

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Chemie

Chemie Životního prostředí



Rostislav Adam

Studium fyziologických změn rostlin při stresu
zinečnatými ionty

Study of physiological changes in plants under stress
by zinc ions

Diplomová práce

Školitel: RNDr et. Mgr. Petr Soudek, Ph.D.

Praha 2012

Obsah

| | | |
|-----------|---|-----------|
| I | Teoretická část | 9 |
| 1 | Těžké kovy | 9 |
| 1.1 | Zinek | 11 |
| 1.1.1 | Vlastnosti | 11 |
| 1.1.2 | Výskyt | 11 |
| 1.1.3 | Výroba | 12 |
| 1.1.4 | Použití | 12 |
| 1.1.5 | Toxicita | 13 |
| 1.1.5.1 | Toxické účinky na živočichy 13 | |
| 1.1.5.2 | Toxické účinky na rostliny 15 | |
| 2 | Dostupnost kontaminantů rostlinám | 17 |
| 2.1 | Manipulace rostlin s kontaminanty a jejich kumulace | 17 |
| 3 | Fytoremediace | 20 |
| 3.1 | Výhody a nevýhody fytoremediací | 21 |
| 3.2 | Metody fytoremediací | 21 |
| 3.2.1 | Fytofiltrace | 21 |
| 3.2.2 | Fytostabilizace | 21 |
| 3.2.3 | Fytoextrakce | 22 |
| 3.2.4 | Fytovolatilizace | 23 |
| 3.2.5 | Fytodegradace | 23 |
| 3.3 | Rhizosféra | 23 |
| 4 | Rostliny vhodné pro fytoextrakce | 25 |
| 4.1 | Hyperakumulátory | 26 |
| 4.2 | Energetické plodiny | 27 |
| 4.2.1 | Čirok | 29 |
| 4.2.2 | Sléz | 30 |
| 4.3 | Transgenní rostliny | 31 |
| II | Praktická část | 33 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 5 | Materiály a metody | 33 |
| 5.1 | Kultivace pokusných rostlin | 33 |
| 5.2 | Provedení hydroponických experimentů | 33 |
| 5.2.1 | Možnosti akumulace zinku v rostlinách čiroku <i>Sorghum bicolor</i> a slézu <i>Malva verticilata</i> | 34 |
| 5.2.2 | Srovnání schopnosti kumulovat zinek šesti kultivarů čiroku <i>Sorghum bicolor</i> | 34 |
| 5.2.3 | Stanovení vlivu chelatačních činidel EDTA a GSH na příjem zinku | 34 |
| 5.3 | Mineralizace vzorků | 34 |
| 5.4 | Stanovení obsahu kovu | 35 |
| 5.5 | Testy toxicity | 35 |
| 6 | Výsledky a diskuze | 36 |
| 6.1 | Stanovení schopnosti <i>Sorghum bicolor</i> a <i>Malva verticilata</i> akumulovat zinek | 36 |
| 6.2 | Testy toxicity | 38 |
| 6.3 | Srovnání schopnosti akumulovat Zn šesti kultivarů <i>Sorghum bicolor</i> . . | 46 |
| 6.4 | Vliv EDTA a GSH na akumulaci | 48 |
| 7 | Souhrn | 50 |
| 8 | Závěr | 51 |

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně s vyznačením všech použitých pramenů. Souhlasím se zveřejněním diplomové práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů.

V Praze dne

Rostislav Adam

Tato práce byla podporována projekty KONTAKT Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy LH 12162 a LH 11048 a projektem Ministerstva průmyslu a obchodu č. FR/TI3/778.

Děkuji svému školiteli RNDr et Mgr. Petru Soudkovi, Ph.D. za cenné rady a připomínky. Též mu děkuji za odborné vedení této práce.

Zkratky

CEC - kationtová výměnná kapacita

EDTA - kyselina ethylendiamintetraoctová

GSH - glutathion

EC₅₀ - dávka, při níž se toxický efekt projeví u poloviny jedinců daného druhu

LC₅₀ - dávka, při níž polovina jedinců daného druhu umírá

Abstrakt

Těžké kovy jsou po staletí součástí lidského života. Některé mohou být esenciální, ale u všech se při vysokých koncentracích projevuje toxický účinek, zejména jako oxidativní stres. Proto je nutné snížit jejich množství v životním prostředí. Metod existuje mnoho. Relativně novými jsou fytořemediace. Abychom ale mohli vybrat vhodné rostliny pro tento účel, musíme nejprve zjistit, jaký má na ně vyšší koncentrace kovů v půdním roztoku a kde končí tolerance rostlin na daný kov.

Zinek není výjimkou, ač je důležitou součástí mnoha enzymů. Jeho efekt na rostliny je především v blednutí až rezivění listů a redukcii nadzemní i kořenové biomasy. V hydroponickém médiu je sléz *Malva verticillata* velmi citlivý na mírné zvýšení koncentrace zinku ve formě $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, kdy se toxický efekt projevuje již při koncentraci 0,2 mmol/l již po 2 týdnech. Čirok *Sorghum bicolor* při koncentracích do 1 mmol/l výrazný efekt nevykazuje.

Byly testovány kultivary čiroku *Sorghum bicolor* DSM 14-535, Expres, Honey Graze BMR, Nutri Honey, Sucrosorgho 506 a Sweet Virginia. Dle EC_{50} je nejcitlivějším kultivarem Sucrosorgho 506, naopak velmi odolné jsou kultivary Nutri Honey a Sweet Virginia. Kultivar Nutri Honey vykazuje výrazně větší přenos zinku do nadzemní části.

Též byla testována možnost podpořit kumulaci v čiroku *Sorghum bicolor* zinku chelatačními činidly EDTA a GSH. Tato činidla nepodporují přenos zinku do nadzemní části čiroku *Sorghum bicolor*. GSH ale může zvýšit koncentraci zinku v kořenovém systému.

Abstrakt

Heavy metals are part of us life for many centuries. Some of them are for living organism necessary, but in large amount they have toxic effects. So we should decrease amount of heavy metals in the Environment. We have many way to do it. A relatively new way are the phytoremediation. If we would use the phytoremediation, we should know, what they do in plants. We must use specific plants, which are tolerant to certain heavy metal. If we would select a suitable plant, we have to try, how heavy metals in soil solution are toxic to plants.

Zinc is no exception, although it is important part of many proteins. In plants it make rusty leaves and reduct aboveground and root biomass production. In hydroponic experiment I investigated that mallow *Malva verticillata* was very sensitive to low additon of $Zn(NO_3)_2$. The toxic efect appeared in 2 weeks. In sorghum *Sorghum bicolor* zinc show expressive toxic effect at concentration 1 mmol/l.

I studied six cultivars of *Sorghum bicolor*, DSM 14-535, Expres, Honey Graze BMR, Nutri Honey, Sucrosorgho 506 and Sweet Virginia. According EC_{50} I assessed that the most sensitive was Sucrosorgho 506 and very tolerant were Nutri Honey and Sweet Virginia. Cultivar Nutri Honey was characteristic. It had the highest ratio concentration in shoot to concentration in root.

I studied take accumulation in sorghum *Sorghum bicolor* with using EDTA and GSH. This chelators had no effect to translocation zinc to shoot, but GSH could increase concentration of zinc in roots.

Část I

Teoretická část

1 Těžké kovy

Člověk se již od počátku civilizace setkával s těžkými kovy a vědomě, nebo nevědomě je využíval. I bez zásahu člověka nejsou kovy rozloženy rovnoměrně. V půdě je prvkové složení závislé na podloží. Člověk je ale schopný toto složení měnit. Znečištění těžkými kovy lze považovat za jeden z prvních antropogenních problémů životního prostředí. V současnosti se stává též jedním z hlavních problémů, zvláště kvůli zvyšování lidské aktivity díky zvyšující se populační hustotě.[1] V souvislosti s rychlým průmyslovým rozvojem, populační expanzí a nedostatečnou kontrolou tohoto typu znečištění se kontaminace těžkými kovy stává globálním problémem.[2]

Nejprve je třeba jednoznačně definovat těžké kovy. Obecně mají těžké kovy hlavní kvantové číslo rovno nejméně 4, nacházejí se ve skupinách 3-16 a mají kovové vlastnosti.[3] Někdy se k nim řadí i polokovy As a Se z čistě praktických důvodů, protože mají některé vlastnosti podobné těžkým kovům.

Prvky řazené do této skupiny mívají již při nízkých koncentracích toxický účinek, ale některé kovy jsou esenciální, takže i jejich nedostatek může vyvolat nežádoucí účinky. Typickým toxickým efektem těžkých kovů je oxidativní stres, kdy dochází k tvorbě radikálů, což může vést k poškození DNA a důsledek může být i nádorové bujení.[4] U rostlin těžké kovy zpomalují či zastavují růst a metabolické procesy rostliny,[5] vnějším efektem toho bývá blednutí listů. Některé neesenciální těžké kovy jsou schopny ve strukturách proteinů zastupovat esenciální prvky a tím proteiny deaktivovat.[6]

Rozdělení těžkých kovů vzniklo pravděpodobně dle hojnosti výskytu těchto kovů v půdě. Jestli se organismy s těmito kovy setkávali často a ve velkém množství, naučily se je využívat.[6] S esenciálními kovy se ale vždy do organismů dostává i určité množství kovů neesenciálních.

Jak se prvek projeví, ale nezávisí jen na koncentraci tohoto jednoho prvku, ale i na obsahu dalších prvků v organismu. Nutno je též vzít v úvahu konkrétní druh organismu a jeho vývojové stádium.[7]

Anorganické polutanty se v přírodě vyskytují v kůře i v atmosféře.[8] V půdě kovy přetrvávají dlouho.[4] Zvýšená koncentrace těžkých kovů v půdě může zvýšit jejich příjem organismem.[5] Na půdách s přirozeně vyšší koncentrací těžkých kovů se vyvinulo velké množství vůči nim tolerantních organismů.[9]

Z ekologického a toxikologického hlediska je důležitá dostupná frakce těžkého kovu.[10] Lehce mobilní prvky v půdě, jako jsou Zn a Cd, se vyskytují převážně v rozpustné či

výměnné formě.[4] Rozpustnost kovu je kontrolována půdními reakcemi a množstvím a typem sorpčních míst. Rozpustná forma je potenciálně biodostupná, loužitelná nebo sorbována na pevné částice. Čím menší jsou tyto částice, tím více kovu je na nich navázaného.[1]

Nyní člověk ovlivňuje distribuci kovů těžbou a tavením rud, průmyslovou výrobou, zemědělskou činností, zejména užíváním agrochemikálií, vojenskými akcemi, spalováním fosilních paliv v dopravě nebo při výrobě energie, užíváním kalů z čističek odpadních vod a skládkováním.[4, 7, 8, 1] Doprava je nezanedbatelným zdrojem znečištění vod a půd těžkými kovy. Význam mají zejména opotřebování povrchu vozovky a otěry brzd a pneumatik.[1] Otěr pneumatik je významným zdrojem zinku.[4, 11]. Z maziv se uvolňuje Cd, Cu a Zn, z brzd Cd, Cu, Ni a další kovy. Výfukové plyny byly také významným zdrojem znečištění olovem.[4]

Do půdy se těžké kovy dostávají krom přímého vstupu též skrz atmosferické depozice.[1] Proto také spalování komunálních odpadů může v životním prostředí způsobit velké problémy. Snaha o snížení emisí těžkých kovů do životního prostředí je relativně nová. Původní záminkou byla snaha zvýšit efektivitu využití vytěžených těžkých kovů. Zejména se zinkem byl ale díky jeho vlastnostem problém.[12] I přes snahy o snížení emisí v posledních desetiletích se do prostředí uvolnilo 1 350 000 metrických tun zinku, 939 000 tun mědi, 783 000 tun olova a 22 000 tun kadmia. Americká organizace EPA v Severní Americe uváděla v roce 1986, že z tisíce kontaminovaných lokalit je 40% kontaminováno těžkými kovy pocházejícími z průmyslových aktivit.[13] Na kontaminovaných místech bývá jen zřídka pouze jeden kov. Dle EPA 70% míst bylo kontaminováno alespoň dvěma kovy.[13] V mnoha případech je kontaminant rozptýlen po povrchu.[10]

Znečištění těžkými kovy může být opravdu vážný problém, zejména v zemědělství.[14] Kupříkladu na Taiwanu je 70% půd kontaminováno těžkými kovy, které se tam dostaly díky zavlažování odpadní vodou. Přitom tato plocha je potřebná pro produkci potravin. Asi 200 ha určených pro produkci rýže je tam kontaminováno Cd, Cu, Cr, Ni nebo Zn.[15] Ve Španělsku mají podobný problém, který ale vznikl díky neuváženému a nekritickému používání anorganických hnojiv a pesticidů. Proto se tam na mnoho půdách využívaných k zemědělství vyskytují těžké kovy. To má ale za následek snížení jejich úrodnosti a snížení kvality rostlinných částí určených k jídlu. Pokud rostliny na takových půdách přežijí, může dojít k následná kontaminaci potravního řetězce. Z těchto důvodů se zvýšil zájem o fytoremediace a využívání vhodných rostlin k odstranění neuváženě zavedených kontaminantů.[16]

Nejtoxičtějšími prvky pro rostliny jsou Hg, Cu, Ni, Pb, Co, Cd.[17]

1.1 Zinek

1.1.1 Vlastnosti

Zinek je měkký kov.[18] Má protonové číslo 30, atomový poloměr kovu je kolem 135 pm a elektronegativita počítána dle Paulinga je 1,65. V přírodě se vyskytuje pouze 5 izotopů, o nukleonových číslech 64, 66, 67, 68 a 70, všechny jsou stabilní. Krystalizuje v šesterečné soustavě. Má diamagnetické vlastnosti.[19] Je bez zápachu.[18] Taje při 419,53°C a vaří se okolo 907°C[19], což způsobovalo při výrobě slitin značné problémy, protože Cu taje až při 1080°C a docházelo tak ke ztrátám zinku a jeho úniku do prostředí.[12] Teplota samovznícení je 460°C.[18]

Samotný kov se ve vodě nerozpouští, ale jeho šedý prach s vodou ochotně reaguje. Též reaguje velmi prudce s oxidačními činidly, se sírou a halogenovanými uhlovodíky. S bázemi vytváří hořlavý vodík.[18] Obvykle se objevuje pouze v oxidačním čísle +2, díky čemuž se neúčastní oxidačně redukčních reakcí.[19, 20]

Zinek je esenciální prvek. Obvykle je koordinován 4 nebo 5 ligandy, ač by mohl být vázán i šesti ligandy. Je to způsobeno tím, že konstanty stability komplexů zinku se 4, 5 a 6 ligandy jsou podobné. Chová se jako Lewisova kyselina, což má důležitý význam při katalytických reakcích.[20]

1.1.2 Výskyt

Zinek se vyskytuje v živé i neživé přírodě ve všech skupenstvích. Je přirozenou součástí zemské kůry. Jeho průměrný obsah v zemské kůře je 70 mg/kg. Celkově ale jen něco kolem 8% zinku se vyskytuje na zemském povrchu.[19] Z přechodných prvků je 2. nejběžnější.[20] Celosvětové zásoby zinku jsou asi 1,9 miliard tun.[21] Nejrozšířenější je v tropickém, případně i mírném pásu.[22]

Často se vyskytuje i s dalšími kovy, zejména s Pb, Cu, Ag, Fe, Mn a Cd.[21] Důležitým minerálem je sfalerit, který je sopečného původu, a vyskytuje se s dalšími sulfidy jako pyrit, chalkopyrit a galenit.[19, 21] Též se zinek vyskytuje ve vápenci a dolomitu, přibližně 5-10%. Nezanedbatelným zdrojem zinku jsou usazené horniny jako pískovec a břidlice. Krom sfaleritu jeho významnými minerály jsou marmatit, kalamín a hemimorfit. Výjimečně lze také najít krystalickou formu ZnO, franklinit a zincit.[19]

V proteinech může mít jak funkční, tak stabilizační funkci, obvykle má obě. Vyskytuje se v 1000 proteinových doménách.[23] Asi 200 enzymů jej má v aktivním centru a zinek tam má nezastupitelné místo. V organismech je obvykle vázán na cystein, karboxylovými zbytky aminokyselin nebo přes histidin.[20] V transkarbamyláze spojuje 12 polypeptidů vazbou na cystein a stabilizuje tím její kvartérní strukturu. U superoxid-dismutázy zvyšuje její teplotní stabilitu.[23] Uplatňuje se ve všech třídách enzymů. Může též vázat vodu nebo oxid uhličitý.[20] Na buněčné úrovni zinek ovlivňuje růst,

diferenciaci a apoptózu buněk.[23]

Pro jeho transport jsou využívány proteiny makroglobulin, transferrin a albumin. Je ukládán pomocí thioneinu.[20] Koncentrace zinku závisí nutně na stáří rostliny.[22] Člověk o hmotnosti 70 kg obvykle obsahuje 2-3 g zinku. Biologický poločas zinku je 280 dní. Běžně se u člověka vyloučí 2-3 mg denně. Doporučená denní dávka orálně je u mužů kolem 10 mg, u žen jen kolem 7 mg. Ve vegetariánské stravě je méně dostupného zinku než v mase.[23]

1.1.3 Výroba

Než je možné začít s výrobou zinku, musí se ruda nadrtit a oddělit od jiných minerálů. Následně se zinek oprostí od síry při teplotě vyšší než 900°C.[19] Samotnou výrobu lze provést dvěma způsoby, tavením s následnou destilací, prakticky původní postup výroby, nebo elektrolyticky.[21] Výroba destilací je velmi energeticky náročná a používá se prakticky jen v Číně, Indii, Japonsku a Polsku. Elektrolyzou je vyráběno asi 90% kovového zinku. Pro elektrolyzu se používá Pb anoda a Al katoda, systém je pod napětím 3,3-3,5 V.[19]

1.1.4 Použití

Zinek provází člověka minimálně 5000 let.[21] Zprvu se užíval pro výrobu mosazi, bronzu[18, 21] a také v medicíně. Na Rhodosu se užíval jako součást šperků, dokonce se používal i k výrobě mincí, zejména v Číně.[21] Barva mosazi částečně způsobila, že mnoho alchymistů věřilo v umělou výrobu zlata. Peršané užívaly bílou skalici k léčbě zánětů očí. I dnes je síran zinečnatý užíván v medicíně,[21] lze jej užít jako projímadlo. Sloučeniny zinku pomáhají rozpouštět mnoho léčiv.[18] Zinek také může posloužit k léčbě některých nemocí jako je zápal plic, nebo Wilsonův syndrom. Pravděpodobně také pomáhá při malárii a možná může pomoci i při cukrovce.[23] V medicíně se používá i bromid zinečnatý, ale jen ve velmi omezené míře.[18]

Zinek se též používá k ochraně jiných kovů před korozi a do elektrických aparatur. Ke galvanizaci železa se užívá chlorid zinečnatý.[18] Od roku 1805 se zinek používá pro výrobu plechů, které se využívají k pokrývání střech a ve stavebnictví vůbec.[21] Další možností využití je v chemické extrakci a redukci. Bromid zinečnatý se též používá pro výrobu fotografií. Chlorid zinečnatý se také užívá k ochraně dřeva, do suchých baterií, jako tavidlo, při organické syntéze, v lepidlech, v kosmetickém průmyslu, při preparaci zvířat a byl též užíván v balzamovacím roztoku. Krom toho je hlavní složkou dýmovic. Oxid zinečnatý se zase užívá jako bílý pigment, při kopírování fotografií, v malbě, keramice, na laky, jako výplň plastů, do kalamínové mléka,[18] v chemickém průmyslu a v kosmetice.[18, 21] Slitiny s hliníkem se používají zejména v domácích

spotřebičích a letadlech. Krom toho se zinek užívá při výrobě pryží a je též složkou pneumatik.[12]

V roce 1912 se 2/3 vyráběného Zn používaly ke galvanizaci železa,[12] dnes se na ochranu proti korozi používá asi 55% produkovaného zinku, 29% pak pro produkci slitin, zejména s mědí a hliníkem,[21] 6% se využívá na různé výrobky ze zinkového plechu.[19]

1.1.5 Toxicita

Předpokládá se, že zinek a kadmium jsou takřka neoddělitelné, protože jsou si velmi podobné a tím se vysvětlují toxické účinky zinku.[5]

1.1.5.1 Toxické účinky na živočichy

Expozice kovovým zinkem nemá výrazné akutní ani chronické účinky.[18] Účinek zinku zmírňuje vápník.[23] Prach zinku dráždí oči. Dlouhodobější kontakt s prachem a s parami zinku může přivodit dermatitidu. Požití velkého množství zinku může přivodit chudokrevnost, poškození slinivky břišní a nedostatek HDL cholesterolu.[18] Toto bylo pozorováno u krys. Zároveň bylo zjištěno, že se celková koncentrace sérového cholesterolu nemění. Zinek také může zvýšit koncentraci dalších sérových lipoproteinů.[24]

Zinek není mutagen, ani karcinogen, při embryogenezi ale může působit teratogenně až letálně.[23] U krys může působit letálně. Při dávce 12 g kovového zinku byla u 16-letého chlapce pozorována po 2 dnech letargie. Při této dávce též byly pozorovány závratě ze světla, lehce kolísavá chůze a odlišnosti v psaném projevu. Taktéž byly zaznamenány bolesti hlavy. Chelatační terapie ale tyto příznaky eliminuje.[24]

Metabolismus Zn je svázán s metabolismem mědi. Již 53 mg orálně narušuje metabolismus mědi. Obvyklým účinkem je snížení obsahu mědi v těle, a tím i aktivity enzymů vyžadujících měď.[23] U Wilsonova syndromu se tohoto efektu využívá k léčbě, ale obvykle spíše tento efekt využití zinku jako léku komplikuje.[23] Zvýšený obsah zinku rovněž může vést ke snížení aktivity SOD na bázi zinku a mědi v erythrocytech a ke zvýšené exkreci mědi.[24] Byly zaznamenány též změny v imunitní odpovědi.[23, 24] Též byl pozorován snížený obsah ferritinu v erythrocytech.[24] Vyšší příjem zinku nepředstavuje pro lidské zdraví velké riziko.[11] Letální účinek se u člověka vyskytuje zcela výjimečně.[23] Toxický efekt projevuje až při deseti- až patnáctinásobku doporučené denní dávky,[15] proto lze zinek považovat pro člověka za relativně neškodný.

