

Bakalářská práce

# Akumulace těžkých kovů a stresové odpovědi „normálních“ a hyperakumulujících rostlin

Lukáš Sedláček

Školitel: Doc. RNDr. Eva Tesařová, CSc.

Konzultanti : RNDr. Jana Punčochářová, CSc.  
RNDr. *et* Mgr. Petr Soudek, Ph.D.



Univerzita Karlova v Praze  
Přírodovědecká fakulta  
Katedra fyzikální a makromolekulární chemie



Ústav experimentální botaniky  
Akademie věd České republiky

**Praha 2007**

Přírodovědecká fakulta UK  
KNIHOVNA CHEMIE



3233146100

Především bych chtěl poděkovat oběma konzultantům za čas, který mi věnovali, za praktické rady při psaní práce a za pomoc v laboratoři. Jmenovitě paní RNDr. Janě Punčochářové, CSc. za stylistickou, gramatickou i obsahovou pomoc při psaní této práce a za velice vstřícný přístup, který vždy má. A panu RNDr. et Mgr. Petru Soudkovi, Ph.D. za vedení v laboratoři a za jeho užitečné rady. Dále také paní Doc. RNDr. Evě Tesařové, CSc. za ochotné zaštitění této práce na školní půdě.

Dále bych chtěl poděkovat panu Mgr. Petru Maršíkovi Ph.D. za pomoc při statistickém vyhodnocování práce a slečně Mgr. Marii Příbylové za její ochotnou pomoc při práci.

Tato práce byla podporována projektem GAČR 522/06/P002, projektem COST 859 (OC109) a projektem IMO6030.

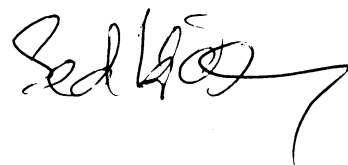
## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně s vyznačením všech použitých pramenů a spoluautorství. Souhlasím se zveřejněním bakalářské práce podle zákona č.

111/1998 Sb., o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů. Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, ve znění pozdějších předpisů.

V Praze 28.05. 2007

Lukáš Sedláček



## OBSAH

<b>1. ÚVOD .....</b>	<b>5</b>
<b>2. TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>7</b>
<b>2.1. Kontaminanty v půdě.....</b>	<b>8</b>
2.1.1. <i>Anorganické kontaminanty .....</i>	8
2.1.2. <i>Organické kontaminanty.....</i>	9
<b>2.2. Odstraňování těžkých kovů .....</b>	<b>10</b>
<b>2.3. Fytoremediace.....</b>	<b>11</b>
2.3.1 <i>Definice hyperakumulátorů, indikátorů a druhů tolerantních.<sup>14</sup> .....</i>	12
2.3.2 <i>Klady a zápory fytoremediace .....</i>	14
2.3.3 <i>Rozdělení fytoremediací .....</i>	15
<b>2.4. Minerální výživa rostlin .....</b>	<b>19</b>
2.4.1 <i>Mechanismus příjmu .....</i>	19
2.4.2. <i>Příjem těžkých kovů rostlinami a jejich následná akumulace<sup>14</sup> .....</i>	20
<b>2.5. Měď'.....</b>	<b>23</b>
<b>2.6. Biologické chelatační sloučeniny .....</b>	<b>25</b>
<b>3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>	<b>27</b>
<b>3.1. Cíle práce.....</b>	<b>27</b>
<b>3.2. Botanická charakteristika lnu setého .....</b>	<b>27</b>
<b>3.3. Použité látky, chemikálie, přístroje a zařízení.....</b>	<b>28</b>
<b>3.4. Metodika.....</b>	<b>28</b>
3.4.1. <i>Test semichronické toxicity.....</i>	28
3.4.2. <i>Výpočet EC50 .....</i>	29
<b>4. VÝSLEDKY .....</b>	<b>30</b>
<b>6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>32</b>

**Zkratky:**

PAHy – polyaromatické uhlovodíky

EDTA - kys. ethylendiamintetraoctová

$A_r$  – relativní atomová hmotnost

$t_t$  – teplota tání

$t_v$  – teplota varu

$\rho$  - hustota

$S^\circ$  - absolutní entropie látky ve standardním stavu ( $t = 25^\circ\text{C}$  a  $p = 101,325 \text{ kPa}$ )

X - elektronegativita

$A_v$  – výstupní práce elektronu z prvku

**Jednotky:**

1 kubický yard je přibližně  $0,765 \text{ m}^3$

1000 galonů je přibližně 3785,412 litrů

1 akr je 0.40468 hektaru což je  $4047 \text{ m}^2$

„Zazelenej se země zelení :  
bylinami, které se rozmnožují semeny  
a ovocným stromovým rozmanitého druhu,  
které na zemi ponese plody se semeny!“  
A stalo se tak. Země vydala zeleň.  
Genesis 1, 111-112

## 1. ÚVOD

Už od počátku lidstva si člověk snažil podrobit přírodu, přizpůsoboval svět k svému obrazu. Vše činil tak, aby měl jednodušší život, bez ohledu na důsledky. Tento rozvoj s sebou přinesl výrazné zlepšení životní úrovně lidí ve všech oblastech lidského života. Zdroje se jevily nevyčerpatelné, postupem času se zdálo, že se člověk stane nezávislý na přírodě. Ovšem s rozmachem vědy lidé zjistili, jak moc je tento názor mylný.

Člověk mimo jiné pochopil, jak je důležitá vysoká biodiverzita zemského ekosystému. Je to jeden z faktorů ovlivňujících kvalitu našeho života a pro lidstvo také obrovská zásobárna informací, které se mohou uplatnit ve všech oborech lidské činnosti. Proto názor, že s úbytkem biodiverzity se nesníží kvalita lidského života je mylný a dnes už překonaný.

Rozvoj industrializace s sebou nese samozřejmě také svá úskalí. Jeden z nejzávažnějších problémů je nepochybně znečištění životního prostředí nejrůznějšími xenobiotiky. Ty se dostávají do životního prostředí většinou z antropogenních zdrojů. Lidé produkují syntetické látky pro jejich výhodné chemické či fyzikální vlastnosti ve smyslu technologického využití. Mnohdy však tyto chemikálie mohou znamenat potenciální nebezpečí pro své okolí. Například u freonů trvalo desítky let, než lidstvo odhalilo, že tyto vysoce inertní nehořlavé a netoxické látky poškozují životní prostředí a to zcela zásadním způsobem.

V dnešní době jsou znečištěny všechny abiotické složky životního prostředí, tedy vzduch, voda i půda. Je nutné si také uvědomit, že kontaminanty nejsou ve svém prostředí statické a osamocené. V mnoha případech se může látka, která je sama o sobě škodlivá, za určitých podmínek přeměnit ve sloučeninu mnohem škodlivější a může se stát v abiotických prostředích mobilní, což její nebezpečnost ještě posílí.

Lidstvo si čím dál více uvědomuje, že takovýto trend je neudržitelný. Zvláště riskantní je znečištění půdy, jelikož v půdě člověk pěstuje celou řadu plodin, které do sebe vstřebávají v menší či větší míře kontaminanty. Ty se potravním řetězcem mohou dostat až k člověku. Kvalita půdy tedy zásadním způsobem ovlivňuje kvantitu i kvalitu souvisejícího života. V

posledních letech proto dochází k velkému rozvoji nejrůznějších dekontaminačních metod pro remediaci půdy. Tyto metody se od sebe liší v různých parametrech. Mohou daný kontaminant odstranit úplně či jen částečně, *in situ*, *off situ* nebo *ex situ*. Důležité je i finanční hledisko dané metody a v neposlední řadě také přijatelnost pro širokou veřejnost. V těchto posledních dvou aspektech je velmi výhodná metoda fytoremediace.

## 2. TEORETICKÁ ČÁST

Znečišťování životního prostředí není záležitostí novověku od nástupu průmyslové revoluce, i když je zřejmé, že k velké devastaci došlo právě v tomto období. Zde je uvedeno několik příkladů jak postupovala devastace životního prostředí<sup>1</sup> :

a) 7000 let př. n. l. až 1800 př. n. l.

*Mezopotámie a Sumer – zasolování a podmáčení tamního agrosystému*

Okolo r. 7000 let př. n. l. začali lidé měnit tamní ráz prostředí. Jelikož v této oblasti (dnešní území Iráku) byl nedostatek srážek, musela se půda zavlažovat a čím více přibývalo lidí, tím rostla rozloha takto obdělávané půdy. Zavodněná půda se postupem času zasolila a podmácela a okolo roku 1800 př. n. l. se zhroutil celý tamní agrosystém.

b) 800 let př. n. l. až 200 př. n. l.

