

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra experimentální biologie rostlin

**Jak dokáží přežít rostliny na toxických výsypkových
substrátech?**

**Fyziologické a strukturální vlastnosti rostlin na
substrátech s vysokým obsahem As a Hg**



Monika Kovářová

Bakalářská práce

Praha 2010

Školitel bakalářské práce:

Doc. RNDr. Jana Albrechtová, Ph.D.

(Katedra experimentální biologie rostlin, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze)

Konzultant bakalářské práce:

Mgr. Zuzana Lhotáková, Ph.D.

(Katedra experimentální biologie rostlin, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze)

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně s použitím citované literatury pod vedením doc. Jany Albrechtové a Mgr. Zuzany Lhotákové.

V Praze dne 13.8.2010

Monika Kovářová

Poděkování:

Děkuji Mgr. Zuzce Lhotákové a doc. Janě Albrechtové za obrovskou trpělivost, odborné rady a velkou podporu v průběhu tvorby této práce.

Dále bych chtěla poděkovat svému příteli za obětavost a psychickou podporu a mamince za trpělivost s jakou snášela celé mé tvůrčí období.

Bakalářská práce byla vypracována v rámci grantového projektu GA ČR 205/09/1989: Vyhodnocení environmentálních vlivů povrchové těžby postavené na analýze dat hyperspektrálního sensoru ARES, Hlavní řešitel Dr. Veronika Kopačková (Česká geologická služba), spoluřešitel doc. Jana Albrechtová (KEBR, PřF UK).

Abstrakt

Znečištění prostředí těžkými kovy je v poslední době celosvětovým problémem. Těžké kovy mají škodlivé účinky nejen na rostliny, ale v podstatě na všechny organismy. Díky akumulaci v rostlinách se dostávají do potravních řetězců a mohou tak mít negativní vliv i na zdraví člověka. Vliv těžkých kovů na rostliny a mechanismy, jakými se rostliny s těmito kovy dokáží vypořádat, jsou jednou z důležitých oblastí výzkumu fyziologie rostlin již po desetiletí. Důležitost tohoto tématu vyplývá z role rostlin v prostředí, jejich ekosystémových služeb a ve výživě lidstva. Výzkum procesů a mechanismu hyperakumulace těžkých kovů rostlinami nabízí rozvoj ve fytořemediacích a genetickém inženýrství. Pokusy se zemědělskými plodinami odhalují, jakým způsobem se těžké kovy dostávají do potravního řetězce a jak ovlivňují výnosy plodin.

Cílem této práce bylo shrnout informace o působení těžkých kovů na rostliny. Protože problému kontaminace těžkými kovy čelí i ČR, je práce zaměřena právě na dva těžké kovy: arsen a rtuť, které se ve vysokých koncentracích vyskytují ve výsypkových substrátech v oblasti Sokolovska. U těchto výsypkových půd je důležité opět obnovit vegetaci. Právě proto je má práce zaměřena na vliv dvou hlavních těžkých kovů vyskytujících se na Sokolovských výsypkách.

V první části této práce jsem shrnula obecně, jak jsou těžké kovy toxické pro rostliny a jakými mechanismy se proti tomuto působení rostliny brání. V další části jsem se zaměřila konkrétně na rtuť a arsen. Jejich příjem rostlinami, akumulace v orgánech, detoxifikace rostlinami, toxické působení na rostlinu a jejich vliv na anatomii a morfologii rostlin tvoří hlavní část této práce.

Klíčová slova

Těžké kovy, arsen, As, rtuť, Hg, transport, toxicita, detoxifikace, akumulace, anatomie, morfologie, obranné mechanismy

Abstract

The heavy metals contamination of environment represents a worldwide problem lately. Heavy metals cause harmful effects not only to plants, but also to other organisms. Through their accumulation in plant biomass, heavy metals enter a food chain and could negatively influence the human health. The impact of heavy metals on plants and their defence mechanisms against toxicity of heavy metals have been in focus of plant physiology and ecology research for decades. Importance of this topic arises from plant role in environment, ecosystem services and in human nutrition. Investigation in process and mechanisms of heavy metal hyperaccumulation in plants offer progress in phytoremediation and genetic engineering. The experiments on agricultural crops show how heavy metals enter the food chain and how they affect the crop yield.

The aim of this thesis is to summarize information about heavy metals' effects on plants. The thesis is focused on arsenic and mercury, because the Czech Republic has also a problem with heavy metals contamination and these two metals occur in high concentration in the spoil banks and soils adjacent to the lignite mining areas of Sokolovsko. The spoil banks with heavy metal content have to be revegetated, thus, the topic of their effect on plants is of high importance.

In the first part of the present review general toxicity of heavy metals to plants and plants defensive mechanisms are summarized. In the following part impact of arsenic and mercury to plants are described in more details. The main part of the present review is focused on uptake of these metals by plants, their accumulation in specific organs, specific toxicity to plants, plants defence and detoxification and impact of these metals on plant anatomy and morphology.

Keywords

Heavy metals, arsenic, As, mercury, Hg, transport, toxicity, detoxification, accumulation, anatomy, morphology, defence mechanisms

Seznam použitých zkratk

ALA – dehydratáza kyseliny δ -aminolevulové

ASC – askorbát

DMA - dimetylarsenát

GSH - glutathion

MMA – metylarsenát

NH₂ – aminová skupina

PC – fytochelatin syntasa

PCs – fytochelatiny

PMA – antiperspirant octan fenylrtuťnatý

ROS – reaktivní formy kyslíku

SEM – rastrovací elektronový mikroskop

SH – thiolová skupina

SOD – superoxid dismutasa

TEM – transmisní elektronový mikroskop

Obsah

ABSTRAKT	4
KLÍČOVÁ SLOVA	4
ABSTRACT	5
KEYWORDS	5
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	6
OBSAH	7
1 ÚVOD	8
2 VÝZNAM TĚŽKÝCH KOVŮ PRO ROSTLINU	9
2.1 FUNKCE VYBRANÝCH KOVŮ V METABOLISMU ROSTLIN	9
2.2 TOXICITA VYBRANÝCH KOVŮ	9
2.3 OBECNÉ MECHANISMY OBRANY ROSTLIN PROTI TOXICITĚ TĚŽKÝCH KOVŮ	10
3 STRATEGIE ROSTLIN OHLEDNĚ NAKLÁDÁNÍ S TĚŽKÝMI KOVY	12
3.1 CITLIVOST	12
3.2 TOLERANCE	13
3.3 HYPERAKUMULACE	13
4 VLIV VYBRANÝCH TĚŽKÝCH KOVŮ NA FYZIOLOGICKÉ PARAMETRY ROSTLIN	14
4.1 ARSEN	14
4.1.1 Výskyt arsenu v přírodě a jeho formy.....	14
4.1.2 Příjem arsenu do kořenů a jeho transport rostlinou	15
4.1.3 Toxicita arsenu pro rostliny	17
4.1.4 Detoxifikace sloučenin arsenu v rostlinách.....	20
4.1.5 Vliv arsenu na akumulaci biomasy, morfologii a anatomii rostlin.....	21
4.1.6 Vliv arsenu na fotosyntézu.....	23
4.1.7 Akumulace arsenu v rostlinách	24
4.2 RTUŤ.....	25
4.2.1 Výskyt rtuti v přírodě a její formy	25
4.2.2 Příjem rtuti do kořenů a její transport rostlinou.....	25
4.2.3 Toxicita rtuti pro rostliny	27
4.2.4 Detoxifikace sloučenin rtuti v rostlinách.....	28
4.2.5 Vliv rtuti na akumulaci biomasy, morfologii a anatomii rostlin	29
4.2.6 Vliv rtuti na fotosyntézu.....	35
4.2.7 Akumulace rtuti v rostlinách	37
5 ZÁVĚR	38
6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	40

1 Úvod

Těžké kovy se nacházejí v zemské kůře a do vod, půd a atmosféry se dostávají skrze přírodní činnost, jako jsou sopečné výlevy nebo antropogenní činností jako součásti hnojiv, odpadů při zpracování kovů, při elektrolytické výrobě chlóru, při těžbě a podobně. Vyskytují se v nejrůznějších anorganických i organických formách vázané v rozpustných i nerozpustných sloučeninách. Takto uvolněné těžké kovy se mohou dostávat do zdrojů pitné vody nebo se mohou akumulovat v rostlinách, které tvoří první stupeň potravinové pyramidy a skrze ně mohou těžké kovy ohrožovat další organismy. S tímto problémem se potýkají například v Číně, kde jsou rýžová pole kontaminovaná arsenem nebo ve Španělsku, kde se snaží vyřešit problém s kontaminovanými půdami po těžbách. Akumulace těžkých kovů v rostlinách způsobuje různé inhibice fyziologických procesů a poškození v metabolismu rostlin a v některých případech i smrt celé rostliny. Porozumění vlivu těžkých kovů na metabolismus rostlin je důležité hlavně u zemědělských plodin, u kterých toto působení snižuje jejich výnos a navíc, dochází-li k akumulaci ve výnosových částech rostlin, pak se těžké kovy dostávají do dalších organismů v rámci potravních řetězců. S rostoucí populací na naší planetě se zvyšují i nároky na výnos zemědělských plodin a proto i význam toxicity těžkých kovů pro rostliny znamená palčivý problém v obživě lidstva. A nejen výnos je důležitý. I kontaminace rostlin těžkými kovy může mít katastrofální následky na naši populaci. Těžké kovy mají neblahé účinky i na člověka a způsobují například rakovinná bujení.

Stejný problém s oblastmi po těžbách nalezneme i u nás v České republice a to zejména v oblasti Sokolovska. V půdě některých výsypek (vyvezená půda z těžební oblasti) jsou vysoké koncentrace těžkých kovů, především Pb, Hg, As, Zn a Cu. U těchto půd výsypek je důležité znovu obnovit vegetaci. Právě proto je má práce zaměřena na dva hlavní těžké kovy nalezené na Sokolovských výsypkách, a to na arsen a rtuť. Cílem mé práce bylo zjistit, jaké účinky tyto dva prvky mají na rostliny a jak se s nimi rostliny dokáží vyrovnat. Kapitoly o vlivu arsenu a rtuti na fotosyntézu jsem zařadila z důvodu návaznosti své diplomové práce, kde se budu zabývat vlivem těžkých kovů na změny v alokaci uhlíku do organických sloučenin s různou retencí rozkladu v rostlinách na Sokolovských výsypkách.

V první části obecně shrnuji vliv těžkých kovů na rostliny a obranu rostlin proti toxicitě těžkých kovů. V druhé části jsem se zaměřila konkrétně na arsen a rtuť, na jejich příjem rostlinami, vliv na fyziologii, anatomii a morfologii a na rostlinou detoxifikaci.

2 Význam těžkých kovů pro rostlinu

Těžké kovy se v periodické tabulce prolínají několika skupinami jako například polokovy či přechodné kovy. Mezi nejtypičtější těžké kovy patří olovo, měď, kadmium, rtuť či arsen a mnoho dalších. Pro rostliny i jiné organismy mohou být v určitých koncentracích toxické až s letálními následky. Kovy můžeme z hlediska významu pro rostliny rozdělit do dvou skupin a to esenciální a neesenciální. Esenciální kovy (např. Zn, Cu) tvoří nezbytnou skupinu látek, bez kterých by nebyla rostlina schopná normálního růstu a vývoje. Jejich nezbytnost souvisí i s jejich určitou koncentrací. Při příliš vysokých koncentracích se i esenciální kovy stávají toxické. Neesenciální kovy (např. Hg, As) nejsou pro rostlinu nezbytné a většina z nich je toxická i v malých koncentracích (Hall 2002).

2.1 Funkce vybraných kovů v metabolismu rostlin

Níže jsou uvedené příklady esenciálních kovů a jejich funkcí v metabolismu a jejich toxicita ve vysokých koncentracích a příklady neesenciálních kovů, které jsou toxické již při nízkých koncentracích.

Zinek a měď patří mezi esenciální kovy. Zinek je součástí mnoha proteinů a enzymů. Při vysokých koncentracích je však příčinou chlorosy listů a zakrslého růstu rostlin (Clemens 2006). Měď hraje důležitou roli ve fotosyntéze, kde je součástí struktur plastocyaninu nebo cytochromu c. Její vysoká koncentrace však způsobuje tvorbu nebezpečných kyslíkových radikálů.

Naproti tomu kadmium, olovo, arsen nebo rtuť projevují svou toxicitu již při nízkých koncentracích a žádnou roli nezbytnou v metabolismu rostlin nemají. Projevy jejich toxicity jsou různé. Vykazují vysokou afinitu k síře a dusíku v aminokyselinách (Clemens 2001) a mohou způsobovat oxidativní stres, čímž nepřímo negativně působí na rostlinu.

2.2 Toxicita vybraných kovů

Toxicita u některých kovů spočívá v podobnosti s esenciálními kovy, vyplývající z periodické tabulky prvků (Cd ve skupině se Zn, As ve skupině s P nebo Se ve skupině s S). Díky své podobnosti jsou tyto jedovaté kovy schopny nahradit esenciální prvky v proteinech, enzimech a aminokyselinách rostlin a znemožňovat jejich funkci (Clemens 2006), (Hall 2002). Kromě nahrazování se mohou vázat na určité skupiny v proteinech, jako jsou

thioskupiny se sírou (SH), S-S můstky nebo aminoskupiny s dusíkem (NH₂), a rozrušovat je nebo určovat k degradaci (Hall 2002).

Těžké kovy mohou rostlinu poškozovat i nepřímo, například jsou v rostlinné buňce příčinou vzniku kyslíkových radikálů (Hall 2002), a tím navozují oxidativní stres. Oxidativní stres je zapříčiněn reaktivními formami kyslíku (ROS: peroxid vodíku H₂O₂, hydroxylové radikály HO, singletový kyslík - $^1\text{O}_2$ a anion superoxidu - O_2^-), které v rostlinné buňce vznikají v důsledku neúplné redukce kyslíku anebo neúplné oxidace vody elektrontransportními řetězci v membránách mitochondrií a chloroplastů. ROS jsou pro rostlinu toxické a mohou být pro buňku letální. Jejich působením dochází k přeměnám v již existujících proteinových řetězcích nebo se díky oxidacím aminokyselin tvoří nefunkční proteiny. Dále reaktivní formy kyslíku způsobují narušení membránového systému buňky tím, že reagují jak s nenasycenými mastnými kyselinami v membránách, tak způsobují peroxidaci lipidů. ROS také zapříčiňují mutace díky reakcím s DNA. Při ochraně proti ROS rostlina využívá v první řadě enzym superoxid dismutasu (SOD), která převádí superoxid na peroxid vodíku. Ten může být dále detoxifikován katalasami, askorbátem (ASC), glutathionem (GSH), thioredoxinem nebo peroxidreduktasou.

2.3 Obecné mechanismy obrany rostlin proti toxicitě těžkých kovů

Ochrana rostlin proti toxickému působení těžkých kovů začíná především u kořenů, protože je to primární struktura, skrze kterou rostliny těžké kovy přijímají. Jedním z prvotních mechanismů, jak omezit jejich příjem je vylučovat látky, které na sebe kov navážou již v rhizosféře a zabrání tak jeho příjmu do kořenů. Zde mohou svou roli hrát mykorhizní houby (ektomykorhizy i arbuskulární mykorhizy), které snižují příjem kovů rostlinou na bázi stejného mechanismu. Snižují příjem kovů rostlinou svými hyfálními exudáty nebo ukládají kovy do vakuol (Hall 2002).