Vzhledem k podobnosti Cd a Zn může intoxikace Zn vést k akutnímu poškození gastrointestinálních a dýchacích cest, srdce, mozku a ledvin.[5] Muži, kteří požívají denně 100 mg Zn mají, mají 2,9× větší pravděpodobnost onemocnět rakovinou prostaty.[23]

Zinek sice není toxický pro člověka, ale to neznamená, že by nebyl toxický pro ostatní živočichy. Pro ryby je zinek toxický v řádu 10^{-3} až 10^{-6} g/l. Toxicitu snižuje přítomnost

vápenatých, hořečnatých a sodných kationtů. Rozhodující vliv na toxicitu má také pH. Záleží rovněž na vývojovém stádiu. Plující potěr je citlivější než stojící.[25] U krysy byly stanoveny dávky LD₅₀ na 237-623 mg/kg orálně, 28-73 mg/kg intraperitoneálně a 2 g/m³ inhalačně.[23]

Problémem je ale též nedostatek zinku. Prvotními projevy jsou ztráta chuti a čichu a adaptace na tmu.[23] Nedostatek zinku též poškozuje imunitní systém, zpomaluje hojení ran a působí poškození kůže.[18, 23] Dlouhodobý nedostatek zinku snižuje fungování Leydigových buněk. Rovněž snižuje produkci androgenu, čímž dochází k zastavení produkce spermatu.[26]

Nedostatek zinku bývá spojen s určitými nemocemi, zejména s narušením funkcí střev, hemolytickými anémiemi, cirhózou jater a alkoholismem. U dospívajících může díky nedostatku zinku dojít ke zpomalenému vývoji a zhoršenému růstu. Vlasy mohou měnit barvu z černé na červenohnědou. Nedostatek zinku se též projevuje v poruchách vedení nervových vzruchů, což je příčinou ataxie a dezorientace. Též dochází ke zpomalenému vývoji genitálií, hypogonadismu a problémům v těhotenství. Nedostatek zinku také zvyšuje pravděpodobnost úmrtí po průjmu a zápalu plic. Vlivem nedostatku zinku je potlačována buněčná imunita a může dojít ke zvýšení pravděpodobnosti vzniku některých nádorů, zejména trávicí soustavy.[23]

Ač zinek sám je toxický jen velmi málo, některé jeho sloučeniny mohou být velmi toxické. Dávka 1-2 g síranu zinečnatého vede k nevolnostem, zvracení, bolestem v podbřišku, křečím v břiše a často též ke krvavému průjmu.[24]

Oxid zinečnatý krátkodobě dráždí dýchací soustavu. 52 mg/m³ vyvolává horečku slévačů, vyznačující se podrážděním nosu, úst, hrtanu, mrazení, svalovými bolestmi, únavou, kovovou sladkostí a chutí, rozmazaným viděním, zvracením, nevolnostmi, zemdleností, neklidem, svíráním v hrudi, dušností, šelesty, snížením plicní funkce, bolestmi hlavy, žaludku, zad a kloubů, bronchitidou, žízní, zápalem plic, modravým odstínem kůže a tlakem na hrudi.[18] Tento účinek byl v roce 1912 pokládán za horší, než účinky kouření tabáku.[12] Prach oxidu zinečnatého může podráždit kůži. Při požití oxidu zinečnatého se dostaví bolesti břicha, vodnatý průjem a křeče. Při dlouhodobé expozici dochází k dermatitidě, astma, vředům na kůži a negativní účinek se projevuje též na játrech.[18]

Chlorid zinečnatý žírá dýchací soustavu a při vyšších koncentracích může způsobit otok plic. Už při inhalaci může způsobit smrt. Typickými efekty jsou ale kašel, chrchel, dušnost, bolest na hrudi, bronchopneumonie, plicní fibróza, horečka, kyanóza a tachypnoe. K tomu stačí 52 mg/m³. Krom toho žírá kůži, ať prach, nebo roztok. Palí poškozenou kůži. Dráždí a pálí v očích, což může vést až k otoku. Dráždí ústa, trávicí trakt. Též vyvolává bolesti žaludku, nevolnost, zvracení, krvavý průjem, otok hrdla, krev v moči a šok. Při dlouhodobém kontaktu s kůží způsobuje dermatitidu, vředy na

kůži a popáleniny kůže. Může poškodit plíce. U zvířat je možný teratogen.[18]

Bromid zinečnatý dráždí a pálí kůži a oči. Dráždí ústa, hrdlo a trávicí trakt. Při velké dávce navozuje zvracení, bolesti žaludku, průjem, šok a kolaps. Může podráždit i ledviny. Opakovaná expozice může vést k otravě brómem. Tato sloučenina též způsobuje změny v osobnosti projevující se zejména depresemi, nechutenstvím a zmateností. Při dlouhodobé expozici rovněž může způsobit vyrážku, podráždění plic a bronchytidu.[18]

Nejtoxiktějším je fosfid zinečnatý. Ten se používal k hubení myší a krys. Krátkodobě dráždí dýchací ústrojí, oči a kůži. Tlumí centrální nervovou soustavu. Také způsobuje průjem, nevolnost, zvracení, bolesti břicha, tlak na hrudi, modráni kůže, zrychlení tepu, včetně změny pulsu a poklesu krevního tlaku, překyselení žaludku, horečku, dušnost, intenzivní žízeň, koliku, šok, paralýzu a kóma. Při požití může uzavřít jícen. Též může přivodit otok plic. Již 5-50 mg/kg orálně (u žen až 80 mg/kg) může zabít. Sekundárně rovněž způsobuje periferní vaskulární kolaps. Napadá ledviny, játra a srdce a dlouhodobě je poškozují. Opakovaná expozice vede k chudokrevnosti, bronchytidě, poruchám gastrointestinálního traktu, řeči, motoriky a vidění.[18]

Biomarkerem u zvířat je obsah zinku v krevní plasmě, taktéž obsah bílých a červených krvinek v plasmě.[23]

1.1.5.2 Toxické účinky na rostliny

Toleranční práh zinku je 200 mg/kg.[11] Poté zinek snižuje produkci kořenové biomasy.[13] Při vysokých koncentracích redukuje obsah biomasy v sušině.[11] Při velmi vysoké koncentraci se dochází k úbytku sušiny. Tento efekt je ale slabší než u mědi. V případě, že zinek a měď působí společně, jejich toxický efekt je synergický. U *Brassica napus* inhibuje 6,5 mg/l růst postraních kořenů, což se projevuje zejména na jejich menším průměru. U zinku se projevuje při vysokých koncentracích blednutí listů, u *Brassica rapa* a *Brassica napus* zprvu jen u mladých listů. Pokud ale působí společně zinek a měď, u *Brassica rapa* a *Brassica napus* dochází nejprve k blednutí starších listů.[13] Vysoké koncentrace zinku u rostlin, které na tyto koncentrace nejsou zvyklé, se sráží fosforečnan zinečnatý, čímž dochází k poklesu využitelného fosforu, což má vliv na růst rostliny.[27]

Obvykle koncentrace 1 mmol/l způsobuje lehké blednutí listů, ale bez vlivu na hmotnost kořenů a nadzemních částí.[28] *Brassica juncea* rostoucí v médiu s 100 mg Zn/kg vykazuje blednutí listů Pro mnoho rostlin, které nepatří do rodiny Brassicaceae je minimální toxická koncentrace 0,65-2,0 mg Zn/l.[13] Stupeň toxického účinku závisí na koncentraci zinku v listech a též na formě, v níž je akumulován.[8]

Zinek ovlivňuje příjem dalších minerálních látek rostlinami a rovněž aktivitu rostlinných enzymů.[29] U rostlin rodu *Brassica* snižuje zinek kumulaci železa a manganu.[13, 27] Vyšší koncentrace zinku též snižují v rostlinách koncentraci draslíku.[27] Zinek zvy-

šuje kumulaci kadmia a olova.[15, 2] Koncentrace v zinku v rostlinách je též spjata s koncentrací mědi.[4] Blednutí listů v přítomnosti zinku může být způsobeno právě narušeným metabolismem železa a manganu.[13] Zinek má též vliv na obsah nukleových kyselin v buňkách, tvoří totiž s fosfáty v jejich řetězcích komplexy. Při mitóze může zinek ovlivnit pořadí fází dělení, nebo reagovat s dělicím vřetenem.[29]

Homeostáza zinku v rostlinách velmi souvisí s metabolismem dusíku. Nedostatek zinku zpomaluje vývoj kořenového systému, což má negativní vliv na absorpci vody a s ní spojených nutrientů. Díky tomu dochází k výraznému snížení plodnosti.[22] Proto je zinek pro růst rýže limitujícím faktorem.[30] Snížená dostupnost zinku byla pozorována u 50% půd využívaných pro cereální rostliny.[22]

2 Dostupnost kontaminantů rostlinám

Poměr biodostupné a nedostupné formy je vždy v rovnováze.[10] Dostupnost polutantu závisí na jeho chemických vlastnostech, vlastnostech půdy a aktivitě mikroorganismů. Biodostupnost, a tím i mobilita, je nepřímo úměrná CEC.[8, 14, 10] Při nízkém pH se zvyšuje biodostupnost kationtů. Dostupnost iontů je též ovlivněna redoxními podmínkami. Běžné terestrální půdy mají oxidační podmínky, naopak ve vodním prostředí bývají podmínky redukční. Koncentrace organické hmoty je přímo úměrná CEC. Důležitými vlastnostmi ovlivňující dostupnost jsou hydrofilita a těkavost. Oxidační stav má též vliv na jeho biodostupnost a toxicitu. Z fyzikálních faktorů půdy jsou důležité vlhkost a teplota. Za teplejších podmínek probíhají reakce rychleji. Za větší vlhkosti jsou sloučeniny rozpustnější. Ve starých zátěžích mají polutanty tendenci stávat se méně dostupnými [8, 10] Také je nutno uvažovat podnebí, složení půdy a srážky.[10] Záleží též na typu půdy.[17] Huminové látky o nízké mobilitě snižují mobilitu některých prvků. Zinek, kadmium a olovo se ale víc váží na fulvokyseliny, než na huminové kyseliny. Sorbenty snižují dostupnost nebezpečných prvků.[31] Ve fluvizemích jsou kovy kovy dostupnější než v kambizemích. V obou těchto typech půd jsou kovy dostupnější než v černozemích.[32]

Přidáváním chelátů do půdy dochází ke zvyšování rozpustnosti těžkých kovů a tedy i jejich vyšší dostupnosti. Čím větší množství chelátů, tím menší je jeho selektivita k určitému kovu. Cheláty samy mohou být toxické pro rostliny, nebo organismy s nimi spojené. Bylo to ověřeno jak v květináčovém, tak polním provedení. Dalším problémem je možná kontaminace podzemní vody,[33] ať už kovem, nebo chelátem. EDTA přidaná do půdy s velkou koncentrací Zn sice závratně zvyšuje koncentraci jeho rozpustné formy, až 450×, ale zároveň dochází k nadměrnému loužení.[5] Množství vylouženého kovu je ale výrazně víc, než kolik je přijato rostlinami, u zinku asi 200×.[33] Ke všemu EDTA spíše kumulaci Zn v rostlinách spíše snižuje.[34] Pro zvýšení kumulace zinku je lépe než organická činidla použít činidla na bázi síry.[33] Množství vylouženého kovu též závisí na půdních vlastnostech.

Mobilizace kovu organickými a anorganickými činidly probíhá odlišně. U organických činidel dochází k povrchové komplexaci okyselením, kationtovou výměnou, nebo rozpouštěním hydroxidů a oxidů. U anorganických činidel dochází pouze k desorpci.[5]

2.1 Manipulace rostlin s kontaminanty a jejich kumulace

Přenos kovu do rostliny závisí na celkovém dostupném množství kovu, podílu jeho iontové formy a na distribuci kovu mezi pevnou a kapalnou fází[5] a přítomnosti dalších prvků. Protože anorganické polutanty nemohou být zcela rozloženy a rostliny nemohou opustit lokalitu, vyvinuly si rostliny systém, jak těžké kovy stabilizovat v tkáních. Při

této obraně se uplatňují cysteinem obohacené metalothioneiny, glutathion(γ -Glu-Cys-Gly), homoglutathion(γ -Glu-Cys- β -Ala) a speciální proteiny fytochelatiny.[6] Metalothioneiny, fytochelatiny a nikotinamin zvyšují toleranci ke stresu těžkými kovy, zvyšují mobilitu těžkých kovů a snižují jejich cytotoxicitu v organismu.

Organické polutanty jsou obvykle umělého původu a často lipofilního charakteru, proto nemají transportní mechanismy a do rostlin se dostávají přes lipidové struktury. Anorganické látky využívají membránové transportéry esenciálních kovů[8, 35], nejprve do apoplastických kořenových vlásků a následně do symplastu.[10] Aktivní transport chybí pouze u olova.[36]

Obvykle rostliny kov přijmou kořeny, převedou je do rozpustnější formy a uloží do místa, kde mohou kovy napáchat nejméně škody na metabolismu rostliny,[7, 8] tedy do specializovaných tkání, organel, trichomů nebo buněčných stěn.[6, 7, 8] Případně je ještě předtím transportují do nadzemní části. Rozdíly v toleranci rostlin se odvíjí od efektivnosti těchto procesů. Kontrola buněčné homeostáze je výsledkem křehké souhry genů, enzymů a metabolitů.[10]

Transportní mechanismy esenciálních kovů jsou běžné.[9] Pokud je afinita transportéru k polutantu velká, dojde k toku kovů proti elektrochemickému gradientu.[37] Rostliny běžně kumulují Fe, Mn, Zn, Cu, Mo a Ni, některé jsou schopné též kumulovat Cd, Cr, Pb, Co, Ag a Hg.[7]

Metalothioneiny jsou proteiny obohacené cysteinem s vysokou afinitou ke kationtům.[6] U zvířat a hub mají hlavní roli v detoxifikaci těžkých kovů. Jsou kódovány v DNA. Fytochelatiny jsou naopak syntetizovány enzymaticky z glutathionu, přičemž jde o polypeptid složený z 2-5 \times opakované dvojice γ -Glu-Cys a koncové aminokyseliny Gly.[7] Existují pouze v rostlinách, ale ve všech jejich částech.[35] V rostlinách pro dekontaminaci těžkých kovů jsou nejdůležitější fytochelatiny.

Siderofory zvyšují příjem železa a pravděpodobně i dalších kovů. Jsou syntetizovány z nikotinaminu(ze tří aminokyselin methionin). Organické kyseliny, jako citrát, malát a histidin, hrají také roli v ukládání a toleranci těžkých kovů.[8]

Pouhá přítomnost ligandů nezaručuje, že se kov bude kumulovat víc v nadzemních částech, záleží též na lokalizaci kovu, chemickém složení okolí, počtu transportérů kovu do buněk a do vakuol dané rostliny. Navíc některé ligandy se podílejí na translokaci, některé na akumulaci, jiné při ukládání kovu do cílového místa.[10] V cílovém místě může být kov uložen v několika formách.[10, 38]

Translokace z kořenů do nadzemních částí vyžaduje přechod z kořenového symplastu do xylémového apoplastu. Je otázkou, které chelatační látky transportují anorganické látky xylémem. Translokace je poháněna transpirací, která závisí na vlastnostech rostliny, anatomických odlišnostech a metabolismu(C3, C4, CAM) a podmínkách prostředí. Transpirace je maximální za vyšších teplot, mírného větru, při relativně nízké humiditě

vzduchu a dostatku světla.[8]

V translokaci hraje také velkou roli membránový transportní systém. Je známo mnoho genových rodin, kódujících přenašeče těžkých kovů.[6] Přenašeče jsou specifické pro každý kov, nebo několik podobných kovů. Některé jsou přímo klíčové pro kumulaci kovů.[6, 10] Pro zinek jsou takovými transportéry proteiny z rodiny ZIP. Další transportéry zinku jsou IRTy, HMA4, TcZnZ1, NAS, TcNAS4.[10] Na změnu koncentrace kovů tak rostliny mohou reagovat změnami v genové expresi membránových transportérů.[7]

3 Fytoremediace

Existuje mnoho metod, jak ošetřit půdu, aby mohla i nadále plnit své přirozené funkce. Některé jsou založené na fyzikálních principech, jako odtěžení půdy, její izolace či překrytí, separace kontaminantů, spalování, tavení, vitifikace či elektrokinetické metody. Jiné fungují na chemickém principu, jako extrakce, imobilizace či chemická degradace. Tyto metody jsou dnes běžné. Relativně nové metody využívají živých organismů, jako jsou bioremediace (využití pouze mikroorganismů), fytoremediace, zooremediace, či ekoremediace. V případě potřeby je možné tyto techniky kombinovat.[8]

Běžné metody remediace jsou ale vhodné na malých, velmi kontaminovaných lokalitách, protože vyžadují obrovské množství energie a drahou mechanizaci.[5] Navíc výrazně naručují vlastnosti ošetřované půdy, jako jsou struktura a úrodnost,[39] snižují rozmanitost druhů na daném stanovišti a vždy existuje riziko, že zpracovaná půda přestane být vhodným médiem pro růst rostlin.[4] Vždy též dochází k zničení biologické aktivity v půdě.[36]

Pro difuzně kontaminovaná místa jsou vhodnější nové metody remediací. Bioremediace jsou vhodné pouze pro organické polutanty. Zooremediace v sobě skrývají možný etický problém a jejich použití v reálných podmínkách je omezené. Ekoremediace jsou rovněž vhodné pouze pro organické polutanty.

Fytos řecky znamená rostlina, *remedium* znamená latinsky čistit nebo opravit.[4] Fytoremediace využívají fyziologických a agronomických vlastností rostlin, jako je tvorba biomasy, bohatý kořenový systém a odolnost vůči stresu.[10] Fytoremediace jsou založeny na možnostech rostlin, a s nimi spjatých mikroorganismů, nakládat s kontaminanty.[35] Nápad užívat rostliny k remediaci prostředí je starý. Vážně se ale o tom uvažuje teprve od počátku 80. let 20. století[4], přičemž nejvíc je připisováno pracem Chaneye.[40]

Přestože výzkum fytoremediací probíhá již 30 let, zatím jsou prováděny především v laboratorním měřítku. Většina pokusů je prováděna v hydroponické kultuře v květináčích.[13, 33] Tyto informace nelze jednoduše užít v reálných podmínkách kontaminované půdy, protože v hydroponické kultuře je polutant 100% dostupný,[13] což má za následek asi 5× vyšší koncentrace v rostlinách než za normálních podmínek.[5] Taktéž se obvykle nebere ohled na kontaminaci několika kontaminanty zároveň.

