

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta,
Ústav geochemie, mineralogie a nerostných zdrojů

Fytoremediace kontaminovaných půd pomocí chelátů

Bakalářská práce

Veronika Petráňová



Vedoucí bakalářské práce: Doc. RNDr. Vojtěch Ettler, PhD.

Praha 2009

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji vedoucímu mé bakalářské práce panu Doc. RNDr. Vojtěchu Ettlerovi, PhD. za trpělivost a odbornou pomoc.

OBSAH

1. ÚVOD	1
2. PŘÍJEM ŽIVIN ROSTLINAMI KOŘENOVÝM SYSTÉMEM.....	2
3. FYTOREMEDIACE	2
3.1 Fytoremediace kovů, polokovů a radionuklidů.....	2
3.1.1 Fytoextrakce	2
3.1.1.1. Dostupnost kovů pro rostliny	5
3.1.1.2. Mechanizmy tolerance u hyperakumulátorů	5
3.1.1.3. Fytoextrakce arzenu (As)	6
3.1.1.4. Fytoextrakce chromu (Cr)	6
3.1.1.5. Fytoextrakce mědi (Cu).....	7
3.1.1.6. Fytoextrakce rtuti (Hg).....	7
3.1.1.7. Fytoextrakce niklu (Ni)	7
3.1.1.8. Fytoextrakce olova (Pb)	7
3.1.1.9. Fytoextrakce zinku (Zn)	8
3.1.1.10. Fytoextrakce kadmia (Cd).....	8
3.1.1.11. Fytoextrakce radionuklidů.....	8
3.1.2 Fytostabilizace.....	9
3.1.3 Fytovolatilizace	9
3.1.4 Rhizofiltrace	10
3.2 Fytoremediace organických polutantů.	10
3.2.1 Fytodegradace	10
3.2.2 Rhizodegradace	10
4. CHELATAČNÍ ČINIDLA	10
4.1 Organické kyseliny.....	11
4.1.1 Stabilita komplexů.....	11
4.1.2 Příklady studií	14
4.2 Chloridy.....	14
5. ZÁVĚR.....	16
6. POUŽITÁ LITERATURA.....	17

1. ÚVOD

V posledních dvou desetiletích se zvýšil zájem o životní prostředí a s ním prudce vzrostl rozvoj enviromentálních věd. Velkým problémem v dnešní době je zejména znečištění přírodních ekosystémů různými polutanty produkovanými lidskou činností. Cílem je najít efektivní metodu, která by byla účinná, ekonomická, proveditelná v rozumné časové škále a samozřejmě příznivá pro životní prostředí (do Nascimento a Xing, 2006). Takovou novou metodou je fytoremediace, při které jsou polutanty z přírodního prostředí odstraňovány pomocí rostlin nebo dochází k jejich imobilizaci kořeny rostlin. Dle mechanismů, jež se při fytoremediaci uplatňují ji můžeme rozdělit na více technik, kterými jsou fytoextrakce, fytovolatilizace, fytostabilizace, rhizofiltrace, rhizodegradace a fytodegradace (EPA, 2000). Úspěšnost remediačních technik závisí především na dostupnosti polutantů pro rostliny, zejména kovových a polokovových kontaminantů a radionuklidů. Pro zvýšení dostupnosti jsou do půdy aplikována chelatační činidla, která vytvářejí s kovy/polokovy komplexy snáze absorbovatelné kořeny rostlin (do Nascimento a Xing, 2006).

2. PŘÍJEM ŽIVIN ROSTLINAMI KOŘENOVÝM SYSTÉMEM

Základ organických látek tvoří C, O a H. Vedle těchto prvků potřebují rostliny ke svému životu prvky minerální, některé z nich plní v rostlinách důležité funkce a jsou proto nenahraditelné, takovéto prvky se označují jako esenciální. Minerální prvky obsažené v rostlinách se dělí na makrobiogenní a mikrobiogenní. Do makrobiogenních prvků patří zejména N, K, Ca, Mg, P, S. Makrobiogenní je označujeme pro svůj obsah v sušině, který je vyšší než 1000 mg/kg. K mikrobiogenním prvkům řadíme Cl, B, Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Mo a jejich obsah v sušině je nižší než 100 mg/kg. V půdě jsou minerální prvky rozpuštěny v roztocích, ze kterých je rostlina přijímá ve formě kationtů nebo aniontů. Rostliny při dýchání uvolňují do půdy CO_2 , který tvoří s vodou H_2CO_3 . H_2CO_3 disociuje na vodíkový iont H^+ a hydrogenuhličitanový iont HCO_3^- . Vodíkové kationty nahrazují kationty prvků adsorbované na negativně nabitý povrch půdních částic, dochází tedy k uvolnění potřebných kationtů do půdy, zatímco HCO_3^- jsou na povrchu kořene nahrazovány anionty rozpuštěnými v půdním roztoku (Pavlová, 2005).

3. FYTOREMEDIACE

Výhody a omezení fytořediačních technik jsou uvedeny v Tab. 1.

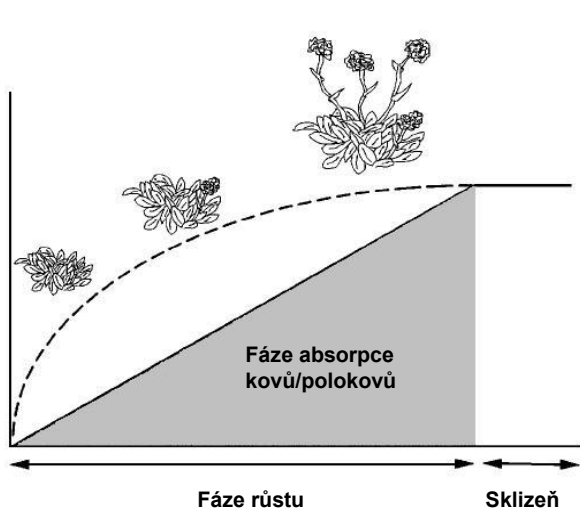
Výhody	Omezení
Aplikace na širokou škálu anorganických a organických kontaminantů.	Efektivita je limitována hloubkovým dosahem kořenů, rozpustností a dostupností kontaminantů.
Není potřeba drahého technického zařízení a vysoce specializovaného personálu.	Fytořediace může probíhat jen v oblastech, kde koncentrace polutantů nejsou tak vysoké.
Aplikace <i>in situ</i> .	S rostlinami použitými pro fytoextrakci musí být po sklizni nakládáno jako s nebezpečným odpadem.
Fytořediace je mnohem méně finančně náročná než běžné řediační metody.	Rostliny jsou závislé na klimatu a na ročním období.
Rostliny jsou levným a obnovitelným zdrojem.	Kontaminanty se mohou uvolňovat do životního prostředí nebo mohou být součástí potravního řetězce.
Fytořediace je příznivá pro přírodní prostředí.	Látky přidávané do půdy a kulturační praktiky mohou mít negativní vliv na mobilitu kontaminantů.

3.1 Fytořediace kovů, polokovů a radionuklidů

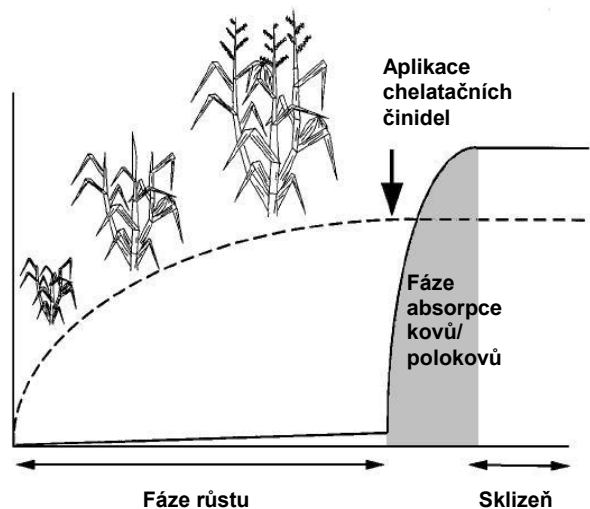
3.1.1 Fytoextrakce

Tato technika je založena na transportu kontaminantů kořenovým systémem rostliny do jejich nadzemních částí, kde dochází k akumulaci. Akumulované polutanty jsou po sklizni zničeny spolu s rostlinou. Fytoextrakce je často aplikována na půdy kontaminované kovy a polokovy (do