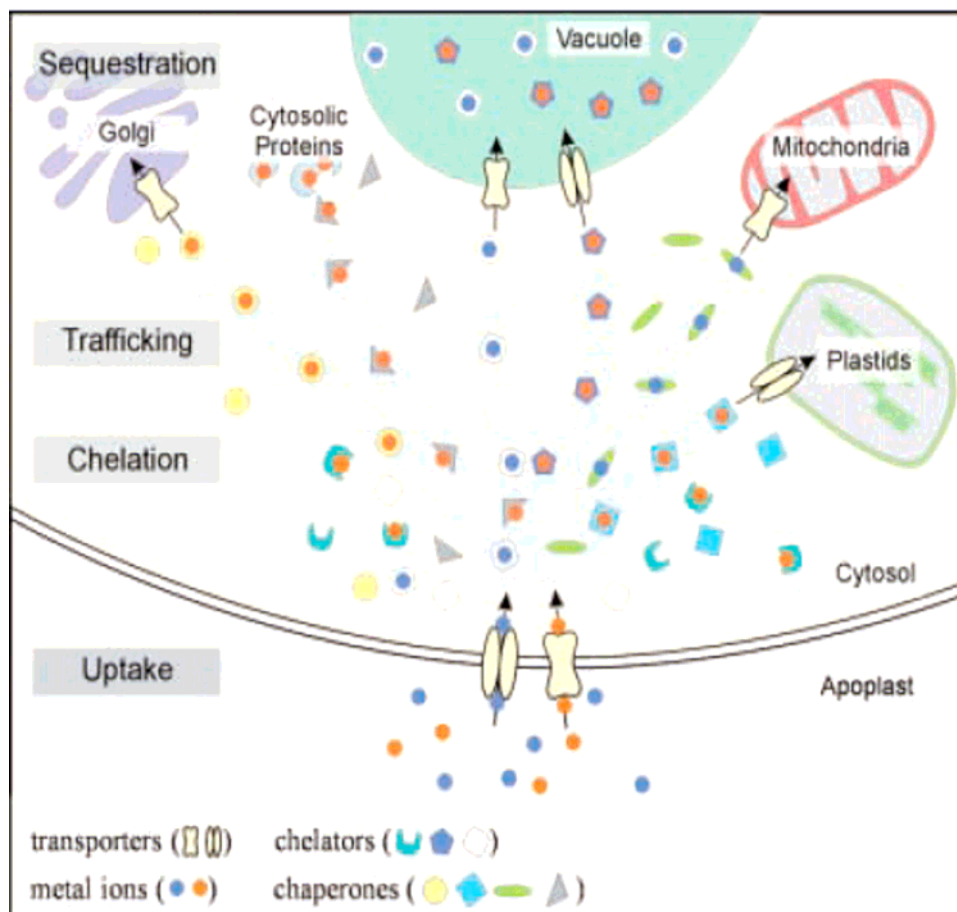
V případě, že dojde k příjmu těžkých kovů kořeny, je nezbytné tyto látky deaktivovat aby nemohly narušit metabolismus rostliny. U většiny rostlin probíhají detoxifikační procesy v kořenech rostlin a další transport do nadzemních částí není žádoucí. Ionty těžkých kovů silně narušují například enzymatickou aktivitu či konformace nukleových kyselin. Důležitým mechanismem v tomto procesu je chelatace iontů v cytosolu buněk. Chelátory zajišťují detoxifikaci buňky snižováním koncentrace volných kovových iontů (Salt et al. 1998) a spolupracují s chaperony. Chelátory obklopí kov, čímž zajistí, že nebude reagovat s látkami v cytosolu buňky. Chaperony se na kov naváží a fungují jako cílená značka, kam má kov

putovat. Mezi chelátory patří fytochelatiny, metallothioneiny, organické kyseliny a aminokyseliny (Clemens 2001).

Fytochelatiny jsou nízkomolekulární peptidy bohaté na cystein (Salt et al. 1998). Jejich základem je tripeptid glutathionu (γ -Glu-Cys)_n-Gly, který se opakuje 2krát – 11krát. Jako prekurzor pro syntézu slouží redukovaný glutathion. Syntézu umožňuje enzym fytochelatin syntasa (PC syntasa). Funkce spočívá v tvorbě komplexu s kovem přes molekuly síry. Komplexy jsou transportovány do vakuol. PC syntasa je aktivována přítomností Cd^{2+} , Ag^+ , Cu^{2+} (Clemens 2001), Pb^{2+} , Zn^{2+} , Sb^{3+} , Hg^{2+} a AsO_4^{3-} (Clemens 2006). Podle Clemense (2006) jsou komplexy s Cd tvořeny jen krátkodobě a například s Pb nejsou komplexy tvořeny vůbec. Metalothioneiny jsou podobně jako fytochelatiny nízkomolekulární peptidy bohaté na cystein a mají obdobnou úlohu jako fytochelatiny (Salt et al. 1998).

Kovy, které prošly procesem chelatace jsou rostlinou ukládány buď do buněčné stěny začleněné v proteinech nebo v podobě silikátů (Hall 2002) nebo do vakuol.

Na obrázku 1 jsou schématicky znázorněny výše uvedené způsoby detoxifikace těžkých kovů v rostlinách.



Obrázek 1: Zjednodušené schéma udržování homeostáze v rostlinné buňce za přítomnosti kovů. Po příjmu kovu skrze transportéry následuje vazba chelátoru či chaperonu ke kovu. Chelátory udržují jistou koncentraci kovů v cytosolu a chaperony zajišťují transport kovů v rámci buňky. Esenciální kovové ionty jsou doručeny k určitým cytosolickým proteinům a organelám. Příjem organelami je zajištěn pumpami, které reagují se specifickými chaperony. Uvolněné chaperony mohou znova navázat další kov. Detoxifikace a ukládání přebytečných kovů je zajištěna vakuolou. Transportéry v tonoplastu zajišťují průchod iontů a chelátorových komplexů. Převzato z (Clemens 2001).

3 Strategie rostlin ohledně nakládání s těžkými kovy

3.1 Citlivost

Citlivé rostliny se nedokáží vyrovnat ani s nízkými koncentracemi těžkých kovů. Jejich růst je silně redukován a vytváří velice malé množství biomasy a při vyšších koncentracích

hynou. Je to dáno zřejmě tím, že mají velice omezenou schopnost aplikovat obranné mechanismy, které mají tolerantní nebo hyperakumulující rostliny.

Tuto domněnku by potvrdzovaly pokusy na netolerantních rostlinách k mědi *Lotus purshianus*. Obsah fytochelatinů a metalothioneinů schopných vázat měď a tím ji detoxifikovat byl nižší oproti tolerantní variantě *Lotus purshianus* (Lin and Wu 1994). U kapradiny netolerantní k As *Ceratopteris richardii* byla zaznamenána vysoká inhibice růstu již od nízkých koncentrací As (Gumaelius et al. 2004).

3.2 Tolerance

Tolerantní rostlina dokáže růst v ekosystémech s vyšším obsahem škodlivých látek než by byly ostatní rostliny schopné přežít (Hall 2002). Toleranci k těžkým kovům řeší rostliny několika způsoby. Mohou omezit příjem kořeny, kde hrají roli mykorhizní houby a kořenové exudáty (Hall 2002). Nebo může být toxicita redukována začleněním kovu do buněčné stěny, minimalizací příjmu přes plasmatickou membránu, chelatací na ligand (fytochelatiny, metalothioneiny, proteiny), opravou stresem poškozených proteinů (heat shock proteiny, metallothioneiny) a v neposlední řadě kompartmentizací kovů do vakuoly přes tonoplastové transportéry (Yang et al. 2005), (Hall 2002). Důležitou roli v toleranci těžkých kovů představují organické kyseliny a glutathion. S kovy tvoří komplexy a tím je detoxifikují (Prasad and Freitas 2003).

3.3 Hyperakumulace

Hyperakumulátor je rostlina, která dokáže transportovat vysoké koncentrace kovů z půdy do kořenů a následně je dále alokovat do nadzemních částí. Koncentrace kovů v kořenech a nadzemních částech je přibližně stejná. Jiné rostliny akumulují kovy hlavně v kořenech a k ukládání v nadzemních částech nedochází nebo jen v limitujícím množství. Oproti rostlinám, které neakumulují kovy, dokáží hyperakumulátoři absorbovat 50 – 100krát větší koncentrace kovů (Maestri et al. 2010). Hranice pro hyperakumulaci jsou nejméně 100 mg g⁻¹ (0.01% suché hmotnosti) pro Cd, As, 1000 mg g⁻¹ (0.1 %suché hm.) pro Co, Cu, Cr, Ni a Pb a 10,000 mg g⁻¹ (1 % suché hm.) pro Mn, Ni (Prasad and Freitas 2003) a Zn (Assuncao et al. 2003).

Celkový počet hyperakumulujících rostlin pro různé kovy se pohybuje okolo 450 druhů (Maestri et al. 2010). V dnešní době je známo 11 čeledí rostlin, které mají největší zastoupení

druhů schopných hyperakumulace kovů. První místo zaujímá čeleď *Brassicaceae* s 87 druhy, které akumulují různé kovy (Prasad and Freitas 2003). Nejvíce druhů akumuluje Ni (Assuncao et al. 2003). Nejstudovanějšími rostlinami jsou *Thlaspi caerulescens* akumulující více kovů - Pb, Zn, Cd, Ni a *Arabidopsis halleri* akumulující Zn a Cd (Maestri et al. 2010).

Kapradina *Pteris vittata* je hyperakumulátor arsenu, který se hodí pro fytořemediace. Jako trvalka s rychlým růstem, poměrně značnou biomasou a snadným rozmnožováním se jeví jako ideální rostlina (Yang et al. 2005). Hyperakumulující rostliny se pro fytořemediace příliš nepoužívají (Prasad and Freitas 2003). Jejich problémem většinou bývá pomalý růst a tvorba příliš malého množství biomasy (Salt et al. 1998). *Brassica juncea* je používána v rhizofiltracích jako akumulátor Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, and Zn (Prasad and Freitas 2003).

4 Vliv vybraných těžkých kovů na fyziologické parametry rostlin

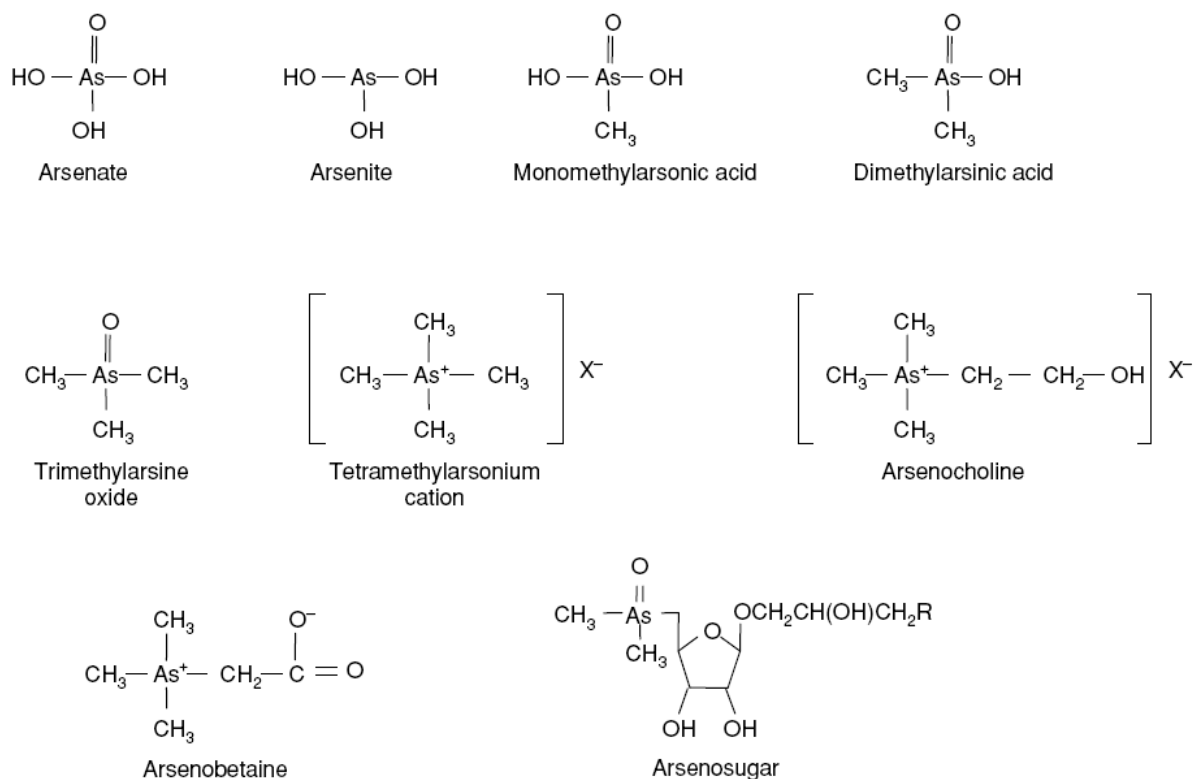
V této kapitole bude pozornost věnována dvěma vybraným těžkým kovům: arsenu a rtuti. Postupně bude popsán jejich výskyt v přírodě, příjem rostlinami, jejich toxicita pro rostliny a způsoby, kterými se jí rostliny brání. Na konkrétních příkladech bude vysvětlen vliv As a Hg na akumulaci biomasy, morfologii a anatomii rostlin. Protože fotosyntéza je unikátní proces přeměny energie slunečního záření na energii chemických vazeb, který se vyskytuje nejen u zelených rostlin, bude jedna z podkapitol věnována blíže vlivu As a Hg na fotosyntézu s důrazem na obsah fotosynteticky aktivních pigmentů.

4.1 Arsen

4.1.1 Výskyt arsenu v přírodě a jeho formy

Arsen se v půdě vyskytuje ve dvou chemických formách (obr. 2) (Meharg and Hartley-Whitaker 2002) a to vázaný v organických sloučeninách na metyl [MMA - $\text{CH}_3\text{AsO}(\text{OH})_2$, DMA - $(\text{CH}_3)_2\text{AsOOH}$, TMAO - $(\text{CH}_3)_3\text{AsO}$] a v anorganických sloučeninách v podobě As^{V} (arsenát) (H_2AsO_4 a HAsSO_4), As^{III} (arsenit) [As_2O_3 , který se rozpouští na $\text{As}(\text{OH})_3$] a převážně ve vazbách se sírou (například arsenopyrit – FeAsS). Do půdy se dostává díky přírodním procesům (např. sopečná činnost či zvětrávání hornin) nebo antropogenní činností (těžby, pesticidy, mořidla, hutní průmysl, atd.) (Meharg and Hartley-Whitaker 2002), (Zhao et al. 2010), (Ali et al. 2009).

Hlavní kritéria, která určují dostupnost těchto forem rostlinám, jsou podmínky prostředí, složení edafonu a změny v půdě vyvolané rhizosférou rostlin. Organické formy bývají v půdě v menšinovém množství a vznikají činností mikroorganismů z anorganických forem As. Obsah anorganických forem závisí na podmínkách prostředí, pH a redoxním potenciálu (Meharg and Hartley-Whitaker 2002). V aerobních půdách převažují sloučeniny s As^V a v anaerobních půdách (například mokřady, rýžoviště) převažují sloučeniny s As^{III} (Zhao et al. 2010).