Rostliny odstraňují sloučeniny z půdy přímým příjmem a následnou transformací nebo kumulací ve formě pro rostlinu netoxické, což ale neznamená, že tyto látky nemohou být toxické pro jiné organismy.[35] Fytoremediace odstraňují polutanty efektivně, ale jejich mechanismy nejsou mnohdy zcela známé.[8]

3.1 Výhody a nevýhody fytořemediací

Fytořemediovány mohou být jak anorganické sloučeniny, včetně fosfátů nitrátů a radioaktivních izotopů, tak i organické polutanty. Oproti konvenčním řemediačním technikám, jsou asi 10× levnější.[8] Spotřeba energie u fytořemediací je ve srovnání s klasickými technikami také výrazně nižší.[10] Jsou akceptovatelné širokou veřejností. Poškození prostředí je daleko nižší než u konvenčních technik,[35] půda není druhotně kontaminována ani ničena.[10]

Jsou ale vhodné nanejvýš pro středně kontaminované oblasti.[5] Pokud je kontaminovaná vrstva mimo dosah kořenů, jsou fytořemediace neúčinné.[8, 10]. Kořeny u bylin obvykle dosáhnou okolo 0,5 m, u stromů obvykle 3 m.[8] Významným problémem je čas.[8, 35] Řemediace vody je relativně rychlá, ale řemediace půdy často trvají i roky,[8] někdy i desítky let.[39] Pokud je polutant v nedostupné formě, taktéž není možno fytořemediace použít.[8, 35] Kontaminované místo rovněž musí poskytovat vhodné podmínky pro pěstování vybraných rostlin. I zvýšení rozpustnosti může být problém, protože hrozí kontaminace podzemních vod.[35]

3.2 Metody fytořemediací

Existuje pět technik, jak pomocí rostlin řemediovat půdu, pro anorganické sloučeniny se používá obvykle tři. Tyto procesy by probíhaly i bez účasti člověka, ale člověk může díky svým znalostem urychlit první, nejpomalejší krok, výběr vhodných rostlin. Blízko komerčnímu využití jsou dvě metody, fytoextrakce a rhizofiltrace.[35] Nejprozkoumanější jsou metody fytořtabilizace a fytoextrakce.[5]

3.2.1 Fytofiltrace

Na principu fytofiltrace fungují “kořenové čistírny” odpadních vod. Využívá kořenů rostlin a snimi asociovaných organismů k absorpci nebo srážení polutantů z roztoku obklopující kořenovou zónu. Dochází tak k nakumulování kovů v kořenech.[6] Dělí se na rhizofiltrace a blastofiltrace. Rozdíl je v použitých rostlinách. Rhizofiltrace využívají terestrální rostliny, blastofiltrace sazenic vodních rostlin.[4]

3.2.2 Fytořtabilizace

Při fytořtabilizaci se pomocí rostlin snižuje mobilita a dostupnost polutantů,[6] tak, že se řtabilizuje půdní povrch[35] pomocí absorpce(spojené s kumulací), adsorpce na kořenech, srážením v kořenové zóně nebo pomocí fyzikální řtabilizace půdy.[4] Dochází tedy pouze k prevenci nežádoucích jevů jako je leaching, eroze, kontaminace podzemních vod, či vytěkání polutantu.[4, 8] a maximálně přeměně polutantu na méně dostupnou formu.[8] Rostliny pro tyto účely by měly být tolerantní k vůči kontaminantům,

ale neměly by je příliš kumulovat.[4] Tato metoda pouze snižuje riziko, že se polutant k člověku dostane. Mají smysl pouze tehdy, pokud je třeba rychle snížit expozici nebezpečných látek na akceptovatelné minimum. Z hlediska půdy jsou nejvhodnější pro jemně zrnité půdy s velkým obsahem organických látek na velkém území.[4] Fytostabilizaci lze ovlivnit různými přísadkami, kterými lze ještě více stabilizovat těžké kovy, například vápencem nebo fosfáty.[34]

3.2.3 Fytoextrakce

Fytoextrakce jsou často zaměňovány za fytořemediace, byť fytoextrakce je pouze jedna z metod.[4] Jejich princip je přesně opačný než u fytostabilizace. Proto se také často označují jako fytoakumulace. Využívají schopnost rostlin extrahovat sloučeniny z půdy a přenést je, nebo jejich metabolity, do nadzemních částí, které lze sklídit.[4, 6, 14, 35] První pokus byl proveden týmem Bakera v roce 1991 pro zinek a kadmium.[4]

Pro fytoextrakce může být použito běžně rostoucích rostlin, nebo také geneticky modifikovaných. Pro zvýšení účinnosti lze užít chelatační látky. Toto je ale dost kontroverzní přístup, protože hrozí kontaminace dalším polutantem. Obvykle se využívá organických činidel, které mohou být časem degradovány. Díky těmto látkám může být výtěžek těžkých kovů energetickými plodinami srovnatelný s výtěžkem hyperakumulujících rostlin.[5] Nyní se uvažuje hlavně o využití energetických plodin s využitím chelatačních činidel, nebo transgenních rostlin, o využití hyperakumulujících rostlin se uvažuje spíše výjimečně.[14]

Účinnost fytoextrakce závisí na schopnosti tvořit rychle velké množství biomasy, schopnosti kumulovat velké množství kovů v nadzemní části, užitém obhospodařování, toleranci dané rostliny k vysokým koncentracím těžkých kovů, odolnosti vůči chorobám, atraktivnosti pro herbivory a půdních vlastnostech. Péče o půdu též ovlivňuje efektivitu fytoextrakce.[4]

Kromě řemediace mohou rostliny sloužit i k dalším, vedlejším účelům, až na získávání potravin. Rostliny mohou být pěstovány jako zdroj energie a jejich popel může sloužit jako ruda.[4] Na tomto principu je založena myšlenka fytominingu. To ale naráží na ekonomické problémy, spojené s cenou kovů na trhu. Zatím je fytomining využitelný pouze pro Ni a Co. Taktéž lze pěstovat rostliny pro fytořediační účely pro výrobu vláken.[34] Pokud řemediace není hlavním účelem pěstování, ale až druhotným, jedná se o takzvanou "fytoatenuaci." [14]

Problémem je, co dělat s kovem obohacenou rostlinou. Postupy nejsou zcela definovány.[39] Pokud nelze rostliny smysluplně využít tak, aby se kov nemohl znovu uvolnit do prostředí, je nutno s nimi zacházet jako s odpadem. Po sklizení maximálně lze snížit objem a hmotnost rostlin kompostováním, zhutňováním, anaerobní digestí, spalováním, pyrolýzou, zpopelněním nebo loužením.[15, 35] Po stabilizaci je pak zbylá hmota uložena

řízenou skládku.[35] Při snížení objemu a hmotnosti je třeba se snažit zabránit druhotné kontaminaci prostředí.

3.2.4 Fytovolatilizace

Fytovolatilizace je nejkontroverznější metodou. Především ji lze využít pro organické sloučeniny, ale u některých anorganických látek též byla popsána(Hg, As a Se).[8] Při fytovolatilizaci rostlina sloučeninu přijme, transformuje, převede do plynné fáze a transpiruje do ovzduší.[4, 8, 35] Je využívána k remediaci prvků Se a Hg z kalů a půd.[6] Fytovolatilizace Se byla zaznamenána již v roce 1966.[4]

3.2.5 Fytodegradace

Fytodegradace je proces, který je možný jen u organických látek, kdy dochází ke konverzi nebo degradaci polutantu využitím metabolických drah, jichž se rostlina účastní.[35] Pokud se rostlina degradace účastní pouze nepřímo(dodává rhizosféřním mikroorganismům živiny) mluvíme o rhizodegradaci.

3.3 Rhizosféra

Rhizosféra je vrstva mezi kořenem a půdou se specifickými podmínkami. Byť je asi 1 mm tlustá,[8] má pro rostlinu a pro fyto remedace důležitou roli. V rhizosféře je specifické biochemické prostředí.[10] Hustota mikroorganismů je tam o 1-4 řády větší než v okolní půdě. Přitom tyto mikroorganismy mají vliv na koloběh živin a jejich dostupnost.[8] To je ale možné jen díky množství uhlíku, který rostlina do rhizosféry dodává. Tento ekosystém a složení rhizosféry je specifické dle druhu rostliny, půdy[35] a rostlin rostoucích v blízkém okolí.

Díky rhizosféřním bakteriím má rostlina přístup ke stopovým prvkům.[6, 9] Přesný mechanismus interakcí rostlina-mikroorganismy není znám.[6] Mikroorganismy odpovídají na signály rostliny a rostlina odpovídá na signály organismů, třeba tím, že modifikuje svůj růst.[35] Rostliny poskytují bakteriím nutrienty a ochranu proti fyzikálnímu stresu, bakterie na oplátku dávají rostlině nějakou specifickou vlastnost. I volně rostoucí bakterie teoreticky mohou zvýšit množství rostlině dostupných nutrientů. Mikrobiální siderofory zas mohou snížit toxicitu těžkých kovů.[10]

Rhizoremediace nejsou oddělitelné od fyto remedaci. Synergické interakce rostliny a bakterií jsou přínosem zejména při degradaci organických xenobiotik.[10]

Kořeny rostlin také mohou významně měnit vlastnosti půdy a formu kontaminantů.[9, 35] Jejich příjem závisí na biodostupnost. Chelatační činidla produkovaná rostlinami a mikroorganismy mohou uvolňovat kationty z půdních částic. Organické kyseliny mohou též inhibovat příjem kontaminantu rostlinou, pokud vytvoří komplexy s polutantem

mimo kořenovou zónu.[6] Rostlinné exudáty také mohou sloužit jako zdroj uhlíku. Pomocí ATPáz rostliny do této vrstvy zvolňují protony a další minerální látky, aby zvýšily biodostupnost kovů. Některé rostliny do rhizosféry uvolňují i kyslík.[8, 35] Rostlinné exudáty též mění pH v rhizosféře, což může vést k lepšímu srážení polutantů na povrchu kořenů.[4]

Významnou součástí půdy jsou mykorrhizní houby, které mohou pomáhat rostlině upravovat příjem kovů v závislosti, zda je koncentrace esenciálních kovů nízká, nebo toxická.[8] Adaptované inokulum může zvýšit toleranci rostliny vůči stresu, zachycovat vodu pomocí makronutrientů a růstových hormonů, pufovat kumulaci kontaminantů, nebo zvyšovat sorpci pomocí glykoproteinů. Arbuskulárně mykorrhizní houby *Glomus claroideum* a *Glomus intradices* zvyšují obsah zinku v *Solanum nigra* bez vlivu na rostlinnou biomasu.[10] Houbové hyfy mohou sorbovat velkou část esenciálních prvků. Podobné iontové poloměry a náboj mohou vést v hyfě k absorpci neesenciálních prvků. Vlivy mykorrhizy na rostliny mohou být rozmanité.[9]

4 Rostliny vhodné pro fytoextrakce

Pro fytoemediaci je důležité, aby rostliny byly tolerantní vůči polutantu, který je třeba odstranit, nebo imobilizovat. Manousaki a Kalogerakis navrhuje pro fytoemediaci užívat rostliny schopné růst a rozmnožovat se na zasolených místech, protože dokáží odolávat oxidativnímu stresu. Jde asi o 1% cévnatých rostlin.[41] Dle kanadské databáze Phytorem bylo v roce 2003 známo 776 druhů rostlin a jejich variet, které jsou vhodné pro fytoemediaci.[42] Ideální rostlina pro fytoextrakce by měla být tolerantní k nakumulovanému množství těžkého kovu, měla by rychle růst, akumulovat těžké kovy do nadzemní části a být lehce sklíditelná.[34]

Metalophyta jsou rostliny, které dokáží žít a rozmnožovat se na půdách obohacených těžkými kovy, aniž by trpěly jejich toxicitou.[9] Přitom ale neplatí, že rostliny tolerantní k jednomu těžkému kovu, musí být tolerantní i k jiným kovům, byť tyto jsou danému kovu chemicky podobné.[28]

Pro vybrání vhodné rostliny není důležitá jen tolerance těžkých kovů, ale i efektivnost jejich akumulace.[35] Důležité je také vysazovat místní rostliny. Při jejich výsadbě je třeba brát ohled na roční dobu a sezónní změny rostlin. Na jaře je koncentrace kovů v rostlinách minimální, na podzim maximální.[43] U víceletých rostlin je také třeba zvážit, jak častá má být jejich sklizeň.[32]

Je třeba též zvážit výskyt více polutantů. Například přítomnost Cd může zvýšit kumulaci zinku.[13] Přesný podíl biogenních a stopových prvků v rostlinách závisí na konkrétní plodině, způsobu obhospodařování a vlastnostech prostředí.[11] Například síra zvyšuje obsah Zn v tabáku, slunečnicích, vrbách a kukuřici.[5] Prvkové složení je třeba uvážit, pokud je třeba rostlinu spálit. Vyšší obsah některých prvků může způsobit korozi zařízení spalovny.[11]

Jsou v tři možnosti, jak se rostlina zachová na rudných, nebo kontaminovaných půdách. Exkludery, které jsou nejběžnější, se snaží zabránit vstupu kovu do nadzemní části.[7] Indikační rostliny kumulují do nadzemních částí množství kovu, které je přímo úměrné kontaminaci půdy. Akumulační rostliny přenesou do nadzemních částí množství kovu, které výrazně převyšuje množství kovu v půdě.

Obvykle je tedy v kořenech rostlin kovů víc než v nadzemní části.[4, 43] Nejvíce zinku je v sekundárních kořenech, pak v primárních, následně v listech a ve stonku.[44] V nadzemní části například *Zea mays* se kumuluje nejvíce kovů ve stavebních tkáních rostliny, méně v klasech a jen minimum v zrnech.[14] Je to způsobeno obrannými bariérami. Nadzemní část je méně odolná než kořeny. Obvyklé translokační faktory jsou například u zinku menší než 0,6.[43]

Rostliny dvouděložné jsou obvykle citlivější než rostliny jednoděložné.[34]

4.1 Hyperakumulátory

Některé metalophyty jsou schopné koncentrovat větší množství kovu než je toxické pro běžné rostliny.[9] Obvykle rostou na půdách, které daný kov obsahují ve větší míře,[5, 7, 10] ale není to nutnou podmínkou.[7] Často rostou v geograficky odlehlých oblastech[27] a jsou endemické[45]. Studium takovýchto druhů můžeme získat cenné informace pro fytoremediace. Modelovými druhy bývají *Thlaspi caerulescens* a *Arabidopsis halleri*. [46] Mezi těmito a běžnými rostlinami nemusí být výrazný rozdíl, rostliny *Arabidopsis halleri* a *Arabidopsis thaliana* (nehyperakumulující druh) mají 97% všech genů stejných.[46] *Thlaspi caerulescens* od nehyperakumulujícího druhu *Thlaspi arvense* odlišuje jen 5000 odlišně exprimovaných genů.[7] Odlišnosti v genové expresi některých genů ale mají zásadní význam. Záleží, kolik se daného genu exprimuje a také kde je daný gen exprimován. V *Arabidopsis halleri* oproti *Arabidopsis thaliana* je výrazně aktivnější rostlinná peroxidáza (asi 16×) a askorbát peroxidáza (asi 7×). Geny pro transportéry HMA4, IRT3 a ZIP12 se v *Arabidopsis halleri* exprimují výrazně více v kořeni, zatímco v *Arabidopsis thaliana* v nadzemní části.[46] Někdy jde jen o odlišnou expresi, někdy mají tyto rostliny od běžných rostlin zcela jiné transportéry, které se kineticky odlišují a mohou mít větší afinitu k neesenciálním prvkům.[9] *Thlaspi caerulescens* nemá dostatečně regulovány geny ZNT1 a ZNT2.[47]

Pojem hyperakumulátor byl poprvé použit Brooksem v roce 1977 pro rostliny kumulující nikl,[40] ačkoliv první hyperakumulující rostliny byly nalezeny již v 19. století.[45] Nyní jsou známy i hyperakumulátory As, Co, Cu, Mn, Se, Pb, Zn a Cd.[7, 8] Některé hyperakumulátory vzácné kovy vyhledávají.[9] Obvykle kumulují jeden, nebo dva kovy ve své tkáni[38], některé z rodu *Thlaspi* ale víc,[48] o koncentraci 50-500× vyšší než jiné rostliny za stejných podmínek,[6] aniž by trpěly toxickými efekty.[4, 10] Typické množství polutantů v sušině je 0,1-1% [7, 8], 1% platí pro Mn a Zn,[4, 7] což například znamená 10 g Zn/kg prvku.[5, 27, 49] Někdy se uvažuje i o hyperakumulaci Fe, Al a B. Některé prvky jsou akumulovány společně s jiným prvkem.[38] Hyperakumulátory neesenciálních prvků mohou akumulovat i kovy jim podobné.[9] Krom akumulací schopnosti jsou pro ně charakteristické hodnoty translokačního a biokoncentračního faktoru, které jsou vždy větší než 1,[49] většina běžných rostlin má biokoncentrační faktor menší než 1.[47]

Je známo víc jak 450 hyperakumulátorů[28], což je něco málo přes 0,02% všech krytosemenných rostlin.[27] Existuje 45 rodin hyperakumulátorů.[34] K nejvýznamnějším patří *Asteraceae*, *Brassicaceae*[4] (11 rodů, 87 druhů[48]), *Caryophyllaceae*, *Cyperaceae*, *Cunoniaceae*, *Euphobiaceae*, *Fabaceae*, *Flacouratiaceae*, *Lamiaceae*, *Poaceae* a *Violaceae* .[4] Nejvíce jich kumuluje Ni.[35, 38] U zinku víme o víc jak 20 druzích z rodin *Brassicaceae* a *Violaceae*. [40] Patří sem například: *Clethra barbinervis*, *Ilex crenata*, *Thlaspi caerulescens*, *Arabidopsis halleri*[7], *Potentilla griffithii*,[28] *Sedum alfredii*,[28,

47] *Thlaspi praeceox*,[9] *Arabis gemmifera*,[4], *Thlaspi brachypetalum*, *Thlaspi cepaeifolium* ssp. *rotundifolium*, *Thlaspi stenopterum*, *Thlaspi tatrense*, *Minuartia verna*, *Dichapetalum gelonioides*, *Rumex acetosa*, *Viola calaminaria*, *Thlaspi alpestre* var. *calaminare*,[45] *Haumaniastrum katangens*, *Thlaspi goesingense*, a *Thlaspi ochroleucum*[48]. Nejvyšší koncentrace zinku v rostlině(43,710 g/kg) byla nalezena v *Thlaspi caerulescens*. [45] Předpokládá se, že zvýšená tolerance hyperakumulátorů je spojena s přítomností vysoce afinitních chelátů v cytoplasmě.[6] Díky hyperakumulaci mají tyto rostliny odlišný obsah také dalších látek než nehyperakumulující rostliny, jako třeba glucosinolát.[9, 38] Mohou mít také odlišné složení exudátů.[9]

Boyd a Martens předložili teorii, dle níž je pět možných důvodů existence hyperakumulátorů, a tyto hypotézy jsou podpořeny experimenty. Příjem těžkých kovů může být zapříčiněn dávnou náhodnou mutací. Může jít také o vyšší stupeň tolerance rostlin vůči těžkým kovům. Rostlina také může těžké kovy využívat kupříkladu pro snížení osmotického vysoušení. Hyperakumulace může být také použita jako obrana vůči přirozeným nepřítelům. Také může jít o důvod kompetice s jinými rostlinami.[38]

Pro hyperakumulující fenotypy hyperakumulátorů je nezbytná hypertolerance.[47]

Mají-li hyperakumulátory svůj mechanismus mobilizace těžkých kovů, je možné najít zvýšenou koncentraci těchto kovů i v rostlinách rostoucích v blízkém okolí. Tento efekt by mohl být využit při fytoremediacích. Jde o efekt rhizosférických bakterií. Aby tato i jiná endophyta mohla žít v okolí hyperakumulátorů, musí být sama tolerantní vůči těžkým kovům.[9]

