

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin**



**Česká zemědělská  
univerzita v Praze**

**Toxicita arsenu a dalších rizikových prvků pro rostliny**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Iveta Schwarzová**

**Obor studia: Ochrana a využívání přírodních zdrojů**

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

**Konzultant: Ing. Veronika Zemanová, Ph.D.**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Toxicita arsenu a dalších rizikových prvků pro 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 neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 30. 6. 2020

---

## **Poděkování**

Rád(a) bych touto cestou poděkovala paní profesorce Daniele Pavlíkové za vedení, cenné rady a trpělivý přístup, dále doktorce Veronice Zemanové za přínosné konzultace a své rodině za podporu a trpělivost.

# Toxicita arsenu a dalších rizikových prvků pro rostliny

## Souhrn

Kontaminace půd rizikovými prvky je environmentální problém, kterým je postiženo životní prostředí a má důsledky pro další organismy. Velmi často jde o tzv. staré zátěže, tedy o oblasti, kde v minulosti docházelo v souvislosti s průmyslem (zpravidla metalurgickým nebo zpracujícím uhlí) ke kontaminaci okolního životního prostředí a tyto kontaminace setrvávají v půdě řadu let po ukončení průmyslové činnosti. Cílem práce byla hodnocení změn metabolismu rostlin pěstovaných na půdách kontaminovaných arsenem a dalšími rizikovými prvky (Zn, Cd, Pb). Byly formulovány dvě hypotézy: 1) Kontaminace půd arsenem a dalšími rizikovými prvky ovlivní obsah vybraných živin v rostlině (S, N); 2) Vlivem kontaminace půd dochází ke změnám ve složení vybraných aminokyselin v nadzemní části rostliny a v kořenech. Při experimentu byly použity dvě rostliny; *Pteris cretica* L. var. *Albo-lineata* (PC) a *Pteris straminea* Mett. ex Baker (PS).

Podle dosavadních poznatků je PC hyperakumulátorem arsenu, zatímco PS hyperakumulátorem arsenu není. V nádobovém pokusu byly rostliny pěstovány ve dvou odlišných typech zemin. Prvním typem byla fluvisol – zemina z oblasti řeky Litavky ve Středočeském kraji, která je znečištěná v důsledku dřívější těžby a zpracování polymetalických rud. Obsahy prvků v zemině Litavka byly stanoveny následně: As  $278 \pm 9 \text{ mg.kg}^{-1}$ , Cd  $35,7 \pm 1,4 \text{ mg.kg}^{-1}$ , Pb  $2380 \pm 42 \text{ mg.kg}^{-1}$ , Zn  $3491 \pm 90 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Jako kontrolní byla zvolena černozem modální z lokality Suchdol, která nebyla kontaminována žádnou průmyslovou činností. Obsahy prvků u zeminy Suchdol byly následující: As  $18,8 \pm 1,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ , Cd  $0,42 \pm 0,02 \text{ mg.kg}^{-1}$ , Pb  $32,1 \pm 0,9 \text{ mg.kg}^{-1}$ , Zn  $85,6 \pm 3,6 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Odběry rostlin pro analýzy nadzemní biomasy a kořenů byly provedeny po 90 dnech a 180 dnech pěstování rostlin.

Zvýšený obsah rizikových prvků měl vliv na výnos, a to jak u nadzemní biomasy, tak u kořenů. U PC byl na zemině Litavka o 144 % vyšší výnos nadzemní biomasy proti PS, u kořenů to bylo o 688 %. U arsenu byl v souladu s dosavadními poznatky potvrzena odlišná reakce na kontaminaci půdy u hyperakumulátoru a nehyperakumulující rostliny. Zatímco u hyperakumulátoru byl obsah arsenu v nadzemní biomase i v kořenech přibližně stejný, u nehyperakumulátoru bylo po 90 dnech v kořenech o 121 % více arsenu než v nadzemní biomase. U hyperakumulátoru PC bylo na zemině Litavka o 433 % více arsenu v nadzemní biomase než u nehyperakumulátoru PS, v kořenech pak o 367 % více.

U ostatních rizikových prvků, tedy Pb, Zn, Cd, které ani jedna z rostlin nehyperakumulovala, lze pozorovat u výsledků obdobný trend. Olovo je málo mobilní a

akumulovalo se v kořenech, u PC došlo mezi odběry k nárůstu o 102 %, u PS byl nárůst o 30 %. Obsah Zn u obou rostlin pěstovaných na zemině Litavka lze označit za fyto toxický, u PC byl nárůst obsahu Zn v nadzemní biomase o 50 %, v kořenech pak o 67 %, u PS byl nárůst Zn v nadzemní biomase o 86 %, v kořenech o 106 %. Kadmium se kumulovalo zejména v kořenech; u PC byl mezi odběry nárůst o 88 % v nadzemní biomase a o 99 % v kořenech, u PS byl nárůst obsahu Cd o 100 % v nadzemní biomase a o 139 % v kořenech.

U PS kontaminace ovlivnila metabolismus síry a dusíku; v pozdější fázi růstu docházelo k odumírání kořenů a senescenci a ke kumulaci dusíku a síry v kořenech. Rozdílné koncentrace rizikových prvků v zemině měly vliv i na sledované aminokyseliny. PS vykazovala ve srovnání s PC o 31 % vyšší nárůst prolinu, který se vytváří při environmentálním stresu. V případě glutaminu byl ve srovnání s kontrolou pozorován výrazný nárůst jeho obsahu u rostlin pěstovaných na zemině Litavka. U PC to bylo o 110 % více oproti kontrole, u PS o 184 %. Vzhledem k tomu, že tato zemina obsahovala vysoké koncentrace rizikových prvků, tedy stresové prostředí, docházelo ke kumulaci glutaminu, který rostliny nadále nedokázaly využít. Bylo potvrzeno, že ze dvou výše studovaných kapradin je PS citlivější vůči stresu způsobeným zvýšenou koncentrací rizikových prvků přítomných v půdě.

**Klíčová slova:** aminokyselina; hyperakumulátor; stres; toxicita

# Toxicity of arsenic and other risk elements for plants

## Summary

Contamination of soils by risk elements is an environmental problem that affects the environment and has consequences on other organisms. Very often these are the so-called old burdens, areas where contamination of the surrounding environment occurred in connection to industry (usually metallurgical or coal processing) and these contaminations persist in the soil for many years after the end of industrial activity. The goal of this work was assessment of changes in the metabolism of plants grown on soils contaminated by arsenic and other risk elements (Zn, Cd, Pb). Two hypotheses were formulated: 1) Contamination of soils by arsenic and other risk elements will affect the content of selected nutrients in plants (S, N); 2) Due to soil contamination, there are changes in the composition of selected amino acids in above ground part of the plant and in the roots. Two plants were used in the experiment *Pteris cretica* L. var. *Albo-lineata* (PC) and *Pteris straminea* Mett. ex Baker (PS).

According to current knowledge, PC is an arsenic hyperaccumulator, while PS is not an arsenic hyperaccumulator. In a pot experiment, the plants were grown in two different types of soil. The first type was fluvisol - soil from the Litavka river area in the Central Bohemian Region, which is polluted as a result of previous mining and processing of polymetallic ores. The contents of elements in the Litavka soil were determined as follows: As  $278 \pm 9 \text{ mg.kg}^{-1}$ , Cd  $35.7 \pm 1.4 \text{ mg.kg}^{-1}$ , Pb  $2380 \pm 42 \text{ mg.kg}^{-1}$ , Zn  $3491 \pm 90 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Modal chernozem from the Suchdol locality, which was not contaminated by any industrial activity, was chosen as a control. The element contents of Suchdol soil were as follows: As  $18.8 \pm 1.1 \text{ mg.kg}^{-1}$ , Cd  $0.42 \pm 0.02 \text{ mg.kg}^{-1}$ , Pb  $32.1 \pm 0.9 \text{ mg.kg}^{-1}$ , Zn  $85.6 \pm 3.6 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Plant samples for aboveground biomass and root analyzes were performed after 90 days and 180 days of plant cultivation.

The increased content of risk elements had an effect on the yield, both for aboveground biomass and for roots. For PC on Litavka soil, the yield of aboveground biomass was 144 % higher than for PS, for roots it was 688 %. In accordance with previous findings, a different response to soil contamination was confirmed for arsenic in hyperaccumulator and non-hyperaccumulating plants. While in the hyperaccumulator the content of arsenic in aboveground biomass and in the roots was approximately the same, in the non-hyperaccumulator after 90 days there was 121 % more arsenic in the roots than in the aboveground biomass. In the case of the PC hyperaccumulator, there was 433 % more arsenic in the above-ground biomass on the Litavka soil than in the non-hyperaccumulator PS, and 367 % more in the roots.

For other risk elements, ie Pb, Zn, Cd, which none of the plants accumulated, a similar trend can be observed in the results. Lead is less mobile and has accumulated in the roots, with PC there was an increase of 102 % between samples, with PS there was an increase of 30 %. The content of Zn in both plants grown on Litavka soil can be described as phytotoxic, in PC there was an increase in Zn content in aboveground biomass by 50 %, in roots by 67 %, in PS there was an increase in Zn in aboveground biomass by 86 %, in roots by 106 %. Cadmium accumulated mainly in the roots; for PC there was an increase of 88 % in aboveground biomass and 99 % in roots between samples, for PS there was an increase of Cd content by 100 % in aboveground biomass and by 139 % in roots.

In PS, contamination affected sulfur and nitrogen metabolism; in the later phase of growth, root death and senescence occurred and nitrogen and sulfur accumulated in the roots. Different concentrations of risk elements in the soil also affected the monitored amino acids. Compared to PC, PS showed a 31 % higher increase in proline, which is formed during environmental stress. In the case of glutamine, a significant increase in its content was observed in plants grown on Litavka soil compared to the control. For PC it was 110 % more than for control, for PS by 184 %. Due to the fact that this soil contained high concentrations of risk elements, ie a stressful environment, there was an accumulation of glutamine, which the plants could no longer use. It was confirmed that of the two ferns studied above, PS is more sensitive to stress caused by increased concentrations of risk elements present in the soil.

**Keywords:** amino acid; hyperaccumulator; stress; toxicity

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Vědecká hypotéza a cíle práce</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše</b>	<b>3</b>
<b>3.1</b>	<b>Arsen</b>	<b>3</b>
3.1.1	Fyzikální a chemické vlastnosti arsenu	3
3.1.2	Toxicita arsenu	4
3.1.3	Zdroje arsenu v životním prostředí	6
3.1.3.1	Přírozené zdroje	6
3.1.3.2	Antropogenní zdroje	6
3.1.4	Mobilita arsenu v půdách	8
3.1.5	Vliv arsenu na rostliny	9
<b>3.2</b>	<b>Zinek</b>	<b>9</b>
<b>3.3</b>	<b>Kadmium</b>	<b>11</b>
<b>3.4</b>	<b>Olovo</b>	<b>13</b>
<b>3.5</b>	<b>Fytoremediace a hyperakumulátory</b>	<b>15</b>
3.5.1	Fytoremediace	15
3.5.2	Hyperakumulátory	19
<b>3.6</b>	<b>Aminokyseliny</b>	<b>21</b>
3.6.1	Kyselina glutamová	22
3.6.2	Fytochelatiny	22
3.6.3	Glutamin	23
3.6.4	Prolin	24
<b>4</b>	<b>Metodika</b>	<b>26</b>
<b>4.1</b>	<b>Lokalita Příbram Litavka</b>	<b>26</b>
<b>4.2</b>	<b>Nádobový pokus</b>	<b>27</b>
<b>4.3</b>	<b>Analýzy</b>	<b>27</b>
4.3.1	Stanovení As, Cd, Pb, Zn a S	27
4.3.2	Stanovení celkového obsahu N	28
4.3.3	Obsah aminokyselin stanoven na GC-MS	28
<b>5</b>	<b>Výsledky</b>	<b>29</b>
<b>5.1</b>	<b>Výnos biomasy</b>	<b>29</b>
<b>5.2</b>	<b>Obsah arsenu</b>	<b>31</b>
<b>5.3</b>	<b>Obsah kadmia</b>	<b>34</b>
<b>5.4</b>	<b>Obsah olova</b>	<b>36</b>
<b>5.5</b>	<b>Obsah zinku</b>	<b>39</b>
<b>5.6</b>	<b>Obsah síry</b>	<b>41</b>



<b>5.7</b>	<b>Obsah dusíku.....</b>	<b>43</b>
<b>5.8</b>	<b>Obsah aminokyselin.....</b>	<b>45</b>
<b>6</b>	<b>Diskuze.....</b>	<b>48</b>
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>53</b>
<b>8</b>	<b>Literatura .....</b>	<b>54</b>
<b>9</b>	<b>Seznam použitých zkratk a symbolů.....</b>	<b>62</b>
<b>10</b>	<b>Samostatné přílohy .....</b>	<b>I</b>

# 1 Úvod

V dnešní době, kdy je problematika znečištění životního prostředí často skloňována v nejrůznějších oborech, je studium dopadů znečištění velmi aktuální. S rozvojem technologií a průmyslu vznikají odpady a různá další sekundární znečištění, která jsou s průmyslem, až už se jedná o chemický, farmaceutický, uhelný, kovozpracující, automobilový a mnohé další, spojeny a mohou mít značně negativní a dlouhodobé dopady na životní prostředí. Jelikož jsou všechny trofické úrovně mezi sebou provázány, může být rozsah kontaminace opravdu široký.

Při úniku kontaminantu do půdy je látka dále šířena půdní vodou, přičemž může zasáhnout poměrně velké území a je obtížné kontaminant z půdy odstranit, kontaminace navíc mohou v půdě přetrvávat stovky let. S příjmem vody a ostatních prvků z půdy se tyto látky dostávají do rostlin (u některých rizikových prvků je možný i vstup do rostliny prostřednictvím pórů) a potravinovým řetězcem může být riziková látka šířena dále. Během šíření rizikové látky prostředím může rovněž dojít ke změně její toxicity – může to být například v důsledku oxidace nebo redukce a tato látka může být více či méně toxická oproti té vstupní, která se dostala do životního prostředí.

V případě arsenu je oxidační číslo velmi zásadní, ať už z hlediska toxicity jednotlivých forem, tak z odlišnosti mechanismu, kterým se váže v rostlině, což má dopad na různé skupiny látek pro rostlinu nezbytných. Obecně lze říci, že pro rostliny má přítomnost rizikových prvků vliv v mnoha oblastech, jako je vazba na proteiny a jejich následná inaktivace, kompetice s jinými ionty, inhibice transportu vody, vytěšňování iontů nebo zpomalení růstu kořenů, což snižuje příjem vody a živin rostlinou (Hall, 2002).

Schopnosti rostlin absorbovat rizikové látky z půdy je využíváno při fytořemediaci, což je metoda, při které je využíváno rostlin ke snižování kontaminace v půdě. Mezi hlavní výhody fytořemediace patří její ekonomická nenáročnost, možnost využití pro široké spektrum kontaminantů, využití *in situ*, šetrnost k životnímu prostředí (Vaněk et al., 2017).

K fytořemediaci mohou být používány hyperakumulátory, což jsou rostliny, které jsou schopny na kontaminovaných půdách akumulovat neobvykle vysoké množství toxických prvků v nadzemní části biomasy. Aby mohla být rostlina označena jako hyperakumulátor, musí splňovat dva parametry, a sice akumulovat více než 1000 mg prvku na 1 kg sušiny (Brooks, 1977 in Soudek et al., 2006) a dále musí být biokoncentrační faktor větší než 1.

## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

Cílem práce je hodnocení změn metabolismu rostlin pěstovaných na půdách kontaminovaných arsenem a dalšími rizikovými prvky (Zn, Cd, Pb).

Hypotéza:

1) Kontaminace půd arsenem a dalšími rizikovými prvky ovlivní obsah vybraných živin v rostlině (S, N).

2) Vlivem kontaminace půd dojde ke změnám ve složení vybraných aminokyselin v nadzemní části rostliny a v kořenech.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Arsen

#### 3.1.1 Fyzikální a chemické vlastnosti arsenu

Arsen je toxický polokov, který náleží do V. A skupiny a 4. periody v periodické tabulce prvků. Jeho atomová konfigurace je  $[\text{Ar}] 3d^{10}4s^24p^3$ , atomové číslo je 33, jeho molární hmotnost je 74,92 g/mol a k sublimaci dochází při 887 °C (Housecroft & Sharpe, 2014). Jak je patrné z jeho atomové konfigurace, ve sloučeninách se vyskytuje v oxidačním čísle: -III, III, V. Arsen je běžně zastoupen v životním prostředí, Eisler (2007) uvádí, že se jedná o 20. nejčastější prvek co do rozšíření v zemské kůře. Vyšší obsah nacházíme zejména v případě sedimentárních hornin.

Arsen velmi dobře tvoří sloučeniny se sírou, v důsledku toho je součástí mnoha sulfidických minerálů. Další vazbou typickou pro arsen je vazba na železo (Koplík et al., 1997). Typickými minerály obsahujícími arsen jsou realgar  $\text{As}_4\text{S}_4$ , arsenopyrit  $\text{FeAsS}$ , löllingit  $\text{FeAs}_2$ . V horninách doprovází například rudy niklu, kobaltu, antimonu, stříbra, zlata a železa, dále je obsažen v uhelných ložiscích, s čímž souvisí častý vyšší obsah arsenu v životním prostředí poblíž hutí a metalurgických dolů. Arsen je získáván jako vedlejší produkt při zpracování rud, oxid arsenitý, který vzniká při metalurgickém zpracování rud je zachycován na elektrofiltrech a je základem výroby prakticky všech arsenových preparátů (Bencko et al. 1995).

V průmyslu je arsen používán při výrobě polovodičů, zejména je využívána jeho sloučenina arsenid gallitý  $\text{GaAs}$ , jehož výhodou oproti křemíku je vysoká elektronová pohyblivost ( $8500 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , zatímco křemík má  $1500 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ) a výborné optické vlastnosti. Na druhou stranu má jeho použití i své nevýhody, jako je nutnost ošetření  $\text{N}_2$  kvůli zabránění přístupu atmosférických vlivů, které by způsobily hydrolyzu arsenidu gallitého. Mezi další nevýhody ve srovnání s křemíkem patří jeho křehkost, výrazně vyšší ekonomická náročnost, a také mnohem nižší tepelná vodivost, kvůli čemuž může docházet přehřívání komponentů (Housecroft & Sharpe, 2014). Další využití arsenu je například ke zvýšení pevnosti slitin s olovem a také při výrobě olovnatých sloučenin kulového tvaru, přidání elementárního kovového arsenu do slitiny zvyšuje povrchové napětí, což napomáhá dosažení kulového tvaru daného výrobku – používá se například při výrobě broků. Pro zlepšení fyzikálních vlastností (odolnost vůči korozi, mechanická odolnost, vyšší bod tuhnutí) se arsen rovněž používá ve slitinách s mědí (Bencko et al., 1995).

Hlavním zdrojem získávání arsenu je zahřívání arsenopyritu za nepřístupu vzduchu, kdy arsen kondenzuje jako sublimát (Housecroft & Sharpe, 2014).

### 3.1.2 Toxicita arsenu

Arsen je vysoce toxickou látkou, jejíž toxicita je známa po staletí a v minulosti byl jedním z nejvíce používaných jedů a s otravami arsenem se setkáváme již od starověku. Mezi oběti otravy arsenem patřili například Britannicus, Kateřina Medicejská, papež Alexandr VI., náboženský reformátor Savonarola, Alžběta Báhory a mnozí další (Klusoň, 2015). Patrně i z vysoké účinnosti a nebezpečnosti arsenu vychází i jeho název – řecké arsenikon znamená „mocný, účinný, silný“ (Bencko et al., 1995). S odkazem na otravu arsenem se setkáváme i v literatuře, např. Maryša bratří Mrštíků nebo Paní Bovaryová Gustava Flauberta. Zásadním průlomem byl v polovině 19. století objev důkazu přítomnosti arsenu, o který se zasloužil anglický chemik James Marsh, po němž se tento analytický test jmenuje – Marshova zkouška. Jeho výhodou byla možnost dokázat přítomnost arsenu ve tkáních, což bylo době, kdy byl stále arsen stále hojně využíván k otravám, zásadní pro forezní vědu (Oremland, 2003).

Marshova zkouška je založena na vysoce redukční schopnosti vodíku nascentního vodíku vznikajícího při reakci kyseliny sírové se zinkem. Při testu je do baňky se směsí zinku s kyselinou sírovou přikapáván vzorek, který je testován na přítomnost arsenu. Vodík přítomné arseničnany či arsenitany redukuje na plynný arsan  $AsH_3$ , který je jímán z baňky přes filtr s chloridem olovnatým  $PbCl_2$ , kde dochází k selektivnímu zachycení sulfanu a vzniká černá sraženina sulfidu olovnatého  $PbS$ . Konec trubice, která vyvádí arsan z baňky, je zahříván nad kahanem, čímž dochází k termickému rozkladu a vzniku vodíku a elementárního arsenu, který kondenzuje na stěnách trubice a vytváří kovové zrcátko (The Columbia Electronic Encyclopedia, 2012).

V dnešní době se arsen stanovuje spektrofotometricky. Při stanovení veškerého arsenu ve vodě se používá metoda s diethyldithio-karbaminanem stříbrným. Tato metoda je založena na redukci sloučenin arsenu tetrahydridoboritanem na arsan, který je veden do absorberu obsahujícího roztok diethyldithio-karbaminanu a morfolinu v trichlormethanu. Vzniká roztok červené barvy, které se fotometruje. Arsen lze touto metodou stanovit v koncentračním rozmezí od 0,001 mg/l do 0,1 mg/l, pro vyšší koncentrace arsenu je potřeba vhodné zředění. Tato metoda je vhodná pro stanovení arsenu jak v přírodních vodách, tak i ve vodách odpadních.

Při stanovení arsenu v půdě se používá rovněž spektroskopická metoda, a sice rentgenová fluorescence. Touto metodou je možné stanovit koncentrace většiny prvků a v závislosti na tom,

o jaký prvek se jedná, je možné stanovit koncentraci 0,001 % – 100 %. Pro stanovení koncentrace arseničnanů, arseničnanů, MMA (kyselina monomethylarseničná), DMA (kyselina dimethylarseničná), arsenocholinu a arsenobetainu se používá ICP-MS-hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Detekční limity pro stanovení arsenu jsou 0,4 - 0,8 mg/l (Integrovaný registr znečišťování, n.d.). V lidském těle lze arsen stanovit třemi metodami, a to již zmíněnou atomovou absorpční spektrometrií, neutronovou aktivační analýzou a RTG fluorescenční analýzou. Neutronovou a fluorescenční analýzou lze sledovat odlišné koncentrace arsenu podél délky vlasu (Klusoň, 2015).

Míra toxicity je závislá nejen na koncentraci, ale zejména na oxidačním čísle arsenu, protože v závislosti na oxidačním čísle dochází k odlišnému způsobu navázání se ve sloučenině. Arsen v oxidačním čísle +III má silnou afinitu k síře, která je v organismech součástí thiolové skupiny -SH. Thiolová skupina je u člověka součástí více než 200 enzymů a biokatalyzátorů. Přítomnost arsenu v organismu vede k selektivnímu navázání arsenu na síru, a tím enzym přestává správně fungovat nebo je zcela inaktivován. V případě arsenu v oxidačním čísle +V je mechanismus odlišný, arsen vytěsňuje pětímocný fosfor a nahrazuje jej, což vede k rychlé hydrolýze vazeb v adenosintrifosfátu (ATP), který je v organismu zásadní pro hospodaření s energií (Klusoň, 2015).

Akutní otrava v dnešní době není příliš častá. V minulosti byl však arsen velmi často využíván pro otravy, jak již bylo zmíněno. Toxické účinky má arsen již při dávce 30-50 mg, průměrnou letální dávku uvádí Bencko et al. (1995) okolo 200-300 mg. Symptomy otravy jsou nevolnost, zvracení, silný průjem, který vede k vyšší propustnosti cév, a tím i vyššímu průniku a následnému transportu v organismu. Zhruba 4-8 hodin po požití dochází k selhání ledvin a dýchání v důsledku plicního edému (Ratnaike, 2003).

Chronická otrava arsenem, který je karcinogenní a teratogenní látkou, je velkým zdravotním problémem v mnoha oblastech světa, kde z různých důvodů dochází k expozici anorganickým formám arsenu. Epidemiologické studie ukazují, že v důsledku expozice dochází ke zvýšení pravděpodobnosti rakoviny plic, kůže, jater, lymfatického systému a dále k poruchám krvetvorby. Toto riziko se zvyšuje zejména u osob, které jsou expozici arsenu dlouhodobě vystaveny, např. horníci při získávání a zpracování rud obsahujících arsen, osoby pracující s pesticidy nebo v oblastech, kde je pitná voda kontaminována arsenem (Eisler, 2007).

