

ARSEN A JEHO PŘÍJEM ROSTLINAMI

PETR SOUDEK^a, LUCIE VÍCHOVÁ^{a,b}, ŠÁRKA VALENOVÁ^{a,b}, RADKA PODLIPNÁ^a, JANA MALÁ^c a TOMÁŠ VANĚK^a

^a Ústav organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6, ^b Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^c Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, Jilovské – Strnady 136, 156 04 Praha 5 – Zbraslav
vaneck@uochb.cas.cz

Došlo 29.6.05, přepracováno 31.10.05, přijato 10.11.05.

Klíčová slova: arsen, rostliny, akumulace, hyperakumulátory, fytořemediace, fytochelatiny, kořenové exudáty, mykorhiza, fosfor

Obsah

1. Úvod
2. Arsen v rostlině
3. Příjem arsenu rostlinou
4. Hyperakumulátory arsenu
 - 4.1. *Pteris vittata*
 - 4.2. *Pityrogramma calomelanos*
5. Interakce As-P
6. Kořenové exudáty
7. Mykorhiza
8. Model chování As v systému půda-rhizosféra-rostlina
9. Závěr

1. Úvod

Arsen je toxický polokov široce rozšířený v prostředí a organismech. Vyskytuje se v zemské kůře, vyvřelé horniny obsahují arsen v koncentraci 1,5 mg kg⁻¹, usazeniny až 13 mg kg⁻¹ (cit.¹). Přirozeně je arsen součástí sulfidických minerálů: arsenopyrit (FeAsS), löllingit (FeAs), realgar (As₄S₄) a auripigment (As₂S₃). Za přirozené pozadí v podzemních vodách se považuje koncentrace asi 5 µg l⁻¹ (cit.^{2,3}). V půdě se arsen přirozeně vyskytuje v koncentraci 0,009 až 1,5 mg kg⁻¹ a teprve nad koncentrací 1,5 mg kg⁻¹ bývá půda považována za kontaminovanou arsenem².

Arsen se může do vody a půdy dostávat jak přirozenou cestou, tak antropogenní činností. Přirozené cesty zahrnují zvětrávání, biologickou aktivitu a vulkanickou aktivitu. Primární antropogenní vstup se odvíjí od spalování pevného odpadu, fosilních paliv, uvolnění z těžby a při

zpracování kovů a přímým použitím fungicidů, insekticidů a herbicidů obsahující arsen. Značné množství arsenu je obsaženo ve výluzích z elektrárenských popílků a v některých důlních vodách. Oxid arsenitý se používá také ve sklářském průmyslu. Protože arsen doprovází fosfor, je obsažen v odpadních vodách z praní prádla³.

2. Arsen v rostlině

V biologických vzorcích bylo identifikováno okolo 25 různých sloučenin arsenu, většinou v mořském ekosystému. K methylaci arseničnanu v rostlinách dochází pouze v prostředí s nedostatečným množstvím fosfátu⁴. V několika málo případech byl naměřen nízký obsah sloučenin trimethylarsenoxidu a arsenobetainu.

Toxicita a příjem arsenu je spojený s jeho oxidačním stavem a druhem sloučeniny. Proto je pouhé zjištění celkového množství arsenu ve vzorku nedostatečné pro odhad rizikovitosti pro prostředí. Určení druhu sloučeniny arsenu v rostlině může poskytnout důležitou informaci, která může napomoci pochopit mechanismus akumulace, translokace, transformace a detoxifikace. Bylo zjištěno, že velké množství arsenu v mořských organismech je přítomno jako součást organických sloučenin, např. v arsenových analogích cukrů v řasách a v arsenobetainu a arsenocholinu v rybách a korýších. Arsenobetain a arsenocholin jsou považovány za netoxické a arsenová analoga cukrů za prakticky neškodná^{5,6}. Málo je známo o druhu sloučenin arsenu v sladkovodních a suchozemských rostlinách. Na základě limitovaného množství informací se zdá, že na rozdíl od mořských organismů, ve sladkovodních a suchozemských rostlinách je arsen přítomen v anorganické formě^{7–9}.

Bylo zjištěno, že v rostlině *Pteris vittata* jsou v naprosté převaze přítomny anorganické formy arsenu⁶. Toto zjištění však nepopírá možnost přítomnosti nějakých komplexů arsen-biomolekula, které by se při extrakci rozložily. Komplexace je pro udržení tak vysoké koncentrace kontaminantu nutná. Např. v některých rostlinách byly indikovány při pěstování v prostředí arsenu fytochelatiny, což jsou peptidy s obecnou strukturou (γ-GluCys)_n-Gly, kde *n* = 2–11 (cit.^{10–14}). Fytochelatiny jsou syntetizovány z glutathionu za přítomnosti enzymu fytochelatinsynthasy. Detoxifikace arsenu indukovanými fytochelatiny byla potvrzena různými technikami¹², avšak mnoho experimentálních týmů ztroskotalo na pokusu dokázat tvorbu komplexu arsen-fytochelatin, takže role fytochelatinů při akumulaci a detoxifikaci je stále nejasná¹¹. Stejně tak je nejasná role organických kyselin a aminokyselin⁶.

Důkaz funkce fytochelatinů při detoxifikaci arsenu byl proveden modifikací rostliny *A. thaliana*. Mutant *cad1-3* neprodukoval fytochelatiny a byl citlivější k arse-

ničnanu než původní rostlina. Dále byla demonstrována přímá souvislost fytochelatiniů s rezistencí *H. lanatus* k arseničnanu, protože rezistentní fenotyp produkoval větší množství fytochelatiniů a jeho rezistence se ztratila v přítomnosti inhibitoru glutamylcysteinsynthasy, enzymu syntézy glutathionu. Přímá identifikace komplexu je problematická. Pokud jsou fytochelatinu extrahovány médiem při $\text{pH} > 7$, mohou komplexu disociovat na volný fytochelatin a arseničnan (redukci fytochelatiniů a oxidaci arsenitanu). Pokud je tedy v extraktu z rostliny detegován arseničnan, může pocházet z komplexu arsenitan-fytochelatin¹⁵.

