



VĚDECKÝ VÝBOR FYTOSANITÁRNÍ A ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Klasifikace: Draft	<input type="checkbox"/> <i>Pro vnitřní potřebu VVF</i>
Oponovaný draft	<input type="checkbox"/> <i>Pro vnitřní potřebu VVF</i>
Finální dokument	<input type="checkbox"/> <i>Pro oficiální použití</i>
Deklasifikovaný dokument	<input checked="" type="checkbox"/> <i>Pro veřejné použití</i>

Název dokumentu:

**VYUŽITÍ ROSTLIN K ELIMINACI XENOBIOTIK
Z ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ**

Poznámka:

VVF-13-04

Zpracovatel: Ing. Martina Macková. Ph.D., Doc. Ing. Tomáš Macek, CSc.
(VŠCHT, ÚOCHB)

Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 PRAHA 6 - Ruzyně

Tel.: +420 233 022 324 , fax.: +420 233 311 591, URL: <http://www.phytosanitary.org>

Obsah:

SOUHRN	2
FYTOREMEDIACE – ÚVOD	3
METABOLICKÉ ASPEKTY FYTOREMEDIACE	7
PŘÍJEM A AKUMULACE.....	8
FYTOTRANSFORMACE.....	9
ENZYMY PODPORUJÍCÍ TRANSFORMACI LÁTEK V PŮDĚ.....	11
BIODEGRADACE PROBÍHAJÍCÍ V RHIZOSFÉŘE - RHIZOREMEDIACE	12
FYTOVOLATILIZACE	12
ROSTLINY A JEJICH SCHOPNOST AKUMULOVAT TĚŽKÉ KOVY	13
TRANSGENNÍ ROSTLINY.....	19
VÝHODY A NEVÝHODY VYUŽITÍ ROSTLIN PRO FYTOREMEDIACE.....	22
WEBOVÉ STRÁNKY S INFORMACEMI O FYTOREMEDIACI	23
LITERATURA.....	24

SOUHRN

Fytoremediace je pojem označující proces využití rostlin pro odstraňování polutantů a xenobiotik ze životního prostředí. Rostliny mohou najít uplatnění při nápravě kontaminace jak anorganickými, tak organickými sloučeninami. V obou případech jsou využívány zcela přirozené procesy, které se u rostlin vyvíjely dlouhou dobu. Fytoremediace je technika populární, neboť se prokázalo, že při praktických aplikacích je mnohem cenově přístupnější a lépe přijímána veřejností. Má také velkou výhodu v tom, že esteticky obohacuje případně zdevastovanou krajinu. Rostliny lze využít, jak u vysoce kontaminovaných ploch, tak i v mírně kontaminovaných oblastech či k dočištění po použití jiných postupů. Využití některých fytoremediačních technik bylo již testováno dosti rozsáhle v případě kontaminované půdy i vod. Patří sem v případě půdy následující postupy: fytotransformace, rhizosferní biodegradace, fytostabilizace, fytoextrakce a fytovolatilizace. Při čištění a ochraně vod včetně spodní vody byla použita rhizofiltrace, hydraulické řízení pohybu kontaminace, fytovolatilizace, vegetační kryt a umělé mokřady. Použití rostlin pro stabilizaci určité oblasti, k zabránění větrné či vodní eroze, či jako uzávěru ukončené skládky bývá také zařazováno mezi fytoremediační techniky. V reálných podmínkách nelze oddělovat působení samotných rostlin, vždy je nutno zvažovat komplexně vzájemné interakce rostlin a půdních mikroorganismů. V poslední době je poměrně velká pozornost věnována i konstrukci transgenních rostlin využitelných pro fytoremediace a jejich možnému přínosu pro dekontaminaci životního prostředí. Následující přehled shrnuje dostupné znalosti a informace o fytoremediaci, mechanismech, které jsou rostlinami a interagujícími organismy uplatňovány a praktickými postupy, jež využívají schopností rostlin pro odstraňování xenobiotik z prostředí.

Fytoremediace – úvod

Fytoremediace je vysoce inovativní technologie, ačkoliv mnohdy využívá postupy velmi dlouho známé. Název používaný od roku 1991 zahrnuje široké spektrum postupů, při nichž dochází s pomocí rostlin k odstranění toxických látek nebo se zabrání jejich šíření. Jedná se tedy o využití nejrůznějších rostlinných druhů při degradaci, extrakci či imobilizaci látek kontaminujících půdu či vodu, posledních letech je zkoumána i možnost čištění vzduchu.

