

Česká zemědělská univerzita v Praze



Fakulta životního prostředí

Katedra ekologie

**Vliv půdních aditiv na růst šťovíku kadeřavého
(*Rumex crispus* L.) v půdách kontaminovaných
As, Cd, Pb a Zn**

Bakalářská práce

Eva Bullová

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Vladimíra Müllerová, Ph.D.

© 2014 ČZU v Praze

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Katedra ekologie

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Eva Bullová

Aplikovaná ekologie

Název práce

Vliv půdních aditiv na růst šťovíku kadeřavého (*Rumex crispus*) v půdách kontaminovaných As, Cd, Pb a Zn

Název anglicky

Effect of soil additives on growth of curly dock (*Rumex crispus*) in soil contaminated by As, Cd, Pb and Zn

Cíle práce

Cílem práce je zpracovat literární rešerši a zároveň provést pilotní studii, ve které bude hodnocen vliv vybraných půdních aditiv (páleného vápna a superfosfátu) na:

- 1) mobilitu rizikových prvků v půdách kontaminovaných As, Cd, Pb a Zn
- 2) vzcházení a přežívání semenáčů šťovíku kadeřavého (*Rumex crispus*)
- 3) růstové charakteristiky dospělých rostlin šťovíku
- 4) koncentrace rizikových prvků v listech šťovíku

Metodika

1. Bude vypracována literární rešerše týkající se charakteristiky šťovíku kadeřavého, vybraných rizikových prvků a fytoremediace

2. Data získaná z nádobového pokusu budou statisticky zpracována a porovnána s dosavadními výzkumy

3. Harmonogram:

říjen 2014: literární rešerše

prosinec 2014: zpracování dat

únor 2015: metodika, výsledky, diskuze, závěr

Doporučený rozsah práce

30 stran

Doporučené zdroje informací

- Bond W., Davies G., Turner R.J., 2007: The biology and non-chemical control of broad-leaved dock (*Rumex obtusifolius* L.) and curled dock (*R. crispus* L.). Henry Doubleday Research Association, Coventry, UK
- Hejcman M., Vondráčková S., Müllerová V., Červená K., Száková J., Tlustoš P., 2012: Effect of quick lime and superphosphate additives on emergence and survival of *Rumex obtusifolius* seedlings in acid and alkaline soils contaminated by As, Cd, Pb, and Zn. *Plant, Soil and Environment* 58 (12), 561–567.
- Kabata-Pendias A., 2001: Trace elements in soils and plants, 3rd ed. CRC Press, Boca Raton
- Pye A., Andersson L., 2009: Time of emergence of *Rumex crispus* L. as affected by dispersal time, soil cover, and mechanical disturbance. *Acta Agric Scand Sect B Plant Soil Sci* 59, 500–505
- Tlustoš P., Pavlíková D., Balík J., 2006: Mechanismus příjmu rizikových prvků rostlinami a jejich hromadění v biomase. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha.
- Vondráčková S., Hejcman M., Száková J., Müllerová V., Tlustoš P., 2014: Soil chemical properties highly affect the concentration of elements (N, P, K, Ca, Mg, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, and Zn) and their distribution pattern in organs of *Rumex obtusifolius*. *Plant and Soil* 379, 231–245
- Zaller J.G., 2004: Ecology and non-chemical control of *Rumex crispus* and *R. obtusifolius* (Polygonaceae): a review. *Weed Research* 44, 414–432

Předběžný termín obhajoby

2015/06 (červen)

Vedoucí práce

Mgr. Vladimíra Müllerová, Ph.D.

Elektronicky schváleno dne 16. 3. 2015

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 17. 3. 2015

prof. Ing. Petr Sklenička, CSc.

Děkan

V Praze dne 01. 04. 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně s použitím citované literatury pod vedením Mgr. Vladimíry Müllerové, Ph.D.

V Praze dne 30.3.2015

Eva Bullová

Poděkování

Chtěla bych poděkovat své rodině za podporu po celou dobu mého studia. Za konzultace a odborné vedení děkuji mé vedoucí práce Mgr. Vladimíře Müllerové, Ph.D. za trpělivou a laskavou pomoc, a také všem členům výzkumného týmu, kteří se na práci podíleli.

Výzkum byl podpořen Českou zemědělskou univerzitou v Praze prostřednictvím projektu CIGA20124205.

Abstrakt

Rumex crispus je obtížný plevel pastvin a polí. Jeho kosmopolitní rozšíření a vysoký vzrůst dávají předpoklady pro možné fytořediační využití. Teoretická část práce je zaměřená na základní charakteristiky *R. crispus*, dále na vlastnosti rizikových prvků a jejich vliv na rostliny. Pozornost je také věnována fytořediacím, a popisu základních fytořediačních metod. Cílem experimentální části této bakalářské práce bylo ověřit možnost fytořediačního využití v kombinaci s vybranými půdními aditivami. Byl založen nádobový experiment, a získaná data byla analyzována. Následně byl vyhodnocen vliv vybraných půdních aditiv na konkrétní faktory, reprezentující prosperitu a nárůst biomasy druhu *R. crispus*, a množství akumulovaných rizikových prvků v rostlinných orgánech. Pro tyto účely byly vybrány dva druhy půd o různém pH, reprezentující půdy kontaminované rizikovými prvky. Jako půdní aditiva byla vybrána pálené vápno a superfosfát. Pálené vápno je využíváno pro zvýšení pH u půd kontaminovaných rizikovými prvky, neboť se zvýšením pH dochází k omezení dostupnosti některých rizikových prvků pro rostliny. Vliv tohoto aditiva byl srovnáván s variantou, v které byl aplikován superfosfát.

V alkalické půdě Malín byl zaznamenán rychlejší nástup vzcházení semenáčů s podstatně menší úmrtností, oproti kyselé půdě Litavka. Také růstové charakteristiky se projevovali odlišně v závislosti na půdě, a přidaných aditivech. Zatímco v půdě Litavka byl zaznamenán nižší počet listů v růžici, a listy byly kratší, v půdě Malín byly podmínky pro růst příznivější, proto listů v růžici bylo podstatně více, a dosahovaly větší délky. V půdě Litavka byl zaznamenán pozitivní účinek ošetření aditivem Ca na pozorované charakteristiky růstu, klíčení a vzcházení semenáčů. Přidání aditiva Ca do půd vedlo ke snížení mobility Cd a Zn v kyselé půdě Litavka, jejich koncentrace v listech a kořenech byly oproti kontrolní variantě výrazně nižší.

Klíčová slova: rizikové prvky; půdní reakce; fytořediace; fytoředivost; kadmium; arsen; superfosfát; pálené vápno

Abstract

Rumex crispus is a troublesome weed of pastures and fields. Its cosmopolitan expansion and tall height give the good conditions for the possible use of phytoremediation. The theoretical part of this thesis focuses on the basic characteristics of *R. crispus* and also on the properties of risk elements and their influence on plants. Attention is also paid to phytoremediation and to the description of their basic methods. The aim of the experimental part of this bachelor thesis was to verify the possibility of phytoremediation use, in combination with selected soil additives. A pot experiment was started up and obtained data were analysed. After that the influence of selected soil additives on specific factors was evaluated. The factors represent prosperity and growth of *R. crispus* biomass and the risk elements, which are accumulated in plant organs. Two kinds of soils of different pH, which represent the soil contaminated with risk elements, were chosen for these purposes. Quick lime and superphosphate were chosen as a soil additive. Quick lime is used to raise the pH in soils contaminated with risk elements, because the increasing pH leads to a limited availability of some risk elements for plants. The influence of this additive was compared with the superphosphate application.

In the alkaline soil of Malín, an earlier seedlings emergence with significantly less mortality were detected, compared to acidic soil Litavka. Also the growth characteristics showed the difference depending on the soil and the additives application. Lower leaf rosettes number and smaller leaves was observed in acidic Litavka soil in comparison to alkaline Malin soil. Positive effect of quick lime additive on seedlings emergence and growth characteristics was recorded. Quick lime application reduced Cd and Zn mobility and thus plant availability especially in acidic soil Litavka. Concentration of Cd and Zn in roots and leaves was considerably lower in treatment with quick lime application in comparison to control treatment in Litavka soil.

Keywords: risk elements; soil reaction; phytoremediation; phyto-toxicity; cadmium; arsenic; superphosphate; quick lime

Obsah

1. Úvod	9
2. Cíl práce	10
3. Literární rešerže	10
3.1 Biologie a ekologie druhu <i>Rumex crispus</i>	10
3.1.1 Taxonomie a morfologie	10
3.1.2 Druhová variabilita	11
3.1.3 Rozšíření	12
3.1.4 Životní cyklus a rozmnožování	13
3.1.5 Vliv živin a vody na růst <i>R. crispus</i>	14
3.2 Rizikové prvky (As, Cd, Pb a Zn) a rostliny	16
3.2.1 Obecná charakteristika vybraných rizikových prvků a jejich vliv na rostliny	17
3.2.1.1 Arsen	17
3.2.1.2 Kadmium	17
3.2.1.3 Olovo	18
3.2.1.4 Zinek	18
3.2.2 Příjem vybraných rizikových prvků rostlinami	18
3.2.3 Akumulace vybraných rizikových prvků rostlinami	19
3.2.4 Obranné reakce rostlin před působením vybraných rizikových prvků	20
3.2.5 Fytoremediace	21
3.2.5.1 Vlastnosti <i>Rumex crispus</i> využitelné k fytoremediačním účelům	23
4. Metodika a postup práce	23
4.1. Semenáče	25
4.2. Růstové charakteristiky	25
4.3. Chemické analýzy	25
4.4. Statistické analýzy	26
5. Výsledky	26
5.1 Vzcházení	26
5.2 Růstové charakteristiky	27
5.3 Koncentrace prvků v půdě, listech a kořenech	30
6. Diskuze	32
7. Závěr	34
8. Seznam literatury.....	35

1. Úvod

Rumex crispus (šťovík kadeřavý) patří mezi celosvětově nejrozšířenější plevely na zemědělských půdách a pastvinách. Jedná se o velice problematický plevelný druh, který se snadno šíří, a ohrožuje kvalitu travních porostů. Vyznačuje se tvorbou velkého množství životaschopných semen, vysokou schopností regenerace z kořenů, a poměrně vysokým věkem (Holub et al., 1965; Hejný & Slavík, 1990; Pavlů et al., 2011). Právě jeho velikost a komopolitní rozšíření dávají dobrý předpoklad pro možné fytořediční využití. Účelem této práce bylo zjistit, jak se projevuje jeho růst na půdách kontaminovaných vybranými rizikovými prvky v závislosti na použitých aditivech, a ověřit, zda se dá jeho velkého potenciálu pro fytořediční účely vhodně využít.

Na kontaminaci půd rizikovými prvky se podílí řada organických i anorganických látek, které jsou původu přirozeného, ale vznikají také působením antropogenních vlivů. A právě vliv člověka způsobil, že se tyto prvky vyskytují v takovém množství, že se stávají vážným problémem. Rizikové prvky antropogenního původu patří mezi nejčastější a nejdéle působící kontaminanty v životním prostředí. Lehce se akumulují, a dokáží v půdě přetrvávat tisíce let. Rizikové prvky nepříznivě ovlivňují produkční a ekologické funkce půdy, mají vliv na fyzikálně-chemické i biologické procesy v půdách, mohou se dostávat do potravinového řetězce, a tak se stávat potenciálně nebezpečné i pro lidské zdraví.

Do popředí zájmu se tak dostávají možnosti dekontaminace půd zamořených rizikovými prvky, nebo alespoň jejich demobilizace. Při klasické dekontaminaci je nutné zamořenou půdu odstranit, a bezpečně uskladnit. Tato metoda je velice nákladná, a původní místo je z ekologického hlediska zničené. Alternativním postupem se nyní stávají fytořediče, tedy odstranění kontaminantů z půdy pomocí rostlin. Právě rostliny jsou prvním stupněm potravních řetězců, takže do budoucna by se mohlo jednat o velice efektivní způsob dekontaminace. Problém často nastává v nedostatku vhodných rostlin, které by byly využitelné pro fytořediční účely, proto je třeba takové druhy aktivně vyhledávat. Případné nalezení takového druhu rostliny vidím jako přínos mé práce. Jedním z takových potenciálně vhodných rostlin je právě druh *R. crispus*.

Cílem této práce bylo popsat formou literární rešerše základní charakteristiky druhu *R. crispus*, shrnout vlivy rizikových prvků na rostliny, na jejich vzhled a fyziologické procesy, a následně představit metody fytoředičích, které jsou nejčastěji používané v praxi. V

experimentální části práce bylo cílem zpracovat a vyhodnotit data nádobového pokusu. Ze skupiny rizikových prvků byly vybrány As, Cd, Pb a Zn, a byl hodnocen spolu s přidávanými aditivami jejich vliv na konkrétní vybrané faktory, charakterizující přírůstek biomasy a prosperitu *R. crispus*, a množství akumulovaných rizikových prvků v rostlinných orgánech.