V *Pteris vittata* bylo v listech zjištěno nejvíce trojmocného arsenu. Rostlina přijímá arsen primárně v pětimocné formě a rostliny následně konvergují pětimocný arsen na arsen trojmocný. Suchozemské rostliny obecně nemají systém schopný methylace arsenu jako třeba řasy, což může být důvod, proč se arsen v suchozemských rostlinách vyskytuje převážně v anorganické formě. Zdá se, že redukce arsenu je v rostlině součástí detoxifikačního procesu, přestože se trojmocný arsen ukazuje jako toxičtější⁶.

3. Příjem arsenu rostlinou

Neexistuje důkaz, že by arsen byl pro rostliny esenciálním prvkem, přestože v nízkých koncentracích stimuluje růst rostliny. Z hydroponických experimentů, ve kterých byl testován příjem arsenu rostlinou, je známo, že chemická forma je důležitější než celkové množství arsenu v roztoku. Z hydroponických experimentů na dvou kultivarech ryže bylo zjištěno, že přístupnost arsenu pro rostlinu záležela na jeho formě v pořadí $\text{DMA}^{\text{V}} < \text{As}^{\text{V}} < \text{MMA}^{\text{V}} < \text{As}^{\text{III}}$ (cit.¹⁶). Jiní autoři získali pořadí $\text{DMA}^{\text{V}} < \text{MMA}^{\text{V}} < \text{As}^{\text{V}} < \text{As}^{\text{III}}$ při experimentu na dvou typických mokřadních druzích (*Spartina alterniflora* a *Holcus lanatus*)¹⁷. Oba experimenty se shodují v tom, že anorganické formy a MMA^{V} (monomethylarsonová kyselina) byly nejvíce akumulovány v kořenech. Naopak DMA^{V} (dimethylarsonová kyselina) byla transportována do nadzemní části, což vedlo k poměru koncentrací As v nadzemní/kořenové části rostliny větší než jedna. V experimentu v kultivačních nádobách s ředkvičkou pěstovanou v půdě s As^{III} , As^{V} a DMA^{V} došlo k oxidaci As^{III} na As^{V} . Vodný výluh ukázal, že DMA^{V} byla mnohem méně adsorbovaná než As^{V} (cit.¹⁸). V půdě jsou obvykle přítomny vedle anorganických forem, pouze mono- nebo dimethylované kyslíkaté sloučeniny arsenu. Půda v rýžových polích obsahuje většinou vyšší zastoupení extrahovatelných mono/di methylovaných kyslíkatých sloučenin arsenu. Nabízí se vysvětlení, že methylované sloučeniny arsenu vznikají v redukčních podmínkách⁶.

Tolerance k arsenu záleží na druhu rostliny a může vyplývat ze dvou strategií: nepřijetí arsenu (excluder) nebo akumulace arsenu (akumulátor). Strategie nepřijetí arsenu zahrnuje zabránění příjmu arsenu nebo omezení transportu arsenu do nadzemních částí rostliny. Tuto strategii uplatňuje např. *Typha latifolia* hojně rostoucí na půdě kontaminované arsenem. Akumulační strategie předpokládá silnou

akumulaci arsenu v rostlině. Toto je strategie několika suchozemských rostlin rostoucích na haldách po těžbě nerostů, které obsahující hodně arsenu, např. *Agrostis tenuis*. Přestože je rostlina schopna akumulovat velké množství arsenu, na to aby mohla být označena za hyperakumulátor, je nutné splnit ještě druhou podmínku. Biokoncentrační faktor musí být větší než 1, tedy koncentrace kovu v rostlině musí být větší než koncentrace kovu v půdě¹⁹.

Rostliny akumulující arsen ho mohou uložit v kořenech nebo ho přemístit do nadzemní části⁶. Zdá se, že dvouděložné rostliny přemísťují do nadzemní části více arsenu než jednoděložné rostliny⁴. Rozdílnost v místě uložení arsenu naznačuje rozdílné mechanismy uchování i transportu arsenu v rostlinách. Arsen akumulující se v buňkách kořenů tak, jak to můžeme např. pozorovat v kořenovém systému rajčat^{20,21}, může být součástí strategie nepřijetí arsenu. Pokud je velká koncentrace arsenu v nadzemní části, ale ne v kořenech, může být právě transport kořeny-nadzemní část důležitý pro toleranci, tak je tomu např. u *Pteris vittata*⁶. U této rostliny byla nalezena ve starších listech větší koncentrace arsenu než v mladších, což lze vysvětlit tak, že xylém, kterým je arsen transportován, vede právě přes starší listy po celou dobu vegetace. Transport arsenu z kořenů do stárnoucích listů byl považován za detoxifikační proces, protože rostlina se může arsenu zbavit opadem listů. To, že bylo u volně rostoucí *Pteris vittata* nalezeno více arsenu v živých listech než v mrtvých, se připisuje vymytí arsenu z mrtvých listů vodou nebo přenosu arsenu společně s živinami před opadnutím listů do živých listů.