### **3.1.3 Zdroje arsenu v životním prostředí**

#### **3.1.3.1 Přírodní zdroje**

Arsen se do životního prostředí dostává v důsledku zvětrávání hornin a minerálů obsahujících arsen, dále vulkanickou činností a biologickou aktivitou. Právě zvětrávání hornin obsahujících arsen vedlo k rozsáhlé kontaminaci vod v Bangladéši. Při vzniku Himálaje, došlo k velmi rychlému zdvihu horniny do 3–4 km a uvolnění velkého množství zvětralin, mj. obsahující arsen, které byly při monzunových povodních transportovány Gangou až do její delty, kde se dnes nachází Bangladéš. Arsen by za běžných podmínek byl dlouhodobě vázán a spolu s dalšími sedimenty hluboko uložen. Sedimenty obsahující vysoký podíl organické hmoty, se octnou v redukčních podmínkách a bakterie, které jsou částečně litotrofní, nemohou využívat kyslík z podzemních vod. Místo toho spotřebovávají při oxidaci organických látek kyslík z hydroxidů železa, což vede k jeho redukci a následnému částečnému rozpouštění železa a uvolňování adsorbovaného arsenu.

Pohyb arsenu v jílových sedimentech je velmi pomalý a za normálních podmínek by životní prostředí příliš neohrozil. Bohužel se delta Gangy nachází v Bangladéši, což je jedna z nejlidnatějších zemí na světě a dlouhodobě je zde problém s nedostatkem pitné vody. Voda, která by nebyla kontaminována, se nachází až v pobřežních vodách. Povrchové vody jsou vysoce kontaminovány bakteriemi, a proto bylo vytvořeno tisíce vrtů k získání podzemních vod. Toto opatření sice snížilo výskyt parazitárních onemocnění, ale protože jsou spodní vody vysoce kontaminovány arsenem, dochází k chronické otravě arsenem. Limitní obsah arsenu v pitné vodě stanovený WHO je 0,01 mg/l, analyzované vzorky v deltě Gangy obsahovaly více než 0,05 mg/l (Cílek, 1998). Kontaminovaná voda s sebou nese nejen zdravotní problémy, je-li používána jako pitná, ale také při použití kontaminované vody jako závlahy rostlin negativně ovlivňuje i další články potravního řetězce.

#### **3.1.3.2 Antropogenní zdroje**

Arsen se do životního prostředí dostává také v důsledku antropogenní činnosti. Hlavními zdroji antropogenní činnosti vedoucí ke kontaminaci životního prostředí arsenem jsou zejména průmyslové zdroje a zemědělství. Z průmyslových zdrojů je významná kontaminace v důsledku důlní činnosti a zpracovávání kovů. Typ emisí je velmi závislý na druhu důlní činnosti, velkým zdrojem je např. těžba a spalování uhlí.

Arsen je chalkofilní prvek, a proto je pro něj typická vazba na železo. Nachází se mimo jiné v uhlí v sulfidech železa. Mezi typické sloučeniny síry obsahující arsen patří arsenopyrit  $\text{FeAsS}$ , auripigment  $\text{As}_2\text{S}_3$  a realgar  $\text{As}_4\text{S}_4$ . Poslední dva zmíněné se hojně nacházejí v severočeské hnědouhelné pánvi a v celé oblasti Krušných hor se vyskytují sulfidy arsenu a arseničnany. V této oblasti je hnědé uhlí velmi bohaté na pyrit  $\text{FeS}_2$ , jehož charakteristické doprovodné minerály patří arsenopyrit  $\text{FeAsS}$  a löllingit  $\text{FeAs}_2$ . Při spalování uhlí pak dochází k emisi oxidu arsenitého do ovzduší (Šafářová & Řehoř, 2006).

Vzhledem k množství spalovaného hnědého uhlí to je nezanedbatelné množství a jedná se o riziko jak pro lidské zdraví, tak pro životní prostředí. Při metalurgických procesech, jako jsou tavení, odlévání aj., které probíhají za velmi vysokých teplot, dochází k emisi páry, která obsahuje kovové částice. Pára obsahující rizikové prvky se následně smísí s vodou obsaženou v atmosféře a dochází tak ke vzniku kontaminovaného aerosolu, který je následně prostřednictvím suché (vítr) nebo mokré (dešťové srážky) depozice rozptýlen a dochází tak ke kontaminaci půd a vod (Nagajyoti, 2010).

Ke kontaminaci rovněž dochází při splachu z důlních odpadů, při korodování kovů, při transportu rud, vyluhování odpadů vzniklých při spalování uhlí, které sice obsahují poměrně vysoké koncentrace rizikových prvků, na druhou stranu se jedná o poměrně malá území, jako jsou skládky a jejich bezprostřední okolí. Dalším zdrojem kontaminace v důsledku antropogenní činnosti je zemědělství. Až do druhé poloviny 20. století byl arsen často využíván jako pesticid, posléze došlo k používání organickými sloučeninami, které jsou efektivnější.

Arsen se používal i jako součást prostředku na moření dřeva pro stavební účely, které díky moření bylo totiž odolné vůči larvám a hmyzu. V jednom metru krychlovém namořeného dřeva však bylo obsaženo 0,8 kg arsenu, což je, vzhledem k množství dřeva, které bylo pro stavební účely použito, opravdu nezanedbatelné množství a jednalo se o riziko pro životní prostředí. Další nebezpečí spočívalo v tom, že při spálení takto kontaminovaného dřeva se rizikové prvky dostávaly do ovzduší a následně byly prostřednictvím suché či mokré depozice transportovány na větší území a kontaminaci vod a půd. Při hnití dřeva a jeho následném rozkladu rovněž docházelo k uvolňování arsenu do půdy. Po nahrazení tohoto prostředku k ochraně dřeva šetrnějším, který arsen neobsahuje, došlo k rapidnímu poklesu celkového množství arsenu, který pocházel z průmyslových odvětví a ze zemědělství (Housecroft & Sharpe, 2014).



### 3.1.4 Mobilita arsenu v půdách

Při studování obsahu arsenu v půdě je důležitý nejen celkový obsah arsenu, ale zejména dostupný obsah. Ačkoliv v některých případech může být celkový obsah vysoký, může se jednat o arsen, který je součástí minerálů a je pevně vázán chemickými vazbami a nedochází tak k jeho uvolnění do půdního roztoku, odkud by byl dostupný organismům a mohl kontaminovat vodu a půdu.

Mobilitu arsenu v půdě ovlivňují fyzikální a chemické podmínky, jako jsou pH, redox potenciál, přítomnost a zastoupení dalších iontů v prostředí, provzdušňenost půdy, teplota, podíl jílu a organického materiálu a aktivita rhizosférických mikrobiálních společenstev.

V redukčních podmínkách převládá trojmocný arsen As(III), který se při pH nižším než 9,2 vyskytuje především v anorganické formě jako elektroneutrální sloučenina  $\text{H}_3\text{AsO}_3$ . S rostoucím pH As(III) disociuje na oxyanionty:  $\text{H}_2\text{AsO}_3^-$ ,  $\text{HAsO}_3^{2-}$  a  $\text{AsO}_3^{3-}$ . Převládající anorganickou formou arsenu je v oxidačních podmínkách vod a půd As(V). Při poklesu pH pod hodnotu 2 se As(V) vyskytuje v neutrální formě jako kyselina arseničná  $\text{H}_3\text{AsO}_4$ , která se se zvyšujícím se pH disociuje na oxyanionty:  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ ,  $\text{HAsO}_4^{2-}$  nebo  $\text{AsO}_4^{3-}$  (pH>10). Ostatní formy arsenu, jako je elementární arsen nebo As(-III) se ve vodách a půdách vyskytují jen zřídka (Lešková et al., 2012).

Arsen ve formě As(III) je dominantní specií v redukčních podmínkách, jakými jsou zatopené a zamokřené půdy, například rýžová pole. Zaplavení těchto polí vede ke zvýšení mobility arsenitých iontů do půdního roztoku a ke zvýšení biologické dostupnosti pro rostliny (Zhao et al., 2009).

Právě důsledky, které s sebou nese dlouhodobá expozice arsenu a obsah arsenu v rýži, vedly ke zpřísnění povolených limitů arsenu v rýži a výrobcích z rýže a jsou stanoveny v Nařízení Komise (EU) 2015/1006 ze dne 25. června 2015. Vědecká komise pro kontaminující látky v potravinovém řetězci (CONTAM) při Evropském úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) přijala dne 12. října 2009 stanovisko o arsenu v potravinách. V tomto stanovisku komise CONTAM dospěla k závěru, že prozatímní tolerovatelný týdenní příjem ve výši 15  $\mu\text{g}/\text{kg}$  tělesné hmotnosti stanovený společným výborem odborníků FAO/WHO pro potravinářské přídatné látky (JECFA) již není odpovídající, neboť bylo prokázáno, že anorganický arsen způsobuje vedle rakoviny kůže také rakovinu plic a močového měchýře, a byla zaznamenána řada nepříznivých účinků při expozicích nižších, než byly ty, které přezkoumal JECFA. Nové maximální limity byly stanoveny následně:

Obsah anorganického arsenu (mg/kg)	
Nepředpařená omlétá rýže	0,20
Předpařená a loupaná rýže	0,25
Pufované rýžové chlebičky, rýžové oplatky, rýžové kreky	0,30
Rýže určená pro výrobu potravin pro kojence a malé děti	0,10

Tab. 1: Povolené limity pro obsah anorganického arsenu v potravinách. Zdroj: <https://eur-lex.europa.eu/> [cit. dne 22.03.2020]

### 3.1.5 Vliv arsenu na rostliny

Arsen je pro rostliny dostupný jen v rozpustných formách a rostliny jej přijímají kořeny z půdního roztoku anebo z vody. Toxicita arsenu na rostliny a její následné projevy a důsledky jsou závislé na mnoha faktorech, jako je koncentrace arsenu, jeho forma (v závislosti na oxidačním čísle dochází k odlišným mechanismům navázání arsenu), jaké sloučeniny je arsen součástí (organická, anorganická). V případě anorganického arsenu As(III) dochází k reakci s dithiolovými skupinami proteinů, což vede k inhibici enzymových reakcí, které vyžadují volné sulfhydrylové skupiny, a to způsobuje membránovou degradaci a buněčnou smrt. V případě arseničnanu As(V) dochází vzhledem k podobným chemickým vlastnostem k soupeření arseničnanu s fosfátem a arsen zde působí jako odpojovač, což zapříčiňuje nedostatečnou dávku buněčné energie (Naidu, 2006).

Dále je důležité stádium růstu rostliny, protože zejména v období klíčení jsou rostliny na rizikové prvky velmi citlivé, neboť nemají dostatečně vyvinuty obranné mechanismy (Lešková et al., 2012). Za netoxickou hladinu pro rostliny je považováno 0,01–1 mg/kg, zatímco 3–10 mg/kg je již považováno za fyto toxické (Chaney, 1985 in Száková et al., 2007). Ze zemědělských plodin jsou na vliv arsenu nejcitlivější luskoviny. Fytotoxicita arsenu se projevuje plasmolýzou pletiv kořenů, žloutnutím listů, které může vést až k nekrotickým špičkám a okrajům listů (Száková et al., 2007).

## 3.2 Zinek

Zinek je měkký kov namodralé barvy, který se běžně používá do slitin. Nejznámější slitinou zinku je mosaz, která je tvořena zinkem a mědí a slitiny zinku jsou hojně využívány. Zinek se také používá pro galvanizaci neboli pozinkování, což je protikorozní ochrana, která se používá na kovové výrobky, které nebudou příliš mechanicky namáhané (Trebichavský et al., 1997). Dále se zinek používá jako pigment do barev a keramických glazur.

Zinek je esenciálním prvkem jak pro člověka, tak pro rostliny a zvířata, jeho nízká koncentrace je tedy pro správnou funkci organismu nezbytná. Zinek je důležitý pro správnou funkci desítek enzymů a s nimi spojených biologických pochodů (Kafka & Punčochářová, 2002). Běžný obsah zinku v rostlině se pohybuje kolem 26–150 mg/kg sušiny (Alloway et al., 1990 in Tlustoš et al., 2006), za deficienci je považován stav, kdy dochází k poklesu obsahu na méně než 20 mg/kg (Boawn & Ramussen, 1971; Vitosh et al., 1994 in Kabata–Pendias & Mukherjee, 2007), více než 400 mg/kg zinku je považováno za obsah toxický (Alloway et al., 1990 in Tlustoš et al., 2006). Smith (1996 in Tlustoš et al., 2006) uvádí jako toxickou koncentraci již 200–300 mg Zn/kg sušiny.

Elektronová konfigurace zinku je  $[Ar] 3d^{10}4s^2$  a nejčastěji se vyskytuje v oxidačním čísle +II (Barbalace K, n.d.). Rostlinami je přijímán jako zinečnatý ion  $Zn^{2+}$ , při vyšším pH může být přijímán i hydroxid zinečnatý  $ZnOH^+$ . Zinek je prvek, který je hojně zastoupený v zemské kůře, jedná se o 24. nejčastější prvek a jeho průměrný obsah je 70 ppm (Adriano, 2001). Kabata–Pendias (2000) uvádí, že zvýšený obsah zinku 80–120 ppm je v přítomnosti mafických minerálů (například slídy, amfiboly, pyroxeny), zatímco v přítomnosti kyselých hornin je obsah zinku jen 40–60 ppm. Podobně jako kadmium má afinitu k síře a vytváří sulfidické vazby. Nejčastějším minerálem obsahujícím zinek je sfalerit  $ZnS$ , který je zároveň rudou a hlavním zdrojem pro průmyslovou výrobu zinku (Adriano, 2001).

V souvislosti s průmyslem vzniká odpad s obsahem zinku, jedná se například o zinkovou strusku, která vzniká při výrobě a slévání zinku, jelikož je zinek obsažen i v uhlí řádově v desítkách až stovkách ppm, dostává se při spalování uhlí zinek do ovzduší. Zinek je rovněž obsažen v popelech ze spalování uhlí. Zvýšená koncentrace zinku v půdě byla pozorována v městských aglomeracích a v blízkosti hald a úpraven rud (Trebichavský et al., 1997). Dále v souvislosti s kovo zpracujícím průmyslem a galvanizací vznikají kaly s obsahem zinku. Z odpadních vod se zinek odstraňuje srážením pomocí hydroxidu nebo síranu vápenatého, při nízkých koncentracích lze použít i ionexy.

Rozpustné formy zinku jsou pro rostliny snadno dostupné a příjem je přímo úměrný koncentraci v živném roztoku, nicméně stupeň absorpce je velmi závislý na druhu rostliny. Složení živného roztoku je velmi důležité, zejména pak přítomnost vápníku (Kabata–Pendias, 2000). Zinek je rostlinami přijímán převážně ve formě  $Zn^{2+}$ , v případě vyššího pH pak ve formě  $ZnOH^+$ . Při přenosu na dálku v xylému se zinek váže buď na organické kyseliny nebo se vyskytuje jako volný dvojmocný kation  $Zn^{2+}$ . Poměrně vysoké koncentrace zinku jsou zejména ve floémové šťávě, kde je zinek součástí nízkomolekulárních organických komplexů. V rostlinách, stejně jako v dalších organismech, se zinek vyskytuje pouze v oxidačním čísle +II

a neúčastní se oxidačně-redukčních reakcí. Metabolické funkce zinku jsou založené na jeho silné tendenci tvořit komplexy ve tvaru čtyřstěnu. Tyto komplexy jsou tvořeny s dusíkem, kyslíkem a zejména sírou a hrají důležitou roli jak ve funkční, tak ve strukturální roli enzymatických reakcí (Marschner, 1995).

Nedostatek zinku je častý u rostlin, které jsou pěstovány na vápenatých půdách nebo na silně zvětralých kyselých půdách. Nízká dostupnost zinku na vápenatých půdách s vysokým pH je způsobena adsorpcí zinku na jíl nebo uhličitan vápenatý  $\text{CaCO}_3$ , namísto toho, aby vznikal ve vodě rozpustný hydroxid zinečnatý  $\text{Zn(OH)}_2$  nebo uhličitan zinečnatý  $\text{ZnCO}_3$ . Mezi charakteristické příznaky nedostatku zinku je zakrnělý vzrůst, radikální zmenšení listů a odumírání vrcholů výhonků, dále inhibice růstu kořenů, která je však nižší než inhibice výhonků.

Při příliš vysoké koncentraci zinku může dojít k tomu, že je zinek pro rostlinu toxický, typickými příznaky toxicity jsou zpomalení růstu kořenů a chlorózy na listech. U bobovitých rostlin může dokonce docházet k inhibici fotosyntézy (Marschner, 1995). Nejeefektivnějším způsobem omezení vysoké hladiny zinku, a tím i snížení toxicity pro rostliny je zvýšení pH půdy, čehož lze účinně dosáhnout vápněním (Marschner, 1995).

Mezi hyperakumulátory zinku patří zejména rostliny čeledi brukvovité *Brassicaceae*, například řeřišničník Hallerův *Arabidopsis halleri* (Broadley et al., 2007), penízek modravý *Noccaea caerulescens* (Tolrà et al., 1996, Broadley et al., 2007), který je schopen akumulovat vysoké koncentrace niklu, Zhao et al. (2000) uvádějí hydroponický experiment, při kterém bylo akumulováno 25 000–35 000  $\mu\text{g Zn/g}$  sušiny, aniž by docházelo k projevům fytoxicity anebo redukci růstu.

### 3.3 Kadmium

Kadmium je kovový prvek, je měkký, lehký, snadno tavitelný, jeho elektronová konfigurace je  $[\text{Kr}] 4d^{10}5s^2$ , molární hmotnost je 112,4 g/mol, atomové číslo je 48 a jeho značka je Cd (Barbalace K, n.d.). Nachází se ve II. B skupině spolu se zinkem a rtutí, stejně jako zinek se vyskytuje převážně v oxidačním čísle +II, existují i kademné sloučeniny, ale ty jsou silně nestálé (Baird, 2003). Kadmium se přirozeně vyskytuje v půdě jako stopový prvek, průměrná koncentrace v půdě činí 0,1–0,5 mg/kg (Kafka & Punčochářová, 2002), Kabata–Pendias & Mukherjee (2007) uvádějí průměrný obsah kadmia v půdě 0,06–1,1 mg/kg, přičemž v důsledku kontaminace může být jeho koncentrace až tisíckrát vyšší (Kafka & Punčochářová, 2002).

Kadmium je velmi toxický kov a vzhledem k jeho toxicitě je jeho praktické využití minimalizováno. Nicméně v minulosti bylo často využíváno jako pigment, sulfid kademnatý CdS byl v minulosti využíván malíři pro svou krásnou žlutou barvu a byl použit například u slavných Van Goghových Slunečnic a je možné, že malířovo dlouhodobé vystavení kadmiu mohlo mít vliv na jeho mentální stav a úzkosti (Baird, 2003).

V geologických strukturách je kadmium často doprovodným prvkem zinku a olova (Friberg et al., 1986 in Tlustoš et al., 2006). Kadmium má značnou afinitu k síře a vyskytuje se převážně v sulfidické vazbě (Trebichavský et al., 1997). Většina kadmia je produkována jako vedlejší produkt těžby zinku. Ke kontaminacím životního prostředí kadmiem často dochází v oblastech, kde se nacházejí hutě olova, zinku a mědi. Dalším zdrojem kontaminace je spalování odpadu, který obsahuje kadmium (Baird, 2003).

Kadmium se do životního prostředí dostává rovněž prostřednictvím mnoha přírodních zdrojů, jako je prach, lesní požáry, vegetace, sopečná činnost, mořské aerosoly nebo podzemní vody (Trebichavský et al., 1997).

Dostupnost kadmia v půdě pro rostlinu je závislá na mnoha fyzikálních, chemických a biologických procesech, které ovlivňují rozpustnost a formu kadmia v půdním roztoku a zejména pak v oblasti rhizosféry. Mezi důležité abiotické faktory patří hodnota pH půdy, obsah hliníku, uhličitánů, oxidů manganu a železa, dále redox potenciál, typ a obsah organické hmoty, obsah vody a hospodaření na půdě a s tím související aplikace hnojů a kalů, fosfátů, dále vápnění půdy (McLaughlin & Singh, 1999).

S klesající hodnotou pH půdy silně stoupá rozpustnost a mobilita kadmia, kadmium je nejpohyblivější při pH 4,4-5,5. Zásadní vliv na jeho přijatelnost má hlavně rozpustnost  $\text{CdCO}_3$ . U kadmia dochází k sorpci a jeho imobilizaci jílovými minerály a huminovými kyselinami. K sorpci však dochází až při vzrůstu pH nad hodnotu 6 (Kabata–Pendias a Pendias, 2001 in Tlustoš et al., 2006). S fulvokyselinami však kadmium vytváří rozpustné cheláty, a proto je mobilita kadmia v půdě dána poměrem huminových kyselin a fulvokyselin (HK:FK). Pokud jsou v půdě dominantní oxidační procesy, kadmium vytváří sloučeniny, které jsou málo mobilní. Za přítomnosti síranů a současné vyšší hodnotě pH dochází k vysrážení kadmia, což vede ke snížení jeho rozpustnosti (Beneš, 1994 in Tlustoš et al., 2006).

Některé zemědělské plodiny kumulují kadmium a ve srovnání s koncentrací kadmia v půdě může být koncentrace v pletivech rostlin mnohonásobně vyšší. Trebichavský et al. (1997) uvádějí, že nejvíce kadmium akumulují houby a listová zelenina, konkrétně salát a špenát. Jedná se tedy o plodiny s vysokým zastoupením v potravinovém řetězci. Další plodinou je tabák, což

je příčinou přítomnosti kadmia v cigaretovém kouři (Kafka & Punčochářová, 2002). Baird (2003) uvádí jako plodiny s možným vyšším obsahem kadmia pšenici, rýži, brambory.

Vyšší riziko kontaminace je zejména na kyselějších půdách, při pH 4–5,5 dochází k migraci asi 80 % kadmia obsaženého v půdě (Trebichavský et al., 1997). Mobilita kadmia je ve srovnání s ostatními rizikovými prvky mnohem vyšší. Kadmium se velmi dobře začleňuje do trofických řetězců. Při testování toxicity u zvířat bylo zjištěno, že díky pozitivnímu antagonistickému působení selenu a zinku dochází ke zmírnění toxicity kadmia (Kafka & Punčochářová, 2002). Zvýšený obsah kadmia snižuje schopnost mikroorganismů rozkládat organickou hmotu, což vede k poškození půdní mikroflóry. Dále má kadmium negativní vliv na fixaci vzdušného dusíku, protože brzdí mineralizaci (Tlustoš et al., 2006).

Mezi projevy toxicity kadmia patří narušení enzymatické aktivity a syntézy antokyanu, omezený růst nebo poškození kořenů, dále inhibice fotosyntézy a snížení odolnosti vůči vodnímu stresu (Kabata–Pendias & Mukherjee, 2007).

Jedním z největších environmentálních problémů v souvislosti s kadmiem je oblast Jintsu River Valley v Japonsku, kde se pěstuje rýže na rýžových polích, která jsou zavlažována vodou z řeky, která je dlouhodobě kontaminovaná kadmiem z přilehlých zinkových hutí a souvisejícího hutního průmyslu (Baird, 2003).

Hyperakumulátory kadmia jsou rostliny z čeledi brukvovité *Brassicaceae*. Typickým hyperakumulátorem kadmia je *Noccaea caerulea*, neboli penízek modravý (Boominathan et al., 2003), u kterého Koptsik (2014) akumulaci až 5000 mg Cd/kg sušiny.

### 3.4 Olovo

Olovo je toxický, měkký kov s nízkou teplotou tání 327,5 °C a vysokou relativní atomovou hmotností 207,2. Jedná se o kov, který je hojně využíván již od starověku, konkrétně od objevu kupelace okolo roku 3000 př.n.l. Kupelace je proces, při kterém dochází k oddělování drahých kovů (v tomto případě zejména stříbra) od méně ušlechtilých kovů (Adriano, 2001). Princip kupelace je založen na vhánění vzduchu do taveniny stříbra a olova, následně dochází k oxidaci olova a oxidy olova se drží na hladině, odkud mohou být odstraňovány (Houser P, 2013). Objem produkce olova rapidně vzrostl v době Římské říše, kdy roční produkce činila až 73 000 t, následně v době středověku došlo k významnému poklesu a opětovný nárůst byl zaznamenán v době průmyslové revoluce, kdy došlo k nárůstu na 91 000 t/rok a maxima bylo dosaženo počátkem 20. století, kdy produkce až činila celosvětově až 106 tisíc t/rok (Adriano, 2001).

Elektronová konfigurace olova je  $[\text{Xe}] 4f^{14}5d^{10} 6s^2 6p^2$ , typické oxidační číslo pro olovo je +II, mohou existovat i sloučeniny v oxidačním čísle +IV (Barbalace K, n.d.). Olovo patří k méně rozšířeným prvkům v zemské kůře, jeho průměrný obsah činí 15 ppm, nicméně mezi těžkými kovy s atomovým číslem vyšším než 60 se olovo řadí k nejhojnějším (Adriano, 2001). Sloučeniny olova jsou zpravidla nerozpustné (Kabata–Pendias & Mukherjee, 2007). Olovo je součástí mnoha minerálů a hornin, vyskytuje se zpravidla ve formě olovnatých sloučenin, jako ryzí kov se vyskytuje zřídka (Trebichavský et al., 1997). Nejběžnějším průmyslovým zdrojem olova je sulfid olovnatý neboli galenit ( $\text{PbS}$ ), který obsahuje 87 hm. %, dále je olovo obsaženo v cerussitu ( $\text{PbCO}_3$ ) a v anglesitu  $\text{PbSO}_4$ . Olovo je jedním z mála prvků, kterého na Zemi přirozeně přibývá – je totiž na konci rozpadových řad radioaktivních prvků (Kenšová et al., 2014). Nejvýznamnějším minerálem obsahujícím olovo je galenit  $\text{PbS}$ , který může obsahovat příměsi Ag, Au, Cd, Ga, In, Se, Tl, As, Bi, Sb a Sn.

