

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



Bakalářská práce

**Mykorhizní symbióza rostlin na stanovištích
kontaminovaných PAH**

Monika Veselá

školitel: Mgr. Ondřej Koukol, PhD.

Praha 2009

17 16/2009
1113632

Poděkování

Chtěla bych poděkovat své rodině a blízkým za trpělivost a podporu při mém studiu a psaní bakalářské práce a především mému školiteli, Ondřeji Koukolovi, za cenné rady a čas, který mi věnoval.

Souhrn

Cílem této práce bylo zhodnotit vliv mykorhizní symbiózy na půdy kontaminované polycyklickými aromatickými uhlovodíky (PAH) se zřetelem na arbuskulární mykorhizní symbiózu a ektomykorhizu, které patří k nejvíce studovaným. Posuzovány byly především vzájemné vztahy rostlina – mykorhizní houba – kontaminant. Ukazuje se, že mykorhizní symbióza přispívá ke zlepšení podmínek pro růst a rozvoj vegetace a také disipace kontaminantů byla v přítomnosti mykorhizy vyšší. PAH byly degradovány, adsorbovány nebo absorbovány a tím docházelo ke snížení jejich koncentrace v půdách. Diskutována byla také role asociovaných mikroorganismů v mykorhizosféře.

Klíčová slova: arbuskulární mykorhiza, ektomykorhiza, polycyklické aromatické uhlovodíky, remediace, kontaminace

Abstract

The aim of this study was to evaluate effect of mycorrhizal symbiosis on soils contaminated by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) with emphasis on arbuscular mycorrhizal symbiosis and ectomycorrhizal symbiosis that have been well-studied. Especially the relationships between plant – mycorrhizal fungi – pollutant were assessed. It turns out that mycorrhizal symbiosis contributes to improve plant growth conditions and vegetation establishment. Dissipation of pollutants was higher in the presence of mycorrhiza. PAHs were degraded, adsorbed and absorbed and that's why their concentration in soils became lower. Role of associated microorganisms in mycorrhizosphere was discussed too.

Keywords: arbuscular mycorrhiza, ectomycorrhiza, polycyclic aromatic hydrocarbons, remediation, contamination

Úvod

S rozvojem průmyslu, techniky a stále se zvyšujícími nároky na životní úroveň úměrně roste také environmentální zátěž důsledkem lidské činnosti. Globální otázky životního prostředí jako jsou kontaminace půd těžkými kovy a dalšími xenobiotiky a jejich následný vstup do ekologických procesů tak ústí ve vážný problém.

Polycyklické aromatické uhlovodíky (*polycyclic aromatic hydrocarbons*, PAH) jsou jedním s nejrizikovějších a nejrozšířenějších environmentálních polutantů díky své perzistenci v prostředí a také toxickými, mutagenními a karcinogenními účinky. Vznikají především v rámci spalovacích procesů fosilních paliv a také v ropném průmyslu, jejich produkce je tedy značná (Wilson & Jones, 1993; Lhotský et al., 1994; Rezek et al., 2008).

Remediační snahy o navrácení rovnováhy v narušených ekosystémech do původních hodnot tak získávají na důležitosti, zvláště pokud jsou voleny šetrně, tedy tak, aby nenapáchaly více škody než užitku.

Fytoremediace, použití zelených rostlin k degradaci, fixaci a akumulaci nebezpečných kontaminantů životního prostředí, je tak slibným alternativním přístupem k jinak mnohdy nešetrným remediacím, zvláště díky své environmentální přijatelnosti, pohodlnosti a v neposlední řadě také ekonomičnosti (Rezek et al., 2008; Wu et al., 2008).

Mykorhizní symbióza je mutualistickým vztahem mezi kořeny rostlin a půdními houbami, a právě jako klíčový spojovací článek mezi půdním prostředím a vegetací může hrát důležitou roli ve fytoremediaci, především svými prospěšnými účinky na toleranci stresu rostlin a zlepšení půdních vlastností (Meharg & Cairney, 2000; Robertson et al., 2007). Využití mykorhiz ke zvýšení remediace organických polutantů tak může být slibnou fytoremediační strategií nejen díky pozitivnímu vlivu na vytvoření vegetace, ale také schopností účinně snižovat koncentraci kontaminantů na znečištěných půdách (Joner et al., 2006).

Studie zabývající se vlivem mykorhizy na kontaminované substráty jsou v podstatě dvojího typu: arbuskulárně mykorhizní symbiózy a ektomykorhizní symbiózy.

Cílem této práce bylo zhodnotit pozitivní i negativní vliv mykorhiz jako příspěvků k bioremediaci půd kontaminovaných PAH, ale také porozumět mechanismům fungování vztahu rostlina – mykorhizní houba – kontaminant.

Obsah

1.	Mykorhizní symbióza	2
1.1.	Arbuskulární mykorhizní symbióza.....	4
1.2.	Erikoidní mykorhizní symbióza.....	4
1.3.	Ektomykorhizní symbióza	4
1.4.	Orchideoidní mykorhizní symbióza.....	5
1.5.	Ektendomykorhizní symbióza (arbutoidní, monotropoidní).....	5
2.	Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH)	6
3.	Stanoviště kontaminované PAH	9
4.	Interakce PAH – rostlina.....	11
5.	Interakce rostlina – mykorhizní houba	12
6.	Interakce PAH – AM houba.....	14
6.1.	Vliv PAH na rozvoj mykorhizy	14
6.2.	Kořenové exsudáty, enzymová aktivita	15
6.3.	Dekontaminace stanovišť	15
7.	Interakce PAH – ECM houba	17
7.1.	Saprotrofní schopnosti, enzymová aktivita.....	17
7.2.	Dekontaminace stanovišť	18
8.	Mikroorganismy mykorhizosféry	20
8.1.	Mykorhizní systém.....	20
8.2.	Mikrobiální společenstva	21
8.3.	Degradace PAH	22
9.	Závěr	24
10.	Seznam použité literatury	26

1. Mykorhizní symbióza

Mykorhiza, všudypřítomný symbiotický vztah mezi kořeny rostlin a souborem hub žijících v půdě, je mutualismem, kdy recipročně vzrůstá fitness obou partnerů. Ti si navzájem vyměňují živiny, které jsou esenciální pro jejich růst a přežití. Houbový partner získává dusík (N), fosfor (P) a další živiny z půdního prostředí a vyměňuje je s rostlinným partnerem za uhlíkaté sloučeniny pocházející z fotosyntézy, které pohánějí metabolismus houby. Živiny přijímá z anorganických zdrojů nepřístupných nebo hůře přístupných rostlinám (Gryndler et al., 2004; Robertson et al., 2007). Význam mykorhizních hub tak spočívá v propojení primárních producentů, rostlin, s heterogenně distribuovanými živinami potřebnými pro jejich růst. Toto propojení umožňuje tok energeticky bohatých sloučenin potřebných pro mobilizaci živin a zároveň translokaci mobilizovaných produktů zpět hostiteli (Finlay, 2008). Symbiotické houby kolonizují rhizodermis a primární kůru kořene a dále se rozprostírají do jejich okolí. Vytvářejí tak protkaný podzemní mykorhizní systém, spojující vnitřní prostor kořene s půdním prostředím (Gryndler et al., 2004; Robertson et al., 2007).

Stejně jako ve výživě rostlin hrají mykorhizní houby centrální roli v mnoha mikrobiálních a ekologických procesech ovlivňujících úrodnost půdy, dekompozici nebo cyklení minerálních a organických látek (Finlay, 2008). Celý mykorhizní systém v širším slova smyslu zahrnuje také asociovaná mikrobiální společenstva a zaujímá tak strukturní a funkční rozhraní mezi dekompozicí a primární produkcí (Robertson et al., 2007). Podle rekonstrukce DNA a fosilního záznamu se navíc předpokládá, že mykorhizní asociace byla rozhodující v umožnění rostlinám kolonizovat neúživné terestrické prostředí před 600 miliony lety. Mykorhizní symbióza je tak důležitým článkem v evoluci (Blackwell, 2000).

Kromě výživy rostlin mají mykorhizní houby široký rozsah působení, kterými přispívají ke zlepšování různých typů stresu svých hostitelských rostlin, jako je vodní stres, oxidativní stres nebo toxicita těžkými kovy či stres způsobený acidifikací půdy (Gryndler et al., 2004; Finlay, 2008; Debiane et al., 2008). Houboví symbionti přijímají uhlík ze svých hostitelských rostlin, aby mohli podpořit jejich růst na kontaminovaných substrátech. Část uhlíku může být následně dostupná bakteriím asociovaným s mykorhizním myceliem, což představuje možné využití v bioremediaci půd (Finlay, 2008).

Některé mykorhizní systémy mají dobře rozvinutou saprotrofní schopnost (systém oxidativních a hydrolytických enzymů), díky které dokáží mobilizovat živiny také z organických zdrojů. Takové schopnosti se mohou rozvinout díky selekci v ekosystémech charakterizovaných pomalou dekompozicí a zadržováním živin v organických polymerech

1.1. Arbuskulární mykorhizní symbióza

Vývojově nejstarším a v přírodě nejrozšířenějším typem je arbuskulární mykorhizní symbióza (AM). Na rozdíl od ostatních mykorhiz je nejméně specializovaná a vyskytuje se u 95% druhů cévnatých rostlin.

Vlákna hub (hyfy) pronikají přes mezibuněčné prostory do vnitřků buněk, kde se bohatě větví a vytvářejí tzv. arbuskuly, specializované útvary pro výměnu živin.

Arbuskulární mykorhizní houby žijí obligátně biotrofně, jsou tedy schopné získávat výživu výhradně z kořene své hostitelské rostliny. Té na oplátku poskytují minerální látky, zejména fosfor (P), minerální dusík (N) a v některých případech i N uvolněný z organických látek. Vyskytují se především v prostředí charakterizovaném rychlým obratem uhlíku (C).

Symbiotické houby patří do řádu *Glomales* (alternativní členění: *Glomeromycota*; *Archaeosporales*, *Diversisporales*, *Glomales*, *Paraglomales*) (Gryndler et al., 2004).

1.2. Erikoidní mykorhizní symbióza

Erikoidní mykorhizní symbiózu (ERM) najdeme výhradně u rostlin řádu vřesovcovitých (*Ericales*). Je charakteristická tvorbou závitů (smotků) hyf uvnitř buněk, přičemž nejvíce kolonizuje buňky kořenové pokožky.

Vyskytuje se v biotopech s pomalým obratem uhlíku, zejména na kyselých půdách chudých na minerální živiny (N, P), jako jsou vřesoviště a rašeliniště. Zde se hromadí obtížně dostupná organická hmota s vysokým poměrem organického uhlíku a dusíku. Mykorhizní houba, žijící polosaprotrofně, dokáže tyto živiny uvolňovat (např. rozkladem ligninu) a posílat je hostitelské rostlině.