Problémem, proč tyto rostliny nelze použít k remediacím, byť některé ekotypy mohou kumulovat velké množství kovů[13], je jejich nízká produkce biomasy.[5, 6] Zejména evropské hyperakumulátory jsou malého vzrůstu a rostou pomalu.[27] Jediným skutečně využívaným hyperakumulátorem je hyperakumulátor niklu *Alyssum bertolonii*. Jisté naděje jsou vkládány také do hyperakumulátoru arsenu *Pteris vittata*. [8] Také obvykle mívají malé a mělké kořeny, zato mnoho kořenových vlásků.[9]

4.2 Energetické plodiny

Energetické plodiny jsou takové, jejichž primárním účelem je produkce energie. Ve skutečnosti se některé druhy využívají po staletí pro výrobu potravin a píce. Obvykle rostou a produkují velké množství biomasy[33] a to i při relativně nízkém obsahu živin v půdě. Jedná se o rozmanitou skupinu. Můžou to být jak C3, tak C4 rostliny. Známé a běžně užívané jsou traviny, ale mohou to být i stromy.[11] Tyto rostliny bývají obohacené o draslík a křemík,[50] ale koncentrace těžkých kovů jsou obvykle nízké.[5] Obsah těžkých kovů závisí na teplotě. V *Brassica pekinensis* je v teplejších podmínkách koncentrace těžkých kovů vyšší.[16] C4 rostliny mají vyšší výtěžek biomasy než C3 rostliny, ale často bývají náročné na vodu a teplé klima.[51] C4 rostliny jsou také odolnější vůči

abiotickému stresu.[52]

Nejvíce se o nich uvažuje jako o zdrojích biopaliv. Už od 70. let 20. století se hledají náhražky fosilní energie.[53] Vzhledem k jejich rychlému růstu a produkci biomasy jsou ale také vhodné pro remediační účely. Další možností využití je vazba uhlíku do minerálních solí a tím snížení úniku CO₂ z půdy. Některé za vhodných podmínek mohou snižovat erozi půd a loužení nutrientů. Stromové energetické plodiny mohou snižovat rychlost větru. Mohou také odstraňovat P a N z odpadních vod. Při vhodném pěstování také mohou zvyšovat druhovou rozmanitost. Jejich využitelnost závisí na geografických a geologických podmínkách.[11]

V rámci remediací bylo provedeno mnoho pokusů s *Brassica juncea*, *Avena sativa*, *Zea mays*, *Hordeum vulgare*, *Helianthus annuus*, *Lolium perenne*, *Salix viminalis* a *Populus sp.*[33]. *Sorghum bicolor* je také středem pozornosti. Pro polní provedení jsou ideální roční rostliny, dosahující obvykle výšky 1 m.[17]

Tyto rostliny lze dobře sklídit. Narozdíl od hyperakumulátorů neakumulují velké množství kovů z půdy, ale mohou kumulovat více prvků, což by pro hyperakumulátory bylo toxické. Například *Brassica juncea* efektivně kumuluje Cd, Cr, Cu, Ni, Pb a Zn.[4] Fytoremediace energetickými plodinami mají dobrý potenciál pro velké plochy, ale relativně málo kontaminované.[35] Rostliny musí být agronomicky a klimaticky udržitelné v dané lokalitě a musí být tolerantní k těžkým kovům. Tolerance bývá ale jen k určitému kovu.[5] Nelze zapomínat na vzájemný vliv kovů. Pokud je rostlina podrobena působení vysokým koncentracím Cu a Zn, kumulace obou kovů je nižší, než kdyby působil každý kov zvlášť.[13]

Topoly kumulují méně zinku než vrby,[54] které mají pro Zn vysokou kapacitu. Obecně rychlerostoucí dřeviny vykazují nejvyšší efektivnost remediace zinku a kadmia díky kumulaci ve sklíditelné části.[55] Trvalé traviny tvoří velké množství biomasy, ale jejich výtěžek těžkých kovů je velmi malý.[5] *Brassica rapa* a *Brassica napus* jsou jen málo efektivní v translokaci kovů do nadzemní části, přesto mohou být vhodné pro fytoremediace.[13] Cereální plodiny mají vyšší výtěžek zinku než luštěniny, ale koncentrace zinku v luštěninách je vyšší.[22]

Byliny mohou akumulovat větší koncentrace kovů a mají vyšší biokoncentrační faktor než dřeviny.[15] Meers a kolektiv navrhuje využívat k remediacím energetickou kukuřici (*Zea mays*), jako alternativu připouští čirok a slunečnice.[14] Slibnou energetickou plodinou je také konopí, které kromě vysoké produkce biomasy odrazuje škůdce.[56]

Energetické plodiny by měly růst v udržitelném cyklu, aby byla produkce biomasy, a tím i fytoextrakce, nejefektivnější. Mělo by se užívat rostlinných genotypů, které nejsou pěstovány na jídlo, protože nejsou tak náročné na péči.[56] Sestava cyklu by měla být volena tak, aby látky produkované předchozí plodinou nehubily plodinu následující. Kupříkladu čirok, konopí a slunečnice produkují fenolické látky, které lze nazvat pří-

rodnými herbicidy. Nesmí se rovněž zapomenou na rostliny, jejichž rhizosféra obsahuje bakterie vázající vzdušný dusík, protože některé energetické plodiny půdu velmi vyčerpávají. Rostliny s hlubokými kořeny by měly být pěstovány po rostlinách s mělkými kořeny, protože můžou získávat vodu a nutrienty z hlubších vrstev. Při správném složení není tolik potřeba hnojit, riziko půdní eroze se snižuje, zlepšuje se struktura půdy a její propustnost, zvyšuje se aktivita půdních mikroorganismů, lépe se zadržuje půdní voda a také se zvyšuje obsah organické hmoty v půdě. Takovýto systém je pak udržitelný, aniž by došlo k zaplevelování.[56]

4.2.1 Čirok

Rod *Sorghum* ještě s rodem *Cleistanthus* tvoří *Sorghastrum*, jeden z 16 podkmenů *Pruchopogoneae*. Lze jej rozdělit do pěti sekcí, které mají celkem 25 druhů. *Eusorghum* zahrnuje běžně pěstované čiroky a jejich nejbližší divoké příbuzné. Tato sekce se dělá na *Arundinacea* a *Halepensis*. [58] Některé druhy jsou jednoleté, jiné více leté. Běžně využívané jsou jednoleté čiroky *Sorghum bicolor* a jeho blízký příbuzný *Sorghum almum*. *Sorghum bicolor* pochází z tropické Afriky a z Indie. *Sorghum almum* je ze Středomoří a jihovýchodní Asie. [58] Pro vědecký výzkum se častěji využívá *Sorghum bicolor*. Ostatní čiroky se příliš nepoužívají a některé jsou dokonce plevelné, například *Sorghum halepense*, ale mají zajímavé vlastnosti jako odolnost vůči škůdcům a nemocem. [58] Zjištění genetického kódu čiroků může mít vliv na budoucí transgenní energetické plodiny. [53]



Obrázek 1: *Sorghum bicolor* [57]

Sorghum bicolor je jednoděložná C4 rostlina, ale může růst za rozličných podmínek. [59, 60] Dorůstá výšky až 2-3 m [60], jeho kořenový systém může být až 1,5 hluboký. [61] Jde o mrazuvzdornou odolnou travu využívanou jako pícnina, [33] ale v některých oblastech je stále využívána jako zdroj potravy pro lidi. Ve vyspělých zemích je ale považována za nadějnou energetickou plodinu. [33] Je pátou nejrozšířenější cereální rostlinou. [52] Byl znám a pěstován již před 5000 lety ve Starověkém Egyptě. [57] Velmi efektivně totiž

hospodaří s vodou a potřebuje malé množství agrochemikálií.[59] Prakticky potřebuje jen málo vlhkosti.[56] Má vysoký obsah dusíku v listech a též vysoký obsah síry.[50] Velmi dobře hospodaří s vodou.[60]

Produkuje víc biomasy než slunečnice,[33] ačkoliv má menší kořenovou zónu.[56] Konverze slunečního světla u *Sorghum bicolor* je 0,1%, fotosyntetická efektivita pak je 2-3%.[59] Má silný stonek, který se lehce vysuší. Na některé druhy působí fyto-toxicky, zejména na pšenici. Při pěstování společně s luštěninami je více náchylný k arbuskulární mykorrhize, čímž lze zvýšit jeho produkci biomasy. Výtěžky také závisí na oblasti. Pochopitelně čirok pěstovaný v subsaharské Africe produkuje méně biomasy než čiroky pěstovaný v mírném pásu.[56] Zhuang a kolektiv provedli experimenty ve městě Lachang, kde jsou vysoké atmosferické emise Pb a Zn, započaté v roce 1950, na kultivarech Rio, Mray a Keller, původem ze Severní Ameriky. Výtěžek z plochy odpovídá výšce rostlin. Byla testována možnost podpory akumulace chelatačními činidly v těchto kultivarech. Výsledky ukázaly, že NH_4NO_3 a $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ i EDTA zvyšují produkci biomasy a tím i výtěžek z plochy, ale neovlivňují koncentraci zinku v rostlině. Efekt EDTA je menší, protože EDTA je fytotoxická. Chelatační látky tedy zvyšují účinnost dekontaminace zamořené půdy.[33]

4.2.2 Sléz

Název pochází z lepivého sekretu, který obsahuje hodně klišu a taninu.[63] Patří do rozsáhlé skupiny *Malvaceae*, která má okolo 200 rodů, v nichž je celkem asi 2300[61]. Rostliny z této skupiny rostou v tropickém a mírném klimatu. *Malvaceae* zahrnuje hlavně byliny a keře, ale najdou se i stromy. Některé rody jsou kultivovány tak dlouho, že nemají v přírodě blízký druh.[64]

Rostliny rodu *Malva* jsou roční, nebo krátkodobě rostoucí trvalky.[65] Je jich asi 25-30 druhů.[61] Rostou hlavně v Severní Africe, Asii a Evropě. 15 Druhů jich pochází ze Středomoří.[65] Ze západního Středomoří pak 12.[66] Většina rostlin rodu *Malva* ve Střední a Východní Evropě sem byla zavlečena ve Středověku. Rod *Malva* se dělí na 2 sekce, *Malva* a



Obrázek 2: *Malva verticillata*[62]

Bismalva.[67]

Bývají užívány pro okrasné účely a medicínu. Mladé listy mohou sloužit jako zelenina. Jejich květy jsou obvykle fialové velikosti několik milimetrů, někdy bílé nebo rudé.[64] Některé jsou roční, jiné několikileté. Některé mohou být pozůstatkem jejich dřívější kultivace. Například *Malva alcea* je pozůstatkem její kultivace Slovany.[63] Již ve Starověku byly tyto rostliny známy a kultivovány.[68] Některé druhy dorůstají až 1,5 m. Někdy je lze celkem bez problémů křížit.[69] Často mají lalokovité listy a stonek bývá pokryt jemnými chloupky. Některé druhy jsou plevelné. Některé druhy mohou být vhodné pro fytofarmaceutiku a možná jsou hyperakumulátory.[36, 49] U *Malva nicaensis* po 6 týdnech kultivace v roztoku o koncentraci zinku 130 µg/kg nebylo prokázáno zpomalení růstu. Translokační faktor po této kultivaci byl 1,5.[36]

Prověřovaný druh *Malva verticillata* dorůstá 1,2 m. Má hladké listy, nebo řídce žilkované. Květy má bělavé až červenavé.[64] Jeho domovskými oblastmi jsou okolí Baltského moře, Evropská část Ruska, Afghánistán, severozápad Pákistánu a Čína,[65] ale lze jej nalézt všude, protože se jedná o invazivní druh[64], protože nemá výrazné požadavky na podnebí[60]. Podobá se druhu *Malva parviflora*. [64] Pravděpodobně kumuluje arsen.[44] Je jednoletý. Krom medicíny jej lze použít i ke krmným účelům.[60] Ve Starověké Číně byl významnou rostlinou používanou jako listové zeleniny.[70] Při růstu v kontaminované zemině má relativně vysoký obsah těžkých kovů, ale na úkor biomasy.[55] Patří do sekce Malva.[67]

4.3 Transgenní rostliny

Pro fytoextrakce zřejmě není mnoho vhodných druhů, rostliny buď kumulují vysoké koncentrace těžkých kovů, ale netvoří mnoho biomasy, nebo produkují dostatek biomasy, ale kumulují pouze malé koncentrace těžkých kovů. Nejvhodnější je tyto vlastnosti zkombinovat genetickou manipulací.[6] Cílem vývoje transgenních rostlin je krom zvýšení efektivity farmaceutiky též snížit používání agrochemikálií.[35]

Krom toho tyto rostliny mohou také sloužit k pochopení mechanismů fytofarmaceutiky. Geneticky modifikované rostliny mění biodostupnost kovů změnou tvorby exudátů, exkrece organických kyselin nebo spolupráce s jinými mikroorganismy.[35]

Vnesené geny nemusí být nutně rostlinné, ale i bakteriální, zvířecí nebo z kvasinek, čímž může rostlina získat nové vlastnosti jako třeba Pb(II)/Zn(II) pumpu, která zvyšuje toleranci k těmto prvkům.[6] Rostliny s cizími metalothioneiny mají obvykle větší odolnost vůči některému těžkému kovu. Rostliny s genem nikotinaminsyntázy ovlivňují formování sideroforů a vazbu kovů na aminokyseliny, čímž se zvyšuje dostupnost kovů pro rostliny.[35]

Některé geny ovlivňují homeostázu prvků, jejich zvýšená exprese v transgenních rostlinách zvyšuje možnost tolerance těžkých kovů nebo jejich akumulaci.[46] Úspěšná

manipulace byla provedena se zvýšením exprese GSH-syntázy, γ -glutamylcysteinsyntázy a fytochelatinsyntázy.[35]

Zatím bylo úspěšně dosaženo zvýšení kumulace Ca, Cd, Mn, Pb a Zn.[8]

Část II

Praktická část

5 Materiály a metody

5.1 Kultivace pokusných rostlin

Tabulka 1: Hoaglandovo hydroponické médium

| látka(sumární vzorec) | koncentrace(mM) |
|---|-----------------|
| $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ | 1,5 |
| K_2SO_4 | 2 |
| $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ | 4 |
| $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ | 1,87 |
| $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$ | 0,13 |
| H_3BO_3 | 0,1388 |
| $\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$ | 0,0208 |
| $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,0023 |
| $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ | 0,0033 |
| $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ | 0,0002 |
| $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,2007 |
| NaNO_3 | 4 |
| NH_4Cl | 4 |
| NH_4NO_3 | 2 |

K pokusu byly použity rostliny čiroku *Sorghum bicolor* (kultivary DSM 14-535, Expres, Honey Graze BMR, Nutri Honey, Sucrosorgho 506 a Sweet Virginia) a sléz *Malva verticilata*, které byly vypěstovány v perlitu ze semen.

Po čtyřech týdnech byly rostliny přesazeny do samostatných květináčů, pečlivě bylo dbáno, aby byly vybrány rostliny s minimálními výškovými rozdíly, kde rostly ještě po 3 týdny. V průběhu kultivace byly zalévány Hoaglandovým hydroponickým médiem. (tabulka 1) Následně byly rostliny použity pro experimenty. Pokusy byly realizovány ve skleníku, v němž je teplota udržována nad 15°C. V létě byl skleník větraný a přistíněný, v zimě chlazený a vytápěný. Rostliny byly dosvécovány pomocí sodíkových výbojek (400W, Thorn Radbay) o intenzitě

5760 lux s odchylkami intenzity nejvýš 20%, aby světelná fáze trvala alespoň 12 hodin.

5.2 Provedení hydroponických experimentů

Byly provedeny tři experimenty, jejichž cílem bylo prověřit chování rostlin čiroku *Sorghum bicolor* a slézu *Malva verticilata* za hydroponických podmínek v přítomnosti zinku, zjistit rozdíly v chování šesti různých kultivarů čiroku *Sorghum bicolor* v přítomnosti zinku a zjistit vliv chelatačních činidel EDTA a GSH na koncentraci zinku v čiroku *Sorghum bicolor*.

5.2.1 Možnosti akumulace zinku v rostliných čiroku *Sorghum bicolor* a slézu *Malva verticilata*

Předpěstované rostliny byly pěstovány v hydroponickém médiu s různými koncentracemi $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, konkrétně 0 , 2×10^{-1} , 5×10^{-1} , 1 , 2 a 5 mmol/l po dobu 2,3 a 4 týdnů. Odebrány byly též rostliny v den začátku experimentu. Pro každou kombinaci byly pěstovány paralelně čtyři rostliny od každého druhu. Vždy po týdnu bylo doplněno hydroponické médium o stejné přidané koncentraci $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$. Každý odběrový den byl spočítán počet listů a provedena analýza kořenového systému pomocí 3D-skeneru Epson a programu WinRhizo. Následně byly rostliny rozděleny na kořen a nadzemní část a zamraženy na teplotu -80°C .

5.2.2 Srovnání schopnosti kumulovat zinek šesti kultivarů čiroku *Sorghum bicolor*

Předpěstované rostliny šesti kultivarů čiroku byly podrobeny pěstování v hydroponickém médiu s koncentracemi $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 0 , 2 a 5 mmol/l. Sklizeny byly po 4 týdnech, přičemž pro každou variantu bylo pěstováno paralelně pět rostlin. Médium bylo průběžně doplňováno vždy po týdnu. Též byly odebrány rostliny v den začátku experimentu. Na počátku a před sklizením byl spočítán počet listů. Odebrané rostliny byly následně rozděleny na kořen a nadzemní část a zamraženy na teplotu -80°C .

5.2.3 Stanovení vlivu chelatačních činidel EDTA a GSH na příjem zinku

Rostliny kultivaru čiroku *Sorghum bicolor*, Nutri Honey, byly pěstovány v Erlenmeyerových baňkách po dobu 7 dnů o objemu média 300 ml. Byly použity 4 koncentrace $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, 0 , 1×10^{-1} , 5×10^{-1} a 1 mmol/l. Pro každou koncentraci bylo paralelně pěstováno 9 rostlin, 3 rostliny byly pěstovány bez přídavku chelatačních činidel, 3 rostliny byly pěstovány s přídavkem 1×10^{-1} mmol/l EDTA a 3 rostliny byly pěstovány s přídavkem 1×10^{-1} mmol/l GSH. Po ukončení experimentu byly rostliny rozděleny na kořen a nadzemní část a zamraženy na teplotu -80°C .

5.3 Mineralizace vzorků

Zmražené vzorky byly lyofylyzovány. Následně byly naváženy reprezentativní vzorky o $0,1250$ - $0,2500$ g. Poté bylo ke vzorkům přidáno 5 ml směsi HNO_3 a HClO_4 v objemovém poměru 17/3. Směs byla promíchána a minimálně den ponechána v digestoři. Následně byla provedena mineralizace zvyšováním teploty tímto způsobem: 3 hodiny při 60°C , hodinu při 100°C , hodinu při 120°C a 2,5 hodiny při 195°C . Po vychladnutí bylo k mineralizátu přidáno 2,5 ml 20% HCl a směs byla zahřáta na 80°C a udržována při

této teplotě minimálně půl hodiny. Následně byl mineralizát v 15 ml uzavíratelných zkumavkách Flacon doplněn na 10 ml.

5.4 Stanovení obsahu kovu

Pro stanovení obsahu zinku byla použita klasická plamenová AAS(SensAA, GBC Scientific, Austrálie), kde palivem byl acetylen a oxidovadlem vzduch. V případě vysoké koncentrace byl výsledný produkt ředěn.

5.5 Testy toxicity

Tabulka 2: Ředící voda

| látka(sumární vzorec) | koncentrace(mM) |
|--|-----------------|
| $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ | 1,9985 |
| $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,44548 |
| NaHCO_3 | 0,771368 |
| KCl | 0,077799 |

Testy toxicity byly provedeny na semínkách čiroku *Sorghum bicolor*(kultivarech DSM 14-535, Expres, Honey Graze BMR, Nutri Honey, Sucrosorgho 506 a Sweet Virginia). Do Petriho misek o průměru 9 cm byl vložen filtrační papír větší pórovitosti kruhového tvaru se 17 otvory, které byly co nejdál od sebe, na jejichž místa byla po nalytí 5 ml ředící vody(tabulka 2) o

pH 7,6 s určenou koncentrací $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, položena semena daného kultivaru. Koncentrace $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ byly zvoleny 0 , 1×10^{-1} , 2×10^{-1} , 5×10^{-1} , 1 , 2 , 5 a 10 mmol/l. Pro každou kombinaci byly použity čtyři Petriho misky. Semena byla ponechána ve tmě za laboratorní teploty. Po 72 hodinách bylo provedeno měření vyklíčeného kořene pomocí pravítka.