2. Cíl práce

Jedním z cílů bakalářské práce bylo vypracovat literární rešerši, která popíše základní charakteristiky druhu *R. crispus*, jeho taxonomické zařazení, morfologii, rozšíření, a jeho požadavky na životní prostředí. Zvláštní důraz byl kladen na popis životního cyklu, zejména rozmnožování, a závislosti růstu a prosperity druhu na vybraných živinách. Dalším obsahem literární rešerše byl popis základních charakteristik vybraných rizikových prvků, jejich vlivu na rostliny, příjmu a akumulace v rostlinných tělech, a obranných reakcí, kterými se rostliny brání před jejich negativním působením. Zvláštní kapitolu pak tvoří charakteristika fytořediace, a souhrn základních fytoředičních metod.

Dalším cílem bylo zpracovat experimentálně získaná data, a následně zhodnotit vliv aditiv páleného vápna a superfosfátu na:

- 1) mobilitu rizikových prvků v půdách kontaminovaných As, Cd, Pb a Zn.
- 2) vzcházení a přežívání semenáčů *R. crispus*
- 3) růstové charakteristiky dospělých rostlin *R. crispus*
- 4) koncentrace rizikových prvků v listech a kořenech *R. crispus*

3. Literární rešerše

3.1 Biologie a ekologie druhu *R. crispus*

3.1.1 Taxonomie a morfologie

Rumex crispus je vytrvalá bylina z čeledi *Polygonaceae* (rdesnovité), kterou řadíme do řádu *Polygonales* (rdesnokvěté), v rámci podtřídy *Caryophyllanae* (hvozdíkotvaré). Do čeledi *Polygonaceae* je řazeno přibližně 1000 druhů rostlin v rámci asi 40 rodů. Do samotného rodu *Rumex* patří více než 170 druhů rostlin, z nichž na území ČR je původních 14 druhů a velké množství kříženců (Novák, 1972). Z rodu *Rumex* je často vyčleněn oddíl širokolistých šťovíků, mezi které se řadí druhy *R. crispus*, *R. obtusifolius* (šťovík širokolistý)

a *R. alpinus* (šťovík alpský).

Z morfologického hlediska se jedná o vysokou bylinu dosahující velikosti 30 – 100 cm. Kořen je tvořen chudě větvenou kořenovou hlavou, hlavním kořenem, a četnými, poměrně dlouhými kořeny postranními. Na suchých půdách může dosahovat hloubky až 1m, a silně se nasponu větvit. Na vlhkých půdách se rozprostírá většinou vodorovně pod povrchem půdy (Deyl, 1956). Listy v přízemní růžici jsou až 35 cm dlouhé, 8 cm široké, podlouhle kopinaté, na bázi klínovité, dlouze řapíkaté. Na okrajích jsou zvlněné. Horní lodyžní listy jsou podobné, ovšem menší, méně kadeřavé. Lodyha je přímá, hranatá, větvená obvykle pouze v květenstvích, často načervenalé až nahnědlé barvy, na konci se rozvětvují na bezlisté větve nesoucí květy. Drobné květy jsou seskupeny v bohatých latách, v lichopřeslenech, jsou jednoobalné, pravidelné, a většinou oboupohlavné. Květenství je tvořeno přisedlými, případně šikmo odstávajícími větvemi. Na spodní části květenství se nacházejí listeny (Hejný & Slavík, 1990).

Okvětí se skládá ze 6 lístků ve dvou kruzích (Hron & Zejbrlík, 1974). Vnější lístky jsou menší, a opadávají, vnitřní lístky jsou vytrvalé, a před dozráním se přeměňují na krovky. Ty obalují nažky, mají okrouhle trojúhelníkový tvar, na bázi jsou mírně srdčité, žilnaté, velikost dosahuje 3,5 - 5 (6,5) mm, jen o málo delší než širší (Holub et al., 1965), okraj krovek je celokrajný nebo jen velmi jemně zoubkatý, a jsou opatřeny mozolkem. Mozolek je vřetenovitě až kulovitě tvaru, delší než polovina krovky, nachází se na jedné nebo častěji na všech krovkách (v tom případě je jeden obvykle větší) (Kubát et al., 2002). Plodem je trojboká lesklá nažka hnědé barvy o velikosti 2 - 3 mm (Hejný & Slavík, 1990).

3.1.2 Druhová variabilita

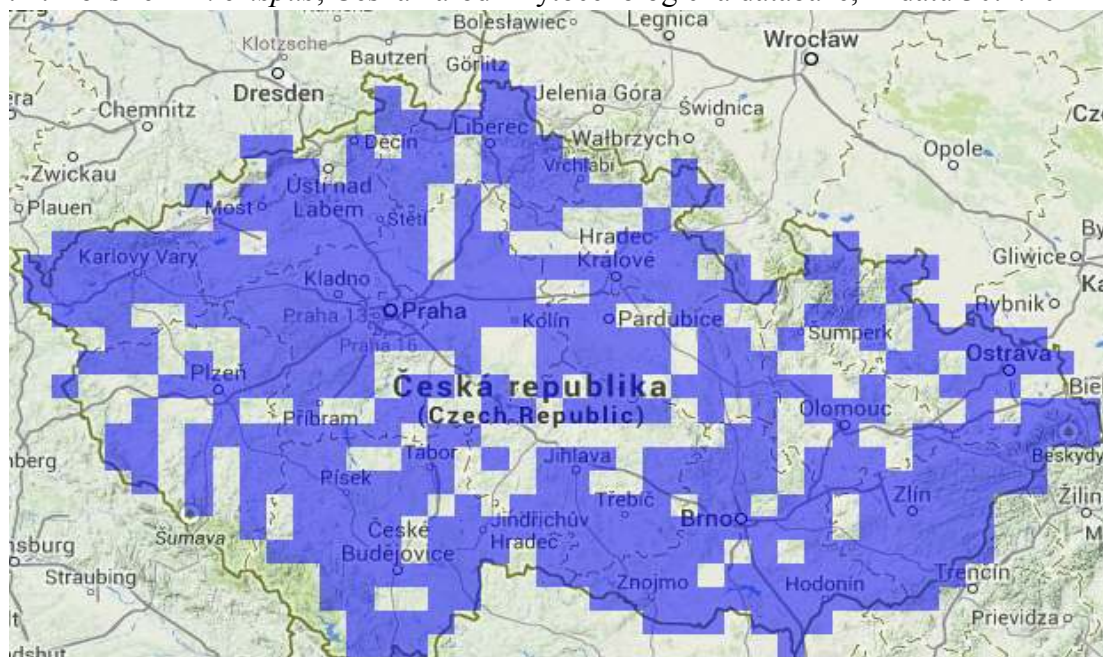
Rumex crispus je extrémně variabilní druh. Velká proměnlivost je ve tvaru a povrchu listů, kadeřavosti, v žilnatině atd. Velmi variabilní je také květenství, jeho hustota, velikost a tvar krovek (Kubát et al., 2002). Rostliny s mozolkem na jedné krovce bývají označovány jako *var. Unicallosus PETERMANN*. Všechny morfotypy jsou interfertilní a tvoří řadu přechodů mezi sebou. Kříženci jsou většinou sterilní. Podle Hejného & Slavíka (1990) není již v dnešní době prakticky možné vytvořit přirozený systém intraspecifických taxonů.

3.1.3 Rozšíření

Rumex crispus je považován za jednu z pěti nejrozšířenějších rostlin světa. Původem pochází z Evropy a západní Asie, jeho původní areál dnes již nelze jednoznačně vymezit. Jeho výskyt byl zaznamenán v Evropě, ostrůvkovitě ve střední Asii a Japonsku. Zdomácněl v Severní Americe, v Austrálii, na Novém Zélandu, a v mírných pásmech Jižní Ameriky a Afriky. Výskyt na území České republiky byl zaznamenán v termofytiku a mezofytiku hojně až obecně, nachází se také v nižších polohách oreofytika, ve vyšších polohách je vzácně zavlečený, nebo chybí (Hejný & Slavík, 1990). Rozšíření *R. crispus* na území ČR je patrné na obrázku 1.

Z ekologického hlediska je jeho výskyt původní ve sníženinách vodních toků nížin a pahorkatin. Druhotně se pak jedná o rumištní rostlinu. Vyskytuje se na neudržovaných plochách, okrajích komunikací, na polích, loukách (zvláště podmáčených), na pastvinách a podél cest (Holub et al., 1965). Vyhledává lokality se zvýšeným obsahem dusíku, proto je jeho výskyt často zaznamenán ve sníženinách kolem hnojišť a močůvkových jímek, a po obvodech silážních jam (Hejný & Slavík, 1990). Jeho ekologické optimum, co se týče půdních podmínek, jsou půdy hlinité, výživné, obohacené dusíkem.

Obr. 1: Rozšíření *R. crispus*, Česká národní fytoocenologická databáze, k datu 30.4.2011



Obr. 1: výskyt *R. crispus* byl zaznamenán v termofytiku a mezofytiku hojně až obecně, nachází se také v nižších polohách oreofytika, ve vyšších polohách je vzácně zavlečený.

3.1.4 Životní cyklus a rozmnožování

Životní cyklus *R. crispus* má několik fází. Jsou jimi klíčení a vzházení rostlin, růst listové růžice, poté následuje růst stonku, kvetení a zrání semen. Cavers & Harper (1964) uvádějí, že *R. crispus* má tendenci k monokarpismu, což znamená, že po produkci semen rostlina odumírá.

Rumex crispus se rozmnožuje zejména generativně, méně často vegetativně. Květy vytváří během června až srpna, jsou proterandricky hermafroditické (Cavers & Harper, 1964). To znamená, že rostlina produkuje nejdříve samčí pohlavní buňky, a poté přechází do samičího stádia. V literatuře se rozcházejí názory na to, zda rostlina kvete prvním, nebo až druhým rokem, a za jakých podmínek. Grime et al. (1988) vyzorovali, že rostlina je schopná kvést již v roce svého výsevu. Nicméně v Japonsku, Severní Americe (Hongo, 1988) a ve střední Evropě (Bond et al., 2007; Pye & Anderson, 2009; Křišťálová et al., 2011; Hejzman et al., 2012a, 2012b) je tento druh považován za kvetoucí až druhým rokem od svého výsevu. Křišťálová et al. (2011) vyzorovala, že se *R. crispus* vyznačuje vysokou mrazuvzdorností. To vysvětluje, proč se v porovnání např. s *R. obtusifolius* (šťovík tupolistý) vyskytuje častěji v oblastech s kontinentálním klimatem a silnými mrazy. Ve svém výzkumu zaznamenala 100% mortalitu u druhu *R. obtusifolius*, zatímco *R. crispus* dokázal přezimovat ve fázi listové růžice a teprve druhý rok plodil. Jeho úmrtnost byla nulová. Zaller (2004) tvrdí, že květ může nasadit již v prvním roce, ale většinou tomu tak bývá až v roce následujícím. Rovněž Deyl (1956) tvrdí, že rostliny vykvétají teprve druhým rokem. Další domněnku vyslovily Cavers & Harper (1964), že za normálních podmínek rostlina vytváří květy již v prvním roce, a rostliny velkého vzrůstu dokonce dvakrát v jednom vegetačním období. Květy bývají větrosnubné, a neobsahují žádný nektar, přesto květy bývají opylovány několika druhy hmyzu, např. *Bombus lucorum* (čmelák hájový) a *Halictus cylindricus* (Cavers & Harper, 1964).

Hlavní strategie při rozmnožování *R. crispus* je vytvářet obrovský počet plodných semen, s dlouhou dobou klíčivosti. Jedna rostlina dokáže vyprodukovat až 5000 nažek (Deyl, 1956), Cavers & Harper (1964) uvádí počet od 100 až po 40 000 nažek na jedné rostlině za rok. Ovšem tento počet semen je velmi vysoký, a autoři neuvádějí postup, jak k tomuto číslu dospěli. Nikdo jiný takového výsledku nedosáhl. Hejzman et al. (2012a) uvádějí, že produkce semen je výrazně ovlivněna výživou. V kontrolním vzorku bez aplikace hnojiv pozorovali

produkcí menší než 2 000 semen, ve variantě ošetřené N₂P₂K až 25 000 semen za rok. Ve všech skupinách, v nichž N a P byly aplikovány společně, dosáhla produkce semen na rostlinu za rok více než 16 000 semen.