Někdy je v literatuře trochu zavádějící, jak mnoho činností je již označováno pojmem fytoremediace. Rostliny mohou najít uplatnění při nápravě kontaminace jak anorganickými, tak organickými sloučeninami. V obou případech jsou využívány zcela přirozené procesy, které se u rostlin vyvíjely po miliony let. Rostliny komunikují z prostředím a berou si z něho živiny. Z anorganických sloučenin bezpodmínečně potřebují přijímat různé kovy i stopové prvky, fosfor atd. Mechanismy příjmu těchto sloučenin umožňují různým rostlinám v odlišném množství přijímat i toxické těžké kovy a hromadit je ve tkáních. Kovy jsou obvykle ukládány ve vakuole, po vazbě k různým typům sloučenin snižujících jejich toxicitu a umožňujících jejich transport.

U organických sloučenin je situace odlišná, rostliny také mají mechanismy k jejich příjmu, a pak dochází u různých rostlin ve větší či menší míře k jejich zneškodnění. Příslušné metabolické dráhy u rostlin normálně slouží ke zneškodnění sloučenin, jimiž mezi sebou bojují odlišné rostlinné druhy o životní prostor, obvykle o místo na slunci. Tyto takzvané allelochemikálie slouží komunikaci mezi jednotlivými organismy, inhibují růst konkurenčních organismů, mohou ovlivňovat zastoupení mikrobiálních druhů v rhizosféře konkurenční rostliny apod. Rostliny se proti takovým látkám brání podobným způsobem, jakým u savců fungují játra. Proto jsou rostliny někdy označovány jako „zelená játra planety“ (viz. např. www.popularis.cz (chemie, Zelená játra planety). Ohromné množství zelené biomasy celosvětově likviduje značný podíl vznikajících toxických látek. I látky značně odolné vůči degradaci mohou být některými rostlinnými druhy metabolizovány na nefytotoxické sloučeniny. Problém tkví v tom, že nefytotoxické nemusí vždy znamenat netoxické z hlediska např. savců a zejména člověka. Může docházet i k redukci na mutagenní či kancerogenní sloučeniny. V prvním kroku jsou sloučeniny aktivovány vnesením nějaké nové funkční skupiny, např. hydroxylací, ve druhém kroku dochází často ke konjugaci s polární sloučeninou zvyšující rozpustnost (např. cukry nebo aminokyseliny), a ve třetím kroku je místo exkrece jako u živočichů sloučenina uložena ve vakuole, nebo např.

zapolymrována do ligninu. Může docházet i k redukci některých sloučenin, i k aktivaci promutagenů na mutagenní, či karcinogenní sloučeniny.

Fytoremediace je populární, neboť lze předpokládat, že při praktických aplikacích bude mnohem cenově přístupnější než ostatní postupy. Má také velkou výhodu v tom, že esteticky obohacuje případně zdevastovanou krajinu. Za hlavní nevýhodu můžeme označit relativně dlouhou dobu potřebnou pro vyčištění kontaminované oblasti. Vzhledem k vysokým cenám spojeným s využitím klasických fyzikálních či chemických metod se biologické metody již zařadily mezi přijaté postupy. Po bakteriích a plísních je stále více zájmu věnováno i postupům spojeným s rostlinami. Nárůst počtu odborných článků, které se zabývají fytoremediací nebo jsou jí blízké, je v posledních letech velmi vysoký a neustále se zrychluje (Schnoor JL, et al., 1995; Schnoor, 2002; McCutcheon and Schnoor, 2003)

Rostliny lze využít jak u vysoce kontaminovaných ploch, tak i v mírně kontaminovaných oblastech či k dočištění po použití jiných postupů. Použití rostlin pro stabilizaci určité oblasti, k zabránění větrné či vodní eroze, či jako uzávěru ukončené skládky bývá také zařazováno mezi fytoremediační techniky. Většinou se fytoremediace definuje jako přímé využití živých rostlin k degradaci, zadržení či zneškodnění různých kontaminantů životního prostředí (Cunnigham et al., 1995; Cunnigham and Ow, 1996), polutantů (látky přírodního původu) a xenobiotik (cizorodé látky vytvořené uměle člověkem) mezi něž patří těžké kovy, radioaktivní sloučeniny i organické molekuly od pesticidů a herbicidů přes ropné produkty, výbušniny, rozpouštědla jako benzen, toluen, trichlorethylen apod., bojové chemické látky (Macek et al., 1998, 1999), vysoce odolné látky jako polychlorované bifenyly, dioxiny, DDT, i třeba látky které narušují endokrinní systém a vykazují hormonům podobné účinky (tributylcín, bisfenol A a další).