Prvními objevenými hyperakumulátory arsenu jsou *P. vittata* a *P. calomelanos*. Obě kapradiny produkují velká množství biomasy, takže jsou vhodnými kandidáty pro účely fytoextrakce. Produkce biomasy *P. vittata* se dokonce po aplikaci As zvýšila. Koeficient biologické absorpce je definovaný jako poměr koncentrace prvku v nadzemní části rostliny a koncentrace prvku v půdě. Faktor akumulace je definovaný jako poměr koncentrace prvku v nadzemní části rostliny a koncentrace prvku v kořenech. Tolerantní rostliny mají tendenci omezit přenos půda-rostlina a kořen-nadzemní část, hyperakumulátory aktivně arsen přijímají a transportují do nadzemních částí. Pro extrakci nejsou vhodné rostliny s akumulacním faktorem a částečně i koeficientem biologické absorpce menším jedné. Podle konceptu „akumulátor-excluder“²² by se rostliny tolerantní k arsenu měly při akumulacním faktoru $<< 1$ řadit k excluderům i přes zvýšenou koncentraci kontaminantu v nadzemní části.

Hyperakumulace arsenu bude zřejmě vlastností nezávislou na vnějších podmínkách, než získanou přizpůsobením se prostředí, protože i populace z nekontaminovaných míst jsou schopny hyperakumulovat arsen. O procesech indukovaných kořeny v rhizosféře se předpokládá, že usnadňují příjem arsenu hyperakumulátorem.

Odlišné genotypy rostlin, rezistentní vůči arsenu, pokud se týká příjmu a metabolismu, umožňují nalézt zemědělské kultivary vhodnější pro půdy kontaminované

arsenem. Především jde o kultivary akumulující méně arsenu nebo neukládající arsen do semen či plodů¹⁵. Rezistence k arsenu je pod kontrolou jediného genu²³. Je to ojedinělý jev v rezistenci ke kovům mezi rostlinami. Minimálně *H. lanatus* vykazuje polymorfismus – v jedné populaci jsou přítomny rostliny rezistentní i nerezistentní v takové frekvenci, že tento jev nelze vysvětlit pouze mutací – ve všech dosud zkoumaných populacích z nekontaminovaných míst²⁴. Polymorfismus lze vysvětlit tak, že cena rezistence je nízká, nebo že nerezistence působí jako výhoda. Rostliny rezistentní k arsenu se od nerezistentních fenotypově liší v reprodukčním chování. Rezistentní rostliny kvetou dříve a investují více do reproduktivní biomasy. Mají také větší obsah fosforu v nadzemní části rostliny, přestože jejich příjem fosfátu je potlačen. Předpokládá se, že potlačený příjem je odezvou na vysoký obsah fosforu v nadzemní části. Nabízí se tedy vysvětlení, že *H. lanatus* se vyskytuje jak na půdách, které jsou bohaté na fosfor, tak na půdách na fosfor chudých, protože tyto dva fenotypy dohromady umožňují rostlině kolonizovat mnohem širší spektrum nik⁶.

Studie toxicity arsenu ukázaly, že rostliny nerezistentní k arsenu trpí po vystavení arsenu stresem. Symptomem byl snížený růst kořenů vedoucí až k úhynu rostliny^{25–28}. Existuje důkaz, že působení anorganického arsenu vede k produkci ROS (reactive oxygen species)²⁹. To se děje pravděpodobně konverzí As^V na As^{III} , procesem, který snadno probíhá v rostlinách a vede k syntéze enzymatických antioxidantů, jako je peroxid dismutasa, katalasa a glutathion-S-transferasa a neenzymatických antioxidantů, např. glutathion a askorbát. Spolu s rolí glutathionu jako antioxidantu je glutathion také prekurzorem fytochelatinů. Syntéza fytochelatinů tak může způsobit vyčerpání zásob glutathionu a zredukovat tak množství antioxidantu pro zhasení ROS.

4. Hyperakumulátory arsenu

Tento termín poprvé použil Brooks³⁰ pro rostliny, které akumulují více než 1000 mg kovu na kilogram sušiny. Existují další definice hyperakumulátoru³¹. Bylo popsáno několik hyperakumulujících rostlin pro arsen, které byly nalezeny na těžebních haldách ve Velké Británii, odpadech z hutí v severovýchodním Portugalsku, vedle dolu na měď v severním Peru, na místě kontaminovaném směsí solí As, Cu a Cr na Floridě a v jižním Thajsku na odpadech po těžbě cínu³².

Některé rostliny z rodu *Agrostis* jsou schopny akumulovat a tolerovat velké koncentrace As: až 6640 mg kg⁻¹ ve starých listech *A. canina* a *A. tenuis*, 1350 mg kg⁻¹ v *Agrostis stolonifera*, 1900 mg kg⁻¹ v *Agrostis castellana* a 1800 mg kg⁻¹ v *Agrostis delicatula*³⁴. *Pseudosuga taxifolia*, *Pityrogramma calomelanos* a *Pteris vittata* jsou schopny na mineralizované nebo kontaminované půdě akumulovat As v koncentracích dosahujících 8200, 8350 resp. 7526 mg kg⁻¹ sušiny⁶. *Jasione montana*, *Calluna vulgaris* a *Paspalum ra-*

cemosum akumulovaly ze silně kontaminované půdy 6640, 4130 resp. 5280 mg As na 1 kg sušiny^{33,34}.

Ještě lepších výsledků v akumulaci arsenu dosahují řasy *Ceratophyllum demersum*, *Lagarosiphon major* a *Egeria densa*. Tyto druhy se vyskytují v říčních vodách, kde koncentrace arsenu dosahuje 0,03–0,08 mg kg⁻¹ jako důsledek geotermální aktivity. Jsou schopny akumulovat 500–1500 mg As na 1 kg sušiny, což představuje bioakumulační faktor 10 000 a více^{35–37}. Taktéž mořské řasy obvykle obsahují 10 000krát větší koncentraci arsenu než jaká je v jejich prostředí³⁸.