Semena si uchovávají klíčivost velmi dlouho. Hongo (1988) uvádí, že po 4 letech si zachovává svoji klíčivost 85 % semen. Podle Deyla (1956) si semena v suchu uchovávají klíčivost až 11 let, ve vodě 11 měsíců, a v půdě až 80 měsíců, dokonce také uvádí příklad, kdy si semena uchovala klíčivost po 25 letech. V experimentu Darlingtona & Steinbauera (1961) dosáhla semena klíčivosti ještě po 80 letech, ovšem pouze 2% semen. To poukazuje na to, že životnost semen se již chýlí ke konci. Také Grossrieder & Keary (2004) zjistili, že po 80 letech je životaschopnost semen již velmi nízká, po 20 letech zůstává životaschopná přibližně třetina semen. Cavers & Harper (1964) uvádějí zajímavý fakt o klíčení semen. Doba klíčivosti je rozdílná u různých rostlin stejného druhu pěstovaných ve stejném prostředí, a dokonce se liší i doba uchování klíčivosti semen ze stejné rostliny. Vypadá to, že semena blíže k centrální ose laty si uchovávají delší klíčivost, než na postranních větvích.

Nažky zrají většinou během července, a na rostlině přetrvávají mnohdy až do zimy, poté jsou roznášeny větrem po sněhu do velkých vzdáleností (Deyl, 1956). Na anemochorní rozšiřování jsou rostliny uzpůsobeny okřídlenými nažkami. Šíření semen probíhá také hydrochorně a zoochorně. Zvířata přenášejí semena na svých tělech, nebo v trusu. Průchod zaživačím traktem přežvýkavů semena nepoškozuje (Pavlů et al., 2011).

Po uzrání mohou semena ihned klíčit, občas se tak děje již na podzim, ale častěji až následující rok během května. Děložní lístky jsou tmavě zelené, kopinaté, s tupým vrcholem. Přetrvávají na rostlině obvykle 2-3 týdny. První pravé listy jsou vejčité, s hladkými okraji. Po sobě rostoucí listy jsou stále více kopinaté, typické zkadeření je viditelné teprve na šestém listu. Až do devátého listu vyrůstá každý následující list z pláště předchozího, poté nové listy vyrůstají nepravidelně z pochev starších listů (Hudges, 1938).

Možný způsob množení *R. crispus* je také vegetativní cestou. Značnou regenerační schopnost má kořen rostliny. Je-li odříznut nepřilíš hluboko v půdě, je schopen obrážet na řezu, a vytvářet nové listové růžice. Rovněž vyorané kořeny jsou schopny znovu zakořenit (Deyl, 1956; Strnad et al., 2010). Růst kořene je největší na jaře, nové rostliny z podnože je *R. crispus* schopný vytvářet již po 40 dnech (Monaco & Cumbo, 1972).

3.1.5 Vliv živin a vody na růst *R. crispus*

Minerální výživa ve formě iontů anorganických solí je nezbytná pro život rostlin. Mezi nejdůležitější makrobiogenní prvky patří N, P, K, Mg a Ca. *Rumex crispus* je podle Křišťálové et al. (2011) méně náročný na živiny než *R. obtusifolius*, který na dodávku živin reaguje významněji.

Dusík je důležitou součástí bílkovin, a stavební složkou chlorofylu. Normální množství dusíku v rostlinném těle činí 20 – 50 g kg⁻¹. Pod 20 g kg⁻¹ je obsah deficitní, nad 50 g kg⁻¹ působí dusík na rostlinu fytotoxicky (Marschner, 1995). Rostlinami je přijímán ve formě iontů dusičnanových NO₃⁻, a méně často amonných NH₄⁺. Důsledek jeho nedostatku je snížený růst rostliny a snížená syntéza chlorofylu. Naopak při jeho nadbytku rostlina mohutně roste, ale špatně se vyvíjejí mechanická pletiva, v důsledku čehož rostlina poléhá (Jelínek & Zicháček, 2007). V Ellenbergově stupnici je druhu *R. crispus* přiřazena hodnota 5, co se týče výskytu v závislosti na obsahu dusíku v půdě (Ellenberg et al., 1992). To poukazuje na střední náročnost na tento prvek. Křišťálová et al. (2011) uvádějí dokonce negativní účinky vysokých dávek dusíku během fáze růstu listové růžice u druhu *R. crispus*, zvýšená potřeba dusíku byla zaznamenána až při fázi růstu stonku, kvetení a zrání semen. Domněnku, že stupeň nitrofilie *R. crispus* se s růstovými fázemi mění, podporuje také Zaller (2004).

Fosfor se účastní fotosyntézy a dýchání, je důležitou součástí nukleových kyselin a ATP, koenzymů a fosfolipidů, které tvoří stavební složku biomembrán (Jelínek & Zicháček, 2007). Fosfor je zvláště důležitý pro podporu raného růstu u mladých rostlin (Jenkins & Ali, 1999). Normální množství fosforu v rostlinném těle je 3 – 5 g kg⁻¹. Pod 2(1) g kg⁻¹ je množství deficitní, nad 10 g kg⁻¹ působí fosfor na rostlinu fytotoxicky (Marschner, 1995). Rostlinami je přijímán ve formě iontů fosforečnanových PO₄³⁻, hydrogenfosforečnanových HPO₄²⁻, a dihydrogenfosforečnanových H₂PO₄⁻. Nedostatek fosforu se projevuje snížením respirace a fotosyntézy, žloutnutím listů, které zakrňují, zpomaluje se růst kořenů, tvoří se výrazně méně plodů, které později dozrávají. Nadbytek má za následek zrychlený metabolismus. V půdách je ho většinou nedostatek (Jelínek & Zicháček, 2007).

Draslík zejména ovlivňuje otevírání a zavírání průduchů, syntézu proteinů, činnost ATP v membránách a dálkový transport aniontů. Ionty zvyšují obsah vody v protoplazmě. Normální množství draslíku v rostlinném těle činí 20 – 50 g kg⁻¹. Pod 20 g kg⁻¹ je množství draslíku deficitní, nad 50 g kg⁻¹ působí již fytotoxicky (Marschner, 1995). Je rostlinou

přijímán ve formě draselných iontů K^+ . Jeho nedostatek zpomaluje intenzitu fotosyntézy, způsobuje nekrózy, plody jsou malé a dochází k zakrňování listů. Jeho výskyt je závislý na matečné hornině, jeho dostatek je v živcích, slídách, a v některých jílech (Jelínek & Zicháček, 2007).

Hořčík je nezbytný pro dýchání, fotosyntézu, a syntézu nukleových kyselin. Je důležitou součástí chlorofylu, důležitý význam má také jako aktivátor enzymů. Normální množství hořčíku v rostlinném těle činí $1,5 - 3,5 \text{ g kg}^{-1}$. Pod $1,5 \text{ g kg}^{-1}$ je jeho množství deficitní, nad $3,5 \text{ g kg}^{-1}$ působí hořčík na rostlinu fytotoxicky (Marschner, 1995). Je přijímán rostlinami ve formě iontů hořečnatých Mg^{2+} . Jeho nedostatek způsobuje blednutí listů, což je důsledek sníženého obsahu chlorofylu. Dále skvrnitost listů, snížení intenzity fotosyntézy, deformaci plastidů a buněčných jader (Jelínek & Zicháček, 2007).

Vápník má význam při neutralizaci některých organických kyselin, které vznikají v těle rostlin (např. kyselina šťavelová), ovlivňuje soudržnost fosfolipidové vrstvy membrán, aktivitu enzymů a dělení buněk. Vápník také výrazně ovlivňuje hospodaření s vodou, snižuje obsah vody v protoplazmě (Jelínek & Zicháček, 2007). Normální množství vápníku v rostlinném těle činí $1 - 50 \text{ g kg}^{-1}$. Pod 1 g kg^{-1} je jeho množství deficitní, nad 50 g kg^{-1} působí již vápník fytotoxicky (Marschner, 1995). Je přijímán ve formě vápenatých iontů Ca^{2+} . Jeho nedostatek má za následek odumírání meristémů a žloutnutí listů.

Voda je pro *R. crispus*, stejně jako pro všechny rostliny, nezbytnou součástí rostlinného těla, je základním rozpouštědlem minerálních látek v půdě. Voda s rozpuštěnými látkami koluje rostlinným tělem vodivými pletivy, tj. cévními svazky. Dřevní částí cévních svazků přináší z kořenů roztoky minerálních látek získaných z půdy. Pohyb těchto roztoků je ovládan zejména transpirací, v menší míře kořenovým vztlakem. Lýkovou částí cévních svazků proudí asimiláty z listů do těla rostliny. Tento tok látek je řízen rozdílnou koncentrací cukrů na obou koncích vodivého pletiva (Anonymus, 2006). *R. crispus* není na vláhu nijak náročný. Cavers & Harper (1964) uvádějí, že tento druh není ohrožován silnými suchy, a rovněž dokáže růst na trvale zamokřených půdách. Podle Ellenbergovy stupnice se *R. crispus* vyskytuje na čerstvých až vlhkých půdách (Ellenberg et al., 1992).

3.2 Rizikové prvky (As, Cd, Pb a Zn) a rostliny

Kontaminace půd je v dnešní době velkým problémem. Rizikové prvky v půdě

zůstávají tisíce let, a nyní je potřeba, se s tímto problémem vypořádat. Půda je neobnovitelný a limitující zdroj, na kterém jsme existenčně závislí. Rizikové prvky se z půdy dostávají do rostlinného těla, a právě rostliny jsou prvním článkem potravního řetězce, v němž začínají kolovat. Harrison & Chirgawi (1989) určili pořadí některých rizikových prvků podle jejich přístupnosti pro rostliny takto: Zn > Cd > Ni > Cr > Pb (někdy Cd > Zn). Mezi rizikové prvky do této práce byly vybrány As, Cd, Pb a Zn, protože se jedná o nejčastější prvky, které zapříčiňují kontaminaci půd.

3.2.1. Obecná charakteristika vybraných rizikových prvků, a jejich vliv na rostliny

3.2.1.1 Arsen

Toxicita arsenu závisí na tom, v jaké formě se nachází. Nejtoxičtější je ve své anorganické formě As^{3+} . Organické sloučeniny arsenu jsou méně toxické, než samotný arsen (Gray, 2012). Přirozené množství arsenu v rostlinném těle činí 1 – 1,7 mg kg⁻¹. Fytotoxickým se stává nad hodnoty 5 – 20 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias, 2001). Ve vysokých koncentracích se arsen stává pro rostliny toxickým, zabudovává se po půdy, a snižuje úrodnost polních plodin. Při kontaminaci jsou patrné morfologické změny na rostlinách, listy žloutnou a vadnou, odbarvují se kořeny, a dochází ke zpomalení růstu (Kabata-Pendias, 2001).

3.2.1.2 Kadmium

Normální množství kadmia v rostlinném těle činí 0,05 – 2 mg kg⁻¹. Fytotoxickým se stává po překročení hodnot 5 – 700 mg kg⁻¹ (Pugh et al., 2002). Jedná se o prvek chemicky podobný zinku, proto se často vyskytuje v rudách a v půdě společně s ním (Tlustoš et al., 2006). V živých organismech se kadmium vyznačuje vysokou toxicitou. V biochemických strukturách dokáže nahrazovat zinek, který je důležitým esenciálním prvkem, a tak způsobuje např. inaktivaci některých enzymů. Symptomy toxického působení kadmia jsou zejména redukce růstu, (zvláště stonků), dále hnědnutí kořenového vlášení, nekrózy na mladých listech a červenohnědé zbarvení žilnatiny. Toxické působení kadmia má také vliv na průběh fotosyntézy, má za následek výrazné snížení klíčivosti semen, a trvalé uzavření svěracích buněk průduchů. Známé je jeho negativní působení na DNA, kdy dochází ke zlomům DNA, ke křížovým vazbám, a k modifikacím bází (Tlustoš et al., 2006; Barceló et al., 1988). Soli

kadmia mohou být snadno vyplavovány z půdy do vodního prostředí, kde negativně působí na vodní organismy. Toxicitu kadmia snižuje působení zinku a selenu (Kafka & Punčochářová, 2002).

3.2.1.3 Olovo

Normální množství olova v rostlinném těle činí 0,5 – 10 mg kg⁻¹. Po překročení hodnot 30 – 300 mg kg⁻¹ se stává fytotoxickým (Pugh et al., 2002). Olovo je v půdě velmi málo mobilní. Dobře je absorbován jílovými minerály a humusem. Často tvoří komplexy s nerozpustnými huminovými látkami, což vede k jeho imobilizaci ve svrchních humusových vrstvách. Olovo výrazně snižuje biologickou aktivitu v půdě, ovlivňuje metabolismus vápníku, snižuje příjem vody. Toxické působení má za následek hnědnutí a zakrňování listů (Kabata-Pendias, 2001).