*Řecko – přeměna a odlesnění Středomoří*

Řecko bylo vždy z větší části pokryto smíšenými lesy, ovšem s přibývajícím počtem lidí docházelo k exploataci lesů kvůli potřebě dřeva a plochy pro zemědělskou půdu.

c) 1400 – 1600

*Kanárské ostrovy – vyhynutí mnoha druhů, exploatace lesů*

Španělé vykácely velkou část lesů kvůli získání orné půdy a plochy pro pěstování cukru, tabáku bavlny.

d) 1800

*Severní Amerika – zabíjení divokých zvířat a přeměna krajiny*

Rostoucí početnost lidské populace vyžadovala čím dál větší životní prostor a docházelo k vybití zvířat ať už pro potravu či pro „zábavu.“ Proto došlo téměř k vyhubení velryb okolo severozápadního pobřeží Severní Ameriky pro potřebu oleje, který se z nich získával.

e) 1800 – 1900

*Německo a Japonsko – otrava sladkovodních vod*

Následkem průmyslové revoluce došlo k znečištění řek, které protékaly průmyslovými oblastmi (Rýn). V Japonsku byla voda kontaminována hlavně kyselinou sírovou z hutí a došlo k zničení mnoha tisíc hektarů lesů.

f) 1928 až současnost

*světové měřítko – průmyslové chemikálie, redukce ozonové vrstvy atd.*

V roce 1928 došlo k objevu freonů, které jsou nehořlavé a byly pokládány za neškodné. Začaly se využívat jako aerosolové rozprašovače či pěnidla v průmyslu plastických hmot. V roce 1985 byla objevena ozonová díra nad Antarktidou a začalo mezinárodní úsilí zakázat jejich výrobu, které vyvrcholilo v roce 1987 formulací mezinárodní dohody nazvané Montrealský protokol.

Je dobré si uvědomit, jak vypadá spotřeba zdrojů na Zemi v závislosti na bohatství<sup>1</sup> :

Rozvinuté státy spotřebovávají 80% přírodních zdrojů a přitom zahrnují cca 20% světové populace. Dále tyto státy spotřebovávají i velkou část zdrojů z rozvojových zemí např. :

- 45% veškerého masa a ryb, nejchudších 20% populace spotřebuje 5%
- 58% veškeré energie, nejchudších 20% populace spotřebovává méně než 4%
- bohatství nejbohatších 220 lidí je jeden bilion dolarů a roční příjem nejchudších 2,5 miliardy lidí je také jeden bilion dolarů

## 2.1. Kontaminanty v půdě

Polutanty v půdě mohou být jak organického tak anorganického původu.

### 2.1.1. Anorganické kontaminanty

Mezi hlavní anorganické kontaminanty půd patří těžké kovy. Jsou to kovy, které mají hustotu větší než  $5\text{g/cm}^3$  (anorganické hledisko) anebo kovy, které jsou toxické pro životní prostředí (ekotoxikologické hledisko). Častými representanty jsou např. rtuť, olovo, kadmium, měď, zinek, chrom, mangan, železo a nikl. Dostávají se do půdy lidskou činností, jako je těžba, zpracování kovů či spalování fosilních paliv, ale mohou se v půdě vyskytovat i přirozeně a to někdy ve značných koncentracích. Tyto kovy se hromadí ve tkáních živých organismů a působí toxicky.

Mezi nejvýznamnější těžké kovy patří :

- Hg

V půdním prostředí jsou zdrojem rtuti převážně fungicidní látky. Dále se může vyskytovat okolí skládek (z výbojek, baterií nebo teploměrů).



- Pb

V půdním prostředí je zdrojem olova hlavně tetraethylolovo, které se přidávalo do benzínu.

Olovo se dobře ukládá v rostlinách *Brassica juncea*<sup>2</sup>, pro které není koncentrace 500mg/L ještě toxická. Podle některých studií<sup>3</sup> je tato rostlina schopná odstranit až 1,550 kg olova na akr. Pro zvýšení účinnosti fytoremediace olova se přidává se EDTA, jako komplexační činidlo.

- Cd

Výskyt kadmia je skoro výhradně antropogenní. Jeho zdrojem mohou být kadmiové články, spalování fosilních paliv a zpracování rud. Jeho příjem rostlinami zesiluje toxické účinky jiných kovů (Zn, Cu).

- As

V přírodě se přirozeně vyskytuje v půdě jako arsenopyrit (FeAsS) či auripigment (As<sub>2</sub>S<sub>3</sub>). Z těchto nerostů se výluhy uvolňuje zejména do spodních vod. Antropogenní zdroje arsenu se do životního prostředí dostávají zejména z pigmentů, které se přidávaly do nátěrových hmot a dále z herbicidů. Toxické jsou anorganické sloučeniny, především As<sup>3+</sup>, a organické jsou netoxické.

- Cu

O mědi je pojednáno dále v samostatné kapitole 2.5.

### **2.1.2. Organické kontaminanty**

Organické kontaminanty se nedají zúžit na specifický soubor látek jako je tomu u anorganických kontaminantů. Jedná se o obrovský počet chemicky různorodých látek. Mezi významné kontaminanty patří nepochybně např. nejrozličnější chlorované látky (DDT, PCB aj.) nebo dusíkaté organická látky (výbušniny, atd.).

Příklady organických kontaminantů:

- PAU – polyaromatické uhlovodíky

Vyskytují se v půdách okolo koksoven, plynáren či spaloven.

- PCB – polychlorované bifenyly

Jsou hlavní součástí teplosměnných kapalin. Zahrnují 206 kongenerů (a 3 monochlorované bifenyly). Jsou nehořlavé, nepatrně těkavé, tepelně odolné, chemicky odolné.

Biodegradabilita PCB :

- klesá se stupněm chlorace (platí i o toxicitě)
- více resistantní, když jsou dva chlory v poloze ortho
- snáze degradují, když mají jeden kruh nesubstituovaný
- začátek degradace probíhá na méně substituovaném kruhu

Jejich biodegradace může nastat pomocí specifických mikroorganismů. Aerobní bakterie atakují přednostně bifenylovou kostru a anaerobní bakterie snižují počet atomů chlóru a tím i toxicitu.

- PCDD a PCDF – polychlorované dibenzodioxiny a dibenzofurany

Tyto látky jsou velmi toxické, teratogenní a karcinogenní, s mnoha dalšími toxickými účinky. PCDD mají 75 a PCDF 135 kongenerů s 1 – 8mi atomi chloru v molekule. Jsou málo rozpustné ve vodě, lipofilní, kumulativní a velmi stabilní.

## 2.2. Odstraňování těžkých kovů

Metody odstraňování těžkých kovů z půdy se dají rozdělit na :

### a) *konvenční metody*

- I. Vytěžení kontaminované půdy a její odvezení na hygienicky chráněnou skládku a její nahrazení půdou čistou.
- II. Vytěžení kontaminované půdy a její promývání speciálními roztoky, která obsahují chelatační činidla (EDTA,...). Ošetřená zemina se poté vrátí nazpátek a těžké kovy se z extraktu odstraní chemicky.

### b) *nekonvenční metody*

- I. Mezi tyto metody patří např. elektrokinetické metody. Postup elektroklytické se uskutečňuje pomocí účinků stejnosměrného proudu, který se zavádí přímo do kontaminované půdy. V ošetřovaném území se umístí soubory elektrod (anod a katod) přímo do půdy. Průchodem stejnosměrného elektrického proudu dochází v

půdě k několika elektrofyzikálním jevům. Jde zejména o elektroforézu, elektroosmózu, elektrolyzu a difúzi. Základní určující veličinou charakterizující tyto elektrokinetické pochody je tzv. pohyblivost iontu. Je dána podílem rychlosti pohybu iontu a velikosti elektrického pole. Pro dané pochody se pohybuje v rozmezí  $1 \cdot 10^{-9}$  až  $5 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1} \text{ V}^{-1}$ . Z těchto hodnot lze experimentálně i teoreticky odvodit nezbytné stejnosměrné napětí a proud, při kterém se pohybují kationy kovů ke katodě. Ten je v rozmezí 20-100  $\text{V} \cdot \text{m}^{-1}$ . Základním pochodem je elektrolyza.