Přirozený obsah olova v půdách pochází z matečných hornin. V kyselých půdách se olovo vyskytuje ve formě  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{PbOH}^+$ , v alkalických půdách potom ve formě  $\text{Pb}(\text{OH})_2$ ,  $\text{PbCl}^+$ ,  $\text{PbO}$ ,  $\text{PbSO}_4$  a  $\text{PbBr}_2$ . Olovo se řadí k nejméně mobilním prvkům v půdách, jeho mobilitu ovlivňují jílové minerály a organická hmota a dále oxidy manganu a železa a fosfáty (Trebichavský et al., 1997). Na pohyb olova v půdním profilu mají vliv půdotvorné procesy, klima a dále mikrobiální aktivita (Pourrut et al., 2011). Obvykle se v půdě olovo akumuluje v horních vrstvách půdy, zpravidla do mocnosti několika centimetrů pod povrchem a s rostoucí hloubkou v půdním profilu obsah olova klesá (Adriano, 2001). Celkový průměrný obsah olova v různých půdách byl průměrně vypočten na 25 mg/kg (Kabata–Pendias & Mukherjee, 2007).

Olovo se řadí mezi hlavní polutanty jak v terestrických, tak aquatických ekosystémech (Sharma & Dubey, 2005). Z doposud známých látek znečišťujících životní prostředí má olovo jen málo konkurentů jakožto perzistentní polutant, který má nepříznivý vliv na člověka, zvířata a ekosystém (Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007). Olovo nemá biologickou funkci a je pro živé organismy toxické i při nízkých koncentracích (Fahr et al., 2013).

Hlavním zdrojem znečištění životního prostředí olovem je průmysl zabývající se těžbou a následným zpracováním olovených rud. V minulosti bylo olovo, konkrétně tetraethylolovo, které je podobně jako řada dalších organokovových sloučenin silně toxické, hojně využíváno jako antidetonační aditivum do benzínu pro zvýšení oktánového čísla, což ovšem zapříčiňovalo zvýšený obsah olova v emisích. V devadesátých letech minulého století začala ve vyspělých zemích přísná regulace a eliminace používání olova v benzínu. Stále se však používá v některých afrických zemích, například v Nigérii, kde je obsah olova v benzínu 0,6 g/l, což je

celosvětově nejvyšší zaznamenaná koncentrace (Kabata–Pendias & Mukherjee, 2007). Olovo není biologicky rozložitelné a je velmi perzistentní ve vodě i v půdě (Fahr et al., 2013).

Olovo není pro rostliny esenciálním prvkem, přesto je snadno rostlinami přijímáno a následně akumulováno v různých částech rostlin. Příjem olova rostlinou je ovlivněn mnoha faktory, mezi které patří pH půdy – zde platí, že s rostoucím pH klesá příjem a dostupnost a olova, dále kationtová výměnná kapacita, chemická forma, kořenové exudáty (Sharma & Dubey, 2005). Rostlinami je olovo přijímáno kořeny z půdy, tak i póry z atmosféry (Kabata–Pendias & Mukherjee, 2007). Vyšší obsah olova je vždy ve starších listech než v mladších a v květech (Kabata–Pendias & Mukherjee, 2007). Nadbytek olova zapříčiňuje mnoho projevů toxicity, jako jsou zakrnělý vzrůst, chlorózy listů nebo černání kořenů. Na buněčné úrovni olovo zastavuje fotosyntézu, narušuje minerální rovnováhu a hospodaření s vodou, ovlivňuje strukturu membrán a permeabilitu (Sharma & Dubey, 2005). Nižší obsah olova (méně než 1 mg/kg) je obsažen v obilninách a ovoci, vyšší obsah olova (více než 1 mg/kg) v kořenech a hlízách a rovněž také v listové zelenině a pícech (Kabata–Pendias & Mukherjee, 2007). Hyperakumulátory olova se řadí do čeledí *Plumbaginaceae* (olověcovité), *Caryophyllaceae* (hvozdíkovité), *Brassicaceae* (brukvovité). Mezi zástupce brukvovitých patří například *Thlaspi rotundifolium*, který dokáže akumulovat až 8200 µg/g sušiny (Koptsik, 2014 in Midhat et al., 2019).

## 3.5 Fytoremediace a hyperakumulátory

### 3.5.1 Fytoremediace

Fytoremediace je metoda, která je založena na schopnosti rostlin detoxikovat životní prostředí přesouváním kontaminantu z půdy a/nebo podzemních vod a tyto látky stabilizovat nebo transformovat do stabilnějších a méně toxických komplexů, které jsou uloženy v rostlinné biomase, která může být sklízena a skladována, nebo vhodným způsobem zlikvidována (McSweeney & Forbes, 2014). Jednou z výhod fytoremediace je nízká ekonomická náročnost (Sakakibara et al., 2010). Fytoremediace se rovněž využívá pro stabilizaci toxických látek v půdě nebo při čištění povrchových vod. Samotný název fytoremediace pochází z řeckého phyton, což znamená rostlina, a z latinského remediare, neboli léčit. S využitím rostlin k remediaci můžeme setkat na mnoha místech, používá se například podél silnic, kde se využívá vysázené vegetace k zachycení polutantů produkovaných z aut nebo k čištění odpadních vod za pomoci umělých mokřadů, rákosová lože a další rostlinné systémy (Vaněk et al., 2017).



V současnosti se rovněž rozmáhá stavba biotopů – přírodních koupališť, kde se využívá vegetace k čištění vody z koupaliště.

### Typy fytoremediace

Fytoremediaci můžeme rozdělit do několika oblastí:

- Fytoextrakce
- Rhizofiltrace
- Fytodegradace
- Rhizodegradace
- Fytostabilizace
- Hydraulická kontrola
- Fytovolatilizace

**Fytoextrakce** je metoda, při níž se využívá absorpce rizikových prvků rostlinami a následné kumulace rizikových prvků v biomase (Tangahu, 2011). Jeevanantham et al. (2019) uvádějí, že fytoextrakce může mít vysokou účinnost při odstraňování kontaminantu z půdy. Sklizená fytomasa obsahující rizikové prvky je následně zpracovávána, může jít o zpracování termické, mikrobiální nebo chemické (Vaněk et al., 2017). Rostliny vhodné pro fytoextrakci by měly být schopny akumulovat velké množství rizikových prvků v nadzemních orgánech, být tolerantní ke zvýšeným koncentracím kovů v půdě a mít vysokou produktivitu biomasy (Mayerová et al., 2017).

Je také důležité, aby rostliny vybrané pro tento účel vytvářely hluboké kořeny, které budou schopny absorbovat prvky z hlubší vrstvy půdy (Vamerali et al. 2010). Fytoextrakce se používá převážně pro detoxifikaci kontaminovaných půd, ale je možné ji využít rovněž pro kontaminované kalý a sedimenty (Vaněk et al., 2017). Jako jednu z výhod využití fytoextrakce Jeevanantham et al. (2019) zmiňují, že v některých případech je možné kontaminant opětovně využít, Tangahu (2011) uvádí možnost opětovného využití kovů z popela ze spálené biomasy.

**Rhizofiltrace** je metoda, při které dochází k absorpci, koncentraci a precipitaci xenobiotik v proudící vodě pomocí kořenů rostlin (Vaněk et al., 2017) a používá se pro kontaminované povrchové vody, splaškové vody nebo vyčerpané podzemní vody. Rozdíl proti fytoextrakci je v tom, že cílovou částí rostliny, kde dochází ke kumulaci, jsou kořeny. Metoda je ekonomicky výhodná a používá se zejména v případě velkých objemů vody, které jsou však znečištěny nízkými koncentracemi polutantů (Soudek et al., 2008). Rhizofiltraci je možné využít jak pro vodní, tak pro suchozemské rostliny. Dushenkov et al. (1995) uvádějí úspěšné použití

slunečnice *Helianthus annuus* L. a brukve sítinovité *Brassica juncea* L., které vedlo k účinnému odstranění iontů  $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  a  $Zn^{2+}$  z vodného roztoku. V případě suchozemských rostlin je proces technologicky náročnější, je totiž potřeba vytvořit podpůrnou konstrukci pro rostliny (například v podobě plovoucích plošin, které rostlinám poskytují oporu), na druhou stranu suchozemské rostliny ve srovnání s vodními dokážou odstranit mnohem více kontaminantu, protože zpravidla bývají větší a také mají mnohem rozvinutější kořenový systém (Vaněk et al., 2017). Metodu lze použít *in situ* i *ex situ* (Jeevanantham et al., 2019). Rhizofiltrace se používá se například v Černobyli, kde se pomocí slunečnic z povrchových vod odstraňují izotopy stroncia a cesia (Miller, 1996 in Soudek, 2008).

**Fytodegradace** je proces degradace kontaminantu, ke kterému dochází prostřednictvím metabolického procesu v rostlinách (Jeevanantham et al., 2019), při kterém uvnitř rostliny nebo v oblasti rhizosféry (Newman & Reynolds, 2004) dochází k absorbování, přeměně a odbourávání kontaminantu a degradaci na netoxické látky. Fytodegradace se používá zejména pro organické polutanty, jako jsou rozpouštědla, polycyklické aromatické uhlovodíky, chlorované organické sloučeniny včetně polychlorovaných bifenyly, ropa a její deriváty a dále pesticidy (Newman & Reynolds, 2004). U fytodegradace je ovšem riziko, že dojde ke vzniku toxických meziproductů nebo produktů degradace, jejichž složení není známé, a tudíž není známý ani dopad na životní prostředí (Vaněk et al., 2017).

**Rhizodegradace** je metoda, která je také nazývána „rostlinami podporovaná bioremediace“ (Vaněk et al., 2017), a spočívá v degradaci kontaminantů přítomných v půdě. Tento proces se děje v půdě v bezprostředním okolí kořenů (rhizosféra) a může být podpořen mikroorganismy (Jeevanantham et al., 2019). V případě organických kontaminantů při rhizodegradaci dochází k rozkladu na jednoduché látky a může dokonce dojít až ke kompletní mineralizaci, tedy k rozkladu na  $H_2O$  a  $CO_2$ . Na mikrobiální aktivitu mají vliv kořenové exudáty, což jsou látky produkované rostlinou a jejich složení může být různé (sacharidy, alkoholy, fenoly, bílkoviny, steroly, organické kyseliny aj.). Jeevanantham (2019) uvádí, že zdroje karbohydrátů v půdě zvyšovaly růst a aktivitu mikroflóry v půdě a dále, že cukry, alkoholy a organické kyseliny působí jako zdroj uhlíku pro půdní mikroby.

Rhizodegradace se používá zejména pro odstraňování kontaminantu z půdy, ale stejnou mikrobiální aktivitu, jako je využívána k rhizodegradaci v případě suchozemských rostlin, lze pozorovat i v kořenové zóně vodních rostlin. Velkou výhodou rhizodegradace je, že v rostlinách nedochází k akumulaci kontaminantu a není tedy třeba je sklízet a řešit problematiku jejich likvidace. Nevýhodou je, že oblast, v které mikrobiální aktivity probíhají,

se nachází pouze v bezprostřední blízkosti kořene (1–3 mm), z celkového množství kontaminované půdy tedy dochází k degradaci pouze ve velmi omezené části, a tím pádem i hloubka půdy, kde ještě rhizodegradaci dochází, se odvíjí od hloubky kořenů rostliny (Vaněk et al., 2017).

**Fytostabilizace** je metoda, při níž jsou znečišťující látky v půdě a podzemní vodě imobilizovány použitím rostlin adsorpcí nebo akumulací na kořeny nebo precipitací v kořenové zóně, aby se zabránilo jejich pohybu (Tangahu et al., 2011). Fytostabilizace se využívá, zejména pokud je kontaminantem kov nebo polokov. Hlavním cílem je zabránění průsaku do podzemní vody, přenosu větrem a zejména zamezení průniku do potravního řetězce. Mezi nevýhody fytostabilizace patří, že kontaminant zůstává v půdě (Jeevanantham et al., 2019)

**Hydraulická kontrola** je metoda, při níž se využívá rostlin, které mají vysoký příjem vody a její spotřebu, ke kontrole a usměrňování podzemní a půdní vody, čímž dochází k zabránění infiltrace a následnému prosakování a pohybu kontaminantu z povrchových do podzemních vod. Pro hydraulickou kontrolu se využívají zejména rostliny a stromy, které mají dlouhý kořen, a jsou schopné přijímat velké množství vody. Používá se například bavlík, vrba nebo topol (Vaněk et al., 2017).

**Fytovolatilizace** je metoda, při níž rostlina přijímá kontaminant kořenovým systémem, poté je kontaminant transportován do nadzemní části a rostlinou je poté uvolněn transpirací do ovzduší těkavá forma kontaminantu (Soudek et al., 2008). Podmínkou ovšem je, že látka uvolňovaná do ovzduší musí být méně toxická, než byla původní látka (Soudek et al., 2008) a dále, že okolní vzduch není příliš proto kontaminovaný, proto je důležitý výběr lokality pro fytovolatilizaci, protože například městské oblasti se zhoršenou kvalitou ovzduší nejsou vhodné (Limmer & Burken, 2016). Fytovolatilizace může být použita pro širokou škálu kontaminantů, organických i anorganických, jako jsou Hg (Wang et al., 2012) nebo As (Sabakibara et al., 2010). V případě organických látek se jedná zejména o těkavé organické látky VOC – volatile organic compounds (Limmer & Burken, 2016).

### **Výhody a nevýhody fytoremediace**

- + aplikace *in situ*
- + pasivní metoda
- + využití na širokou škálu kontaminantů
- + ohleduplnost vůči životnímu prostředí, výsadba rostlin může omezit erozi

+ ekonomická úspora

- nízká tolerance rostlin ke koncentraci polutantů, vysoké koncentrace mohou být fytotoxické
- pouze pro kontaminanty v rhizosféře rostliny
- pomalý průběh odvislý na rychlosti růstu kořenů a rostliny
- riziko vstupu kontaminantu do potravního řetězce
- hyperakumulátory jsou často rostliny s nízkou produkcí biomasy
- nelze použít pro hydrofobní organické sloučeniny a nerozpustné anorganické sloučeniny

Aplikace	Médium	Kontaminanty	Typické rostliny
Fytotransformace	půda, podzemní voda, výluhy ze skládek,	herbicidy, aromatické uhlovodíky, chlorované alifatické uhlovodíky, dusičnany, fosfáty	čeleď <i>Salix</i> a <i>Fabaceae</i> , trávy
Fytostabilizace	půda	kovy a polokovy (Pb, Cd, Zn, As) hydrofobní organické sloučeniny	trávy s vláknitými kořeny
Fytoextrakce	půda, sedimenty, brownfieldy	kovy (Pb, Cd, Zn, Ni, Cu)	hořčice sareptská, slunečnice, peníze modravý
Rhizofiltrace	podzemní voda, odpadní voda přes umělé mokřady	kovy (Pb, Cd, Zn, Ni, Cu), radionuklidy, hydrofobní organické sloučeniny	vodní rostliny: orobinec, růžkatec, stolístek vodní, parožnatka, řasy
Fytovolatilizace	půdy a sedimenty	Se, As, Hg, těkavé organické sloučeniny	hořčice sareptská, mokřadní rostliny, freatofytické stromy

Tab. 2: Typické rostliny použité při různých fytořediačních aplikacích (Soudek et al., 2008)

### 3.5.2 Hyperakumulátory

Termínem hyperakumulátor jsou označovány rostliny, které ačkoliv patří do různých vzdáleně příbuzných rodů, tak mají společné vlastnosti, a sice že rostou na půdách, které jsou kontaminované toxickými prvky, a zároveň jsou schopny akumulovat neobvykle vysoké

množství toxických prvků v nadzemní části biomasy. Aby rostlina mohla být označena jako hyperakumulátor, musí být schopna akumulovat více než 1000 mg prvku na 1 kg sušiny (Brooks, 1977 in Soudek et al., 2006) a dále musí být biokoncentrační faktor větší než 1. Biokoncentrační faktor je poměr mezi obsahem arsenu v sušině rostliny v mg/kg a obsahem arsenu v mg/kg ve vysušeném vzorku půdy (Soudek, 2006). V případě kapradiny *Pteris vittata*, která je jedním z nejznámějších hyperakumulátorů arsenu, byl stanoven biokoncentrační faktor větší než 10 (Zhao et al., 2002).

Hyperakumulátory mají tři základní znaky, kterými se odlišují od rostlin, které jsou sice druhově příbuzné, ale schopnost hyperakumulace nemají. Jsou to:

1. vysoká úroveň přijímání rizikových prvků
2. rychlejší přesun z kořenů do nadzemní biomasy translokace
3. velká schopnost detoxikovat a izolovat rizikové prvky v listech

Fyziologická a molekulární analýza hyperakumulátorů a rostlin, které schopnost hyperakumulace nemají, zjistila, že klíčovou vlastností pro hyperakumulaci je odlišná regulace a exprese genů, které byly totožné v obou druzích rostlin. Odlišnost v regulaci a expresi genů byla zásadní zejména v příjmu rizikového prvku, jeho následném přesunu do listů a v sekvestraci do vakuol nebo buněčné stěny, což jsou místa, kde dochází k ukládání vysokých koncentrací rizikových prvků, a toto ukládání je řízeno silnou expresí genů, které kódují transmembránové přenašeče (Rascio & Navari-Izzo, 2011).

Rascio & Navari-Izzo (2011) rovněž uvádějí hypotézu, že hyperakumulace je možnou formou obrany rostliny proti herbivorům.

Zásadní rozdíly v lokaci a množství rizikového prvku u hyperakumulátoru a rostliny, která tuto schopnost nemá (ne-hyperakumulátor), jsou uvedeny na následujícím obrázku.



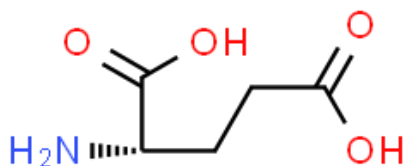
do dlouhých řetězců peptidickou vazbou. Řetězce mající méně než 50 aminokyselin jsou označovány jako peptidy, řetězce obsahující více než 50 aminokyselin pak jako bílkoviny neboli proteiny (McMurry, 2007). Všechny jsou  $\alpha$ -aminokyselinami, což znamená, že aminoskupina je vázána v poloze  $\alpha$  ke karboxylové skupině (tedy na atomu uhlíku sousedícím s karboxylovou skupinou). Prolin je sekundární amin s pyrrolidinovým kruhem.

Pro označování aminokyselin se používá třípísmenný zkratkový kód, kromě toho se používají i kódy jednopísmenné.

Aminokyseliny jsou tradičně považovány za prekurzory a složky proteinů, mnoho aminokyselin také působí jako prekurzory jiných sloučenin obsahujících dusík, například nukleových kyselin (Rai, 2002).

### 3.6.1 Kyselina glutamová

Kyselina glutamová patří mezi základní biogenní aminokyseliny a spolu s kyselinou asparagovou jsou jedinými dvěma kyselými biogenními aminokyselinami. Její třípísmenná zkratka je *Glu*, jednopísmenná pak *E* (McMurry, 2007).



Obr. 2: Chemická struktura kyseliny glutamové, zdroj: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.30572.html#spectra>, [cit. dne 15. 2. 2020]

Kyselina glutamová je prekurzorem biosyntézy aminokyselin glutaminu a prolinu. Volná kyselina glutamová se uplatňuje v mnoha reakcích, zejména pak při přenosu dusíkového atomu, další velmi důležitou reakcí kyseliny glutamové je dehydrogenace glutamátu, která je doprovázena odštěpením amoniaku (Kodíček, 2004).

### 3.6.2 Fytochelatiny

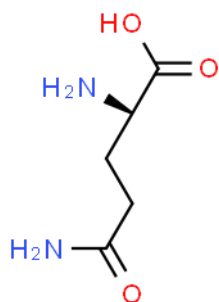
Fytochelatiny jsou sloučeniny, které vznikají při stresu způsobeném přítomností rizikových prvků. Jsou syntetizovány z kyseliny glutamové a cysteinu. Jejich syntéza je podmíněna enzymem fytochelatin syntázou, která je přímo aktivována ionty rizikových prvků. Fytochelatiny jsou peptidy, jejichž obecná struktura je následující:  $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-X}$ , kde  $n = 2\text{--}11$ ,  $\text{X} = \text{glycin, serin, } \beta\text{-alanin, kyselina glutamová, glutamin}$ , Cobbett (2000) uvádí, že  $n$  je obvykle 2-5. Fytochelatiny jsou rostlinou syntetizovány, jako odpověď na expozici kovovým

iontům v rostlinách hrají klíčovou roli v detoxikaci rizikových prvků (Fišer et al., 2014). Bylo prokázáno, že fytochelatinsyntáza (PCS) je aktivována širokou škálou kovů a metaloidů, zejména Cd, Ag, Pb, Cu, Hg, Zn, Sn, Au a As (Schat et al., 2002). Kaur & Asthir (2015) uvádějí, že jak arseničnany, tak arsenitany, což jsou formy převažující formy intoxikace arsenem a jsou pro rostliny dostupné, účinně indukují biosyntézu fytochelatinů. Schopnost tvořit fytochelatiny se předpokládá u všech vyšších rostlin a většiny řas (Schat et al., 2002).

Zhao et al. (2003) uvádějí, že arsenitan má vysokou afinitu k thiolům a lze tudíž předpokládat komplexaci arsenitanu s fytochelatiny. Dále uvádějí, že vystavení arsenu vyvolává syntézu a akumulaci fytochelatinů u řady rostlinných druhů, které nejsou hyperakumulátory (Grill et al., 1987; Maitani et al., 1996; Sneller et al., 1999; Schmöger et al., 2000; Hartley-Whitaker et al., 2002; Schat et al., 2002). Tyto studie také ukazují, že fytochelatiny hrají důležitou roli v detoxikaci arsenitanu u rostlin, které nemají schopnost hyperakumulace. Studie ukazuje, že expozice arseničnanem u hyperakumulátoru *Pteris vittata* rovněž vyvolala syntézu fytochelatinů v kořenech a nadzemní biomase. Koncentrace fytochelatinů byla vyšší v nadzemní biomase. V experimentech s *Pteris vittata* byly nalezeny pouze fytochelatiny s délkou řetězce  $n=2$ , zatímco u nehyperakumulujících druhů se jednalo o delší řetězce (Zhao et al., 2003).

### 3.6.3 Glutamin

Glutamin patří mezi neutrální biogenní aminokyseliny, je syntetizován z kyseliny glutamové, jeho třípísmenná zkratka je *Gln*, jednopísmenná pak *Q* (McMurry, 2007).



Obr. 3: Chemická struktura glutaminu, zdroj <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5746.html>, [cit. dne 22.3.2020]

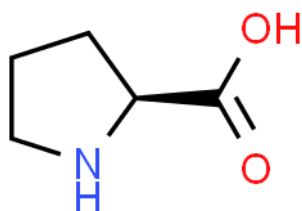
Glutamin vzniká z kyseliny glutamové a je významným meziproduktem metabolismu dusíkatých látek. Jednou z jeho funkcí je tvorba metabolicky aktivního dusíku, a to zejména u rostlin (Kodíček, 2004). Glutamin je hlavním donorem amino skupiny pro syntézu aminokyselin, nukleotidů a dalších sloučenin obsahujících dusík, a to ve všech organismech.



Mimo úlohy ve výživě a metabolismu může glutamin také fungovat jako signální molekula v bakteriích, kvasinkách a u lidí. Glutamin může také fungovat jako signální molekula pro regulaci genové exprese v rostlinách (Kan et al., 2015).

### 3.6.4 Prolin

Prolin patří mezi neutrální biogenní aminokyseliny, jeho třípísmenná zkratka je *Pro*, jednopísmenná *P* (McMurry, 2007).



Obr. 4: Chemická struktura prolinu, zdroj <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.128566.html>, [cit. dne 15.2.2020]

V rostlinách je anorganický dusík nejprve redukován na amoniak a až poté je zabudován do organické formy. Amoniak je asimilován na glutamin a glutamát, které mají klíčovou roli jak v primární, tak v opětovné asimilaci dusíku, a to včetně redukce dusíku pocházejícího ze symbiotické fixace dusíku (D'Mello, 2015). Mimo jiné prolin u rostlin reguluje množství využitelného dusíku (Mořková et al., 2014). Glutamin a glutamát slouží jako donory dusíku v mnoha buněčných reakcích, mezi které patří i biosyntéza prolinu a argininu, glutamát navíc přispívá nejen dusíkem, ale rovněž většinou atomů uhlíku. Syntéza argininu a prolinu je závislá na příjmu dusíku rostlinou. Prolin je součástí metabolismu kyseliny glutamové a glutaminu (D'Mello, 2015).