Houby náleží do rodů *Hymenoscyphus ericae*, *Oidiodendron* a řady neidentifikovaných askomycetů, pravděpodobně *Leotiales* a *Helotiales* (Cairney, 2000; Gryndler et al., 2004; Robertson et al., 2007).

1.3. Ektomykorhizní symbióza

Ektomykorhizní symbióza (ECM), asociace mezi houbami a převážně většiny stromů a keřů, je typická pro zhruba 2000 rostlinných druhů (nejvíce *Pinaceae*, *Betulaceae*, *Fagaceae*, *Dipterocarpaceae*, *Salicaceae* a *Myrtaceae*). Patří k nejznámějším díky plodnicím hub, které jsou vyhledávanou pochoutkou.

Ektomykorhiza je charakterizována třemi strukturálními komponenty: Hartigova síť, hyfový plášť a extraradikální mycelium. Hartigova síť je vysoce rozvětvená struktura na rozhraní výměny živin a je tvořena houbovými hyfami mezi epidermálními a kortikálními buňkami kořene. Spleť hyf na povrchu kolonizovaného kořene se označuje jako hyfový plášť a je místem komunikace mezi kořeny a půdním prostředím. Houbou kolonizovaný kořen je tak výrazně zduřelý (Gryndler et al., 2004; Robertson et al., 2007).

Tento typ symbiózy najdeme zejména v lesích mírného pásu a v severských boreálních ekosystémech ale i tropických lesích. Mohou to být půdy chudé na organickou hmotu, někdy je tomu naopak. Ektomykorhizní houby produkují řadu enzymů uplatňujících se při rozkladu organických látek, ale zároveň dokáží půdu o tyto látky obohacovat. Některé typy humusu totiž obsahují fenolické látky vzniklé rozkladem rostlinné biomasy a ECM houby se tak na tyto podmínky musely adaptovat. Z organických sloučenin jsou schopné získávat živiny pro rostlinu a také absorbují vodu a transportují ji na dlouhé vzdálenosti (Gryndler et al., 2004; Robertson et al., 2007).

Ektomykorhizní houby patří do *Basidiomycetes*, *Ascomycetes*, *Zygomycetes* a také *Fungi imperfecti*. Některé ECM taxony se vyvinuly z dřevokazných hub (houby bílé hniloby) nebo jsou příbuzné k dalším saprotrofním taxonům, a proto mohou vlastnit lignolytické schopnosti rozkládat organickou hmotu (Hibbett et al., 2000; Gryndler et al., 2004; Robertson et al., 2007).

1.4. Orchideoidní mykorhizní symbióza

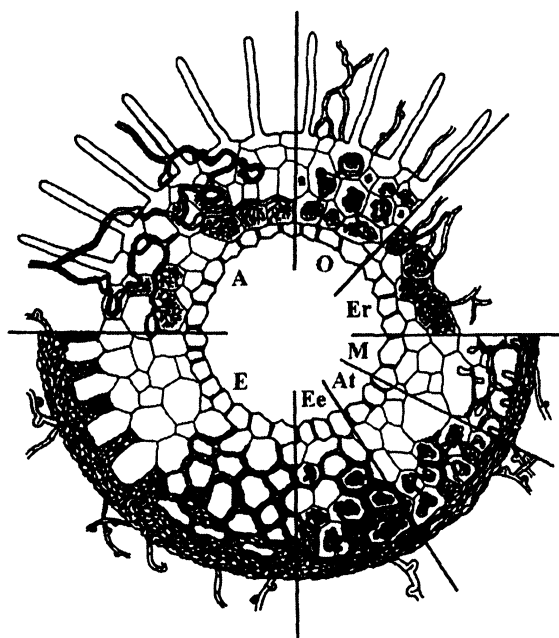
Orchideoidní mykorhizní symbióza se vyskytuje pouze u orchidejí (rostliny řádu *Orchidales*). Symbiotické houby kolonizují buňky kořenové kůry hostitele a vytvářejí zde typické závitě hyf, tzv. pelotony. Jsou to saprotrofové, využívající organické látky jako zdroj uhlíku a energie. Uhlíkaté látky poté posílají hostitelským orchidejím, které žijí přinejmenším v ranných stádiích heterotrofně.

Nejvíce zástupců náleží do anamorfního rodu *Rhizocontia* s.l. (Gryndler et al., 2004).

1.5. Ektendomykorhizní symbióza (arbutoidní, monotropoidní)

Ektendomykorhizní symbióza představuje přechod mezi ekto a endomykorhizní symbiózou. Hyfy hub nalzáme na povrchu kořene ale i uvnitř buněk pokožky či kůry.

Nejznámější jsou arbutoidní a monotropoidní mykorrhiza, vytvářející mezibuněčnou Hartigovu síť, hyfový plášť na povrchu kořene a různé vnitrobuněčné útvary (hyfová klubička, haustoria - pegy). Někdy jsou však tyto skupiny řazeny zvlášť (Gryndler et al., 2004).



Obr. 2: Typy mykorrhiz znázorněné v příčném řezu: A – arbuskulární mykorrhiza, E – ektomykorrhiza, Ee – ektendomykorrhiza, At – arbutoidní mykorrhiza, M – monotropoidní mykorrhiza, Er – erikoidní mykorrhiza, O – orchideoidní mykorrhiza; schematizováno (Gryndler et al., 2004)

2. Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH)

Polycyklické aromatické uhlovodíky jsou organické sloučeniny se dvěma a více aromatickými jádry (viz obr. 3). Ve své molekule obsahují atomy C a H a nenesou žádné heteroatomy ani substituenty, ačkoli N, S a O atomy mohou snadno substituovat na benzenové jádro a vytvářet heterocyklické aromatické sloučeniny, běžně spojované s PAH (Wilson & Jones, 1993; Lhotský et al., 1994; U.S.EPA, 2006). Tyto sloučeniny patří mezi tzv. perzistentní organické látky (*persistent organic pollutants*, POPs), což znamená, že nepodléhají přirozeným biodegradačním procesům. Jejich perzistence (doba, za kterou vymizí 95% látky) je dána svérázností chemicko-fyzikálních vlastností molekuly, na jejíž rozklad nejsou půdní organismy přizpůsobeny (Lhotský et al., 1994). Do skupiny PAH řadíme např. naftalen, fluoren, fenantren, antracen, fluoranten, pyren, benz[*a*]antracen, chrysen, benzo[*a*]pyren, dibenzo[*a,h*]antracen, indeno[*1,2,3-c,d*]pyren a další (U.S.EPA, 2006).

PAH jsou látky hydrofobní a velmi málo rozpustné ve vodě a jejich perzistence souvisí právě s těmito vlastnostmi. Nízká rozpustnost ve vodě vede k jejich akumulaci a stálosti ve vodních a terestrických ekosystémech (Lhotský et al., 1994; Criquet et al., 2000; Harrison, 2001; Zhou & Zhu, 2005). Nebezpečí těchto sloučenin spočívá především v jejich toxických, mutagenních a karcinogenních vlastnostech, které byly prokázány u více než padesáti PAH. Začleněním do potravních řetězců tak mohou ohrožovat lidské zdraví (Malachová, 1993; Lhotský et al., 1994; Criquet et al., 2000; Rezek et al., 2008). Mezi nejsilnější karcinogeny patří benzo[*a*]pyren, benzofluoranteny, benzo[*a*]antracen, dibenzo[*ah*]antracen a indeno[1,2,3-*cd*]pyren a jsou řazeny spolu s dalšími mezi prioritní polutanty (Harrison, 2001; U.S.EPA, 2006; Wu et al., 2008).

Tato xenobiotika vznikají především antropogenní činností jako důsledek nedokonalého spalování organických paliv včetně dřeva, uhlí, ropy, benzínu a nafty. Dále se dostávají do prostředí při průmyslových procesech zpracování ropy, černého uhlí, koksu, asfaltu nebo černouhelného dehtu (Wilson & Jones, 1993; Criquet et al., 2000; Harrison, 2001; Rezek et al., 2008; Wu et al., 2008). Např. černouhelný dehet obsahuje polycyklické aromatické uhlovodíky z 94%. Jeho následnou destilací mohou být dále získávány meziprodukty používané při výrobě plastických hmot, organických barviv, léčiv, pesticidů atd. (Malachová, 1993).

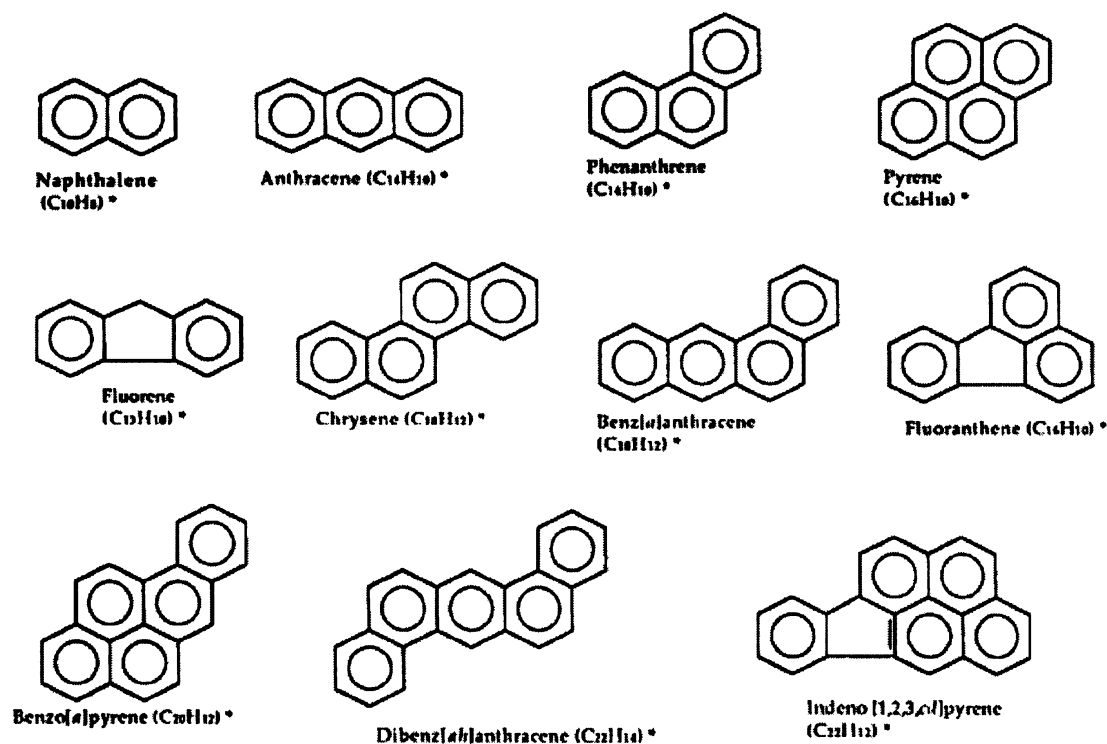
PAH mohou vznikat i přirozeně v přírodě, jejich příspěvek k environmentální zátěži je však mnohem nižší než výše uvedené. Přírodními zdroji jsou především lesní požáry a sopečná aktivita, dále vznikají endogenní syntézou mikroorganismy, fytoplanktonem, řasami a vyššími rostlinami. Tyto aromatické uhlovodíky se pak mohou uvolnit do prostředí během hoření nebo dekompozice organické hmoty (Wilson & Jones, 1993; Criquet et al., 2000; Harrison, 2001; Rezek et al., 2008).