3.2.1.4 Zinek

Normální množství zinku v rostlinném těle činí 10 – 150 mg kg⁻¹. Jelikož se jedná o esenciální prvek, rostliny vnímají také jeho deficit, pokud jeho množství klesne pod 10 mg kg⁻¹ (Pugh et al., 2002). Fytotoxickým se stává při hodnotách nad 100 – 500 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias, 2001). Zinek patří mezi esenciální prvky živých organismů. To znamená, že v malých koncentracích je důležitý pro správné fungování živých soustav. Je to významný aktivátor enzymů, ovlivňuje syntézu bílkovin a auxinu. Rostlinami je přijímán ve formě kationtů Zn²⁺. Jeho nedostatek se projevuje poruchou růstu (Jelínek & Zicháček, 2007). Mezi žilnatinou listů se objevují vybělené skvrny, objevují se nekrózy, a v konečném důsledku listy odumírají (Tlustoš et al., 2006). Nadbytek zinku v těle rostliny se vyznačuje inhibicí růstu (především kořenů), dále snížením intenzity fotosyntézy.

3.2.2 Příjem vybraných rizikových prvků rostlinami

Příjem rizikových prvků rostlinami je ovlivněn koncentracemi prvků v půdním roztoku, a jejich formami. Ovšem tento vztah není lineární, množství rizikových prvků přijatých rostlinami závisí také na mnoha jiných faktorech. Těmi jsou pH půdy, redoxní potenciál, množství a kvalita organické hmoty a jílových minerálů v půdě, provzdušňenost půdy, interakce ostatních iontů. Také ovšem závisí na druhu pěstované rostliny (Tlustoš et al., 2006). Princip toxicity některých rizikových prvků někdy spočívá v jejich podobnosti s

esenciálními prvky, poté dochází k jejich záměně, a je narušena správná funkce esenciálního prvku. Příkladem může být chemická podobnost kadmia a zinku, nebo arsenu a fosforu (Hall, 2003).

Mezi prvky, přijímané rostlinou zejména kořenovým systémem, patří např. kadmium. Pro kořenový příjem je nezbytné, aby se rizikové prvky nacházeli ve formě rozpustných organických a anorganických komplexů, nebo jako volné disociované ionty (Adriano, 2001). Příjem rizikových prvků z půdy kořeny probíhá procesem difúze, a půdním tokem. To způsobuje pohyb půdního roztoku s obsahem rizikových prvků. Rostlina vytváří prostřednictvím kořenů organické kyseliny, dochází k jejich reakci s rizikovými prvky, zvyšuje se difúzní gradient, a tím dochází k urychlení příjmu prvku. Jedná se o pasivní proces. Rizikové prvky jsou rostlinou přijímány přes rhizodermis a kortex do xylemu. Část rizikových prvků je poutána na záporné náboje buněčných stěn, další část je vedena přímo do buněk skrze buněčnou stěnu, kde jsou soustředěny v plazmatické membráně, a část je transportována apoplastem do cytoplazmy (Procházka et al., 1998). Rizikové prvky, které proniknou do cytoplazmy, se zde váží na buněčné struktury, nebo reagují s rozpustnými sloučeninami (organické kyseliny, volné aminokyseliny, polypeptidy), a tvoří s nimi komplexy, které mohou sloužit k přenosu kovů do vakuol (Tlustoš et al., 2006).

Zdrojem rizikových prvků v rostlinném těle jsou také atmosférické depozice. Zejména tímto způsobem je rostlinami přijímáno například olovo. Přístupnost rizikových prvků pro rostlinu z atmosféry je podmíněna dobrou rozpustností a dostupným nosičem. Po dopadu atmosférické depozice na povrch rostliny je pouze část rizikových prvků rostlinou přijata, velká část je smyta srážkovou vodou (Schlascha et al., 1987). O množství přijatého prvku rostlinou rozhoduje řada faktorů. Patří k nim tloušťka kutikuly, vlhkost a stáří listů, pH srážek, ale také konkrétní druh rostliny a rizikového prvku (Marschner, 1995). Samotný mimokořenový příjem rostlinou probíhá buď nemetabolickou cestou přes kutikulu, nebo metabolickou cestou proti koncentračnímu spádu přes plazmalemu (Tlustoš et al., 2006).

3.2.3 Akumulace vybraných rizikových prvků rostlinami

K největší akumulaci rizikových prvků dochází v kořenech. Ve skutečnosti pouze malá část přijatých rizikových prvků postupuje dál do rostlinného těla. Nejméně rizikových prvků se akumuluje v generativních orgánech. Množství akumulovaných látek také výrazně

závisí na druhu rostliny (Tlustoš et al., 2006).

Obsah rizikových prvků v kořenech má vliv na jeho morfologii, růst a strukturu. Délka kořene bývá menší, zpomaluje se jeho růst zejména do délky, nebo se zcela zastaví. Například při vysoké koncentraci arsenu dochází k omezení nebo zastavení růstu kořenových vlásků, a poškození kořenových buněk (Singh et al., 2007). Olovo se téměř výhradně akumuluje v kořenech (Probst et al., 2009).

3.2.4 Obranné reakce rostlin před působením vybraných rizikových prvků

V odolnosti rostlin k působení rizikových prvků existují značné rozdíly mezi různými druhy, i v rámci jednoho druhu. Tolerance je ovlivněna také rozdíly v koncentracích organických kyselin v rostlinném těle. Např. Rauser (1999) uvádí příklad vysoké koncentrace kyseliny jablečné a zvýšenou tolerancí rostliny k zinku. Obranné reakce rostlinného organismu jsou komplexní, a začínají se projevovat již při malých koncentracích rizikových prvků v těle (Tlustoš et al., 2006). Rostliny nedisponují schopností toxické látky ze svého těla efektivně vyloučit. Detoxikace probíhá ukládáním ve vakuolách, do buněčných stěn, nebo extracelulárních prostor.

Z morfologického hlediska se projevuje zejména obranný mechanismus kořenů. Kořen zvyšuje množství produkovaných organických kyselin, čímž dochází ke změně pH půdy v okolí, na kořenových špičkách se tvoří slizová bariéra. Rostlina se snaží aktivně zabránit dalšímu postupu rizikových prvků z kořene do nadzemních částí. Jedním z mechanismů je ztloustnutí buněčných stěn v kořenu (Probst et al., 2009).

Pokud intenzita působení rizikového prvku není letální, dochází ze strany rostliny ke zvýšení odolnosti na tento prvek, a k dosažení homeostáze. K tomu ale dochází pouze za předpokladu dostatečných energetických nákladů, které jsou potřebné k syntéze specifických metabolitů a enzymů, jako jsou například stresové proteiny a ethylen, metallothioneiny. Zvýšení odolnosti bývá vykoupeno snížením růstu rostliny (Tlustoš et al., 2006). Rostliny také mohou uplatnit ochranných systémů buněk. Ty jsou schopné zamezit průniku rizikových prvků přes buněčné membrány a imobilizovat rizikové prvky uvnitř buněčných stěn. Buněčné stěny ovšem mají omezenou kapacitu pro jejich absorpci. Produkuje také komplexy, které váží rizikové prvky, např. metalloproteiny. Na ty se rizikové prvky váží elektrostatickými silami,

nebo koordinačními vazbami (Tlustoš et al., 2006).

Specifickým obranným mechanismem rostlinného těla je tvorba metallothioneninů, na které se vážou volné kovové ionty. Do skupin těchto látek se řadí také fytochelatiny, které váží rizikové prvky do chelátových komplexů. Přítomnost fytochelatinů v buňkách byla zjištěna po ošetření některými rizikovými prvky (např. Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+}). U jiných výskyt fytochelatinů nebyl zaznamenán (Al^{3+} , Cr^{3+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+}) (Kotrba et al., 1999). Ionty vázané do komplexů jsou poté dopraveny proti koncentračnímu spádu přes tonoplast do vakuoly, kde jsou pomocí organických kyselin inaktivovány. Fytochelatiny jsou poté ve vakuole degradovány, nebo se mohou vracet zpět do buněčných prostor, a pokračovat ve své funkci (Tlustoš et al., 2006).

3.2.5 Fytoremediace

Pojem fytoremediace pochází z řeckého slova phyto = rostlina, a latinského remedium = čistit. Zahrnuje metody, které slouží k akumulaci a fixaci nebezpečných látek z půdy, případně jejich následnou degradaci na formy neškodné, nebo méně nebezpečné. To se děje pomocí zelených rostlin. Využívá se vlastností zelených rostlin poutat kořenovým systémem do svých těl různé toxické látky, a přeměňovat je na neškodné, nebo je ve svých tělech akumulovat. S těmito rostlinami je poté nutné zacházet podle zákona 185/2001 Sb., Zákon o odpadech a o změně některých dalších zákonů. Využívá se vlastně tzv. přirozené atenuace. Jedná se o přirozené děje v životním prostředí, které vedou k omezení množství, toxicity, mobility, objemu, nebo koncentrace kontaminantů, bez lidského zásahu (Soudek et al., 2008). Tyto přirozené procesy ovšem mohou trvat desítky až stovky let, proto je lidský zásah důležitý. Technologiemi fytoremediace je možné odstranit rizikové prvky, které zahrnují i těžké kovy, dále pesticidy, barviva, radionuklidy ad.

Pro fytoremediace jsou využívány zejména takové druhy, které tvoří velký objem biomasy, a zároveň dokáží přijmout kontaminant v co největší koncentraci. Pro praktické využití se testují slunečnice, technické konopí, len, kukuřice ad. Takovým vhodným rostlinám se říká hyperakumulátory. Hyperakumulátory jsou rostliny, které transportují rizikové prvky z kořenů i do nadzemních částí, a přitom koncentrace rizikových prvků v nadzemních částech rostliny je výrazně vyšší než v půdě. Jsou výrazně odolné, vůči vysokým koncentracím rizikových prvků (Baker et al., 2000), a tyto jejich vlastnosti se dají využít při

fytoremediacích.

Mezi výhody fytoremediací patří jejich finanční nenáročnost, neboť využívá známých fytoremediálních postupů. Cenový rozdíl mezi jinými technologiemi dekontaminace se uvádí deseti až stonásobný. Další výhodou je, šetrný přístup k prostředí. Nedochozí k odstranění půdy, ani není potřeba využití těžké techniky, jedná o metodu in situ. Fytoremediace zastihuje také mnoho nevýhod. Většina vhodných rostlin je malých rozměrů, tedy mají nízký relativní objem pro akumulaci škodlivých látek, a také se vyznačují pomalým růstem. Tedy se jedná také o časovou náročnost. Velkou nevýhodou je také nedostatek vhodných rostlin, které by byly využitelné. Dalšími nevýhodami jsou akumulace škodlivých látek především v kořenech, a jejich nízký transport rostlinou do nadzemních orgánů. Existuje zde také riziko vstupu toxických látek do potravního řetězce, neboť rostlina se může stát prostředníkem mezi půdou a býložravci, a je nutné bezpečně nakládat se všemi částmi sklizených rostlin. Je také potřeba znát všechny půdní parametry, které ovlivňují účinnost metody (Soudek et al., 2008).

Metody fytoremediací se dělí na technologie fytostabilizační a fytodekontaminační. Výběr typu technologie závisí na charakteru znečištěného prostředí, na kontaminantu, a na jeho koncentraci v půdě. Mezi základní fytodekontaminační metody se řadí fytoextrakce, rhizofiltrace, fytodegradace, a fytovolatilizace.

Fytostabilizace se využívá na lokalitách s vysokou koncentrací škodlivých látek, cílem těchto metod není jejich degradace, ale stabilizace na místě, zabránění jejich migrace a další kontaminace okolí. Fytoextrakce (Fytoakumulace) je velmi často využívanou metodou, zejména při odstraňování těžkých kovů z půdy. Její princip spočívá v hromadění kontaminantu v nadzemních částech rostlin. Následuje sklizeň rostliny, s kontaminanty uzavřených v rostlinných buňkách je poté nakládáno jako s odpadem. Tato metoda se opakuje do té doby, dokud není koncentrace kontaminantu v půdě snížena na přijatelnou hladinu. Rhizofiltrace se využívá při čištění kontaminovaných vod. Kontaminanty se srážejí na povrchu kořenů, nebo jsou absorbovány uvnitř kořenů. Fytodegradace je další z metod, při které je ovšem možné pracovat pouze z organickými kontaminanty, neboť anorganické degradovat nelze. Jsou to zejména organické polutanty (PAH, PCB, detergenty, výbušniny). Je potřeba dbát na to, aby nedošlo k přeměně polutantů na toxičtější látky. Při fytodegradaci se využívá vlastnosti některých rostlin rozložit organické látky až na základní stavební prvky, které následně mohou využít pro svůj růst. Dochází k odbourání kontaminantu uvnitř rostliny

díky činnostem některých enzymů, produkovaných rostlinou. Fytovolatilizace je metoda, při které je kontaminant přijat kořenovým systémem rostliny, dále je transportován do nadzemních orgánů, a procesem transpirace je přes prúduchy vyloučen do atmosféry. Kontaminant se musí nacházet v těkavé formě. Koncentrace kontaminantu je tedy zředěna v atmosféře a je rozprostřen na velkou plochu. Příkladem je využití topolu žlutého při odstraňování rtuti (Soudek et al., 2008).