- II. Na kontaminované půdě se pěstují rostliny, které se nazývají hyperakumulátory. Tyto rostliny jsou schopny přijímat z půdy kontaminanty ve vysoké míře, aniž by to mělo negativní následky pro jejich prosperitu. Rostliny se na konci svého vegetačního období sklídí, usuší a spálí (nesmí docházet k úletům do ovzduší). Časově je tato metoda náročnější. Tyto procesy se nazývají fyto remediací.<sup>5</sup>

### 2.3. Fyto remediací

Polutanty jako těžké kovy a jiná xenobiotika jsou globálním problémem tím více, jak roste lidská populace na Zemi a to hlavně v rozvojových zemích, kde není kladen takový důraz na ochranu životního prostředí jako je tomu ve vyspělém světě. Rozvoj fyto remediačních technologií k odstranění kontaminantů je proto významný.

tabulka číslo 1 : Druhy rostlin a kontaminanty, které z půdy odstraňují<sup>18</sup>

rostlina	kontaminant
<i>Arabidopsis</i>	Hg
<i>Brassica</i> family	Se, Pb, Cd, Cr, Ni, Zn, Cu, Cs
<i>Buxaceae</i> (boxwood)	Ni
<i>Compositae</i> family	Cs, Sr
<i>Euphorbiaceae</i>	Ni
<i>Solanum lycopersicum</i>	Pb, Zn, Cu
Stromy rodu <i>Populus</i>	pesticidy, TNT, RDX, Antrazin
<i>Thlaspi caerulescenc</i>	Zn, Cd
<i>Heliopsis</i>	Cs, Sr, U
genus <i>Lemna</i>	výbušniny
<i>Secale L.</i>	PAHy

Fytoremediace je proces, při kterém se používají rostliny viz obrázek 1 a 2 k odstranění či stabilizaci kontaminantů v půdě v sedimentech či v podzemní vodě. Mechanismus fytoremediací zahrnuje biodegradaci pomocí kořenů – rhizofiltraci dále fytoakumulaci, fytodegradaci a fytostabilizaci. Fytoremediace využívají biologické, chemické a fyzikální procesy probíhající v rostlinách a pomocí nich čistí kontaminovaná média. Rostliny degradují toxické organické látky a akumulují těžké kovy ve svých jednotlivých částech. Přehled vybraných druhů rostlin, které se používají při fytoremediačních experimentech jsou uvedeny v tabulce číslo 1.

### **2.3.1 Definice hyperakumulátorů, indikátorů a druhů tolerantních.<sup>14</sup>**

Při kategorizaci růstu rostlin na znečištěných půdách se používají v souvislosti s akumulací termíny hyperakumulátory, indikátory a druhy tolerantní.

Indikátory jsou druhy rostlin, které jsou známé již velmi dlouho. Používaly se především dříve při prospekci nalezišť kovů. Před rokem 1865 F. Risse pozoroval rostliny *Thlaspi caerulescens*, které rostly na ložisku zinku u německo-belgických hranic. V padesátých a šedesátých letech minulého století H. Cannon a spol. US Geological Society kategorizovali indikátory a zavedli pojem bioprospecting rud<sup>15</sup> (Cannon, 1960). Specifické druhy mechu byly určeny jako bioindikátory pro kontaminaci vod těžkými kovy a *Stanleya pinnata* (Prince's Plume) jako bioindikátor selenu<sup>16</sup>.

Hromadění kovů v běžných rostlinách je obecně spojena s význačným poškozením rostliny, jako je např. rozpad homeostázy a není přímo zapojeno do funkcí normálních růstových procesů. Tolerantní druhy mohou přirozeně růst a prosperovat na kontaminovaných půdách, kde většina ostatních druhů růst nemůže. Tolerance je dána různými mechanismy, kterými se rostlina buď brání příjmu toxických látek („excludery“) nebo toxické látky přijímá a ukládá ve vakuolách či zabudovává do buněčné stěny čímž snižuje jejich toxicitu pro organismus („akumulátory“). Zatímco tolerance je podmínkou pro akumulaci, je nutno podotknout, že tolerance a akumulace jsou rozdílné vlastnosti rostlin.

Hyperakumulátory jsou rostliny schopné přijmout kořeny vysoké koncentrace kontaminantů, převážně těžkých kovů, aniž by to mělo negativní dopad na jejich prosperitu. Hyperakumulace se vždy vztahuje ke konkrétním kovům. Než je možno rostlinu označit jako hyperakumulující musí být jasně stanovena výše akumulovaného kovu a jeho metabolizované formy v rostlině.

Studie, zabývající se hyperakumulátory<sup>17</sup>, definovala hyperakumulátory niklu jako rostliny schopné akumulovat více jak 1mg niklu na 1g sušiny z jejich listů. Současně byly definovány stejným způsobem hyperakumulátory pro další kovy<sup>18</sup>. Pro měď, kobalt a olovo byla stanovena hodnota 1mg kovu na 1g sušiny. U zinku a manganu pak byla hyperakumulační koncentrace stanovena na 10mg na 1g sušiny. Tyto definované koncentrace pro jednotlivé těžké kovy jsou mnohem větší než jsou jejich koncentrace v neakumulujících rostlinách<sup>19</sup>. Hyperakumulátory patří do více jak čtyřiceti pěti různých skupinách rostlin. Řada hyperakumulátorů patří do druhu *Brassicaceae*<sup>20</sup>. Tyto rostliny mají velmi mnoho variant od stromů a trvalých keřů po jednoleté rostliny.

Přehled kovů a jejich hyperakumulátorů je shrnut v tabulce číslo 2.

tabulka číslo 2 : hyperakumulátory těžkých kovů<sup>4</sup>

KOV	NÁZEV ROSTLINY	% KOVU V SUŠINĚ LISTŮ	PŘIROZENÝ VÝSKYT
Zn	<i>Thlaspi calaminare</i>	<3	Německo
	<i>Viola species</i> (obr. 2)	1	Evropa
Ni	<i>Phyllanthus serpentinus</i>	3,8	Nová Kaledonie
	<i>Alyssum bertoloni</i> (obr. 1)	>3	Jižní Evropa a Turecko
	<i>Sebertia acuminata</i>	25 (v latexu)	Nová Kaledonie
Cu	<i>Aeolanthus biformifolius</i>	1	Kongo
Pb	<i>Brassuca juncea</i>	<3.5	Indie
Co	<i>Haumaniastrum robertii</i>	1	Kongo



obrázek číslo 1 : *Alyssum bertoloni*



obrázek číslo 2 : *Viola species*

### 2.3.2 Klady a záporny fytořediace

Výhody fytořediace :

- hlavní a nespornou výhodou fytořediací je jejich cena oproti konvenčním metodám (vytěžení půdy či promývání na místě znečištění), viz. tabulka USEPA (United States Environmental Protection Agency) z roku 2000 viz tabulka č. 3
- výrazné snížení množství kontaminovaného materiálu (popel z rostlin)
- společensky přijatelná metoda likvidace kontaminantů z půd
- jedná se o metodu *in situ*
- produkce menšího množství druhotných odpadů
- metoda je velmi šetrná k půdnímu prostředí

tabulka číslo 3 : srovnání cen fytořediací oproti konvenčním metodám

kontaminant	cena fytořediace	prům. cena jiných metod
těžké kovy	80\$ za kubický yard	250\$ za kubický yard
uhlovodíky	70,000\$ za kubický yard	850,000\$ za kubický yard
radionuklidy v podzemní vodě	2 - 6\$ za 1000 gallonů	Není známá
10 akrů kontaminovaných Pb <sup>2+</sup>	500,000\$	12,000,000\$

Nevýhody fytořediace :

- je limitována hloubkou kontaminantů v půdě
- vysoké koncentrace kontaminantů většinou rostliny poškozují
- klimatické a sezóní jevy ovlivňují růst rostlin, čímž mohou zpomalovat či zastavit řediaci
- je možný transfer kontaminantů přes média např. z půdy do ovzduší
- není většinou účinná pro silně sorbované kontaminanty např. PCB
- toxicita biodegradčních produktů není vždy známá. Produkt může být mobilizován skrz podzemní vodu a může se akumulovat v organismech. Proto je nutné zkoumat osud různých látek vzniklých řediací, aby rostliny, které jsou použity pro řediace neprodukovaly metabolity, které budou škodlivé či škodlivější než látka, kterou řediovaly.

tabulka číslo 4 : výhody a nevýhody fytořemediací<sup>4</sup>

TYP REMEDIACE	VÝHODY	NEVÝHODY
<i>Fytoextrakce stromy</i>	velká produkce biomasy	opad listů, kde jsou také kontaminanty
<i>Fytoextrakce trávou</i>	vysoká akumulace	nízká produkce biomasy nutnost odvážet biomasu pryč
<i>Fytoextrakce plodinami</i>	vysoká produkce biomasy rychlý růst	možnost požití lidmi nutnost odvážet biomasu pryč
<i>Fytostabilizace</i>	není nutný odvoz kontaminované biomasy	nejasná časová perioda
<i>Rhizofiltrace</i>	lehká absorpce kovů	aplikovatelné pouze na kovy ve vodě nutnost odvážet biomasu pryč

Uvedené nevýhody lze ovšem vhodnými postupy do jisté míry odstranit - ať již vhodnou volbou rostlin pro daný kontaminant a lokalitu nebo zjištěním faktorů, které ovlivňují rovnováhu množství kontaminantu v systému rostlina – půda.

Podrobnější srovnání dle jednotlivých metod fytořemediací viz tabulka číslo 4.

### 2.3.3 Rozdělení fytořemediací

Techniky fytořemediace podle K. E. Belze se rozdělují do tří skupin<sup>8</sup> :

- Prosté vysazení rostlin, jako například při pěstování plodin. Tato technika se nejvíce používá pokud je kontaminant v dosahu kořenů rostlin, do 2 m pod povrchem pro rostliny a 3 až 5 m pro stromy.
- Pěstování rostlin ve vodě (aquakultury). Voda z hlubších sfér může být pumpována na povrch a cirkulovat rostlinou, poté je voda použitelná pro závlahu rostlin v dané lokalitě.
- Pěstování stromů a konstrukce studní tam, kde mají stromy kořeny. Tato metoda může remediovat hlubší aquasféru *in-situ*.