Velké množství PAH se rozšiřuje do prostředí přes atmosférickou depozici, např. adsorbováním na uhlý prach. To sice nevede k vysoké kontaminaci míst, ale zasaženy jsou větší oblasti (Wilson & Jones, 1993; Braun-Lüllemann et al., 1999). Navíc, riziko expozice PAH výrazně stoupá, protože rychlost produkce PAH a jejich vnesení do prostředí roste, zatímco jejich dekompoziční rychlosti zůstávají víceméně konstantní (Rezek et al., 2008).

Zásadní hledisko určující možnost degradace a ztrát PAH v životním prostředí je bidoostupnost látky, definující rychlost a rozsah biodegradace (Oleszczuk, 2009; Smith et al., 2008). PAH se vyznačují právě nízkou dostupností a tedy obtížností degradace. Akumulují se v půdách a díky své toxicitě ohrožují rozvoj žijících organismů (Rezek et al., 2008).

Primárním dekompozičním mechanismem PAH je aerobní mikrobiální degradace, přestože existují i nebiologické mechanismy jako volatilizace, fotolýza nebo chemická oxidace a hydrolyza (Wilson & Jones, 1993; Harrison, 2001; Smith et al., 2008). Půdní mikrobiální společenstva dokáží degradovat tyto xenobiotické aromatické uhlovodíky díky strukturálním analogiím organickým sloučeninám, které se přirozeně vyskytují v půdním prostředí. Ukazuje se, že k jejich rozkladu využívají stejné biochemické dráhy (Siciliano & Germida, 1998).

Za úbytkem PAH z půdy ovšem nemusí stát jen mikrobiální degradace sloučeniny, tyto kontaminanty mohou také interagovat s vegetací akumulací v rostlinných pletivech nebo adsorpcí na povrch kořenů, a tím snižovat koncentraci v půdě (Binet et al., 2000). Na těchto principech jsou založeny různé fytořediační techniky, kde právě mykorrhiza může hrát významnou roli a to nejen zprostředkováním mezi kontaminantem a rostlinou, ale také degradací sloučenin.



Obr. 3: Chemické struktury některých běžných PAH (Wilson & Jones, 1993)

3. Stanoviště kontaminované PAH

Půda je živý, otevřený, dynamický systém. Je základní složkou terestrických ekosystémů, obsahuje zpravidla zásobu živin a energie a odehrávají se v ní důležité biogeochemické cykly živin (Harrison, 2001; Robertson et al., 2007). Půda také představuje významný článek vstupu toxických látek do potravního řetězce. Díky svým sorpčním, retenčním a transportním procesům rozhoduje jako receptor škodlivin o deaktivaci až degradaci těchto látek a jejich dalším transferu (Lhotský et al., 1994).

Ukládání odpadu ze spalovacích procesů a z průmyslu ústí ve vážnou, dlouhotrvající kontaminaci půd mnoha oblastí (viz obr. 4) (Braun-Lüllemann et al., 1999). Vegetace na těchto stanovištích je velmi chudá či může zcela chybět.

Půdy kontaminované PAH mají víceméně hydrofobní charakter a nízký redoxní potenciál, a tak růst rostlin může být limitován příjmem vody a přístupem k minerálním živinám, které jsou rozpuštěné v nedostupné půdní vodě (Joner et al., 2001; Robertson et al., 2007). Kontaminanty a jejich degradační produkty se akumuluji ve vrchních vrstvách půdy a tvoří hydrofobní krustu, která snižuje dostupnost vody a limituje výměnu vody a plynu mezi půdou a atmosférou (Wilcke, 2000; Robertson et al., 2007). PAH se adsorbují na povrch půdních agregátů, zejména na částičky s jemnou texturou (např. bahno) a začleňují se do půdních mikropórů. Jsou především asociované s půdní organickou hmotou a sazemi (Wilcke, 2000; Joner & Leyval, 2003; Zhou & Zhu, 2005). Sorpcí PAH na půdní částice dále vzrůstá objemová hmotnost půdy, a tím se snižuje transport živin skrz půdu a dostupnost kontaminantů pro degradaci organismy (Blakely et al., 2002).

Ukazuje se, že vlastnosti PAH v půdě korelují s jejich molekulární hmotností. Nerozpustnost ve vodě, hydrofobicita a sorpční vlastnosti vzrůstají se zvyšujícím se počtem aromatických kruhů, kdy PAH se třemi a více kruhy jsou již pevně sorbovány na půdu (Robertson et al., 2007).

Čím déle kontaminanty zůstávají v půdě, tím více se stávají rezistentní k desorpci a biodegradaci. To je patrné na půdách dlouhodobě znečišťovaných, kdy se chemické sloučeniny dostávají do kontaktu s půdními částicemi po delší dobu, pevněji se na ně vážou a interagují s nimi za změn ve fyzikálních a chemických vlastnostech (Robertson et al., 2007; Rezek et al., 2008). Během stárnutí také organické molekuly postupně migrují do nanopórů a mikropórů půdy, kde jsou poté hůře přístupné (Blakely et al., 2002). Podle práce Erikssona et al. (2000) na starých půdách bývalé ocelárny (cca 300 µg PAH/g půdy) se ukázalo, že takovéto půdy sestávají ze dvou frakcí kontaminantů a to z dobře dostupné, degradovatelné

frakce a silně sorbované, vzdorovité, přičemž frakce dostupná organismům obsahovala aromatické sloučeniny nejvýše se třemi kruhy.

Kontaminace PAH neovlivňuje negativně jen půdní vlastnosti, ale díky své toxicitě především organismy. Jejich ohrožení může nastat přímo přes kontakt se zamořenou půdou nebo nepřímo kontaminací spodních vod, což následně vede k toxikologickým a strukturálním změnám organismů (Harrison, 2001). Disturbované plochy jsou dále typické nízkou diverzitou nebo vysokou specializací díky extinkci populací, které postrádají dostatečnou toleranci k nastalým změnám a na druhé straně selektivnímu obohacení organismy, které nové podmínky tolerují nebo v nich dokonce prospívají (Díaz, 2004).

Odstranění kontaminace půd je prioritním tématem výzkumu těchto ploch a důležitým lidským úkolem. Nejjednodušším způsobem je vykopání půdy a její zpopelnění (Criquet et al., 2000). Není to však přístup nejvhodnější, zvláště, když k dekontaminaci můžeme využít přírodní procesy a navracet tak původní biologické hodnoty půdy přirozenější cestou. Bioremediace (fytoremediace) se navíc jeví účinnější a v neposlední řadě také méně nákladná (Criquet et al., 2000).

Možností bioremediace je hned několik: *in situ* (kontaminované půdy jsou ošetřeny na místě, často přidáním živin a někdy specificky adaptovaných organismů), *on site* (přemístění kontaminované půdy na jiná úložiště, zde degradace), bioreaktory (přesun půdy do specifických reaktorů pro kultivaci) (Wilson & Jones, 1993). Dále můžeme remediační strategie rozdělit na vysokovstupní přístup (např. přidání chemikálií ke zvýšení dostupnosti PAH a růstu rostlin, tedy surfaktantů a hnojiv) a nízkovstupní přístup (osázení jako jediný zásah, vlastní kapacita biodegradace) (Joner et al., 2001).

Fytoremediace může ústit v různé způsoby dekontaminace půd. PAH mohou být degradovány mikroorganismy v rhizosféře, ale mohou také interagovat s vegetací akumulací v rostlinných pletivech nebo adsorpcí na povrch kořenů (Binet et al., 2000). Osázení kontaminovaných půd rostlinami může být vhodné například k redukci větrné eroze nebo ke zvýšení degradace organických polutantů díky rozvinutí kořenového systému, který zlepšuje půdní provzdušnění a odvodňování. Tím se zvyšuje biologická aktivita mikroorganismů a také možná degradace polutantů (Joner et al., 2001; Genney et al., 2004).

PAH ovšem patří mezi látky s nízkou biodostupností a vysokou rezistencí k biodegradaci, a proto je v zájmu výzkumu zjistit, jak tyto vlastnosti ovlivnit a dosáhnout tak nejlepších výsledků (Zhou & Zhu, 2005; Rezek et al., 2008).

PAH	Wood-preserving ^d		Creosote production ^b		Wood treatment ^e	Coking plant ^c	Coking plant ^f	Gas works ^g	
	Surface-soil	Subsoil	mean	range				mean	range
Naphthalene	1	3925	1313	<1–5769	91.8	56	59		
1-Methyl naphthalene	1	1452	901	<1–1617			87		
2-Methyl naphthalene	1	623	482	6–2926			112		
2,6-Dimethyl naphthalene	2	296							
2,3-Dimethyl naphthalene	1	168							
Acenaphthalene	5	49	33	6–77			187		
Acenaphthene	7	1368					29	2	0–11
Fluorene	3	1792	650	49–1294	620	7	245	225	113–233
Phenanthrene	11	4434	1595	76–3402	1440	27	277	379	150–716
Anthracene	10	3037	334	15–693	766	6	130	156	57–295
2-Methyl anthracene	14	516							
Fluoranthene	35	1629	682	21–1464	1350	34		2174	614–3664
Pyrene	49	1303	642	19–1303	983	28	285	491	170–833
2,3-Benzo(b)fluorene	8	288							
Chrysene	38	481	614	8–1586	321	11	135	345	183–597
Benzo(a)pyrene	28	82			93.7	14		92	45–159
Benz(a)anthracene	12	171			356	16	200	317	155–397
Benzo(b)fluoranthene &	38	140						260	108–552
Benzo(k)fluoranthene								238	152–446
Dibenz(ah)anthracene					10.1	2		2451	950–3836
Indeno(123cd)pyrene	10	23						207	121–316

All concentrations in mg kg⁻¹ dry matter

Obr. 4: Koncentrace PAH na kontaminovaných stanovištích (Wilson & Jones, 1993)

4. Interakce PAH – rostlina

Je zřejmé, že přítomnost PAH v substrátech působí na rostliny toxicky, ty hůře prospívají a jsou méně vyvinuté. Mohou za to nejen vlastnosti znečištěných půd, ale také přímý vliv kontaminantů a jejich interakce s vegetací.