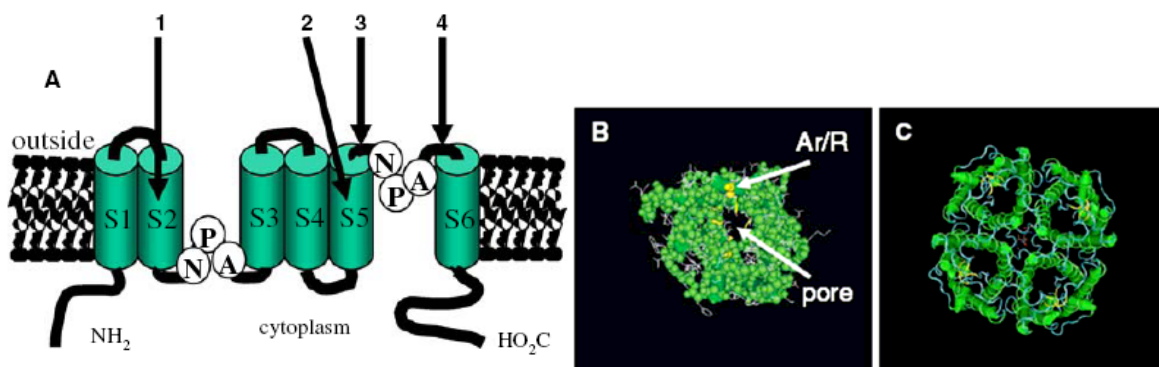
Obrázek 2: Chemická struktura sloučenin arsenu detekovaných v rostlinách, převzato z (Meharg and Hartley-Whitaker 2002)

4.1.2 Příjem arsenu do kořenů a jeho transport rostlinou

Transport arsenu do kořenů závisí na jeho formě. As^V je díky níže popsané (kapitola 4.1.3) strukturální podobnosti s fosforem a tvorbě podobných sloučenin přijímán přes stejné membránové transportéry v kořenech jako fosfor. H₃AsO₄ disociuje v pH 4-8 na H₂AsO₄⁻ a na HAsO₄²⁻. Tyto ionty jsou analogické k iontům fosforu, což umožňuje arsenu konkurovat při transportu do kořenů (Zhao et al. 2010). U As netolerantních rostlin jsou tyto transportéry více afinní k fosforu (Meharg and Hartley-Whitaker 2002) a z toho důvodu je u těchto rostlin možné dostatečným zásobením fosfátem příjem arsenu snížit.

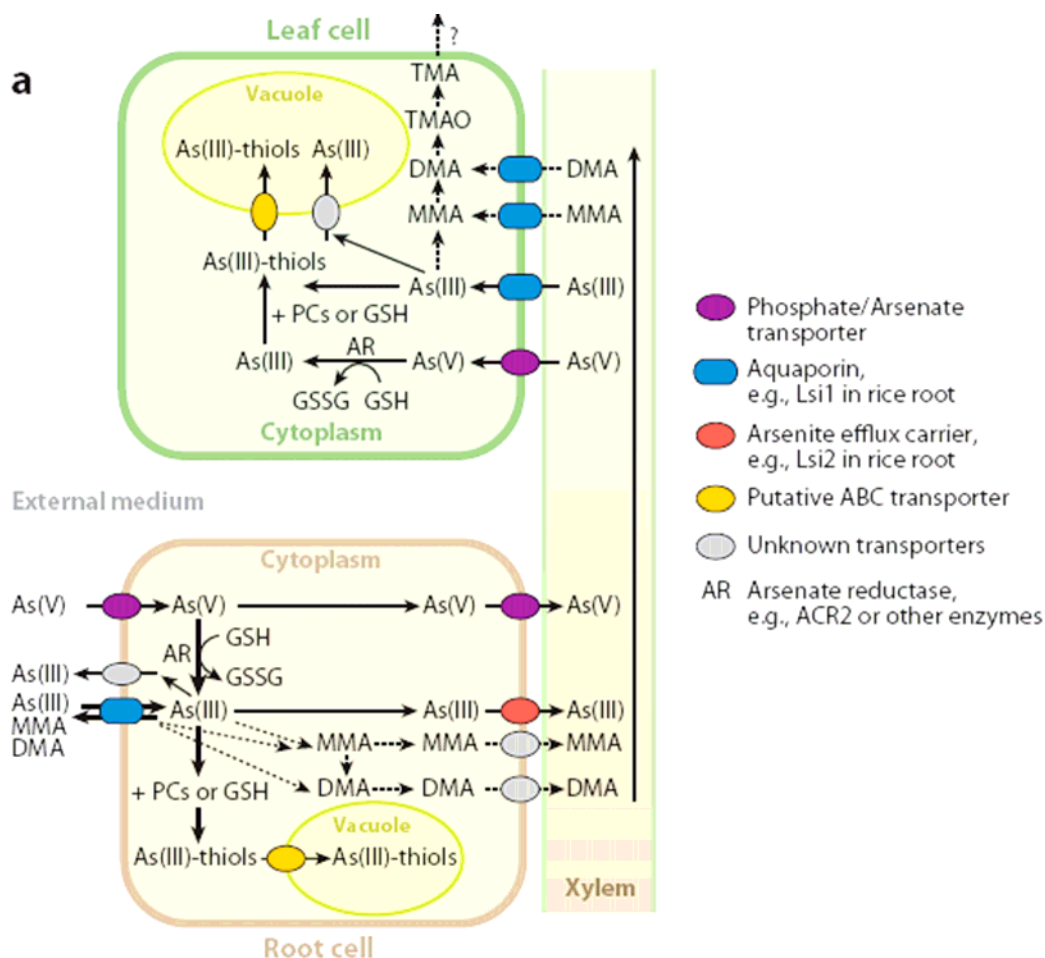
Pokus G. de la Rosy (2006) na *Salsola kali* poukazuje na schopnost této rostliny transportovat As do nadzemních částí rostliny, výsledky také naznačují, že rostlina snáze transportuje arsen do listů pokud je v médiu dostupný jako As^V a ne jako As^{III} .

As^{III} v podobě H_3AsO_3 více méně nedisociuje při pH menším jak 8. Proto se do kořenů dostává jako $As(OH)_3$. Bylo zjištěno, že je tento hydroxid do kořenů transportován přes jeden typ aquaporinů (nodulin 26-like intrinsic proteins – NIPs) (Zhao et al. 2010). Struktura NIPs je znázorněna na obr. 3.



Obrázek 3: NIPs účastníci se transportu arsenu do rostlin. a) Obecná sekundární struktura monomeru aquaporinu s šesti transmembránovými doménami (S1 – S6) a dvěma kanonickými NPA motivy mezi S2 a S3 a mezi S5 a S6. Šipky 1 – 4 ukazují na přibližnou polohu residuí, které tvoří Ar/R (aromatický/argininový) region, který je nezbytný pro selektivní funkci kanálu. b) Každý monomer tvoří pór (šipka) s Ar/R zbytky (žlutá oblast) tvořící nejužší část póru. c) Čtyři monomery z funkčního aquaporinu. Pohledy b) a c) jsou kolmé vnější straně membrány. Převzato z (Zhao et al. 2010)

Transport As^{III} do nadzemních částí rostliny je realizován skrze xylémový tok. Forma, v jaké je takto transportován není zřejmě známá, ale podařilo se vyloučit komplexy s vazbou na SH skupiny, které naopak brání dalšímu transportu z kořenů (Zhao et al. 2010). Avšak z pokusů (Pickering et al. 2000) na hořčici (*Brassica juncea*) vyplývá, že minimálně u této rostliny jsou As^V i As^{III} v malém množství transportovány xylémem v podobě oxyanionů. U hyperakumulátorů se předpokládá, že je arsen transportován hlavně v anorganické formě As^{III} (Ali et al. 2009). O transportu sloučenin arsenu floémem do semen je známo velice málo, nicméně pokusy na rýži potvrzují, že As^{III} je do semen transportován převážně floémem (Zhao et al. 2010). Transport obou forem do kořenů a v rámci rostliny je naznačen na obr. 4 (Zhao et al. 2010).



Obrázek 4: Příjem a metabolismus arsenu v rostlinách. a) Zjednodušený schematický diagram transportu a metabolismu arsenu v rostlinách. Silné šipky označují tok arsenu. Transportéry pro arsen do buněk listu jsou dle předpokladu obdobou těch kořenových, ale o jejich identitě je známo velice málo.

AR: arsenatreduktasa, R: reduktasa, AMT: arsenitmetyltransferasa, GSH: redukovaný glutathion, GSSG: oxidovaný glutathion, SAM: S-adenozylmetionin, SAH: S-adenosylhomocystein, MMA – methylarsenát, DMA – dimethylarsenát.

Převzato z (Zhao et al. 2010).

4.1.3 Toxicita arsenu pro rostliny

Každá z forem As má jiné toxické účinky, přičemž organické formy jsou pro většinu rostlin méně toxické než anorganické (Meharg and Hartley-Whitaker 2002). Avšak z výzkumu na širokém spektru rostlin je patrné, že míra toxicity různých forem arsenu je zřejmě druhově specifická záležitost. U ředkve (*Rhapanus sativus L*) a u *Spartina patens* bylo zjištěno, že při pěstování v hydroponii jsou nejvíce toxické organické formy, ale u rýže (*Oryza sativa*) byl trend zcela opačný (Meharg and Hartley-Whitaker 2002).

As^V ovlivňuje příjem a metabolismus fosforu díky jejich strukturální podobnosti (Meharg and Hartley-Whitaker 2002), (Zhao et al. 2010). Oba prvky patří do stejné skupiny (V.A) v periodické tabulce prvků, v přírodě se vyskytují v téměř stejných oxidačních stavech (fosfor má navíc ox. číslo +I), mají stejný počet valenčních elektronů i podobné vlastnosti a tvoří stejné sloučeniny například H₃AsO₄ a H₃PO₄.

Analogie fosforu a arsenu má zásadní vliv na dostupnost obou prvků pro rostliny. Oba prvky jsou totiž v půdě adsorbovány na stejné povrchy částic (hlavně oxidy a hydroxidy železa). Jakmile se hladina fosfátu v půdě výrazně sníží, dojde k uvolnění sloučenin arsenu z adsorpčních míst a tím se As stává pro rostliny dostupný a uplatňuje se jeho toxicita (Patra et al. 2004), (Rahman et al. 2007). Naopak pokud je v půdě fosforu dostatek (ve formě fosfátu) konkurují si oba prvky jak o adsorpční místa na povrchích půdních částic, tak při vazbě na fosfátové přenašeče na povrchu kořene (Zhao et al. 2010). Fosfát i arsenát využívají pro vstup do rostliny stejného transportního systému s tím, že většina přenašečů má vyšší afinitu pro fosfát (Meharg 1994).

V rostlinné buňce pak může arsenát konkurovat fosfátu i při syntéze ATP a nahrazovat fosfor v ATP za vzniku nestabilního ADP-As (Meharg 1994). ATP je stěžejní molekulou v energetickém metabolismu rostlin a jeho nahrazení za nefunkční ADP-As může mít za následek zhroucení energetického metabolismu buňky a posléze její smrt.

Vliv As^V na ATP však bude zřejmě minimální, jak upozorňuje (Bertolero et al. 1987), protože As^V se v cytoplasmě buněk vyskytuje v minimálním množství díky jeho okamžité redukci na As^{III}. Rostliny resistantní k As se snaží potlačit afinitu transportérů k arsenu alespoň natolik, aby proniknuvší množství arsenu byly schopné detoxifikovat pomocí několika základních mechanismů jako je např. kompartmentizace do vakuoly nebo tvorbou netoxických komplexů s thiosloučeninami (hlavně fytochelatiny) (Meharg and Hartley-Whitaker 2002).

Obecně nejčastější forma arsenu v pletivech různých rostlin (např. *Brassica juncea*, *Arabidopsis thaliana*, *Lycopersicon esculentum*, *Oryza sativa*) je As^{III} a to i v případě, že většinou formou arsenu v médiu je arsenát (As^V) (Meharg and Hartley-Whitaker 2002). Vzhledem k větší toxicitě As^V je v rostlinách As^V redukován na As^{III}, jak již bylo řečeno výše. Tuto redukci zajišťuje zatím blíže nespecifikovaná arsenát reduktáza (De la Rosa et al. 2006). Tento proces zřejmě zapříčiňuje tvorbu kyslíkatých radikálů, které způsobují v rostlinných pletivech projevy oxidativního stresu (Zhao et al. 2010).

Potvrzují to i studie na rostlinách rostoucích za přítomnosti As, ve kterých byly identifikovány obranné enzymy proti oxidativnímu stresu, jako jsou SOD, katalasy,

glutathion-S-transferasa a neenzymatické stresové látky jako jsou glutathion a askorbát (Meharg and Hartley-Whitaker 2002). As^{III} může být v rostlině dále metylován a i při této reakci se zvyšuje obsah ROS (reactive oxygen species – reaktivní formy kyslíku). Intenzita metylace arsenitu může být zásadně ovlivněna příjmem a vyvážeností minerální výživy, jak se ukázalo např. u rajčete, kdy u rostlin dostatečně zásobených živinami byl detekován minimální vznik metylovaných sloučenin arsenu, ale u stresovaných rostlin (nedostatek P a N) byla metylace arsenu výraznější (Meharg and Hartley-Whitaker 2002), (Zhao et al. 2010). Mechanismus metylace arsenu u rostlin není zatím zcela objasněn, ale předpokládá se obdobný mechanismus, jaký mají bakterie díky objevu genů u rýže ze stejné rodiny genů pro metyltransferasu bakterií a archebakterií. Avšak rostlinná metyltransferasa nebyla zatím přesně identifikována (Zhao et al. 2010).

V některých případech si mohou biochemické dráhy účastníci se na detoxifikačních reakcích As konkurovat o metabolity. Např. glutathion je důležitý při deaktivaci ROS a zároveň je také prekursorem pro syntézu fytochelatinů (PCs), které jsou syntetisovány při obraně proti toxicitě arsenu. Pokud má rostlina vysoké nároky na syntézu PCs, může dojít k vyčerpání poolu GSH a jeho nedostatku pro deaktivaci ROS (Meharg and Hartley-Whitaker 2002). Role fytochelatinů je popsána v kapitole Toxicita kovů (2.2) a v souvislosti s arsenem bude přiblížena níže.

Díky podobnosti s fosforem je také As^{V} schopen fosfor vytěsnit z DNA (Patra et al. 2004). V souvislosti s DNA arsen způsobuje inhibici enzymů účastnících se na opravách chyb v DNA (Patra et al. 2004).