V optimálním případě by postup měl vést až k mineralizaci organických sloučenin, s hlavním cílem zabránit migraci toxických látek zejména do míst kde by mohlo dojít k ohrožení lidského zdraví (Macek et al., 2004).

Využití některých fytoremediačních technik bylo již testováno dosti rozsáhle v případě kontaminované půdy i vod. Patří sem v případě půdy následující postupy: fytotransformace, rhizosferní biodegradace, fytostabilizace, fytoextrakce a fytovolatilizace. Při čištění a ochraně vod včetně spodní vody byla použita rhizofiltrace, hydraulické řízení pohybu kontaminace, fytovolatilizace, vegetační kryt a umělé mokřady. Jednotlivé techniky budou probrány podrobněji.

V počátečním rychlém rozvoji menších polních pokusů bylo při empirických přístupech často zapomínáno na mnoho důležitých faktorů, které může objasnit pouze

základní výzkum. V reálných podmínkách nelze oddělovat působení samotných rostlin, vždy je nutno zvažovat komplexně vzájemné interakce rostlin a půdních mikroorganismů. Mikroorganismy mají samozřejmě větší význam při odstraňování organických sloučenin, jehož se přímo zúčastňují, ovšem některé mohou ovlivňovat i příjem anorganických látek rostlinou.

Při výběru vhodné rostliny, či rostlin je velmi důležité, zda a do jaké míry ovlivňují ostatní organismy žijící v prostředí. Exudáty rostlin ovlivňují růst mikroorganismů, poskytují jim živiny a limitují tak množství mikrobiální biomasy v půdě, některé látky z rostlin mohou působit jako induktory bakteriálních degradačních drah, některé allelopatické sloučeniny inhibují růst konkurenčních rostlin a mohou ovlivňovat i složení rhizosféry mikroflory okolí. Jedná se o velice specifickou záležitost, rozdíly v účinnosti rostlin z hlediska podpory mikroflory a degradace organických sloučenin byly pozorovány i na úrovni jednotlivých odrůd. Je třeba také posoudit nakolik hrozí, že slibný rostlinný druh přenesený do nové oblasti může být invazivní a šířit se nekontrolovaně i mimo kontaminované území.

Velmi významná je znalost agrotechniky použitých rostlinných druhů - pro efektivní využití je prospěšné znát jejich nároky, kalendář nejvhodnějších závlah, odolnost vůči chorobám, potřebné herbicidy či pesticidy a zejména nároky na výživu, aby bylo možno, co nejlépe využít potenciálu daného druhu a dosáhnout maximálních výtěžků v požadovaném směru, ať již akumulace kovů nebo degradace organických látek.

Je třeba mít na zřeteli důležitost systémů *in vitro*, neboť významně přispívají k efektivitě studia úlohy rostlin v remediaci kontaminovaných území či toků. Odstranění samotné toxické sloučeniny není jediným důležitým úkolem bioremediace, je třeba vědět jaké produkty vznikají, jaká je jejich toxicita pro rostliny, živočichy i člověka, a jak jsou tyto látky dále metabolizovány např. půdními mikroorganismy (Macek et al., 2002, Ryšlavá et al., 2003). Význam těchto znalostí byl donedávna poněkud podceňován, zejména v případě aplikačních pokusů ve snaze získat rychle a levně výstupy z remediačního procesu.

Ve srovnání s odstraňováním kontaminant z půdy pomocí fyzikálních, chemických či termálních procesů, převozu půdy na skládku nebezpečného odpadu apod., má technologie probíhající *in situ* nesporné výhody. Ustavení vegetačního krytu v kontaminované oblasti vede ke snížení eroze větrem a vodními srážkami, což významně snižuje šíření kontaminujících sloučenin do okolí a omezuje tak expozici lidí a zvířat. Tuto problematiku detailně sledovali Olson a Fletcher (2000). Autoři popisují podrobně návrat vegetace na sedimentech bývalé rozlehlé odkalovací nádrže v průmyslové oblasti a diskutují její význam pro fytoremediaci.