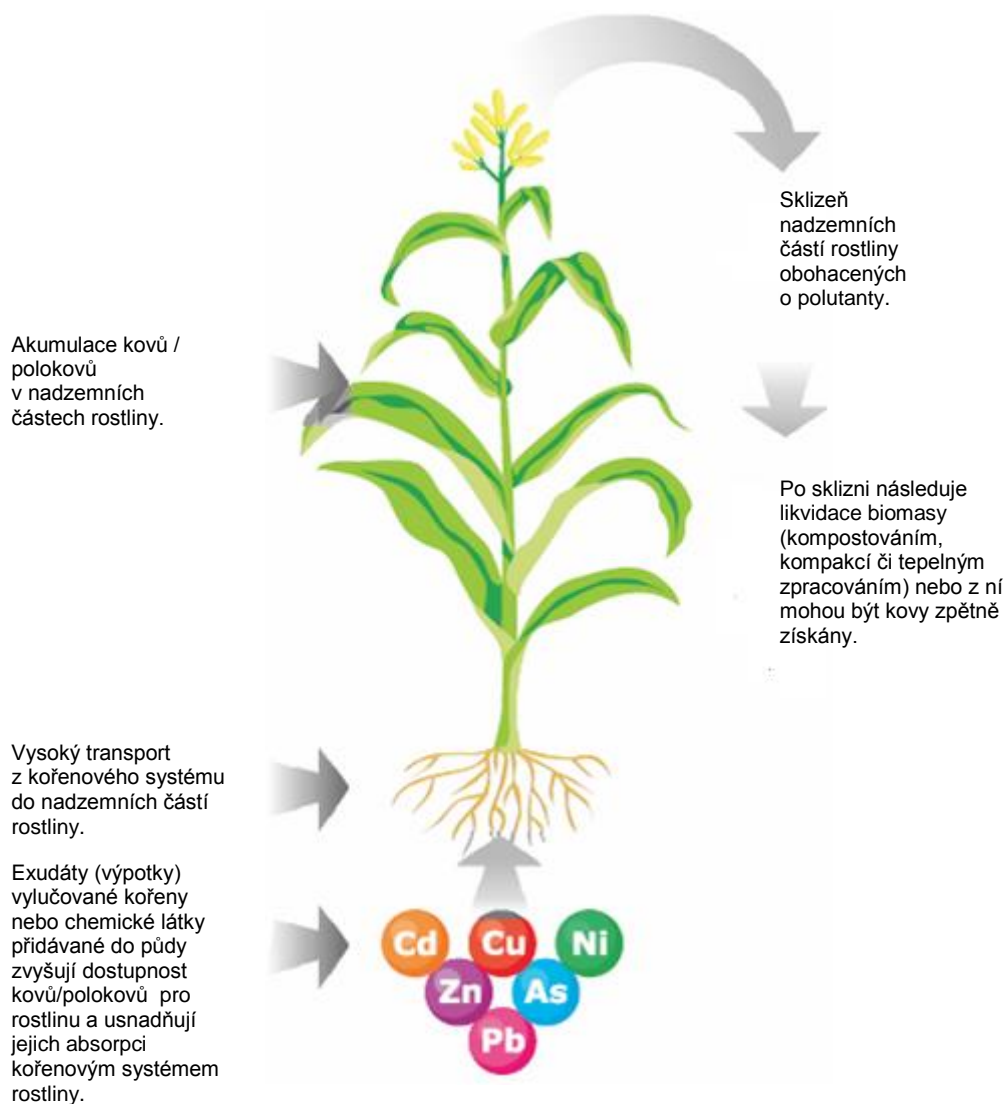
Nascimento a Xing, 2006) (Obr. 3). Fytoextrakci dělíme na přirozenou (Obr. 1) a chemicky asistovanou (Obr. 2) (rozdíly mezi přirozenou a chemicky asistovanou fytoextrakcí jsou uvedeny v Tab. 2). V dnešní době se v praxi používá zejména chemicky asistovaná fytoextrakce, kdy se do půdy před sklizní rostlin přidávají chelatační činidla, která tvoří s kovy či polokovy komplexy snáze absorbovatelné rostlinami. Nejvíce se využívají plodiny s vysokou produkcí biomasy jako je kukuřice, hrách, oves, rýže a hořčice (Salt a kol., 1998). K přirozené fytoextrakci dochází u rostlin, které samovolně akumulují vysoká množství kovů a polokovů. Tyto rostliny se souhrnně označují jako hyperakumulátory (Raskin a kol., 1997) (příklady hyperakumulátorů jsou uvedeny v Tab. 3). Aby byla rostlina označena jako hyperakumulátor musí akumulovat tyto minimální koncentrace: 100 $\mu\text{g/g}$ sušiny pro Cd, 1000 $\mu\text{g/g}$ sušiny pro Ni, Cu, Co a Pb a 10000 $\mu\text{g/g}$ sušiny pro Zn a Mn (Baker a Brooks, 1989). Zástupci hyperakumulátorů byly nalezeny v 45 čeledích, z nichž největší zastoupení mají v čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*) (Reeves a Baker, 2000).



Obr. 1. Schematické znázornění přirozené fytoextrakce. Plná čára znázorňuje koncentrace kovů v biomase. Přerušovaná čára znázorňuje produkci biomasy rostlinou (Salt a kol., 1998).



Obr. 2. Schematické znázornění chemicky asistované fytoextrakce. Plná čára znázorňuje koncentrace kovů v biomase. Přerušovaná čára znázorňuje produkci biomasy rostlinou (Salt a kol., 1998).



Obr. 3. Schematická reprezentace procesů uplatňujících se při fytoextrakci kovů/polokovů z půd. (do Nascimento a Xing, 2006).

Přírozená fytoextrakce	Chemicky asistovaná fytoextrakce
Rostliny jsou přirozenými akumulátory polutantů.	Za normálních okolností rostliny polutanty neabsorbují.
Rostliny mají přirozenou schopnost extrahovat vysoké množství kontaminantů.	Pro zvýšení efektivity jsou využity organické kyseliny a syntetické cheláty.
Schopnost poměrně rychlého transportu kontaminantů z kořenového systému do nadzemních částí rostlin.	Využití chemických prostředků pro zlepšení transportu z kořenů do nadzemních částí.
Přírozené hyperakumulátory tolerují vysoké obsahy polutantů ve svých pletivech.	Rostliny mají nízkou toleranci k obsahu polutantů, umělé zvyšování absorpce vede k jejich úhynu.
Riziko vyloužení kovů do podzemní vody zde nehrozí.	U chemicky asistované fytoextrakce existuje riziko vyloužení chelátů s kovem do podzemní vody.
Do této skupiny patří většinou rostliny pomalu rostoucí a mají malou produkci biomasy.	Rostliny rychle rostou a mají velkou produkci biomasy.

Tab. 3. Příklady hyperakumulátorů.	
Polutant	Rostliny
Ni	<i>Alyssum lesbiacum</i> (Kerbeb a Krämer, 2003) Brukev sítinovitá (<i>Brassica juncea</i>) (Kerbeb a Krämer, 2003). <i>Thlaspi geosingense</i> (Krämer a kol., 1997). <i>Berkheya coddii</i> (Angle a kol., 2003).
Zn	Penízek modravý (<i>Thlaspi caerulescens</i>) (Robinson a kol., 1998) <i>Sedum alfredii</i> H. (Yang a kol., 2006)
Cd	Penízek modravý (<i>Thlaspi caerulescens</i>) (Robinson a kol., 1998) rod huseníček (<i>Arabidopsis</i>) (Lee a kol., 2003)
Pb	Brukev sítinovitá (<i>Brassica juncea</i>) (Liu a kol., 2000)
Cr	Slanobýl draselný (<i>Salsola kali</i>) (Gardea-Torresdey a kol., 2005)
Cu	Vrby (<i>Salix</i>) (Kuzovkina a Quigley, 2005).
As	Křídelnice (<i>Pteris vittata</i>) (Tu a kol., 2004)
¹³⁷ Cs	Laskavec krvavý (<i>Amaranthus cruentus</i>) Laskavec ocasatý (<i>Amaranthus caudatus</i>) (Duschenkov a kol., 1999) Laskavec ohnutý (<i>Amaranthus retroflexus</i>)