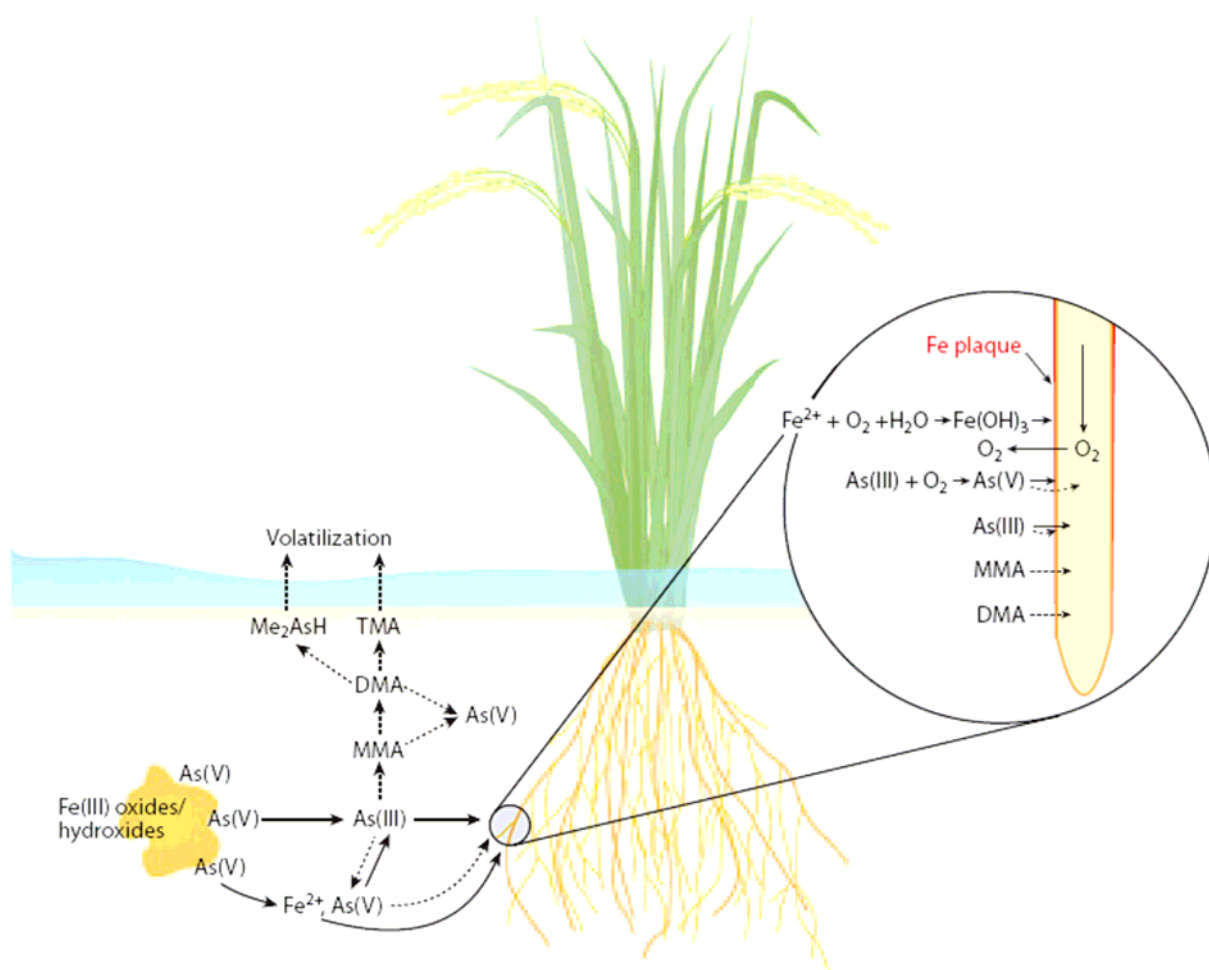
As^{III} projevuje svou toxicitu vysokou afinitou ke skupině SH a k aminoskupinám v proteinech, čímž narušuje uspořádání proteinu nebo funkci enzymu (Meharg and Hartley-Whitaker 2002), (Zhao et al. 2010). Proto může narušovat integritu membrán buněk, metabolismus tuků, příjem glukosy a další metabolické procesy. Jedním z hlavních projevů toxicity arsenitu je inhibice mitochondriálního dýchání. Arsenit patří také mezi slabé mutageny a silné komutageny (Patra et al. 2004).

S rostoucí koncentrací arsenitu v mediu přímo úměrně stoupal počet abnormalit na chromosomech u cibule (*Allium cepa*). Vysoké koncentrace arsenu způsobovaly až zastavení mitosy. Hlavní příčinou těchto defektů bylo narušení dělicího vřeténka, dané pravděpodobně vysokou afinitou a vazbou arsenu k SH skupinám proteinů (Patra et al. 2004).

4.1.4 Detoxifikace sloučenin arsenu v rostlinách

Syntéza PCs je aktivována přítomností oxyaniontů As^{V} a anorganického As^{III} . K detoxifikaci rostliny většinou využívají tvorbu komplexů arsenu s fytochelatinu, přičemž k detoxifikaci As^{III} je zapotřebí tří SH skupin (Meharg and Hartley-Whitaker 2002). Vazba As^{III} na PCs je u netolerantních rostlin zásadním detoxifikačním mechanismem. Tyto komplexy jsou dále transportovány přes ABC transportéry do vakuol (Zhao et al. 2010). Hyperakumulátoři však tento mechanismus zřejmě nevyužívají v plné míře. U sporofytu *Pteris vittata* nebylo indikováno významné množství těchto komplexů, což naznačuje jiný způsob detoxifikace (Gumaelius et al. 2004). Ve vakuolách je arsen skladován v anorganických formách. Jeho transport do vakuol je pravděpodobně energeticky náročný, ale panuje zde mnoho nejasností a je potřeba mnoha dalších výzkumů (Zhao et al. 2010).

As^{V} je silně adsorbován hydroxidy železa. Proto se v aerobní půdě vyskytuje v malých množstvích dostupných pro rostliny. V případě zatopení půdy se hydroxidy rozpouštějí a uvolňují As^{V} , který je redukován na As^{III} . Avšak v prostoru rhizosféry mokřadních rostlin je As^{III} opět oxidován na As^{V} , který je adsorbován povlakem hydroxidu železitého na kořenech rostlin (Zhao et al. 2010). Tento povlak se tvoří při uvolňování kyslíku kořeny (Bogdan and Schenk 2009). Tento proces je schematicky znázorněn na obr. 5 na příkladu rýže (Zhao et al. 2010). Tímto se sníží příjem As^{III} , ale zároveň je možný průnik As^{V} do kořenů. As^{III} je částečně kořeny vylučován zpět do oblasti rhizosféry a buďto je znovu přijat kořeny nebo je oxidován na As^{V} (Zhao et al. 2010).

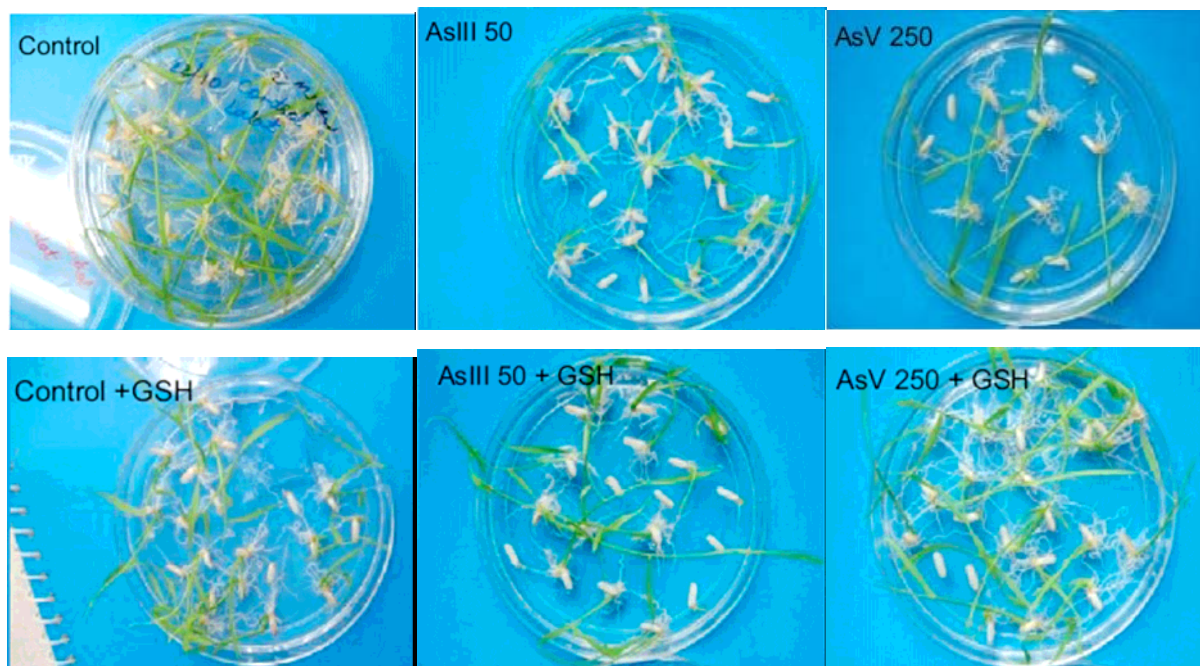


Obrázek 5 Mobilizace a přeměny arsenu v zatopené půdě rýžových polí a interakce v rizosféře rýže. Plné a přerušované šipky představují dominantní a vedlejší procesy. Fe plaque – povlak hydroxidu železitého, Fe (III) oxides/hydroxides – oxidy a hydroxidy železité, Volatilization – volatilizace. Převzato z Zhao (2010).

4.1.5 Vliv arsenu na akumulaci biomasy, morfologii a anatomii rostlin

Z pokusů G. de la Rosy (2006) na *Salsola kali* vyplývá, že již menší koncentrace As^{III} inhibují prodlužovací růst kořenů i stonku u této rostliny. As^V při koncentraci do 2 mgL⁻¹ způsoboval u *Salsola kali* větší růst stonku cca o 20% než u kontrolních rostlin. Tomuto jevu se říká hormetický efekt. Je to stav, kdy určitá látka způsobuje dvě fáze odpovědi buňky nebo organismu. Při nízkých koncentracích působí stimulativně a při vysokých koncentracích působí inhibičně až toxicky (Calabrese and Baldwin 2002). Koncentrace As^{III} vyšší než 2 mgL⁻¹ byly pro semena *S. kali* letální. Inhibiční účinek arsenu na růst kořenů i nadzemních částí rostlin byl prokázán na rajčatech (Miteva et al. 2005) a na fazolích (*Phaseolus vulgaris* L.) (Stoeva et al. 2005).

Na obrázku 6 můžeme pozorovat vliv As na růstu rýže a vliv kombinace As s detoxifikačními látkami. Je zde patrná redukce růstu za přítomnosti samotného arsenu a mírná inhibice jeho toxicity za přidání GSH.



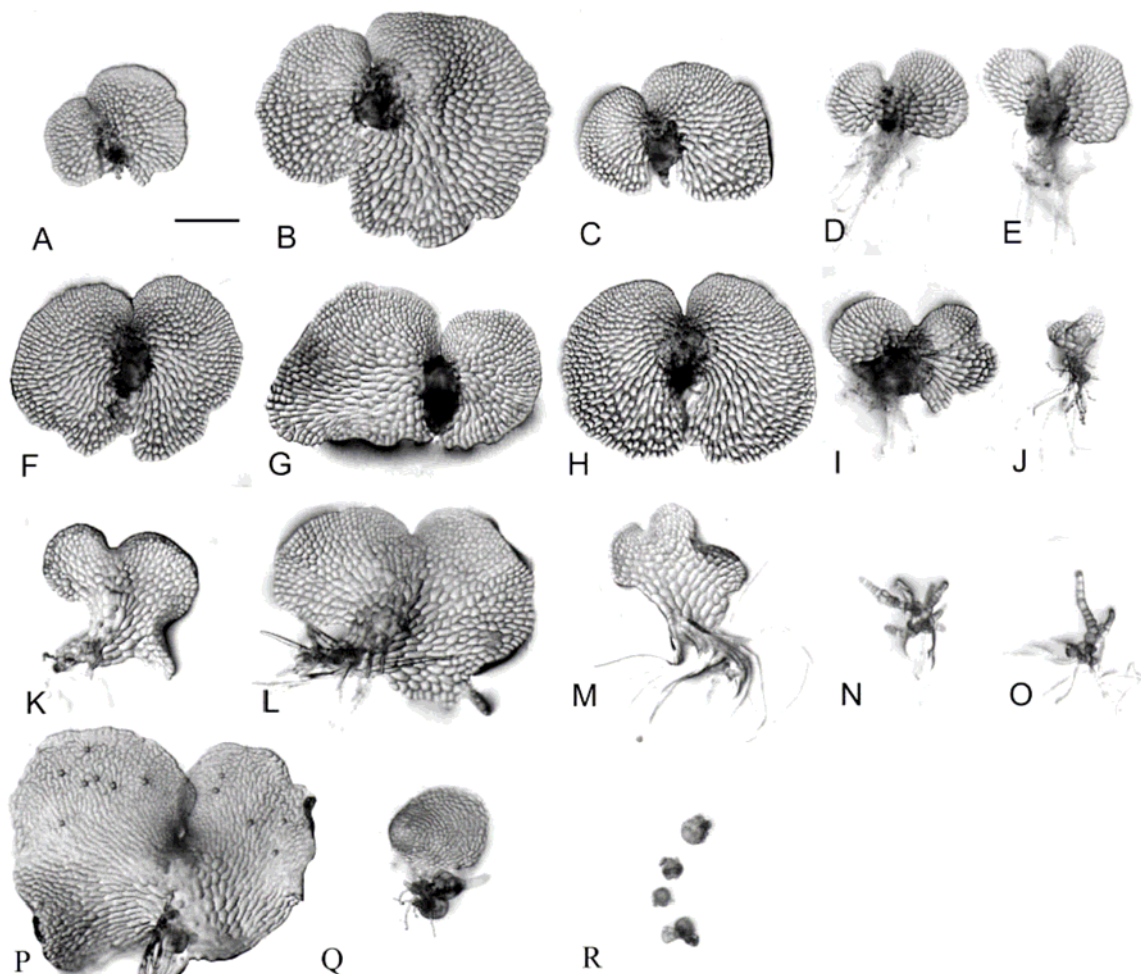
Obrázek 6: Efekt působení As^{III} , As^{V} a GSH na růst semenáčků rýže. Semena rýže rostla 10 dní na ½ Petriho miskách s MS médiem obsahujícím přídavek $50 \mu\text{M}$ As^{III} nebo $250 \mu\text{M}$ As^{V} v samostatné formě nebo v kombinaci s $0,1\text{mM}$ GSH. Převzato z (Shri et al. 2009).

Dalšími příznaky přítomnosti arsenu jsou červenohnědé nekrotické skvrny na listech, žloutnutí nebo hnědnutí kořenů, snížené odnožování u obilovin a vadnutí mladých listů (Armienta et al. 2008).

Pokusy na různě tolerantních gametofytech rostlin čeledi *Pteridaceae* (Gumaelius et al. 2004) ukazují na různě silné odpovědi rostlin. Gametofyt hyperakumulátoru *Pteris vittata* nevykazoval při koncentraci arsenu 1mM (obr. 7C) žádné morfologické změny oproti kontrole (obr. 7A). Avšak při nižší koncentraci byl gametofyt větší (obr. 7B). Naopak při vyšších koncentracích byl gametofyt menší a nápadně se prodloužily rhizoidy (obr. 7D,E).

Gametofyt tolerantní rostliny *Pityrogramma calomelanos* projevoval obdobné výsledky jako *P. vittata* do koncentrace 1nM (obr. 7K, L, M), avšak při vyšších koncentracích se jeho tvar ze srdcovitého měnil na vláknitý (obr. 7N,O). Rhizoidy se prodloužovaly již při nižších koncentracích (L).

Gametofyt netolerantní rostliny *Ceratopteris richardii* reagoval na zvyšující se koncentraci arsenu inhibicí růstu (obr. 7P,Q,R) (Gumaelius et al. 2004).



Obrázek 7: Morfologie rostlin *P. vittata*, *C. richardii* a *P. calomelanos* rostoucích v přítomnosti různých koncentrací arsenu. Gametofyt *P. vittata* rostl v hydroponiích (A-E) obsahujících 0 (A), 0,2 (B), 1(C), 10(D) a 15(E) mM arsenu. *P. calomelanos* rostl v hydroponiích (K-O) obsahujících 0 (F), 0,2 (G), 1(H), 10(I) a 15(J). *C. richardii* (P-R) rostl v hydroponiích 0 (P), 0,05 (Q) a 0,2 (R) mM arsenu. Přímka (A) zobrazuje 0,5 mm. Převzato z (Gumaelius et al. 2004).