4.1. *Pteris vittata*

Kapradina *Pteris vittata*, hyperakumulátor arsenu, byla objevena v centrální části Floridy. Tato kapradina je mezofytická a je pěstována a zdomácněla na mnoha místech s mírným podnebím (ve Spojených Státech roste v jižní a jihovýchodní Kalifornii). Je přizpůsobivá a mrazuvzdorná a preferuje slunečné a zásadité prostředí. Má značný nárůst biomasy a je to vytrvalá rostlina³⁹.

Tato kapradina toleruje koncentraci arsenu v půdě až do 1500 mg kg⁻¹, což představuje biokoncentrační faktor 193. Koncentrace arsenu v rostlině může dosáhnout až 2,3 % suché váhy⁹. Na distribuci arsenu v *Pteris vittata* je zajímavé, že nejvyšší obsah arsenu byl naměřen v kořenech, nejvyšší v listech kapradiny, přičemž více arsenu bylo v listech starších než mladších. Odhadem více než 95 % přijatého arsenu bylo uloženo v nadzemní části rostliny⁶. Kapradina byla schopna akumulovat As z půd obsahujících různé koncentrace As, a dokonce i z půd, kde byl As přítomen v různých sloučeninách. Ačkoli jsou sloučeniny $FeAsO_4$ a $AlAsO_4$ málo rozpustné, kapradina byla schopna akumulovat v listech As z těchto sloučenin v koncentraci 3–6 krát větší než jaká byla jeho koncentrace v půdě³⁹. Nárůst biomasy kapradiny se po přidání arsenu, který rostlina aktivně akumulovala, zvýšil⁴⁰.

4.2. *Pityrogramma calomelanos*

Tato kapradina je dalším hyperakumulátorem arsenu. Roste na půdě kontaminované arsenem v distriktu Ron Phibun v jižním Thajsku. Jde o jedlou rostlinu. Na půdě kontaminované arsenem prosperuje lépe než *Pteris vittata*. Arsen akumuluje převážně v listech (až 8350 mg As na 1 kg sušiny), mezi jednotlivými kategoriemi listů (staré, mladé, beze spor) nebyl pozorován významný rozdíl, pouze v jediném vzorku odumírající list obsahoval významně méně (10×) arsenu než zdravé listy té samé rostliny⁴⁰. Na rostlině *Agrostis tenuis* byl pozorován vzrůstající obsah arsenu se stářím listů, a proto se soudilo, že by to mohl být způsob detoxifikace – odstranit arsen z rostliny přes odumírající listy. U této kapradiny tento proces nebyl prokázán. Spíše se zdá, že kapradina si aktivně uchovává arsen jeho přemísťováním z odumírajících listů. Arsen v listech byl snadno extrahovatelný vodou (86–93 %) a vyskytoval se převážně jako arsenitan (60–72 %), zbylý

arsen byl přítomen jako arseničnan. Methylarsonát a dimethylarsinát byl detegován jako stopová složka pouze ve dvou vzorcích. Vyšší obsah arseničnanu v odumírajících listech (98 %) podporuje teorii, že rostliny se brání přerušení oxidativní fosforylace tím, že arseničnan redukuje a ukládají v listech jako arsenitan. Arseničnan může být v odumírajících listech oxidován na termodynamicky stálejší arseničnan kvůli ztrátě enzymové aktivity⁴⁰.

Jedním z požadavků na rostlinu vhodnou k remediaci je velký nárůst biomasy a schopnost akumulovat kontaminant. Z tohoto pohledu je tato kapradina pro remediaci velmi vhodná. Při předpokládané hustotě půdy okolo 2 g cm^{-3} , obsahu As 500 mg kg^{-1} , akumulaci As 5000 mg kg^{-1} sušiny, kořenovém systému hlubokém 25 cm, hmotnosti suchých listů rostliny okolo 25 g a 16 rostlinách na m^2 se odhad remediačního potenciálu pohybuje okolo 2 % odstraněného arsenu z půdy ročně⁴⁰.

5. Interakce As-P

Podobně jako karboxylové kyseliny uvolňované kořeny rostlin mohou i jiné organické a anorganické aniony soutěžit s arsenem o sorpční místa. Fosfátový iont má výsadní postavení v interakci anion-As vzhledem k podobnosti s arsenem. Dokonce se předpokládá, že As^{V} je přijímán přes fosfátový systém a může následně interagovat s fosfátovou výživou. I přes mnoho studií týkajících se interakcí As-P nebyly výsledky dosud systematicky vyhodnoceny a zatím nebyly aplikovány na rhizosféru. Obecně je nutno rozlišit hydroponické experimenty, experimenty v kultivačních nádobách a polní experimenty. Hydroponické experimenty nadhodnocují význam kinetiky příjmu a takové procesy ve vztahu rostlina-půda, jako je tok vody do rostliny, tok živin/polutantů ke kořenům, difuze, adsorpce/desorpce a výměna iontů nejsou vůbec uvažovány. Přídavek fosforu do roztoku snižuje příjem arsenu a následně tedy zmírňuje projevy fytotoxicity.

Experimenty s hydroponickými kulturami prokázaly, že tolerantní populace *Agrostis capillaris* a *H. lanatus* přijímá méně arsenu než netolerantní populace. Bylo potvrzeno, že příjem As^{V} v hydroponickém roztoku tolerantní populací *H. lanatus* byl umožněn potlačením vysoce afinitního systému příjmu fosforu. To následně vedlo k nižšímu příjmu a akumulaci arsenu v tolerantních populacích. Podobný mechanismus tolerance k As^{V} byl pozorován pro arsen-tolerantní populaci *Deschampsia cespitosa* a v menším rozsahu u *A. capillaris*. Poslední experimenty ukazují, že tolerance *H. lanatus* k As^{V} vyžaduje jak potlačení vysoce afinitního systému příjmu fosfátu, tak produkci fytochelatinů¹⁵.