3.1.1.1. Dostupnost kovů pro rostliny

Proces fytoextrakce nastává pokud je iont kovu/polokovu či radionuklidu pro rostlinu biologicky dostupný, tato dostupnost pak závisí na jeho rozpustnosti v půdním roztoku. Například Zn a Cd jsou v půdě primárně přítomny v relativně dostupné formě. Naopak Pb se vyskytuje vázáno hlavně v nerozpustných sloučeninách a je proto mnohem méně dostupné než výše zmíněné prvky (Crowley a kol., 1991). Nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím dostupnost kontaminantů v půdě je pH. V kyselých půdách je uvolnění kovů z vazebných pozic stimulováno H⁺ ionty, které se váží místo nich. Také rostliny samy mohou regulovat rozpustnost kovů v prostředí rhizosféry, pokud kořeny vylučují H⁺ ionty nebo organické látky, např. kyselinu jablečnou či kyselinu citrónovou (Lešřan, 2006). Mechanismus uvolňování H⁺ byl pozorován u dvouděložných rostlin, u kterých došlo reakcí na nedostatek Fe k vylučování těchto protonů a k následnému zvýšení mobility Fe v prostředí rhizosféry (Crowley a kol., 1991). Mnohé studie prokázaly, že snižování pH půdy snižuje adsorpci kovů na půdní částice a tím zvyšuje jejich koncentraci v půdním roztoku (Harter, 1983). Dostupnost kovů/polokovů a radionuklidů v půdě také ovlivňuje obsah jílových minerálů a organické hmoty (Lešřan, 2006).

3.1.1.2. Mechanizmy tolerance u hyperakumulátorů

U hyperakumulátorů se v průběhu času vyvinuly vysoce specializované mechanismy příjmu, transportu a detoxifikace akumulovaných polutantů. Uvnitř hyperakumulátorů musí probíhat intenzivní transport prvků z kořenů do nadzemních částí rostlin, jenž je zprostředkováván pomocí transportních proteinů, se kterými ionty kovů a polokovů vytvářejí vazby (Lasat a kol., 1996). Chelatací kovových/polokovových iontů uvnitř buněk se hyperakumulátory vyrovnávají s vysokými obsahy polutantů. Chelatace je proces, při němž vznikají komplexy kovů a polokovů s cheláty. Mezi cheláty vytvářené rostlinami řadíme organické kyseliny, aminokyseliny, peptidy a proteiny (Robinson a

kol., 1993). Například při detoxikaci Cd (Salt a kol., 1995) a Zn (Lasat a kol., 1996) jsou důležité organické kyseliny. K detoxikaci Ni dochází pomocí histidinu u hyperakumulátoru penízku modravého (*Thlaspi goesingense*) (Krämer a kol., 1997). Detoxikace Co je způsobena cysteinem (Oven a kol., 2002).

Ionty kovů mohou být rozčleněny do třech skupin dle jejich vazebných preferencí. První skupinou je skupina A, patří do ní kovy, které tvoří vazby s O. Do druhé skupiny, B, patří kovy tvořící vazby s N a S. Třetí skupinou jsou kovy přechodné. Do třídy B a přechodných kovů náleží téměř všichni zástupci těžkých kovů. Afinita kovových iontů třídy B k ligandům obsahujícím N a S roste v následujícím pořadí $Mn^{2+} < Zn^{2+} < Ni^{2+} < Fe^{2+} = Co^{2+} < Cd^{2+} < Cu^{2+} < Pb^{2+}$ (Nieboer a Richardson, 1980). Velmi důležitá je afinita kovů k SH skupinám cysteinu, který obsahuje peptidy glutathion, fytochelatinu a metalothioneiny (MT). Metalothioneiny se na základě struktury dělí do třech tříd MT I, MT II a MT III. Do třídy MT III řadíme fytochelatinu – polypeptidy bohaté na cystein. Fytochelatinu obsahují SH skupiny cysteinu, na které se váží kovy (Rauser, 1990). Biosyntéza fytochelatinu je vyvolána vstupem kationt kovů či polokovu do buňky. Nejlepší aktivátor biosyntézy fytochelatinu je Cd^{2+} následovaný kationty kovů Ag, Bi, Pb, Zn, Cu, Hg a Au (Grill a kol., 1989).

3.1.1.3. Fytoextrakce arzenu (As)

Arzen se v přírodě vyskytuje ve formě arzenitanů ($As(III)$) nebo arzeničnanů ($As(V)$) (Quaghebeur a Rengel, 2003). Významným hyperakumulátorem As je kapradina křídelnice (*Pteris vittata*) (Tu a kol., 2004), v půdách kontaminovaných tímto polokovem může v nadzemní biomase akumulovat 23 g As na 1 kg sušiny. V půdách nezasažených kontaminací může akumulovat až 744 mg As na 1 kg sušiny, v porovnání s ostatními rostlinami, které neakumulují As a absorbují pod 10 mg As na 1 kg sušiny, je to mnohonásobně vyšší množství (Matschullat, 2000).

3.1.1.4. Fytoextrakce chromu (Cr)

Chrom se v přírodním prostředí nejběžněji vyskytuje v oxidačních stavech Cr^0, Cr^{2+} až Cr^{6+} . Oxidační stav Cr^{3+} je přirozenou složkou životního prostředí a je to důležitý esenciální prvek. Oxidační stavy Cr^{6+} a Cr^0 vyskytující se v přírodním prostředí pochází zejména ze zpracování rud a z výroby oceli a ostatních slitin (<http://www.eco-usa.net/toxics/chromium.shtml>). Velmi nebezpečný je především Cr^{6+} , který je toxický a zřejmě i karcinogenní. V životním prostředí se může vyskytovat také přirozeně ve velmi malých koncentracích. Je to rozpustná nereaktivní látka, která může velmi snadno migrovat v podzemní vodě

http://www.waterboards.ca.gov/losangeles/water_issues/programs/remediation/chromium/sfv_chr6ww_w_11_13_00.pdf.

K remediaci podzemních vod kontaminovaných Cr^{4+} mohou být použity břízy (*Betula*) nebo vrby (*Salix*) (Pulford a kol., 2001). Naopak rostlina slanobýl draselný (*Salsola kali*) preferenčně akumuluje Cr^{6+} (Gardea-Torresdey a kol., 2005).

3.1.1.5. Fytoextrakce mědi (Cu)

Pro rostliny je Cu je esenciálním prvkem, který se enzymaticky vázaný účastňuje redoxních reakcí (Marschner, 1995). Hlavním zdrojem kontaminace půd je těžba a zpracování rud, kdy se spolu s Cu uvolňují i další nebezpečné polutanty jako např. As, Zn či Pb. Významnými akumulátory Cu jsou vrby (*Salix*) (Kuzovkina a Quigley, 2005).

3.1.1.6. Fytoextrakce rtuti (Hg)

Mnoho rozvojových zemí používá při těžbě Au proces amalgamace Hg způsobující rozsáhlou kontaminaci okolních půd a vody, příkladem je těžba Au v Surinamu (Gray a kol., 2003). Rtuť obsažená v půdě může být vázána do minerálu rumělky (HgS) vznikající po uložení kontaminovaného materiálu. Ravichandran a kol. (1998) ve své studii popsali vliv organického materiálu, který zvyšuje mobilitu Hg obsažené v rumělce a tím ovlivňuje i její dostupnost pro rostliny. Obecně nejvíce toxické sloučeniny Hg jsou organické sloučeniny (např. methylrtuť). Méně toxická je Hg^{2+} a nejméně toxická je kovová rtuť Hg^0 .

3.1.1.7. Fytoextrakce niklu (Ni)

Kontaminace půd Ni je způsobena zejména těžbou a zpracováním rud Ni, využíváním odpadních kalů a hnojiv. Z čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*) máme významné Ni-hyperakumulátory, kterými jsou *Alyssum lesbiacum* a *Thlaspi geosingense*. V rodu *Alyssum* je zastoupeno 48 druhů rostlin, které ve svých listech akumulují množství Ni od 1000 $\mu\text{g/g}$ do 30000 $\mu\text{g/g}$ sušiny (Baker a Brooks, 1989; Kerbeb a Krämer, 2003). Rostlina *Thlaspi geosingense* akumulovala 9490 mg Ni na g sušiny (Freeman a kol., 2004). Významným akumulátorem Ni je také rostlina *Berkheya coddii* z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*) (Angle a kol., 2003).