Vezmeme-li v úvahu rychlý nárůst světové populace a zničující působení mnoha zemědělských systémů na prostředí (Zechendorf, 1999), je zřejmé, že přes zavádění vysoce efektivních odrůd zemědělských plodin, včetně geneticky modifikovaných, dosavadní výměry zemědělských ploch nebudou brzy stačit. Vyčištění rozlehlých kontaminovaných oblastí není tedy jenom lokální otázkou, nýbrž je velmi důležité z hlediska udržení trvalého rozvoje, zejména proto, že může snižovat neustálý velký tlak na expansi zemědělských monokultur a dalších aktivit do divočiny, deštných pralesů i okrajových málo úrodných ploch. Snížení tohoto tlaku umožněním využití ploch v současnosti nepoužitelných vzhledem k jejich kontaminaci toxickými látkami přispěje z několika stran k zachování biologické diversity a záchraně vitálně důležitých ekosystémů.

Mnoho praktických aplikací již začíná být kladně přijímáno vládními úřady, přesto však v celosvětovém měřítku často nedostatek zákonných norem limituje obecně využití biologických systémů. Zatím se jeví pravděpodobným, že fytoremediace bude širě využívána nejprve v dobrovolných snahách o čištění kontaminovaných pozemků či vod, v řízené nebo jen v monitorované přirozené atenuaci, v dočišťování či při uzavírání skládek.

Metabolické aspekty fytořemediace

Rostliny odstraňují organické sloučeniny přímým příjmem kontaminant, jak shrnuli (Schnoor et al., 1995; Macek et al., 2000, Schnoor, 2002), poté následuje transformace, transport a akumulace nefytotoxických intermediátů. V zásadě metabolismus rostlin svoji schopností metabolisovat řadu xenobiotik a konkrétními reakcemi, vykazuje určité podobnosti se savčími játry. Rostliny prokázaly resistenci k vysokým koncentracím kovů i organických sloučenin. Může docházet k samotné transformaci na méně toxické sloučeniny, na druhé straně rostliny mohou podporovat procesy v oblasti kořenů, uvolňováním exudátů, enzymů a podporou mikrobiálního metabolismu poskytováním organického uhlíku (Schnoor et al., 1995; Schnoor, 2002; McCutcheon and Schnoor, 2003). Adsorpce a metabolická transformace polutantů jsou postupy vhodné a potenciálně využitelné pro čištění kontaminovaných ploch.

Fytořemediace je stále ve vývojovém stadiu, nemůže být ještě přijímána jako hlavní technologie v širokém měřítku, ale přesto byla již úspěšně použita v některých znečištěných oblastech. Nejrychleji a také nejúspěšněji se tato metoda vyvíjí v oblasti dekontaminace organických látek. Mohla by být potenciálně aplikována při remediaci petrochemických zbytků, skládek odpadů chemického průmyslu, v místech muničních odpadů, nebo v oblastech se zbytky pohonných hmot a pesticidů.

Aby mohly být organické látky rostlinami transformovány, musí být biologicky přístupné pro adsorpci, absorpci, přesun a metabolickou transformaci rostlinami nebo systémem mikroorganismů v rhizosféře (Jordahl, 1997, Schnoor, 2002, Singer et al., 2004). Tato dostupnost závisí na poměru lipofility sloučenin, typu půdy a stáří kontaminantů.

Organické látky mohou být prostřednictvím rostlin podrobeny několika procesům:

- a) přímé absorpci a následnému přesunu do rostlinné tkáně, s akumulací ve formě nefytotoxických metabolitů
- b) uvolňování enzymů, které podporují mikrobiální aktivitu a biochemickou transformaci v půdě
- c) zvýšené mineralizaci v rhizosféře, která je typická pro činnost kořenových hub a mikrobiálních konsorcií.
- d) Fytovolatilizace - přesunu kontaminantů z půdy a vody do atmosféry, kdy sloučeniny nebo jejich intermediáty jsou transpirací uvolňovány do atmosféry

Vegetace zajišťuje i jiný užitek v kontaminované oblasti, fytořemediací vzrůstá množství organického uhlíku v půdě, který stimuluje aktivitu mikroorganismů.

Příjem a akumulace

Některé rostliny jsou schopné přijímat organické látky přímo z kontaminovaných míst do svého organismu. Tato schopnost závisí na fyzikálně - chemických vlastnostech kontaminantů a na vlastnostech samotných rostlin (Sandermann, 2004). Některé hydrofobní organické sloučeniny se váží pevně na povrch kořenů. Tato sorpce může být reverzibilní, pokud není, kontaminanty jsou metabolisovány na povrchu kořenů stranit. Rozpustnější kontaminanty se nesorbují příliš pevně a jsou transportovány skrze membrány do rostlinné tkáně.