4.1.6 Vliv arsenu na fotosyntézu

O vlivu arsenu na fotosyntézu je známo velice málo. Z pokusů (Rahman et al. 2007) na rýži a (Stoeva et al. 2005) na fazolích vyplývá, že stoupající obsah arsenu a jeho sloučenin v substrátu, ať už se jedná o půdu nebo hydroponii, snižuje obsah obou typů chlorofylu v rostlině a snižuje rychlost čisté fotosyntézy. Z pokusů vyplývá, že minimální obsah arsenu

působící negativně na fazole je $5\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ As v hydroponii (Stoeva et al. 2005). Koncentrace od $60\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ As v půdě a výše je pro rýži smrtící (Rahman et al. 2007).

Snížení rychlosti fotosyntézy by mohlo být také zapříčiněno změnami tvaru chloroplastů, které sejevily kruhovitější oproti organelám u kontrolních rostlin a vykazovaly destrukce membrán, díky kterým je snížen tok asimilátů (Rahman et al. 2007).

Součástí chlorofylu je dusík. Z pokusů (Paivoke 1983) a (Merry et al. 1986) je zřejmé, že arsen snižuje obsah dusíku v rostlině. Pokud toto funguje i u jiných rostlin, mohl by to být další důvod úbytku chlorofylu v rostlinách (Rahman et al. 2007).

Dalším důvodem snížení asimilace by mohla být strukturální podobnost arsenu a fosforu. V rostlině pak arsen nahrazuje fosfor v ATP za vzniku ADP-As (Meharg 1994) jak je popsáno v kapitole 4.1.3. ATP je zdrojem energie v temnotní fázi fotosyntézy a proto se domnívám, že jeho nedostatek vlivem arsenu může mít negativní dopad na rychlost fotosyntézy.

Obsah chlorofylu má vliv na množství vytvořené biomasy rostlinou a na počet a hmotnost semen (Rahman et al. 2007). Podle již citovaných prací způsobuje přítomnost arsenu v půdě nižší obsah chlorofylu a následně snížení rychlosti fotosyntézy, což dále vede k nižší produkci asimilátů. Většina vytvořených asimilátů je nakonec uložena do semene. Snížením obsahu chlorofylu se tedy sníží rychlost fotosyntézy a produkce asimilátů, čímž se sníží produkce semen (Rahman et al. 2007). Porozumění mechanismům vlivu arsenu na rychlost fotosyntézy a ukládání produktů fotosyntézy do semen zejména u rýže je důležité, jelikož tato plodina je jednou ze zásadních z hlediska výživy lidstva.

4.1.7 Akumulace arsenu v rostlinách

Hyperakumulující sporofyt *Pteris vittata* ukládá většinu arsenu ve vakuolách svrchní a spodní epidermis listů v podobě As^{III} (Gumaelius et al. 2004).

Z výzkumu Bhattacharya et al. (2010) na rýži vyplývá, že nejvíce se arsen akumuluje v kořenech. V nadzemních částech se arsen akumuloval také, ale ve značně nižších koncentracích přičemž v semenech se ho akumulovalo nejméně arsenu. Toto by potvrdil i výzkum (Rahman et al. 2007). Výsledky potvrdily fakt, že rýže pěstovaná v oblasti Západního Bengálska je zdravotně nezávadná. Shri et al. 2009 na rýži pozorovali větší akumulaci As^{V} ve stonku než As^{III} a větší akumulaci As^{III} v kořenech než As^{V} .

4.2 Rtuť

4.2.1 Výskyt rtuti v přírodě a její formy

Rtuť se v přírodě vyskytuje v několika formách s oxidačními čísly 0, I a II. Anorganické formy Hg^{I} a Hg^{II} tvoří soli, přičemž soli Hg^{II} jsou v prostředí častější. Ve formě rozpustné soli jako je HgCl_2 nebo méně rozpustného Hg_2Cl_2 je rtuť pro rostliny dostupná z půdy a působí toxicky. Obě formy jsou pro rostliny toxické, ale rtuť tvoří také netoxické sloučeniny se sírou jako je například nerozpustná rumělká (HgS). Rtuť tvoří také organické sloučeniny vazbou na metyl, ethyl a fenyl, některé mají široké uplatnění v zemědělství a průmyslu jako fungicidy, hnojiva a například jako fenyl rtuťnatan acetát (PMA) používaný proti strupovitosti jablek a v podobě dalších ochranných postřiků. Metylované formy rtuti vznikají působením bakterií a tvoří lokální cirkulaci rtuti v prostředí. Hg^0 je elementární rtuť, která se odpařuje z organických forem do atmosféry a může tak být přijímána skrze listy rostlinami. Tato forma tvoří globální cirkulaci rtuti v prostředí. Eroze na pevnině se rtuť dostává do vodních zdrojů a oceánů, z kterých se vypařuje (Boening 2000), (Patra and Sharma 2000).

Hlavním přírodním zdrojem rtuti jsou sopečné výlevy. Lidskou aktivitou (průmysl, těžba, atd.) je vyprodukována zhruba jedna třetina celkových emisí rtuti na Zemi. Do půdy se rtuť dostává hlavně skrze zemědělskou činnost, jak je již popsáno výše (Patra and Sharma 2000).

4.2.2 Příjem rtuti do kořenů a její transport rostlinou

O příjmu rtuti do rostlin a jejím transportu rostlinným tělem není v dostupné literatuře mnoho známo. Jedním z důvodů může být i fakt, že rtuť není pro růst a vývoj rostlin nezbytná ani ve stopovém množství, navíc ani netvoří analogické sloučeniny s některým esenciálním prvkem, jako je tomu např. v případě arsenu a fosforu.

Absorbce organických a anorganických sloučenin rtuti kořeny rostlin je nízká (Patra et al. 2004). V kořenech je pravděpodobně jakýsi bariérový mechanismus proti transportu rtuti dále do rostliny (Patra et al. 2004). Wang and Greger (2004) se domnívají, že je v kořenech vytvořeno velice afinní prostředí pro rtuť a proto dochází k minimálnímu transportu do nadzemních částí rostlin. Avšak účinnost tohoto prostředí je zřejmě omezená, protože při zvyšujících se koncentracích rtuti se zvyšoval i obsah rtuti v nadzemních částech rostlin *Pisum sativum* a *Mentha spicata* (Beauford et al. 1977). Soli rtuti obsažené v půdě se mohou vlivem

činnosti mikroorganismů přetvářet na metylované sloučeniny nebo samotnou rtuť, které se odpařují a do rostliny se dostávají skrze listy (v uzavřených prostorech) (Patra et al. 2004). Samotný příjem je ovlivněn koncentrací rtuti v půdě nebo ve vzduchu, čas po který je rostlina tomuto působení vystavena, složení půdy, obsahem oxidů a uhličitánů a redoxním potenciálem půdy (Patra et al. 2004).

Příjem kovů rostlinami může být ovlivněn i jejich vzájemnou kombinací v substrátu. Například příjem rtuti rajčetem (Shanker et al. 1996a) a ředkvi setou (Shanker et al. 1996b) byl inhibován přítomností selenátu. Možnou příčinu tohoto pozitivního efektu autoři vidí nikoliv v reakci samotné rostliny, ale spíše v možnosti tvorby nerozpustných komplexů selenu a rtuti, které tvoří Hg pro rostlinu nedostupnou (Shanker et al. 1996a).

Nicméně selen a arsen jsou si chemickou strukturou velice podobné a proto je tu možnost vzájemného vlivu rtuti a arsenu. Přítomnost Hg^{2+} iontů v médiu způsobovala snížený příjem arsenitu i arsenátu u rýže seté (Meharg and Jardine 2003). Původní hypotéza, že snížení příjmu As do kořene je způsobeno inhibičním účinkem Hg na funkci některých akvaporinů, se jeví díky výsledkům tohoto pokusu jako mylná. Ačkoliv arsenit je akvaporiny přijímán, naopak pro příjem arsenátu využívá rostlina fosfátové přenašeče. Snížení příjmu obou forem arsenu do kořene rýže v přítomnosti rtuti tedy bude pravděpodobně dáno jejím obecně toxickým vlivem na širší spektrum fyziologických procesů v rostlinné buňce (Meharg and Jardine 2003). (Du et al. 2005) se domnívají, že by to mohlo být vlivem rtuti na srážení proteinů, což by mohlo inhibovat aktivitu nejen různých enzymů, ale např. i fosfátové transportéry. Tím by se vysvětlil snížený obsah arsenátu v kořenech rýže ošetřené $HgCl_2$, který pokusy na rýži potvrdily. Naopak přítomnost arsenátu v živném roztoku mírně zvýšila příjem rtuti do kořenů. Jedním z možných vysvětlení by mohla být změna elektrického náboje na povrchu kořenů na negativní způsobená přítomností arsenátu v kořenech, čímž by byl více vázán ion Hg^{2+} a tím i více přijímán do kořenů. Zajímavostí je, že vliv rtuti na translokaci arsenátu do nadzemních částí rostlin vykazuje dva stupně. Při zvyšování koncentrace rtuti se snižuje koncentrace arsenátu v nadzemních částech rostliny, ale při vysokých koncentracích rtuti se koncentrace arsenátu vrátila zpět k hodnotám, jaké byli při nejnižších koncentracích rtuti. Tyto informace o vzájemném vlivu na příjem toxických kovů (např. As a Hg) jsou velmi přínosné v oblasti fytořemediací, protože např. na některých výsypkových substrátech (Sokolovsko v ČR) se oba kovy vyskytují současně ve vysokých koncentracích.

4.2.3 Toxicita rtuti pro rostliny

Kationty rtuti jsou pro buňku toxické, protože jsou vysoce afinní k SH skupině, čímž mohou spojit dva konce proteinu k sobě nebo dva různé proteiny bez porušení řetězců nebo při vysokých koncentracích zapříčiňují srážení proteinů (Patra and Sharma 2000). Těmito mechanismy může Hg nesespecificky inhibovat buněčné enzymy, jako například enzymy s thiolovou skupinou, které jsou velmi hojné v metabolismu dýchání (Patra et al. 2004).

Rtuť reaguje s fosfátem v molekulách ADP nebo ATP, je příčinou změny propustnosti buněčných membrán a dokáže nahrazovat jiné kationty ve sloučeninách buňky (Patra and Sharma 2000). Těmito vazbami narušuje rtuť metabolismus celé buňky. Proto rostliny ukládají rtuť hlavně v podobě nerozpustných sloučenin. Tyto sloučeniny jsou zabudovávány do buněčných stěn buněk kořene a buněk ve fotosyntetizujících pletivech (Castro et al. 2009).

U rostliny *Bacopa monnieri* bylo zjištěno, že projevem tolerance k rtuti bylo zvýšení koncentrace redukovaného GSH, cysteinu, proteinů obsahujících SH skupiny a kyseliny askorbové v iniciační periodě pokusu. Až při delší expozici a vyšších koncentracích rtuti se začala projevovat toxicita rtuti úbytkem chlorofylu (Patra and Sharma 2000).

Rtuť v podobě chloridu rtuťnatého (HgCl_2) a metylechloridu rtuťnatého (CH_3HgCl) poškozuje buňky kořenů semenáčků smrků. Každá ze sloučenin působí na buňky kořene jinak. HgCl_2 mění přímo propustnost plasmatické membrány, kdežto CH_3HgCl ovlivňuje metabolismus buňky a to má následně vliv na propustnost plasmatické membrány (Boening 2000). Změna propustnosti membrány má za následek menší příjem draslíku, manganu, hořčíku a vápníku. U všech prvků vykazuje větší vliv na jejich příjem kořeny CH_3HgCl a to již v koncentracích od 1 nM. Menší příjem těchto prvků rostlinou je zřejmě hlavním důvodem snížení koncentrace chlorofylu v mezofylu jehlic, protože tyto prvky jsou důležité při jeho syntéze (Godbold and Huttermann 1988).

Fenylové soli rtuti urychlují senescenci rostlin (Patra and Sharma 2000). Vliv rtuti na urychlení senescence byl potvrzen také u *Pistia stratiotes* při koncentracích 20 ppm a výše. Došlo k poklesu koncentrace chlorofylu, proteinů, RNA, došlo ke snížení suché hmotnosti rostlin a snížení katalázové aktivity. Naopak vzrostla aktivita peroxidázy (Patra and Sharma 2000). Totéž bylo potvrzeno u *Salvinie natans*, kde však projevy senescence nastupovaly již při koncentracích rtuti 5 ppm (Patra and Sharma 2000).

Kombinace rtuti a rozdílných teplot (byly použity tři konstantní teploty v kombinaci s rtutí) ovlivňuje koncentraci chlorofylu, obsah rozpustných proteinů ve stonku a množství hydrolyzovatelných cukrů v kořenech (Patra and Sharma 2000).

PMA (octan fenylrtuťnatý - antitranspirant) zapříčinil větší uzavírání průduchů na svrchní straně listu u slunečnice ale pouze v kombinaci se stresem ze sucha. Přítomnost PMA, také zapříčinila snížení difuze plynů v listu ale to díky změně propustnosti membrán epidermálních buněk listu a ne zvýšeným zavíráním průduchů (Patra and Sharma 2000).

U moruše (*Morus alba*) byla zjištěna viditelná změna v obsahu pigmentů. S rostoucí koncentrací odpadu z továren se na listech začaly objevovat hnědé skvrny a následně zhnědly a opadaly všechny listy (Patra and Sharma 2000).

Rtuť způsobuje peroxidaci lipidů v membráně, čímž je porušena její integrita a propustnost. Také inhibuje činnost aquaporinů (Patra et al. 2004). U *Brassica juncea L.* (Shiyab et al. 2009) byl zjištěn klesající relativní obsah vody se stoupající koncentrací rtuti.

HgCl₂ redukuje hydraulická vodivost kořenů pšenice a depolarizuje membrány kořenových buněk (Patra et al. 2004).

Vliv rtuti je patrný i na dělení buněk. Přítomnost sloučenin rtuti ničí funkci vřetenka a dochází k tvorbě polyploidních a aneuploidních buněk. Nejtoxičtější jsou organické sloučeniny rtuti (Patra et al. 2004).

4.2.4 Detoxifikace sloučenin rtuti v rostlinách

Rtuť je přijímána kořeny a akumulována také hlavně v kořenech jak bude popsáno v kapitole o akumulaci (4.2.7). Tímto se kořen také stává hlavním místem detoxifikace rtuti. Nejdůležitějším obranným mechanismem rostlin proti toxicitě rtuti bude zřejmě její vazba na fytochelatinu. Avšak o podrobnějším průběhu detoxifikačních procesů je podle dostupné literatury známo velice málo.

Pokusy na rostlině žijící ve slaných mokřadech *Halimione Portulacoides* ukazují, že naprostá většina rtuti, obsažená v kořenech nebo v stoncích, byla vázána v buněčné stěně. Tím se znatelně sníží obsah rtuti v cytosolu a zabrání se jejímu škodlivému působení na rostlinu. Dalším mechanismem, který se v malé míře účastnil na detoxifikaci rtuti, byla vazba rtuti na vysokohmotnostní proteiny. Těmito proteiny by podle autora mohly být metalothioneiny. Role fytochelatinů, jako dalšího mechanismu detoxifikace, zdá se být u této rostliny minimální (Valega et al. 2009).

Zvýšené koncentrace rtuti způsobují podobně jako arsen oxidativní stres a rostliny se mu brání obdobným způsobem. U rostlin *Medicago sativa cv. Aragon* (Sobrino-Plata et al. 2009) byla zjištěna vyšší aktivita askorbát peroxidázy v kořenech a zvýšený výskyt peroxidás v kořenech i stoncích. Se zvyšující se koncentrací rtuti se zvyšovala i aktivita glutathion

reduktázy (GR) ve stoncích, ale v kořenech byla zaznamenána snížená aktivita, zapříčiněná zřejmě vazbou rtuti na thioskupiny v GR a tím i znemožnění správné funkce GR. Obsah PCs byl v rostlině poměrně malý při reakci na zvyšující se koncentraci rtuti, což by odpovídalo výše zmíněným pokusům Valegy et al. (2009). Zastoupení GSH bylo také nízké a to díky inhibici syntézy GSH (Sobrino-Plata et al. 2009).