3.2.5.1 Vlastnosti *R. crispus* využitelné k fytoimediačním účelům

Rumex crispus je rostlinou, která dorůstá úctyhodných rozměrů, a tvoří tedy vysoký relativní objem biomasy, v které by teoreticky mohla akumulovat rizikové prvky. Velkým předpokladem pro fytoimediační využití je také kosmopolitní rozšíření tohoto druhu. Jak již bylo řečeno výše, je tato rostlina považována za jednu z pěti nejrozšířenějších rostlin světa.

Díky těmto vlastnostem se *R. crispus* jeví jako vhodný druh pro fytoimediační využití, proto jsme se rozhodli podrobit ho podrobnějšímu zkoumání, a zjistit, zda se dá využít jeho velkého potenciálu.

4. Metodika a postup práce

Experiment byl založen v roce 2012, a jeho princip měl podobu nádobového pokusu. Nádoby byly umístěny v hale v Praze – Suchdole, ve venkovním prostředí s běžnou venkovní teplotou a světelnými podmínkami, chráněné proti povětrnostním vlivům. K experimentu byly použity dva druhy půd. První mírně kyselá fluvisol, nazvaná "Litavka", byla odebrána v nivě řeky Litavky, v obci Trhové Dušňiky. Půda řeky Litavky je kontaminována As, Cd, Zn a Pb z odpadů hutních jámek (Šichorová et al., 2004; Trakal et al., 2011). Druhá půda je nazvaná "Malín", jedná se o alkalickou luvisol, získanou ze břehů potoku Beránka, v blízkosti obce Malín. Tato půda je kontaminována As, Cd a Zn z odkališť při těžbě stříbra v 13 – 16 století (Száková et al., 2009). Chemické vlastnosti použitých půd, které byly analyzovány před založením experimentu, jsou uvedeny v tabulce 1. Půdní pH bylo měřeno v suspenzi 10 g půdy a 50 ml roztoku CaCl_2 s obsahem 0,01 mol/l CaCl_2 při $20 \pm 1^\circ\text{C}$ na konci experimentu.

Tabulka 1: Základní charakteristika půd a jejich chemické vlastnosti (v sušině)

Půdní a lokální charakteristiky	Půda	
	Litavka (49°43'N, 14°0'E)	Malín (49°58'N, 15°17'E)
Nadmořská výška (m.n.m.)	450	230
Průměrná roční teplota (°C)	7,3	8,5
Průměrný roční úhm srážek (mm)	623	575
Půdní druh	Jílovito-hlinitý písek	Jíl
Půdní typ	Fluvisol	Luvisol
pH _{CaCl2}	5,8	7,2
KVK (mmol(+)/kg)	55	346
C _{org} (g/kg)	36	27
Ca (mg/kg)	1856	8914
Mg (mg/kg)	160	354
K (mg/kg)	192	234
P (mg/kg)	9	56
Cd (mg/kg)	53,8	11,3
Zn (mg/kg)	6172	1022
Pb (mg/kg)	3305	98
As (mg/kg)	354	688
Fe (mg/kg)	21193	17379
Mn (mg/kg)	2688	371

KVK – kationtová výměnná kapacita; C_{org} – obsah organického uhlíku. Hodnoty P, K, Ca a Mg jsou koncentrace živin dostupných pro rostliny stanoveným postupem extrakce podle Mehlicha III. Hodnoty As, Cd, Fe, Mn, Zn jsou celkové koncentrace prvků získané roztokem *aqua regia*. České legislativní limity pro *aqua regia* (pseudo-celkem) koncentrací prvků ve světle-texturou a jiných nečistot (mg/kg) jsou 0,4 až 1,0 pro Cd, 130 až 200 pro Zn, 100 až 140 pro Pb a 30 pro As.

Do půd byla přidána aditiva CaO – pálené vápno a Ca(H₂PO₄)₂ – superfosfát. Zkoumal se tedy vliv na vzcházení semenáčků *R. crispus* nejen v závislosti na druhu půd, ale také v závislosti na vlivu páleného vápna (dále označováno jako Ca) a superfosfátu (P). Koncentrace použitých aditiv byly 7,3 g CaO na kg půdy a 1,3 g Ca(H₂PO₄)₂ na kg půdy. Nádobový experiment byl složen z 6 variant po 5 opakováních, nádob tedy bylo celkem 30: LC – kontrolní vzorek půdy Litavky bez aplikace aditiv, LCa – půda Litavka s aditivem Ca, LP – půda Litavka s aditivem P, MC – kontrolní vzorek půdy Malín bez aplikace aditiv, MCa – půda Malín s aditivem Ca, a MP – půda Malín s aditivem P.

K experimentu byly použity 5l nádoby o průměru 20 cm, naplněné 5 kg na vzduchu vysušené půdy, proseté přes 10 mm síto. Poté byla do půdy aplikována následující hnojiva: 0,5 g N, ve formě NH₄NO₃ a 0,4 g K, ve formě K₂HPO₄ na každou nádobu. Použití hnojiv N, P a K bylo provedeno proto, aby nedošlo k limitaci (omezení) růstu *R. crispus*. Podle předchozích zkušeností (Hejzman et al., 2012b) množství aplikovaného P ve formě K₂HPO₄ není dostatečně vysoké, aby způsobovalo změnu mobility kovů, ale je dostatečně vysoké na to, aby zmírnilo deficit P pro *R. crispus*. Aditiva a hnojiva byla důkladně smíchána s půdou, a poté všechny nádoby zalévány. Téhož dne po aplikaci hnojiv bylo zaseto 100 semen, do

hloubky 1 – 2 cm, do každé nádoby.

Semena *R. crispus* byla sebrána v průběhu jara 2012 v okolí Prahy, především v místech příkopů a opuštěných polí, s neutrálním půdním pH, dobrou dostupností P a K, a nízkým množstvím dostupného As, Cd, Pb a Zn v půdě. Semena byla skladována v papírových sáčcích ve tmě, při pokojové teplotě. Klíčivost semen 86% byla experimentálně testována v laboratorních podmínkách ve 12h intervalu (den/noc), při teplotě 25°C, před založením experimentu. Květináče byly pravidelně zalévány v průběhu experimentu.

4.1 Semenáče

Během prvních 50 dnů byl denně zaznamenáván počet semenáčů v každém květináči (Obr. 2). Kromě počtu semenáčů byla sledována jejich prosperita, růst, a úmrtnost definovaná jako rozdíl maximálního počtu sazenic a konečného počtu semenáčů 50. (poslední) den sledování.

4.2. Růstové charakteristiky

Rostliny byly pozorovány v průběhu celé vegetační sezóny od června do října. Rostliny byly vyjednoceny na 3 sazenice na nádobu, a následně byl sledován jejich růst. Následující údaje (Obr. 3a, b) byly zjišťovány ve 14 denních intervalech:

- 1) počet listů v růžici na rostlinu
- 2) délka nejdelších tří listů – hodnota byla zprůměrována
- 3) počet vrcholů na rostlině
- 4) výška vrcholů

4.3. Chemické analýzy

Na konci experimentu 1.10. byly sklizeny všechny rostliny z nádob, a byly stanoveny koncentrace prvků (P, K, As, Cd, Pb a Zn) v listech a kořenech. U rostlin rostoucích v kontrolní variantě půdy Litavka nebylo možné provést chemické analýzy, neboť všichni jedinci odumřely. Rovněž byla odebrána z nádob půda, a bylo provedeno měření pH a výluhů půd extrakčním činidlem CaCl₂, ke zjištění mobility jednotlivých prvků v půdě a tím jejich přístupnosti pro rostliny (Tab. 2). Celkové koncentrace prvků v rostlinných orgánech (P, K, As, Cd, Pb a Zn) byly stanoveny z výluhů, získaných tímto způsobem rozkladu: 0,5 g vysušené rostlinné hmoty v prachovém stavu bylo rozloženo ve vyluhovací nádobě se směsí 8

ml koncentrované kyseliny dusičné a 2 ml peroxidu vodíku. Směs byla zahřívána v Ethos 1 (MLS GmbH, Německo) za pomoci mokrého mikrovlnného štěpení po dobu 33 min, při 210°C. Výluh byl poté přenesen do skleněné zkumavky o objemu 20 ml, naplněné deionizovanou vodou, a udržován při laboratorní teplotě až do doby měření. Koncentrace P, As, Cd, Pb a Zn v extraktech byly stanoveny metodou ICP-OES, koncentrace draslíku metodou FAAS (VARIAN SpectrAA-280, Austrálie).

4.4. Statistické analýzy

Všechny analýzy byly provedeny v programu Statistica 9.0 (Statsoft, Tulsa, USA). Test normality byl proveden u všech dat. Data byla hodnocena testem ANOVA s interakcemi následované použitím Tukey HSD testem, případně jeho neparametrickou obdobu Kruskal-Wallis testem.

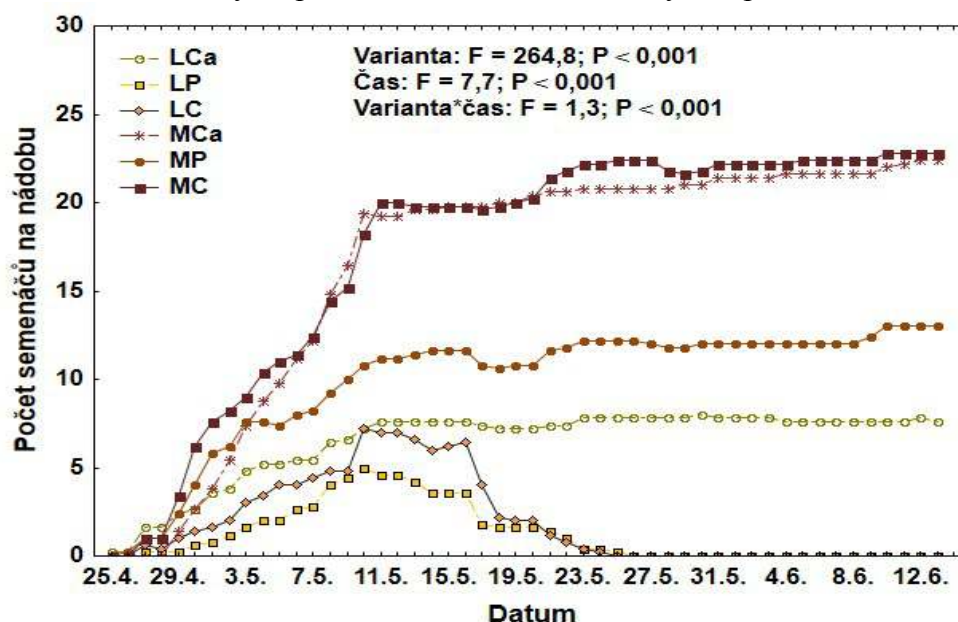
5. Výsledky

5.1. Vzcházení

Vzcházení semenáčů je patrné z grafu (Obr. 2). Semenáče v nádobě byly monitorovány po dobu 50 dnů, od 25.4. do 13.6. Semena ve všech variantách vyklíčila, ovšem jejich počet byl výrazně ovlivněn použitými aditivy, a zejména dostupností rizikových prvků z půdy. Z grafu je patrné, že nejvyšší počet vzešlých semenáčů byl zaznamenán v kontrolní variantě a ve variantě s přidaným aditivem Ca půdy Malín, pohyboval v maximálním počtu 22 semenáčů na nádobu, této hodnoty bylo dosaženo 27.5. Ve variantě s přidaným aditivem P půdy Malín došlo k mírnému poklesu počtu semenáčů, bylo jich zaznamenáno nejvíce 11 jedinců na nádobu, tohoto nejvyššího počtu bylo dosaženo 23.5. V půdě Litavka s přidaným aditivem Ca byl zaznamenán nejvyšší počet semenáčů 8 na nádobu, a to dne 30.5. V kontrolní variantě a ve variantě s přidaným aditivem P půdy Litavka se nejvyšší počet semenáčů pohyboval výrazně v menším počtu, než v předešlých variantách, pouze 7 (varianta LC) a 5 (varianta LP) jedinců na nádobu dne 10.5., a od tohoto 16 dne experimentu začaly semenáče hynout. V půdě Litavka byl pozorován pozvolný nárůst počtu vyklíčených semen, zatímco v půdě Malín byla klíčivost rychlá, a semenáče vykazovali podstatně nižší úmrtnost. V alkalické půdě Malín a ve variantě půdy Litavka ošetřené aditivem Ca byla mobilita Cd a Zn nižší než ve zbylých variantách (Tab. 2). Zejména Cd

způsobuje výrazné snížení vzcházení semenáčů.

Obr. 2: Vliv aditiv a lokality na počet semenáčů zaznamenaných v průběhu 50 dnů.