Fytořemediace lze podle postupu závislého na charakteru znečištěného prostředí, kontaminantu a jeho koncentraci rozdělit na fytoředkontaminační a fytořestabilizační technologie:

#### a) Fytoředkontaminační technologie

Do této skupiny patří fytoextrakce, fytořegradace, rhizofiltrace a fytořevolatilizace.

- Fytoextrakce (fytoakumulace, fytoabsorpce)

Je založená na absorpci toxických kovů kořeny rostlin a jejich translokaci do nadzemních částí rostliny. Vhodné rostliny se vysází na kontaminovanou půdu a po akumulaci kontaminantů se sklídí a dále upravují, např. tepelně, mikrobiálně či chemicky. Tato metoda se využívá především k odstranění těžkých kovů (jako Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn), ale i polokovů (As, Se), radionuklidů (např.  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{234}\text{U}$ ,  $^{238}\text{U}$ ) a také nekovů (B.

- Fytodegradace

Jedná se o degradaci kontaminantů buď přímo v půdě, nebo v rostlině. Tato metoda je využitelná především pro organické látky, kdy rostliny pomocí enzymů degradují toxické látky na netoxické. Rostliny vylučují kořeny do okolí látky, které plánovitě slouží jako výživa pro mikroorganismy žijící v rhizosféře. Tyto mikroorganismy naopak produkují pro rostlinu některé sloučeniny, které si rostlina sama nedokáže syntetizovat a zároveň degradují organické látky, které se v půdě vyskytují.

Fytodegradace byly použity pro dekontaminaci např. detergentů, dusíkatých látek včetně výbušnin, chlorovaných pesticidů, PCB, polyaromatických uhlovodíků nebo ropných látek.

- Rhizofiltrace

Tato metoda využívá k dekontaminaci podpovrchové vody čerpané kořeny rostlin. Je vhodná k odstranění nízkých koncentrací kovů, které nelze téměř jinak odstranit. Je také velice vhodná k odstraňování radionuklidů (např. rostliny *Helianthus annuus*). Pro rhizofiltraci některých těžkých kovů jsou vhodné např. kukuřice či rýže.

- Fytovolatilizace

Jako remediační metodu lze využít fytovolatilizaci, kdy některé mikroorganismy umí enzymaticky redukovat rtuťnaté ionty na kovovou rtuť, která se rozptýluje do okolí ve formě par. Gen pro reduktasu rtuti byl vnesen do rostlin *Arabidopsis thaliana* a *Lyriondendron tulipifera* a došlo ke zvýšení odolnosti vůči rtuti ( $\text{Hg}^{2+}$ ) a také tímto zásahem rostliny předali větší množství rtuti ( $\text{Hg}^0$ ) do ovzduší<sup>2</sup>. V tomto případě je ale nutné učinit opatření, aby se rtuť jen tak nerozptýlovala do ovzduší. Tato metoda je značně sporná, jelikož se v podstatě jedná o přenesení problému z jednoho média (půda) do druhého (ovzduší).



## b) Fytostabilizační technologie

Fytostabilizace je metoda, která používá rostliny ke stabilizaci kontaminantů v půdě a podzemní vodě pomocí absorpce a akumulace kořeny, adsorpcí na kořenech nebo srážením v kořenové oblasti rostlin. Tento proces snižuje mobilitu kontaminantu v půdě, zamezuje jeho migraci do spodní vody nebo ovzduší a snižuje jeho biopřístupnost pro vstup do potravního řetězce. Využívá se v místech, kde jsou značné koncentrace xenobiotik (odkaliště, ...).

Rostliny stabilizují kontaminaty také ve svých tkáních pomocí redox reakcí, převedením kontaminantu do nerozpustné podoby a nebo zabudováním do svých struktur.

## c) Ostatní metody

Existuje i možnost tzv. forenzní fytoremediace<sup>6</sup>, environmentálního monitoringu (bioassay)<sup>6</sup> a fytorestorace<sup>14</sup>.

- *Forenzní fytoremediace* : Některé kontaminované oblasti jsou přirozeně zarostlé. Vegetace může narůst po detoxikaci půdy, kdy dojde k samovolné degradaci kontaminantů. V těchto případech vegetace indikuje, že kontaminanty nejsou již v půdě bioaktivní či toxické. To se zřejmě stalo v petrolejové rafinerii v usazeném kalu na dně nádrže, ve které přirozený pokryv morušových stromů vyčistil kontaminaci polyaromatickými uhlovodíky. Došlo k mikrobiální degradaci v rhizobickém systému kořenů stromů. Výzkum přírodních revegetačních míst se označuje jako forenzní fytoremediace, ve kterých má prospěšný význam vegetace. Forenzní fytoremediace vyšetřuje a kvantifikuje přirozené působení fytoremediací na kontaminovaných místech.
- *Bioassay* : Testy fytotoxicity byly použity k předpovědi rozsahu kontaminace půdy. Rostlinné testy byly úspěšně použity *in situ* ke zjištění rozsahu zamoření půdy arsenem, chromem a mědí. V jiných případech byl zjištěn možný dopad na životní prostředí monitorováním růstu rostlin a jejich absorpcí přítomných těžkých kovů. Bylo také zjištěno znečištění vzduchu z tkáně listů stromů.
- *Fytorestorace* : Tato metoda zahrnuje kompletní remediaci půdy a její naprosté zbavení kontaminantů, kterými byly těžké kovy. Průzkum fytorestorace srovnával různé formy fytoremediací, pro objasnění problému jaké míry dekontaminace může fytoremediace dosáhnout. Ukázal se obrovský rozdíl mezi dekontaminací půdy, pro dosažení povoleného

limitu znečištění ve srovnání s uvedením půdy do takového stavu, ve kterém může být znovu použita, či k její naprosté dekontaminaci. Objektem mnohých fytoředičních projektů je odstranění kontaminantů do takové míry, aby půda nebyla z právního hlediska kontaminována. To ovšem neznamená, že je půda kontaminantů dostatečně zbavena. Trvalou kombinací fytoředičních technologií může být dosaženo mnohem větší dekontaminace půdního prostředí. To může pomoci k souběžnému odstranění různých typů kontaminantů z dané oblasti. Řediční systém může např. obsahovat rostliny schopné hyperakumulovat těžké kovy a rostliny stimující mikrobiální aktivitu, která je schopná degradovat některé organické kontaminanty přímo v půdě.

Typy fytoředičních technik v závislosti na typech kontaminantů, se kterými jsou schopny pracovat a druhy procesů, které při těchto technikách probíhají, jsou shrnuty v tabulce 5 a 6.

tabulka číslo 5 : ředice půd kontaminovaných organickými látkami<sup>7</sup>

<b>Typ fytoředice</b>	<b>zahrnující procesy</b>	<b>kontaminanty</b>
<i>Fytostabilizace</i>	humifikace některých org. látek	fenoly, hydrofóbní org. látky
<i>Rhizodegradace</i>	nekróza kořenů, degradace kořenových hub a mikrobů	polyaromatické uhlovodíky atrazin, PCB
<i>Rhizofiltrace</i>	látky jsou zachyceny a absorbovány kořeny	hydrofóbní organická látky
<i>Fytodegradace</i>	oxidační a redukční enzymy se mohou uplatnit v různých částech rostliny	výbušniny (TNT, RDX, ...), atrazin, halogenované sloučeniny (DDT, ...), fenoly
<i>Fytovolatilizace</i>	těkavé organické látky jsou absorbovány a transpirovány některé org. látky jsou snáze degradovatelné v atmosféře	chlorovaná rozpouštědla

tabulka číslo 6 : remediace půd kontaminovaných anorganickými látkami<sup>7</sup>

Typ fytoremediace	zahrnující procesy	kontaminanty
<i>Fytostabilizace</i>	imobilizace kontaminantů	osvědčené pro těžké kovy v hlušině
<i>Rhizofiltrace</i>	látky jsou sorbovány kořeny	těžké kovy a radionuklidy
<i>Fytovolatilizace</i>	látky jsou zachyceny a absorbovány kořeny, redukce a následná transpirace	rtuť a selen
<i>Fytoakumulace</i>	kovy jsou absorbovány rostlinou spolu s vodou	nikl, zinek, olovo, chrom, kadmium, selen, radionuklidy

## 2.4. Minerální výživa rostlin

Rostlina přijímá minerální živiny ve formě iontů z půdního roztoku (hlavně kořenem). To však neznamená, že rostlina nemůže ionty přijímat jinými orgány jako např. listy. Aplikace tekutých hnojiv na listy v rámci pěstitelských technologií to plně potvrzují.