Negativní účinek polyaromatických uhlovodíků byl sledován především na kořenech rostlin, kdy docházelo k redukcí jejich délky (Gaspar et al., 2002; Verdin et al., 2006; Debiane et al., 2008). Verdin et al. (2006) zaznamenal úbytek kořenů čekanky (*Cichorium intybus*) dokonce z 87% v přítomnosti antracenu (koncentrace 140 mg.L⁻¹). Zároveň však pozoroval pozitivní příspěvek AM houby *Glomus intraradices* na toleranci antracenu, kdy došlo i ve vysoké koncentraci k rozvoji kořenového systému rostlin. Stejný vliv byl zjištěn také u vysokomolekulárních PAH, např. u benzo[a]pyrenu, při použití jiných rostlinných druhů (Verdin et al., 2006).

Při detailnějším pohledu do problematiky působení PAH na rostlinné buňky se ukazuje, že tyto sloučeniny způsobují oxidativní poranění membránových lipidů kolonizovaných kořenů, které jsou následně doprovázeny poklesem v růstu. Dochází k porušení DNA volnými radikály, DNA je dále oxidována na řadu defektních produktů. Jeden z nich, 8-hydroxy-2'-desoxyguanosine (8-OHdG), se využívá jako marker oxidativního

poškození DNA. Bylo pozorováno, že změna v genomu přes 8-OHdG sloučeninu v kořenech vystavených kontaminaci vzrostla dvojnásobně ve srovnání s kontrolními rostlinami rostoucími na půdách bez PAH (Debiane et al., 2008). Rostliny mají tedy vysokou senzitivitu ke kontaminaci PAH, pozorovatelnou dokonce na úrovni změn DNA.

Polyaromatické uhlovodíky rostliny nejen ovlivňují působením na jejich vývoj, růst a strukturu buněk, mohou se také v pletivech rostlin ukládat. Binet et al. (2000) ve svém pokusu s jíllem (*Lolium perenne*) kultivovaným v květináčích s půdou kontaminovanou 5 g.kg⁻¹ antracenu nebo 1 g.kg⁻¹ směsi osmi různých PAH pozoroval, že 0,006 – 0,11‰ původní koncentrace PAH bylo adsorbováno na kořeny, 0,003 – 0,16‰ bylo nalezeno v pletivech kořenů a 0,001‰ v pletivech nadzemní části a to shodně v obou experimentech. Podobné výsledky najdeme i v dalších studiích (Wu et al., 2009). Nemykorhizní rostliny jsou tak schopné přispívat k disipaci PAH z půdy a to i bez mykorhizních symbiotických partnerů (Corgié et al., 2006; Verdin et al., 2006).

5. Interakce rostlina – mykorhizní houba

Mykorhizní symbióza, známá svými prospěšnými účinky na rostlinu, dokáže přispívat k toleranci stresu různých disturbovaných stanovišť. Díky této schopnosti se jeví jako nepostradatelný pomocník při vytvoření a udržení vegetace na substrátech pro rostliny toxických či jinak nepříznivých. Blahodárný vliv na rostlinu vyplývá pravděpodobně z kombinace fyzikálních, výživových a buněčných vlivů (Debiane et al., 2008). Mykorhiza modifikuje stavbu hostitelských kořenů, zlepšuje membránovou celistvost díky přísunu fosforu rostlině a také stimuluje tvorbu některých enzymů (Joner et al., 2001).

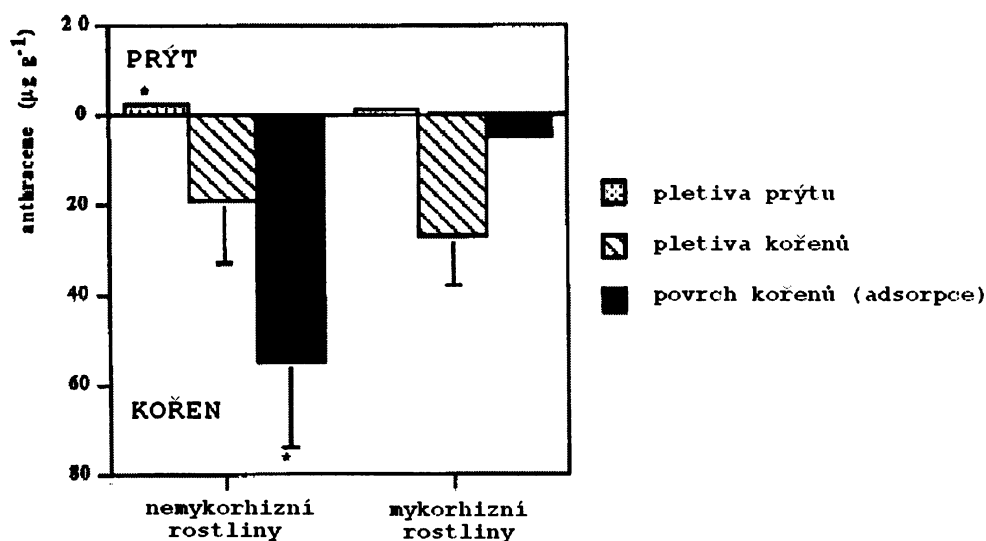
Řada studií prokázala, že symbiotické houby umožnily vznik rostlin na půdách zamořených PAH a zvýšily také degradaci těchto sloučenin. Díky mykorhize dochází k lepšímu příjmu živin a růstu rostlin a to i za vysokých koncentrací organických polutantů v půdě (Leyval & Binet, 1998; Binet et al., 2000; Joner & Leyval, 2003; Corgié et al., 2006; Cheung et al., 2008). Leyval a Binet (1998) pozorovali, že při vysoké kontaminaci PAH 5 g.kg⁻¹ přežily dokonce jen mykorhizní rostliny.

Tolerance znečištění je jedním z nejzásadnějších účinků mykorhizy, působící jako mediátor stresových podmínek. Rozdíly mezi mykorhizními a nemykorhizními rostlinami jsou patrné již na první pohled, kdy rostliny inokulované mykorhizní houbou vykazují lepší růst kořenů i nadzemních částí (Volante et al., 2005; Verdin et al., 2006). Zvýšená tolerance

polyaromatických uhlovodíků AM symbiózou může souviset s intenzivnější činností antioxidačního systému, který degraduje více reaktivní druhy kyslíku, čímž zmírňuje narušení buněčné stěny a DNA ve stresových podmínkách. To bylo pozorováno na kořenech čekanky (*Cichorium intybus*) při kolonizaci *Glomus intraradices*, kdy mykorhizní houba snižovala koncentraci reaktivních kyslíkových radikálů v kořenových buňkách. Systémy antioxidační ochrany ovšem nejsou bezedné a při dlouhodobé kontaminaci může docházet k jejich vyčerpání (Debiane et al., 2008).

Při oxidativním stresu rostlin způsobeném PAH je DNA oxidována na řadu produktů. Jeden z nich, 8-hydroxy-2'-desoxyguanosine (8-OHdG), se využívá jako marker zhodnocující oxidativní poškození DNA. Na základě hodnocení tohoto markeru se ukazuje, že arbuskulární mykorhiza je schopná chránit kořeny proti těmto oxidativním změnám. Ze studií vyplývá, že koncentrace 8-OHdG mykorhizně kolonizovaných kořenů byla významně nižší ve srovnání s nekolonizovanými (Debiane et al., 2008).

Jak již bylo řečeno v předchozí kapitole, polyaromatické uhlovodíky se mohou ukládat v rostlině. Výrazná je zejména adsorpce kontaminantů na povrch kořenů, která představuje důležitý proces přenosu hydrofobních polutantů do rostlinných pletiv (Wu et al., 2009).



Obr. 5: Koncentrace antracenu extrahovaná z kořenů a prýtu jílku (*Lolium perenne*) kultivovaných v půdách kontaminovaných antracem ($5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) (Binet et al., 2000)

Srovnáním mykorhizních a nemykorhizních rostlin zjišťujeme, že mykorhizní mají odlišné poměry v ukládání PAH, čímž přispívají k přežívání rostliny a její ochraně před kontaminací (viz obr. 5). Organické polutanty jsou méně adsorbovány na kořeny a koncentrace v pletivech nadzemní části je také výrazně nižší. Naopak, koncentrace PAH

v pletivech kořenů je vyšší než v nemykorhizních rostlinách. To může být způsobeno pozměněnými vlastnostmi mykorhizních kořenů, kdy se ukazuje, že sorpce a sekvence PAH je v důsledku mykorhizy vyšší (Binet et al., 2000; Wu et al., 2009).

Modifikace kořenů rostlin mykorhizou tedy podporuje ukládání PAH v epidermálních buňkách kořene a zabraňuje transportu do dalších částí kořene a nadzemní části rostliny. Tím účinně chrání rostlinu před kontaminací (Wu et al., 2009).

6. Interakce PAH – AM houba

6.1. Vliv PAH na rozvoj mykorhizy

Přítomnost PAH v substrátu ovlivňuje vlastní rozvoj mykorhizy a její morfologické změny. Zamoření půd polycyklickými aromatickými uhlovodíky negativně působí především na kolonizaci kořenů AM houbou. Tento vliv byl pozorován *in vitro* např. na kolonizaci kořenů čekanky (*Cichorium intibus*) AM houbou *Glomus intraradices* při kontaminaci antracemem a to dokonce i při relativně nízkých koncentracích. Nicméně, endomykorhizní houby byly stále schopné dokončit svůj životní cyklus (Verdin et al., 2006; Debiante et al., 2008). Podobně tomu bylo i v práci Gaspara et al. (2002) s *Glomus geosporum* za přítomnosti fenantrenu a dalších studiích (Volante et al., 2005). Kontaminace PAH potlačuje také tvorbu a klíčení spor mykorhizních hub (Verdin et al., 2006; Debiante et al., 2008). Je možné, že tato redukce nastává díky odpovědi rostlin na kontaminaci PAH, kdy výdejem části fotosyntátů do produkce kořenových exsudátů snižují zásoby uhlíku pro mykorhizní houby (Gaspar et al., 2002).