3.1.1.8. Fytoextrakce olova (Pb)

Olovo je extrémně toxický kov, jedním z jeho hlavních zdrojů jsou olovnaté nátěrové barvy a spalování olovnatého benzinu, který je dnes ještě běžně využíván zejména v rozvojových státech. Dalším významným zdrojem Pb jsou těžba a zpracování rud a úložiště pro olovené akumulátory (<http://www.eco-usa.net/toxics/lead.shtml>). Fytoextrakce Pb je značně ovlivněna jeho extrémně nízkou

rozpuštěností, pouze ~0.1% Pb obsaženého v půdě je v dostupné formě pro rostliny (Huang a kol., 1997). Proto se do půdy přidávají chelatační činidla zvyšující tvorbou komplexů s Pb jeho rozpustnost a následnou absorpci rostlinami. Pro fytoextrakci Pb je vhodná rostlina brukev sítinovitá (*Brassica juncea*) se schopností účinně transportovat Pb z kořenů do nadzemních částí (Liu a kol., 2000).

3.1.1.9. Fytoextrakce zinku (Zn)

Zinek patří mezi esenciální prvky, ale při vysokých koncentracích působí fytotoxicky. Pouze malé procento Zn obsaženého v půdách se vyskytuje v rozpuštěné formě v půdních roztocích. Poměr mezi rozpuštěným a vázaným Zn úzce souvisí s půdním pH (Marschner, 1995). Významným hyperakumulátorem Zn je bylina penízek modravý (*Thlaspi caerulescens*), u něhož dochází k detoxifikaci Zn tvorbou komplexů s histidinem a s citráty (Salt a kol., 1999; Robinson a kol., 1998). Limitujícím faktorem pro růst penízku modravého je koncentrace Cu v půdě, která je pro tuto rostlinu fytotoxická. Walker a Bernal (2004) ve své studii prokázali výrazné snížení akumulovaného Zn po aplikaci 1,0 a 2,0 mg/L Cu. Dalším významným hyperakumulátorem je rostlina *Sedum alfredii*, která může akumulovat v nadzemních částech přes 2% Zn v sušině (Yang a kol., 2006).

3.1.1.10. Fytoextrakce kadmia (Cd)

Kadmium je přirozeným prvkem vyskytujícím se v zemské kůře, nejběžněji je přítomno vázané ve sloučeninách (oxidy, chloridy, sulfáty a sulfidy). Tyto látky jsou pevné, mohou však být rozpustné ve vodě. Do přírodního prostředí se Cd dostává především z těžby a zpracování rud (<http://www.eco-usa.net/toxics/cadmium.shtml>). Významným hyperakumulátorem Cd je penízek modravý (*Thlaspi caerulescens*), jeho nevýhodou je však malý hloubkový dosah kořenů, nízká produkce biomasy a dlouhodobé odstraňování kontaminantu z půdy (Robinson a kol. 1998).

3.1.1.11. Fytoextrakce radionuklidů

Kontaminace radionuklidy je způsobena zejména těžbou a úpravou uranových rud, při které je produkována celá řada radioaktivních izotopů jako ^{220}Rn , ^{238}U , ^{230}Th , ^{226}Ra a ^{310}Pb . Kontaminanty ^{131}I , ^{90}Sr , ^{137}Cs a Pu pocházejí z radioaktivního spadu vzniklého při testování nukleárních zbraní (Eapen a kol., 2007). Účinná fytoextrakce radionuklidů obsažených v půdách závisí na jejich dostupnosti pro rostlinu, na intenzitě absorpce kořenovým systémem a na transportu skrz cévní systém rostliny (Huang a kol., 1998). Dostupnost ^{137}Cs pro rostliny je ovlivněna obsahem organického materiálu a jílových minerálů v půdě, zejména montmorilonitu, do jehož struktury se ^{137}Cs váže (Entry a kol., 1996). Duschenkov a kol. (1999) použili pro fytoextrakci ^{137}Cs v blízkosti Černobylu rostliny laskavec krvavý (*Amaranthus cruentus*), laskavec ocasatý (*Amaranthus caudatus*) a laskavec ohnutý

(*Amaranthus retroflexus*) se schopností akumulovat významná množství ^{137}Cs v jejich nadzemních částech.

Nejvíce mobilní forma uranu je U^{6+} . V půdních roztocích se vyskytuje hlavně jako stabilní uranylový iont UO_2^{2+} nebo tvoří komplexy s karbonáty, sírany a fosforečnany (Duff a Amrhein, 1996). K zvýšené absorpci a akumulaci U u brukví (*Brassica*) a laskavců (*Amaranthus*) nastalo po aplikaci 20 mmol/kg kyseliny citrónové (Huang a kol., 1998).

3.1.2 Fytostabilizace

Fytostabilizace je proces, který spočívá v imobilizaci kontaminantů v půdním prostředí, na úrovni kořenového systému dochází k absorpci, akumulaci, adsorpci nebo k precipitaci kontaminantů. Fytostabilizace se používá v kontaminovaných oblastech s nedostatkem vegetačního pokryvu, do těchto lokalit jsou vysazeny rychle rostoucí rostliny, které půdu do jisté míry chrání před větrnou a vodní erozí a tedy i vyluhováním polutantů. Metoda fytostabilizace je finančně nenáročná a je vhodná pro stabilizaci půd kontaminovaných zejména těžkými kovy. Má však i mnoho nevýhod, jednou z nich je fakt, že kontaminanty zůstávají na místě, proto tedy musí být oblast dlouhodobě monitorována, aby nedocházelo k úniku kontaminantů či jejich loužení do podzemních vod. Dále musí být kontrolováno, zda se u některých rostlin polutanty neakumulují v jejich nadzemních částech (EPA, 2000).

3.1.3 Fytovolatilizace

Při fytovolatilizaci dochází k absorpci kontaminantu rostlinou a jeho následné transpiraci do ovzduší. Tato metoda může být aplikována v podzemní i povrchové vodě, v sedimentech, půdách i kalech. Výhodou fytovolatilizace je, že polutant může být rostlinou přeměněn na méně toxickou formu, která může po uvolnění do ovzduší snáze podléhat přirozené degradaci (EPA, 2000). Volatilizaci podléhá Se absorbovaný rostlinou *Astragalus racemosus*, která je akumulátorem Se, a je uvolňován do ovzduší jako dimetyldiselenid (Evans a kol., 1968). Zatímco Se absorbovaný tolicí vojtěškou (*Medicago sativa*), která není akumulátorem Se, je uvolňován jako dimetylselenid (Lewis a kol., 1974).

U rostliny huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*) dochází k přeměně Hg^{2+} na Hg^0 , která je následně transpirována do ovzduší (Rugh a kol., 1996).

K fytovolatilizaci radionuklidů dochází u rostlin se schopností transpirovat vysoká množství vody, tato metoda se dnes používá pro fytoremediaci ^3H . Tritium je radioaktivní izotop H rozpadající se na He s poločasem rozpadu 12 let. V přírodním prostředí se ^3H vyskytuje ve vazbě s O jako tritiová voda, která je začleněna do biogeochemického cyklu vody. Tritiová voda byla použita pro zavlažování lesa v oblasti Savannah River Site. Část tritiové vody se odpařilo z půdního povrchu, část prosáklo půdou do podzemní vody a malá část ^3H byla absorbována kořeny rostlin (Duschenkov, 2003).

3.1.4 Rhizofiltrace

Technika rhizofiltrace se používá k odstranění polutantů hlavně ze znečištěných vod. Na kořenech rostlin dochází k precipitaci nebo přímo k absorpci kontaminantů. Rhizofiltrace se s úspěchem využívá při remediaci velkých objemů podzemních, splaškových či povrchových vod s nízkým obsahem kovů (Pb, Cd, Cu, Ni, Zn, Cr) a radionuklidů (U, ¹³⁷Cs, ⁹⁰Sr). Pro úspěšnou dekontaminaci je důležité, aby byly polutanty ve vodním prostředí přítomny ve formě pravých roztoků, proto nelze tuto techniku využít pro remediaci půd, sedimentů či kalů (EPA, 2000).

3.2 Fytoremediace organických polutantů.

3.2.1 Fytodegradace

Fytodegradace je proces, při němž dochází k odbourávání organických polutantů přímo uvnitř rostliny vlivem metabolismu. Podobně jako u fytoextrakce kovů je přímá absorpce organických polutantů kořenovým systémem rostliny ovlivněna jejich dostupností. Metoda fytodegradace je velmi vhodná pro odstraňování problematických organických polutantů jako trinitrotoluenu TNT, polychlorovaných bifenyly a trichloroethylenu (TCE) (Schnoor a kol., 1995).