4.2.5 Vliv rtuti na akumulaci biomasy, morfologii a anatomii rostlin

Několik toxických projevů rtuti na rostliny je patrných na jejich růstu a vývoji.

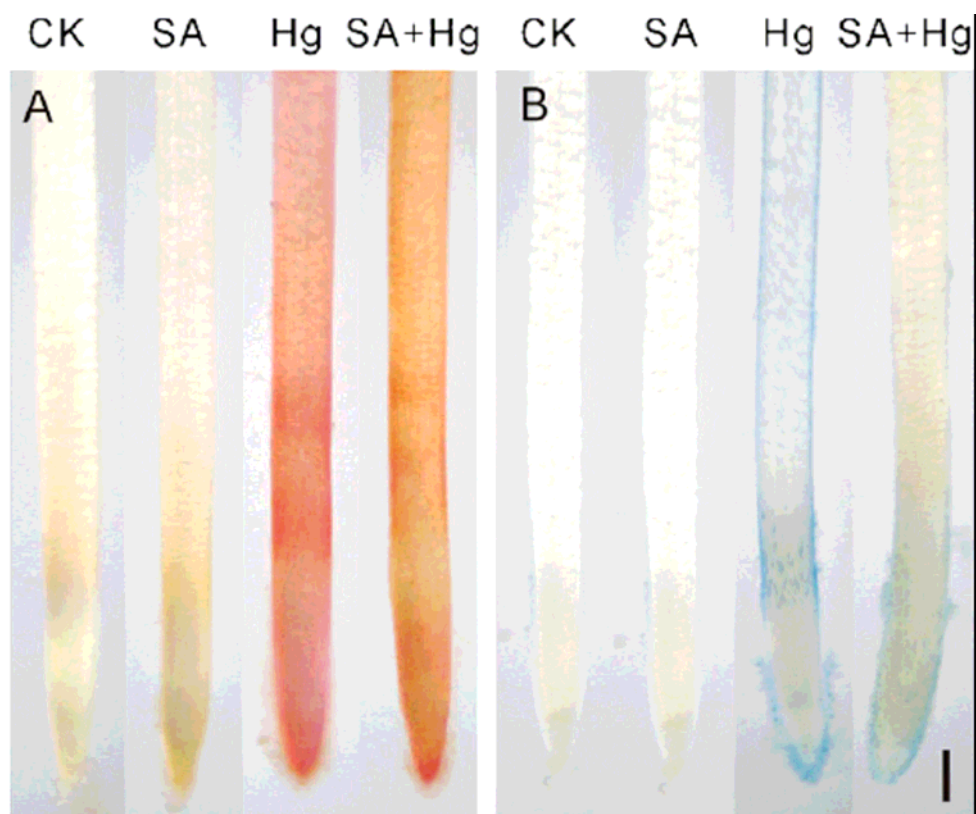
Embryo rostlin je velice bohaté na sloučeniny s SH skupinami, což je ideální prostředí pro projevení toxicity rtuti. Rtuť tvoří S-Hg-S můstky a tím negativně ovlivňuje klíčení a další vývoj embrya (Patra and Sharma 2000).

To by mohl potvrdovat pokus Cavusoglu et al. (2009) na *Cicer arietinum*. Rtuť dodávaná rostlinám ve vodě (v koncentraci 10 a 50 ppm mgL^{-1}) inhibovala klíčivost semen. S rostoucí koncentrací rostl i podíl nevyklíčených rostlin, přičemž u *C. arietinum* nevyklíčilo až 46% semen při koncentraci 50 ppm.

Přítomnost rtuti v živném roztoku měla u *C. arietinum* negativní dopad i na hmotnost semen a délku kořenů (Cavusoglu et al. 2009). Možným důvodem pro inhibici růstu kořenů může být podpora vzniku ethylenu zvýšenou koncentrací rtuti, který inhibuje růst kořenů. Du et al. (2005) v pokusech na rýži prokázali snížení biomasy kořenů i nadzemních částí rostlin.

Patra and Sharma (2000) ve své souhrnné práci zmiňují poznatky z práce Varshney 1991, že inhibiční účinek rtuti na růst rýže seté může být zvrácen aplikací organických kyselin, ethylendiamintetraoctovou kyselinou a růstovými regulátory.

Podobný účinek, tedy zlepšení tolerance k Hg, byl zjištěn při aplikaci kyseliny salicylové (SA) na rtuť ošetřenou vojtěšku (Zhou et al. 2009). Vlivem exogenně dodané kyseliny salicylové byly kořeny rostlin vojtěšky lépe chráněny proti oxidativnímu stresu způsobeného rtuť. Toto působení potvrdila snížená aktivita SOD (indikátor ROS) a vyšší hladiny askorbátu (ASC), GSH a prolinu. ASC je jednou z hlavních antioxidačních sloučenin. GSH také pomáhá redukovat oxidativní stres, avšak navíc působí přímo na rtuť její chelatací na $\text{Hg}(\text{GSH})_2$, čímž ji činí netoxickou. Na obrázku 8 je znázorněn vliv Hg, SA a jejich kombinace na peroxidaci membránových lipidů (A) a na integritu plazmatické membrány (B). Je očividné, že SA zmírňuje v obou případech toxicitu Hg.



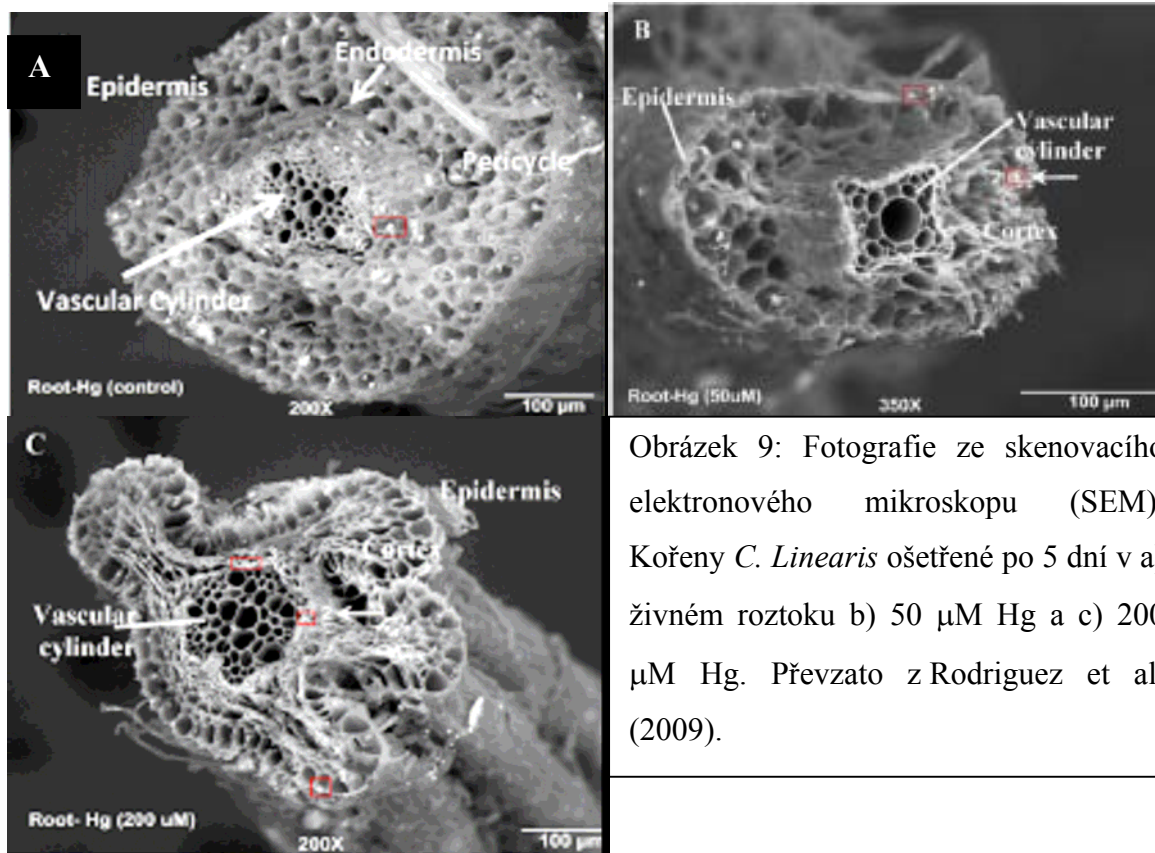
Obrázek 8: Efekt SA na Hg indukovanou peroxidaci lipidů a na ztrátu integrity plasmatické membrány v kořenech vojtěšky. Čtyři dny staré semenáčky byly ošetřeny v 0,2 mM SA v ¼ silném Hoaglandově živném roztoku po 12 hodin a následně vystaveny 10 μM HgCl_2 po 24 hodin. Po té byly kořeny opláchnuty roztokem 0,5 mM CaCl_2 (pH 5,8) a obarveny Schifovým činidlem (A) a Evansovou modří (B). Následně byly vyfoceny pod světelným mikroskopem. Přímka značí 1 mm. Převzato z Zhou et al. (2009).

Dalším procesem, který rtuť inhibuje, je transport dusíku a fosfátu ze zásob semene potřebných pro růst semenáčku (Patra and Sharma 2000). Je zajímavé, že postupná aplikace iontů rtuti a chlóru stimuluje klíčení u *Pinus halepensis* (Patra and Sharma 2000).

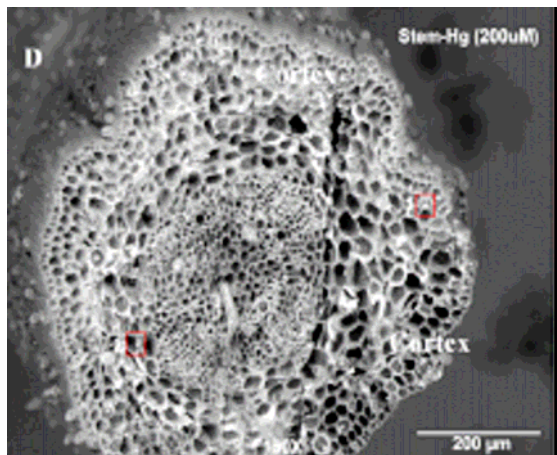
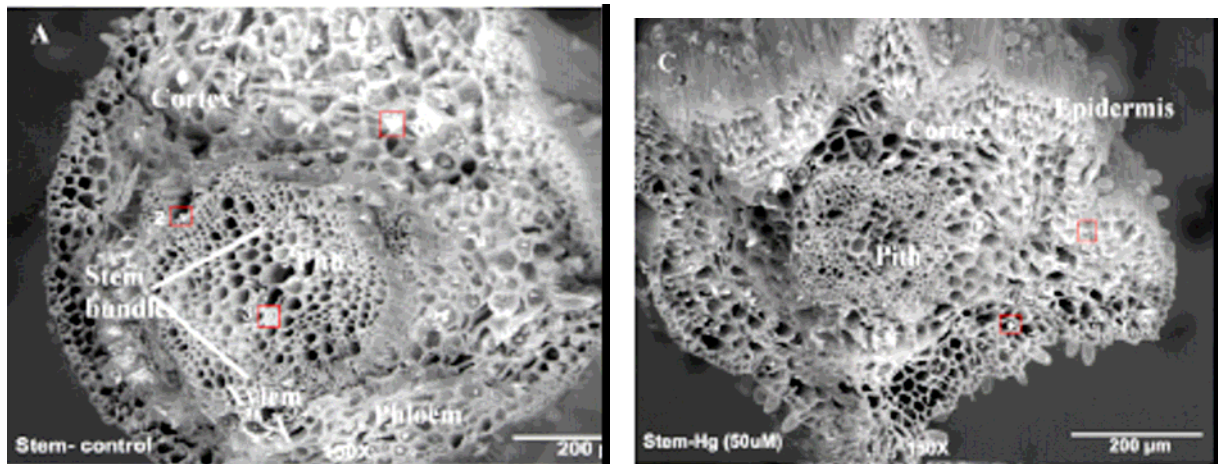
Chilopsis linearis (Rodriguez et al. 2009) reagovala na přítomnost rtuti postupným usycháním listů od špičky a rostliny postupně odumíraly. Kořeny dostávaly tmavě hnědou barvu na špičkách a rostliny produkovaly mnoho postranních kořenů. Stonek vykazoval od bazální části postupné zhnědnutí až k apikální částem.

Rtuť měla také vliv na anatomii kořenů, stonku a listů u *Ch. linearis*. Jak je vidět na obrázku 9 B a C v oblasti primární kůry kořene vymizely mezibuněčné prostory oproti kontrolní rostlině (obr. 9A). U stonku bylo také pozorováno vymizení mezibuněčných prostor kůry a navíc se buňky kůry a cévních svazků zcela zhroutily, jak ukazuje obrázek 10. Listy také nezůstaly nedotčeny a hlavním místem negativního projevu vlivu rtuti byl houbový

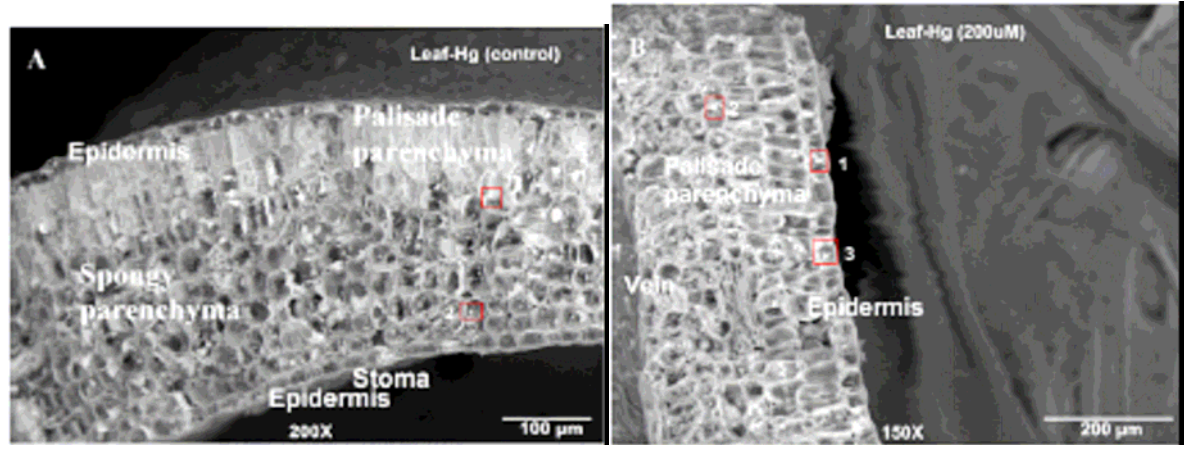
parenchym jak je vidět na obrázku 11, který se zhroutil vlivem úbytku mezibuněčných prostor.



Obrázek 9: Fotografie ze skenovacího elektronového mikroskopu (SEM). Kořeny *C. linearis* ošetřené po 5 dní v a) živném roztoku b) 50 μM Hg a c) 200 μM Hg. Převzato z Rodriguez et al. (2009).