Akumulace prolinu u mnoha organismů koreluje s adaptací na osmotický stres. Kromě své osmoprotektivní funkce může akumulace prolinu u rostlin ve stresových podmínkách fungovat jako zdroj energie při obnově buněčné homeostázy během zotavení z osmotického stresu. Prolin působí jako primární zdroj energie podporující růst pylových prašníků. Při degradaci prolinu je produkován glutamát, který slouží jako zdroj dusíku pro další syntézy ostatních aminokyselin (D'Mello, 2015).

V mnoha druzích rostlin se prolin hromadí jako odpověď organismu na environmentální stres. Akumulace prolinu byla pozorována při vystavení rostlin podmínkám, jako jsou sucho, vysoké zasolení světlo obsahující UV záření, oxidační stres a jako odpověď organismu na abiotický stres (Kaur & Asthir, 2015). Rai (2002) zmiňuje prokázanou kumulaci prolinu u

mnoha druhů v případě vystavení rizikovým prvkům. Osmoprotektivní funkce prolinu byla poprvé objevena u bakterií (Szabados & Savouré, 2010). Hajná et al. (2016) uvádějí, že prolin může fungovat jako signalizační molekula při stresu nebo jako již zmiňovaný osmoprotektant, který pomáhá rostlinám přežít nepříznivé podmínky a vyrovnat se s nimi.

Mezi nejtypičtější stresové podmínky patří nedostatek vody, který může být způsoben kromě sucha také mrazem nebo obsahem soli v půdě. Během stresových stavů prolin rostlinu chrání na několika úrovních, v první řadě plní prolin osmoprotektivní funkci. Vyšší hladina volného prolinu v cytosolu snižuje v protoplastech osmotický potenciál, a tím rostlině napomáhá lépe přijímat vodu. Zasolení půd a sucho u rostlin vyvolává sekundární oxidativní stres a prolin je schopen do určité míry vycytávat reaktivní formy kyslíku, a tím pomáhat rostlině se vyrovnat se stresovými podmínkami. Dále prolin chrání integritu proteinů, čímž dochází k posílení enzymatické činnosti.

V případě nouze je prolin schopen částečně proteinovým strukturám nahradit vodu a posiluje tak jejich hydratační obal, díky čemuž jsou proteiny schopny si udržet správnou a funkční konformaci (Hajná et. al, 2016). Motřková et al. (2014) uvádějí, že na zasolených půdách prolin rovněž významně přispívá k vyrovnávání osmotického tlaku, má funkci ve stabilitě membrán a zmírňuje účinky NaCl na buněčné membrány.

Dále bylo pozorováno, že hladina prolinu v rostlině významně kolísá při tvorbě listů, ve zralých listech je v porovnání s kořeny hladina prolinu vyšší, během vývoje listů pak hladina prolinu zřetelně klesá. Množství prolinu v rostlině výrazně ovlivňuje i velikost listů (Hajná et al., 2016).

## 4 Metodika

Pro studium vlivu As a dalších rizikových prvků na metabolismus rostliny byl ve skleníku katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin ČZU v Praze založen nádobový pokus s kapradinami *Pteris cretica* L. odrůda Albo-lineata (PC) a *Pteris straminea* Mett. ex Baker (PS). Obě kapradiny byly zakoupeny v zahradnické firmě Tulipa Praha.

Pro nádobový pokus byly využity dvě zeminy. Zemina z lokality Praha – Suchdol sloužila jako kontrolní varianta. Jako druhá zemina pro pokus byla využita zemina se směsnou antropogenní kontaminací (As, Pb, Cd, Zn) z lokality řeky Litavky na Příbramsku. Agrochemická charakteristika zemín je uvedena v tab. 3, celkové obsahy vybraných toxických prvků jsou v tab. 4.

Tab. 3 Agrochemické vlastnosti půd

zemina	Půdní typ	pH <sub>CaCl2</sub>	KVK	Corg.
			mmol(+)·kg <sup>-1</sup>	%
SU	Černozem modální	7,1	258	1,83
LI	fluvisol	6,1	55	2,26

Tab. 4 Celkový obsah toxických prvků v použitých zeminách

Zemina	As	Cd	Pb	Zn
	mg·kg <sup>-1</sup>			
SU	18,8±1,1	0,42±0,02	32,1±0,9	85,6±3,6
LI	278±9	35,7±1,4	2380±42	3491±90

### 4.1 Lokalita Příbram Litavka

Řeka Litavka se nachází v okrese Příbram ve Středočeském kraji a protéká územím těžby polymetalických rud, která má v tomto regionu dlouhou historii. Okolí Litavky bylo znečištěno zejména v důsledku těžby a zpracování stříbra, olova a později s rozvojem nových technologií a technologického průmyslu také zinku. Litavka je proto jedním z mnoha evropských říčních systémů postižených nedostatkem ekologického zájmu v raných obdobích průmyslové revoluce (Nováková et al., 2015). Říční systém je nyní jedním z největších zdrojů sekundárního znečištění v České republice (Žák et al., 2009).

První těžba zde probíhala pravděpodobně již ve středověku, od 16. století se zde těžilo stříbro a olovo. V této době byly odpady vznikající při zpracování rudy ukládány do místních rybníků (Nováková et al., 2015). Tyto rybníky byly opakovaně zničeny při velkých povodních v letech 1932 a 1952, což vedlo k uvolnění uložených sedimentů a jejich následné distribuci na velké území, které bylo zasaženo povodněmi (Žák et al., 2009). Hutě na tavení rud byly uzavřeny v 70. letech minulého století, a poté byly využívány na zpracovávání odpadů obsahujících olovo, zejména autobaterií. Provoz huti s sebou nesl velkou produkci odpadů obsahujících rizikové prvky, ať už se jedná o popílek a jeho následnou nebo o strusku, která byla skládkována.

Při analýzách zdejší půdy byly zjištěny zvýšené koncentrace olova v profilu rašeliny (Mihaljevič et al., 2006) a dále znečištění mechu (Sucharová & Suchara, 2004). Řeka Litavka se vyznačuje výrazným nestabilním charakterem a v lokalitě jsou časté silné deště a záplavy. Převládající půdní typ je fluvisol bez obsahu uhličitánů s vysokým obsahem humusu a lehce kyselá až kyselá pH (Friedlová, 2010).

## **4.2 Nádobový pokus**

Do každé nádoby bylo naváženo 5 kg zeminy. Zemina byla promíchána s 0,5 g N, 0,16 g P a 0,4 g K (ve formě  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  a  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ). Do každé nádoby byla zasazena jedna rostlina. Každá varianta měla 4 opakování.

Křídelnice byla sklizena po 90 a 180 dnech od zasazení, vždy po 2 nádobách. Po sklizni byl hodnocen výnos nadzemní biomasy a kořenů a vizuálně hodnoceny projevy toxicity (nekrózy, omezený růst kořenů apod.). Rostliny byly vysušeny, rozemlety a v sušině byly po rozkladu stanoveny toxické prvky a makroprvky N a S. Část nadzemní biomasy a kořenů byla hned po sklizni zamrazena v kapalném dusíku. Tato biomasa byla následně využita pro analýzu vybraných aminokyselin.

## **4.3 Analýzy**

### **4.3.1 Stanovení As, Cd, Pb, Zn a S**

Vysušená biomasa (~0,5 g) rostlin byla rozložena ve směsi  $\text{HNO}_3$  a  $\text{H}_2\text{O}_2$  (4:1, v/v) v mikrovlnné peci Ethos 1 121 device (MLS GmbH, Leutkirch im Allgäu, Německo). Obsah prvků byl stanoven optickou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES, (Agilent 720, AgilentTechnologies Inc., Santa Clara, CA, USA).

#### **4.3.2 Stanovení celkového obsahu N**

Sušina rostlin (~0,5 g) byla rozložena mokrou cestou v koncentrované kyselině sírové (1:20 w/v). Celkový obsah N byl stanoven metodou podle Kjeldahla na destilačním přístroji Vapodest 50s (Gerhardt GmbH & 127 Co. KG., Königswinter, Německo)

#### **4.3.3 Obsah aminokyselin stanoven na GC-MS.**

Pro stanovení obsahu volných aminokyselin byly vzorky rostlinné biomasy po sklizni okamžitě zmrazeny v kapalném dusíku. Pro analýzu byly následně zhomogenizovány v kapalném dusíku. Volné aminokyseliny byly extrahovány z čerstvé biomasy (~0,5 g) 10 ml roztoku metanolu a redestilované vody (7:3 v/v). Po uplynutí 24 hodin byly vzorky centrifugovány při 9000 g po dobu 20 min. Derivatizace volných aminokyselin v supernatantu byla provedena s použitím sady EZ: faast firmy Phenomenex.

Vlastní měření volných aminokyselin bylo provedeno 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. Pro nástřik bylo použito 1,5 - 2  $\mu$ l vzorku s poměrem 1: 10 a v režimu split. Nosným plynem pro GC-MS je helium (čistota 5,0) s konstantním průtokem 1,1 ml/min. Teplotní program pece: počáteční teplota 110 °C, rampa 30 °C min<sup>-1</sup> do teploty 320 °C. Teplota inletu byla 280 °C. Podmínky detektoru: MS zdroj 240 °C, kvadrupól 180 °C, aux 310 °C, energie elektronů 70 eV, skenování m/z v rozmezí 45–450 a frekvence 3.5 scans<sup>-1</sup>.

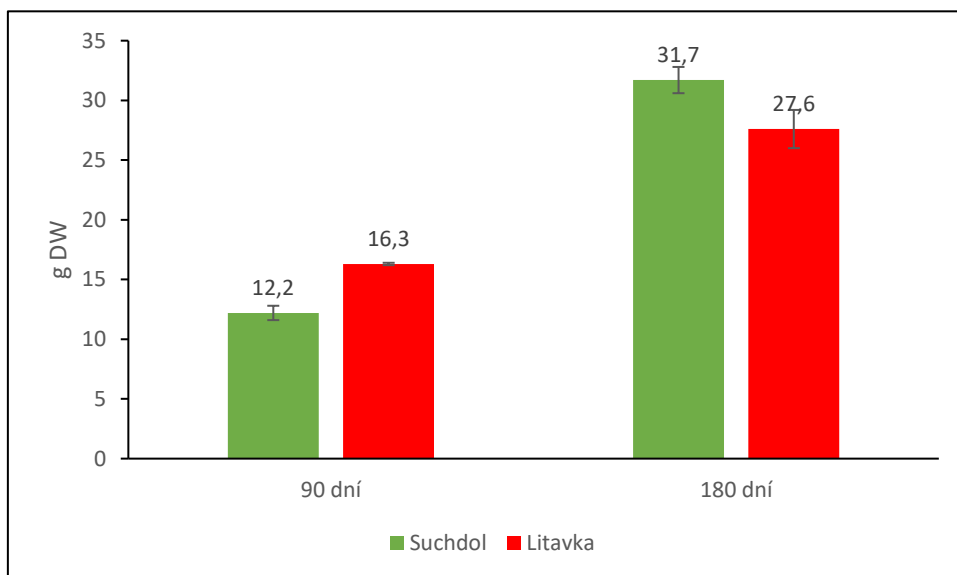
## 5 Výsledky

### 5.1 Výnos biomasy

V obou odběrech byl stanoven výnos sušiny nadzemní biomasy (grafy č. 1 a 2) a biomasy kořenů (grafy č. 3 a 4) *Pteris cretica* var. *Albo-lineata* (PC) a *Pteris straminea* (PS) v zemině Suchdol (SU) a Litavka (LI). Z grafů je patrné, že u PC byl výrazně vyšší výnos, a to jak u kořenů, tak u nadzemní biomasy. Jelikož je rostlina hyperakumulátor As, lze očekávat vyšší odolnost vůči kontaminaci, a proto i vyšší nárůst nadzemní biomasy a kořenů (Příloha I a II). PS hyperakumulátorem není a v důsledku toho byla pozorována vyšší reakce na kontaminaci.

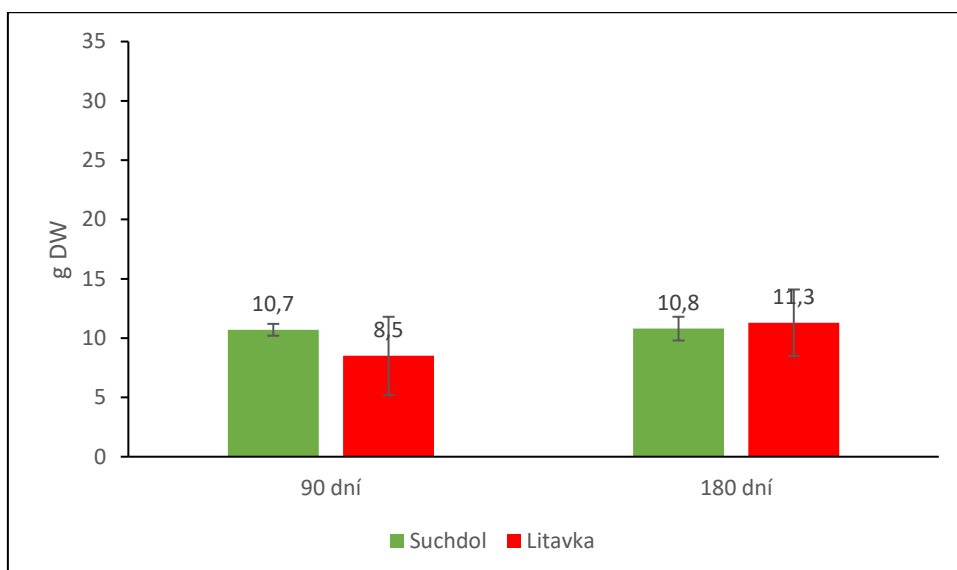
Při srovnání jednotlivých druhů rostlin mezi sebou je patrné, že u PS byl výrazně nižší výnos, a to jak v případě nadzemní biomasy, tak v případě kořenů, protože rostlina více reagovala na kontaminaci (Příloha III a IV).

**Graf č. 1: Výnos sušiny nadzemní biomasy *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



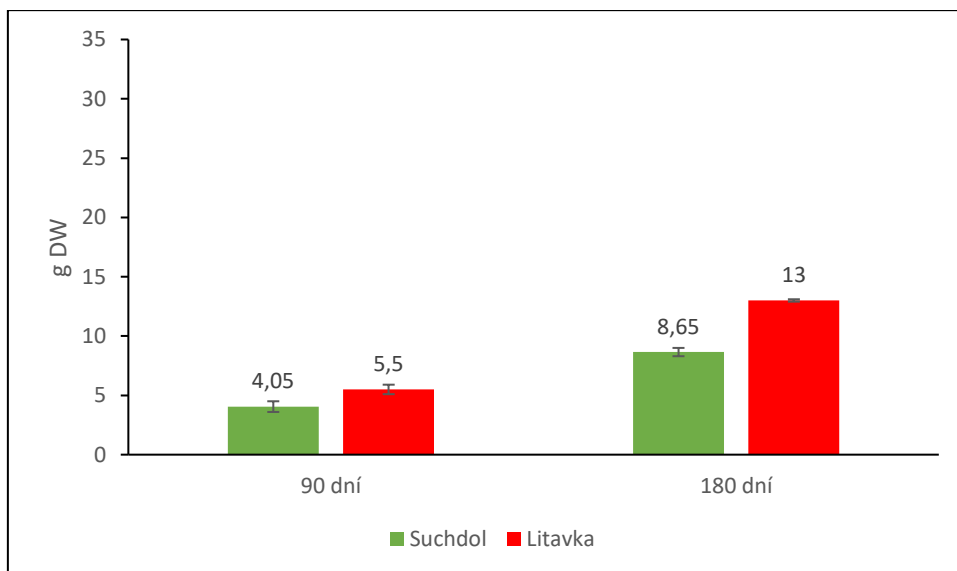
Z grafu č. 1 je patrné, že nejvyšší výnos nadzemní biomasy byl u druhého odběru varianty PC-SU. Nárůst mezi jednotlivými odběry byl o 160 % na variantě PC-SU a o 70 % na PC-LI.

**Graf č. 2: Výnos sušiny nadzemní biomasy *Pteris straminea***



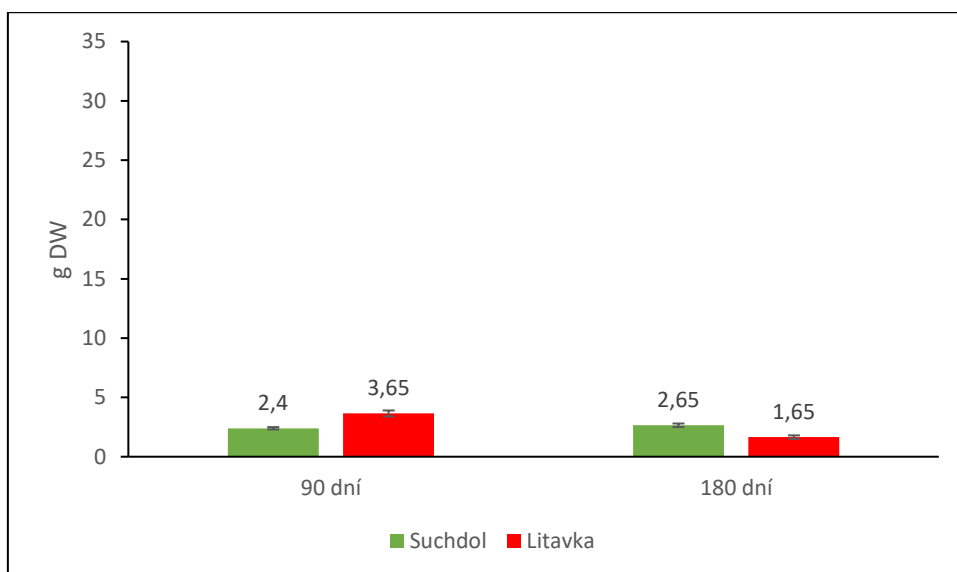
Na grafu č. 2 lze vidět, že u výnosu sušiny nadzemní biomasy PS-SU byl mezi jednotlivými odběry nárůst necelé 1 %, u PS-LI byl nárůst 33 %.

**Graf č. 3: Výnos sušiny kořenů *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



Z výše uvedeného grafu lze vidět, že nárůst výnosu sušiny kořenů mezi jednotlivými odběry byl 114 % u PC-SU, v případě PC-LI pak 136 %.

**Graf č. 4: Výnos sušiny kořenů *Pteris straminea***



Graf č. 4 znázorňuje vývoj přírůstku, respektive úbytku výnosu sušiny kořenů. U PS-SU činil přírůstek 10 %, u PS-LI došlo k úbytku množství biomasy, ve srovnání s 1. odběrem úbytek činil téměř 55 %.

## 5.2 Obsah arsenu

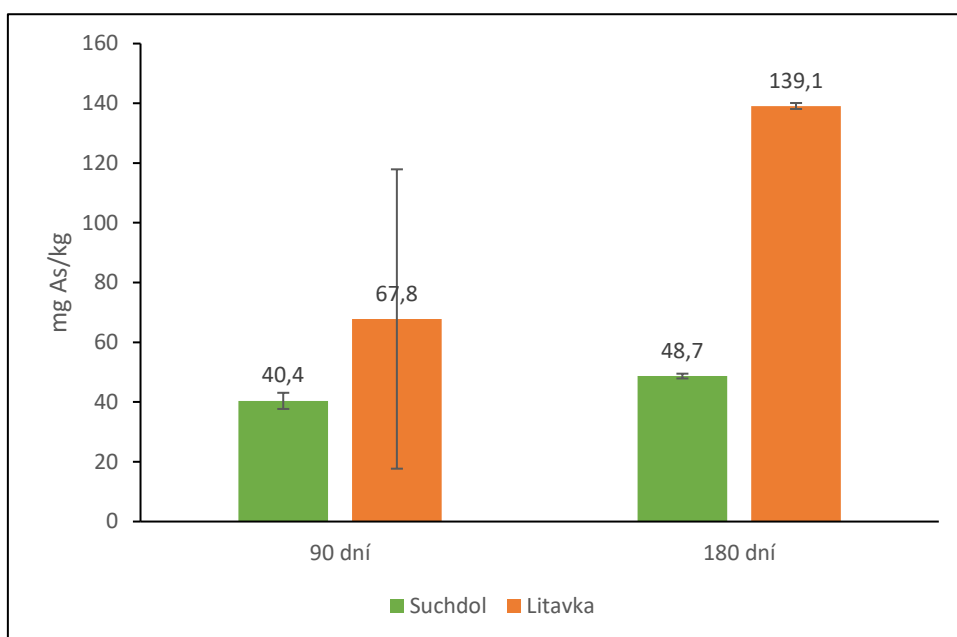
V následujících grafech je porovnán stanovený obsah arsenu v nadzemní biomase (grafy č. 5 a 6) a kořenech (grafy č. 7 a 8) obou kapradin pěstovaných v zemině Suchdol a Litavka.

Z grafů vyplývá, že v kapradině PC byl ve srovnání s kapradinou PS výrazně vyšší obsah arsenu, a to jak v nadzemní biomase, tak v kořenech, což koresponduje s tím, že PC je hyperakumulátor, zatímco PS nikoliv. Mezi rostlinami jsou patrné výrazné rozdíly i v případě, že je kontaminace nízká. Ve srovnání obsahu arsenu mezi zeminami je obsah arsenu v zemině Litavka oproti Suchdolu vyšší o téměř 1380 %.

Nejvyšší obsah arsenu byl stanoven u 2. odběru PC v zemině Litavky, a to jak v případě nadzemní biomasy, tak v případě kořenů. Obsah arsenu činil 139,1 mg/kg u nadzemní biomasy a 127,6 mg/kg u kořenů, tedy přibližně 5x vyšší ve srovnání s 2. odběrem PS v zemině Litavka. Nejnižší obsah arsenu byl u PS v zemině Suchdol, kde u 1. odběru byl v nadzemní biomase obsah arsenu 0,1 mg/kg, u 2. odběru 1,8 mg/kg, v případě kořenů pak 4 mg/kg u 1. odběru a 4,4 mg/kg u 2. odběru.

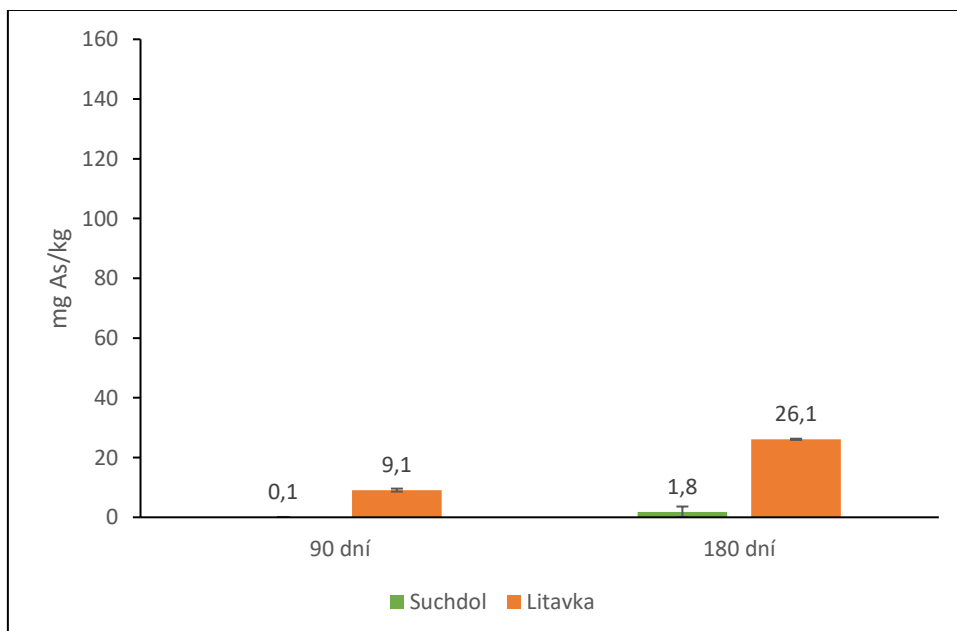


**Graf č. 5: Obsah arsenu v nadzemní biomase *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



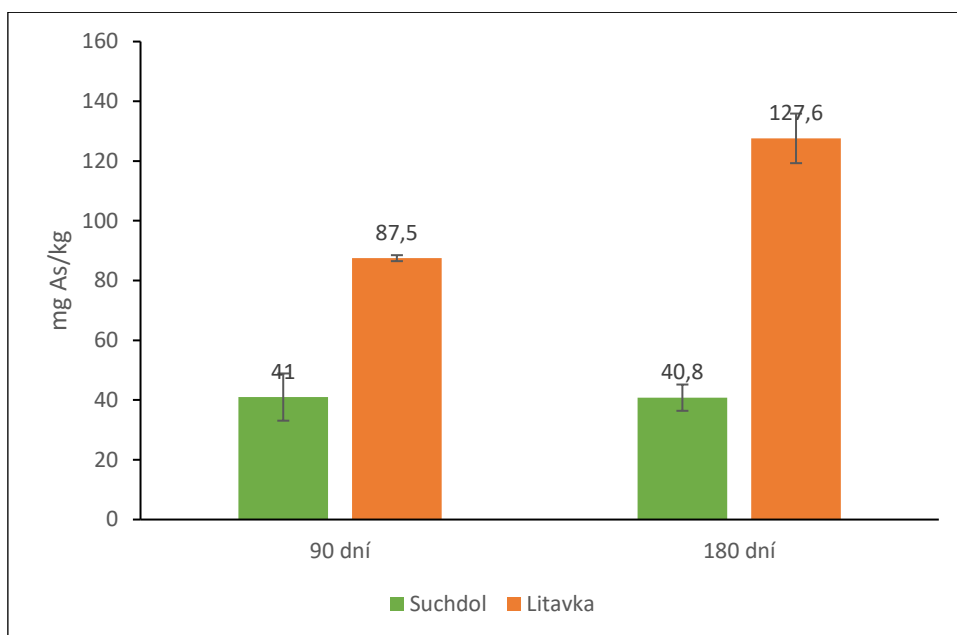
Z výše uvedeného grafu vyplývá, že u rostlin u PC-LI přírůstek arsenu oproti prvnímu odběru činil 105 %. U PC-SU došlo k nárůstu obsahu arsenu o 21 %.