Ukazuje se, že vliv PAH na rozvoj mykorhizy může být různý pro různé taxony hub i rostlin, mění se také v závislosti na konkrétní skladbě polyaromatických uhlovodíků. To může být důležité v remediaci při výběru vhodných symbiotických partnerů, tedy takových, jenž by nejlépe prospívali na kontaminovaných půdách. Podle Volante et al. (2005) vykazovaly AM houby *Glomus mosseae* a *Gigaspora rosea* největší kolonizaci kořenů na substrátech s PAH, zatímco kolonizace dosažená pomocí *Gigaspora margarita* byla vždy velmi malá. Leyval a Binet (1998) zase pozorovali různou mykorhizní kolonizaci čtyř sledovaných rostlin, kdy pro jetel (*Trifolium subterraneum*) a pór (*Allium porrum*) klesla po přidání kontaminované půdy, zatímco kolonizace kukuřice (*Zea mays*) a jílku (*Lolium perene*) nebyla ovlivněna. Co se týče vlivu různých polyaromatických uhlovodíků na mykorhizní houby, průmyslově znečištěné půdy více bránily rozvoji mykorhizy než uměle kontaminované stejnou koncentrací

jednoduchých (nízkomolekulárních) PAH (antracen) (Leyval & Binet, 1998). Zde však může hrát roli také stáří půdy a biodostupnost PAH, ne jen jejich odlišné zastoupení.

6.2. Kořenové exsudáty, enzymová aktivita

V procesech zmírňujících stres na kontaminovaných půdách, přeměn organického polutantu a dalších účinků mykorhizy hrají roli především enzymy a kořenové exsudáty. Mycelia AM hub vylučují např. glykoprotein glomalin, který stabilizuje půdní agregáty a tím zlepšuje vlastnosti půdy (Gryndler et al., 2004).

Pro dekontaminaci půd je však nezbytný přímý vliv na kontaminant, tedy produkce enzymů, které interagují s polycyklickými aromatickými uhlovodíky a dokáží je přeměňovat. Transformace PAH rostlinami a mikroorganismy je katalyzovaná řadou oxidoreduktáz, jako jsou peroxidázy, lakázy, dioxygenázy a monofenol monooxygenázy (Criquet et al., 2000). Ukazuje se, že arbuskulární mykorhiza může stimulovat tvorbu nebo zvyšovat aktivitu těchto enzymů v kořenech rostlin a tím přispívat ke zvýšení disipace PAH (Criquet et al., 2000; Verdin et al., 2006; Robertson et al., 2007). Vliv symbiotické houby na exsudaci oxidoreduktáz byl prokázán díky jejich zvýšené aktivitě v rhizosféře pozorované po kolonizaci AM ve srovnání s nemykorhizními kontrolami (Joner et al., 2001; Corgié et al., 2006; Cheung et al., 2008). Na druhé straně, zatímco vylučování některých oxidativních enzymů je stimulováno, infekce AM hub může současně potlačovat aktivitu jiných (Criquet et al., 2000).

6.3. Dekontaminace stanovišť

Kromě tolerance stresu na půdách znečištěných PAH má arbuskulární mykorhiza nezanedbatelný vliv také na dekontaminaci stanovišť. Mnoho studií prokázalo významný úbytek PAH z půd v přítomnosti arbuskulární mykorhizy než při nemykorhizních kontrolách (Leyval & Binet, 1998; Joner et al., 2001; Joner & Leyval, 2001; Joner & Leyval, 2003; Volante et al., 2005; Corgié et al., 2006). Největší pokles koncentrace polyaromatických uhlovodíků byl přitom zaznamenán v rhizosféře (Wu et al., 2008).

Joner et al. (2001) pozoroval redukci chrysenu z 66% pro mykorhizní a z 56% pro nemykorhizní ošetření, u dibenzo(*a,h*)antracenu 42% pro mykorhizní a jen 20% pro nemykorhizní rostliny. Půdy byly kontaminované 500 mg.kg⁻¹ chrysenu a 50 mg.kg⁻¹

dibenzo(*a,h*)antracenu. Ve studii Cheunga et al. (2008) byla redukce PAH dosažena dokonce ze 79% a to při kontaminaci antracemem (200 mg.kg⁻¹). Z těchto výsledků vyplývá, že různé hodnoty disipace PAH závisejí především na stupni degradovatelnosti/biodostupnosti kontaminantu, tedy na počtu aromatických kruhů potažmo molekulární hmotnosti. Se vzrůstajícím počtem benzenových jader tak účinnost degradace/disipace klesá. Přestože degradace PAH bývá připisována především bakteriálním interakcím v mykorhizosféře, Verdin et al. (2006) pozoroval pozitivní vliv arbuskulární mykorhizy na disipaci antracenu bez přítomnosti dalších mikroorganismů.

Úbytek koncentrací polutantů v přítomnosti AM může nastat díky jejich částečné nebo celkové degradaci rhizosférymi bakteriemi nebo příjmem a akumulací v rostlinných pletivech či houbových strukturách (Volante et al., 2005). Zvýšení disipace kolem AM kořenů může mít dvě různá vysvětlení. Zaprvé, mykorhiza modifikuje fyziologii kořenů, ovlivňuje enzymovou aktivitu, exsudaci a dlouhověkost a tím stimuluje degradaci PAH (buď kořenovými enzymy nebo organismy rhizosféry). Zadruhé, mykorhizní kolonizace ovlivňuje vlastnosti povrchu kořenů nebo rhizosféry a působí adsorpci PAH (Joner & Leyval, 2003; Wu et al., 2009). Podle Verdina et al. (2006) však není možné posoudit, zda AM houby organické polutanty přímo rozptylují, nebo nepřímo přispívají k jejich disipaci zlepšením růstu kořenů.

Gaspar et al. (2002) pozoroval, že AM houba *Glomus geosporum* nemá enzymatickou výbavu pro rozštěpení molekuly fenantrenu, je však schopná odstranit kontaminant jeho ukládáním ve sporách, přičemž se tyto hydrofobní sloučeniny akumulují na lipidová tělíska v buňkách (Cheung et al., 2008). Ukládání PAH v rostlinných či houbových pletivech je tedy zásadní pro úbytek kontaminantů z půdy. Ačkoli rostlina sama je schopná akumulovat polyaromatické uhlovodíky, ať už absorpcí nebo adsorpcí, v případě mykorhizních ošetření jsou poměry ukládání v jednotlivých částech rostliny pozměněné (viz kapitola Interakce rostlina – mykorhizní houba). Přestože z práce Bineta et al. (2000) vyplývá, že celkový objem akumulovaných PAH je u nemykorhizních rostlin vyšší (sledováno na antracenu), ukazuje se, že mykorhizní ošetření ve výsledku opravdu přispívá k větší disipaci PAH z kontaminovaných půd (Verdin et al., 2006).

Kromě pozitivních výsledků arbuskulárně mykorhizních hub na redukcii koncentrace PAH v půdě však existuje i několik studií, které ukazují, že vliv arbuskulární mykorhizy nebyl nijak výrazný, nebo byl dokonce ještě nižší než u nemykorhizních rostlin. Corgié et al. (2006) ve svém pokusu pozoroval, že ačkoli *Glomus mosseae* podle předchozích studií zvyšoval degradaci fenantrenu, nyní nebyla ovlivněna. Dokonce spekuluje, že mykorhiza nemá na biodegradaci žádný významnější účinek, protože degradace fenantrenu dosáhla již

v nemýkorhizních ošetřeních 92%. Tyto výsledky však mohou být způsobeny designem pokusu, který byl prováděn v kompartmentovaném systému horizontálních a vertikálních trubic, kde mohlo docházet k nižším interakcím mezi AM houbami a rhizosferními bakteriemi a také ke kompetici o vodu a minerální živiny.

7. Interakce PAH – ECM houba

7.1. Saprotrofní schopnosti, enzymová aktivita

Ektomykorhizní symbióza je typická pro lesní ekosystémy s nízkou mineralizací a zadržováním živin v organických polymerech. V evoluci se tak selektovaly mykorhizní systémy s dobře rozvinutými saprotrofními schopnostmi, umožňující zisk živin z převažujících organických substrátů. Mezi ně patří nejen ektomykorhizní symbióza, ale také erikoidní mykorhizní symbióza (Read & Perez-Moreno, 2003; Gryndler et al., 2004).

Podle molekulárně genetických studií jsou některé ECM a ERM houby blíže příbuzné houbám bílé hniloby (*white rot fungi*, WRF). Tito saprotrofové vlastní lignolytickou enzymatickou výbavu, která jim umožňuje degradovat mrtvý organický materiál, především lignin, ale také řadu dalších organických látek. Díky strukturálním analogiím mezi ligninem a PAH byly WRF studovány právě pro možnost degradace organických polutantů (Meharg & Cairney, 2000; Scheel et al., 2000; Clemente et al., 2001; Gryndler et al., 2004).

Ukazuje se, že ektomykorhizní houby mohou právě díky této příbuznosti k saprotrofním taxonům vlastnit enzymy schopné degradovat lignin a především mobilizovat minerální živiny (N, P) sekvestrované v jinak nepřístupné organické hmotě (Bending & Read, 1997; Read & Perez-Moreno, 2003). Tyto degradační schopnosti mohou být využity ve fytoremediaci půd znečištěných polyaromatickými uhlovodíky, tedy sloučeninami strukturně podobnými ligninu (Braun-Lüllemann et al., 1999; Meharg & Cairney, 2000; Robertson et al., 2007).

Dále se předpokládá, že společně s mnoha saprotrofními houbami mohou některé ECM houby vlastnit multifunkční intracelulární oxidázy, které by umožňovaly vnitrobuněčnou transformaci PAH (Meharg & Cairney, 2000). Zdá se, že vyšší rychlost degradace některých PAH by mohlo být způsobeno právě intracelulární metabolizací, otázkou tedy zůstávají vztahy mezi intracelulárními a extracelulárními degradačními procesy (Braun-Lüllemann et al., 1999).

Remediace s využitím ektomykorhizních hub je sice pomalejší než pomocí WRF, biomasa ektomykorhizních mycelií v lesích je však značná a zvyšuje se tak objem dostupné půdy pro kolonizované kořeny rostlin. Houby bílé hniloby naopak zůstávají převážně na místě, kde byly vysety (Meharg & Cairney, 2000). Další výhodou ektomykorhiz v remediaci je neustálý přísun uhlíku z rostliny, zatímco WRF musí být inokulované společně se zdrojem uhlíku (Genney et al., 2004).

Přestože má použití ektomykorhizních hub v remediaci kontaminovaných půd řadu výhod oproti houbám bílé hniloby, ukazuje se, že ECM houby mají jen omezenou schopnost degradovat PAH ve srovnání s volně žijícími saprotrofními houbami. Při degradaci ECM houbou totiž dochází pouze k monoxygenaci, na rozdíl od mikrobiální degradace, která probíhá dioxygenací. Například ektomykorhizní lakovka obecná (*Laccaria laccata*) tak degraduje naftalen na 1- a 2-hydroxynaftalen nebo spolu s plesňákem zemním (*Thelephora terrestris*) metabolizuje fluoren na 9-fluorenon a 9-hydroxyfluoren. Tento proces však nevede k rozštěpení aromatických kruhů sloučenin a vzniklé metabolity se akumulují jako tzv. slepé uličky degradace (Genney et al., 2004).