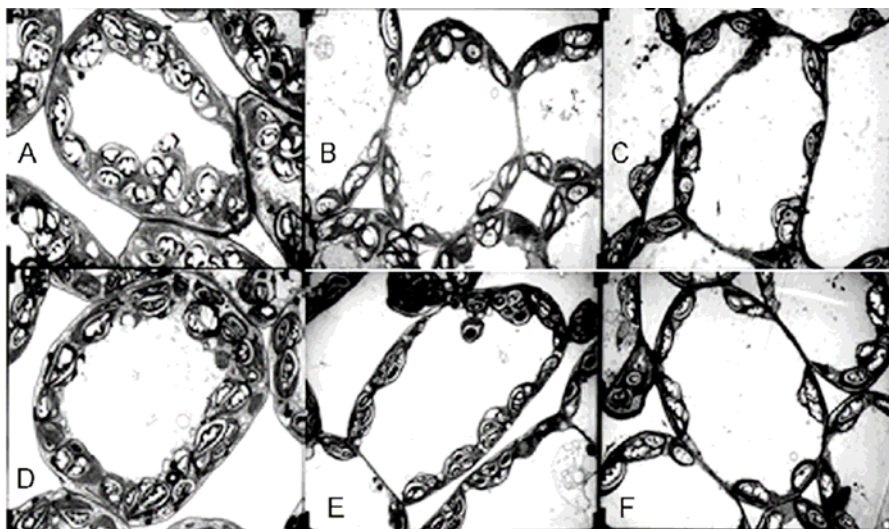
Obrázek 10: Mikrofotografie ze SEM stonku *C. linearis* ošetřované po 5 dní a) živným roztokem c) 50µM Hg a d) 200µM Hg. Převzato z Rodriguez et al. (2009).



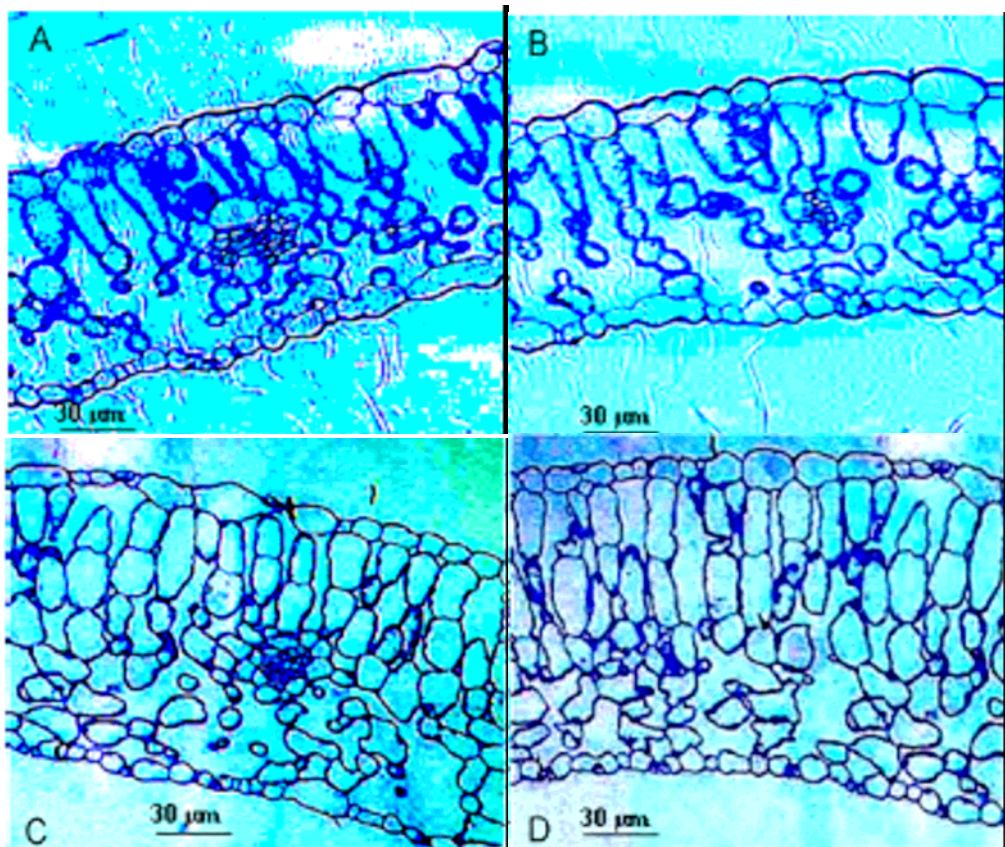
Obrázek 11: Fotografie ze SEM stonku *C. linearis* ošetřované po 5 dní a) živným roztokem b) 200 µM Hg. Převzato z Rodriguez et al. (2009).

Shiyab et al. 2009 pozorovali v listech *Brassica juncea L.* několik strukturálních změn vlivem toxicity rtuti. Jak je vidět na obrázku 12 (Shiyab et al. 2009) se stoupající koncentrací rtuti došlo k redukci počtu chloroplastů a škrobových zrn v buňkách listu. Mohlo by to být způsobeno destrukcemi v buňkách a pletivech rostliny nebo inhibicí syntézy chlorofylu (Shiyab et al. 2009).

Z obrázku 13 je patrný úbytek parenchymatických palisádových i houbovitých buněk a zmenšení cévních svazků.



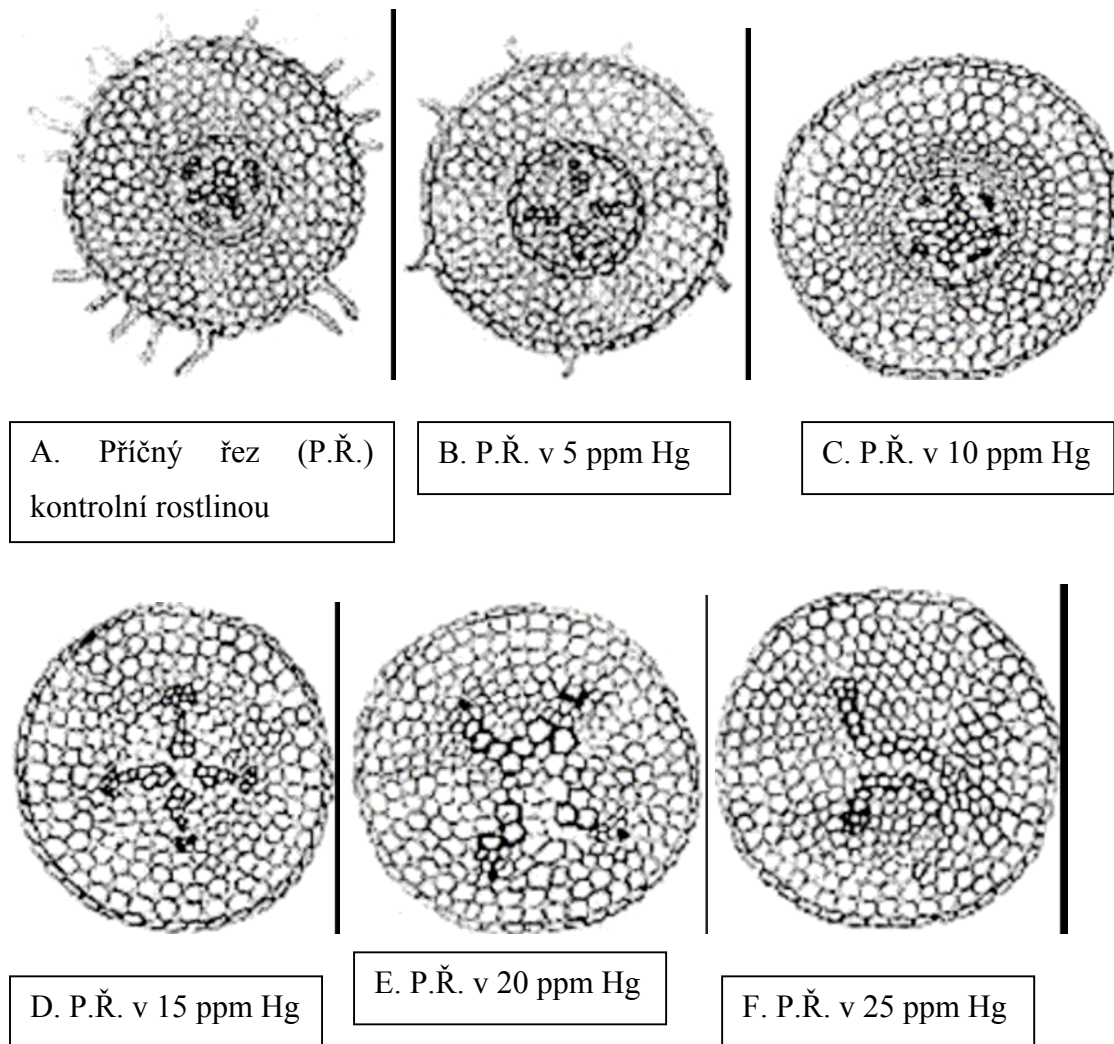
Obrázek 12: Snímek z transmisního elektronového mikroskopu (TEM) ukazující pokles počtu chloroplastů a škrobových zrn v palisádových buňkách parenchymu listů dvou kultivarů *Brassica juncea L.* ošetřovaných Hg 2 týdny. A – C kultivar Florida Broad Leaf, A kontrola, B $4,11 \text{ mgL}^{-1}$, C $16,7 \text{ mgL}^{-1}$, D – F kultivar Long-standing, D kontrola, E $4,11 \text{ mgL}^{-1}$, F $16,7 \text{ mgL}^{-1}$. Převzato z Shiyab et al. (2009).



Obrázek 13: Mikrosnímky ze světelného mikroskopu ukazují příčný řez kontrolními listy (A a C) a Hg ošetřenými listy (B a D) jeden měsíc starých rostlin *Brassica juncea* L. po 2 týdny vystavených působení Hg ($12,2 \text{ mgL}^{-1}$). (A a B kultivar Florida Broad Leaf, Ca D kultivar Long-standing). Ošetření Hg snížilo velikost cévních svazků a počet buněk palisádového a houbovitého parenchymu. Převzato z Shiyab et al. (2009).

Další anatomické změny pozorovali (Askari et al. 2007) na hypokotylu *Trigonella foenumgraecum*. Na obrázku 14 (A – F) je vidět výrazný úbytek až úplné vymizení kořenových vlásků s rostoucí koncentrací rtuti. Došlo také ke změně počtu xylémových cévních svazků z tří na čtyři. Floémové svazky jsou rozeznatelné pouze na kontrole (15A).

Obrázek 14: Anatomie hypokotylu rostlin *Trigonella foenumgraecum* při Hg stresu. Převzato z Askari et al. (2007).



4.2.6 Vliv rtuti na fotosyntézu

Vliv rtuti na fotosyntézu záleží jak na použitém pokusu – in vivo nebo in vitro – tak na stáří pokusné rostliny (Patra and Sharma 2000).

Z pokusu (Bradeen et al. 1973) na izolovaných chloroplastech špenátu vyplývá, že chlorid rtuťnatý inhibuje část necyklického elektrontransportního řetězce mezi

plastochinonem a cytochromem f a tím inhibuje i tvorbu ATP vyplývající z této dráhy již při koncentracích $0,1 \mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}$ chlorofylu.

Rtuť, podobně jako arsen, ovlivňuje fotosyntézu skrze negativní vliv na obsah chlorofylu. U *Pennisetum typhoideum* bylo zjištěno, že příčinou snížené syntézy chlorofylu bylo snížení aktivity dehydratázy kyseliny δ -aminolevulové (ALA - katalyzátor prekurzoru pro chlorofyl porfobilinogenu) při koncentraci $100 \mu\text{M HgCl}_2$ (Godbold and Huttermann 1988). Godbold a Huttermann (1988) však upozorňují na fakt, že koncentrace HgCl_2 v buňkách živých rostlin nemusí být tak vysoká a tím pádem nemusí fotosyntézu příliš ovlivňovat. Svě tvrzení dokládají logickým odvozením. Za předpokladu, že a) obsah vody v jehlicích zastupuje symplast b) cytoplasma tvoří 5% objemu symplastu a c) veškerá Hg je v cytoplasmě, tak koncentrace Hg v cytoplasmě může být $17 - 92 \mu\text{M}$ v závislosti na koncentraci v prostředí. V listech *Pisum sativum* bylo 48% Hg akumulováno v buněčné stěně (Beauford et al. 1977) a obdobné rozložení ve smrcích (*Picea*) může snížit koncentraci Hg v cytoplasmě o 2 řády. Pokud předpokládáme stejnou citlivost ALA k Hg v *P. typhoideum* a ve smrcích, je nepravděpodobné, že koncentrace rtuti v cytoplasmě buněk jehlic dosáhne takového stupně aby závažně ovlivnila biosyntézu chlorofylu. Snížování obsahu chlorofylu se stoupající koncentrací rtuti bylo potvrzeno i u rajčat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Gauba et al. 2007).

Rtuť, také ovlivňuje fotosyntézu tím, že poškozuje kořeny a mění tím příjem živin důležitých nejen pro fotosyntézu (Godbold and Huttermann 1988). Podrobněji je popsáno v kapitole o vlivu na anatomii.

Vliv rtuti na fotosystém II byl potvrzen v pokusech na *Hordeum vulgare*. Rtuť inhibovala donorovou stranu PSII, transport elektronů, tvorbu kyslíku a zhášení fluorescence (Patra and Sharma 2000). Inhibice PSII u *Spirodely polythizia* měla za následek změnu akumulace škrobu a anthokyanů (Patra and Sharma 2000).

Velice důležitým mechanismem, který snižuje fotosyntézu je nahrazování atomu hořčíku v chlorofylu atomem rtuti. Takto změněná molekula chlorofylu není schopná absorbovat světlo. Schopnost vytěsnit hořčík z molekuly chlorofylu je závislá na intenzitě světla. Při nízké ozáření je chlorofyl náchylnější na reakci s těžkými kovy a může docházet k záměně atomů (Patra and Sharma 2000).

Inhibice syntézy chlorofylu rtuť může být zvrácena GSH a jinými thioley (Patra and Sharma 2000). Při koncentraci rtuti $30 \mu\text{M}$ se zvýšila syntéza GSH hlavně ve stoncích.

V kořenech došlo nejprve k mírnému snížení syntézy a až po třech dnech vlivu rtuti došlo ke zvýšení syntézy (Patra and Sharma 2000).

Z výsledků pokusu Godbold and Huttermann (1988) na semenáčcích *Picea abies* můžeme odvodit vliv CH_3HgCl na fotosyntézu. S rostoucí koncentrací CH_3HgCl se snižuje příjem železa. Železo je důležitým prvkem v biosyntéze chlorofylu, což by mohlo být jedno z dalších vysvětlení úbytku chlorofylu v rostlinách (Schlegel et al. 1987).

4.2.7 Akumulace rtuti v rostlinách

Akumulace rtuti v určitých orgánech je druhově specifická. Avšak je zde možný rozdíl mezi mokřadními rostlinami jednoděložnými, které více akumulují v podzemních orgánech a dvouděložnými rostlinami, které více akumulují v nadzemních částech rostlin (Castro et al. 2009). Obecně lze říci, že rostliny mají tendenci ukládat rtuť v kořenech, které brání některým formám rtuti dalšímu postupu do nadzemních částí rostliny (Patra and Sharma 2000). To by potvrdzovaly například pokusy na rýži, u které byla rtuť více akumulována v kořenech (Du et al. 2005). Mechanismy distribuce různých forem rtuti v rostlině jsou bohužel zatím velice málo prostudovány (Meng et al. 2010). Avšak soli rtuti mohou být redukovány na samotnou rtuť nebo na metylované sloučeniny rtuti a ty se mohou odpařovat do atmosféry. Tímto může být rtuť absorbována listy, což je efektivnější než skrze kořeny (Patra and Sharma 2000).