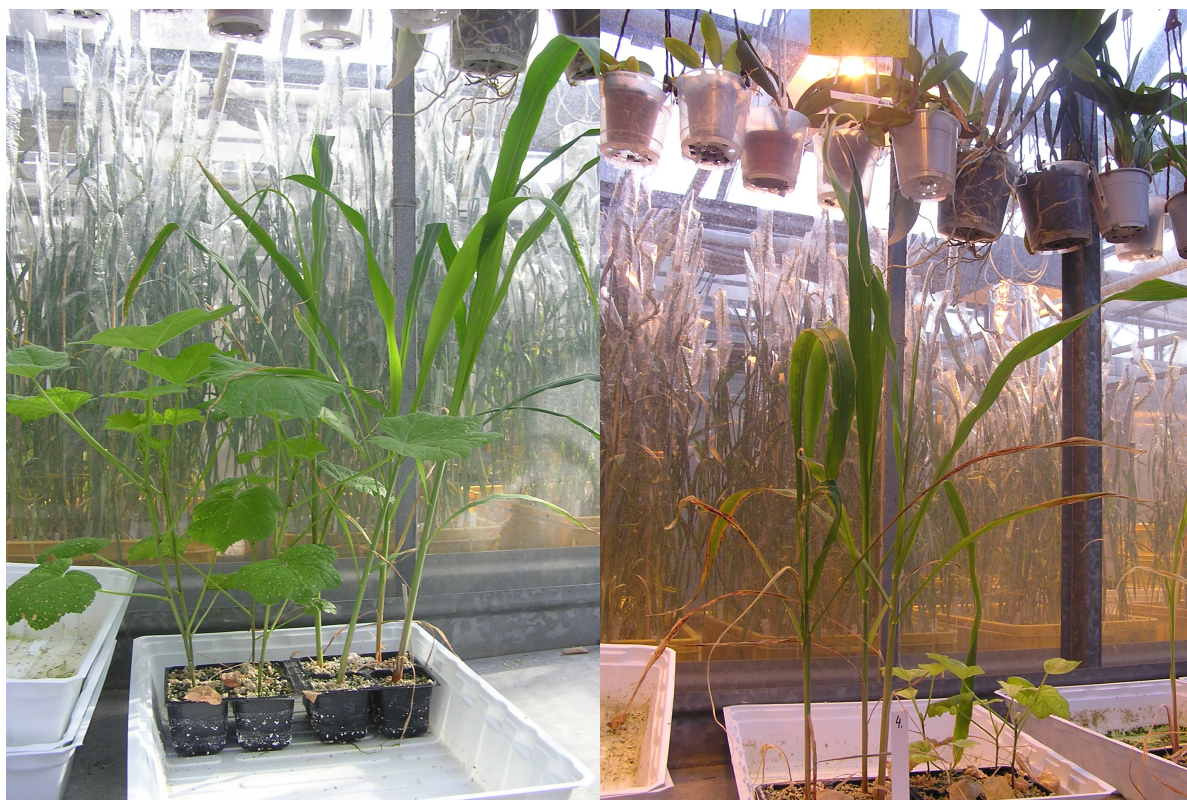
Získané hodnoty byly pro každou misku zprůměrovány. Z takto získaných dat byly pro každou misku vypočítány inhibiční faktory dle vzorce $I_{x,p} = \frac{d_k - d_{x,p}}{d_k}$, kde $I_{x,p}$ je inhibiční faktor pro danou misku, d_k je průměrná délka kořene v kontrole, $d_{x,p}$ je průměrná délka kořenů v dané misce pro danou koncentraci a jednotky d_k a $d_{x,p}$ jsou schodné. Dále byla pomocí programu GraphPad Prism vypočítána EC_{50} pomocí nelineární regrese dle vzorce: $I_x = \frac{1}{1 + 10^{s(EC_{50} - c)}}$, kde I_x je inhibiční faktor, nabývající hodnot od 0(žádný účinek) do 1(maximální účinek), s je směrnice křivky, c je koncentrace zinku. Z takto získaných dat byly odhadnuty vhodné koncentrace pro srovnání akumulace zinku šesti kultivary čiroku *Sorghum bicolor*.

6 Výsledky a diskuze

6.1 Stanovení schopnosti *Sorghum bicolor* a *Malva verticilata* akumulovat zinek

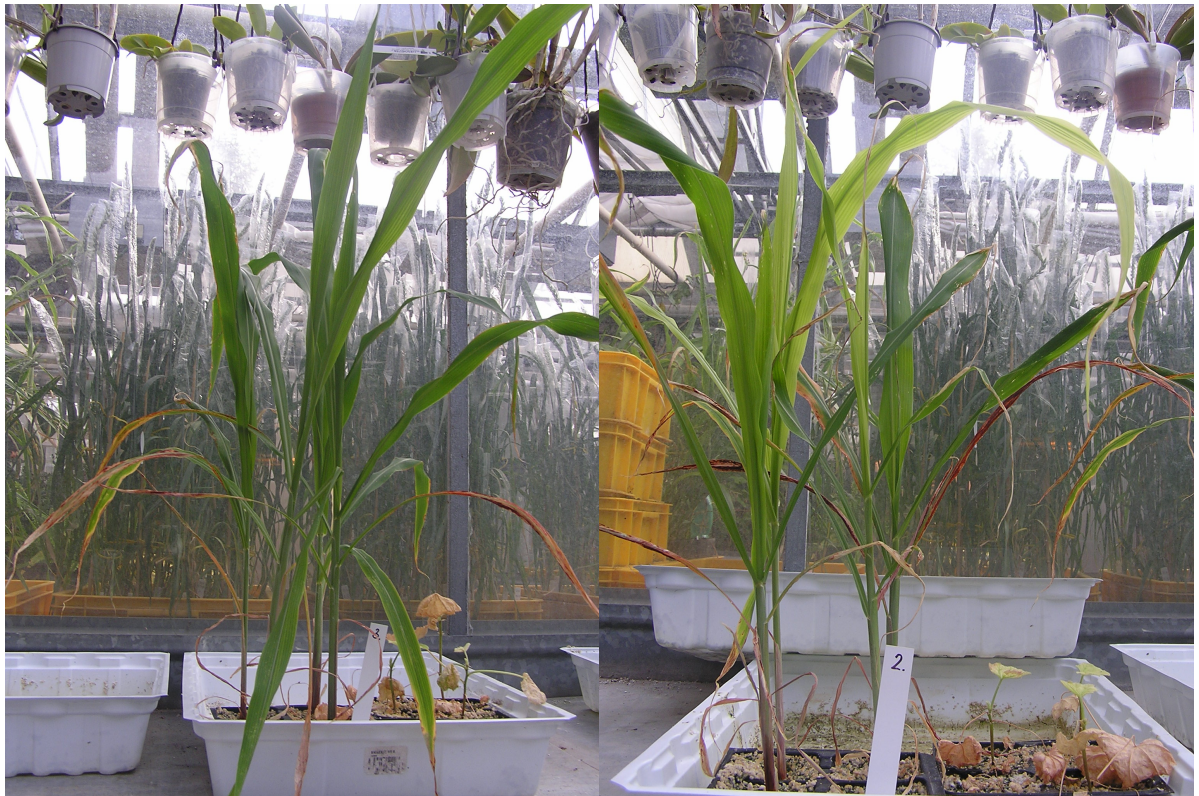
Jak je patrné z obrázků 3-7, které ukazují stav po 28 dnech, sléz *Malva verticilata* (na obrázcích je obvykle vpravo) je na zvýšení koncentrace velmi zinku v médiu velmi citlivá. Již koncentrace 0,2 mmol/l $Zn(NO_3)_2$ značně redukuje produkci biomasy nadzemní i kořenů, u této rostliny. Čirok *Sorghum bicolor* vykazuje výraznou redukci biomasy až při vyšších koncentracích. Při nižších koncentracích je ale vidět rezivění listů.

Podíl počtu listů v daném čase oproti počtu listů na začátku byl zvolen jako vhodnější indikátor než samotný počet listů. U čiroku *Sorghum bicolor* podíl počtu listů stoupá v čase, krom koncentrace 5 mmol/l $Zn(NO_3)_2$, kdy po 28 dnech již dochází k výraznějšímu toxickému efektu. Po 14 dnech se toxický účinek 5 mmol/l $Zn(NO_3)_2$ neprojevuje. Po 21 dnech již je při koncentraci 5 mmol/l $Zn(NO_3)_2$ již byl pokles pozorován, při nižších koncentracích ale $Zn(NO_3)_2$ tvorbu listu stimuloval. Po 28 dnech se již u všech testovaných koncentrací $Zn(NO_3)_2$ projevil pokles počtu listů. (obrázek 8)



Obrázek 3: Koncentrace přidaného Zn je 0 mmol/l. Vpravo *Sorghum bicolor*, vlevo *Malva verticilata*. (vlevo)

Obrázek 4: Koncentrace přidaného Zn je 0,200 mmol/dm³. (vpravo)



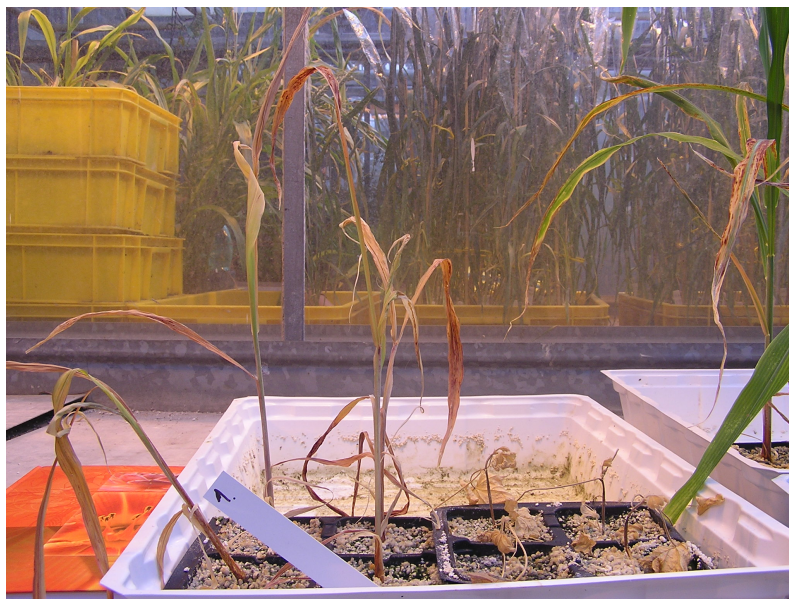
Obrázek 5: Koncentrace přidaného Zn je 0,500 mmol/dm^3 .(vlevo)

Obrázek 6: Koncentrace přidaného Zn je 1,000 mmol/dm^3 .(vpravo)

V případě slézu *Malva verticilata* lze rovněž pozorovat nárůst počtu listů v čase, krom koncentrací 1 mmol/l a 5 mmol/l $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$. Stimulace u slézu pozorována nebyla. Se zvyšující se koncentrací zinku dochází k jasně viditelnému toxickému efektu. Koncentrace 5 mmol/l $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ je pro sléz *Malva verticilata* letální, byť po 14 dnech byl pozorován mírný přírůstek počtu listů.(obrázek 9)

U rostlin pěstovaných bez přídavku zinku byla pozorována snižující se koncentrace zinku v kořenech. Koncentrace zinku na počátku experimentu byla u slézu *Malva verticilata* v kořenech 0,036649 g/kg a v nadzemní části 0,11704 g/kg , u čiroku *Sorghum bicolor* byla koncentrace v kořenech 0,044003 g/kg a v nadzemní části 0,19512 g/kg . U obou rostlin koncentrace Zn v nadzemní části relativně nepatrně vzrostla, další dny se již udržovala přibližně na stejné úrovni. Při přidání $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ do hydroponického média koncentrace v kořenech i nadzemní části několikanásobně stouply. Při přidání 0, 2 mmol/l dále nedochází ke zvyšování koncentrace v kořenech, v nadzemní části po 7 dnech stoupla na dvojnásobek, ale po dalších 7 dnech se již nezměnila. U slézu byl ale velký rozptyl hodnot při této koncentraci. Při vyšších koncentracích $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ se s délkou expozice v hydroponickém médiu se koncentrace Zn v rostlinách několikanásobně zvyšuje. U koncentrace 5 mmol/l $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ jde ale nejspíš již o nahodilé hodnoty, protože tato koncentrace zinku je velmi toxická. (obrázky 10-13)

U obou rostlin byl sledován vývoj kořenového systému. Byl pozorován vývoj celkové délky kořenů, celkový povrch kořenů, jejich celkový objem a průměrný průměr. U slézu je jednoznačně vidět redukci délky kořenů při všech testovaných koncentracích, u čiroku při prvních dvou sklizních byl při nižších koncentracích pozorován stimulační efekt. (obrázky 14



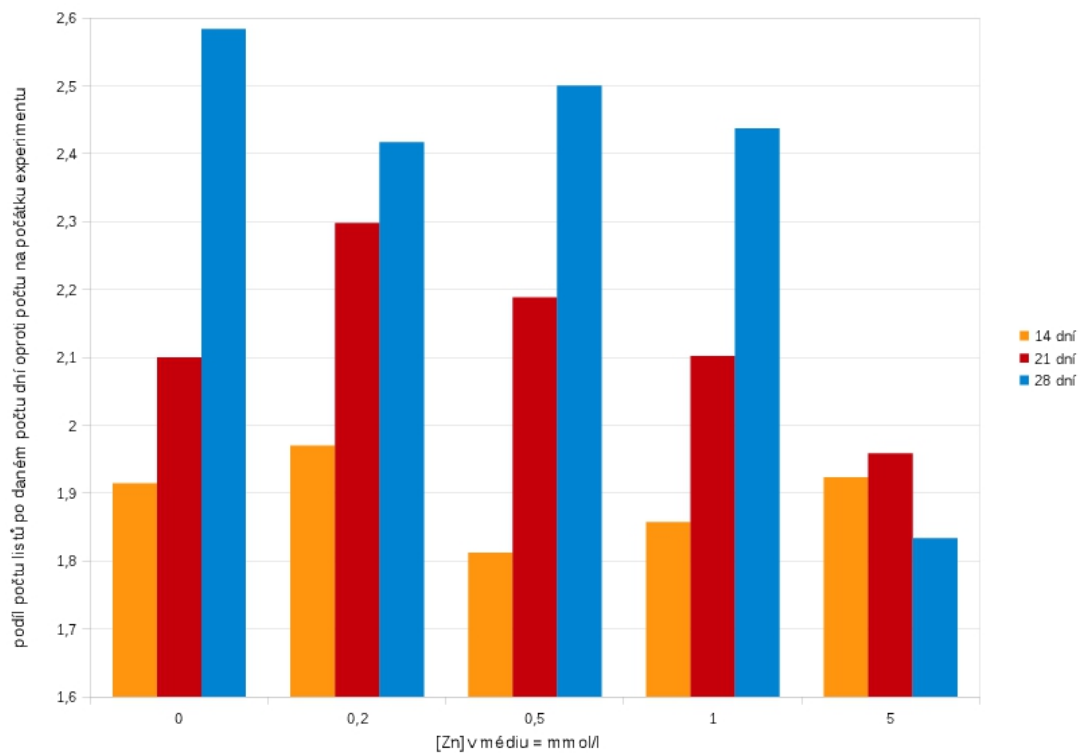
Obrázek 7: Koncentrace přidaného Zn je $5,000 \text{ mmol/dm}^3$. Po 28 dnech.

a 15) Stejně tak na celkovém povrchu kořenů je vidět toxický efekt. U čiroku bylo při koncentraci $0,5 \text{ mmol/l}$ pozorováno zvýšení povrchu.(obrázky 16 a 17). Na objemu kořenů slézu je taktéž pozorován silný toxický efekt. U čiroku bylo pozorováno u všech testovaných koncentrací krom 5 mmol/l zvětšení objemu.(obrázky 18 a 19) U slézu dochází k výraznému snížení průměru kořenů u všech koncentrací. U čiroku lze naopak vy pozorovat stimulaci a zvětšování průměru kořenů, krom koncentrace 5 mmol/l , kdy už je redukce znát.(obrázky 20 a 21)

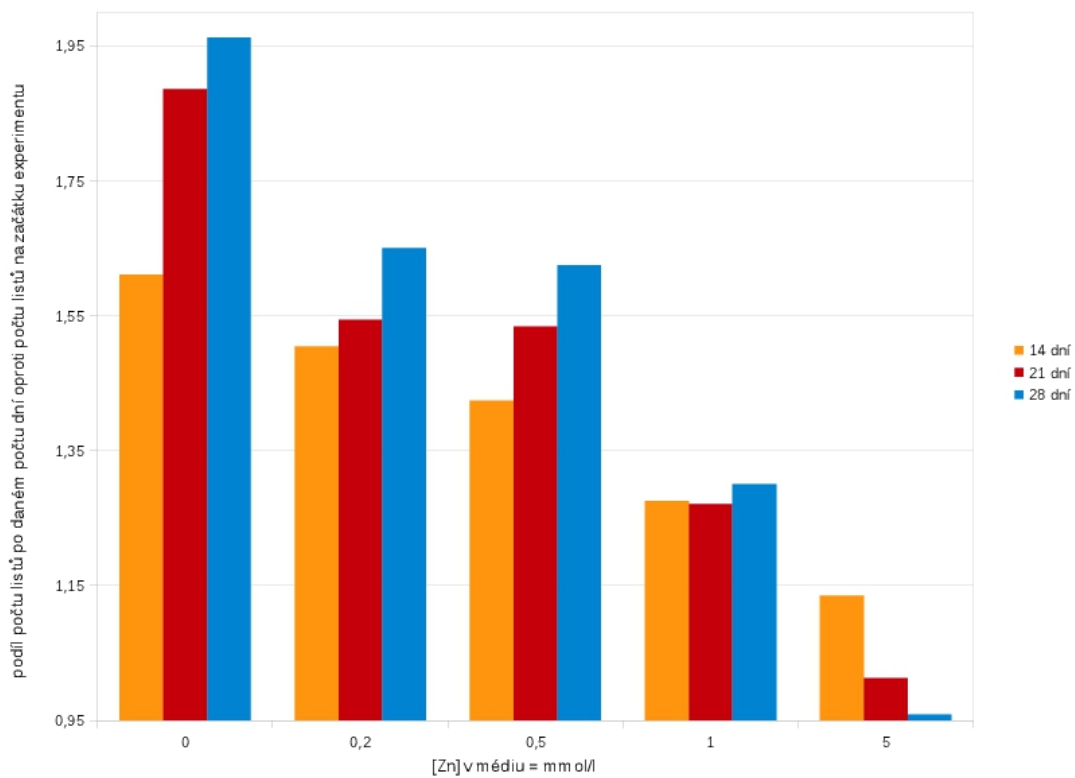
Podobnost grafů u délky, povrchu, objemu a průměru může být způsobena tím, že tyto veličiny nejsou na sobě zcela nezávislé. Rozdíl mezi testovanými rostlinami může být díky obsahu síry a dusíku v rostlinách. Sléz *Malva verticillata* pravděpodobně nemá dost vhodných chelatačních činidel, nebo je není schopen tvořit dostatečně rychle, čirok *Sorghum bicolor* má velkou zásobu síry k tvorbě cysteinu a velkou dostatečnou velkou zásobu dusíku pro tvorbu histidinu, včetně dostatku potřebných enzymů.