Výsledky z hydroponických experimentů ukazují, že populace, které mají potlačen vysoce afinitní systém příjmu fosforu/arsenu, jsou méně úspěšné v příjmu fosforu a tím i v produkci biomasy. Byl porovnáván příjem fosforu u tolerantních a netolerantních populací *H. lanatus* v hydroponickém roztoku a v kultivačních nádobách se

sterilním kompostem. Při nízkých koncentracích fosforu ($0,5$ a $5 \text{ } \mu\text{M}$) tolerantní klon obsahovaly méně fosforu a produkovaly méně biomasy nadzemní části rostliny, zato více biomasy kořenů. Tyto rozdíly nebyly nalezeny při vysoké koncentraci fosforu v roztoku ($50 \text{ } \mu\text{M}$). Tolerantní rostliny v kultivačních nádobách měly menší nárůst, zato obsahovaly vyšší koncentraci fosforu. Jak bylo diskutováno autory tohoto experimentu, v hydroponickém uspořádání bývá důležitost kinetiky příjmu přeceňována. Hlavním limitujícím faktorem se zdá být spíše příjem fosforu než jeho difuze, morfologie kořenů či parametry půdy¹⁵. Při experimentu provedeném s rostlinou *Silene vulgaris* bylo potvrzeno, že arsen je pro rostlinu toxičtější při nižší koncentraci fosfátu v prostředí⁴.

Shrnutí laboratorních, polních experimentů a experimentů v kultivačních nádobách vede k různým závěrům. V laboratorních podmínkách přidání fosforu zvyšuje uvolňování As, zvyšuje extrahovatelnost As a redukuje sorpci As^{V} a As^{III} v půdě⁵⁰. Příjem As se zvýšil po aplikaci fosforu v experimentech prováděných v kultivačních nádobách ve skleníku a nebo v polních podmínkách. Na rozdíl od rostlin kultivovaných v hydroponických roztocích, u rostlin rostoucích v půdním substrátu přítomnost fosforu způsobuje soupeření As-P o sorpční místa vedoucí k větší přístupnosti As a tím i větší koncentraci As v rostlinách. Studie vztahu As-P v rhizosféře ukázala, že přítomnost fosforu zvýšila koncentraci As v nadzemní části a kořenech u tolerantních i netolerantních klonů *Holcus lanatus*^{26,41–43}. Akumulace As v kukuřici byla srovnávána u rostlin pěstovaných na uměle kontaminovaných půdách (20 a 80 mg kg^{-1}). Větší obsah arsenu byl nalezen v rostlinách pěstovaných na písčitých půdách než na spraších. Zvýšení hladiny fosforu mělo malý efekt na příjem As rostlinami na spraších, zatímco zvýšilo příjem rostlin na písčité půdě, která obsahovala arsen v koncentraci 80 mg kg^{-1} (cit.¹⁵).

U hyperakumulátorů je velmi nepravděpodobné, že by přidání fosforu mohlo mít vliv na projevy fytotoxicity. *P. vittata* je schopna akumulovat až $22\,630 \text{ mg As na } 1 \text{ kg sušiny}$ z půdy kontaminované $1500 \text{ mg As na } 1 \text{ kg}$ (cit.³⁹). Přidání fosforu může za prvé výrazně podpořit růst rostliny (neboť fosfor je významný makronutrient) a za druhé mobilizovat vyměnitelný As, což může vést ke zvýšení jeho příjmu rostlinou.

Většina studií na interakce As-P byla provedena na uměle kontaminovaných půdách. Předpokládá se, že významně odlišná bude koncentrace nestabilního As a P v půdách, které postupně přijímaly As během dlouhé doby skrze antropogenní procesy. Bylo dokázáno, že As se rychle v půdě mění na nepřístupný, což vede ke snížené toxicitě¹⁵.

Velká část z celkového fosforu může být v půdě přítomna jako fytáty, stejně tak až 70 % rozpuštěného P v půdním roztoku je přítomno v organické formě. Očekává se, že kyselina fytová soupeří, vzhledem k její anionické formě, s arsenem o sorpční místa. Interakce mezi As a organickým P dosud studovány nebyly¹⁵.

6. Kořenové exudáty

Bylo publikováno, že rostliny s nedostatkem fosforu vykazovaly zvýšenou exudaci karboxylových kyselin, např. citrónové a jablečné kyseliny. Tato změna se interpretuje jako cílené zvýšení pH, proto aby se fosfor uvolnil ze sorpčních míst, chelatace kationtů kovů, které mohou fosfor imobilizovat a vytvoření rozpustných komplexů kov-chelát s fosforem. Celkově jde o zvýšení přístupnosti fosforu. Svazky kořenů rostlinných druhů s nedostatkem fosforu jako třeba *Lupinus albus* a nebo rostliny čeledi *Protaceae* vyměšují především silné organické kyseliny a fenolické látky. Arsen a fosfor náleží do stejné chemické skupiny a mají srovnatelné disociační konstanty svých kyselin a rozpustnost jejich solí, což vede k podobnému geochemickému chování arsenu a fosforu v půdě. Z toho lze předpokládat, že vyměšování karboxylových kyselin může hrát roli také v mobilizaci arsenu v rhizosféře a tím i zvyšování jeho příjmu rostlinou¹⁵.

Vyměšování látek může probíhat také za účelem získání jiných prvků: Lze rozlišit dvě základní strategie pro získání železa vyššími rostlinami.