Akumulace rtuti v jednotlivých orgánech a její transport do ostatních částí rostliny je pravděpodobně ovlivněn jednak formou rtuti a také záleží na způsobu jejího příjmu. U tabáku (*Nicotiana glauca*) rtuť přijatá listy jako Hg^0 zůstávala v listech a nikam se netransportovala. Narozdíl od Hg^{2+} , která byla přijímána kořeny a desátý den po expozici se začala přesouvat do nadzemních částí rostlin (Patra et al. 2004).

U rýže (Meng et al. 2010) byla zjištěna rozdílná akumulace dvou forem rtuti a to anorganických solí Hg a metylované Hg. Anorganická Hg se nejvíce akumulovala v kořenech a nejméně v semenech. Zjištěná vysoká akumulace listy byla zřejmě zapříčiněna vysokou koncentrací rtuti v ovzduší. Metylovaná Hg se nejvíce ukládala v semenech a nejméně v listech. Tento pokus na rýži jasně ukazuje na důležitost formy rtuti při transportu rostlinou.

Z pokusů Beauford et al. (1977) na *Pisum sativum* a *Mentha spicata* vyplývá, že když je rtuť dodávána v podobě HgCl_2 , je nejvíce akumulována v kořenech a transport do nadzemních částí je minimální. Hlavním kompartmentem pro ukládání rtuti se jevila buněčná stěna buněk kořenů. Zatím nebyla nalezena hyperakumulující rostlina pro rtuť (Shiyab et al. 2009).

5 Závěr

Studiem těžkých kovů v souvislosti s jejich vlivem na rostliny se lidé zabývají minimálně od 30. let 20. století. Dnes je tento výzkum nanejvýše potřebný ze dvou důvodů. Stále exponenciálně narůstající počet obyvatel na planetě a jejich zvyšující se nároky na výnosnost plodin a stále se zvyšující počet výsypek po těžbě.

Jak vyplývá z této práce, příjem arsenu kořeny je poměrně prozkoumaná záležitost, protože narozdíl od rtuti jsou známé transportéry pro obě anorganické formy arsenu. Co by však mohlo být cílem dalšího výzkumu je transport arsenu rostlinou, o kterém je známo velice málo. Transport rtuti do kořenů rostlin a v rostlině je také málo probádanou oblastí, která vyžaduje další výzkum. Oba kovy vykazují toxické účinky na rostliny v několika úrovních. Zdá se, že oba prvky mají vliv na energetický metabolismus rostlin skrze deaktivaci ATP, což by mohl být jeden z hlavních projevů jejich toxicity. Detoxifikace těchto prvků záleží na charakteru rostliny, ale obecně se dá říci, že jsou detoxifikovány skrze chelataci a rtuť je následně ukládána přednostně do buněčné stěny, zatímco arsen do vakuol. Další poměrně probádanou oblastí u obou prvků je vliv na morfologii rostlin. Avšak u anatomie je v případě rtuti málo prací zaměřených na tuto oblast a v případě arsenu se mi nepodařilo najít žádnou konkrétní práci. Myslím si, že by mohlo být zajímavé zaměřit výzkum vlivu těchto kovů také na souvislost s anatomií rostlin. O vlivu arsenu a rtuti na fotosyntézu, případně o alokaci do různých typů uhlíkatých látek, také není mnoho známo. Oba prvky jsou schopné negativně zasáhnou přímo do fotosyntetických procesů, jako například rtuť vytěsněním hořčíku z chlorofylu nebo do biosyntézy chlorofylu. Avšak i v této oblasti si myslím, že je potřeba mnoha dalších výzkumů, zejména mechanismů, jak je fotosyntéze ovlivněna.

Výzkumem vlivu arsenu a rtuti na zemědělské plodiny a na rostliny rostoucí v oblastech se zvýšenou koncentrací těchto kovů se zabývá několik výzkumných týmů. Vzhledem k poměrně rozsáhlým těžbám na území České republiky (Sokolovsko, Mostecko, atd.) se ve své diplomové práci míním zaměřit na vliv arsenu a rtuti (a dalších významných těžkých kovů pro oblast Sokolovska) na změny v alokaci uhlíku do organických sloučenin s různou retencí rozkladu v rostlinách. V rámci společného projektu Katedry experimentální biologie rostlin s Českou geologickou službou (Vyhodnocení environmentálních vlivů povrchové těžby postavené na analýze dat hyperspektrálního sensoru ARES, GA ČR 205/09/1989) se podílím na sledování vlivu As a Hg na dřeviny rostoucí na výsypkách. K výzkumu zdravotního stavu vegetace nejen těžebních oblastí se jako jednou z metod užívá také dálkový průzkum pomocí leteckých snímků, kdy z dálkově změřené odrazivosti listoví porostu je možné odhadnout

např. obsah fotosyntetických pigmentů. Se zvyšujícími se plochami výsypek se také zvyšuje potřeba výzkumu těchto ploch v souvislosti s jejich vegetací aby rekultivace byly co nejefektivnější.

6 Seznam použité literatury

- Ali, W., S. V. Isayenkov, F. J. Zhao, and F. J. M. Maathuis. 2009. Arsenite transport in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences* 66:2329-2339.
- Armienta, M. A., L. K. Ongley, R. Rodriguez, O. Cruz, H. Mango, and G. Villasenor. 2008. Arsenic distribution in mesquite (*Prosopis laevigata*) and huizache (*Acacia farnesiana*) in the Zimapan mining area, Mexico. *Geochemistry-Exploration Environment Analysis* 8:191-197.
- Askari, S., F. Uddin, and R. Azmat. 2007. Biosorption of Hg: I. Significant improvement with marine green algae in the anatomy of hypocotyl of *Trigonella foenumgraecum* under Hg stress. *Pakistan Journal of Botany* 39:1089-1096.
- Assuncao, A. G. L., H. Schat, and M. G. M. Aarts. 2003. *Thlaspi caerulescens*, an attractive model species to study heavy metal hyperaccumulation in plants. *New Phytologist* 159:351-360.
- Beauford, W., J. Barber, and A. R. Barringer. 1977. UPTAKE AND DISTRIBUTION OF MERCURY WITHIN HIGHER-PLANTS. *Physiologia Plantarum* 39:261-265.
- Bertolero, F., G. Pozzi, E. Sabbioni, and U. Saffiotti. 1987. Cellular uptake and metabolic reduction of pentavalent to trivalent arsenic as determinants of cytotoxicity and morphological transformation. *Carcinogenesis* 8:803-808.
- Bhattacharya, P., A. C. Samal, J. Majumdar, and S. C. Santra. 2010. Accumulation of arsenic and its distribution in rice plant (*Oryza sativa* L.) in Gangetic West Bengal, India. *Paddy and Water Environment* 8:63-70.
- Boening, D. W. 2000. Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere* 40:1335-1351.
- Bogdan, K., and M. K. Schenk. 2009. Evaluation of soil characteristics potentially affecting arsenic concentration in paddy rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental Pollution* 157:2617-2621.
- Bradeen, D. A., G. D. Winget, J. M. Gould, and D. R. Ort. 1973. Site-specific inhibition of photophosphorylation in isolated spinach-chloroplasts by mercuric-chloride. *Plant Physiology* 52:680-682.
- Calabrese, E. J., and L. A. Baldwin. 2002. Defining hormesis. *Human & Experimental Toxicology* 21:91-97.
- Castro, R., S. Pereira, A. Lima, S. Corticeiro, M. Valega, E. Pereira, A. Duarte et al. 2009. Accumulation, distribution and cellular partitioning of mercury in several halophytes of a contaminated salt marsh. *Chemosphere* 76:1348-1355.
- Cavusoglu, K., A. Ergene, E. Yalcin, S. Tan, and K. Yapar. 2009. Cytotoxic effects of lead and mercury ions on root tip cells of *Cicer arietinum* L. *Fresenius Environmental Bulletin* 18:1654-1661.
- Clemens, S. 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta* 212:475-486.
- . 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* 88:1707-1719.
- De la Rosa, G., J. G. Parsons, A. Martinez-Martinez, J. R. Peralta-Videa, and J. L. Gardea-Torresdey. 2006. Spectroscopic study of the impact of arsenic speciation on arsenic/phosphorus uptake and plant growth in tumbleweed (*Salsola kali*). *Environmental Science & Technology* 40:1991-1996.
- Du, X., Y. G. Zhu, W. J. Liu, and X. S. Zhao. 2005. Uptake of mercury (Hg) by seedlings of rice (*Oryza sativa* L.) grown in solution culture and interactions with arsenate uptake. *Environmental and Experimental Botany* 54:1-7.

- Gaub, N., Mahmooduzzafar, T. O. Siddiqi, S. Umar, and M. Iqbal. 2007. Leaf biochemistry of *Lycopersicon esculentum* Mill. at different stages of plant development as affected by mercury treatment. *Journal of Environmental Biology* 28:303-306.
- Godbold, D. L., and A. Huttermann. 1988. Inhibition of photosynthesis and transpiration in relation to mercury-induced root damage in spruce seedlings. *Physiologia Plantarum* 74:270-275.
- Gumaelius, L., B. Lahner, D. E. Salt, and J. A. Banks. 2004. Arsenic hyperaccumulation in gametophytes of *Pteris vittata*. A new model system for analysis of arsenic hyperaccumulation. *Plant Physiology* 136:3198-3208.
- Hall, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53:1-11.
- Lin, S. L., and L. Wu. 1994. Effects of copper concentration on mineral nutrient-uptake and copper accumulation in protein of copper-tolerant and copper-nontolerant lotus-purshianus L. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 29:214-228.
- Maestri, E., M. Marmioli, G. Visioli, and N. Marmioli. 2010. Metal tolerance and hyperaccumulation: Costs and trade-offs between traits and environment. *Environmental and Experimental Botany* 68:1-13.
- Meharg, A. A. 1994. Integrated tolerance mechanisms - constitutive and adaptive plant-responses to elevated metal concentrations in the environment. *Plant Cell and Environment* 17:989-993.
- Meharg, A. A., and J. Hartley-Whitaker. 2002. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist* 154:29-43.
- Meharg, A. A., and L. Jardine. 2003. Arsenite transport into paddy rice (*Oryza sativa*) roots. *New Phytologist* 157:39-44.
- Meng, B., X. B. Feng, G. L. Qiu, Y. Cai, D. Y. Wang, P. Li, L. H. Shang et al. 2010. Distribution Patterns of Inorganic Mercury and Methylmercury in Tissues of Rice (*Oryza sativa* L.) Plants and Possible Bioaccumulation Pathways. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:4951-4958.
- Merry, R. H., K. G. Tiller, and A. M. Alston. 1986. The effects of contamination of soil with copper, lead and arsenic on the growth and composition of plants .1. effects of season, genotype, soil-temperature and fertilizers. *Plant and Soil* 91:115-128.
- Miteva, E., D. Hristova, V. Nenova, and S. Maneva. 2005. Arsenic as a factor affecting virus infection in tomato plants: changes in plant growth, peroxidase activity and chloroplast pigments. *Scientia Horticulturae* 105:343-358.
- Paivoke, A. 1983. The long-term effects of lead and arsenate on the growth and development chlorophyll content and nitrogen-fixation of the garden pea. *Annales Botanici Fennici* 20:297-306.
- Patra, M., N. Bhowmik, B. Bandopadhyay, and A. Sharma. 2004. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environmental and Experimental Botany* 52:199-223.
- Patra, M., and A. Sharma. 2000. Mercury toxicity in plants. *Botanical Review* 66:379-422.
- Pickering, I. J., R. C. Prince, M. J. George, R. D. Smith, G. N. George, and D. E. Salt. 2000. Reduction and coordination of arsenic in Indian mustard. *Plant Physiology* 122:1171-1177.
- Prasad, M. N. V., and H. M. D. Freitas. 2003. Metal hyperaccumulation in plants - Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology* 6:285-321.

- Rahman, M. A., H. Hasegawa, M. M. Rahman, M. N. Islam, M. A. M. Miah, and A. Tasmen. 2007. Effect of arsenic on photosynthesis, growth and yield of five widely cultivated rice (*Oryza sativa* L.) varieties in Bangladesh. *Chemosphere* 67:1072-1079.
- Rodriguez, E., J. R. Peralta-Videa, M. Israr, S. V. Sahi, H. Pelayo, B. Sanchez-Salcido, and J. L. Gardea-Torresdey. 2009. Effect of mercury and gold on growth, nutrient uptake, and anatomical changes in *Chilopsis linearis*. *Environmental and Experimental Botany* 65:253-262.
- Salt, D. E., R. D. Smith, and I. Raskin. 1998. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49:643-668.
- Schlegel, H., D. L. Godbold, and A. Huttermann. 1987. Whole plant aspects of heavy-metal induced changes in CO₂ uptake and water relations of spruce (*Picea-abies*) seedlings. *Physiologia Plantarum* 69:265-270.
- Shanker, K., S. Mishra, S. Srivastava, R. Srivastava, S. Daas, S. Prakash, and M. M. Srivastava. 1996a. Effect of selenite and selenate on plant uptake and translocation of mercury by tomato (*Lycopersicum esculentum*). *Plant and Soil* 183:233-238.
- Shanker, K., S. Mishra, S. Srivastava, R. Srivastava, S. Dass, S. Prakash, and M. M. Srivastava. 1996b. Study of mercury-selenium (Hg-Se) interactions and their impact on Hg uptake by the radish (*Raphanus sativus*) plant. *Food and Chemical Toxicology* 34:883-886.
- Shiyab, S., J. Chen, F. X. Han, D. L. Monts, F. B. Matta, M. M. Gu, and Y. Su. 2009. Phytotoxicity of mercury in Indian mustard (*Brassica juncea* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72:619-625.
- Shri, M., S. Kumar, D. Chakrabarty, P. K. Trivedi, S. Mallick, P. Misra, D. Shukla et al. 2009. Effect of arsenic on growth, oxidative stress, and antioxidant system in rice seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72:1102-1110.
- Sobrino-Plata, J., C. Ortega-Villasante, M. L. Flores-Caceres, C. Escobar, F. F. Del Campo, and L. E. Hernandez. 2009. Differential alterations of antioxidant defenses as bioindicators of mercury and cadmium toxicity in alfalfa. *Chemosphere* 77:946-954.
- Stoeva, N., M. Berova, and Z. Zlatev. 2005. Effect of arsenic on some physiological parameters in bean plants. *Biologia Plantarum* 49:293-296.
- Valega, M., A. I. G. Lima, E. Figueira, E. Pereira, M. A. Pardal, and A. C. Duarte. 2009. Mercury intracellular partitioning and chelation in a salt marsh plant, *Halimione portulacoides* (L.) Aellen: Strategies underlying tolerance in environmental exposure. *Chemosphere* 74:530-536.
- Wang, Y. D., and M. Greger. 2004. Clonal differences in mercury tolerance, accumulation, and distribution in willow. *Journal of Environmental Quality* 33:1779-1785.
- Yang, X. E., X. F. Jin, Y. Feng, and E. Islam. 2005. Molecular mechanisms and genetic basis of heavy metal tolerance/hyperaccumulation in plants. *Journal of Integrative Plant Biology* 47:1025-1035.
- Zhao, F. J., S. P. McGrath, and A. A. Meharg. 2010. Arsenic as a Food Chain Contaminant: Mechanisms of Plant Uptake and Metabolism and Mitigation Strategies, Pages 535-559 *Annual Review of Plant Biology*, Vol 61. *Annual Review of Plant Biology*.
- Zhou, Z. S., K. Guo, A. A. Elbaz, and Z. M. Yang. 2009. Salicylic acid alleviates mercury toxicity by preventing oxidative stress in roots of *Medicago sativa*. *Environmental and Experimental Botany* 65:27-34.