-0204-2.

Soudek, P., Petrová, Š., Benešová, D, Kotyza, J., Vaněk, T. 2008. Fytoremediace a možnosti zvýšení jejich účinnosti. *Chemické Listy*, 5, 102: 346 – 352.

Stiborová M., Hudeček J., Páca J. JR., Martínek V., Páca J. 2004. Enzymy metabolizující kontaminanty životního prostředí. *Chemické Listy* 98. 876-890.

Száková, J., Tlustoš, P., Balík, J., Pavlíková, D., Daněk, V. 1999. The sequential analytical procedure as a tool for evaluation of As, Cd and Zn mobility in soil. *Fresenius J Anal Chem*. 363. 594-595.

Tlustoš, P., Száková, J., Hrubý, J., Hartman, I., Najmanová, J., Nedělník, J., Pavlíková, D., Batysta, M. 2006. Removal of As, Cd, Pb, and Zn from contaminated soil by high biomass producing plants. *Plant, Soil and Environment*. 52. 413-423.

Trebichavský, J., Havrdová, D., Blohberger, M. 1997. *Toxické kovy*. NSO – Ing. František Nekvasil. Kutná Hora. 509.

Vaněk, V., Balík, J., Černý, J. 2012. *Výživa polních a zahradních plodin* Vydavatelství odborného tisku Profi Press. Praha. 2007. 167. ISBN 976-80-86726-25-0.

Veselý, J. 1994. Kontaminace českých řek stopovými prvky. *Vesmír*, 10, 558- dostupné z <<http://www.vesmir.cz/clanek/kontaminace-ceskych-rek-stopovymi-prvky>>.

Vodní toky a plochy v k. ú. MČ Praha - Vinoř - dostupné z <http://www.praha-vinor.cz/vodni_toky_a_plochy.htm>.

Voet, D., Voetová, G. J. 1995. *Biochemie*. Victoria Publishing. Praha. 1325. ISBN 8085605449.

Volesky, B., Holan, Z. R. 1995. Biosorption of heavy - metals. *Biotechnology Progress*. 11 (3). 235–250.

Vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 13/1994 Sb. – dostupné z <http://www.mzp.cz/www/platnalegislativa.nsf/d79c09c54250df0dc1256e8900296e32/43b5a6e50d46eb69c12564ea003de8b0?OpenDocument>

Wagner, G. J. 1993. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health, *Adv. Agronomy* 51, 173–212.

Wang, H., Sun, X. 2003. Studies on Heavy Metal Pollution in Soil - Plant System: A Review - College of Soil and Water Conservation. *Forestry Studies in China*, 1, 5: 55 – 62.

Wu, Q. T., Morel, J. L., Gucker, A. 1989. Effect of nitrogen source on cadmium uptake by plants. *Comptes Rendus del Academie des Sciences Serie III Sciences de la vie Life Sciences* 309: 215-220.

Zrůst, J., Hlušek, J., Jůzl, M., Rejlková, M. 2002. Rizika pěstování brambor v půdách kontaminovaných kadmíem, arsenem, beryliem. Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský. 1 -4.