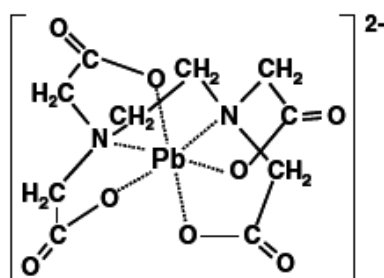
3.2.2 Rhizodegradace

Technika rhizodegradace se využívá v oblastech znečištěných organickými polutanty. Používají se zejména rostliny, které svými kořeny vyměšují organické sloučeniny (cukry, aminokyseliny, organické kyseliny, mastné kyseliny, steroly, růstové látky, flavanony, enzymy), jež se stávají potravou pro půdní mikroorganismy. Díky těmto látkám roste počet mikroorganismů a je stimulována jejich aktivita (Shimp a kol., 1993). Největší výhodou této techniky je odbourávání polutantů *in situ*, a také velmi omezený transport do nadzemních částí rostlin, popřípadě jejich uvolňování do ovzduší. Nevýhodou rhizodegradace je, že rostlinné exudáty (výpotky) mohou stimulovat organizmy, které organické polutanty neodbourávají, na úkor mikroorganismů, které se podílejí na biodegradaci (EPA, 2000).

4. CHELATAČNÍ ČINIDLA

Jak bylo uvedeno v Tab. 2 přirozenými hyperakumulátory polutantů jsou zejména rostliny s malou produkcí biomasy. U rostlin, které přirozeně neakumulují polutanty, jsou hlavními faktory omezujícími jejich využití pro fytoextrakci nízká absorpce polutantů kořenovým systémem a omezený transport kontaminantů z kořenů do nadzemních částí rostlin. U běžných zemědělských plodin

způsobuje významné zvýšení absorpce a akumulace polutantů v rostlinné biomase zejména vhodné aplikace chelátů, které tvoří s kovy a polokovy v půdním systému komplexy dostupné pro rostliny (Lešťan, 2006). Komplexy vznikají interakcí mezi kationty kovu a koordinačními komponentami – ligandy, které mohou obsadit jednu, dvě či více pozic ve vnitřní koordinační sféře centrálního iontu. Komplexy se složitými ligandy se nazývají chelatační činidla a kovové komplexy, které jsou utvářeny se nazývají cheláty (Nowack a VanBriesen, 2005) (Obr. 4). Chelatační činidla produkovaná rostlinami mobilizují nutrienty jako Zn, Fe, Mn a ostatní kovy. Pomocí tohoto rostlinného mechanismu dochází též k desorpci snadno dostupných prvků i polutantů pro rostliny jako např. Cd. K mobilizaci a absorpci rostlinami málo dostupných kovů (např. Pb), které jsou pevně vázány na pevnou fázi, musí být do půdy uměle přidána chelatační činidla. Nejvíce využívaná chelatační činidla (např. kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA), kyselina ethylendiamindijantarová (EDDS) a kyselina nitrilotrioctová (NTA)) řadíme do skupiny aminopolykarboxylátů (Lešťan, 2006) (příklady jsou uvedeny v Tab. 4). Alternativou k organickým kyselinám je využití chloridů při chemicky asistované fytoextrakci (Xiong a Feng, 2001).



Obr. 4. Koordinační komplex Pb s EDTA (Lešťan, 2006).

4.1 Organické kyseliny

4.1.1 Stabilita komplexů

Biologická odbouratelnost chelátů je závislá na vlastnostech ligandů organických kyselin a také na iontu kovu, který je ligandy vázán. Při tvorbě komplexů hraje důležitou roli také pH. Stabilitu komplexů můžeme charakterizovat rovnovážnou konstantou. Stabilitu komplexů kovů s EDTA v závislosti na pH zobrazuje Obr. 5. Například NTA a EDDS vytvářejí komplexy, které jsou snáze biologicky odbouratelné než komplexy kovů s EDTA, PDTA nebo DTPA. Tvorba stabilních komplexů představuje riziko loužení těchto látek do podzemních vod (Nörtemann, 2005). Existuje korelace mezi strukturou funkční skupiny aminopolykarboxylátů a jejich náchylností k biologické odbouratelnosti. U ethylendiaminových a propylendiaminových derivátů závisí na počtu a typu substituentů, snižuje se v pořadí těchto substituentů: $-\text{COCH}_3$, $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_2\text{H}_5$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{COOH}$, a dále se snižuje s polysubstituenty. Biodegradabilita souvisí také s počtem atomů dusíku, jednoduchá

komplexační činidla s jedním atomem dusíku v molekule podléhají degradaci snáze, naopak odolnost vůči biodegradaci vzrůstá s počtem tetraamino skupin (Sýkora a kol., 2001).

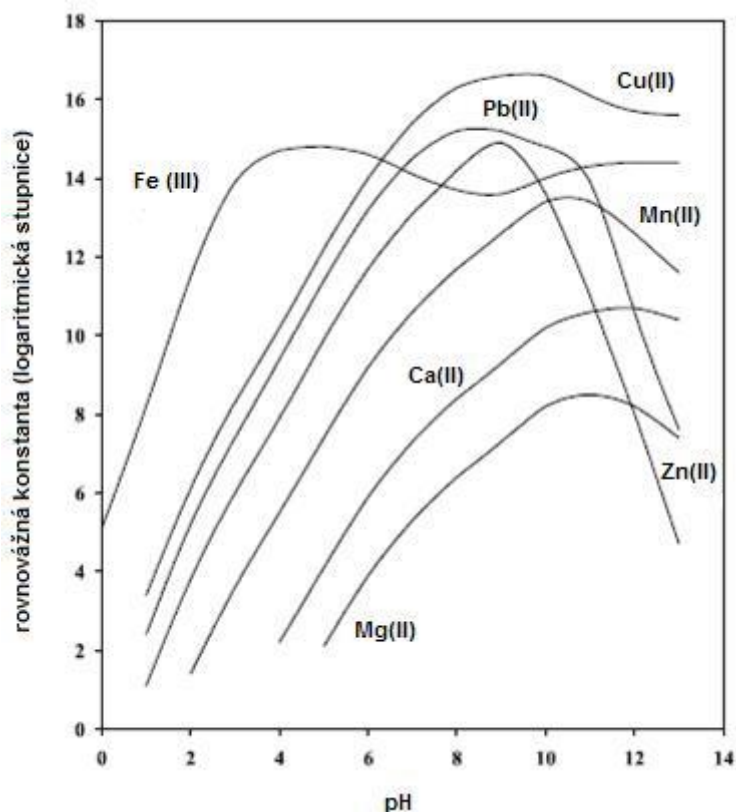
Tab. 4. Příklady aminopolykarboxylátů. (Nowack a VanBriesen, 2005)		
Zkratka	Celý název	Struktura
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová	
EDDS	Kyselina ethylendiamindijantarová	
NTA	Kyselina nitrilotrioctová	
MGDA	Kyselina methylglycindiocetová	
IDSA	Kyselina iminodijantarová	
DTPA	Kyselina diethylentriaminpentaocetová	
PDTA	Kyselina 1,2-diaminopropanettraocetová	
EGTA	Kyselina ethylenglykol-di-(2-aminoethylether)-tetraocetová	

Například kyselina EDTA tvoří vysoce stabilní komplexy s Pb (Obr. 4), k uvolnění Pb z vazeb s EDTA by došlo pouze při výrazném poklesu půdního pH. Mimo Pb vznikají vysoce stabilní cheláty

ještě s kovy Cu, Fe, Pb a Zn. S prvky Ca, Mg a Mn tvoří EDTA také komplexy, které jsou však mnohem snadněji degradovány (Satroudinov a kol., 2000).

Z aminopolykarboxylátů je nejvíce využívaným chelatačním činidlem při chemicky asistované fytoextrakci EDTA. Celá řada experimentů se zabývala posouzením vlivu chelatačních činidel z aminopolykarboxylátů na desorpci těžkých kovů z půdy. Například EDTA je nejefektivnější kyselinou zvyšující absorpci a akumulaci Pb u rostliny brukve sítinovité (*Brassica juncea*) (Epstein a kol., 1999). Naopak při odstraňování Cd, Zn, Cu a Ni z multi-kontaminovaných půd byla zjištěna vyšší efektivita kyseliny citrónové a kyseliny gallové než EDTA.