6.2 Testy toxicity

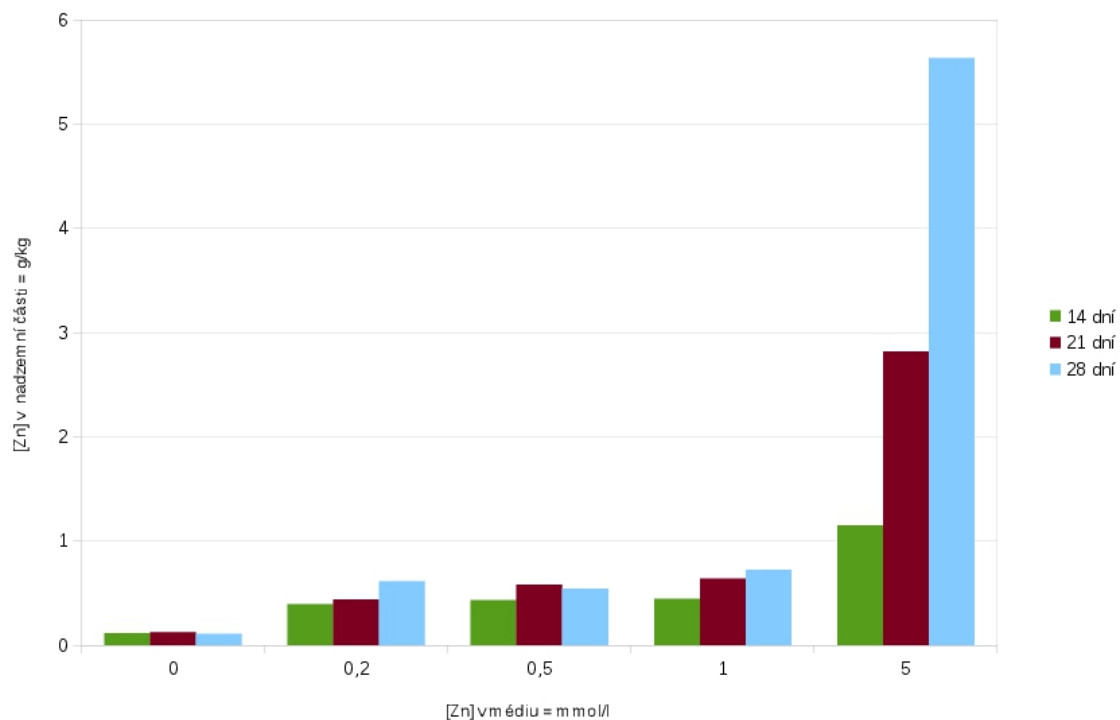
Dle hodnot EC_{50} (tabulka 3) je nejcitlivějším kultivarem vůči zinku Sucrosorgho 506. Naopak nejodolnější jsou kultivary Nutri Honey a Sweet Virginia. Dle strmosti křivky vyplývá, že kultivary citlivé na přítomnost zinku mají velký rozptyl v citlivosti jedinců, naopak kultivary odolné mají rozptyl citlivosti nižší. Na výsledek může mít vliv měření pravítkem, které není dostatečně přesné.



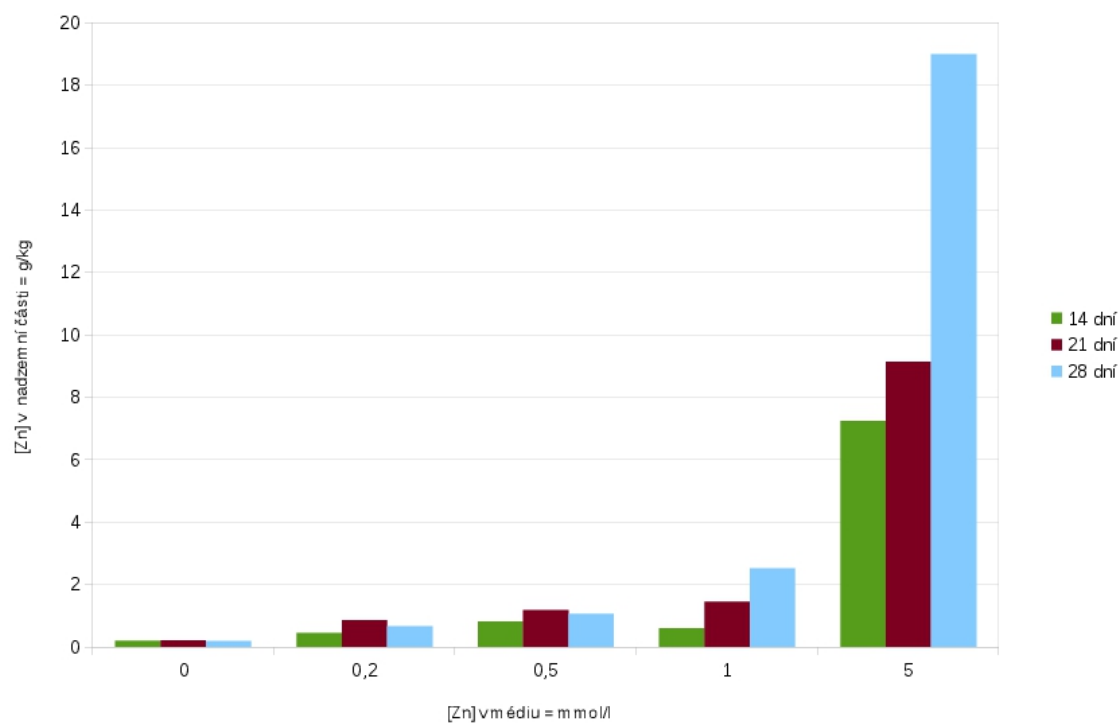
Obrázek 8: Vliv Zn na počet listů *Sorghum bicolor* v čase.



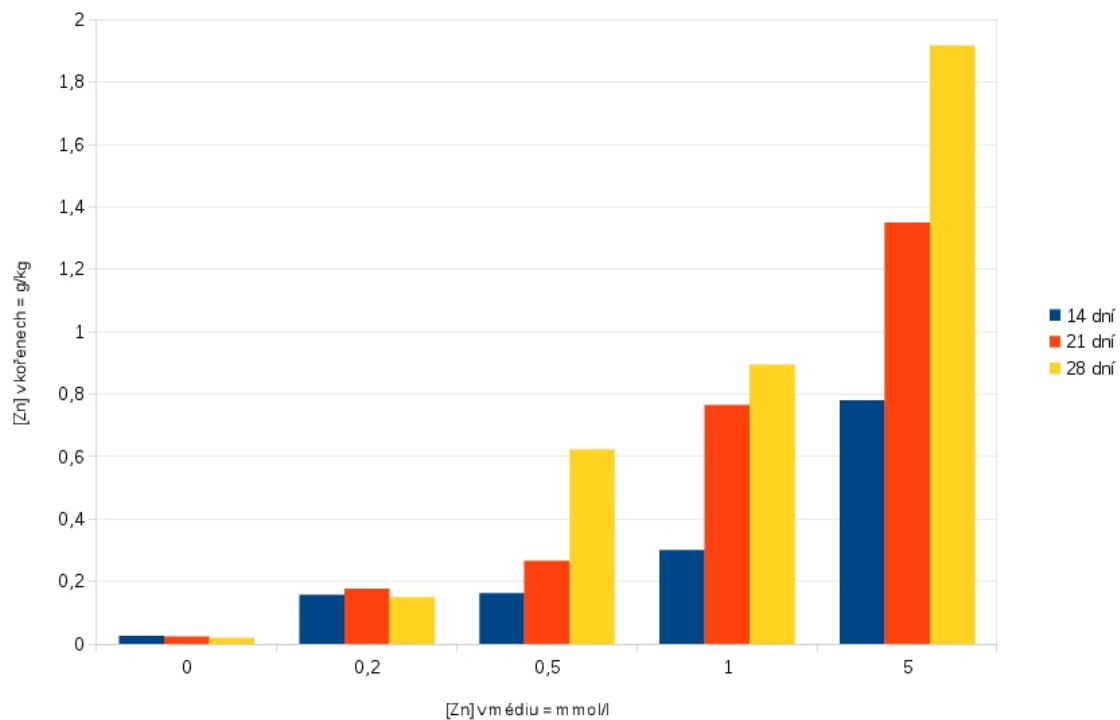
Obrázek 9: Vliv Zn na počet listů *Malva verticilata* v čase



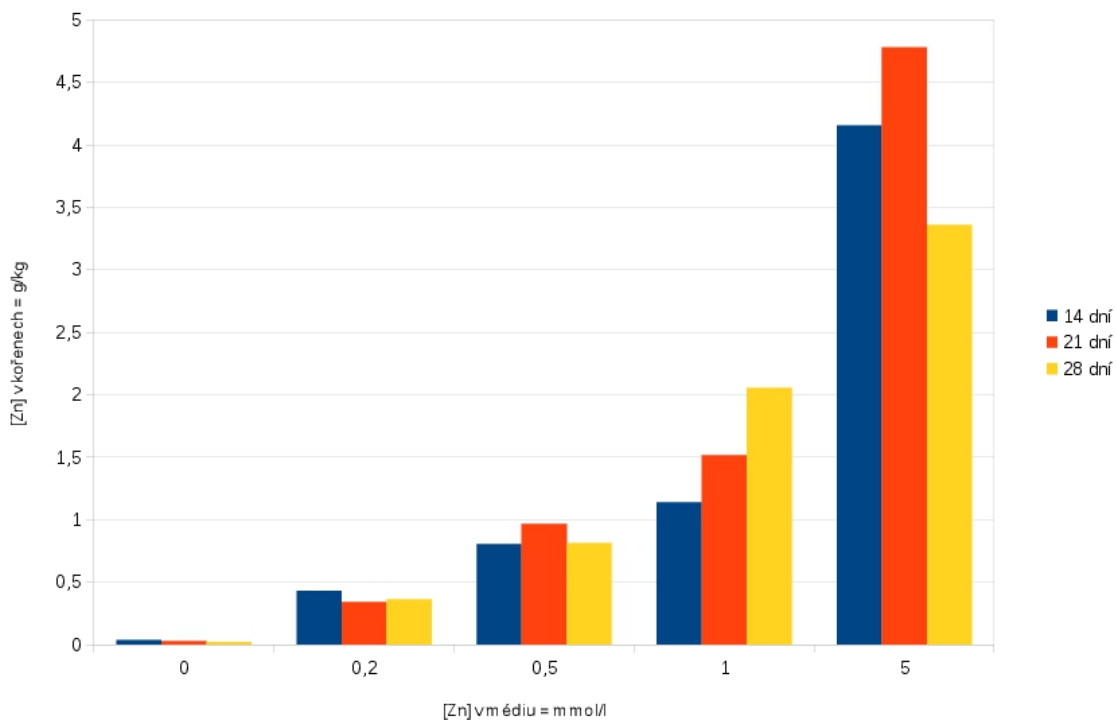
Obrázek 10: Podíl koncentrace v nadzemní části oproti počáteční koncentraci tamtéž v *Sorghum bicolor*



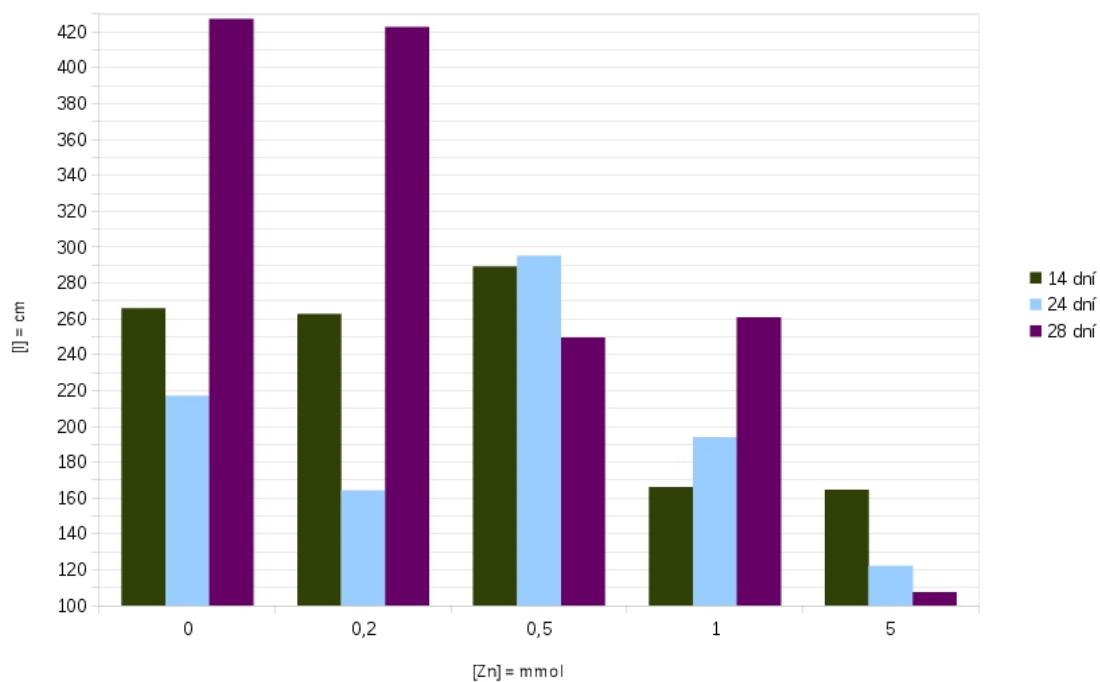
Obrázek 11: Podíl koncentrace v nadzemní části oproti počáteční koncentraci tamtéž v *Malva verticillata*



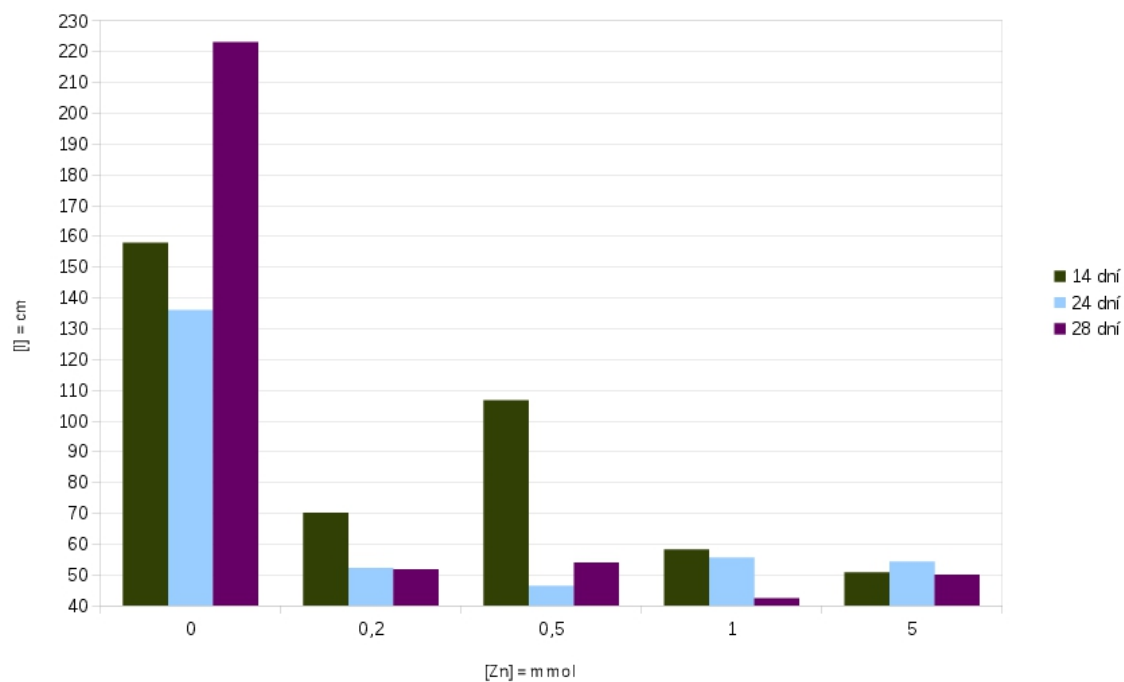
Obrázek 12: Podíl koncentrace v kořenech oproti koncentraci počáteční tamtéž v *Sorghum bicolor*



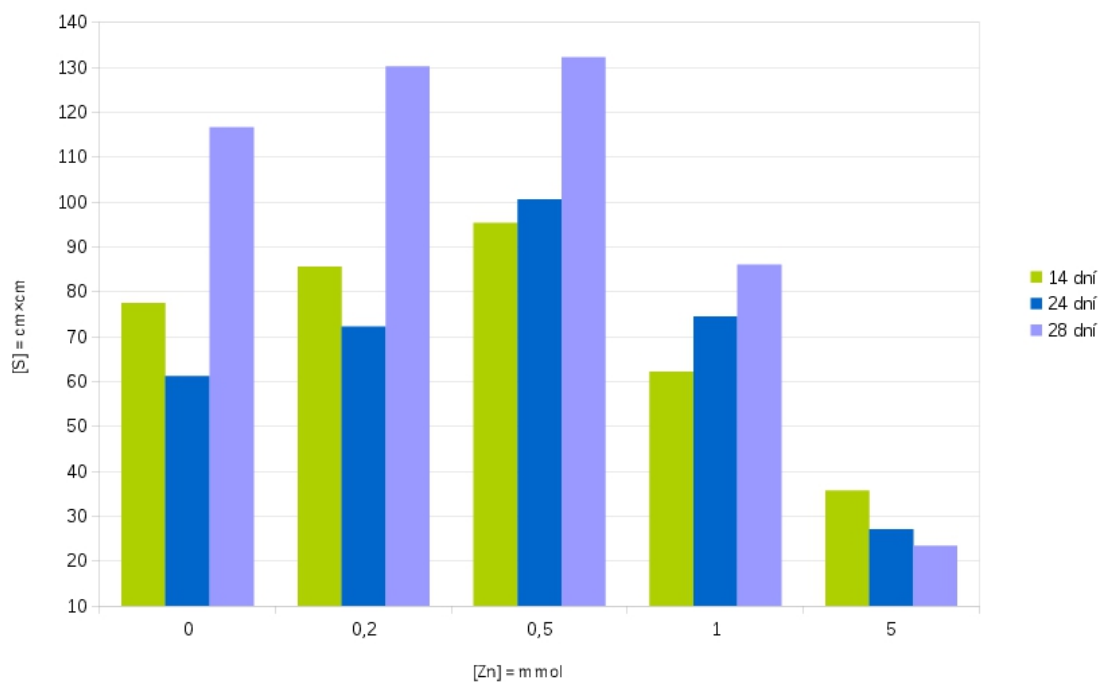
Obrázek 13: Podíl koncentrace v kořenech oproti počáteční koncentraci tamtéž v *Malva verticillata*



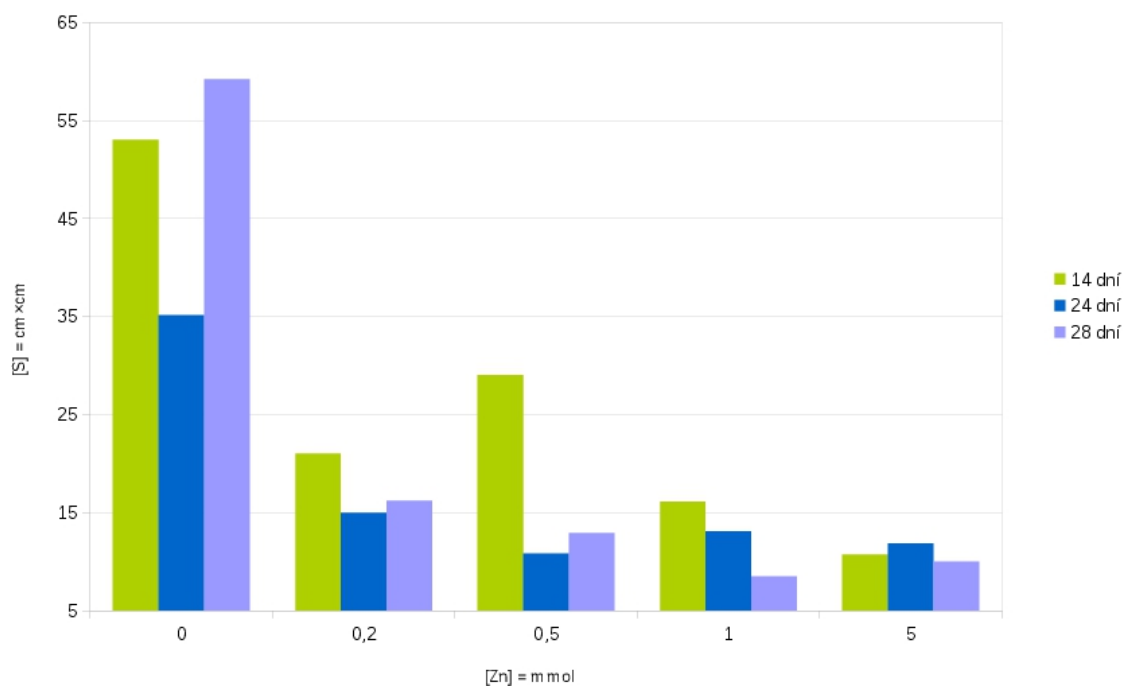
Obrázek 14: Délka kořenů *Sorghum bicolor* v závislosti na koncentraci a čase.