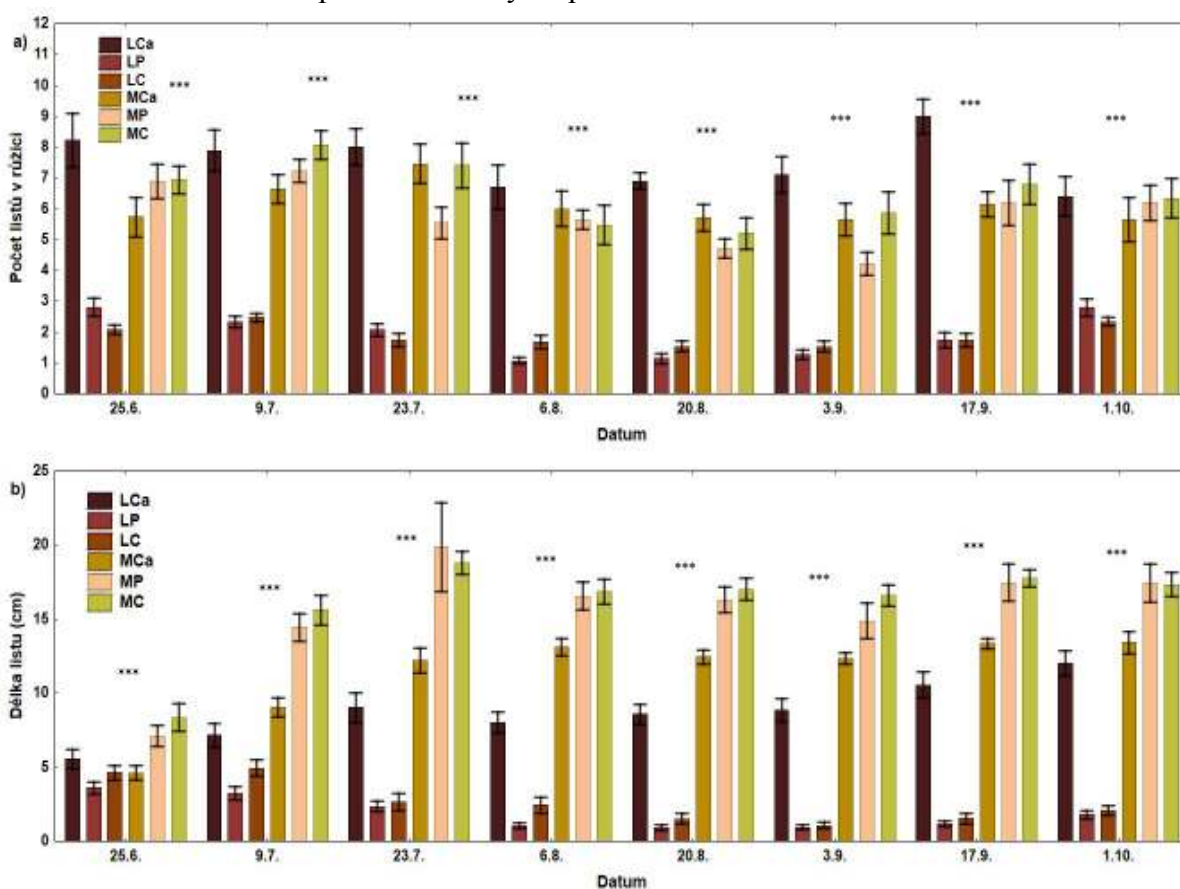
Zkratky ošetření: LC – kontrolní vzorek půdy Litavka, bez jakýchkoliv aditiv, LCa – půda Litavka obohacená o aditivum CaO, LP – půda Litavka obohacená o aditivum $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, MC – kontrolní vzorek půdy Malín, bez jakýchkoliv aditiv, MCa – půda Malín obohacená o aditivum CaO, MP – půda Malín obohacená o aditivum $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$.

5.2. Růstové charakteristiky

Růstové charakteristiky vyjádřené počtem listů v růžici a délkou listů jsou patrné z grafu (Obr. 3). U všech rostlin *R. crispus* se vyvinuly listové růžice. V průměru nejvyšší počty listů v růžici byly zaznamenány v půdě Malín a v půdě Litavka ošetřené aditivem Ca. Graf délek listů (Obr. 3b) se svým tvarem příliš nelišil od grafu počtu listů v růžici (Obr. 3a), výsledky byly srovnatelné. Ve variantách alkalické půdy Malín a u půdy Litavka ošetřené aditivem Ca, byly listy delší. Pokud porovnáme vzorky půdy Malín a Litavka, v půdě Malín byly podmínky růstu příznivé i přes absenci půdních aditiv, a následkem toho vykazovaly rostliny větší přírůstek. Mobilita Cd a Zn v alkalické půdě byla nízká (Tabulka 2). Naproti tomu v kontrolní variantě, a ve variantě s přidaným aditivem P půdy Litavka, se počet listů v růžici pohyboval pouze kolem dvou, a jejich délka byla oproti všem ostatním variantám výrazně menší. Absolutně nejvyšší počet listů v růžici byl zaznamenán 17.9. v půdě Litavka ošetřené aditivem Ca (9 listů). Nejdelší list byl pozorován 23.7. v půdě Malín ošetřené aditivem P (21,6 cm). Rozdíly v počtech listů v růžici a v délce listů mezi ošetřeními v rámci každého časového úseku pozorování byly statisticky významné u všech vzorků.

Více než jeden vrchol nebyl zaznamenán u žádné z variant, zároveň se ani u jedné z rostlin nevytvořily stonky s květenstvím. První vrcholy rostlin se objevily 6.8., tedy 106 den experimentu, a to u kontrolních variant půdy Litavka a Malín, a u variant ošetřených aditivem Ca. První vrchol rostlin v půdách Malín ošetřené aditivem P se objevil 20.8., a vrchol rostlin v půdě Litavka ošetřené aditivem P až 3.9. Průměrně nejdelší vrcholy byly zaznamenány u rostlin rostoucích ve variantách půdy Malín a Litavka ošetřené aditivem Ca. Nejvyšší vrchol byl zaznamenán 1.10. v půdě Malín ošetřené aditivem Ca (3,5 cm) (Müllerová, pers.comm.).

Obrázek 3: Vliv ošetření půdními aditivy na počet listů v růžici a délku listů.

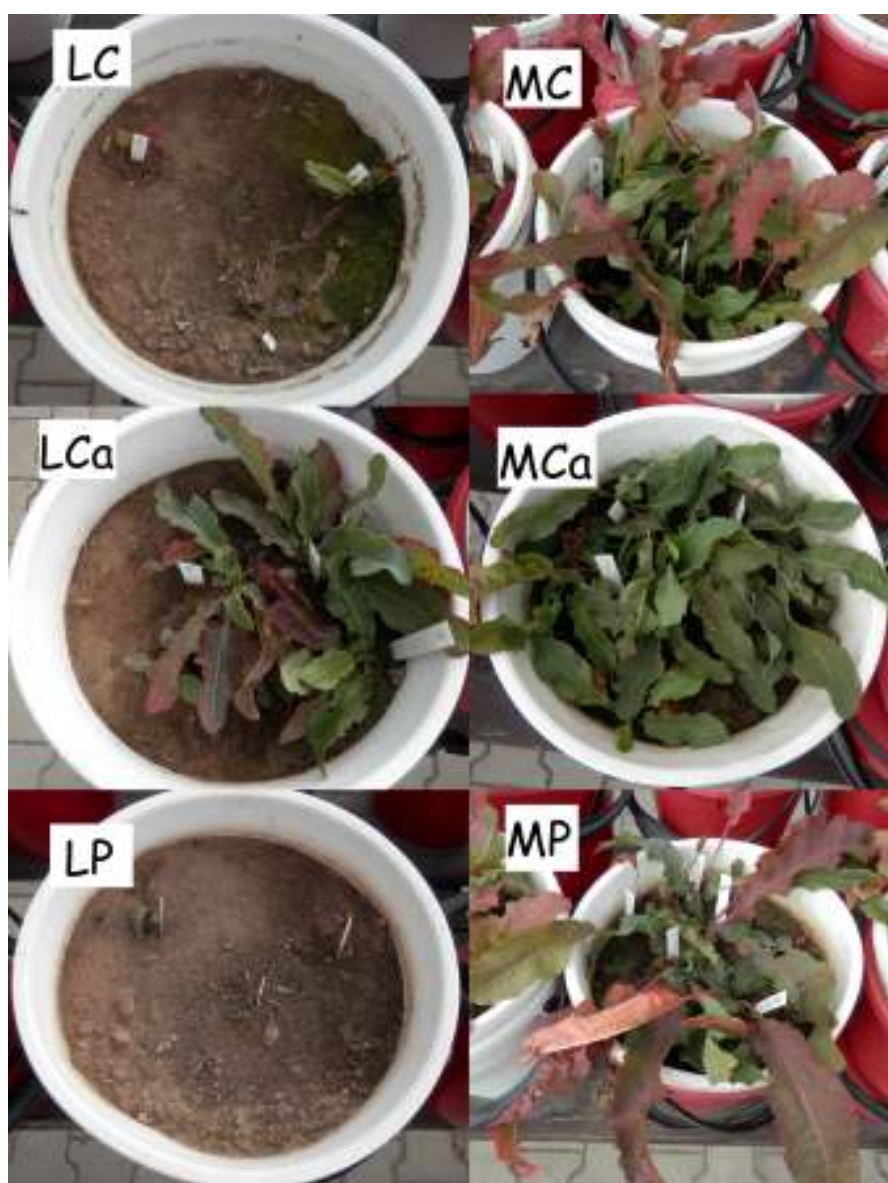


Vliv lokality a aditiv na a) počet listů v růžici a b) délku listů. Zkratky ošetření: LC – kontrolní vzorek půdy Litavka, bez jakýchkoliv aditiv, LCa – půda Litavka obohacená o aditivum CaO, LP – půda Litavka obohacená o aditivum $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, MC – kontrolní vzorek půdy Malín, bez jakýchkoliv aditiv, MCa – půda Malín obohacená o aditivum CaO, MP – půda Malín obohacená o aditivum $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$. V grafu jsou prezentovány výsledky testu Kruskal-Wallis, rozdíly mezi ošetřeními byly statisticky významné při hladině významnosti 0,001 (***)

Na fotografiích (Obr. 4) jsou patrné viditelné změny vzhledu rostlin v jednotlivých variantách. Je zřejmé, že toxicitou byly nejvíce zasaženy rostliny *R. crispus* rostoucí v kontrolní variantě půdy Litavka a v jejím ošetření aditivem P. Došlo k výraznému snížení

růstu biomasy, tímto příznakem se projevuje toxicita Cd a Zn. Na mladých listech jsou viditelné nokrózy, což může být způsobeno intoxikací olovem. V ostatních variantách je patrné červenohnědé zbarvení listů, chloritické skvrny, a purpurové zbarvení na okrajích listů. Tato postižení mohou být způsobena toxicitou Cd a Zn. Nejméně zasaženy byly rostliny ve variantě půdy Malín obohacené o aditivum Ca. Přesto i zde jsou viditelné purpurové okraje listů a skvrny.

Obrázek 4: Fotografie rostlin v jednotlivých variantách ošetření



Fotografie rostlin v jednotlivých variantách ošetření. Zkratky ošetření: LC – kontrolní vzorek půdy Litavka, bez jakýchkoliv aditiv, LCa – půda Litavka obohacená o aditivum CaO, LP – půda Litavka obohacená o aditivum $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, MC – kontrolní vzorek půdy Malín, bez jakýchkoliv aditiv, MCa – půda Malín obohacená o aditivum CaO, MP – půda Malín obohacená o aditivum $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$.

5.3. Koncentrace prvků v půdě, listech a kořenech

Půdní pH a výluhy zemin byly prováděny pomocí extrakčního činidla CaCl_2 . Po přidání aditiva Ca výrazně vzrostla hodnota pH v půdě Litavka, zatímco pH reakce půdy Malín se zvýšila jen nepatrně. Vliv aditiva P na pH půd nebyl pozorován. Výsledky měření jsou uvedeny v tabulce 2. Z tabulky je patrné, že zvýšením půdního pH přidáním aditiva Ca se výrazně snížila mobilita Cd a Zn v obou půdách. Důsledek snížení mobility Cd při zvyšování půdního pH potvrzuje také Khan et al., (2008). Dostupnost Cd a Zn byla vyšší v půdě Litavka. Dostupnost arsenu byla vyšší v půdě Malín, jeho mobilita byla v alkalické půdě zvýšena aditivem Ca a P. Dostupnost Pb pro rostliny byla v obou půdách srovnatelná, jeho mobilita nebyla ovlivněna zvýšeným pH vlivem aditiva Ca.