Představa, že rostlina přijímá rozpuštěné látky do svých buněk ve stejné koncentraci, v jakém jsou v půdním roztoku, by byla velmi nesprávná. Není to možné už z toho důvodu, že podíl jednotlivých látek v půdním roztoku naprosto neodpovídá jejich zastoupení v rostlinné biomase. Neregulovaný příjem by velmi rychle vedl ke vzniku toxicity vysokých koncentrací jedněch prvků a k vážnému nedostatku jiných prvků v těle rostliny.

Mechanismus příjmu a transportu iontů musí splňovat tyto základní předpoklady :

- vzhledem k nízké koncentraci většiny iontů v půdním roztoku musí existovat možnost transportu těchto iontů i proti koncentračnímu gradientu
- vzhledem k velkým rozdílům mezi koncentracemi jednotlivých iontů v půdním roztoku a potřebami rostlin musí mít kořeny schopnost regulovat příjem každého iontu odděleně od ostatních<sup>12</sup>

### 2.4.1 Mechanismus příjmu

Je vysvětlován tzv. pasivním a aktivním transportem

- Pasivní transport

Je uskutečňován ve směru koncentračního spádu. Ionty z půdního roztoku difundují nabobtnalými buněčnými stěnami a jimi pak pronikají do vlastní i sousední buňky. Sorbované ionty se tak mohou pohybovat kořeny, přitom procházejí rostlinnými buňkami, aniž vnikají do jejich vakuol. U většiny kořenů dřevin může voda a v ní rozpuštěné živiny pronikat vnějšími suberinizovanými buňkami korku podél nabobtnalých buněčných stěn a

odtud korkovou částí až do xylému. Vnikají-li ionty do kořenů difúzí, mohou tam být vnášeny také transpiračním proudem. Bylo zjištěno, že zvýšením transpirace se zvýšil i příjem minerálních živin.<sup>10</sup>

- **Aktivní transport**

Jedná se o pohyb iontů proti koncentračnímu spádu za spotřeby ATP, který je pro tento účel hydrolyzován. ATP-ázy se vyskytují ve všech biologických membránách, co se týče přenosu iontů, důležité jsou ATP-ázy cytoplazmatické membrány a tonoplastu, kterým se říká protonové pumpy (transportují H<sup>+</sup>).

#### ***2.4.2. Příjem těžkých kovů rostlinami a jejich následná akumulace<sup>14</sup>***

Rostliny přijímají pomocí kořenů různé ionty vyskytující se v kořenovém substrátu a mají schopnost udržovat jejich koncentraci nižší či vyšší než je v jejich okolí a to za pomoci rostlinných membrán. Transport iontů je možný nejen po koncentračním spádu, ale za vynaložení energie (např. z ATP) i proti němu.

Transportní mechanismy<sup>11</sup> :

- nespecifický transport
  1. prostá difúze
  2. zprostředkovaná difúze
- zprostředkovaný transport
  1. primární aktivní transport
  2. sekundární aktivní transport

Hromadění živin může nastat jen uvnitř relativně semipermeabilních stěn, protože jinak by látky mohly procházet stejně intenzívně do buňky i z buňky. Rostlinné membrány jsou tvořeny formou monomolekulárních vrstev či povrchů (ektoplast, endoplast, plastidomembrána, endoplast apod.) nebo formou systémů složených z vrstev buněk (epidermis, endodermis, karyomembrána atd.). Tloušťka membrány tvořící semipermeabilní hranici pro iontovou difúzi může být kolem 10<sup>-6</sup> mm.

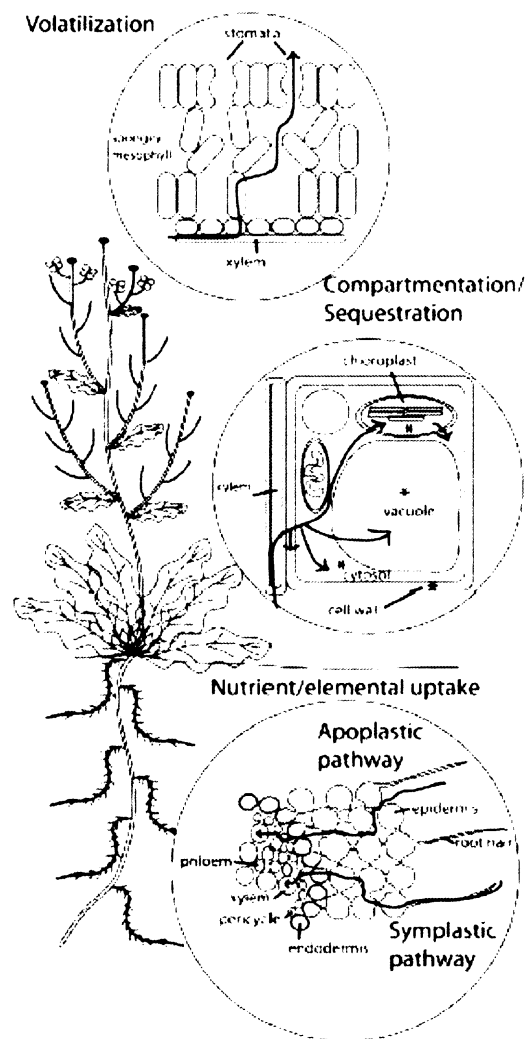
Selektivita akumulace je závislá na množství a druhu přítomných nosičů schopných způsobit aktivní transport a na permeabilitě buněčných stěn. Akumulace solí v kořenech je obvykle chápána ve dvou fázích :

1. Výměnná absorpce, která zahrnuje difúzi a adsorpci iontů. Průběh výměnné absorpce rychle klesá s časem při kterém rostlina vyměňuje ionty s okolním prostředím (vyrovnává se asi za hodinu). Ionty jsou snadno stechiometricky výměnné. K akumulovaným iontům není výměnná adsorpce vysoce selektivní. Není závislá na metabolické energii (probíhá i při nízké teplotě či aeraci půdy). Ionty jsou absorbovány převážně na vazných oblastech cytoplazmy.
2. Metabolická absorpce (akumulace), zahrnuje nosiče iontů a vazné látky – živiny. Průběh metabolické absorpce je pomalejší, trvá hodiny i dny. Ionty nejsou snadno výměnné. K akumulovaným iontům je rostlina vysoce selektivní. Vyžaduje metabolickou energii, a proto je silně redukována faktory omezujícími respiraci. Ionty jsou akumulovány zejména ve vakuolách.

Nemetabolický absorpční proces je typický zejména pro absorpci a vylučování (výměnu) iontů v kořenovém systému. Zejména pro  $\text{H}_3\text{O}^+$  a  $\text{HCO}_3^-$ .

Mnoho těžkých kovů se v půdě nachází ve formě nerozpustných nebo málo rozpustných sloučenin. Aby je rostliny mohly přijmout a následně akumulovat, musí je převést na formu rozpustnou. Možným mechanismem je např. acidifikace rhizosférou. Pomocí látek vylučovaných kořeny rostlin jsou kovy mobilizovány a navázány na vhodné chelatační činidlo. Tento komplex následně pronikne do rostliny přes plasmatickou membránu. Další metodou jak mohou rostliny přijímat těžké kovy je využití mykorrhizy. Příjem těžkého kovu rostlinou je schématicky znázorněn na obrázku číslo 3.

Příjem těžkého kovu, který je v rozpustné formě je možný kořenem dvěma způsoby. Buďto symplasticky buněčnou membránou endodermálních buněk nebo apoplasticky přes volný prostor mezi buňkami (viz. obr. 3).



obrázek číslo 3 : Příjem těžkého kovu rostlinou<sup>14</sup>

Jakmile se dostane těžký kov do xylemu, je transportován do listů, kde proniká do buněk a ukládá se. Typ buněk, ve kterých se těžký kov uloží je různý podle druhu rostliny. Například zinek se v rostlinách *T. caerulea* ukládá především v epidermálních buňkách zatímco u *A. halleri* v mesofyly<sup>22</sup>. Finálním krokem akumulace velké většiny těžkých kovů je jejich uložení ve vakuolách, kam musí být kov či kov-ligand transportován přes membránu. Kov ale může zůstat v buněčné stěně místo aby putoval plazmatickou membránou dovnitř buňky. Ovšem v buněčné stěně může reagovat s polyvalentními kationty<sup>24</sup>. Když je kov translokován do nadzemní části rostliny, vstoupí do xylemu a je transportován do listů. Pronikne přes buněčnou membránu do buněk, kde může být zafixován například ve vakuolách nebo buněčné stěně a přeměněn na méně toxickou formu pro rostlinu. Vše záleží na druhu rostliny a na formě, v jaké se daný kov vyskytuje v rostlině. Rovněž může být volatilizován přes stomata v listech.