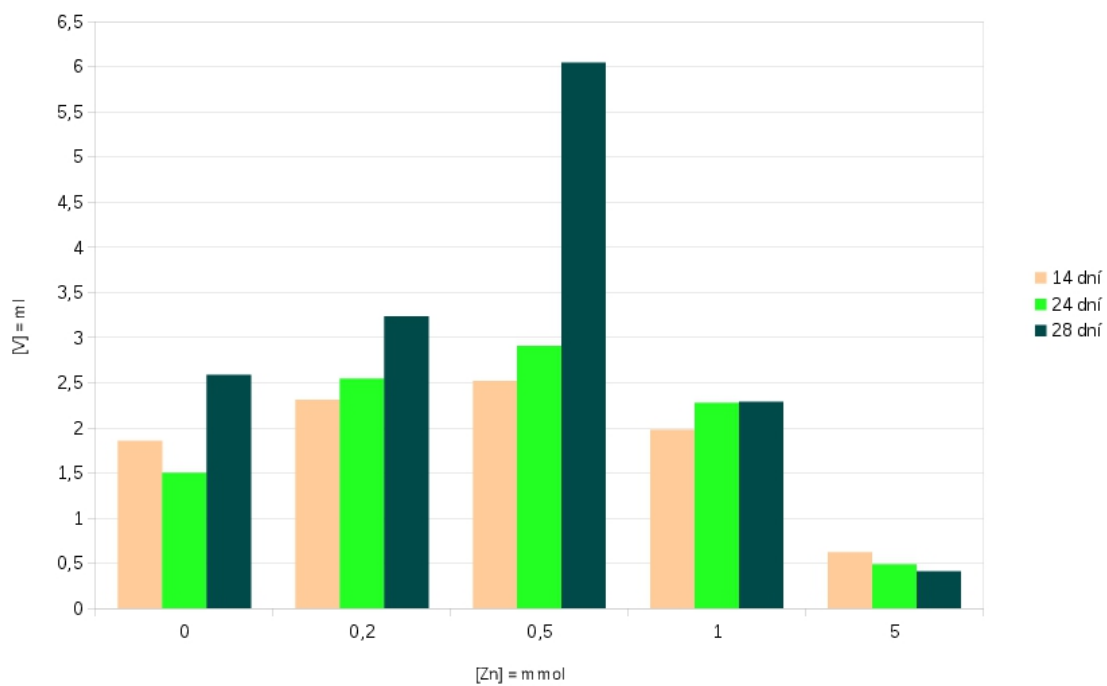
Obrázek 15: Délka kořenů *Malva verticillata* v závislosti na koncentraci a čase.



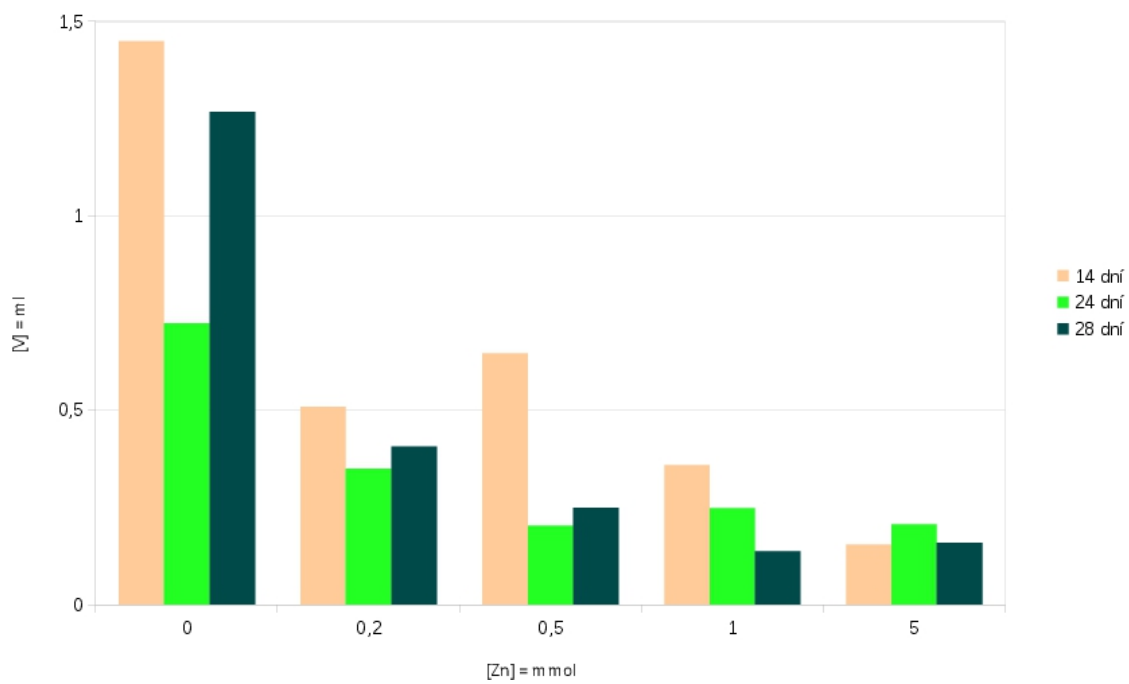
Obrázek 16: Povrch kořenů *Sorghum bicolor* v závislosti na koncentraci a čase.



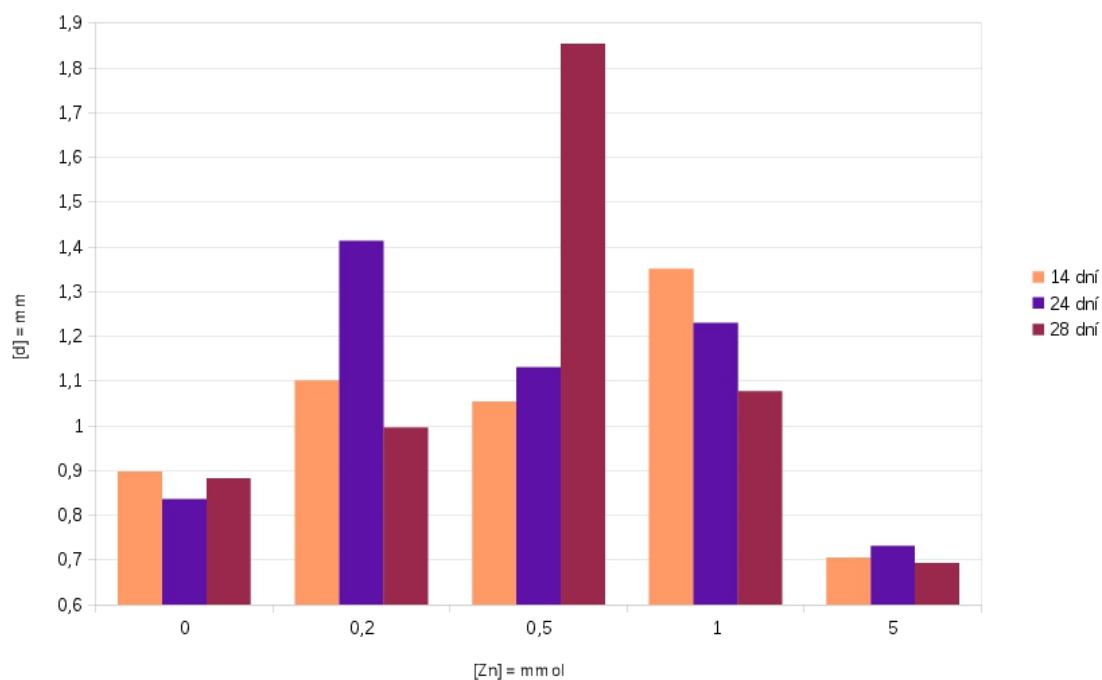
Obrázek 17: Povrch kořenů *Malva verticillata* v závislosti na koncentraci a čase.



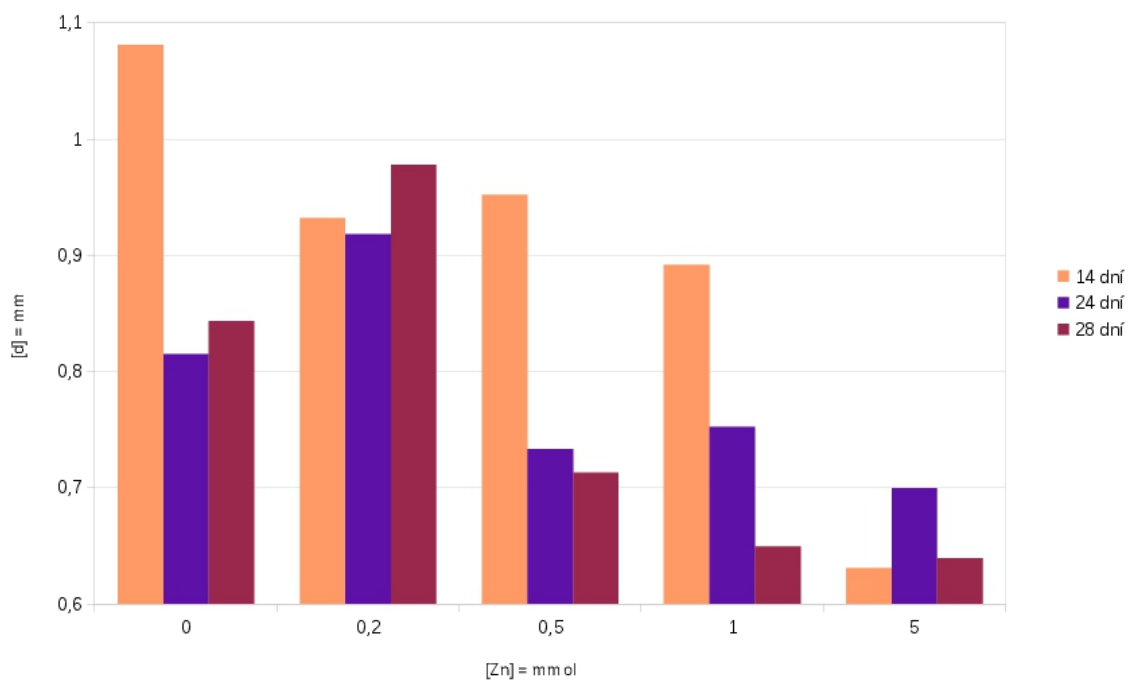
Obrázek 18: Objem kořenů *Sorghum bicolor* v závislosti na koncentraci a čase.



Obrázek 19: Objem kořenů *Malva verticillata* v závislosti na koncentraci a čase.



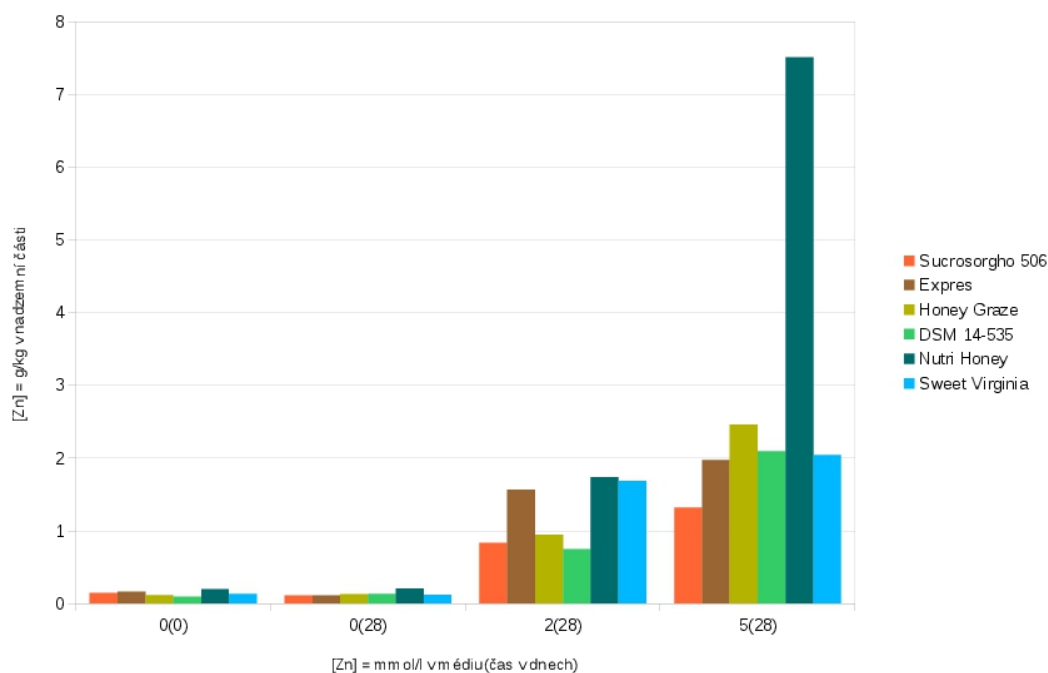
Obrázek 20: Průměrný průměr kořenů *Sorghum bicolor* v závislosti na koncentraci a čase.



Obrázek 21: Průměrný průměr kořenů *Malva verticilata* v závislosti na koncentraci a čase.

Tabulka 3: Testy toxicity

| | EC_{50} (mM) | rozmezí EC_{50} (mM) | směrnice křivky v bodě EC_{50} |
|-----------------|----------------|------------------------|----------------------------------|
| DSM 14-535 | 3,500 | 1,320-9,281 | 0,465 |
| Honey Graze BMR | 4,236 | 3,339-5,373 | 2,649 |
| Sucrosorgho 506 | 1,595 | 0,997-2,552 | 0,508 |
| Expres | 7,070 | 4,205-11,890 | 3,504 |
| Nutri Honey | 8,025 | 4,963-12,980 | 3,997 |
| Sweet Virginia | 8,241 | 4,807-14,130 | 3,452 |

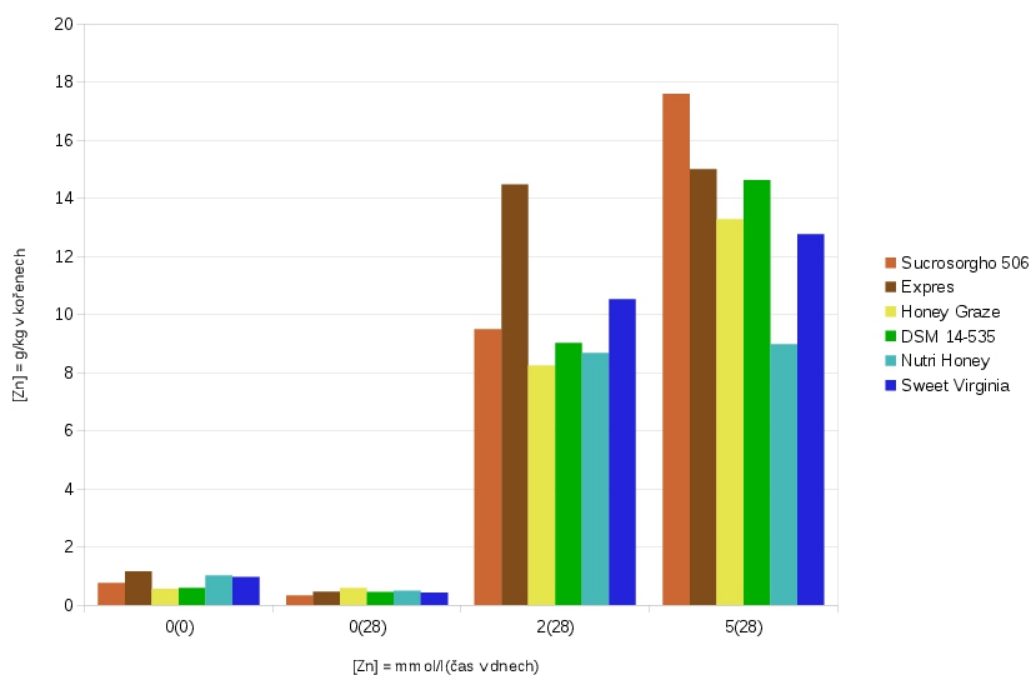


Obrázek 22: Vliv Zn v médiu na kumulaci Zn v nadzemních částech v jednotlivých kultivarů Sorghum bicolor

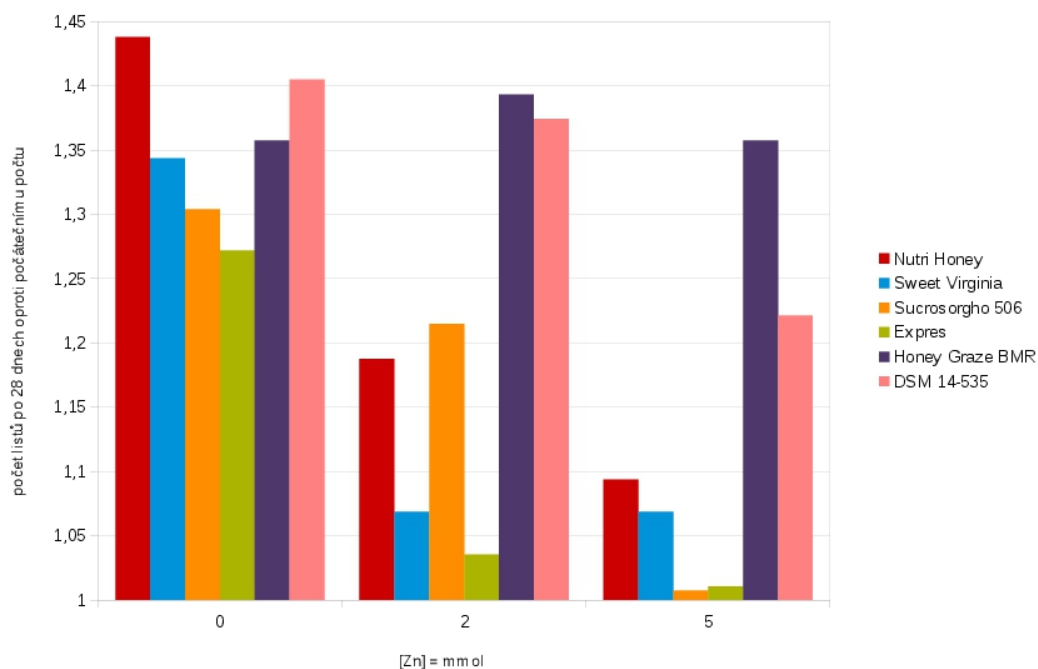
6.3 Srovnání schopnosti akumulovat Zn šesti kultivarů Sorghum bicolor

Byly zaznamenány rozdíly v akumulaci různých druhů kultivarů, byť málo patrné. Koncentrace v rostlinách se časem snižuje. Při koncentraci 2 mmol/l $Zn(NO_3)_2$ nejsou rozdíly mezi kultivary výrazné. U koncentrace 5 mmol/l $Zn(NO_3)_2$ jsou rozdíly vidět lépe. U kultivaru Nutri Honey je nárůst koncentrace v nadzemní části velmi výrazný. Při koncentraci 2 mmol/l tak výrazný není. V kořenech kultivaru Nutri Honey byla pozorována nejnižší koncentrace. Naproti tomu vysoké koncentrace byly pozorovány u kultivarů Sucrosorgho 506 a Expres. Některé odchylky mohou být způsobeny přítomností letálního efektu zinku a malým počtem paralelně pěstovaných rostlin, díky čemuž je jen malé množství dat. (Obrázky 22 a 23)