7.2. Dekontaminace stanovišť

Ektomykorhizní houby produkují celou řadu hydrolytických a oxidativních enzymů, podobně jako další houby se saprotrofními schopnostmi. Patří mezi ně polyfenoloxidázy (např. lakáza, katechol oxidáza a tyrosináza) nebo endochitinázy. Díky těmto enzymům dokáží mobilizovat živiny z organických substrátů a zpřístupnit je tak hostitelským rostlinám (Bending & Read, 1997; Burke & Cairney, 2002). Otázkou je, zda se tyto schopnosti dají uplatnit také při metabolizaci polycyklických aromatických uhlovodíků.

Gramms et al. (1999) ve své studii hodnotil 58 izolátů hub odlišných ekofyziologických skupin a došel k závěru, že všechny skupiny byly schopné degradovat PAH, ať už větší či menší měrou. Zároveň potvrdil, že ektomykorhizní houby měly stejnou účinnost degradace jako houby bílé hniloby (19%). Také Braun-Lüllemann et al. (1999) pozoroval degradační schopnost některých ektomykorhizních hub srovnatelnou s výsledky experimentů s WRF. V pokusu s různými PAH (fenantren, chrysen, pyren, benzo[*a*]pyren) dosáhl vysokých degradačních hodnot. Přibližně 50% vysoce perzistentního benzo[*a*]pyrenu bylo odstraněno muchomůrkou šedivkou (*Amanita excelsa*), křemenáčem březovým (*Leccinum versipelle*), klouzkem sličným (*Suillus grevillei*), klouzkem obecným (*S. luteus*) a

klouzkem strakošem (*S. variegatus*) za čtyři týdny inkubace. Stejné množství fenantrenu bylo metabolizováno muchomůrkou červenou (*A. muscaria*), čechratkou podvinutou (*Paxillus involutus*) a klouzkem sličným (*S. grevillei*). Degradace ostatních PAH byla méně účinná. Dále pouze klouzek sličný (*S. grevillei*) byl schopen odstranit 50% pyrenu, zatímco hřib smrkový (*Boletus edulis*) a muchomůrka červená (*A. muscaria*) odstranila 35% chrysenu.

Pozitivní výsledky přinesl i Meharg a Cairney (2000) testováním účinnosti ektomykorhizních hub degradovat různé polyaromatické uhlovodíky. Jen jeden z 21 druhů ECM hub nedegradoval ani jeden PAH, ale zajímavé bylo především zjištění, že druhy s nižší účinností degradovat různé PAH preferovaly degradaci uhlovodíků se čtyřmi a pěti aromatickými kruhy více než jednodušší tříkruhové PAH.

Podle jiných studií ektomykorhizní symbióza zvyšuje degradaci především nízkomolekulárních, méně vzdorovitých polutantů, zatímco více perzistentní polyaromatické uhlovodíky jsou degradovány jen některými ECM houbami (Braun-Lüllelmann et al., 1999; Gramms et al., 1999; Joner et al., 2006).

Naproti tomu, Genney et al. (2004) poukázal na to, že žádná z testovaných ECM hub nebyla schopna mineralizovat PAH v čisté kultuře. Polyaromatické uhlovodíky byly degradovány pouze systémem mykorhizních a nemykorhizních hub, bakterií a borovice (*Pinus sylvestris*). Zdá se tedy, že mykorhizní houby jako symbiotické články mezi rostlinou a půdou nedokáží rozkládat PAH samy o sobě, ale pouze ve spolupráci s dalšími částmi degradačního systému. Také se ukazuje, že většina dosud zkoumaných ECM hub má jen omezené fenol-degradační působení, což přispívá k potvrzení této myšlenky (Genney et al., 2004; Robertson et al., 2007).

Pozitivní příspěvky ektomykorhizní symbiózy na degradaci PAH mohou být tedy dvojího typu. Zaprvé, mykorhiza má přímý vliv na kontaminant, zvyšuje aktivitu oxidativních enzymů v kořenech a půdě rhizosféry, což může vést ke zvýšené oxidaci PAH okolo mykorhizních kořenů. Zadruhé, mykorhizní symbióza ovlivňuje také mykorhizosféru, kořenovou exsudaci a tím mikrobiální společenstva asociovaná v rhizosféře mykorhizních kořenů (Meharg & Cairney, 2000; Joner & Leyval, 2003).

Existují ovšem i studie, které přínos ektomykorhizní kolonizace na kontaminovaných půdách nepotvrzují, nebo je dokonce vyvracejí díky pozorovanému negativnímu vlivu na degradaci PAH. Joner et al. (2006) hodnotil degradaci PAH v půdách uměle kontaminovaných (antracen, chrysen, dibenzo[*a,h*]antracen) a průmyslově znečištěných. Borovice lesní (*Pinus sylvestris*) byla inokulována ECM klouzkem kravským (*Suillus bovinus*) vytvářejícím hydrofobní mycelium, které snadněji komunikuje s hydrofobními

polutanty, jako jsou PAH. Výsledky ukázaly, že téměř 100% přidaného antracenu bylo degradováno v rhizosférách půdách, menší degradace probíhala v nerhizosférických půdách. U PAH s vyšší molekulární hmotností byla degradace celkově méně účinná. Překvapivě jinak tomu bylo u průmyslově znečištěných půd, kdy se degradace PAH objevila pouze a jen v nerhizosférických půdách nemykorhizních ošetření a dosahovala 10% původní koncentrace. Zdá se, že jedna z hlavních příčin rozdílné degradace uměle/průmyslově znečištěných půd je stáří půdy a tedy doba kontaktu mezi půdními částicemi a kontaminantem. Půdy uměle kontaminované mají vyšší dostupnost PAH než více stabilní polyaromatické uhlovodíky pocházející z desítek let průmyslového znečištění. Proto je důležité použití environmentálních vzorků při hodnocení bioremediačních technologií.

Absence mykorhizou poháněné degradace může být rovněž vysvětlena nedostatkem minerálních živin vyčerpaných kořeny nebo mykorhizními hyfami, který tak potlačuje mikrobiální degradaci PAH (Koide & Wu, 2003; Joner et al., 2006). Dusík totiž limituje mikrobiální aktivitu v půdě a zároveň také mikrobiální degradaci organických polutantů. Stojíme tedy na tenké hraně, kde nadměrný přírůstek živin může bránit rozvoji mykorhizy, zatímco jejich nedostatek vede ke zvýšené mykorhizní absorpci a brzdí tak degradaci polutantů díky snížené mikrobiální aktivitě (Joner et al., 2006).

Také další autoři pozorovali spíše negativní trend degradace PAH při ošetření ECM houbami. Koivula et al. (2004) zaznamenala zpomalenou degradaci pyrenu v přítomnosti borovice (*Pinus sylvestris*) a ECM čechratky podvinuté (*Paxillus involutus*), kdy pozitivní efekt obou symbiontů byl pozorován pouze při nejnižší koncentraci pyrenu ($0,07 \text{ mg.kg}^{-1}$). Stejný vliv na mineralizaci naftalenu a fluorenu ECM semenáčky borovice pozoroval také Genney et al. (2004). Ten přisuzuje výsledky konkurenci mezi půdními saprotrofy a ECM houbami. Ty se mohou ovlivňovat buď přímo kompeticí o zdroje, nebo nepřímo produkcí antimikrobiálních sloučenin.

8. Mikroorganismy mykorhizosféry

8.1. Mykorhizní systém

Mykorhizní systém, symbiotické houby kořenů rostlin a asociovaná mikrobiální společenstva, zaujímá strukturní a funkční rozhraní mezi dekompozicí a primární produkcí a jako takový je ústředním bodem syntézy. Je závislý na energii a uhlíkatých látkách zachycených rostlinou při fotosyntéze a vytváří ekologicky významný funkční celek (Gryndler et al., 2004; Robertson et al., 2007).

Asociovaná společenstva mají nejvyšší denzitu právě v okolí kořenů, ať už mykorhizně pozměněných nebo nekolonizovaných, a tato strukturalizace mikroflóry v jednotlivých prostředích půdy je důležitá pro řadu ekologických procesů.

Rhizosféra je objem půdy v bezprostřední blízkosti kořene s odlišnými vlastnostmi oproti vzdálenější půdě. Fyzikální, chemické a biologické parametry jsou modifikovány právě přítomností kořenů a především vylučováním kořenových exsudátů, poskytujících snadno dostupný uhlík. Díky tomu zde najdeme mnohonásobně více bakterií a půdních organismů (Joner & Leyval, 2003; Gryndler et al., 2004).

Jako mykorhizosféru označujeme mikrobiální společenstvo v bezprostředním okolí kořene kolonizovaného mykorhizní houbou, tedy kořene přeměněného v mykorhizu. Mykorhizosféra podporuje nejvyšší počty mikrobiálních společenstev. Je třeba podotknout, že rhizosféra a mykorhizosféra se svým složením významně liší (Heinonsalo et al., 2000; Gryndler et al., 2004)

8.2. Mikrobiální společenstva

Mykorhizní symbióza ovlivňuje půdní mikrobiální společenstvo, jeho složení a aktivitu (Meharg & Cairney, 2000; Joner et al., 2001). Primárními faktory určujícími složení asociovaných společenstev je především kvalita a kvantita přítomné uhlíkaté sloučeniny (kořenová exsudace), kompetitivní interakce mezi mykorhizními houbami a volně žijícími mikroorganismy o minerální živiny nebo také vliv sekundárních metabolitů ovlivňujících půdní prostředí (Garbaye, 1994; Robertson et al., 2007).

Mykorhizosféru obývá celá řada mikroorganismů tvořících ekologicky ucelený systém. Najdeme zde prospěšné bakterie, jako jsou bakterie stimulující růst rostlin nebo mykorhizní pomocné bakterie, antagonistické bakterie potlačující růst jiných mikroorganismů, volně žijící a symbiotické fixátory molekulárního dusíku, mykorhizní i nemykorhizní půdní houby a další skupiny (Sarand et al., 2000; Meharg & Cairney, 2000; Gryndler et al., 2004).

Za zmínku stojí dva typy prospěšných bakterií, napomáhající k asociaci a vytvoření vlastní mykorhizní symbiózy. Jedním z nich jsou bakterie stimulující růst rostlin (*plant growth promoting rhizobacteria*, PGPR), volně žijící půdní bakterie, které kolonizují kořeny a zvyšují růst rostlin. Poskytují jim živiny (N, P, S) ale také uhlík nebo růstové faktory (Sen, 2003; Gryndler et al., 2004; Robertson et al., 2007).