Těžký kov může být kdykoliv v průběhu své cesty rostlinou přeměněn na méně toxickou formu a to buď chemickou konverzí nebo chelatací. Různé oxidační stavy toxických kovů mohou mít vliv na jejich přijatou koncentraci rostlinou a mohou se lišit následnou sorpcí i toxicitou. Chelatace těchto kovů může měnit jejich ekotoxikologické vlastnosti. Hodně chelatačních činidel obsahuje jako ligand thiolovou skupinu. Biosyntetická cesta síry se ukázala jako velmi důležitá pro hyperakumulační funkci rostlin<sup>23</sup>.

## 2.5. Měď

Tento kov byl objeven již ve starověku. Název Cuprum pochází z latinského názvu Kypru. Je to červený lesklý kov, relativně měkký a tažný. Dobře vede elektrický proud. Chemické a fyzikální vlastnosti viz tabulka číslo 7.

Do rostlin vstupuje v podobě  $\text{Cu}^{2+}$ . Hromadí se zejména v semenech a rostoucích částech rostlin. Je součástí mnoha enzymů, spolu s molybdenem a železem se účastní procesu fixace vzdušného dusíku půdními bakteriemi. Nedostatek mědi způsobuje zpomalení růstu i kvetení rostlin, vznik chloróz apod.<sup>9</sup> K výskytu různých chorob z nedostatku mědi dochází hlavně v kyselých půdách, na nedostatek mědi jsou citlivé hlavně obilniny.

tabulka číslo 7 : vybrané chemické a fyzikální vlastnosti

veličina	hodnota
$A_r$	63,546
$t_f$	1084,5 °C
$t_v$	2567 °C
$\rho$	8,96 g/cm <sup>3</sup>
X	1,65
$S^\circ$	33,15 J/K × mol
$A_v$	4,65 eV

V listech je téměř všechna měď lokalizována v chloroplastech. Okuncov zjistil<sup>10</sup>, že měď má specifickou stabilizační funkci ve vztahu k chlorofylu. Stabilizace chlorofylu podle něj spočívá v tom, že měď zintenzivňuje oxidační pochody a dýchání rostlin a napomáhá syntéze bílkovin, které tvoří příslušné struktury chloroplastu. Pejve uvádí<sup>10</sup>, že bez mědi se neobejde činnost enzymů polyfenoloxidázy a askorbátoxidázy. Pravděpodobně aktivuje také činnost

vitaminů skupiny B. Mobilita mědi v rostlině je vysoká a zvláště snadno se transportována ze starých do mladých listů.

V přírodě se občas měď vyskytuje jako čistý prvek. Mnohem častěji však ve formě rud (sulfidové, arsenité a chloridové), které obsahují dvě a méně procent mědi. Nejčastější měďnou rudou je chalkopyrit ( $\text{CuFeS}_2$ ), který představuje 50% světových zásob mědi. Díky zvětrávání rud se měď může vyskytovat i ve vodě.

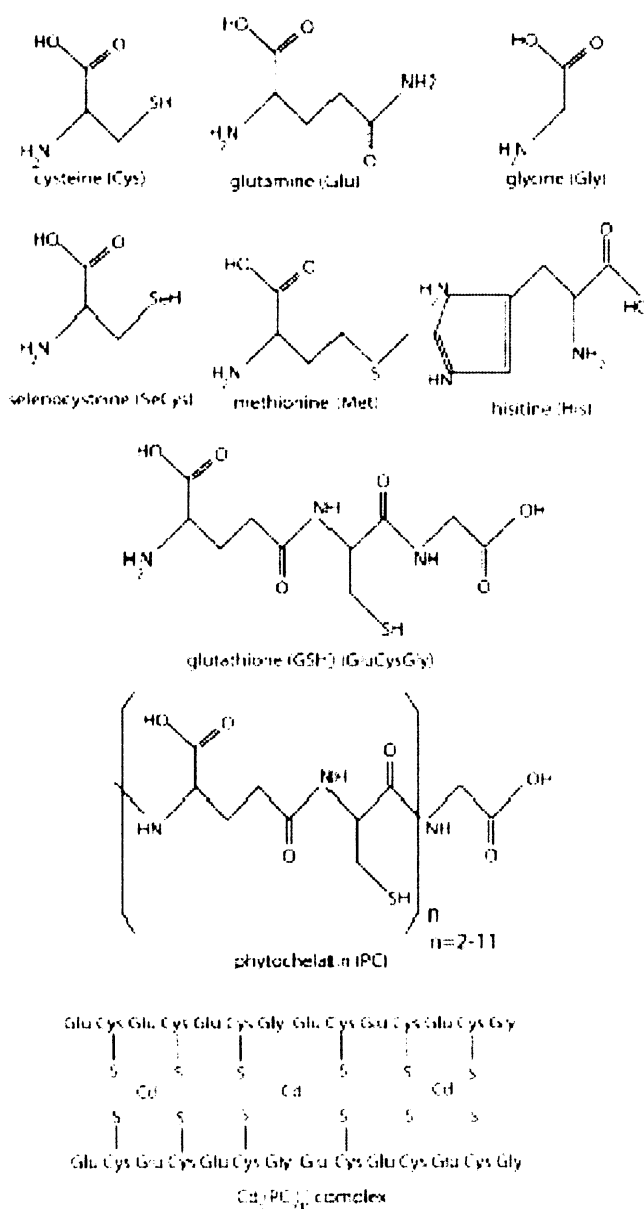
Měď je esenciální prvek, součástí kofaktorů enzymů oxidoreduktás (cytochrom c, superoxid dismutasy a tyrosinasy). Přesto je pro živočichy i rostliny ve vyšších koncentracích toxická. Její vysoké koncentrace vedou k bolestem žaludku, ke střevním potížím a anémii.<sup>13</sup> Kontaminace půd a vodstva pochází především z těžebního průmyslu. Například Kypr má bohatou historii těžení mědi, která sahá až dva tisíce let zpátky. Pustiny, které vznikly z této těžební činnosti jsou příkladem negativního dopadu na živou přírodu na tomto ostrově dodnes<sup>25</sup>. Dalším příkladem je Anglie, která byla v 19. století největším producentem mědi na světě (Devon Great Consols Mine v Tamar Valley of Devon), nebo Francie, kde došlo vlivem ošetřování vinic proti plísni skalicí modrou od konce 19. století k vysokým depozicím mědi na tamních vinicích a to hlavně v oblasti Bordeaux<sup>26</sup>. Velká kontaminace mědí je uváděna také v Řecku, kde jsou hlavně kontaminována tamní jezera jako například Pamvotis na severozápadě Řecka<sup>27</sup>, ale také lokálně i potrava jako například v okrese Veria<sup>28</sup>. Geograficky se nejvíce hyperakumulátorů mědi nachází v Kongu v oblasti Shaban Copper Arc. Bylo zjištěno, že mnoho těchto rostlin je nevhodných pro remediace půd, jelikož měď velice ochotně do půdy zpět vylučují. Jde například o druhy rostlin *Elsholtzia argyi* a *Elsholtzia splendens*<sup>29</sup> dále o *Silene vulgaris*<sup>30</sup> a *Mimulus guttatus*<sup>31</sup>. Bylo také prokázáno, že fosfát zvyšuje příjem mědi rostlinou<sup>34</sup>. Další výzkum je také nutný pro zodpovězení otázky zda jsou vysoké koncentrace mědi skutečně hyperakumulovány, či jsou vstřebány z prachu přes listy rostlin<sup>32</sup>.

Dobrým akumulátorem mědi i kadmia je *Salix nigera*, stejně jako jiné druhy rostlin z čeledi *Salix*. Studie v terénu ukazují na vhodnost použití těchto rostlin k remediaci půd kontaminovaných mědí<sup>33</sup>. Pro odstranění mědi z vodního prostředí se zdá velmi vhodná *Eichhornia crassipes* (tzv. vodní hyacint). Tato rostlina je schopná absorbovat 21,62 kg mědi na hektar a může být využita pro dekontaminaci nízkých koncentrací mědi ve vodě např. v odpadních vodách.



## 2.6. Biologické chelatační sloučeniny

Některé kovy jako je měď nebo zinek jsou pro rostliny esenciální mikroživiny, ovšem ve vyšších koncentracích jsou škodlivé stejně jako jiné těžké kovy. Proto je pro rostliny nutné koncentrace všech těžkých kovů regulovat. Tato regulace se děje uvnitř rostlin pomocí chelatace a inaktivace těchto kovů specifickými organickými sloučeninami<sup>36</sup> viz tabulka číslo 8 a obrázek číslo 4. Například měď se v rostlinách váže na citrát, PC<sub>2</sub> a PC<sub>3</sub> a metallothioneiny<sup>35</sup>.