Strategii č. I používají jednoděložné rostliny s výjimkou čeledi *Graminaceae* (trávy) a dvouděložné rostliny. Zahnuje tři procesy: i) Zvýšené uvolňování vodíkových iontů, ii) produkci plasmatické membránové vázané reduktasy v přítomnosti substrátu a iii) zvýšené uvolňování redukčních a chelatačních látek.

Strategie č. II využívaná travami je charakteristická uvolněním phytosiderophorů a vysoce afinitním systémem pro příjem železa. Oxidy/hydroxidy železa dominují v sorpci arsenu v půdě. Laboratorní studie adsorpce As^{III} a As^{V} na povrchu oxidů železa indikují, že obě formy jsou vázané jako jednovazné nebo dvouvalné ligandy povrchových komplexů. Vyloučení protonů a/nebo vyloučení redukčních a chelatačních činidel strategií č. I mohou rostliny také způsobit uvolnění arsenu z oxidů/hydroxidů železa, a tím zpřístupnit arsen pro rostlinu¹⁵.

V podstatě nic není známo o nutričních aspektech železa a příbuzných aspektech procesů rhizosféry kapradin. Nevyužívají ani jedné z výše popsaných strategií, přestože kapradiny jako hyperakumulátor arsenu *P. vittata* a *P. calomelanos* železo jistě získávají. Je známo, že výměšky kořenů (kyselina šťavelová a citrónová) kalcifilních rostlin efektivně uvolňují fosfor a železo z vápence^{44,45}. Také byla zjištěna významná korelace mezi arsenem a železem v mnoha k arsenu tolerantních rostlinách na různých místech těžby ve Velké Británii. Nebyla nalezena žádná korelace mezi arsenem a jinými prvky (Pb, Cu, Zn), ani pro fosfor³⁴.

Celkově lze říci, že příjem fosforu, železa a arsenu u hyperakumulátorů arsenu může být na sobě závislý. Reduktivní rozpuštění minerálů Fe^{III} vede nevyhnutelně k uvolnění vazby železa a arsenu, stejně tak exudáty kořenů zvyšující mobilizaci fosforu mají také tendenci desorbovat arsen. Vedle rhizosférických procesů má hyperakumulátor arsenu většinou zvláštní mechanismus příjmu arsenu. Potlačení vysoce afinitního systému fosfátového příjmu přispívá k adaptivní toleranci rostlin k arsenu.

7. Mykorrhiza

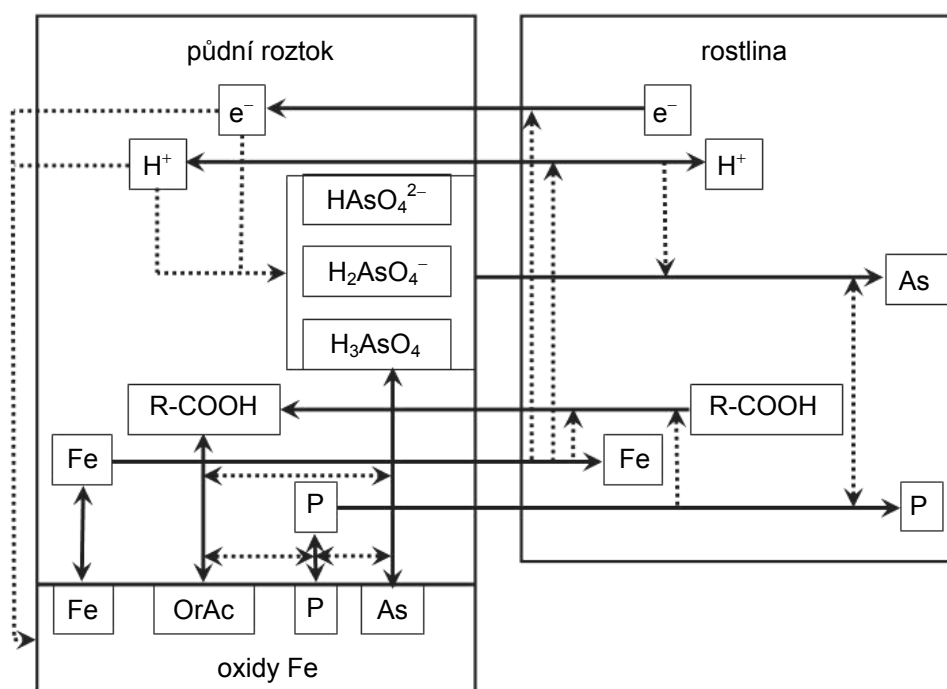
Mykorrhiza je nejrozšířenějším mutualistickým symbiotickým spojením mezi mikroorganismy a vyššími rostlinami a může mít velký význam pro minerální výživu hostitelské rostliny. Vedle těchto dobře známých prospěšných efektů na výživu rostlin může mít mykorrhizální spojení pro hostitelskou rostlinu rostoucí na kontaminované půdě ještě další funkce. Mykorrhizální houby mohou zmírnit toxicitu kovu, protože představují bariéru pro příjem kovu. V nedávné době byla srovnána krátkodobá kinetika příjmu mykorrhizální houby *Hymenoscyphus ericae* z dolu kontaminovaného As/Cu (As-rezistentní populace) a z nekontaminovaného vřesoviště (As nerezistentní populace) při kultivaci v roztoku. Kinetika příjmu As^{V} a As^{III} a fosfátu se nelišila pro rezistentní a nerezistentní populace. Příjem arsenu houbou je pasivní¹⁵. Houby z dolu vylučovaly o 90 % více As ve formě As^{III} . Dvacetičtyř hodinový příjem As^{V} hydroponicky pěstovaného mykorrhizního a nemykorrhizního hostitele *C. vulgaris* se nelišil od důlních rostlin. Na druhou stranu, naočkovaný vřesovištní *C. vulgaris* akumuloval o 100 % více As než nenaočkovaný jedinec. Autoři předpokládají, že důlní houby hrají roli filtru arsenu a udržují tak nízkou koncentraci arsenu v rostlině. Mykorrhizní houby tak mohou být důležité pro revegetaci/fytostabilizaci půdy znečištěné arsenem.