Další skupinou jsou pomocné mykorhizní bakterie (*mycorrhizal helper bacteria*, MHB), které kolonizují houbové hyfy a stimulují počáteční utváření mykorhiz během volně žijícího stádia mykorhizních hub. Děje se tak díky produkci vitamínů, aminokyselin, fytohormonů a hydrolytických enzymů, které mohou ovlivnit klíčení a presymbiotický růst hub. Dále také zvyšují rozvoj kořenů a snižují náchylnost k infekcím (Garbaye, 1994; Frey-Klett et al., 1997; Robertson et al., 2007).

Půdní bakteriální společenstva v rhizosféře se často organizují v tzv. biofilmy, strukturované systémy na povrchu bohatém na živiny hostitele, především tedy na kořenech, houbovém plášti a extraradikálním myceliu. Biofilmy poskytují ideální podmínky pro horizontální genový transfer mezi bakteriálními druhy a produkují např. sekundární metabolity, toxiny, antibiotika apod. Vystavení mikrobiálního filmu organickým polymerům jako jsou celulóza nebo různé proteiny pohání sekundární degradační metabolismus a umožňuje tak příjem jednoduchých sloučenin (cukrů, aminokyselin, minerálních živin), které jsou uvolněny během dekompozice (Sen, 2003).

8.3. Degradace PAH

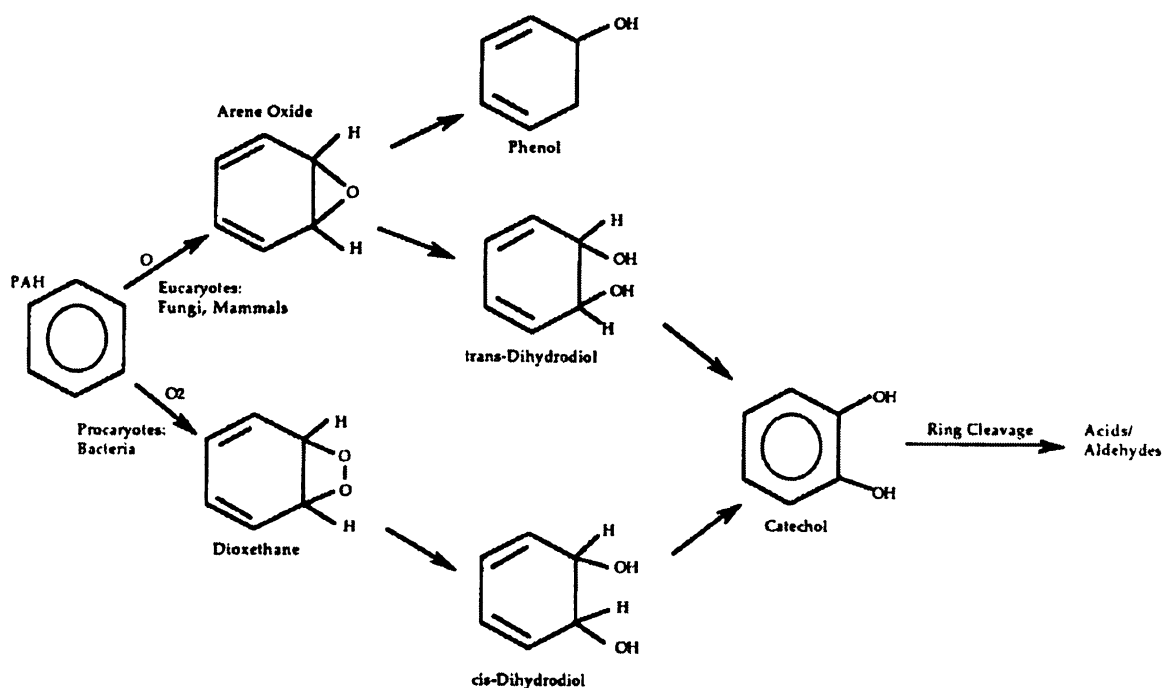
Mikrobiální společenstva jsou odpovědná za největší podíl degradace polyaromatických polutantů v půdě (Joner et al., 2001). Jsou všudypřítomně rozšířená, vlastní enzymatické systémy tvořící propojený degradační celek a díky široké škále jejich působení a plasticitě možností rozvoje se tak dokáží selektovat a přizpůsobit různým podmínkám kontaminace. Interakce mezi mykorhizními houbami a heterotrofním mikrobiálním společenstvem jsou tak důležité pro uvolňování minerálních živin z takových substrátů a jejich zpřístupnění rostlině (Robertson et al., 2007).

Primárními dekompozitory PAH jsou především bakterie, které jsou díky své metabolické všestrannosti schopné získat energii z prakticky každé organické sloučeniny a to jak za přístupu kyslíku, tak i v anoxických podmínkách (Díaz, 2004). Patří k nim rody *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Nocardia* a další (Kanaly & Haryama, 2000; Díaz, 2004).

Schopnosti degradovat PAH byly prokázány také u půdních hub (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*), především saprotrofních hub bílé hniloby a dalších lignolytických taxonů, které mají díky své enzymatické výbavě přizpůsobené na rozklad ligninu potenciál rozkládat strukturně podobné organické sloučeniny a to včetně PAH (Clemente et al., 2001).

Jednotlivé mikrobiální populace metabolizují jen zlomek dostupných chemických substrátů. Jiné populace obývající stejný habitat mohou mít komplementární degradativní enzymové schopnosti, které nakonec ústí v kompletní chemickou mineralizaci (Robertson et al., 2007).

Jak již bylo řečeno, bakterie mohou běžně degradovat organické sloučeniny za přístupu kyslíku, ale také v anoxickém prostředí (viz obr. 6). Centrální dráha aerobního metabolismu organické sloučeniny zahrnuje řadu reakcí vedoucí k vytvoření intermediátů Krebsova cyklu (Díaz, 2004). První krok v aerobním katabolismu PAH molekuly bakteriemi nastává přes oxidaci PAH multikomponentním enzymovým systémem (Kanaly & Harayama, 2000). Sloučeniny jsou substráty tzv. ring-cleavage enzymů, které vyžívají molekulární kyslík k otevření aromatických kruhů mezi dvěma hydroxylovými skupinami. Po několika následujících krocích jsou linearizované produkty začleněny do Krebsova cyklu (Díaz, 2004).



Obr. 6: Mikrobiální degradace PAH (Wilson & Jones, 1993)

Významnou roli v degradaci PAH hrají půdní lignolytické houby. Mají především peroxidázovou a lakázovou aktivitu, kdy Mn-peroxidázy a lakázy patří mezi nejdůležitější lignolytické enzymy. Ty jsou odpovědné za oxidativní štěpení aromatických jader ve struktuře ligninu. Katalyzují redukci O_2 na H_2O s použitím řady fenolických sloučenin jako donorů vodíku (Scheel et al., 2000; Clemente et al., 2001; Burke & Cairney, 2002).

Dále se ukazuje, že biodegradace některých organických polutantů může vyplývat z transformací mikrobiálními populacemi, které nejsou schopné využít substrát jako zdroj energie nebo esenciálních živin a to dokonce i v případě, kdy je přestavba oxidativní reakcí uvolňující energii. Rhizosférní mikroorganismy tak mohou tyto substráty kometabolizovat, tedy rozkládat organickou sloučeninu v přítomnosti jiné konkrétní organické látky sloužící jako zdroj energie (Meharg & Cairney, 2000; Robertson et al., 2007). Pokles koncentrace takového organického polutantu, na jehož degradaci nemají mikroorganismy vhodnou enzymatickou výbavu, může nastat také vývojem nových enzymatických schopností původní mikroflóry (Sarand et al., 2000).

9. Závěr

Využití fytořemediace k dekontaminaci půd zaznamenala jisté úspěchy a zdá se být čím dál slibnější. Zelené rostliny prospívající na disturbovaných substrátech jsou ovšem jen špičkou ledovce v remediačních snahách. V interakci rostlina – kontaminant nesmíme opomenout důležitý spojovací článek, mykorhizní symbiózu, bez které by řada rostlin nedokázala existovat.

Mykorhizní symbióza se může uplatňovat ve fytořemediaci nejen zlepšením podmínek k rozvoji vegetace na stanovištích kontaminovaných PAH, ale také zvýšením disipace nebo degradace polutantů (Joner et al., 2001; Joner & Leyval, 2003). Symbiotické houby přispívají k lepšímu příjmu živin a vody rostlinou z disturbovaných půd (Binet et al., 2000; Verdin et al., 2006), mykorhizní kolonizace účinkuje také v kvalitativních a kvantitativních změnách kořenové exsudace a tím ovlivňuje půdní mikrobiální společenstvo (Joner et al. 2001; Wu et al., 2008).

Jak se ovšem ukazuje, účinek mykorhiz na remediaci nemusí být jen kladný. Nadměrný přídavek živin může bránit rozvoji mykorhizy (obzvláště N pro ECM a P pro AM), zatímco jejich nedostatek může vést ke zvýšené mykorhizní absorpci a zpomalit degradaci polutantů. Na minerální živiny jsou totiž vázána mikrobiální společenstva odpovědná za degradaci (Joner et al., 2006). Rovnováha je tedy klíčová a může být velmi vratká, kdy malým vychýlením dospějeme k opačným výsledkům, než jaké bychom očekávali. Důležité tedy je co nejvíce porozumět vztahům, procesům a jejich mechanismům a komplexně zvážit zásah do již narušené rovnováhy přírody.

Většina studií byla prováděna v laboratorních podmínkách umělou simulací narušených stanovišť. Některé výsledky však naznačují, že nejsme s to postihnout všechny

určující faktory, a protože je mykorhiza součástí dalších ekologických vazeb, nemůžeme ji vydělovat zvlášť. Není tedy ani možné předpokládat, že výsledky laboratorních pokusů ve sterilních podmínkách budou stejné jako v těch přírodních. Ne všechny experimenty lze však provádět v terénu. Proto je důležité alespoň použití environmentálních vzorků, například pro simulaci znečištěných půd.

V zájmu dalšího výzkumu stanovišť kontaminovaných PAH a využití mykorhizní symbiózy k jejich remediaci by tedy mělo být přesnější vybalancování remediačních strategií, určení konkrétních vhodných druhů symbiotických partnerů a především hodnocení zásahů v aspektu ekologické celistvosti a propojenosti, což se ovšem zdá být nad lidské síly. V kontextu dosažených znalostí problematiky lze ovšem říci, že krůček po krůčku se k tomuto nedostižnému cíli úspěšně blížíme.