**Graf č. 6: Obsah As v nadzemní biomase *Pteris straminea***



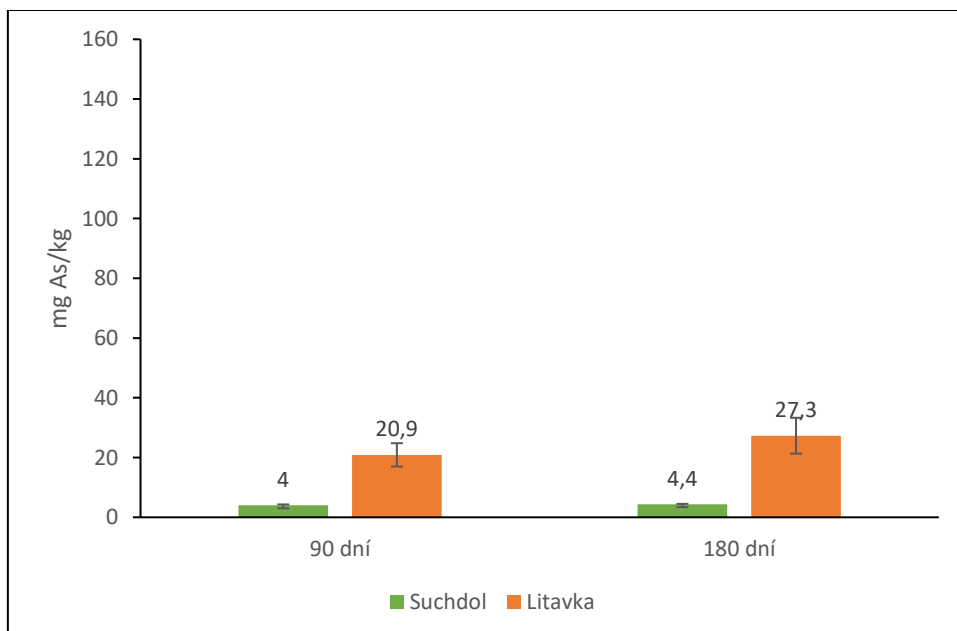
Z grafu č. 6 je patrné, že při 1. odběru u PS-SU byl obsah arsenu 0,1 mg/kg při 2. odběru obsah vzrostl na 1,8 mg/kg. U PS-LI činil při 1. odběru obsah arsenu v nadzemní biomase 9,1 mg/kg, u 2. odběru došlo k nárůstu obsahu o téměř 187 %.

**Graf č. 7: Obsah As v kořenech *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



V grafu č. 7 lze vidět, že mezi 1. a 2. odběrem PC-SU nedošlo k nárůstu obsahu arsenu. U odběru kořenů PC-LI došlo k nárůstu obsahu arsenu o 46 %.

**Graf č. 8: Obsah As v kořenech *Pteris straminea***

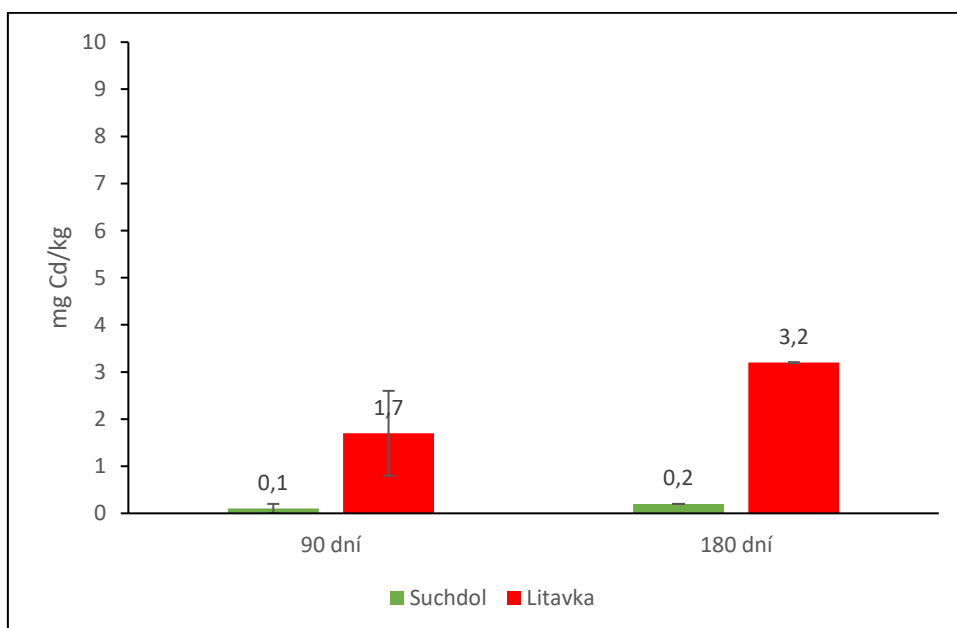


Z grafu č. 8 vyplývá, že u kořenů PS-SU došlo v kořenech k nárůstu obsahu arsenu o 10 %, u PS-LI byl nárůst obsahu arsenu o 31 %.

### 5.3 Obsah kadmia

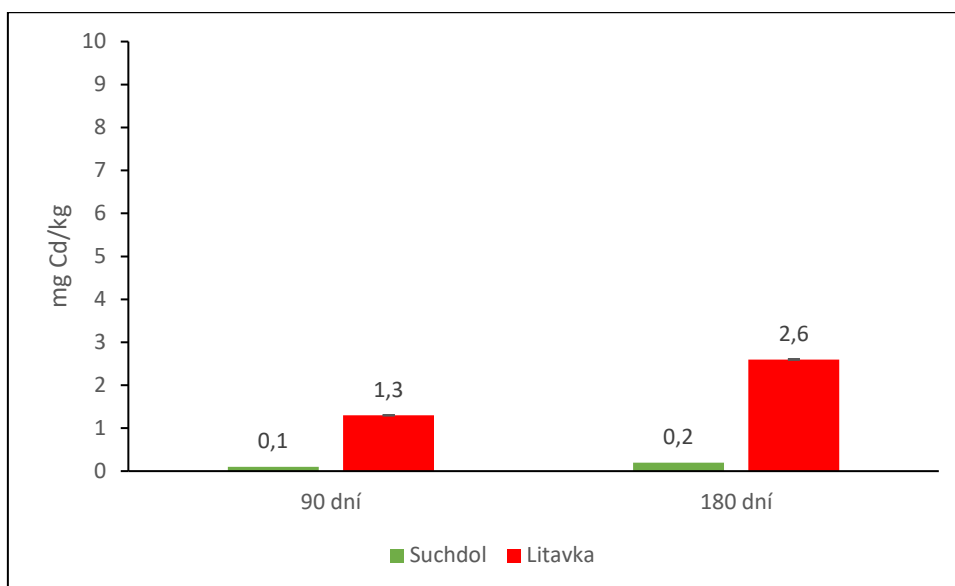
V následujících grafech byl porovnán stanovený obsah kadmia v nadzemní biomase (grafy č. 9 a 10) a kořenech (grafy č. 11 a 12) obou kapradin pěstovaných v zemině Suchdol a Litavka. Vzhledem k tomu, že ani jedna z rostlin není hyperakumulátorem kadmia, mají hodnoty obsahů podobnou tendenci, a to jak v nadzemní biomase, tak v kořenech. Tento prvek se rostlinám hromadil zejména v kořenech. Obsah Cd v nich je u PC pětinasobný a u PS šestinasobný v porovnání s nadzemní biomasou.

**Graf č. 9: Obsah Cd v nadzemní biomase *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



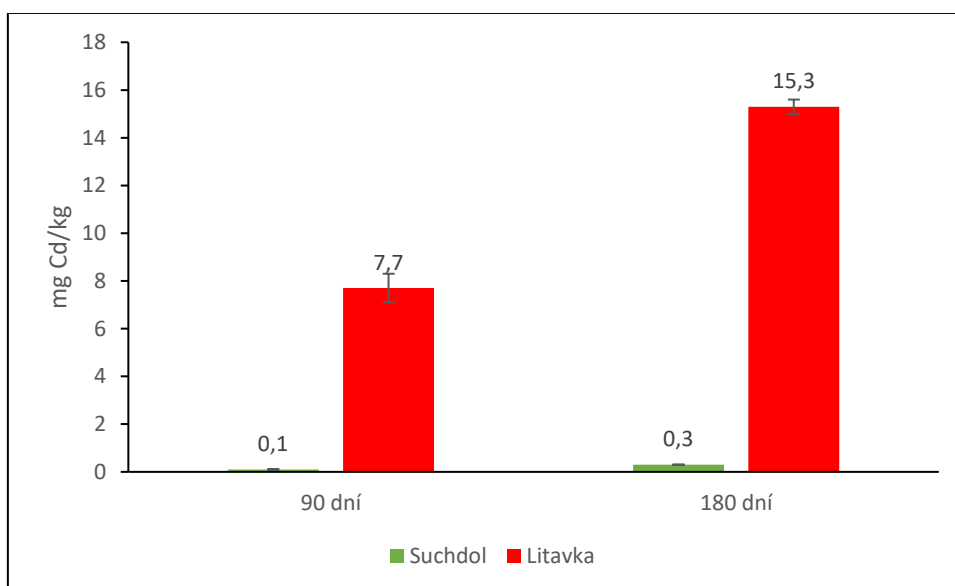
Z grafu č. 9 vyplývá, že u PC-LI došlo k nárůstu obsahu kadmia o 88 %, u PC-SU pak k nárůstu z 0,1mg/kg na 0,2 mg/kg, tedy na dvojnásobek.

**Graf č. 10: Obsah Cd v nadzemní biomase *Pteris straminea***



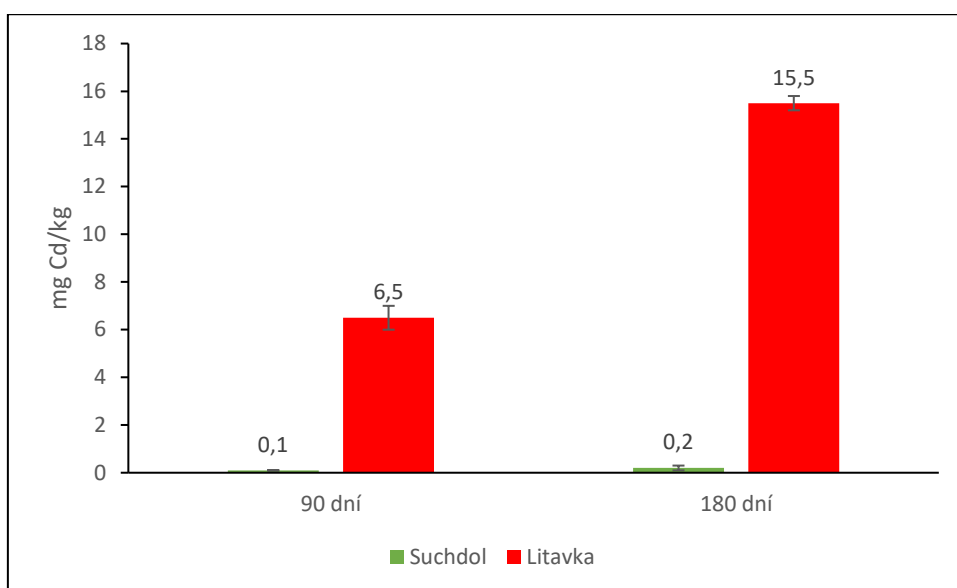
Z grafu č. 10 je patrné, že nadzemní biomasa PS-SU obsahovala při 1. odběru 0,1 mg/kg kadmia a u 2. odběru došlo k nárůstu na 0,2 mg/kg, u PS-LI byl při 1. odběru obsah 1,3 mg/kg, u 2. odběru došlo k nárůstu na 2,6 mg/kg, tedy také na dvojnásobek.

**Graf č. 11: Obsah Cd v kořenech *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



Na grafu č. 11 lze vidět, že v případě PC-SU došlo k nárůstu obsahu kadmia v kořenech z 0,1 mg/kg na 0,3 mg/kg. U PC-LI došlo k téměř dvojnásobnému nárůstu obsahu kadmia v kořenech ze 7,7 mg/kg na 15,3 mg/kg.

**Graf č. 12: Obsah Cd v kořenech *Pteris straminea***



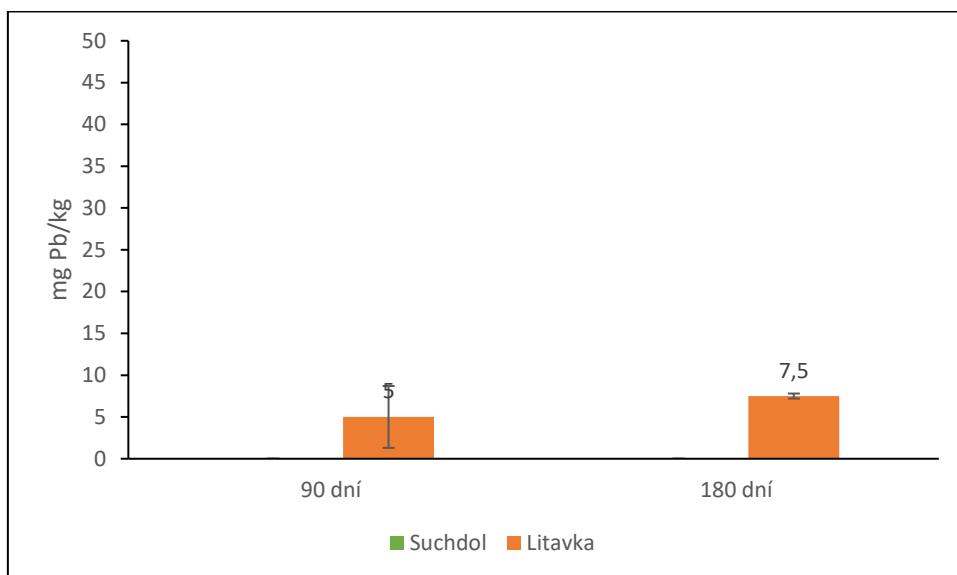
Graf č. 12 ukazuje, že u kořenů PS-SU došlo ke dvojnásobnému nárůstu obsahu u 0,1 mg/kg na 0,2 mg/kg, u PS-LI došlo k nárůstu obsahu kadmia mezi odběry o 138 %.

## 5.4 Obsah olova

V následujících grafech jsou uvedeny stanovené hodnoty obsahu olova v nadzemní biomase (grafy č. 13 a 14) a v kořenech (grafy č. 15 a 16) obou rostlinných druhů, které byly pěstovány v zeminách Suchdol a Litavka.

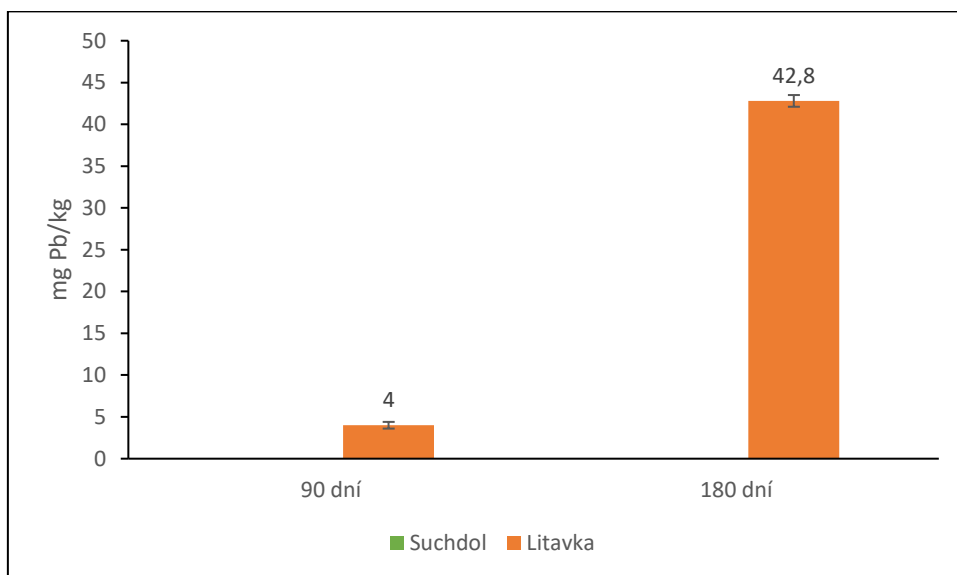
Výsledky korespondují s dosavadními poznatky, že je olovo málo mobilní a dochází k jeho hromadění v kořenech. Zemina Suchdol je černozem, má vyšší sorpci a je méně kontaminovaná, proto hodnoty stanovené v rostlinách pěstovaných na této zemině byly výrazně nižší (místo pod mezí detekce) v porovnání s Litavkou, lehkou fluvizemí, s nižší sorpční schopností a vyšší kontaminací.

**Graf č. 13: Obsah Pb v nadzemní biomase *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



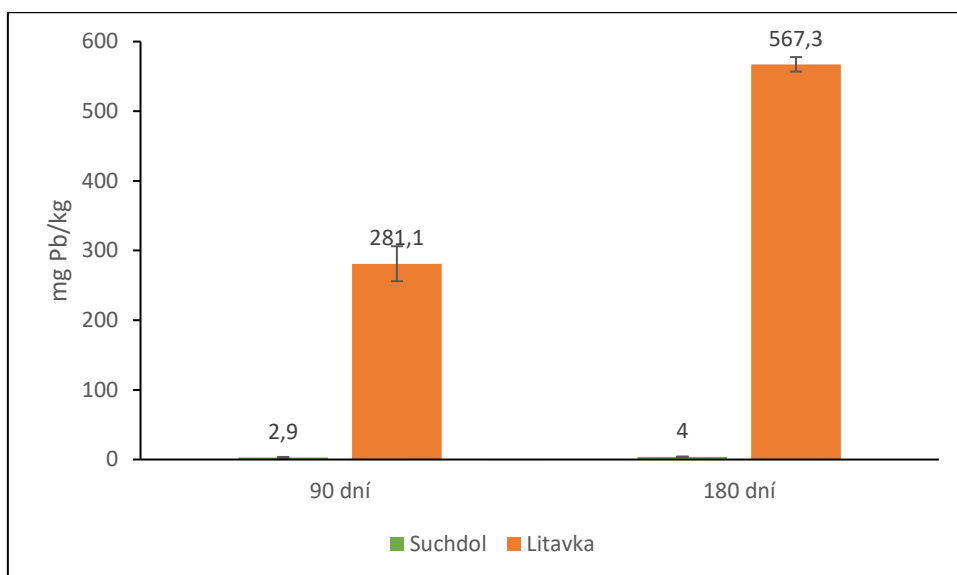
Výše uvedený graf ukazuje, že v nadzemní biomase u zeminy Suchdol byl v obou odběrech obsah Pb pod mezí detekce, u zeminy Litavka došlo mezi jednotlivými odběry k nárůstu obsahu olova o 50 %.

**Graf č. 14: Obsah Pb v nadzemní biomase *Pteris straminea***



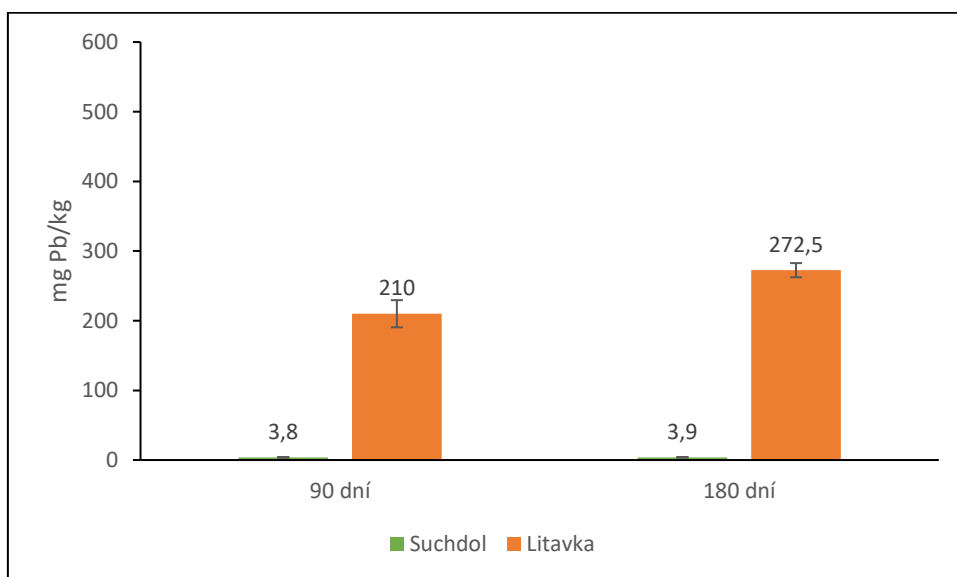
Z grafu č. 14 je patrné, že obsah olova v nadzemní biomase byl v případě PS-SU pod mezí detekce při obou odběrech, u zeminy Litavka došlo mezi odběry k nárůstu o 970 %.

**Graf č. 15: Obsah Pb v kořenech *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



Z grafu je patrné, že obsah olova v kořenech v případě PC-SU vzrostl mezi odběry o 38 %, u PC-LI došlo k nárůstu obsahu olova mezi jednotlivými odběry o 102 %.

**Graf č. 16: Obsah Pb v kořenech *Pteris straminea***



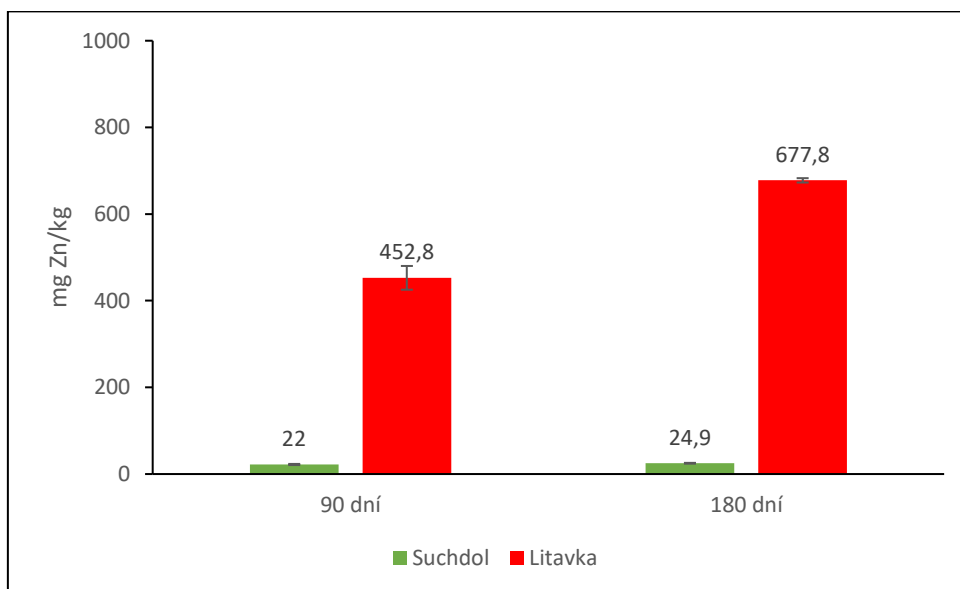
Na grafu č. 16 lze vidět, že nárůst obsahu olova v PS-SU mezi 1. a 2. odběrem byl 2,6 %, v případě PS-LI nárůst obsahu olova činil 31 %.

Porovnání obsahu Pb v kořenech obou rostlin, ukazuje výrazně vyšší schopnost PC kumulovat tento prvek v kořenech.