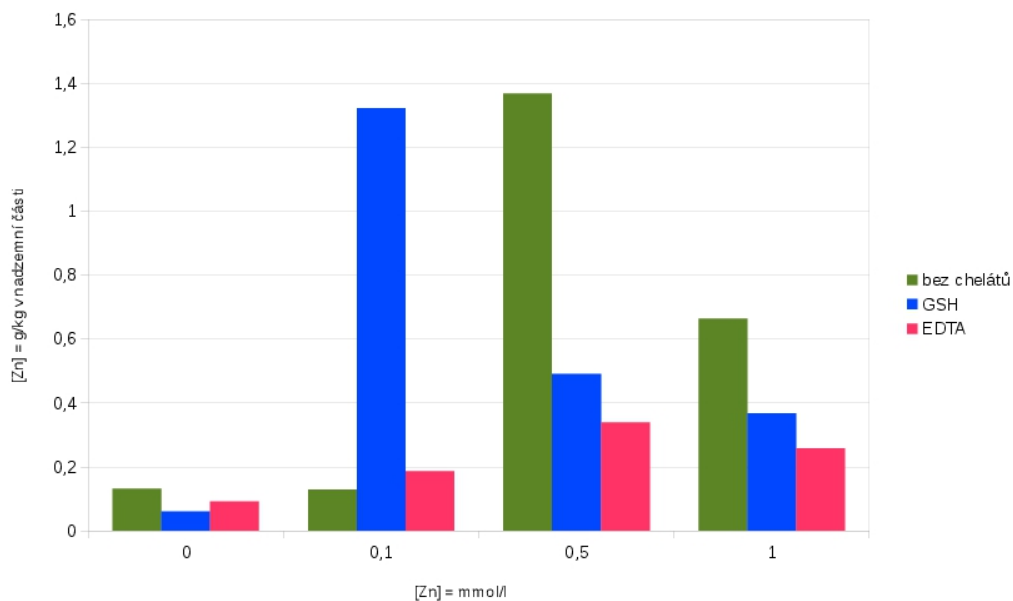
U všech užitých kultivarů dochází po 28 dnech po přidání $Zn(NO_3)_2$ k snižování



Obrázek 23: Vliv Zn v médiu na kumulaci Zn v nadzemních kořenech v jednotlivých kultivarů Sorghum bicolor



Obrázek 24: Vliv přidání Zn na podíl počtu listů po 28 dnech oproti počátečnímu počtu u jednotlivých kultivarů

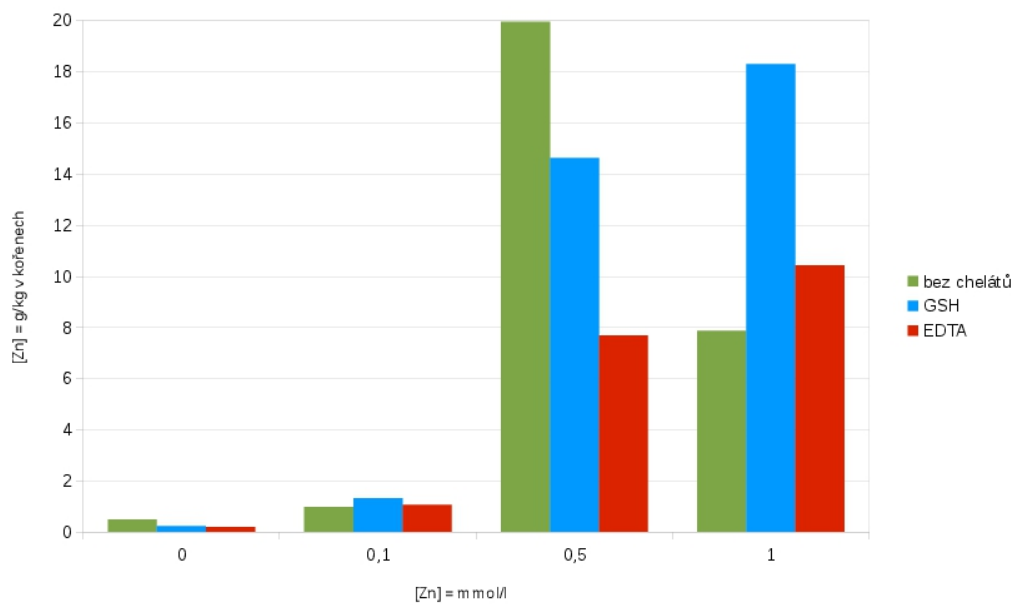


Obrázek 25: Vliv chelátů na obsah Zn v nadzemní části

počtu listů. Nejvýrazněji je to vidět u kultivaru Nutri Honey, u kultivarů Honey Graze BMR a DSM 14-535 je redukce jen slabá. Výrazné snížení počtu listů může být způsobeno vysokou koncentrací zinku v nadzemní části.(obrázek 24)

6.4 Vliv EDTA a GSH na akumulaci

Jak je vidět z obrázku 25, hodnoty naakumulovaného zinku do nadzemní části při zkoumaných koncentracích zřídka překročily hodnotu 0,5 g/kg. S vyšší koncentrací zinku v médiu kumulace do nadzemní části mírně roste. Použití chelatačních činidel kumulaci nijak nezvyšuje, spíše naopak. V kořenech(obrázek 26) kumulace zinku s koncentrací v médiu roste výrazněji, ale použitá chelatační činidla výrazný vliv nemají. Mírně lepší kumulace zinku v kořeni může nastat po použití GSH. Tento efekt může být způsoben tím, že GSH není v rostlinách cizorodou látkou, naopak je důležitý pro chelataci těžkých kovů a tvorbu fytochelatinů. Glutathion se ale se vši pravděpodobností nepodílí na přenosu zinku xylémovým systémem, což vysvětluje jeho nulový vliv na kumulaci zinku v nadzemní části. Pokus je ale ovlivněn velmi malým počtem paralelně pěstovaných rostlin, což může mít za následek příliš vysoké hodnoty u koncentrací zinku v médiu 0,5 mmol/l a 0,1 mmol/l.



Obrázek 26: Vliv chelátů na obsah Zn v kořenech

7 Souhrn

Kontaminace těžkými kovy provází člověka dlouho. S vzrůstající lidskou činností je tato kontaminace stále větším problémem. Těžké kovy působí toxické efekty na všechny organismy a nelze je rozložit. Toxické jsou v nadbytku i esenciální kovy jako zinek. Toxicita těchto kovů se projevuje jak při nadbytku, tak při nedostatku.

Zamořená místa je nutné vyčistit kvůli nutnosti produkovat potraviny. Na čištění difúzně zamořených míst jsou fytoemediace vhodné. Uvažuje se o využití hyperakumulátorů, energetických plodin a transgenních rostlin. Nejvíce nadějí se dává transgenním rostlinám a energetickým plodinám s přidavkem chelatačních činidel. O víc než 20 druhích víme, že akumulují zinek. I když rostlina *Thlaspi caerulescens* kumuluje pozoruhodné množství zinku v nadzemní části, vzhledem k nízké produkci biomasy je pro fytoemediace nevhodná.

Toxicita zinku je viditelná hlavně u vodních organismů. Možným důvodem toxicity zinku je jeho neoddělitelnost od Cd a rovněž vazba metabolismu zinku na metabolismy dalších prvků. Toleranční práh u rostlin je 200 ppm, pak se obvykle projevuje toxický efekt. Toxicita zinku v rostlinách se projevuje ve zvyšování kumulace Cd a Pb, snižování kumulaci Fe a Mn, což patrně vede k blednutí až rezivění listů, které se objevuje. Vysoké koncentrace zinku snižují koncentraci draslíku. Zinek taky tvoří komplexy s fosfáty v nukleových kyselinách. Vysoká koncentrace zinku se rovněž projevuje na počtu listů v rostlinách, na jejich kumulaci zinku v nadzemních částech i v kořenech. Vysoká koncentrace zinku také redukuje kořenový systém, snižuje délku kořenů, povrch, objem i průměr. Při málo zvýšené koncentraci ale zinek může rostliny stimulovat.

Jednotlivé kultivary rostlin se mohou i dost významně lišit. U čiroku *Sorghum bicolor* některé kultivary mají EC_{50} již kolem 1,5 mmol/l, jiné kultivary mají EC_{50} při koncentracích větších než 8,0 mmol/l. Rovněž tak reakce různých kultivarů na přítomnost zinku mohou být různé. Kultivar Nutri Honey sice přenáší relativně vysoké koncentrace Zn do nadzemních částí, ale ty díky tomu trpí úbytkem počtu listů.

Nedostatek zinku se projeví ve snížené absorpci vody, a tím i na koncentraci dusíku v rostlině. Kumulaci zinku lze podpořit chelatačními činidly na bázi síry a dusíku, lze tím dosáhnout zvýšené tvorby biomasy a zvýšené kumulaci v kořenech, nikoliv už ale zvýšené kumulaci zinku v nadzemních částech. GSH, ani EDTA nezvyšují kumulaci zinku v nadzemní části.

8 Závěr

Bylo zjištěno, že *Malva verticilata* je velmi citlivá na stres zinečnatými kationty, naopak *Sorghum bicolor* je odolná rostlina. U *Malva verticilata* se projevuje pouze toxický efekt, ať na počtu listů, celkové délce a celkovém povrchu kořenů, objemu kořenového systému a průměru kořenů. Oproti tomu u *Sorghum bicolor* se objevuje při nižších koncentracích stimulace. *Malva verticilata* ale lépe kumuluje zinek než *Sorghum bicolor*.

Při testech toxicity na 6 kultivarech citlivosti vzrůstaly v řadě Sucrosorgho 506, DSM 14-535, Honey Graze BMR, Expres, Nutri Honey, Sweet Virginia. Rozptyl citlivosti klesá v řadě Nutri Honey, Sweet Virginia, Expres, Honey Graze BMR, Sucrosorgho 506, DSM 14-535.

Ve srovnání akumulace 6 kultivarů čiroku jsou zjevné rozdíly. Velmi výrazný je kultivar Nutri Honey, kde dochází při vyšších koncentracích zinku k výrazné kumulaci do nadzemní části oproti kumulaci v kořenovém systému. Výrazně vyšší kořenové koncentrace mají kultivary Sucrosorgho 506 a Expres. Snížení počtu listů se výrazně projevuje u kultivaru Expres.

Chelatační činidla GSH a EDTA nemají vliv na koncentraci zinku v nadzemní části. Chelatační činidlo GSH může mít ale vliv na koncentraci zinku v kořenech.

Reference

- [1] Zhao, H.; Li, X.; Wang, X.: *Environmental Science and Technology* 45, 7120-7127(2011)
- [2] Zhu, Y.; Yu, H.; Wang, J.; Fang, W.; Yuan, J.; Yang, Z.: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 1045-1052(2007)
- [3] Hawkes, S.J.; *Journal of Chemical Education* 74, 1374(1997)
- [4] Padmarathiamma, P.K.; Li, L.Y.: *Water, Air and Soil Pollution* 184, 105-126(2007)
- [5] Schmidt, U.: *Journal of Environmental Quality* 32, 1939-1954(2003)
- [6] Cherian, S.; Oliviera, M.M.: *Environmental Science and Technology* 39, 9377-9390(2005)
- [7] Memon, A.R.; Schröder, P.: *Environmental Science and Pollution Research* 16, 162-175(2009)
- [8] Pilon-Smith, E.: *Annual Review of Plant Biology* 56, 15-39(2005)
- [9] Alford, É.R.; Pilon-Smith, E.A.H.; Proaschke, M.W.: *Plant and Soil* 337, 33-50(2010)
- [10] Mench, M.; Schwutzguébel, J.-P.; Schröder, P.; Bert, V.; Gawronski, S.; Gupta, S.: *Environmental Science and Pollution Research* 16, 876-900(2009)
- [11] Scholz, V.; Ellerbrock, R.: *Biomass and Bioenergy* 23, 81-92(2002)
- [12] Bassett, W.H.: *The Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 4, 164-167(1912)
- [13] Ebbs, S.D.; Kochian, L.V.: *Journal of Environmental Quality* 26, 776-781(1997)
- [14] Meers, E.; Van Slycken, S.; Adriaensen, K.; Ruttens, A.; Vangronsveld, J.; Du Laing, G.; Witters, N.; Thewys, T.; Tack, F.M.G.: *Chemosphere* 78, 35-41(2010)
- [15] Lai, H.-Y.; Chen, Z.-S.: *International Journal of Phytoremediation* 11, 235-250(2009)
- [16] Moreno, D.A.; Villora, G.; Hernández, J.; Castilla, N.; Romero, L.: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 1964-1969(2002)
- [17] Keller C., v knize *Phytoremediation of Metal Contaminated Soils*(Morel J.-L., Eschevaria G., Genchavova N., ed.), sv. 68, kap. 8, Springer, 2006

- [18] Pohanish R.P.: Sittig's Handbook of Toxic and Hazardous chemicals and Carcinogens, str. 2737-2750, Elsevier, 6. vydání, 2012
- [19] International zinc association [<http://www.zinc.org>], staženo 21.2.2012
- [20] Bertini, I.; Luchinat, C.; Monnanni, R.; Journal of Chemical Education 62, 924-928(1985)
- [21] Schönnenbeck, M.; Neumann, F.: Geschichte des Zink, seine Herstellung und seine Anwendung [http://www.rheinzink.cz/dl.aspx?/media/Geschichte_des_Zink.pdf], staženo 30.1.2012
- [22] Fageria, N.K.; Barbarosa Filho, M.P.; Santos, A.B.: Communication in Soil Science and Plant Analysis 39, 2258-2269(2008)
- [23] Maret, W.; Standstead, H.H.; Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 20, 3-18(2006)
- [24] Forsmith, G.J.: The American Journal of Clinical Nutrition 51, 225-227(1990)
- [25] De Schampelaere, K.A.C.; Janssen, C.R.: Environmental Science and Technology 38, 6201-6209(2004)
- [26] Prasad A.S., v knize Nutritional Bioavailability of Zinc(Inglett G.E., ed.), sv 210, kap. 1, American Chemical Society, 1983
- [27] Kidd, P.S.; Díez, J.; Monterroso Martínez, C.: Plant and Soil 258, 189-205(2004)
- [28] Kashem, A.; Ram Sing, B.; Kubota, H.; Sugawara, R.; Kitajima, N.; Kondo, T.; Kawai, S.: Environmental Science and Pollution Research 17, 1174-1176(2010)
- [29] Dhankhar, R.; Solanku, R.: International Journal of Pharma and Bio Sciences 2, 553-565(2011)
- [30] Yi-chang, W.; You-lu, B.; Ji-yun, J.; Li-ping, Y.; Zhong, Y.; Sixin, X.; Guo-an, L.; Wei, S.; Chou-mei, Z.: Rice Science 14, 223-228(2007)
- [31] Borůvka L., Vácha R., v knize Phytoremediation of Metal Contaminated Soils(Morel J.-L., Eschevaria G., Genchavova N., ed.), sv. 68, kap. 9, Springer, 2006
- [32] Tlustoš, P.; Száková, J.; Vysloužilová, M.; Pavlíková, D.; Weger, J.; Javoská, H.: Central European Journal of Biology 2, 254-275(2007)
- [33] Zhuang, P.; Shu, W.; Li, Z.; Liao, B.; Li, J.; et all: Journal of Environmental Science 21, 1432-1437(2009)

- [34] Vangronsveld, J.; Herzig, R.; Weyens, N.; Bovlet, J.; Adriaensen, K.; Ruttens, A.; Thewys, T.; Vassilev, A.; Meers, E.; Nehnevajova, E.; van der Leie, D.; Mench, M.: *Environmental Science and Pollution Research* 16, 765-794(2009)
- [35] Macek T., Uhlík O., Ječná K., Nováková M., Lovecká P., Rezek J., Dudková V., Štursa P., Vrchotová V., Pavlíková D., v knize *Advances in applied Bioremediation*(Sing A., Kuhad R.C., Ward O.P., ed.), sv. 17, kap 14, Springer, 2009
- [36] Del Rio-Celestino, M.; Font, R.; Moreno-Rojas, R.; De Haro Bailón, A.: *Industrial Crops and Products* 24, 230-237(2006)
- [37] Lehto, N.J.; Davison, W.; Thang, H.; Tych, W.: *Plant and Soil* 282, 227-238(2006)
- [38] Boyd, R.S.: *Plant and Soil* 293, 153-176(2007)
- [39] Shi, G.; Cai, Q.: *Biotechnology Advances* 27, 555-561(2009)
- [40] Robinson, B.; Leblanc, M.; Petit, D.; Brooks, R.; Kirkman, J.; Gregg, P.: The potential of some plant hyperaccumulators for phytoremediation of contaminated soils [<http://www.natres.psu.ac.th/Link/SoilCongress/bdd/symp38/102-t.pdf>], staženo 18.3.2012
- [41] Manousaki, E.; Kalogerakis, N.: *Industrial and Engineering Chemistry Research* 50, 656-660(2011)
- [42] <http://www.ec.gc.ca/Publications/default.asp?langEn&xml=B8A7B13F-FF7B-4375-BBAF-2DE33346C127>, staženo 25.1.2012
- [43] Bidar, G.; Pruvot, C.; Garcon, G.; Verdin, A.; Shirali, P.; Douay, G.: *Environmental Science and Pollution Research* 16, 42-53(2009)
- [44] Tlustoš P., Pavlíková D., Száková J. a Balík J., v knize *Phytoremediation of Metal Contaminated Soils*(Morel J.-L., Eschevaria G., Genchavova N., ed.), sv. 68, kap. 3, Springer, 2006
- [45] Reeves R.D., v knize *Phytoremediation of Metal Contaminated Soils*(Morel J.-L., Eschevaria G., Genchavova N., ed.), sv. 68, kap. 2, Springer, 2006
- [46] Chiang, H.-C.; Loi, J.-C.; Yeh, K.C.: *Environmental Science and Technology* 40, 6792-6798(2006)
- [47] McGrath, S.P.; Zhao, F.-J.: *Current Opinion in Biotechnology* 14, 277-282(2003)

- [48] Prasad, M.N.V.; de Oliveira Freitas: *Electronic Journal of Biotechnology* 6, Metal hyperaccumulation in plants - Biodiversity prospecting for phytoremediation technology 2003 [<http://www.ejbiotechnology.info/index.php/ejbiotechnology/article/view/v6n3-6/617>]
- [49] Zhang, S.; Chen, M.; Li, T.; Xu, X.; Deng, L.: *Journal of Hazardous Materials* 173, 705-709(2010)
- [50] Monti, A.; Di Virgilio, N.; Venturi, G.: *Biomass and Bioenergy* 32, 216-223(2008)
- [51] Lewadowski, I.; Scurlock, J.M.O.; Lindvall, E.; Christou, M.: *Biomass and Bioenergy* 25, 335-361(2003)
- [52] Turki, D.A.; Al Jamoli, M.; Kanbar, A.: *Advances in Environmental Biology* 5(11), 3504-3510(2011)
- [53] Heaton, E.A.; Flavell, R.B.; Mascia, P.N.; Thomas, S.R.; Dohleman, F.G.; Long, S.P.: *Current Opinion in Biotechnology* 19, 202-209(2008)
- [54] Moffar, A.J.; Armstrong, A.T.; Ockleston, J.: *Biomass and Bioenergy* 20, 161-169(2001)
- [55] Tlustoš, P.; Száková, J.; Hrubý, J.; Hartman, I.; Najmanová, J.; Nedělník, J.; Pavlíková, D.; Batysta, M.: *Plant and Soil Environment* 52, 413-423(2006)
- [56] Zegada-Lizarazu, W.; Monti, A.: *Biomass and Bioenergy* 35, 12-25(2011)
- [57] Suehiro, S.: Čirok(sorghum) [<http://www.botanic.jp/plants-ka/grasor.html>], staženo 25.4.2012
- [58] Geleta, M.; Fastin, M. Bryngelsson, T.: *Annals of Botany* 105, 471-480(2010)
- [59] Türe, S.; Uzun, D.; Türe, I.E.: *Energy* 22, 17-19(1997)
- [60] Vlasta Petříková: Rostliny pro energetick účely [www.mpo-efekt.cz/dokumenty/99_8089.pdf], staženo 10.4.2012
- [61] <http://www.rostliny.net/> , staženo 11.3.2012
- [62] Watashinohanazukan: *Malva verticillata* [<http://www.mitomori.co.jp/hana3/hana2.2.92huyuo.html>], staženo 25.4.2012
- [63] Celka, Z.; Drapnikowska, M.: *Vegetation History and Archaeobotany* 17, 251-255(2008)

- [64] Tang, Y.; Gilbert, M.G.; Dorr, L.J.: *Flora of China* 12, 264-299(2007)
- [65] <http://www.malvaceae.info/Genera/Malva/> , staženo 11.3.2012
- [66] G3rcia, P.E.; Sch6nswetter, P.; Aquilar, J.F.; Feliner, G. N.; Schneeweis, G.M.: *Molecular, Phylogenetics and Evolution* 50, 226-239(2009)
- [67] Celka, Z.; Szczecińska, M.; Sawicki, J.: *Biodiversity Research and Conservation* 19, 23-32(2010)
- [68] Sturterant, E.L.: *The American Naturalist* 23, 665-677(1889)
- [69] Kristofferson, K.B.: *Hereditas* 7, 233-354(1925)
- [70] Li, H.-L.: *Economic Botany* 23, 253-260(1969)