10. Seznam použité literatury

- BENDING, G. D. & READ, D.J. (1997) Lignin and soluble phenolic degradation by ectomycorrhizal and ericoid mycorrhizal fungi. *Mycological Research* 101: 1348-1354
- BINET, P., PORTAL, J.M. & LEYVAL, C. (2000) Fate of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in the rhizosphere and mycorrhizosphere of ryegrass. *Plant and Soil* 227: 207-213
- BLACKWELL, M. (2000) Terrestrial life – fungal from the start? *Science* 289: 1884-1885
- BLAKELY, J.K., NEHER, D.A. & SPONGBERG, A.L. (2002) Soil invertebrate and microbial communities, and decomposition as indicators of polycyclic aromatic hydrocarbon contamination. *Applied Soil Ecology* 21: 71-88
- BRAUN-LÜLLEMANN, A., HUTTERMANN, A. & MAJCHERCZYK, A. (1999) Screening of ectomycorrhizal fungi for degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Applied Microbiology and Biotechnology* 53: 127-132
- BURKE, R. M. & CAIRNEY, J. W. G. (2002) Laccases and other polyphenol oxidases in ecto- and ericoid mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 12: 105-116
- CAIRNEY, J. W. G. (2000) Evolution of mycorrhiza systems. *Naturwissenschaften* 87: 467-475
- CLEMENTE, A. R., ANAZAWA, T. A. & DURRANT, L. R. (2001) Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by soil fungi. *Brazilian Journal of Microbiology* 32: 255-261
- CORGIE, S. C., FONS, F., BEGUIRISTAIN, T. & LEYVAL, C. (2006) Biodegradation of phenanthrene, spatial distribution of bacterial populations and dioxygenase expression in the mycorrhizosphere of *Lolium perenne* inoculated with *Glomus mosseae*. *Mycorrhiza* 16: 207-212
- CRICQUET, S., JONER, E., LEGLIZE, P. & LEYVAL C. (2000) Anthracene and mycorrhiza affect the activity of oxidoreductases in the roots and the rhizosphere of lucerne (*Medicago sativa* L.). *Biotechnology Letters* 22: 1733-1737
- DAHLBERG, A. (2001) Community ecology of ectomycorrhizal fungi: an advancing interdisciplinary field. *New Phytologist* 150: 555-562
- DEBIANE, D., GARCON, G., VERDIN, A., FONTAINE, J., DURAND, R., GRANDMOUGIN-FERJANI, A., SHIRALI, P. & LOUNÉS-HADJ SAHRAOUI, A. (2008) *In vitro* evaluation of the oxidative stress and genotoxic potentials of anthracene on mycorrhizal chicory roots. *Environmental and Experimental Botany* 64: 120-127
- DÍAZ, E. (2004) Bacterial degradation of aromatic pollutants: a paradigm of metabolite versatility. *International Microbiology* 7: 173-180

- ERIKSSON, M., DALHAMMAR, G. & BORG-KARLSON, A.-K. (2000) Biological degradation of selected hydrocarbons in an old PAH/creosote contaminated soil from a gas work site. *Applied Microbiology and Biotechnology* 53: 619-626
- FINLAY, R. D. (2008) Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany* 59: 1115-1126
- FREY-KLETT, P., PIERRAT, J. C. & GARBAYE, J. (1997) Location and survival of mycorrhizal helper *Pseudomonas fluorescens* during establishment of ectomycorrhizal symbiosis between *Laccaria bicolor* and Douglas-fir. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 139-144
- GARBAYE, J. (1994) Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist* 128: 197-210
- GASPAR, M. L., CABELLO, M. N., CAZAU, M. C. & POLLERO R. J. (2002) Effect of phenanthrene and *Rhodotorula glutinis* on arbuscular mycorrhizal fungus colonization of maize roots. *Mycorrhiza* 12: 55-59
- GENNEY, D. R., ALEXANDER, I. J., KILLHAM, K. & MEHARG, A. A. (2004) Degradation of the polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) fluorene is retarded in a Scots pine ectomycorrhizosphere. *New Phytologist* 163: 641-649
- GRAMSS, G., KIRSCH, B., VOIGT, K.-D., GÜNTHER, T. H. & FRITSCH, W. (1999) Conversion rates of five polycyclic aromatic hydrocarbons in liquid culture in fifty-eight fungi and the concomitant production of oxidative enzymes. *Mycological Research* 103: 1009–1018
- GRYNDLER, M., BALÁŽ, M., HRŠELOVÁ, H., JANSÁ, J. & VOSÁTKA, M. (2004) Mykorhizní symbióza. Academia, Praha
- HARRISON, R. M. (2001) Pollution: Causes, Effects and Control, Fourth Edition. The Royal Society of Chemistry, UK
- HEINONSALO, J., JØRGENSEN, K. S., HAAHTELA, K. & SEN, R. (2000) Effects of *Pinus sylvestris* root growth and mycorrhizosphere development on bacterial carbon source utilization and hydrocarbon oxidation in forest and petroleum-contaminated soils. *Canadian Journal of Microbiology* 46: 451–464
- HIBBETT, D. S., GILBERT, L.-B. & DONOGHUE, M. J. (2000) Evolutionary instability of ectomycorrhizal symbioses in basidiomycetes. *Nature* 407: 506–508

- CHEUNG, K. C., ZHANG, J. Y., DENG, H. H., OU, Y. K., LEUNG, H. M., WU, S. C. & WONG, M. H. (2008) Interaction of higher plant (jute), electrofused bacteria and mycorrhiza on anthracene biodegradation. *Bioresource Technology* 99: 2148–2155
- JONER, E. J., JOHANSEN, A., LOIBNER, A. P., DELA CRUZ, M. A., SZOLAR, O. H. J., PORTAL, J.-M. & LEYVAL, C. (2001) Rhizosphere effects on microbial community structure and dissipation and toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in spiked soil. *Environmental Science & Technology* 35: 2773-2777
- JONER, E. J., LEYVAL, C. & COLPAERT, J. V. (2006) Ectomycorrhizas impede phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) both within and beyond the rhizosphere. *Environmental Pollution* 142: 34–38
- JONER, E. J. & LEYVAL, C. (2001) Influence of arbuscular mycorrhiza on clover and ryegrass grown together in a soil spiked with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mycorrhiza* 10: 155–159
- JONER, E. J. & LEYVAL, C. (2003) Rhizosphere gradients of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) dissipation in two industrial soils and the impact of arbuscular mycorrhiza. *Environmental Science & Technology* 37: 2371–2375
- KANALY, R. A. & HARAYAMA, S. (2000) Biodegradation of highmolecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. *Journal of Bacteriology* 182: 2059–2067
- KOIDE, R. T. & WU, T. (2003) Ectomycorrhizas and retarded decomposition in a *Pinus resinosa* plantation. *New Phytologist* 158: 401–407
- KOIVULA, T. T., SALKINOJA-SALONEN, M., PELTOLA, R. & ROMANTSCHUK, M. (2004) Pyrene degradation in forest humus microcosms with or without pine and its mycorrhizal fungus. *Journal of Environmental Quality* 33: 45–53
- LEYVAL, C. & BINET, P. (1998) Effect of polyaromatic hydrocarbons in soil on arbuscular mycorrhizal plants. *Journal of Environmental Quality* 27: 402–407
- LHOTSKÝ, J. (1994) Kultivace a rekultivace půd. Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, Praha
- MALACHOVÁ, K. (1993) Mutagenita a karcinogenita kontaminant životního prostředí. Spisy přírodovědecké fakulty ostravské univerzity sv. 82
- MEHARG, A. A. & CAIRNEY, J. W. G. (2000) Ectomycorrhizas - extending the capabilities of rhizosphere remediation? *Soil Biology & Biochemistry* 32: 1475–1484
- OLESZCZUK, P. (2009) Application of three methods used for the evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) bioaccessibility for sewage sludge composting. *Bioresource Technology* 100: 413–420

- READ, D. J. & PEREZ-MORENO, J. (2003) Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems – a journey towards relevance? *New Phytologist* 157: 475–492
- REZEK, J., WIESCHE, C., MACKOVA, M., ZADRAZIL, F. & MACEK, T. (2008) The effect of ryegrass (*Lolium perenne*) on decrease of PAH content in long term contaminated soil. *Chemosphere* 70: 1603–1608
- ROBERTSON, S. J., MCGILL, W. B., MASSICOTTE, H. B. & RUTHERFORD, P. M. (2007) Petroleum hydrocarbon contamination in boreal forest soils: a mycorrhizal ecosystems perspective. *Biological Reviews* 82: 213–240
- SARAND, I., HAARIO, H., JØRGENSEN, K. S. & ROMANTSCHUK, M. (2000) Effect of inoculation of a TOL plasmid containing mycorrhizosphere bacterium on development of Scots pine seedlings, their mycorrhizosphere and the microbial flora in *m*-toluate-amended soil. *Microbiology Ecology* 31: 127–141
- SEN, R. (2003) The root-microbe-soil interface: new tools for sustainable plant production. *New Phytologist* 157: 391–394
- SCHEEL, T., HÖFER, M., LUDWIG, S. & HÖLKER, U. (2000) Differential expression of manganese peroxidase and laccase in white-rot fungi in the presence of manganese or aromatic compounds. *Applied Microbiology and Biotechnology* 54: 686–691
- SICILIANO, S. D. & GERMIDA, J. J. (1998) Mechanisms of phytoremediation: biochemical and ecological interactions between plants and bacteria. *Environmental Reviews* 6: 65–79
- SMITH, K. E., SCHWAB, A. P. & BANKS M. K. (2008) Dissipation of PAHs in saturated, dredged sediments: A field trial. *Chemosphere* 72: 1614–1619
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (2006) <http://www.epa.gov/>
- VERDIN, A., LOUNÈS-HADJ SAHRAOUI, A., FONTAINE, J., GRANDMOUGIN-FERJANI, A. & DURAND, R. (2006) Effects of anthracene on development of an arbuscular mycorrhizal fungus and contribution of the symbiotic association to pollutant dissipation. *Mycorrhiza* 16: 397–405
- VOLANTE, A., LINGUA, G., CESARO, P., CRESTA, A., PUPPO, M., ARIATI, L. & BERTA, G. (2005) Influence of three species of arbuscular mycorrhizal fungi on the persistence of aromatic hydrocarbons in contaminated substrates. *Mycorrhiza* 16: 43–50
- WILCKE, W. (2000) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil - a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 163: 229–248
- WILSON, S. C. & JONES, K. C. (1993) Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *Environmental Pollution* 81: 229–249

- WU, N., ZHANG, S., HUANG, H. & CHRISTIE, P. (2008) Enhanced dissipation of phenanthrene in spiked soil by arbuscular mycorrhizal alfalfa combined with a non-ionic surfactant amendment. *Science of the Total Environment* 394: 230–236
- WU, N., HUANG, H., ZHANG, S., ZHU, Y.-G., CHRISTIE, P. & ZHANG, Y. (2009) Phenanthrene uptake by *Medicago sativa* L. under the influence of an arbuscular mycorrhizal fungus. *Environmental Pollution* 157: 1613–1618
- ZHOU, W. & ZHU, L. (2005) Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons by anionic–nonionic mixed surfactant. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 255: 145–152