## 5.5 Obsah zinku

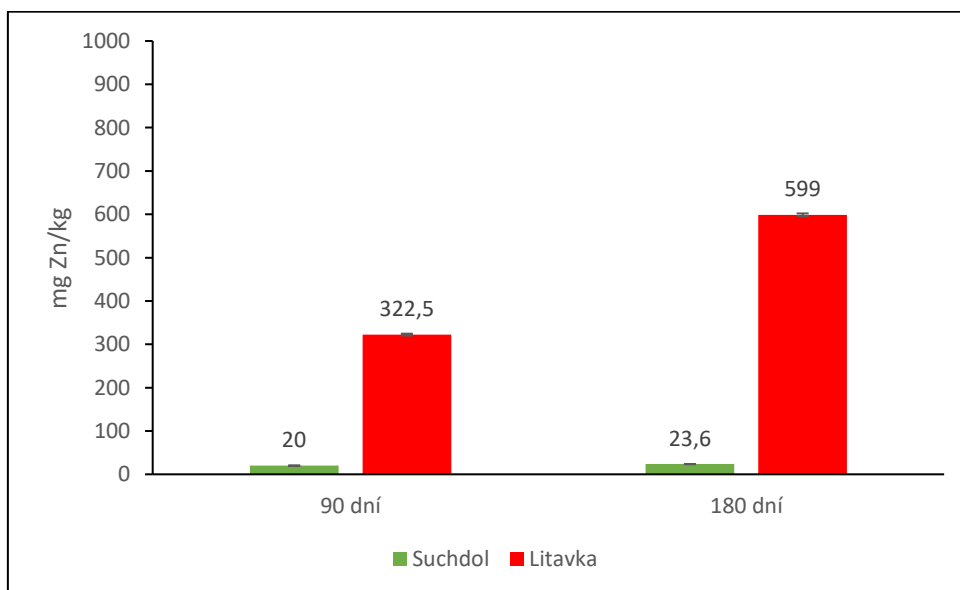
V následujících grafech byl porovnán stanovený obsah zinku v nadzemní biomase (grafy č. 17 a 18) a kořenech (grafy č. 19 a 20) obou kapradin pěstovaných v zemině Suchdol a Litavka. Vzhledem k tomu, že ani jedna z rostlin není hyperakumulátorem zinku, mají hodnoty obsahů podobnou tendenci, a to jak v nadzemní biomase, tak v kořenech.

**Graf č. 17: Obsah Zn v nadzemní biomase *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



Z výše uvedeného grafu vyplývá, že mezi odběry případě PC-SU prakticky nedošlo k žádné změně, u PC-LI naopak došlo k nárůstu obsahu zinku o 50 %.

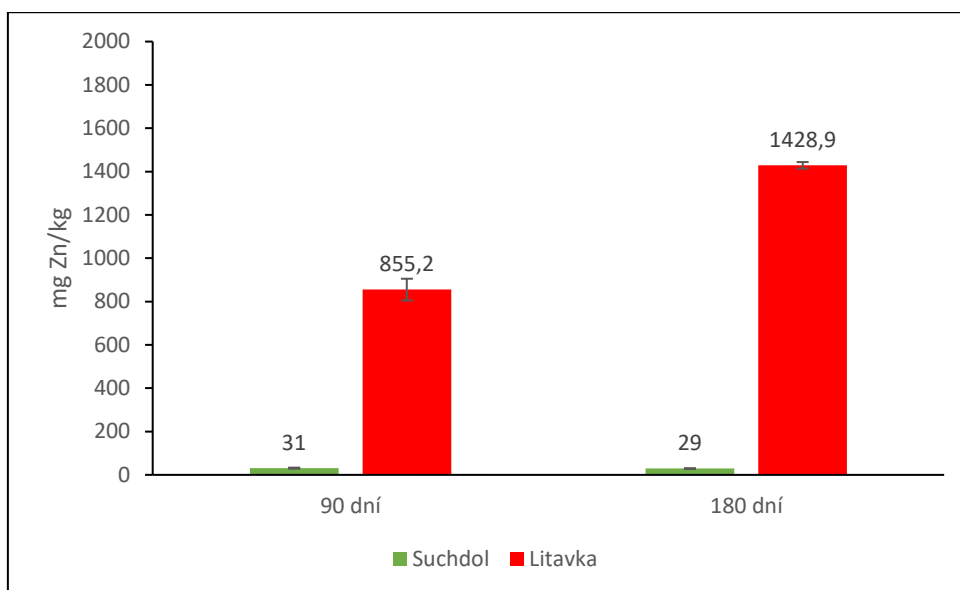
**Graf č. 18: Obsah Zn v nadzemní biomase *Pteris straminea***



Graf č. 18 ukazuje, že mezi odběry PS-SU nedošlo k výrazné změně obsahu zinku v nadzemní biomase o 15 %, u PS-LI došlo k nárůstu obsahu zinku v nadzemní biomase o 86 %.

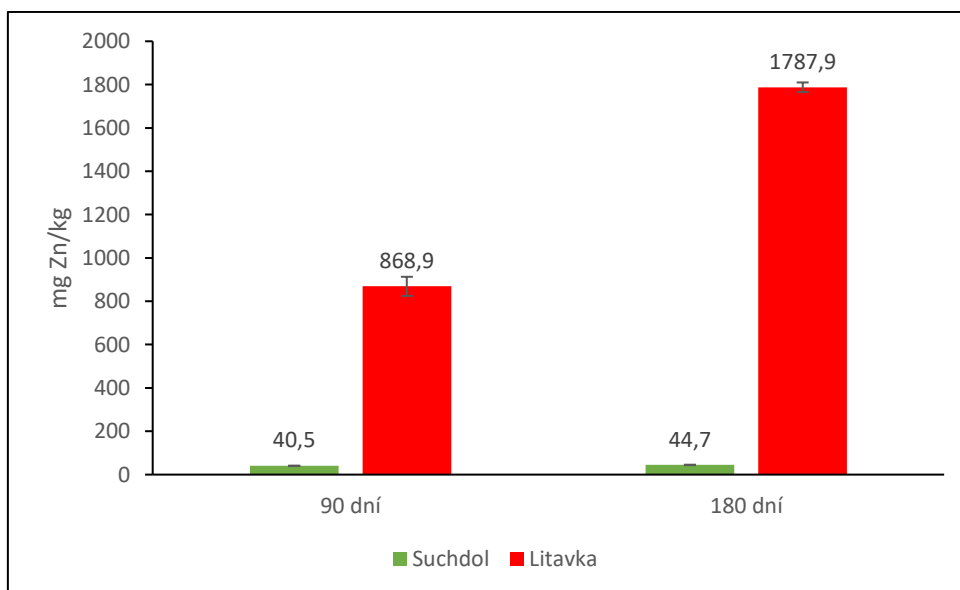


**Graf č. 19: Obsah Zn v kořenech *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



Z grafu č. 19 je patrné, že mezi 1. a 2. odběrem vzorků v zemině Suchdol nedošlo k významným změnám obsahu zinku v kořenech. V případě vzorků v zemině Litavka došlo k nárůstu obsahu zinku v kořenech o 67 %.

**Graf č. 20: Obsah Zn v kořenech *Pteris straminea***

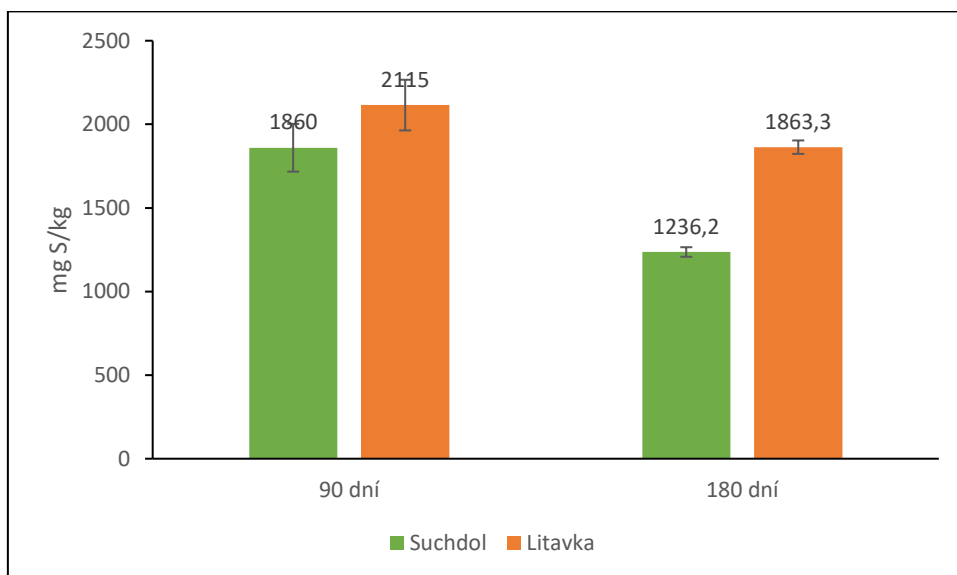


Z grafu č. 20 vyplývá, že v kořenech vzorků v zemině Suchdol došlo k nárůstu obsahu zinku o 10 %, u rostlin rostoucích v zemině Litavka došlo k nárůstu obsahu zinku v kořenech o 106 %.

## 5.6 Obsah síry

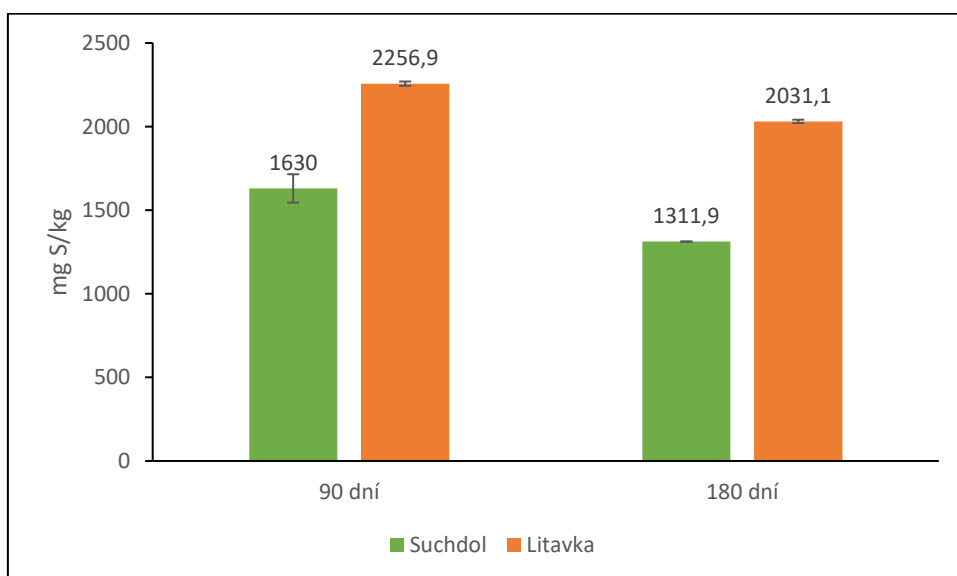
V následujících grafech byl porovnán obsah síry v nadzemní biomase (grafy č. 21 a 22) a kořenech (grafy č. 23 a 24) obou kapradin pěstovaných v zemině Suchdol a Litavka. U nadzemní biomasy obou rostlin je patrný zřed'ovací efekt – v pozdější fázi růstu rostlina roste rychleji, dochází tedy k většímu nárůstu biomasy, a proto je obsah prvku nižší.

**Graf č. 21: Obsah S v nadzemní biomase *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



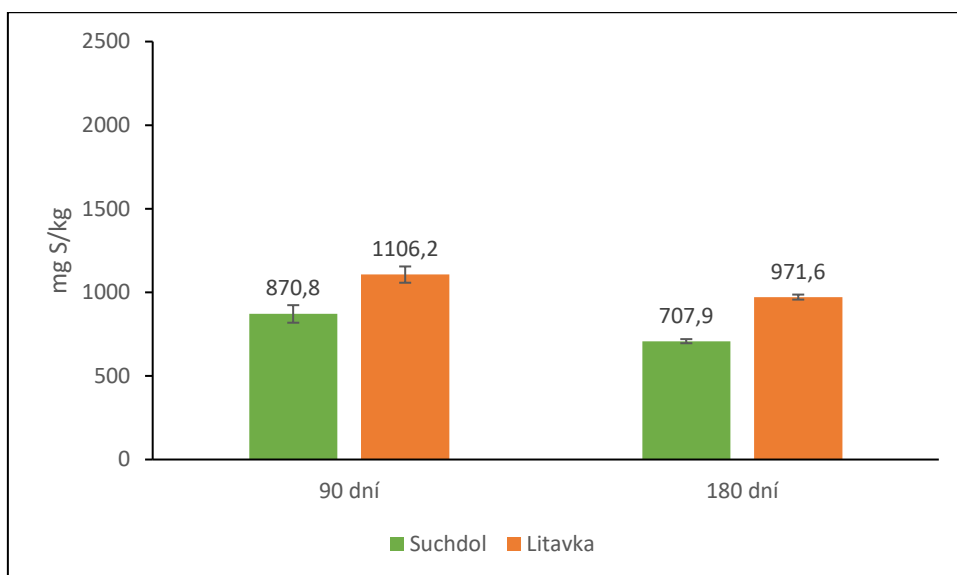
Na grafu č. 21 lze vidět, že mezi odběry došlo k poklesu obsahu síry v nadzemní biomase. U PC-SU činil úbytek 34 %, u PC-LI byl úbytek obsahu síry 12 %.

**Graf č. 22: Obsah S v nadzemní biomase *Pteris straminea***



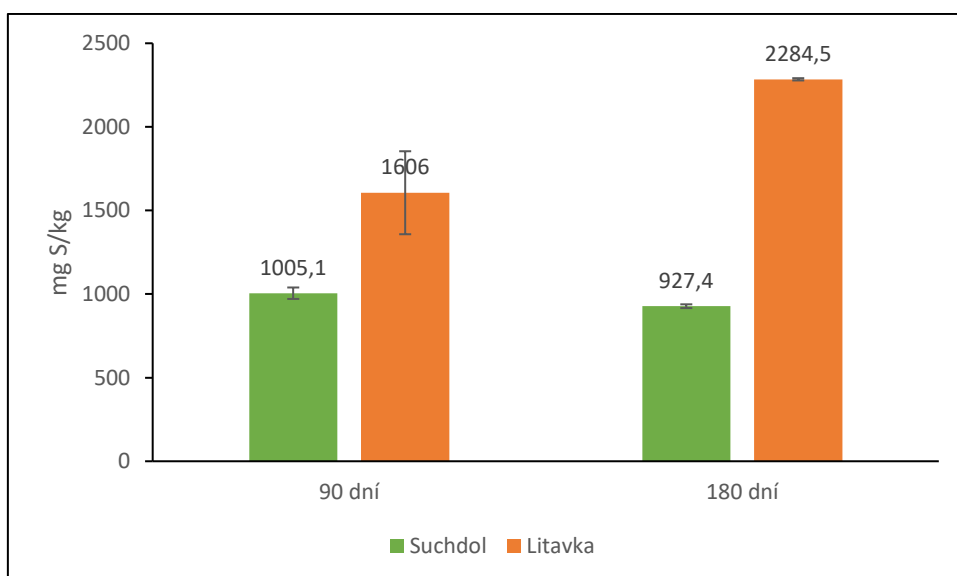
Z grafu č. 22 vyplývá, že jak v případě PS-SU, tak u PS-LI došlo k poklesu obsahu síry v kořenech. U PS-SU pokles činil 20 %, u PS-LI byl pokles o 10 %.

**Graf č. 23: Obsah S v kořenech *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



Z výše uvedeného grafu je patrné, že mezi 1. a 2. odběrem došlo k poklesu obsahu síry v kořenech, a to jak u PC-SU, tak u PC-LI. U PC-SU pokles činil 19 %, u PC-LI byl pokles 12 %.

**Graf č. 24: Obsah S v kořenech *Pteris straminea***

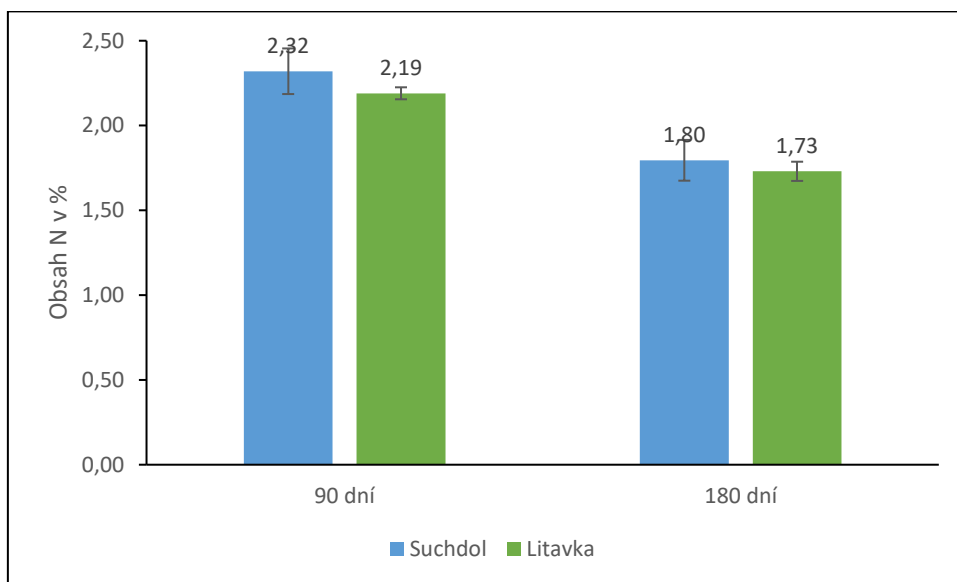


Graf č. 24 ukazuje, že u PS-SU došlo k poklesu obsahu síry v kořenech o 8 %, zatímco u PS-LI došlo k nárůstu obsahu síry o 42 %. Důvodem nárůstu obsahu S je omezený růst kořenů.

## 5.7 Obsah dusíku

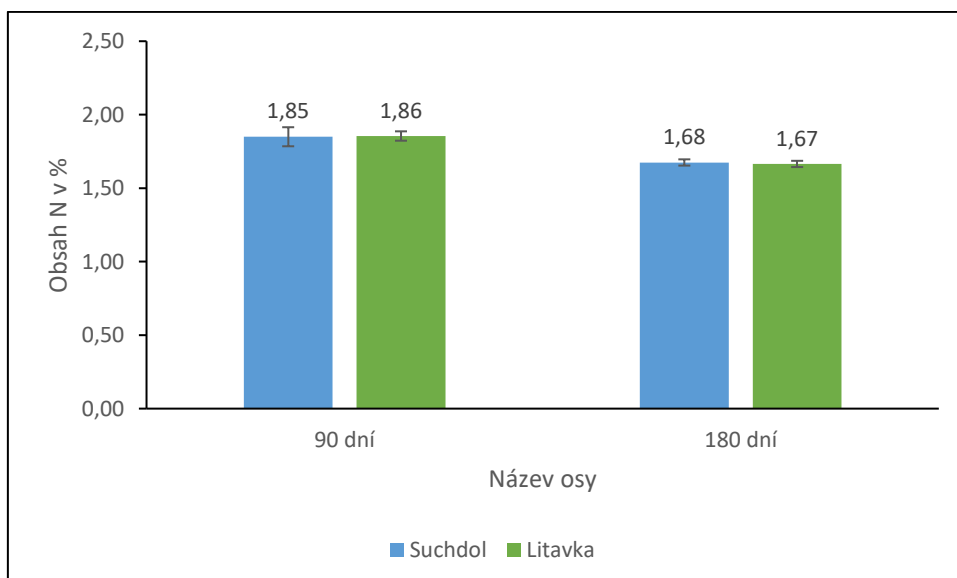
V následujících grafech je znázorněn průběh obsahu dusíku v nadzemní biomase (graf č. 25 a 26) a kořenech (graf č. 27 a 28) rostlin PC a PS, které byly pěstovány v zeminách Suchdol a Litavka. Podobně jako u síry je i u dusíku patrný zřed'ovací efekt, kdy rostlina v pozdější fázi roste rychleji, a proto obsahuje méně dusíku.

**Graf č. 25: Obsah dusíku v nadzemní biomase *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



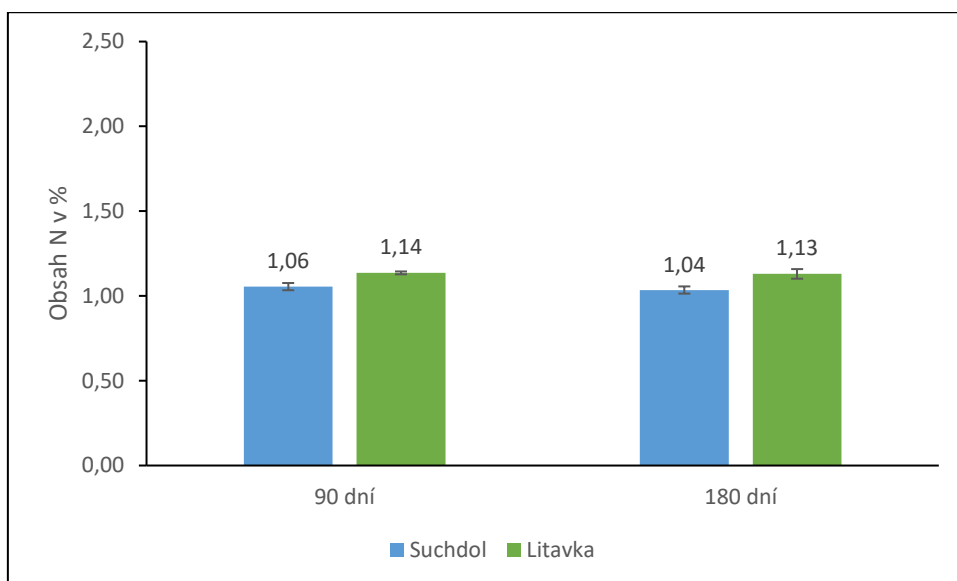
Z výše uvedeného grafu je patrné, že u obou zemin došlo v nadzemní biomase k poklesu obsahu dusíku, u PC-SU o 0,52 %, u PC-LI o 0,46 %. Rozdíl mezi variantami SU a LI je nevýznamný.

**Graf č. 26: Obsah dusíku v nadzemní biomase *Pteris straminea***



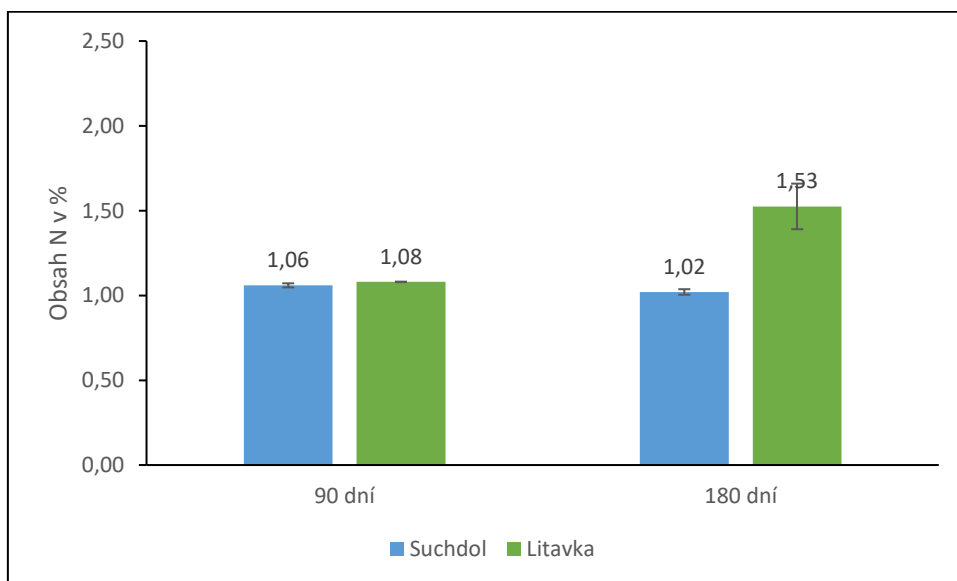
Z grafu č. 26 vyplývá, že u PS došlo rovněž k poklesu obsahu dusíku v rostlině, u PS-SU o 0,17 %, u PS-LI o 0,19 %. Podobně jako u PC není patrný rozdíl mezi SU a LI.

**Graf č.27: Obsah dusíku v kořenech *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



Z výše uvedeného grafu vyplývá, že u PC-SU došlo k poklesu obsahu dusíku v rostlině o 0,02 %, u PC-LI byl velmi nepatrný nárůst, který činil 0,01 %.