Obr. č. 4 : Příklady některých komplexačních sloučenin<sup>14</sup>

tabulka číslo 8 : Přehled vybraných prvků a jejich komplexačních činidel<sup>14</sup>

<b>prvek</b>	<b>analog</b>	<b>organický ligand</b>
arsen	fosfát	fytochelatin, thiol, glutathion
kadmium	zinek, železo	fytochelatin, glutathion, thioly
chrom	mangan	thioly
měď	není znám	citrát, methallothioneiny, fytochelatin 2 a 3
rtuť	není znám	thioly
nikl	železo	nicotinamin, histidin, thioly, glutathion
olovo	zinek, železo	glutathion
selen	síra	cystein, methionin
zinek	není znám	fytochelatin, glutathion, thioly, malát

### 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1. Cíle práce

- Provedení literární rešerše na téma fytořediačních technik se zvláštním přihlédnutím k akumulaci mědi.
- Porovnání klíčivosti 23 kultivarů lnu setého (*Linum usitatissimum* L.) v přítomnosti a nepřítomnosti mědi

#### 3.2. Botanická charakteristika lnu setého

Len setý patří do čeledi Inovitých (*Linaceae*). Je to jednoletá, zřídka i dvouletá bylina, jejíž lodyha je zpravidla přímá, 30-120 cm vysoká, oblá, hustě olistěná, v květenství větvená. Listy jsou střídavé, kopinaté, 3žilné, šedozelené. Květy tvoří vrcholičnaté květenství, kališní lístky jsou vejčité, špičaté, se širokým blanitým lemem na okraji, lysé a korunní lístky klínovitě obvejčité, na vrcholu zaokrouhlené až uťaté, světle modré, vzácně i bílé nebo narůžovělé, vždy s výrazným žilkováním. Plodem je kulovitá tobolka viz obrázek číslo 5.

U nás se pěstuje na polích, převážně v podhorských oblastech, občas přechodně zplaňuje. Objevuje se jako letnička i v okrasných zahradách.

Len setý je prastarou kulturní plodinou, pěstuje se především jako přadná a olejodárná rostlina, využívá se však i v lidové medicíně (proti kašli, zánětům hrdla i jako projímadlo).<sup>37</sup>



obrázek číslo 5 : *Linaceae* S.F.Gray - Inovité

### 3.3. Použité látky, chemikálie, přístroje a zařízení

- Destilovaná voda
- Dusičnan měďnatý (Lachema)
- Petriho misky (d = 90 mm)
- váhy, KERN 410
- filtrační papíry, No. 388, FILTRAK, Německo
- milimetrové pravítko
- laboratorní sklo
- automatické pipety, DIALAB

### 3.4. Metodika

Podstatou experimentů je srovnání klíčivosti lnu v přítomnosti a nepřítomnosti mědi. Inhibice růstu kořínků byla sledována na 23 kultivarech lnu.

#### 3.4.1. Test semichronické toxicity

Byl testován vliv mědi na klíčení semen a růstu kořenů 23 kultivarů (Merkur, Flanders, Bonet, Jordán, Super, Hermes, Agáta, Laura, Viking, Ilona, Elektra, Jitka, Tábor, Lola, Viola, Excalina, Atalante, Venica, Raisa, Bilt Star, Marylin, Recital, Marina) lnu setého (*Linum usitatissimum* L.) v počátečních stádiích vývoje.

Bylo připraveno 5 roztoků o koncentracích : 0,01 - 0,05 – 0,1 – 0,5 – 1 mmol/l. Do čtyřech Petriho misek bylo pro každou koncentraci rovnoměrně rozloženo 17 semen kultivaru. Semena byla položena na předem připravené otvory ve filtračním papíru, který byl vystřižen tak, aby pokryl celé dno misky. Před vložením semen bylo pipetováno do 3 misek po 5 ml roztoku každé koncentrace a do kontrolní misky byla dána destilovaná voda. Po 72 hodinách byla změřena délka kořene každé rostliny u jednotlivých koncentracích a kontroly.

Pro každé měření byl vypočítán aritmetický průměr délky kořene a spočítána inhibice růstu<sup>38</sup> :

$$I = D(k) - D(t) / D(k)$$

$I$  – inhibice růstu kořene (%)

$D(k)$  – průměrná délka kořene v kontrole (mm)

$D(t)$  – průměrná délka kořene v testované koncentraci

### 3.4.2. Výpočet EC50

EC50 (Effective Concentration) je efektivní koncentrace při které byla dosáhnuta odezva u 50% testovaných organismů. Jedná se o statisticky vypočtenou hodnotu, kdy se využívá lineární nebo nelineární regrese.

Při nelineární regresi postrádáme ve výpočtu linearitu závislosti naměřených dat. Proto je nutné vložit do nelineárního modelu další významné předpoklady. To je tedy v případě sigmoidální funkce horní a dolní maximum naměřené hodnoty. Pro výpočet EC50 se zadávají limitní konstanty 0 a 100 a pro směrnici buď konstanta 1 nebo lze použít více interakcí. K výpočtu nelineární regrese byl použit software GraphPad Prism s výstupy do MS Excelu. Sigmoidální závislost popisuje křivka dávka – odpověď<sup>39</sup>

$$Y = D + (H - D) / (1 + 10^{(\text{LogEC50} - X) \times s})$$

Y – efekt (%)

X – log koncentrace

D – dolní limitní hladina

H – horní limitní hladina

S – směrnice

Ze získaných dat byly vypočteny hodnoty EC50 v mmol/l a jejich směrnice. Čím jsou tyto směrnice menší, tím pozvolněji klesají s koncentrací účinky látky. Pokud budeme mít dvě různé látky se stejnou hodnotou EC50 a jedna z nich bude mít směrnici menší, bude tato látka s klesající koncentrací pomaleji ztrácet intenzitu svých toxických účinků a bude tedy představovat větší riziko pro prostředí<sup>39</sup>. Naopak čím je směrnice větší, tím se s koncentrací rychleji mění toxické účinky. Pro nás je tedy vhodné mít směrnici co nejvyšší.

#### 4. VÝSLEDKY

Byla testována toxicita měďnatých iontů na 23 kultivarů lnu setého (Merkur, Flanders, Bonet, Jordán, Super, Hermes, Agáta, Laura, Viking, Ilona, Elektra, Jitka, Tábor, Lola, Viola, Excalina, Atalante, Venica, Raisa, Bilt Star, Marylin, Recital, Marina). Postup práce a metodika měření je uvedena v kapitole 3.4. Toxicita pro jednotlivé kultivary byla vyjádřena jako hodnota EC50. Pro lepší rozlišení toxicity v případě, kdy jsou hodnoty EC50 pro dva a více kultivarů totožné či velmi blízké, je uvedena směrnice přímký. Výsledky jsou shrnuty v tabulce číslo 9.

Výsledky jsou shrnuty v tabulce č. 9

KULTIVAR	Merkur	Flanders	Bonet	Jordán	Super	Hermes
směrnice přímký	0,5432	0,8230	0,5150	1,2540	1,1840	0,4948
EC50	<b>0,01246</b>	<b>0,04126</b>	<b>0,01377</b>	<b>0,03024</b>	<b>0,08806</b>	<b>0,00669</b>

KULTIVAR	Agáta	Laura	Viking	Ilona	Elektra	Jitka
směrnice přímký	1,3000	1,0600	1,1300	0,7138	0,7452	0,7376
EC50	<b>0,10840</b>	<b>0,05507</b>	<b>0,06664</b>	<b>0,03688</b>	<b>0,06151</b>	<b>0,04090</b>

KULTIVAR	Tábor	Lola	Viola	Escalina	Atalante	Venica
směrnice přímký	0,7836	1,9040	0,7920	0,6623	1,7010	1,2550
EC50	<b>0,05053</b>	<b>0,18570</b>	<b>0,04154</b>	<b>0,03192</b>	<b>0,19820</b>	<b>0,10990</b>

KULTIVAR	Raisa	Bilt Star	Marylin	Marina	Recital
směrnice přímký	0,4652	1,2880	1,2730	1,1590	3,0540
EC50	<b>0,00144</b>	<b>0,37580</b>	<b>0,12820</b>	<b>0,10120</b>	<b>0,37810</b>

Zjistili jsme, že měďnaté ionty byly nejméně toxické pro kultivary Recital a Bilt Star, které mají hodnotu EC50 téměř totožnou (okolo 0,37 mM). Pro porovnání těchto dvou kultivarů byla použita hodnota směrnice přímký, která ukazuje, že kultivar Recital má v úzkém rozmezí koncentrací vyšší citlivost vůči měďnatým iontům. Naopak nejvyšší hodnoty EC50 byly stanoveny pro kultivary Raisa a Hermes. Tyto hodnoty byly výrazně nižší v porovnání s ostatními testovanými kultivary. Z výše uvedených tabulek vyplývá, že hodnota EC50 kolísá v poměrně velkém rozmezí od hodnoty 0,00144 až k hodnotě 0,37810.