Použití přirozeně odbouratelných organických kyselin také nezvyšuje riziko loužení kovů do podzemních vod. Jednou z výhod použití organických kyselin je jejich nízká fytotoxicita, zejména kyseliny gallové pro rostlinu brukev sítinovitou (*Brassica juncea*) (do Nascimento a kol., 2006). Biodegradace kovových komplexů je způsobena aktivitou mikroorganismů, která však může mít negativní vliv na komplexaci kovů v okolí kořenů rostlin. Proto jednou z nevýhod aplikace organických kyselin do půdy je jejich rychlá degradace pokud jsou použity dávky o nízkých koncentracích (Römkens a kol., 2002). Aplikace větších koncentrací organických kyselin může mít naopak na rostliny fytotoxický vliv (Turgut a kol., 2004).



Obr. 5. Vliv pH na rovnovážnou konstantu komplexů kovů s EDTA (Kim a kol., 2003).

4.1.2 Příklady studií

Alternativou k EDTA jsou kyseliny EDDS, IDSA, MGDA a NTA, které jsou v případě některých prvků, jako např. Cu, efektivnější. Tandy a kol. (2004) provedli experiment, v němž porovnávali vliv různých chelatačních činidel z aminopolykarboxylátů na komplexaci Cu a Zn při měnícím se pH. Při pH 4 byla účinnost kyselin při extrakci Cu následující: EDDS > EDTA > MGDA > NTA > IDSA a při pH 7 bylo pořadí kyselin EDDS > NTA > IDSA > MGDA > EDTA. Extrakci Zn při pH 4 nijak výrazně neovlivnily kyseliny EDDS a IDSA, naopak kyseliny EDTA, NTA a MGDA Zn mobilizovaly, zatímco při pH 7 byla nejefektivnější NTA následovaná EDDS, EDTA, MGDA a IDSA.

Meers a kol. (2005) ve svém experimentu porovnávají efekt EDTA, EDDS, NTA a NH_4 citrátu na mobilitu těžkých kovů (Cd, Cu, Cr, Ni, Pb a Zn) a jejich akumulaci v slunečnici roční (*Helianthus annuus*). V průběhu experimentu neměly EDDS a EDTA výrazný vliv na mobilitu Cr. Mobilita Zn se zvyšovala s rostoucí koncentrací aplikované EDDS, zatímco mobilita Cu a Ni byla značná již při aplikaci nízkých koncentrací EDDS. V případě Pb a Cd byla účinnější EDTA a pro Zn a Ni se efektivita EDTA rovnala EDDS. Po aplikaci EDDS a EDTA bylo pozorováno výrazné zvýšení absorpce a akumulace Zn slunečnicí roční, zatímco k výrazné absorpci a akumulaci Cu docházelo pouze po přidání EDDS. Cd bylo absorbováno po přidávku EDDS i EDTA a Ni po aplikaci EDDS nebo NTA. Pro posouzení účinnosti fytoextrakce v praxi jsou však tyto výsledky nedostačující, neboť po přidání chelatačních činidel do půdy byly rostliny sklizeny již za 7 dní. Kinetický experiment prokázal, že k výraznému zvýšení akumulace by došlo až 3 týdny po aplikaci kyselin. Mobilita kovů v půdě testovaná 2 a 5 týdnů po sklizni rostlin úzce souvisí s degradabilitou komplexů kovů s organickými kyselinami. V případě nádob s komplexy s EDDS měl poločas rozpadu trvání od 4,5 do 6,6 dnů, zatímco u nádob s komplexy s EDTA trval 13 až 20 dnů.

Chang a kol. (2005) použili ve své studii kyselinu citrónovou pro zvýšení akumulace U v brukvi čínské (*Brassica chinensis* var. *oleifera*), brukvi sítinovité (*Brassica juncea*), brukvi řepce (*Brassica napus* var. *napus*) a ve slunečnici roční (*Helianthus annuus*). Rostliny byly pěstovány ve dvou různých půdách – písčité a jílovité. Akumulace U po aplikaci kyseliny citrónové se nejvíce projevila u rostliny brukve sítinovité (až 2200 μg U na rostlinu) pěstované v jílovité půdě, koncentrace akumulovaného U se postupně snižovala u rostlin brukve řepky, brukve čínské a slunečnice roční. Zatímco u brukve řepky došlo k výrazné akumulaci U v kořenech (až 3500 mg/kg sušiny). Ačkoliv je kyselina citrónová vhodným komplexačním činidlem U, má pouze krátkodobý efekt, protože po delší době fixuje U do stabilních forem, jakou je například UO_2 , a v tomto případě již není U ve formě dostupné pro rostliny.

4.2 Chloridy

Xiong a Feng (2001) použili ve své studii chloridy a EDTA pro zvýšení akumulace Pb v brukvi pekingské (*Brassica pekinensis*). Olovo bylo do nádob přidáno ve formě snadno rozpustné sloučeniny $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Aplikované chloridy (NaCl , KCl , NH_4Cl , CaCl_2 , FeCl_3) výrazně zvýšily koncentrace Pb

v půdním roztoku. Nejvýraznější vliv na desorpci Pb měl FeCl_3 následovaný CaCl_2 , NH_4Cl , KCl a NaCl . Se zvyšujícími se dávkami jednotlivých solí se zvyšovala i koncentrace Pb v půdním roztoku. Kationty NH_4^+ a Fe^{3+} nahrazují adsorbované Pb^{2+} v půdě a uvolněné ionty Pb tvoří s Cl anorganické sloučeniny jako PbCl^+ , PbCl_2^0 , PbCl_3^- a PbCl_4^{2-} . Pb-chloridové komplexy jsou poté snáze transportovány xylémem do nadzemních částí brukve pekingské. CaCl_2 také výrazně zvyšuje koncentrace Pb v půdním roztoku, ale má nejslabší vliv na transport Pb uvnitř rostliny. V porovnání s FeCl_3 a NH_4Cl byla efektivita EDTA o koncentraci 2,5 mM/kg nižší. Problém spojený s přidáním EDTA o vyšší koncentraci pro zvýšení akumulace Pb v nadzemních částech brukve pekingské spočívá ve fyto toxicitě EDTA, která výrazně redukuje produkci biomasy již při koncentracích větších než 1 mM/kg.

Smolders a McLaughlin (1996) ve své studii použili chloridy pro zvýšení akumulace Cd v mangoldu (*Beta vulgaris* L., cv. Fordhook Giant). Rostliny byly vystaveny zvyšujícím se koncentracím Cl v živném roztoku. V přítomnosti Cl jsou v půdním roztoku vytvářeny CdCl_n^{2-n} komplexy. Poprvé byl experiment proveden v roztoku, ve kterém nebylo Cd^{2+} komplexováno organickými ligandy, po aplikacích stále větších koncentrací Cl (0,01 až 120 mM) docházelo ke snižování koncentrace volných iontů Cd^{2+} v roztoku. Se zvyšujícími se koncentracemi dávek Cl klesalo množství akumulovaného Cd v kořenech i v nadzemních částech rostlin. Podruhé byla do roztoku přidána NTA, která s Cd vytváří CdNTA^- komplexy. V tomto roztoku nedocházelo ke snižování aktivity Cd^{2+} se zvyšujícími se koncentracemi Cl, zatímco koncentrace CdCl_n^{2-n} rostla. Množství akumulované Cd v kořenech a nadzemních částech rostlin se zvyšovalo se zvyšujícími se koncentracemi aplikovaného Cl. Ve třetím experimentu byla k roztoku přidána EGTA, která s Cd utváří pevné komplexy CdEGTA^{2-} . Po aplikaci EGTA došlo ke snížení aktivity Cd^{2+} v roztoku. V kořenech docházelo s rostoucími koncentracemi aplikovaných dávek Cl ke zvyšování akumulovaného Cd, zatímco na akumulaci Cd v nadzemních částech mangoldu neměly koncentrace Cl žádný výrazný vliv.