**Graf č. 28: Obsah dusíku v kořenech *Pteris straminea***

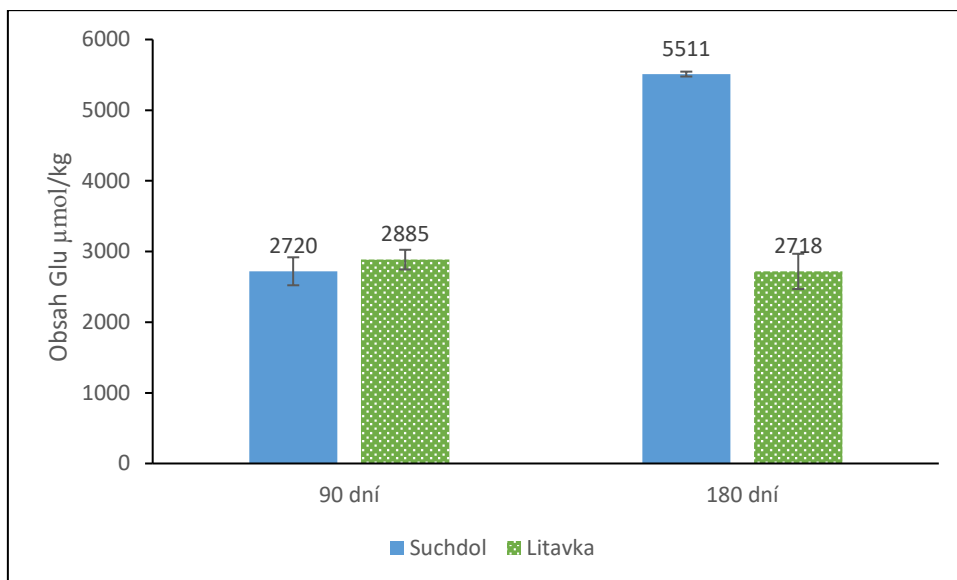


Z grafu č. 28 je patrné, že u PS-SU došlo k poklesu obsahu dusíku o 0,04 %, u PC-LI byl nárůst o 0,45 %

## 5.8 Obsah aminokyselin

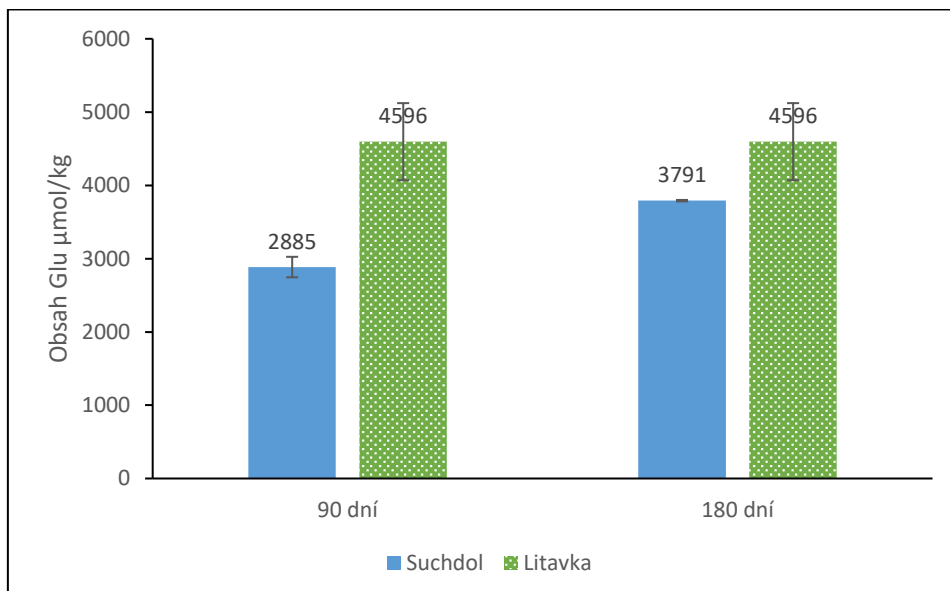
V následujících grafech je uvedený obsah stanovených aminokyselin – kyseliny glutamové (grafy č. 29 a č. 30), glutaminu (grafy č. 31 a 32) a prolinu (grafy č. 33 a 34). Aminokyseliny byly stanovovány pouze v nadzemní biomase.

**Graf č. 29: Obsah kyseliny glutamové v nadzemní biomase *Pteris cretica* var. *Albo lineata***



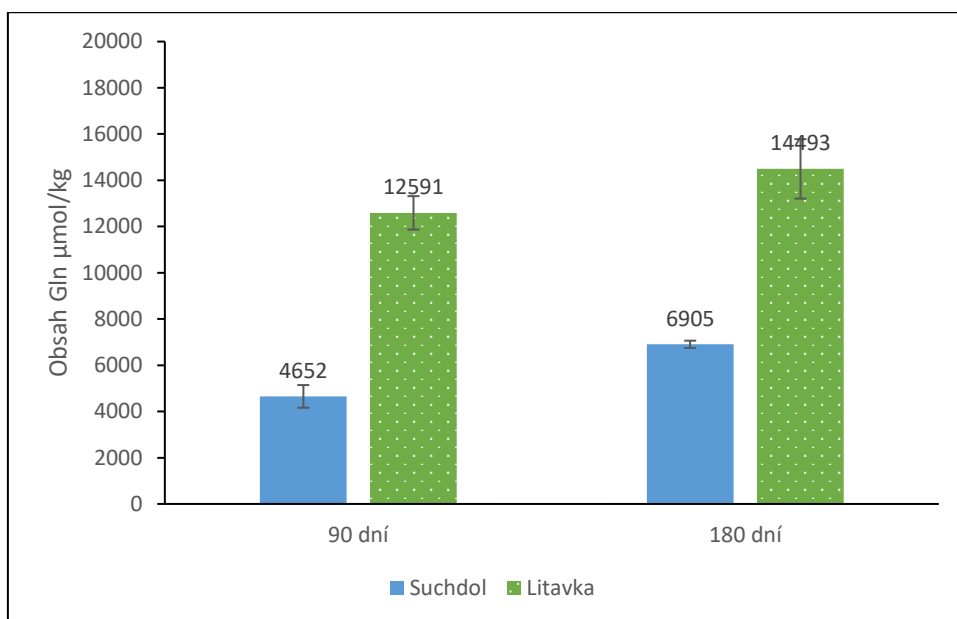
Na výše uvedeném grafu lze vidět, že mezi odběry došlo k výraznému nárůstu obsahu kyseliny glutamové u PC-SU, a to o 103 %, u PC-LI byl pokles nevýznamný – činil necelých 6 %.

**Graf č. 30: Obsah kyseliny glutamové v nadzemní biomase *Pteris straminea***



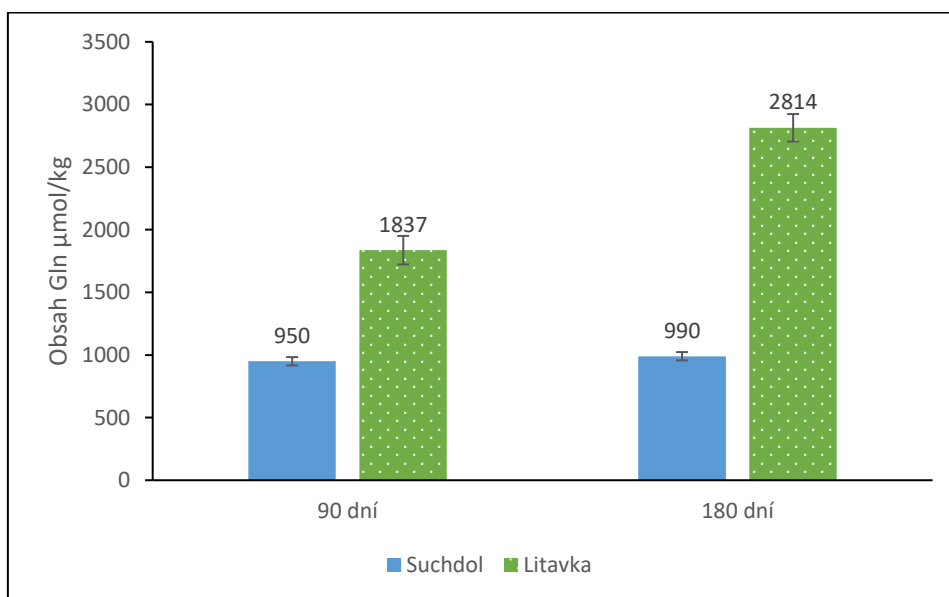
Z grafu č. 30 je patrné, že u PS-SU došlo k nárůstu obsahu kyseliny glutamové o 31 %, u PS-LI pak zůstaly hodnoty beze změny.

**Graf č. 31: Obsah glutaminu v nadzemní biomase *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



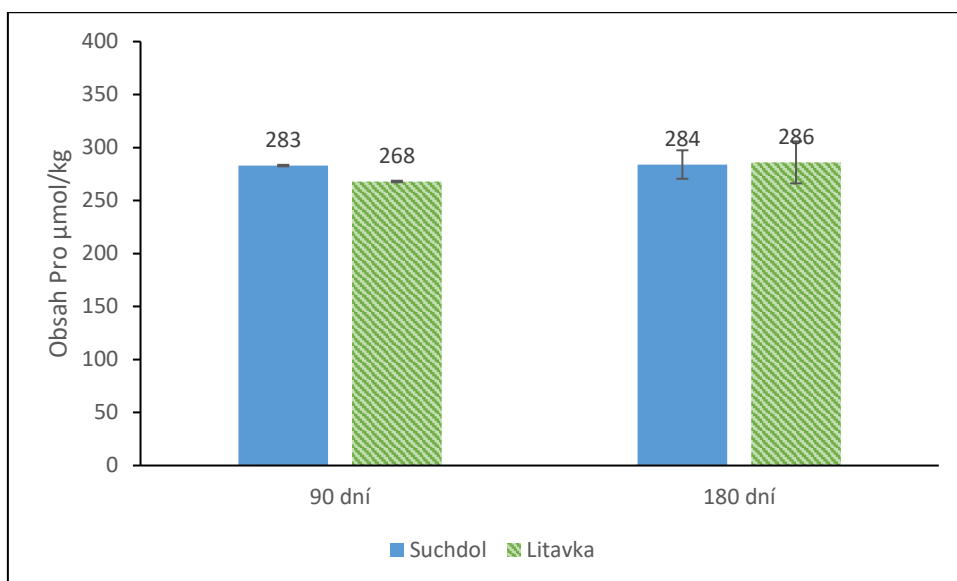
Z grafu č. 31 vyplývá, že obsah glutaminu PC-SU vzrostl o 48 %, u PC-LI byl nárůst 15 %.

**Graf č. 32: Obsah glutaminu v nadzemní biomase *Pteris straminea***



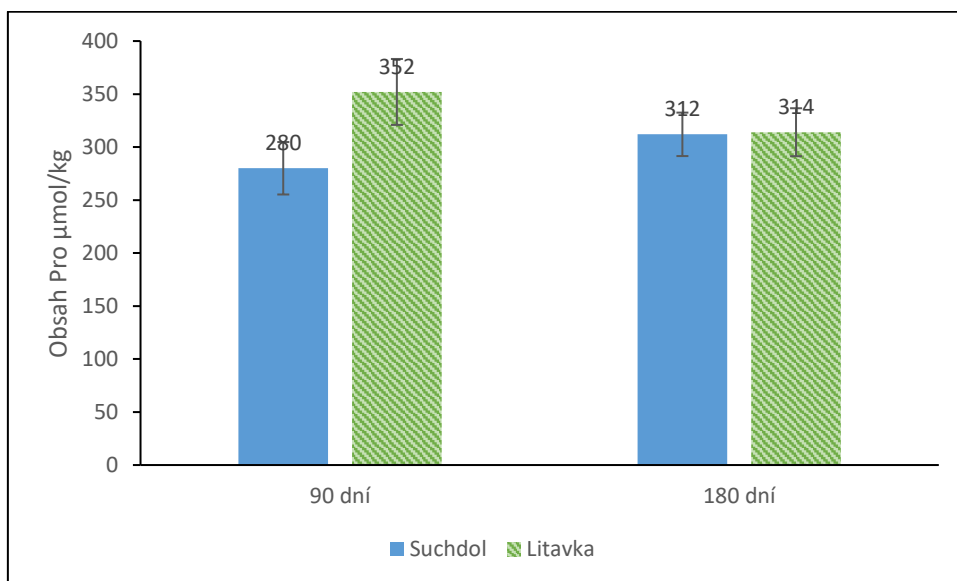
Z výše uvedeného grafu je patrné, že u PS-SU došlo k mírnému nárůstu obsahu glutaminu, který činil 4 %, u PS-LI byl nárůst výraznější – 53 % oproti prvnímu odběru.

**Graf č. 33: Obsah prolinu v nadzemní biomase *Pteris cretica* var. *Albo-lineata***



Na grafu č. 34 lze vidět, že u PC-SU došlo k nárůstu obsahu prolinu o 0,35 %, u PC-LI byl nárůst o 7 %.

**Graf č. 34: Obsah prolinu v nadzemní biomase *Pteris straminea***



Z výše uvedeného grafu je patrné, že u PS-SU došlo k nárůstu obsahu prolinu v rostlině o 11 %, PS-LI naopak došlo k poklesu obsahu prolinu o 11 %.



## 6 Diskuze

Arsen je prvek, který se ve stopovém množství běžně vyskytuje v životním prostředí (Eisler, 2007) a je součástí zejména sedimentárních hornin. Zvýšená koncentrace arsenu v životním prostředí je významným environmentálním rizikem, protože kontaminace vede k problémům, jako je znečištění vod, půdy a zemědělských plodin. Tento problém je globálního charakteru, a proto je fyto-remediace do budoucna bezesporu velmi zajímavou metodou s nespornými výhodami, jako jsou nízká ekonomická náročnost a to, že se jedná o nedestruktivní metodu. Tento problém se netýká jen arsenu, ale řady dalších rizikových prvků, které se do životního prostředí dostávají v souvislosti s nejrůznějšími odvětvími průmyslu. Může se jednat například o následující rizikové prvky: olovo, kadmium, chrom, měď, nikl, rtuť, zinek. V oblasti řeky Litavky, odkud pochází zemina použitá při experimentu, byly zvýšené hodnoty zejména arsenu, kadmia, zinku a olova.

Řeka Litavka se nachází v okrese Příbram ve Středočeském kraji a protéká územím, kde byly po staletí těženy polymetalické rudy (Nováková et al., 2015). Říční systém je nyní jedním z největších zdrojů sekundárního znečištění v České republice (Žák et al., 2009). Navíc se jedná o oblast často postiženou povodněmi, kdy dochází k ukládání sedimentů. Vzhledem k lokalitě se jedná o sedimenty obsahující výše zmiňované rizikové prvky pocházející z průmyslu zpracujícího kovy. Výše uvedené potvrzují naše výsledky analýzy půd uvedené v tab. 4.

*Pteris cretica* var. *Albo-lineata* je hyperakumulátorem arsenu, což potvrzují i výsledky experimentu. Rascio & Navari-Izzo (2011) jako jeden z hlavních rozdílů hyperakumulátoru proti běžné rostlině uvádějí vyšší akumulaci v nadzemní biomase než v kořenech, zatímco u rostlin, které schopnost hyperakumulace nemají, dochází k akumulaci rizikového prvku v kořenu, protože rostlina používá obranné mechanismy, které brání v transportu do nadzemní biomasy. Tato tendence je patrná zejména u druhého odběru, kde u PC-SU byl obsah arsenu v nadzemní biomase 48,7 mg/kg a u kořenů 40,8 mg/kg, obsah v nadzemní biomase byl tedy téměř o 20 % vyšší než v kořenech. V případě PC-LI byl také tento rozdíl patrný u druhého odběru, kde byl obsah arsenu v nadzemní biomase 139,1 mg/kg a u kořenů 127,6 mg/kg, obsah v nadzemní biomase byl tedy vyšší o 9 %.

Experiment se stejným druhem kapradin prováděli Pavlíková et al. (2020). Rozdíl zde byl v tom, že použitá suchdolská černožem byla uměle kontaminovaná arsenem. Nejvyšší kontaminace As<sub>2</sub> byla 100 mg As/kg zeminy, tedy výrazně méně než u Litavky, která obsahovala arsen 278 mg/kg. Přesto stanovili obsah arsenu v nadzemní biomase PC přes 5000 mg/kg a u PS 80 mg/kg. V experimentu na zemině Litavka bylo arsenu v nadzemní biomase u

PC 139,1 mg/kg, u PS 26,1 mg/kg, tedy výrazně méně – zejména v případě hyperakumulátoru. Příčinou rozdílu je, že arsen pocházející z  $\text{Na}_3\text{AsO}_4$ , který použili Pavlíková et al. (2020) pro kontaminaci, je pro rostliny snadno dostupný, zatímco u Litavky je stanoven celkový obsah arsenu – tedy včetně nerozpustných a velmi špatně rozpustných sloučenin, které pro rostliny nejsou dostupné.

*Pteris straminea* hyperakumulátorem není a zjištěné výsledky odpovídají výše uvedeným poznatkům. U prvního odběru PS-SU byl obsah v nadzemní biomase 0,1 mg/kg, v kořenech 4 mg/kg, tedy 40x více než v nadzemní biomase. U prvního odběru PS-LI bylo v nadzemní biomase 9,1 mg/kg arsenu, v kořenech 20,9 mg/kg – o 130 % více proti nadzemní biomase. Při druhém odběru PS-SU byl obsah arsenu v kořenech 4,4 mg/kg – tedy obdobný jako u prvního odběru, rozdíl však byl v tom, že u nadzemní biomasy došlo k nárůstu na 1,8 mg/kg. Zemina Suchdol je ve srovnání s Litavkou méně kontaminovaná, nicméně i zde lze pozorovat, že při delším vystavení kontaminaci přestaly fungovat obranné mechanismy zabraňující vstupu kontaminantu do další části rostliny. Tento trend je ještě více patrný u druhého odběru PS-LI, kde byla kontaminace půdy arsenem mnohem vyšší a kde téměř došlo ke srovnání obsahu arsenu v obou částech rostliny – 26,1 mg/kg v nadzemní biomase a 27,3 mg/kg v kořenech.

PS měla rovněž výrazně nižší výnos biomasy v důsledku vyšší reakce na kontaminaci. Reakci na kontaminaci lze pozorovat i u zeminy Suchdol, kde je obsah arsenu mnohem nižší než u Litavky. Na zemině Suchdol byl u hyperakumulátoru výnos nadzemní biomasy 3x vyšší než u ne-hyperakumulátoru, na Litavce pak 2,5x vyšší. Ještě více je citlivost PS na kontaminaci patrná u kořenů, kde byl výnos u hyperakumulátoru více než 3x vyšší na zemině Suchdol a téměř 8x vyšší na zemině Litavka. Snížení výnosu nadzemní biomasy se zvyšující se dávkou arsenu uvádějí i Pavlíková et al. (2020), kteří prováděli experiment se stejným druhem kapradin. U experimentu se *Spinacia oleracea* L., uvádějí Pavlík et al. (2010) snižující se výnos biomasy mezi kontrolou a zvyšujícími se dávkami arsenu v půdě. Při porovnání výnosu mezi kontrolou a nejvyšším obsahem arsenu (75 mg As/kg půdy) došlo v jejich experimentu k poklesu výnosu na 40 %. Gunes et al. (2009 in Pavlík et al., 2010) uvádějí pokles výnosu rostlin pod vlivem stresu z působení arsenu. To koresponduje i se zjištěnými výsledky u *Pteris straminea* v našem experimentu.

Experiment na půdě Litavka uvádějí rovněž Vondráčková et al. (2017). Při svém experimentu použili vrby *Sallix* sp., jejichž výhodou pro účinnost fytoremediace je velká kořenová oblast a maximum penetrace do půdy. As, Cd, Pb a Zn se akumulovaly především v jemných kořenech a přesun do nadzemní biomasy měl stoupající tendenci v tomto pořadí: Pb < As < Zn ~ Cd. Procentuální zvýšení celkového odběru rizikového prvku z půdy mezi odběry

se pohybovalo mezi 24–31, 27–45, 92–98 a až 98 % pro Cd, Zn, As a Pb. Dále Vondráčková et al. (2017) uvádějí, že výnos biomasy negativně souvisel se stupněm kontaminace půdy Cd, Zn a Pb. To koresponduje s našimi výsledky u PS, kde byl u kořenů o 60 % větší výnos na nekontaminované kontrole oproti Litavce. U PC, která je hyperakumulátorem a není tolik citlivá na kontaminaci, byl naopak byl vyšší výnos biomasy kořenů u Litavky.

Vysoké koncentrace kadmia mohou být pro rostlinu toxické. Za toxické pro většinu rostlin jsou považovány koncentrace vyšší než 5–10 mg/kg nadzemní biomasy (White & Brown, 2010, Lux et al., 2011). Při experimentu byl u 2. odběru stanoven obsah kadmia 0,2 mg/kg u PS-SU i PC-SU. Hodnoty na Litavce byly vyšší, u PC-LI 3,2 mg/kg, v případě PS-LI 2,6 mg/kg.

Při porovnání těchto hodnot s výše uvedenými limitními hodnotami je tedy patrné, že v nadzemní biomase nebyla koncentrace toxická. Zemanová et al. (2016) ve svém experimentu na půdách kontaminovaných kadmiiem s penízky *Noccaea praecox* a *Noccaea caerulea*, které jsou hyperakumulátory zinku a kadmia, stanovili hodnoty kadmia v nadzemní biomase 28 mg/kg. *Pteris straminea* ani *Pteris cretica* var. *Albo-lineata* nejsou hyperakumulátory kadmia a obsahy kadmia v nadzemní biomase byly při obou odběrech velmi nízké (0,1–0,2 mg/kg), a to u obou rostlin a na obou stanovištích – tedy i na Litavce, která je na rozdíl od Suchdola kontaminována kvůli metalurgické činnosti.

Mnohem vyšší hodnoty kadmia byly v kořenech, kdy mezi odběry došlo k přibližně dvojnásobnému nárůstu obsahu. Nejvyšší hodnoty byly u druhého odběru na zemině Litavka, kde obě rostliny měly obsah kadmia vyšší než 15 mg/kg. Tato tendence koresponduje s mechanismy, které uvádějí Rascio & Navari-Izzo (2011), tedy že v případě nehyperakumulátoru dochází ke kumulaci kontaminantu v kořenech a bránění rizikového prvku v dalším transportu do nadzemní biomasy. Velmi podobnou tendenci lze pozorovat i u zinku, jehož hyperakumulátorem rovněž není ani jedna z rostlin.

Zinek je pro rostliny esenciální prvek a hraje zásadní roli pro metabolismus, je aktivní složkou různých enzymů, jako je dehydrogenáza, proteinázy, peptidázy a fosforylázy, což má vliv např. na metabolismus sacharidů, proteinů. Dále zinek ovlivňuje permeabilitu membrán a stabilizaci buněčných komponent (Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007). Za deficienci je považováno, pokud je obsah zinku v sušině nižší než 20 mg/kg, za toxický je naopak považován obsah zinku nad 300–400 mg/kg (Boawn & Ramussen, 1971; Vitosh et al., 1994 in Kabata – Pendias & Mukherjee, 2007).

Z toho vyplývá, že v rostlinách stanovené hodnoty pro zinek byly v normě u obou rostlin na kontrolní zemině Suchdol, která nebyla kontaminována. Obsah zinku byl u PC-SU 24,9

mg/kg u nadzemní biomasy a 29 mg/kg u kořenů, v případě PS-SU 23,6 mg/kg u nadzemní biomasy a 44,7 mg/kg u kořenů.

Zemina Litavka měla téměř 41x vyšší obsah zinku než kontrolní zemina Suchdol a podobný trend lze pozorovat i při srovnání obsahů na jednotlivých půdách – v kořenech PS bylo při odběru po 180 dnech stanoveno téměř 41x vyšší obsah zinku na zemině Suchdol oproti kontrole, u PC dokonce 49x vyšší. U nadzemní biomasy byl obsah zinku u PS-LI 25x vyšší než u PS-SU, u PC-LI byl obsah zinku v nadzemní biomase 27x vyšší, než tomu bylo u PC-SU.

Stanovené koncentrace zinku u odběrů na zemině Litavka lze naopak považovat za toxické, v případě kořenů je koncentrace několikrát vyšší, než je mez toxicity. U PC-LI po 180 dnech 677,8 mg/kg u nadzemní biomasy a 1428,9 mg/kg u kořenů. U PC-SU byl obsah zinku po 180 dnech 599 mg/kg v nadzemní biomase a 1787,9 mg/kg u kořenů.

V případě olova zjištěné výsledky korespondují s dosavadními poznatky (Fahr et al., 2013, Sharma & Dubey, 2005, Kumar et al., 1995), že je olovo málo mobilní a dochází k jeho hromadění v kořenech. Zemina Suchdol je černozem, má vyšší sorpci a je méně kontaminovaná, proto hodnoty stanovené v rostlinách pěstovaných na této zemině byly výrazně nižší (místo pod mezí detekce) v porovnání s Litavkou, lehkou fluvizemí, s nižší sorpční schopností a vyšší kontaminací.

U síry byl, stejně jako u dusíku, patrný zředňovací efekt. Obsahy síry, vztažené na jednotku hmotnosti, byly u mladých rostlin vyšší než u starších rostlin, které jsou větší a tím pádem mají i více biomasy. U síry byl patrný rozdíl mezi použitými půdami. Na lehkých půdách, jako je Litavka se organické formy síry, tedy thioskupina -SH rychleji mineralizuje na sírany  $-SO_4^{2-}$ . U PS-LI došlo při druhé odběru k výraznému nárůstu obsahu síry v kořenech. Důvodem nárůstu byl omezený růst kořenů vzhledem k vysoké koncentraci rizikových prvků v půdě Litavka.