Tabulka 2: Výluhy zemin a půdní pH

Proměnná	Varianta ošetření					
	LC	LCa	LP	MC	MCa	MP
pHCaCl ₂	5,6±0,009	7,5±0,01	5,7±0,007	7,2±0,005	7,7±0,008	7,2±0,001
P	0,4±0,1	0,4±0,1	0,07±0,04	0,1±0	0,1±0	1,1±0,09
K	182,7±1,3	42,9±6,3	154±3,7	71,8±3,8	61,5±1,5	68,2±1,7
As	0,1±0	0,1±0	0,1±0,02	0,2±0,03	0,4±0,03	0,6±0,009
Cd	4,3±0,1	0,2±0,005	3,8±0,05	0,01±0,001	0,009±0,002	0,02±0,001
Pb	0,2±0,03	0,1±0	0,1±0,009	0,1±0	0,1±0	0,1±0
Zn	226,5±6,5	2,7±0,08	217,8±2,4	0,2±0,004	0,1±0,02	0,2±0,03

Zkratky ošetření: LC – kontrolní vzorek půdy Litavka, bez jakýchkoliv aditiv, LCa – půda Litavka obohacená o aditivum CaO, LP – půda Litavka obohacená o aditivum $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, MC – kontrolní vzorek půdy Malín, bez jakýchkoliv aditiv, MCa – půda Malín obohacená o aditivum CaO, MP – půda Malín obohacená o aditivum $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$.

Přidání aditiv Ca a P do půdy výrazně ovlivňovalo koncentrace všech analyzovaných prvků v listech i kořenech, hodnoty jsou uvedeny v tabulce 3. U rostlin rostoucích v kontrolní variantě půdy Litavka došlo k jejich uschnutí a odumření, nebylo tedy možné provést chemické analýzy. Konkrétně byly pozorovány velké rozdíly v koncentracích draslíku, jehož hodnoty v listech se pohybovaly v rozmezí od 4,6 g kg⁻¹ ve variantě MP do 14,3 g kg⁻¹ ve variantě MCa. Rovněž v kořenech byl patrný značný rozdíl, hodnoty se pohybovaly v rozmezí od 9,04 g kg⁻¹ u varianty LP do 21 g kg⁻¹ u varianty MP. Velké rozdíly jsou také patrné v hodnotách koncentrací arsenu. V listech se koncentrace pohybují v rozmezí od 8,1 mg kg⁻¹ u varianty LCa do 73,6 mg kg⁻¹ u varianty MP, v kořenech pak od 8,6 mg kg⁻¹ ve variantě LP do 30,6 mg kg⁻¹ ve variantě MC. Koncentrace kadmia se rovněž značně liší v

závislosti na aplikovaném aditivu. Hodnoty se pohybovali od 1,1 mg kg⁻¹ ve variantách MC a MCa do 22,4 mg kg⁻¹ ve variantě LP v listech, a od 0,9 mg kg⁻¹ ve variantě MP do 8 mg kg⁻¹ ve variantě LP v kořenech. Podobně také u olova jsou patrné značně rozdílné hodnoty. Koncentrace v listech se pohybují v rozmezí od 3,2 mg kg⁻¹ ve variantě MC do 388,5 mg kg⁻¹ u varianty LP. Také v kořenech byly hodnoty značně odlišné, koncentrace se pohybovali od 0,5 mg kg⁻¹ ve variantě MP do 85,3 mg kg⁻¹ ve variantě LCa. Největší rozdíly koncentrací byly patrné u zinku, zejména v listech. Koncentrace pohybovali v rozmezí od 60,9 mg kg⁻¹ ve variantě MC do 1854,5 mg kg⁻¹ ve variantě LP. V kořenech byly pozorovány hodnoty od 46,5 mg kg⁻¹ ve variantě MP do 578,1 mg kg⁻¹ ve variantě LP. Naopak nejmenší rozdíly koncentrací byly zaznamenány u fosforu, kdy se v listech pohybovali hodnoty koncentrací od 1,3 mg kg⁻¹ ve variantě MC do 2,3 mg kg⁻¹ ve variantě MCa, a v kořenech od 1,2 mg kg⁻¹ ve variantách LCa a LP do 1,7 mg kg⁻¹ ve variantě MP.

Tabulka 3: Koncentrace vybraných prvků v listech a kořenech

Proměnná	Varianta ošetření					
	LC	LCa	LP	MC	MCa	MP
P	-	1,6±0,09	1,6±0,4	1,3±0,3	2,3±0,1	1,6±0,1
L K	-	13,2±4,2	5,1±0,04	11,1±1,04	14,3±2,4	4,6±0,8
i As	-	8,1±2,5	35,1±13,7	18±2,6	18,5±2,3	73,6±17,6
s Cd	-	17,9±2,1	22,4±8,4	1,1±0,1	1,1±0,1	2±0,3
t Pb	-	84,4±31,6	388,5±151,5	3,2±0,4	10,1±4,9	7,3±1,3
y Zn	-	812±92	1854,5±257,6	60,9±6,8	91±8,8	139,7±26,6
P	-	1,2±140,1	1,2±0,05	1,5±0,1	1,3±0,1	1,7±0,09
K K	-	13,8±3,1	9,04±7,4	9,07±1,6	13,7±4,3	21±5,6
ř As	-	9,9±4	8,6±2,8	30,6±19,8	23,6±6,4	10,1±2,4
e Cd	-	6,7±1	8±1,2	1,5±0,4	1,2±0,2	0,9±0,1
n Pb	-	85,3±33,6	29,2±5,4	3,2±1,4	4±1,6	0,5±0,07
y Zn	-	300±65,3	578,1±27,9	78,3±29,5	67,4±11,6	46,5±4

Průměrné hodnoty koncentrací P a K (g kg⁻¹), As, Cd, Pb a Zn (mg kg⁻¹) v listech šťovíku kadeřavého v mírně kyselé půdě Litavka a alkalické půdě Malín. Zkratky ošetření: LC – kontrolní vzorek půdy Litavka, bez přidaných aditiv, LCa – půda Litavka obohacená o aditivum CaO, LP – půda Litavka obohacená o aditivum Ca(H₂PO₄)₂, MC – kontrolní vzorek půdy Malín, bez přidaných aditiv, MCa – půda Malín obohacená o aditivum CaO, MP – půda Malín obohacená o aditivum Ca(H₂PO₄)₂, - odumřelé rostliny.

6. Diskuse

Rychlost vzcházení semenáčů byla ovlivněn zejména účinkem Cd a Zn, které se v kyselé půdě vyznačovaly vysokou mobilitou (Obr. 2). Zatímco v alkalické půdě došlo k rychlému nástupu vzcházení, počet semenáčů se rychle zvyšoval, a byla zaznamenána zásadně nižší úmrtnost semenáčů, v kyselé půdě došlo ke zpoždění doby klíčení, počet semenáčů v nádobách stoupal pozvolna, a od 16 dne experimentu začalo docházet k vysoké úmrtnosti. Tento negativní účinek vysoké mobility Cd a Zn, způsobené nízkými hodnotami pH byl částečně potlačen přidáním aditiva Ca do půdy. Přidáním tohoto aditiva došlo k omezení dostupnosti Cd a Zn pro rostliny (Tab. 2), došlo ke zkrácení doby vzcházení, a k zásadnímu snížení úmrtnosti semenáčů (Obr. 2). Přitom zejména intoxikace Cd způsobuje výrazné snížení rychlosti vzcházení semen (Tlustoš et al., 2006; Barceló et al., 1988). U příbuzného druhu *R. obtusifolius* došlo u semenáčů v alkalické půdě po přidání aditiva Ca ke zpoždění klíčení a pomalému vzcházení rostlin, zřejmě v důsledku kalcifobie druhu (Hejzman et al., 2012c; Müllerová, pers.comm, Hann et al., 2012). U *R. crispus* nebyl tento efekt zaznamenán.

Růstové charakteristiky byly rovněž silně ovlivněny přidáním aditiv Ca a P do půdy. Vlivem aditiva Ca došlo ke zvýšení hodnoty pH půdy Litavka, tím se opět omezila mobilita Cd a Zn (Tab. 2). Následkem toho došlo ke zvýšené prosperitě rostlin, což se projevilo zvětšeným počtem listů v růžici, a delším vzrůstem listů (Obr. 3a, b). Podle tvrzení Anton & Mathe-Gaspar (2005) a Barrutia et al. (2009) mohou vysoké koncentrace některých rizikových prvků v rostlinných orgánech, v závislosti na rostlinném druhu, výrazně snížit produkci biomasy, neboť dochází k inhibici buněčného dělení. Výsledky poukazují na to, že růst *R. crispus* je limitován zejména dostupností Cd a Zn, která je ovlivněna pH reakcí půdy. Mobilita As a Pb změnou pH ovlivněna nebyla (Tab. 2). Ve variantách s přidáním aditivem P a v kontrolních variantách půdy Litavky nebyla mobilita rizikových prvků snížena, pro rostliny byly lehce dostupné, a jejich toxicita byla dostatečně vysoká na to, aby došlo k omezení růstu rostlin. Ve variantách půdy Malín nebyly známky toxicity tolik patrné, neboť se jedná o přirozeně alkalickou půdu, a Cd a Zn měly sníženou mobilitu v půdě i bez aplikace aditiva Ca. Rovněž koncentrace sledovaných rizikových prvků v půdě Malín byly nižší v porovnání s půdou Litavka. Zvýšeného růstu na půdách kontaminovaných As, Cd, Pb a Zn po aplikaci aditiva Ca, a k omezení mobility Cd a Zn, bylo dosaženo také u jiných druhů rostlin.

K tomuto výsledku dospěla např. Vondráčková et al. (2014) u příbuzného druhu *R. obtusifolius*, nebo Chen & Wong (2006) u druhu *Agropyron elongatum*. Hlavním výsledkem pozorování počtu vrcholů dospělých rostlin *R. crispus* je potvrzení jeho kvetení až v druhé vegetační sezóny (Bond et al., 2007; Pye & Anderson, 2009; Křišťálová et al., 2011; Hejcman et al., 2012a, 2012b). Během roku žádná z rostlin nevytvořila stonky s květenstvím. Nejvyšší vrchol byl pozorován pouze 3,5 cm, a to v půdě Malín ošetřené aditivem Ca. Vzhled rostlin byl rovněž poznamenán zřejmě intoxikací Cd a Zn (Obr. 4). Listy se vyznačovaly červenohnědým zbarvením, patrné byly chlorotické skvrny. Purpurové zbarvení na okrajích listů může být způsobeno Pb, jeho toxicita je spojena s nedostatkem P v listech. Jeho nedostatek se projevuje zvýšeným obsahem anthokyaninů v listech, jejichž přítomnost je spojená s purpurovým zbarvením (Asher & Reay, 1979). U kontrolní varianty půdy Litavka a v jejím ošetření aditivem P rostliny vyrostly do velmi malého vzrůstu, mladé listy byly postižené nekrotizací, což je jeden z možných projevů toxicity Cd.

Dostupnost Cd a Zn lze v kyselých půdách snížit přidáním aditiva Ca do půdy. Ve variantě s aditivem Ca byly zaznamenány nižší koncentrace těchto prvků v půdním výluhu, než ve variantě s přidáním aditivem P (Tab. 2). Podle Barman et al. (2000) a Anton & Mathe-Gaspar (2005) je složení rostlinných orgánů ovlivněno podmínkami prostředí, zejména pak dostupností rizikových prvků v půdě. To je potvrzeno také v tomto experimentu, koncentrace rizikových prvků se v rostlinných orgánech lišily podle druhu přidávaných aditiv. Koncentrace As a Pb v listech byly ve variantě s aditivem Ca oproti variantě s aditivem P nižší, ovšem v kořenech byl zaznamenán efekt opačný. Oproti variantě s přidáním aditivem P byly koncentrace As a Pb vyšší. Z toho vyplývá, že použití vápnění ke zvýšení mobility As a Pb nelze doporučit. Přidání aditiva Ca do alkalických půd nevede ke snížení obsahu rizikových prvků v listech, naopak, obsah As, Pb a Zn se oproti kontrolní variantě zvýšil. Koncentrace Cd zůstala v porovnání s kontrolní variantou stejná. V kořenech byl ve variantě s aditivem Ca zaznamenán pokles koncentrací As, Cd a Zn, obsah Pb se nepatrně zvýšil. Přidáním aditiva P do alkalické půdy došlo ke snížení koncentrací všech sledovaných rizikových prvků v kořenech. Ovšem koncentrace všech rizikových prvků v listech byly oproti kontrolní variantě vyšší (Obr. 3 a,b). V konečném důsledku tedy nelze doporučit přidání aditiva P do půdy za účelem zvýšení mobility sledovaných rizikových prvků. Podle Kabata-Pendias (2001), a Pugh et al. (2002) se limity toxických koncentrací As, Cd, Pb a Zn v rostlinných orgánech pohybují v rozmezí 5 – 20, 5 – 700, 30 – 300 a 100 – 500 mg kg⁻¹. Koncentrace As překročila toxické

limity ve všech variantách, koncentrace Cd, Pb a Zn byly překročeny ve variantách půdy Litavka (vyjma koncentrace Pb v kořenech ve variantě LP), ve variantách půdy Malín tyto limity překročeny nebyly (Tab 3). To je jistě také jeden z důvodů, proč rostliny v půdě Malín prospívaly v průměru lépe, vzcházely rychleji s menší úmrtností, dosahovaly většího počtu listů v růžici, listy byly delší, a vizuálně vypadaly lépe, než v půdě Litavka.