Komárek a kol. (2007) ve své studii posuzují vliv různých koncentrací NH_4Cl na mobilitu Cd, Zn a Pb, možnost využití hybridních topolů (*Populus nigra* x *Populus maximoviczii*) a kukuřice (*Zea mays*) pro fytoextrakci těchto kovů a dále porovnávají efektivitu NH_4Cl a EDTA. Vzorky kontaminované zemědělské půdy byly odebrány z bývalé těžební oblasti u Příbrami, kde se po více než 200 let těžily a zpracovávaly Pb rudy. Nízké pH odebraných vzorků půdy bylo způsobeno vysokým obsahem SO_4^{2-} pocházejícím ze zplodin produkovanými nedalekou úpravnou rud. Aplikace různých koncentrací NH_4Cl (10, 20 a 30 mM/kg půdy) vedly k výraznému zvýšení obsahu Cd a Zn v půdním roztoku, zatímco rozpustnost Pb nijak významně neovlivnily. Tato skutečnost může být vysvětlena tím, že Cl⁻ ionty tvoří především rozpustné komplexy s Cd a Zn. V přirozených podmínkách je vliv NH_4Cl na mobilitu Pb limitován nízkým obsahem snadno rozpustných sloučenin Pb. K zvýšení akumulace Cd v nadzemních částech topolů vedlo až po aplikaci 30 mM/kg NH_4Cl a v nadzemních částech kukuřice po přidání 20 mM/kg NH_4Cl . Přidání NH_4Cl a EDTA do půdy způsobilo intenzivní transport Zn uvnitř topolů. V porovnání s Cd je Zn v odebraných vzorcích půd s nízkým pH pro rostliny méně dostupný. U kukuřice nedošlo k zvýšení akumulace Zn ani po aplikaci NH_4Cl nebo EDTA. Po přidávku NH_4Cl nebyl u hybridních topolů pozorován žádný výrazný vliv na produkci biomasy, zatímco aplikace

EDTA o koncentraci 3 mM/kg na jejich růst působila pozitivně. Naopak u kukuřice vedl přídavek NH_4Cl o koncentraci 30 mM/kg k výrazné redukci biomasy. Při experimentu měla obě aplikovaná chelatační činidla EDTA i NH_4Cl srovnatelný vliv na mobilitu a akumulaci Zn a Cd rostlinami, ale v případě Pb byla EDTA mnohem více účinnější. Na základě těchto výsledků jsou organické kyseliny z aminopolykarboxylátů v porovnání s chloridy efektivnějšími chelatačními činidly při chemicky asistované fytoremediaci půd kontaminovaných kovy pocházejícími z těžby a zpracování rud.

5. ZÁVĚR

Při dekontaminaci půd je využití fytoremediačních technik slibnou alternativou, zvláště v případech, kdy jsou běžné remediační techniky neefektivní či příliš nákladné. Kompletní porozumění mechanismům tolerance u hyperakumulátorů je klíčové z hlediska zvýšení schopnosti akumulace kontaminantů rostlinami rychle rostoucími s velkou produkcí biomasy pomocí genetických úprav. Při fytoextrakci je umělé zvyšování dostupnosti kontaminantů pro rostliny pomocí syntetických chelatačních činidel, která vytvářejí s kovy hůře biologicky odbouratelné komplexy, spojeno s rizikem loužení kovů do podzemní vody. Proto se tedy mnoho studií zabývá využitím chelatačních činidel, jež snáze podléhají biologické degradaci, a jejich efektivitou při chemicky asistované fytoextrakci.

6. POUŽITÁ LITERATURA

- Angle J.S., Baker A.J.M., Whiting S.N., Chaney R.L., 2003. Soil moisture effects on uptake of metals by *Thlaspi*, *Alyssum*, and *Berkheya*. *Plant Soil*, 256: 325-332.
- Alkorta I., Hernández-Allica J., Becerril J.M., Amezaga I., Albizu I., Garbisu C., 2004. Recent findings on the phyto remediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. *Environ. Sci. Biotechnol.*, 3: 71-90.
- Baker A.J.M., Brooks R.R., 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements- a review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery.*, 1: 81-126.
- Chang P., Kim K.W., Yoshida S., Kim S.Y., 2005. Uranium accumulation of crop plants enhanced by citric acid. *Environ. Geochem. Health*, 27: 529-538.
- Crowley D.E., Wang Y.C., Reid C.P.P., Szaniszló P.J., 1991. Mechanisms of iron acquisition from siderophores by microorganisms and plants. *Plant Soil*, 130: 179-198.
- do Nascimento C.W.A., Amarasiriwardena D., Xing B., 2006. Comparison of natural organics acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from multi-metal contaminated soil. *Environ. Pollut.*, 140: 114-123.
- do Nascimento C.W.A., Xing B., 2006. Phytoextraction: A Review on enhanced metal availability and plant accumulation. *Sci. Agric.*, 63: 299-311.
- Duff M.C., Amrhein C., 1996. Uranium(VI) adsorption on goethite and soil carbonate solutions. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 60: 1393-1400.
- Duschenkov S., 2003. Trends in phyto remediation of radionuclides. *Plant Soil.*, 249: 167-175.
- Dushenkov S., Mikheev A., Prokhnovsky A., Ruchko M., Sorochinsky B., 1999. Phyto remediation of radiocesium-contaminated soil in the vicinity of Chernobyl, Ukraine. *Environ. Sci. Technol.*, 33: 469-475.
- Eapen S., Singh S., D'Souza S.F., 2007. Phyto remediation of metals and radionuclides. In: Singh S.N., Tripathi R.D. (eds) *Environ. Bioremed. Technol.*, Springer Berlin Heidelberg, str. 189-209.
- Entry J.A., Vance N.C., Hamilton M.A., Zabowski D., Watrud L.S., Adriano D.C., 1996. Phyto remediation of soil contaminated with low concentrations of radionuclides. *Water, Air, Soil Polut.*, 88: 167-176.
- EPA, 2000. Introduction to phyto remediation., <http://www.cluin.org/download/remed/introphyto.pdf>, 1.7.2009.
- Epstein A.L., Gussman C.D., Blaylock M.J., Yermiyahu U., Huang J.W., Kapulnik Y., Orser C.S., 1999. EDTA and Pb-EDTA accumulation in *Brassica juncea* grown in Pb-amended soil. *Plant Soil.*, 208: 87-94.
- Evans C.S., Asher C.J., Johnson C.M., 1968. Isolation of dimethyl diselenide and other volatile selenium compounds from *Astragalus racemosus* (Pursh.). *Aust. J. Biol. Sci.*, 21:13-20.

- Freeman J.L., Persans M.W., Nieman K., Albrecht C., Peer W.A., Pickering I.J., Salt D.E., 2004. Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi* nickel hyperaccumulators. *Plant Cell.*, 16: 2176-2191.
- Gardea-Torresdey J.L., de la Rosa G., Peralta-Videa J.R., Montes M., Cruz-Jimenez G., Cano-Aguilera I., 2005. Differential uptake and transport of trivalent and hexavalent chromium by tumbleweed (*Salsola kali*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 48: 225-232.
- Gray J.E., Labson V.F., Weaver J.N., Krabbenhoft D.P., 2003. Mercury and methylmercury contamination related to artisanal gold mining, Surinam. *Geophys. Res. Lett.*, 29:2105.
- Grill E.L., Loeffler S., Winnacker E.L., Zenk M.H., 1989. Phytochelatins, the heavy-metal-binding peptides of plants, are synthesized from glutathione by a specific γ -glutamylcysteine dipeptidyl transpeptidase (phytochelatin synthase). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 86: 6838-6842.
- Harter R.D., 1983. Effect of soil pH on adsorption of lead, copper, zinc and nickel. *Soil. Sci. Soc. Am. J.*, 47: 47-51.
- Huang J., Chen J., Berti W., Cunningham S., 1997. Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environ. Sci. Technol.*, 31: 800-805.
- Huang J.W., Blaylock M.J., Kapulnik Y., Ensley B.D., 1998. Phytoremediation of uranium contaminated soils: Role of organic acids in triggering uranium hyperaccumulation in plants. *Environ. Sci. Technol.* 32: 2004-2008.
- Kerkeb L., Krämer U., 2003. The role of free histidine in xylem loading of nickel in *Alyssum lesbiacum* and *Brassica juncea*. *Plant Physiol.*, 131:716-24.
- Kim C., Lee Y., Ong S.K., 2003. Factors affecting EDTA extraction of lead from lead-contaminated soils. *Chemosphere*, 51: 845-853.
- Komárek M., Tlustoš P., Száková J., Chrastný V., 2007. The role of chloride salts in chemically enhanced phytoextraction of heavy metals from a contaminated agricultural soil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 78: 176-180.
- Krämer U., Smith R.D., Wenzel W., Raskin I., Salt D.E., 1997. The role of nickel transport and tolerance in nickel hyperaccumulation by *Thlaspi goesingense* Hálácsy. *Plant Physiol.*, 115:1641-1650.
- Kuzovkina Y.A., Quigley M.F., 2005. Willows beyond wetlands: Uses of *Salix* L. species for environmental projects. *Water, Air, Soil Pollut.*, 162: 183-204.
- Lasat M.M., Baker A., Kochian L.V., 1996. Physiological characterization of root Zn^{2+} absorption and translocation to shoots in Zn hyperaccumulator and nonaccumulator species of *Thlaspi*. *Plant Physiol.*, 112: 1715-1722.
- Lee S., Moon J., Ko T.S., Petros D., Goldsbrough P.B., Korban S.S., 2003. Overexpression of *Arabidopsis* phytochelatin synthase paradoxically leads to hypersensitivity to cadmium stress. *Plant. Physiol.*, 131: 656-663.
- Lešťan D., 2006. Enhanced heavy metal phytoextraction. In: Mackova M., Dowling D.N., Macek T. (eds.) *Phytoremediation and Rhizoremediation*. Springer, Netherlands, str. 115-132.