Dále byl stanoven procentuální obsah dusíku, a to jak v nadzemní biomase, tak v kořenech. V nadzemní biomase je patrný zředňovací efekt, kdy rostlina v pozdější fázi vývoje roste rychleji, a tudíž je obsah dusíku vztažený na jednotku hmotnosti sušiny nižší. Rozdíl v obsahu dusíku v rostlinách na zemině SU a LI byl v případě nadzemní biomasy PS nevýznamný, u PC-SU bylo u odběru po 90 dnech o 0,13 %. U kořenů byl největší rozdíl u druhého odběru PS, kde byl obsah dusíku na LI o 0,51 % vyšší. Zvýšený obsah dusíku v kořenech signalizuje stres. Ve stresovém prostředí má rostlina sníženou fotosyntézu, a tím menší zdroj energie, v důsledku čehož dochází ke hromadění dusíku v kořenech a růst biomasy je omezený (Pavlíková et al., 2020). Tomu odpovídají i hodnoty dusíku v kořenech u PS-LI.

Aminokyseliny byly stanoveny pouze v nadzemní biomase. V kořenech nebyly tyto analýzy provedeny z důvodu malého množství biomasy.

Kyselina glutamová je prekurzorem biosyntézy aminokyselin glutaminu a prolinu. Vysoké hladiny glutaminu značí, že rostliny byly ve stresu, a tudíž nebyly schopné jej dále využívat, ve stresu má rostlina méně uhlíkatých řetězců. Je to patrné u obou rostlin – ačkoliv je PC hyperakumulátor, je hyperakumulátorem pouze arsenu a v půdě jsou obsaženy další rizikové prvky (zejména kadmium a olovo), které působí rostlině stres. Obě rostliny měly v zemině Suchdol (tedy kontrole) mnohem nižší obsahy glutaminu – vzhledem k tomu, že zde byly mnohem nižší hladiny rizikových prvků, nedocházelo k tak velkému stresu a s ním spojené vysoké hladině nevyužitého glutaminu. Nárůst hodnot glutaminu ve stresovém prostředí potvrzují i Zemanová et al. (2016), kde u experimentu s *Nocceae praecox* ze slovinské oblasti Mežica, která je kontaminovaná kvůli metalurgické činnosti, došlo k nárůstu obsahu glutaminu, a to až o 90 % ve srovnání s kontrolou. Pavlíková et al. (2020) zjistili zvýšený obsah glutaminu u hyperakumulujících kapradin.

K nejvyšší akumulaci prolinu došlo u PS-LI. Vzhledem k tomu, že se jedná o půdu kontaminovanou arsenem a dalšími rizikovými prvky, lze z toho vyvozovat, že *Pteris straminea*, která není hyperakumulátorem arsenu, byla pod vlivem environmentálního stresu, což vedlo k vyšším hladinám prolinu v rostlině. Ve srovnání s PC u stejného odběru a půdy byl obsah prolinu u PS o 31 % vyšší. U druhého odběru došlo u PS ke srovnání hodnot pro volný prolin v obou zeminách – vzhledem k tomu, že PS není hyperakumulátor a je citlivá na vyšší hladiny rizikových prvků a po 180 dnech již bylo patrné odumírání, nedocházelo tak ke stresu a hladina volného prolinu byla stejná s kontrolou.

Obdobné hodnoty prolinu pro *Spinacia oleracea* L. na půdě kontaminované arsenem uvádějí Pavlík et al. (2010) a zmiňují, že metabolismus aminokyselin hraje zásadní roli v odolnosti rostlin vůči abiotickému stresu. Jejich výsledky potvrdily, že u rostlin pod vlivem stresu z působení arsenu došlo k nárůstu podílu volného prolinu. Volný prolin působí na glutamásyntetázu a při dosažení určité hladiny se prolin přestane tvořit. Kyselina glutamová, která je prekurzorem prolinu, místo toho začne tvořit fytochelatin. Pavlíková et al. (2008) se zabývali studiem glutamátkinázy a uvádějí, že tento enzym přestává fungovat, pokud dojde ke zvýšení hladiny volného prolinu a kyselina glutamová je pak využita ke tvorbě glutahioninu a fytochelatinů.

## 7 Závěr

- Cíl práce byl splněn, byly vyhodnoceny rozborů rostlin použitých při experimentu na půdě kontaminované arsenem a dalšími rizikovými prvky z oblasti Litavky a na kontrolní zemině Suchdol.
- Výsledky potvrdily dosavadní poznatky, že *Pteris cretica* var. *Albo-lineata* je hyperakumulátorem arsenu, zatímco *Pteris straminea* nikoliv. Tento fakt měl vliv na výnos a na distribuci prvku v rostlině.
- Potvrdilo se, že *Pteris straminea* je citlivější vůči kontaminaci.
- Bylo zjištěno, že ani jedna z rostlin není hyperakumulátorem kadmia a zinku, stanovené výsledky měly u obou prvků podobný trend.
- Stanovené hodnoty zinku na zemině Litavka byly toxické, na zemině Suchdol byly v limitu stanoveném pro tento esenciální prvek.
- Potvrdilo se, že olovo je málo mobilní a dochází k jeho hromadění v kořenech. Výrazně vyšší hodnoty byly u obou rostlin na zemině Litavka, která byla kontaminovaná, ale také se jedná o lehčí půdu s nízkou sorpční kapacitou a olovo je tedy rostlinám ve srovnání se suchdolskou černozemí snadněji dostupné.
- Kontaminace ovlivnila metabolismus síry a dusíku u *Pteris straminea*, která není hyperakumulátorem. V důsledku vystavení rizikovým prvkům docházelo v pozdější fázi růstu k senescenci, a s tím spojené kumulaci dusíku a síry v kořenech.
- U síry a dusíku byl patrný zředovací efekt a rychlejší mineralizace organických forem na Litavce, která je lehčí a má nižší sorpci.
- V nadzemní biomase byly stanoveny aminokyseliny kyselina glutamová, glutamin, prolin.
- Obsah volného prolinu byl u *Pteris straminea* o 31 % vyšší než u hyperakumulátoru *Pteris cretica* var. *Albo-lineata*. Potvrdilo se, že zvýšená hladina volného prolinu souvisí se stresem.
- Při senescenci rostliny došlo k poklesu hladiny volného prolinu.
- Nárůst glutaminu značí stresové prostředí, při kterém dochází k akumulaci glutaminu a neschopnost rostlin jej dále využívat.

## 8 Literatura

- Adriano DC. 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments. Springer –Verlag, New York.
- Baird C. 2003. Environmental Chemistry. Freeman, New York. Fifth edition.
- Bencko V, Cikrt M, Lener J. 1995. Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka. Grada, Praha. 2. vydání.
- Boominathan R, Doran PM. 2003. Cadmium tolerance and antioxidative defenses in hairy roots of the cadmium hyperaccumulator, *Thlaspi caerulescens*. Biotechnology and Bioengineering **83**.2: 158-167.
- Broadley MR, White PJ, Hammond JP, Zelko I, Lux A. 2007. Zinc in plants. New Phytologist **173**.4: 677-702.
- Cobbett CS. 2000. Phytochelatin biosynthesis and function in heavy-metal detoxification. Current Opinion in Plant Biology **3**.3: 211-216.
- D'Mello JPF (ed.). 2015. Amino Acids in Higher Plants. CAB International, Wallingford.
- Dushenkov V, Kumar PN, Motto H, Raskin I. 1995. Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. Environmental Science & Technology **29**.5: 1239-1245.
- Eisler R. 2007. Eisler's Encyclopedia of Environmentally Hazardous Priority Chemicals. Elsevier, Amsterdam.
- Fahr M, Laplaze L, Bendaou N, Hocher V, El Mzibri M, Bogusz D, Smouni A. 2013. Effect of lead on root growth. Frontiers in Plant Science **4**:175.
- Fišer J, Nováková M, Macek T. 2014. Mechanismy snižující toxicitu rizikových prvků u rostlin. Chemické Listy **108**.6: 566-571.
- Friedlová, Michaela. 2010. The influence of heavy metals on soil biological and chemical properties. Soil and Water Research **5**.1: 21-27.
- Grill E, Winnacker EL, Zenk MH. 1987. Phytochelatins, a class of heavy-metal-binding peptides from plants, are functionally analogous to metallothioneins. Proceedings of the National Academy of Sciences **84**.2: 439-443.
- Hajná V, Martinec J, Novotná Z. 2016. Prolin, výjimečná aminokyselina aneb, za co všechno může prolin v eukaryotické buňce. Bulletin of Czech Biotechnology Society **26**:87-90.

- Hall JL. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* **53**: 1-11.
- Hartley-Whitaker J, Woods C, Meharg AA. 2002. Is differential phytochelatin production related to decreased arsenate influx in arsenate tolerant *Holcus lanatus*?. *New Phytologist* **155**: 219-225.
- Housecroft CE, Sharpe AG. 2014. *Anorganická chemie*. Praha, Vysoká škola chemicko-technologická.
- Jeevanantham S, Saravanan A, Hemavathy MV, Kumar PS, Yaashikaa PR Yuvaraj D. 2019. Removal of toxic pollutants from water environment by phytoremediation: A survey on application and future prospects. *Environmental Technology & Innovation* **13**: 264-276.
- Kabata-Pendias A, Mukherjee AB. 2007. *Trace Elements from Soil to Human*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg.
- Kabata-Pendias A. 2000. *Trace Elements in Soils and Plants*. CRC Press.
- Kafka Z, Punčochářová J. 2002. Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chemické Listy* **96**: 611-617.
- Kan CC, Chung TY, Juo YA, Hsieh MH. 2015. Glutamine rapidly induces the expression of key transcription factor genes involved in nitrogen and stress responses in rice roots. *BMC Genomics* **16**: 731.
- Kaur G, Asthir B. 2015. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. *Biologia Plantarum* **59**: 609-619.
- Kenšová R, et al. 2014. Působení olova na živé organismy. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies* **3**: 35-37.
- Klusoň P. 2015. *Jedová stopa*. Academia, Praha.
- Kodíček, M. 2004. *Biochemické pojmy: výkladový slovník*. Vysoká škola chemicko-technologická, Praha.
- Koplík R, Čurdová E, Mestek O. 1997. Speciace stopových prvků ve vodách, půdách, sedimentech a biologických materiálech. *Chemické Listy* **91**: 38-47.
- Koptsik GN. 2014. Problems and prospects concerning the phytoremediation of heavy metal polluted soils: a review. *Eurasian Soil Science* **47**: 923-939.



- Kumar PN, Dushenkov V, Motto H, Raskin I. 1995. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science & Technology* **29**.5: 1232-1238.
- Lešková A, Molnářová M, Fargašová A. 2012. Biochemický pohľad na príjem, metabolismus a toxické účinky zlúčenin arzénu na rastliny. *Chemické Listy* **106**: 1110-1115.
- Limmer M, Burken J. 2016. Phytovolatilization of organic contaminants. *Environmental Science & Technology* **50**.13: 6632-6643.
- Lux A, Martinka M, Vaculík M, White PJ. 2011. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. *Journal of Experimental Botany* **62**.1: 21-37.
- Maitani, Tamio, Kubota H, Sato K, Yamada T. 1996. The composition of metals bound to class III metallothionein (phytochelatin and its desglycyl peptide) induced by various metals in root cultures of *Rubia tinctorum*. *Plant Physiology* **110**.4: 1145-1150.
- Marschner H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, London.
- Mayerová M, Petrová Š, Madaras M, Lipavský J, Šimon T, Vaněk T. 2017. Non-enhanced phytoextraction of cadmium, zinc, and lead by high-yielding crops. *Environmental Science and Pollution Research* **24**.17: 14706-14716.
- McLaughlin MJ, Singh BR. 1999. *Cadmium in Soils and Plants*. Springer, Dordrecht.
- McMurry, J. *Organická chemie*. 2007. VUTIUM, Brno.
- McSweeney NJ, Forbes L. 2014. Arsenic-interacting plant proteins as templates for arsenic specific flotation collectors? A review. *Minerals Engineering* **64**: 67-77.
- Midhat L, Ouazzani N, Hejjaj A, Ouhammou A, Mandi L. 2019. Accumulation of heavy metals in metallophytes from three mining sites (Southern Centre Morocco) and evaluation of their phytoremediation potential. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **169**: 150-160.
- Mihaljevič M, Zuna M, Ettler V, Šebek O, Strnad L, Goliáš V. 2006. Lead fluxes, isotopic and concentration profiles in a peat deposit near a lead smelter (Příbram, Czech Republic). *Science of the Total Environment* **372**.1: 334-344.
- Motřková K, Podlupná R, Vaněk T, Kafka Z. 2014. Halofytní rostliny a jejich možné využití ve fytoremediacích. *Chemické Listy* **108**.6: 586-591.
- Nagayoti PC, Lee KD, Srekanth TVM. 2010. Heavy metals, occurrence and

- toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, **8**(3). 199-216.
- Naidu R, Smith E, Owens G, Bhattacharya P, Nadebaum P. 2006. *Managing Arsenic in the Environment*. CSIRO Publishing, Australia.
- Newman LA, Reynolds CM. 2004. Phytodegradation of organic compounds. *Current Opinion in Biotechnology* **15**.3: 225-230.
- Nováková T, Kotková K, Elznicová J, Strnad L, Engel Z, Grygar TM. 2015. Pollutant dispersal and stability in a severely polluted floodplain: a case study in the Litavka River, Czech Republic. *Journal of Geochemical Exploration* **156**: 131-144.
- Oremland RS, Stolz JF. 2003. The ecology of arsenic. *Science* **300**.5621: 939-944.
- Pavlík M, Pavlíková D, Staszková L, Neuberg M, Kaliszová R, Száková J, Tlustoš P. 2010. The effect of arsenic contamination on amino acids metabolism in *Spinacia oleracea* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **73**.6: 1309-1313.
- Pavlíková D, Zemanová V, Pavlík M, Dobrev PI, Hnilička F, Motyka V. 2020. Response of cytokinins and nitrogen metabolism in the fronds of *Pteris* sp. under arsenic stress. *Plos one* **15**:5.
- 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**.2: 223-230.
- Pourrut B, Shahid M, Dumat C, Winterton P, Pinelli E. 2011. Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* **213**:113-136.
- Rai VK. 2002. Role of amino acids in plant responses to stresses. *Biologia Plantarum* **45**.4: 481-487.
- Rascio N, Navari-Izzo F. 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting?. *Plant Science* **180**.2: 169-181.
- Ratnaike RN. 2003. Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgraduate Medical Journal* **79**: 391-396.
- Sakakibara M, Watanabe A, Inoue M, Sano S, Kaise T. 2010. Phytoextraction and phytovolatilization of arsenic from As-contaminated soils by *Pteris vittata*. *Proceedings of the Annual International Conference on Soils, Sediments, Water and Energy* **12**.1: 26.

- Sharma P, Dubey RS. 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **17.1**: 35-52.
- Schat H, Llugany M, Vooijs R, Hartley-Whitaker J, Bleeker PM. 2002. The role of phytochelatins in constitutive and adaptive heavy metal tolerances in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator metallophytes. *Journal of Experimental Botany* **53.379**: 2381-2392.
- Schmöger MEV, Oven M, Grill E. 2000. Detoxification of arsenic by phytochelatins in plants. *Plant Physiology* **122.3**: 793-802.
- Sneller FEC, Van Heerwaarden LM, Kraaijeveld-Smit FJL, Ten Bookum WM, Koevoets PLM, Schat H, Verkleij JAC. 1999. Toxicity of arsenate in *Silene vulgaris*, accumulation and degradation of arsenate-induced phytochelatins. *New Phytologist* **144.2**: 223-232.
- Soudek P, Petrová Š, Benešová D, Kotyza J, Vaněk T. 2008. Fytoremediace a možnosti zvýšení jejich účinnosti. *Chemické Listy* **102.5**: 346-352.
- Soudek P, Víchová L, Valenová Š, Podlipná R, Malá J, Vaněk T. 2006. Arsen a jeho příjem rostlinami. *Chemické Listy* **100**: 323-329.
- Sucharová J, Suchara I. 2004. Distribution of 36 element deposition rates in a historic mining and smelting area as determined through fine-scale biomonitoring techniques. Part I: Relative and absolute current atmospheric deposition levels detected by moss analyses. *Water, Air, and Soil Pollution* **153.1-4**: 205-228.
- Szabados L, Savouré A. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science* **15.2**: 89-97.
- Száková J, Mihaljevič M, Tlustoš P. 2007. Mobilita, transformace a základní metody stanovení sloučenin arsenu v půdě a rostlinách. *Chemické Listy* **101.5**: 397-405.
- Šafářová M, Řehoř M. 2006. Stopové prvky v uhelných a neuhelných sedimentech severočeské pánve a zeminách rekultivovaných lokalit. *Chemické Listy* **100.6**: 462-466.
- Tangahu BV, Sheikh Abdullah SR, Basri H, Idris M, Anuar N, Mukhlisin M. 2011. A review on heavy metals (As, Pb, and Hg) uptake by plants through phytoremediation. *International Journal of Chemical Engineering*.

- Tlustoš P, Száková J, Šichorová K, Pavlíková D, Balík J. 2006. Rizika kovů v půdě v agroekosystémech v ČR. Vědecký výbor fyto-sanitární a životního prostředí. VURV, v.v.i., Praha-Ruzyně.
- Tolrà RP, Poschenrieder C, Barceló J. 1996. Zinc hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. II. Influence on organic acids. *Journal of Plant Nutrition* **19**.12: 1541-1550.
- Trebichavský J, Havrdová D, Blohberger M. 1997. Toxické kovy. První. Praha: NSO – František Nekvasil.
- Vamerali T, Bandiera M, Mosca G. 2010. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environmental Chemistry Letters* **8**.1: 1-17.
- Vaněk T, Soudek P, Podlípna R, Petrová Š, Landa P. 2017. Fytoremediace a možnosti její aplikace. Středisko společných činností AV ČR, Praha.
- Vondráčková S, Tlustoš P, Száková J. 2017. Can liming change root anatomy, biomass allocation and trace element distribution among plant parts of *Salix× smithiana* in trace element-polluted soils?. *Environmental Science and Pollution Research* **24**.23, 19201-19210.
- Wang J, Feng X, Anderson CW, Xing Y, Shang L. 2012. Remediation of mercury contaminated sites – a review. *Journal of Hazardous Materials* **221**:1-18.
- White PJ, Brown PH. 2010. Plant nutrition for sustainable development and global health. *Annals of Botany* **105**.7: 1073-1080.
- Zemanová V, Pavlík M, Pavlíková D, Hnilička F, Vondráčková S. 2016. Responses to Cd stress in two *Noccaea* species (*Noccaea praecox* and *Noccaea caerulescens*) originating from two contaminated sites in Mežica, Slovenia and Redlschlag, Austria. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **70**: 464–474.
- Zhao FJ, Ma JF, Meharg AA, McGrath SP. 2009. Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytologist* **181**.4: 777-794.
- Zhao FJ, Wang JR, Barker JHA, Schat H, Bleeker PM, McGrath, SP. 2003. The role of phytochelatin in arsenic tolerance in the hyperaccumulator *Pteris vittata*. *New Phytologist* **159**.2: 403-410.
- Zhao FJ, Dunham SJ, McGrath SP. 2002. Arsenic hyperaccumulation by different fern species. *New Phytologist* **156**.1: 27-31.

Zhao FJ, Lombi E, Brendon, T. 2000. Zinc hyperaccumulation and cellular distribution in *Arabidopsis halleri*. *Plant, Cell & Environment* **23.5**: 507-514.

Žák K, Rohovec J, Navrátil T. 2009. Fluxes of heavy metals from a highly polluted watershed during flood events: a case study of the Litavka River, Czech Republic. *Water, Air, and Soil Pollution* **203.1-4**: 343-358.

### **Webové stránky:**

Barbalace K. Periodic Table of Elements – Cadmium – Cd. EnvironmentalChemistry.com. Available from <https://environmentalchemistry.com/yogi/periodic/Cd.html> (accessed February 2020).

Barbalace K. Periodic Table of Elements – Lead – Pb. EnvironmentalChemistry.com. Available from <https://environmentalchemistry.com/yogi/periodic/Pb.html> (accessed February 2020).

Barbalace K. Periodic Table of Elements – Zinc – Zn. EnvironmentalChemistry.com. Available from <https://environmentalchemistry.com/yogi/periodic/Zn.html> (accessed February 2020).

Cílek, V. 1998. Arzen v podzemních vodách Bangladéše. *Vesmír*. Available from <https://vesmir.cz/cz/casopis/archiv-casopisu/1998/cislo-11/arzen-podzemnich-vodach-bangladese.html> (accessed February 2020).

The Columbia Electronic Encyclopedia, 6th ed. 2012. Columbia University Press. Available from <https://www.infoplease.com/encyclopedia/science-and-technology/chemistry/chemistry-general/marsh-test> (accessed February 2020).

Evropská komise. 2015. Nařízení Komise (EU) 2015/1006 ze dne 25. června 2015, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o maximální limity anorganického arsenu v potravinách. Available from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DA/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R1006&from=CS> (accessed March 2020).

Houser, P. 2013. Drahé kovy ve starověku: Jak se čistilo, falšovalo – a odhalovalo. *Science World*. Available from <https://www.scienceworld.cz/neziva-priroda/drahe-kovy-ve-staroveku-jak-se-cistilo-falsovalo-a-odhalovalo-778/> (accessed October 2019).

ChemSpider. Search and share chemistry. Available from <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.128566.html> (accessed February 2020).

ChemSpider. Search and share chemistry. Available from <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.30572.html> (accessed February 2020).

ChemSpider. Search and share chemistry. Available from <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5746.html> (accessed March 2020).

Integrovaný registr znečišťování, Arsen-Metody měření znečišťujících látek. Available from <https://www.irz.cz/node/118> (accessed February 2020).

## 9 Seznam použitých zkratek a symbolů

PC – *Pteris cretica* L. odrůda Albo-lineata

PS – *Pteris straminea* Mett. ex Baker

Glu – kyselina glutamová

Gln – glutamin

Pro – prolin

## 10 Samostatné přílohy

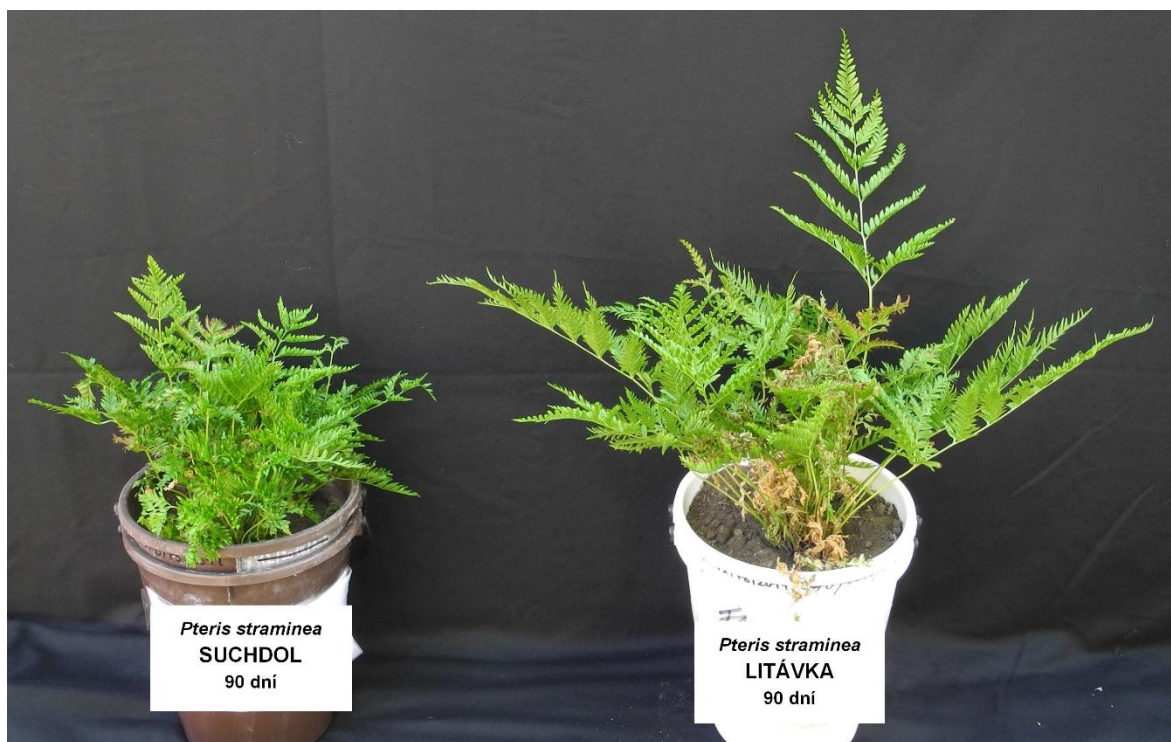


Příloha I: *Pteris cretica* var. *Albo-lineata*, odběr po 90 dnech (Zemanová, 2019)



Příloha II: *Pteris cretica* var. *Albo-lineata*, odběr po 180 dnech (Zemanová, 2019)





Příloha III: *Pteris straminea*, odběr po 90 dnech (Zemanová, 2019)



Příloha IV: *Pteris straminea*, odběr po 180 dnech (Zemanová, 2019)