## 5. ZÁVĚR

- Fytoremediační techniky se rozvíjejí již řadu let a jejich význam jako dekontaminačních technologií byl potvrzen řadou experimentálních i praktických aplikací po celém světě. Důležitým aspektem hodnocení je ekonomické hledisko, kdy se mezi sebou porovnávají jednotlivé fytoremediační techniky ve vztahu k dané lokalitě a úplné či částečné dekontaminaci. Na základě takovéto analýzy se může učinit rozhodnutí, zda použít klasické chemicko-fyzikální metody dekontaminace nebo některou z fytoremediačních technik. Dalším důležitým faktorem je šetrnost těchto technik k dekontaminované lokalitě a tím pádem přijatelnost pro širokou veřejnost. Měď má u rostlin specifické postavení oproti jiným těžkým kovům, jelikož se jedná o esenciální prvek pro funkci chlorofylu, pro zintenzivnění oxidačních pochodů, činnost enzymů (polyfenoloxidázy, askorbát oxidázy) a dýchání rostlin. Z tohoto pohledu se fytoremediace jeví jako nejvhodnější typ dekontaminace mědi z půd.
- Největší toxicitu na měďnaté ionty vykazoval kultivar Raisa. Nejmenší toxicita byla naměřena u kultivaru Recital.

## 6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- <sup>1</sup> Moldan B.: *Ekologická dimenze udržitelného rozvoje*, CUPRES, Praha 1999
- <sup>2</sup> Henry J. R. : *National Network of Environmental Management Studies*, NNEMS New York, 2000
- <sup>3</sup> *Designer Trees May Mitigate Mercury Pollution.*  
<http://www.nbiap.ut.edu/news/1998/news98.nov.html#nov.9805>, staženo 20.03.2007
- <sup>4</sup> U.S. Environmental Protection Agency : *Recent Developments for In Situ Treatment of Metal Contaminated Soils*  
<http://www.cluin.org/download/remed/metals2.pdf>, staženo 26.února.2007
- <sup>5</sup> Jizba J.: *Metoda odstraňování těžkých kovů z půdy*  
<http://stary.biom.cz/sborniky/sb95vana/jizba.html>, staženo 23. ledna.2007
- <sup>6</sup> Pivetz B. E.: *Ground Water Issue : Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground Water at Hazardous Waste Sites*, EPA  
[http://clu-in.org/download/remed/epa\\_540\\_s01\\_500.pdf](http://clu-in.org/download/remed/epa_540_s01_500.pdf), staženo 6. ledna 2007
- <sup>7</sup> Müller B.: *Phytoremediation decision tree.*  
<http://www.cluin.org/download/partner/phytotree.pdf>, staženo 6. února 2007
- <sup>8</sup> Belz K. E. : *Phytoremediation*, 1997  
<http://ewr.cee.vt.edu/environmental/teach/gwprimer/phyto/phyto.html>, staženo 16. prosince 2006
- <sup>9</sup> Kincl L., Kinclová M., Jakrlová J. : *Biologie rostlin*, Fortuna, 2000
- <sup>10</sup> Penka M. : *Všeobecná botanika, lesnická botanika I.*, Vysoká škola zemědělská v Brně, 1980
- <sup>11</sup> Voet D., Voet J. G.: *Biochemie*, Victoria Publishing, Praha, 1995.
- <sup>12</sup> Procházka S. : *Botanika a morfologie a fyziologie rostlin*, MZLU v Brně, 1998
- <sup>13</sup> Weiner R. E. : *Applications of environmental chemistry*, Lewis Publishers, 2000
- <sup>14</sup> Peer W. A.: *Phytoremediation and hyperaccumulators plants*, Purdue University, USA
- <sup>15</sup> Cannon H. : Botanical prospecting for ore deposits. *Science* 132:591, 1960
- <sup>16</sup> Gstoettner E. M., Fisher N. S. : Accumulation of cadmium, chromium and zinc by the moss *Sphagnum papillosum* Lindle. *Water Air Soil Pollut.* 93:321-330, 1995
- <sup>17</sup> Brooks R. R., Lee J., Reeves R. D., Jaffré T. : Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. *J Geochem Explor* 7:49-77, 1977
- <sup>18</sup> Brooks R.R., Lee J., Reeves R. D., Jaffré T. : Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. *J Geochem Explor* 7:49-79, 1977



- <sup>19</sup> Salt D. E., Kramer U. : Mechanisms of metal hyperaccumulation in plants, *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean-Up the Environment*, Burt D. Ensley and Ilya Raskin (eds.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA, 2000
- <sup>20</sup> Reeves R. D., Baker A. J. M. : Metal-accumulating plants, *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean-Up the Environment*, Burt D. Ensley and Ilya Raskin (eds.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA, 2000
- <sup>21</sup> Freeman J.L., Persans M. W., Nieman K., Albrecht C., Peer W. A., Pickering I. J., Salt D. E. : Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi* nickel hyperaccumulators. *Plant Cell* 16:2176-2191, 2000
- <sup>22</sup> Kupper H., Zhao F.J., McGrath S. P. : Cellular compartmentalization of zinc in leaves of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiol* 119: 305–311, 1999
- <sup>23</sup> Van Huysen T., Abdel-Ghany S., Hale K.L., LeDuc D., Terry N., and Pilon-Smits E.A.H. : Overexpression of cystathionine- $\gamma$ -synthase enhances selenium volatilization in *Brassica juncea*. *Planta* 218, 71–78, 2003
- <sup>24</sup> Wang J., Nielsen M.T., Evangelou V.P. : A solution culture study of Mn-sensitive and tolerant tobacco genotypes. *J. Plant Nutr.* 17:1079-1093, 1994
- <sup>25</sup> Pyatt F.B. : Copper and lead bioaccumulation by *Acacia retinoides* and *Eucalyptus torquata* in sites contaminated as a consequence of extensive ancient mining activities in Cyprus. *Ecotoxicol Environ Saf* 50:60-64, 2001
- <sup>26</sup> Brun L.A., Maillet J., Hinsinger P., Pepin M. : Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. *Environ Pollut* 111:293-302, 2001
- <sup>27</sup> Papagiannis I., Kagalou I., Leonardos J., Petridis D., Kalfakakou V. : Copper and zinc in four freshwater fish species from Lake Pamvotis (Greece). *Environ Int* 30:357-362, 2004
- <sup>28</sup> Zantopoulos N., Antoniou V., Nikolaidis E. : Copper, zinc, cadmium, and lead in sheep grazing in North Greece. *Bull Environ Cont Tox* 62:691-699, 1999
- <sup>29</sup> Jiang L.Y., Yang X.E., He Z.L. : Growth response and phytoextraction of copper at different levels in soils by *Elsholtzia splendens*. *Chemosphere* 55:1179-1187, 2004
- <sup>30</sup> Song J., Zhao F.J., Luo Y.M., McGrath S.P., Zhang H. : Copper uptake by *Elsholtzia splendens* and *Silene vulgaris* and assessment of copper phytoavailability in contaminated soils. *Environ Pollut* 128:307-315, 2004
- <sup>31</sup> Harper F.A., Smith S., Macnair M.R. : Can an increased copper requirement in copper-tolerant *Mimulus guttatus* explain the cost of tolerance? II. Reproductive phase. *New Phytol* 140:637-654, 1998

- <sup>32</sup> Song J., Zhao F.J., Luo Y.M., McGrath S.P., Zhang H. : Copper uptake by *Elsholtzia splendens* and *Silene vulgaris* and assessment of copper phytoavailability in contaminated soils. *Environ Pollut* 128:307-315, 2004
- <sup>33</sup> Kuzovkina Y.A., Knee M., Quigley M.F. : Cadmium and copper uptake and translocation in five willow (*Salix* L.) species. *Int J Phytoremediation* 6:269-287, 2004
- <sup>34</sup> Wu L., Li H., Luo Y. M., Christie P. : Nutrients can enhance phytoremediation of copperpolluted soil by Indian mustard. *Environ Geochem Health* 26:331-335, 2004
- <sup>35</sup> Murphy A. S., Eisinger W. R., Shaff J. E., Kochian L. V., Taiz L. : Early copper-induced leakage of K(+) from *Arabidopsis* seedlings is mediated by ion channels and coupled to citrate efflux. *Plant Physiol* 121:1375-1382, 1999
- <sup>36</sup> Clemens S., Palmgren M. G., Kramer U. : A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends Plant Sci* 7:309-315, 2002
- <sup>37</sup> Hoskovec L. : *Linum usitatissimum* L. - len setý / ľan siaty, 2005  
<http://flora.nikde.cz/view.php?cislocclanku=2005032702>, staženo 26. prosince 2006
- <sup>38</sup> Kočí V., Rakovický T., Švagr A.: *Test semichronické toxicity se semeny Sinapis Alba*, VŠCHT, Praha, 2001
- <sup>39</sup> Kočí V.: *Základní testy toxicity (Laboratorní ekotoxikologie)*, VŠCHT, 2004.

Použité obrázky pocházejí z volně přístupných zdrojů, které jsou na internetu.

„Svoluji k zapůjčení této práce pro studijní účely a prosím, aby byla řádně vedena evidence vypůjčovateli.“

Jméno a příjmení s adresou	Číslo OP	Datum vypůjčení	Poznámka