Většina kapradin vykazuje mykorrhizu. Role mykorrhizy u hyperakumulátorů arsenu dosud není známa. Většina dobře prostudovaných hyperakumulátorů různých kovů patří k čeledi *Brassicaceae*, které obecně netvoří mykorrhizní spojení. Ze současných informací můžeme shrnout, že ve většině případů mykorrhizní houby mají tendenci omezit přenos polutantu k rostlině a zároveň zlepšovat rostlinnou výživu. Další výzkum by se měl zaměřit na mykorrhizální hyperakumulátory.

8. Model chování As v systému půda-rhizosféra-rostlina

Podle dostupné literatury a teoretických úvah byl navržen konceptuální model chování arsenu v systému půda-rhizosféra-rostlina zahrnující příjem arsenu, chemickou speciaci v půdním roztoku a interakci s půdní pevnou fází a rostlinnou výživu železem a fosforem (obr. 1). Individuální procesy znázorněné v modelu jako proudy/transformace (plná čára) a vlivy/interakce (tečkovaná čára) jsou dobře známé, ale dosud nebyly pro popis arsenu v systému půda-rhizosféra-rostlina aplikovány. Tento model zdůrazňuje klíčové procesy a jejich interakce a může být nápomocen v dalším studiu chování arsenu v rhizosféře suchozemských rostlin.

Arsen je v půdě asociován s oxidy-hydroxidy železa. Hodnota pH v rhizosféře se může lišit od pH v okolní půdě až o dvě jednotky. Za aerobních podmínek je arsen přítomen v půdním roztoku jako As^{V} a desorbuje se ze sorpčních míst za zvýšení pH. Uvolnění arsenu a fosforu do

Obr. 1. Model chování As v systému půda-rhizosféra-rostlina¹⁵

půdního roztoku může nastat rozpuštěním oxidů-hydroxidů železa jak při zmenšení redukčního potenciálu indukovaného rostlinou, tak při drastickém poklesu pH v rhizosféře. Redukce As^{V} na As^{III} vede k jeho zvýšené přístupnosti pro organismy a k toxicitě pro rostliny. Příjem železa a arsenu mohou interagovat, protože mobilizační procesy indukované kořeny, mající za účel zvýšit rozpustnost železa z jeho oxidů/hydroxidů, nevyhnutelně vedou k uvolnění železem vázaného arsenu. Byly popsány dva odlišné typy reakce kořenů, jmenovitě strategie I a II, jako mechanismus pro získání železa. Především uvolnění redukčních a chelatačních sloučenin, mechanismů strategie I, zvyšuje přístupnost arsenu pro organismy v rhizosféře.

Karboxylové kyseliny uvolněné rostlinami s nedostatkem fosforu se podílí na mobilizaci anorganického fosforu v rhizosféře. Takové procesy také ovlivňují přístupnost arsenu pro rostliny vzhledem k známé podobnosti arseničnanu a fosforečnanu^{46–49}.

9. Závěr

Arsen se v životním prostředí vyskytuje v ovzduší, půdě i ve vodách. Sloučeniny arsenu jsou silně toxické s vysokou kumulativní schopností v organismech. Rostliny jsou často prvním z článků řetězce vedoucího až k člověku, a proto je nutno znát jak způsob, jakým se arsen dostává do rostlinných pletiv, znát možnosti ovlivnění jeho

vstupu a také i možnosti případného využití tohoto jevu pro metody fytoremediací, které by mohly pomoci problém arsenu řešit levně a efektivně.

Tato práce byla podporována projektem GA ČR 526/04/0135 a projektem COST 859.10.

LITERATURA

1. Kafka Z., Punčochářová J.: Chem. Listy 96, 611 (2002).
2. Baroni F., Boscagli A., Di Lella L. A., Protano G., Ricobono F.: J. Geochem. Explor. 81, 1 (2004).
3. Pitter P.: *Hydrochemie*. VŠCHT, Praha 1999.
4. Sneller F. E. C., Van Heerwaarden L. M., Kraaijeveld-Smit F. J. L., Ten Bookum W. M., Koevoets P. L. M., Schat H., Verkleij J. A. C.: New Phytol. 144, 223 (1999).
5. Ebdon L., Fitzpatrick S., Foulkes M.E.: Chem. Analytic 47, 179 (2002).
6. Zhang W., Cai Y., Tu C., Ma L. Q.: Sci. Total Environ. 300, 167 (2002).
7. Helgesen H., Larsen E. H.: Analyst 113, 791 (1998).
8. Koch I., Feldmann J., Wang L., Andrewes P., Reimer K. J., Cullen W. R.: Can. Sci. Total Environ. 236, 101 (1999).
9. Koch I., Wang L., Ollson C., Cullen W. R., Reimer K. J.: Can. Environ. Sci. Technol. 34, 22 (2000).