7. Závěr

Výsledky experimentu poukazují na to, že *R. crispus* je citlivý na intoxikaci As, Cd, Pb a Zn, jejich koncentrace v půdě negativně ovlivňují vzcházení, růst a zbarvení rostlin. Tyto příznaky toxicity mohou být využity pro identifikaci půd kontaminovaných As, Cd, Pb a Zn při mapování vegetace. Mobilita Cd a Zn může být výrazně snížena přidáním aditiva Ca do kyselých půd. Zvýšením pH se omezí jejich mobilita, a tím se zamezí přístupnosti pro rostliny. Ošetření aditivou Ca a P může zvyšovat dostupnost As pro rostliny, zejména v alkalických půdách. Následkem přidání aditiva P do alkalických půd dochází ke zvyšování koncentrací všech sledovaných rizikových prvků v listech, naopak koncentrace rizikových prvků v kořenech je v porovnání s kontrolní variantou nižší. V tomto experimentu byla potvrzena pozorování také dalších autorů (Bond et al., 2007; Martinková et al., 2009; Pye & Anderson, 2009; Křišťálová et al., 2011; Hejcman et al., 2012a, 2012b), že *R. crispus* tvoří květenství až v druhé vegetační sezóně. Nebylo pozorováno vytvoření květenství u žádného jedince.

Fytoremediační využití druhu *R. crispus* není v praxi příliš využitelné. Podmínkou pro fytořediační využití rostliny je, že na kontaminovaných půdách dokáží jedinci akumulovat dostatečně velké množství rizikových prvků, a přitom nebudou výrazně negativně ovlivněny jejich růstové charakteristiky. V listech a kořenech *R. crispus* byly zaznamenány koncentrace rizikových prvků po předcházejícím růstu na kontaminovaných půdách, ovšem ve variantách bez přidaného aditiva Ca byly jeho růstové charakteristiky silně negativně ovlivněny. Počet listů v růžici byl nízký, stejně tak jejich délka byla výrazně kratší v porovnání s variantami bez přidaného aditiva Ca. Jejich růst byl silně ovlivněn Cd a Zn. Ve variantách s aditivem Ca byly růstové charakteristiky výrazně lepší, ovšem změnou pH byla ovlivněna mobilita rizikových prvků v půdě, a jejich koncentrace v listech a kořenech byly nízké.

8. Seznam použité literatury

- Adriano D.C., 2001: Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. Second edition, Springer-Verlag. New York, 867.
- Anonymus, 2006: Rostliny. Seznamte se s rozmanitostí rostlinného světa. Fortuna print, Praha.
- Anton A., Mathe-Gaspar G., 2005: Factors affecting heavy metal uptake in plant selection for phytoremediation. Zeitschrift fuer Naturforschung, C: Journal of Biosciences. 60: 244 – 246.
- Asher C.J., Reay P.F., 1979: Arsenic uptake by barley seedlings. Australian journal of Plant Physiology. 6: 459 – 466.
- Baker A.J.M., McGrath S.P., Reeves R.D., Smith J.A.C., 2000: Metal Hyperaccumulator Plants: Review of the Ecology and Physiology of a Biological Resource for Phytoremediation of Metal-Polluted Soils. Lewis Publishers CRC. 85 – 108.
- Barceló J., Vazquez M.D., Poschenrieder Ch., (1988): Structural and ultrastructural disorders in cadmium-treated bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). New Phytologist. 108: 37 – 49.
- Barman S.C., Sahu R.K., Bhargava S.K., Chatterjee C., 2000: Distribution of heavy metals in wheat, mustard, and weed grown in field irrigated with industrial effluents. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 64: 489 – 496.
- Barrutia O., Epelde L., Garcia-Plazaola J.I., Garbisu C., Becerril J.M., 2009: Phytoextraction potential of two *Rumex acetosa* L. accessions collected from metalliferous and non-metalliferous sites: Effect of fertilization. Chemosphere. 74: 259 – 264.
- Bond W., Davies G., Turner R.J., 2007: The biology and non-chemical control of broad-leaved dock (*Rumex obtusifolius* L.) and curled dock (*R. crispus* L.). Henry Doubleday

Research Association, Coventry, UK.

Cavers P.B., Harper J.L., 1964: Biological flora of the British Isles, *Rumex obtusifolius* L. and *Rumex crispus* L. *Journal of Ecology*. 52: 737 – 766.

Chen Q., Wong J.W.C., 2006: Growth of *Agropyron elongatum* in a simulated nickel contaminated soil with lime stabilization. *Science of the total Environment*. 366: 448 – 455.

Darlington H.T., Steinbauer G.P., 1961: The eighty-year period for Dr. Beal's seed viability experiment. *American journal of Botany*. 48: 5 – 321.

Deyl M., 1956: Plevelle polí a zahrad. Nakladatelství Československé akademie věd, Praha.

Ellenberg H., Weber H.E., Düll R., Wirth V., Werner W., Paulissen D., 1992: Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa. 2nd ed. *Scripta Geobotanica*. 18: 1 – 258.

Gray T., 2012: Prvky. Nakladatelství Slovart, Praha.

Hall J.L., 2002: Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of experimental botany*. 53: 1 – 11.

Hann P., Trska C., Kromp B., 2012: Effects of management intensity and soil chemical properties on *Rumex obtusifolius* in cut grasslands in Lower Austria. *Journal of Pest Science*. 85: 5 – 15.

Harrison R.M., Chirgawi M. B., 1989: The assessment of air and soil as contributors of some trace metals to vegetable plants. *Science of the Total Environment*. 83: 13 – 62.

Hejčman M., Strnad L., Hejčmanová P., Pavlů V., 2012a: Effects of nutrient availability on performance and mortality of *Rumex obtusifolius* and *R. crispus* in unmanaged grassland. *Journal of pest science*. 85: 191 – 198.

- Hejcman M., Křišťálová V., Červená K., Hrdličková J., Pavlů V., 2012b: Effect of nitrogen, phosphorus and potassium availability on mother plant size, seed production and germination ability of *Rumex crispus*. *Weed research*. 52: 260 – 268.
- Hejcman M., Vondráčková S., Müllerová V., Červená K., Száková J., Tlustoš P., 2012c: Effect of quick lime and superphosphate additives on emergence and survival of *Rumex obtusifolius* seedlings in acid and alkaline soils contaminated by As, Cd, Pb, and Zn. *Plant soil environment* 58: 561 – 567.
- Hejný S., Slavík H., 1990: Květena České republiky 2. Academia, Praha.
- Holub J., Houfek J., Jirásek V., Mladý F., 1965: Klíč k určování rostlin. Státní pedagogické nakladatelství, Praha.
- Hongo A., 1988: Effect of cutting on growth and seed production of *Rumex obtusifolius* L. and *Rumex crispus* L. in Hokkaido. *Weed Research*. 33: 1 – 7.
- Hron F., Zejbrlík O., 1974: Kapesní atlas – rostliny polí a zahrad. Státní pedagogické nakladatelství, Praha.
- Hughes W.E., 1938: Studies into the biology of some *Rumex* species. M.Sc. thesis, University of Wales.
- Jelínek J., Zicháček V., 2007: Biologie pro gymnázia. Nakladatelství Olomouc, Olomouc.
- Jenkins P.D., Ali H., 1999: Growth of potato cultivars in response to application of phosphate fertilizer. *Annals of Applied Biology*, 135.
- Kabata-Pendias A., 2001: Trace elements in soils and plants, 3rd ed. CRC Press. Boca Raton.
- Kafka Z., Punčochářová J., 2002: Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita, *Chemické listy*. 96:

611 – 617.

- Khan M.S., Zaidi A., Wani P.A., Oves M., 2008: Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environmental Chemistry Letters*. 7: 1 – 19.
- Kotrba P., Macek T., Ruml T. (1999): Heavy metal-binding peptides and proteins in plants. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. 64: 1057 – 1086.
- Křišťálová V., Hejcman M., Červená K., Pavlů V., 2011: Effect of N, P and K availability on emergence, growth and over-wintering of *Rumex crispus* and *R. obtusifolius*. *Grass Forage Science*. 66: 361 – 369.
- Kubát K., Hrouda L., Chrtěk J., Kaplan Z., Kirschner J., Štěpánek J., 2002: Klíč ke květeně České republiky. Academia, Praha
- Marschner H., 1995: Mineral nutrition of higher plants, 2nd ed. Academic Press, London.
- Martínková Z., Honěk A., Pekár S., Strobach J., 2009: Survival of *Rumex obtusifolius* L. in an unmanaged grassland. *Plant Ecology* 205: 105 – 111.
- Monaco T., Cumbo E., 1972: Growth and development of curly dock and broadleaf dock. *Weed Science*. 20: 64.
- Mulligen C.N., Yong R.N., Gibbs B.F., 2001: Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater, an evaluation. *Engineering geology*. 60: 193 – 207.
- Novák F.A., 1972: Vyšší rostliny. Academia, Praha.
- Pavlů V., Hejcman M., Gaisler J., Pavlů L., Hujerová R., 2011: Možnosti regulace širokolistých šťovíků v travních porostech v systému ekologického zemědělství.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha.

- Probst A., Liu H.Y., Fanjul M., Liao B., Hollande E., 2009: Response of *Vicia faba* L. to metal toxicity on mine tailing substrate: Geochemical and morphological changes in leaf and root. *Environmental and Experimental Botany*. 66: 297 – 308.
- Procházka S., Macháčková I., Krekule J., Šebánek J., 1998: *Fyziologie rostlin*. AVČR Praha. 484.
- Pugh R.E., Dick D.G., Fredeen A.L., 2002: Heavy metal (Pb, Zn, Cd, Fe, and Cu) contents of plant foliage near the anvil range lead/zinc mine, Faro, Yukon Territory. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 52: 273 – 279.
- Pye A., Andersson L., 2009: Time of emergence of *Rumex crispus* L. as affected by dispersal time, soil cover, and mechanical disturbance. *Acta Agric Scand Sect B Plant Soil Science*. 59: 500 – 505.
- Pye A., Andersson L., Fogelfors H., 2011: Intense fragmentation and deep burial reduce emergence of *Rumex crispus* L. *Acta Agric Scand Sect B Plant Soil Science*. 61: 431 – 437.
- Rauser W.E., 1999: Structure and function of metal chelators produced by plants. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 31: 19 – 48.
- Schalscha E.B., Morales M., Pratt P.F., 1987: Lead and molybdenum in soils and forage near an atmospheric source. *Journal of Environmental Quality*. 16: 313 – 315.
- Singh H.P., Batish D.R., Kohli R.K., Arora K., 2007: Arsenic-induced root growth inhibition in mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.) is due to oxidative stress resulting from enhanced lipid peroxidation. *Plant Growth Regulation*. 53: 65 – 73.
- Soudek P., Petrová Š., Benešová D., Kotyza J., Vaněk T., 2008: *Fytoremediace a možnosti*

zvýšení jejich účinností. Chemické listy. 102: 346 – 352.

Strnad L., Hejzman M., Křit'álová V., Hejzmanová P., Pavlů V., 2010: Mechanical weeding of *Rumex obtusifolius* L. under different N, P and K availability in permanent grassland. Plant, Soil and Environment. 56: 393 – 399.

Šichorová K., Tlustoš P., Száková J., Kořínek K., Balík J., 2004: Horizontal and vertical variability of heavy metals in the soil of a polluted area. Plant, Soil and Environment. 50: 525 – 534.

Száková J., Tlustoš P., Goessler W., Frková Z., Najmanová J., 2009: Mobility of arsenic and its compounds in soil and soil solution: The effect of soil pretreatment and extraction methods. Journal of Hazardous Materials. 172: 1244 – 1251.

Tlustoš P., Pavlíková D., Balík J., 2006: Mechanismus příjmu rizikových prvků rostlinami a jejich hromadění v biomase. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha.

Tlustoš P., Száková J., Mühlbachová G., Neugschvandtner R., Habart J., 2012: Fytoremediační technologie podporované fytoextrakce. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.

Trakal L., Neuberg M., Tlustoš P., Száková J., Tejnecký V., Drábek O., 2011: Dolomite limestone application as a chemical immobilization of metal-contaminated soil. Plant, Soil and Environment. 57: 173 – 179.

Vondráčková S., Hejzman M., Száková J., Müllerová V., Tlustoš P., 2014: Soil chemical properties highly affect the concentration of elements (N, P, K, Ca, Mg, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, and Zn) and their distribution pattern in organs of *Rumex obtusifolius*. Plant and Soil. 379: 231 – 245.