- Lewis B.G., Johnson C.M., Broyer T.C., 1974. Volatile selenium in higher plants. The production of dimethyl selenide in cabbage leaves by enzymic cleavage of Se-methyl selenomethionine selenonium salt. *Plant Soil*, 40: 107-118.
- Liu D., Jiang W., Liu C., Xin C., Hou W., 2000. Uptake and accumulation of lead by roots, hypocotyls and shoots of Indian mustard (*Brassica juncea* L.). *Biores. Technol.*, 71: 273-277.
- Marschner H., 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London, 889 str.
- Matschullat J., 2000. Arsenic in the Geosphere – a Review. *Sci. Total Environ.* 249: 297-312.
- Meers E., Ruttens A., Hopgood M.J., Samson D., Tack F.G.M., 2005. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Chemosphere*, 58: 1011-1022.
- Nieboer E., Richardson D.H.S., 1980. The replacement of the nondescript term 'heavy metals' by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environ. Pollut. Ser. B.*, 1: 3-26.
- Nowack B., VanBriesen J., 2005. *Biogeochemistry of chelating agents*. Oxford University Press, 472 str.
- Nörtermann B., 2005. Biodegradation of chelating agents: EDTA, DTPA, PDTA, NTA, and EDDS. In: Nowack B., VanBriesen J. (eds.) *Biogeochemistry of chelating agents*. ACS Symposium Series. American Chemical Society, Washington DC, str. 150-170.
- Oven M., Grill E., Golan-Goldhirsh A., Kutchan T.M., Zenk M.H., 2002. Increase of free cysteine and citric acid in plant cells exposed to cobalt ions. *Phytochemistry.*, 60: 467-474.
- Pavlová, L. 2005. Fyziologie rostlin. Univerzita Karlova v Praze - Nakladatelství Karolinum, Praha, 253 str.
- Pulford I., Watson C., McGregor S.D., 2001. Uptake of chromium by trees: Prospects for phytoremediation. *Environ. Geochem. Health*, 23: 307-311.
- Quaghebeur M., Rengel Z., 2003. The distribution of arsenate and arsenite in shoots and roots of *Holcus lanatus* is influenced by arsenic tolerance and arsenate and phosphate supply. *Plant. Physiol.*, 132: 1600-1609.
- Raskin I., Smith R.D., Salt D.E., 1997. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 8: 221-226.
- Rausser W.E., 1990. Phytochelatin. *Annu. Rev. Biochem.*, 59: 61-86.
- Ravichandran M., Aiken G., Reddy M.M., Ryan J.N., 1998. Enhanced dissolution of cinnabar (mercuric sulfide) by dissolved organic matter isolated from the Florida Everglades. *Environ. Sci. Tech.*, 32: 3305-3311.
- Reeves R.D., Baker A.J.M., 2000. Metal-accumulating plants. In: Raskin I., Ensley B.D., (eds.) *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment*. John Wiley & Sons, Inc, New York, str. 193-229.
- Robinson B.H., Leblanc M., Petit D., Brooks R.R., Kirkman J.H., Gregg P.E.H., 1998. The potential of *Thlaspi caerulescens* for phytoremediation of contaminated soils. *Plant Soil.*, 203: 47-56.

- Robinson N.J., Tommey A.M., Kuske C., Jackson P.J., 1993. Plant metallothioneins. *Biochem. J.*, 295: 1-10.
- Römken P., Bouwman L., Japenga J., Draaisma C., 2002. Potential and drawbacks of chelate-enhanced phytoremediation of soils. *Environ. Pollut.*, 116: 109-121.
- Rugh C.L., Wilde H.D., Stack N.M., Thompson D.M., Summers A.O., Meagher R.B., 1996. Mercuric ion reduction and resistance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants using a modified bacterial *merA* gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93: 3182-3187.
- Salt D.E., Prince R.C., Pickering I.J., Raskin I., 1995. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiol.*, 109: 1427-1433.
- Salt D.E., Smith R.D., Raskin I., 1998. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.*, 49: 643-668.
- Salt D.E., Prince R.C., Baker A.J.M., Raskin I., Pickering I.J., 1999. Zinc ligands in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as determined using X-ray absorption spectroscopy. *Environ. Sci. Tech.*, 33: 713-717.
- Satroutdinov A.D., Dedyukhin E.G., Chistyakova T.I., Witschel M., Minkevich I.G., Eroshin V.K., Egli T., 2000. Degradation of metal-EDTA complexes by resting cells of the bacterial strain DSM 9103. *Environ. Sci. Technol.*, 34: 1715-1720.
- Schnoor J.L., Licht L.A., McCutcheon S.C., Wolfe N.L., Carreira L.H., 1995. Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environ. Sci. Technol.*, 29: 318A-23.
- Shimp J. F., Tracy J.C., Davis L.C., Lee E., Huang W., Erickson L.E., Schnoor J.L., 1993. Beneficial effects of plants in the remediation of soil and groundwater contaminated with organic materials. *Environ. Sci. Technol.*, 23: 41-77.
- Smolders E., McLaughlin M.J., 1996. Effect of Cl on Cd uptake by Swiss chard in nutrient solutions. *Plant Soil*, 179: 57-64.
- Sýkora V., Pitter P., Bittnerová I., Lederer T., 2001. Biodegradability of ethylenediamine-based complexing agents. *Water Res.*, 35: 2010-2016.
- Tandy S., Bossart K., Mueller R., Ritschel J., Hauser L., Schulin R., Nowack B., 2004. Extraction of heavy metals from soils using biodegradable chelating agents. *Environ. Sci. Technol.*, 38: 937-944.
- Tu S., Ma L., Luongo T., 2004. Root exudates and arsenic accumulation in arsenic hyperaccumulating *Pteris vittata* and non-hyperaccumulating *Nephrolepis exaltata*. *Plant Soil.*, 258: 9-19.
- Turgut C., Pepe M.K., Cutright T.J., 2004. The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus*. *Environ. Pollut.*, 131: 147-154.
- Walker D.J., Bernal M.P., 2004. The effects of copper and lead on growth and zinc accumulation of *Thlaspi Caerulescens* J. and C. Presl: Implications for phytoremediation of contaminated soils. *Water, Air, & Soil Pollut.*, 151: 361-372.
- Xiong Z.T., Feng T., 2001. Enhanced accumulation of lead in *Brassica pekinensis* by soil-applied chloride salts. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 67: 67-74.

Yang X., Li T., Yang J., He Z., Lu L., Meng F., 2006. Zinc compartmentation in root, transport into xylem, and absorption into leaf cells in the hyperaccumulating species of *Sedum alfredii* Hance. *Planta*, 224: 185-195.

<http://www.eco-usa.net/toxics/chromium.shtml>, 6.7.2009

http://www.waterboards.ca.gov/losangeles/water_issues/programs/remediation/chromium/sfv_chr6ww_11_13_00.pdf, 6.7.2009

<http://www.eco-usa.net/toxics/cadmium.shtml>, 6.7.2009

<http://www.eco-usa.net/toxics/lead.shtml>, 6.7.2009