10. Grill E., Winnacker E. L., Zenk M. H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **84**, 439 (1987).
11. Maitani T., Kubota H., Sato K., Yamada T.: *Plant Physiol.* **110**, 1145 (1996).
12. Schmoger M. E. V., Oven M., Grill E.: *Plant Physiol.* **122**, 793 (2000).
13. Sneller F. E. C., Van Heerwaarden L. M., Kraaijeveld-Smit F. J. L., Koevoets P. L. M., Schat H., Verkleij J. A. C.: *J. Agric. Food Chem.* **48**, 4014 (2000).
14. Sneller F. E. C., Van Heerwaarden L. M., Kraaijeveld-Smit F. J. L., Ten Bookum W. M., Koevoets P. L. M., Schat H., Verkleij J. A. C.: *New Phytol.* **144**, 223 (1999).
15. Fitz W. J., Wenzel W. W.: *J. Biotechnol.* **99**, 259 (2002).
16. Marin A. R., Masschenlyn P. H., Patrick W. H. Jr.: *Plant Soil* **139**, 175 (1992).
17. Carbonell A. K., Aarabi M. A., DeLaune R. D., Gambrell R. P., Patrick W. H.: *J. Environ. Sci. Health, Part A* **33**, 45 (1998).
18. Tlustoš P., Goessler W., Száková J., Balík J.: *Appl. Organometal. Chem.* **16**, 216 (2002).
19. Brooks R. R.: *Plants that hyperaccumulate heavy metals*. University Press, Cambridge 1998.
20. Carbonell-Barrachina A. A., Burlo F., Burgos-Hernandez A., Lopez E., Mataix J.: *Sci. Hortic.* **71**, 167 (1997).
21. Dahmani-Muller H., van Oort F., Gelie B., Balabane M.: *Environ. Pollut.* **109**, 231 (2000).
22. Baker A. J. M.: *J. Plant Nutr.* **3**, 643 (1981).
23. Meharg A. A., Cumbes Q. J., Macnair M. R.: *Heredity* **69**, 325 (1992).
24. Meharg A. A., Cumbes Q. J., Macnair M. R.: *Evolution* **47**, 313 (1993).
25. Barrachina A. C., Carbonell F. B., Beneyto J. M.: *J. Plant Nutr.* **18**, 1237 (1995).
26. Macnair M. R., Cumbes Q.: *New Phytol.* **107**, 387 (1987).
27. Meharg A. A., Macnair M. R.: *New Phytol.* **119**, 291 (1991).
28. Paliouris G., Hutchinson T. C.: *New Phytol.* **117**, 449 (1991).
29. Hartley-Whitaker J., Ainsworth G., Meharg A. A.: *Plant, Cell Environ.* **24**, 713 (2001).
30. Brooks R. R., Lee J., Reeves R. D., Jaffré T.: *J. Geochem. Explor.* **7**, 49 (1977).
31. Jaffré T.: *Étude Écologique du Peuplement Végétal des Sols Dérivés de Roches Ultrabasiqes en Nouvelle Calédonie*. ORSTOM, Paris 1980.
32. Visoottiviseth P., Francesconi K., Sridokchan W.: *Environ. Pollut.* **118**, 453 (2002).
33. Bech J., Poschenrieder C., Llugany M., Barcelo J., Tume P., Toloias F. J.: *Sci. Total Environ.* **203**, 83 (1997).
34. Porter E. K., Peterson P. J.: *Sci. Total Environ.* **4**, 365 (1975).
35. Aggett J., Aspell A. C.: *N. Z. J. Sci.* **23**, 77 (1980).
36. Lancaster R. J., Coup M. R., Hughes J. W.: *N. Z. Vet. J.* **19**, 141 (1971).
37. Reeves R. D., Liddle, J. R.: *Trace Elements in the Eighties. N.Z. Trace Elements Group*. Palmerson North, New Zealand 1986.
38. Francesconi K. A., Edmonds J. S.: *Adv. Inorg. Chem.* **44**, 147 (1997).
39. Ma L. Q., Komart M. K., Tu C., Zhang W., Cait Y., Kenneley E. D.: *Nature* **409**, 579 (2001).
40. Francesconi K., Visoottiviseth P., Sridokchan W., Goessler W.: *Sci. Total Environ.* **284**, 27 (2002).
41. Meharg A. A., Macnair M. R.: *New Phytol.* **116**, 29 (1990).
42. Meharg A. A., Macnair M. R.: *New Phytol.* **117**, 225 (1991).
43. Meharg A. A., Hartley-Whitaker J.: *New Phytol.* **154**, 29 (2002).
44. Jones D. L.: *Encyclopedia of Ferns*. British Museum (Natural History), London 1987.
45. Ström L., Olsson T., Tyler G.: *Plant Soil* **167**, 239 (1994).
46. Dinkelaker B., Hengeler C., Marschner H.: *Bot. Acta* **108**, 183 (1995).
47. Hoffland E.: *Plant Soil* **140**, 279 (1992).
48. Kirk G. J. D., Santos E. E., Findenegg G. R.: *Plant Soil* **211**, 11 (1999).
49. Neumann G., Römhild V.: *Plant Soil* **211**, 121 (1999).
50. Fitz W. J., Wenzel W. W.: *J. Biotechnol.* **99**, 259 (2002).

P. Soudek^a, L. Vichová^{a,b}, Š. Valenová^{a,b}, R. Podlipná^a, J. Malá^c, and T. Vaněk^a (^a *Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic* ^b *Institute of Chemical Technology, Prague*, ^c *The Forestry and Game Management Research Institute, Prague*): **Arsenic and Its Uptake by Plants**

Contamination of soil with arsenic is one of the major causes of the presence of arsenic in drinking water. To understand and manage the risk posed by soil arsenic it is essential to know how arsenic is taken up by roots and metabolized in plants. Some plant species exhibit phenotypic variation in response to arsenic species, which helps to understand the toxicity of arsenic and the way in which plants have evolved arsenic resistance. A number of plants have been identified as hyperaccumulators in the phytoextraction of a variety of metals, and some have been used in field applications. This paper reviews major processes that can affect the fate of arsenic in the soil – rhizosphere – plant system.