Organické sloučeniny jsou akumulovány v kořenech, poté přecházejí xylemem do výhonků a listů. Přímá akumulace je dána tzv. účinností akumulace, která závisí na rychlosti transpirace a koncentraci kontaminantu. Účinnost příjmu pro vaskulární rostliny (pro sloučeniny, které nejsou ihned transformovány) se nazývá Transpirační koncentrační faktor (TSCF), který představuje poměr mezi koncentrací sloučeniny v transpiračním proudu rostliny a koncentrací v půdní vodné fázi. Burken a Schnoor (Schnoor, 2002; Burken and Schnoor, 1998) stanovili TSCF pro xenobiotika vyskytující se typicky v odpadních vodách s hybridními topoly ($TSCF = 0.784 \exp [-(\log K_{ow} - 1.78)^2/2.44]$. Předpokládáný maximální příjem platí pro mírně hydrofobní sloučeniny ($\log K_{ow} = 1.0-3,5$).

$$U = (TSCF) (T) (C)$$

U – rychlost akumulace mg/den

TSCF – účinnost akumulace

T - transpirační rychlost L/den

C – koncentrace kontaminantu mg/L

Pro sloučeniny, které jsou přeměňovány biochemickým aparátem rostliny na mezifázi kořen-voda, nelze výše zmíněný vztah uplatnit, neboť akumulace je dána vazbou kontaminantu na rostlinou tkáň a biochemickými reakcemi přeměny (Schnoor, 2002).

Fytotransformace

Rostliny i živočichové jsou vystaveni řadě potenciálně toxických cizorodých chemických látek (xenobiotik). U zvířat dochází k metabolismu xenobiotik v játrech, kde jsou nepolární a lipofilní škodliviny metabolisovány na více rozpustné formy (Sandermann, 2004). Ty jsou pak jednoduše vylučovány v moči. Metabolismus xenobiotik v játrech probíhá ve třech fázích. V první fázi enzymy oxidují, redukují nebo hydrolyzují substrát, zavádějí reakční skupiny, které později usnadňují jejich konjugaci se sloučeninami jako je glutathion nebo glukuronát. Těchto reakcí se zúčastňují enzymy druhé fáze. Ve třetí fázi jsou hydrofilní konjugáty vylučovány v moči nebo výkalech.

Metabolismus xenobiotik u rostlin můžeme také rozdělit do tří obdobných fází (Stiborová et al., 1991, Kučerová et al., 1999a, Sandermann, 1994, 2004), přestože rostliny nemají skutečnou efektivní cestu vylučování. Transformační (1. fáze) a konjugační (2. fáze) jsou obdobné, ukládání (3. fáze) nahrazuje vylučování. Místem ukládání v buňkách jsou vakuoly a buněčná stěna pro rozpustné respektive nerozpustné konjugáty. Rostliny se podobají játrům i svou schopností metabolisovat široké spektrum xenobiotik, včetně polychlorovaných a polycyklických uhlovodíků (Kučerová et al., 1999b, Macková et al., 2001, Chromáet al., 2002).

Nejdůkladněji byla fytotransformace studována u pesticidů (Langebartels, Harms, 1984, Lamoureux, Frear, 1979). Tyto sloučeniny jsou podrobeny řadě procesů, kdy v prvním kroku (I fáze) jsou zavedeny skupiny $-OH$, NH_2 , SH a typickými reakcemi jsou oxidace, redukce, nebo hydrolysa (Sandermann 1994, 2004). Pro vysoce lipofilní sloučeniny je typická oxygenace pomocí monooxygenasy cytochromu P450 nebo karboxylesteras. Bylo zjištěno, že různé cytochrom P-450 monooxygenasy se mohou podílet na detoxifikaci xenobiotik proto, že se účastní demethylačních, dealkylačních, hydroxylačních, dehalogenačních, deaminačních a epoxidačních reakcí (Schnoor, 2002, Sandermann, 2004). V jiném případě detoxikační efekt byl zprostředkován peroxidasami obsaženými v rostlinné tkáni (Kucerova et al., 1999, Mackova et al., 2001, Koller et al., 2000). Tyto oxidoreduktasy byly schopny oxidovat fenol, a aromatické aminy na volné radikály nebo na chinony a benzochinonové iminy (Davidenko et al., 2004).

Tabulka I: Rostlinné enzymy účastníci se transformace organických látek (Kučerová et al., 1999)

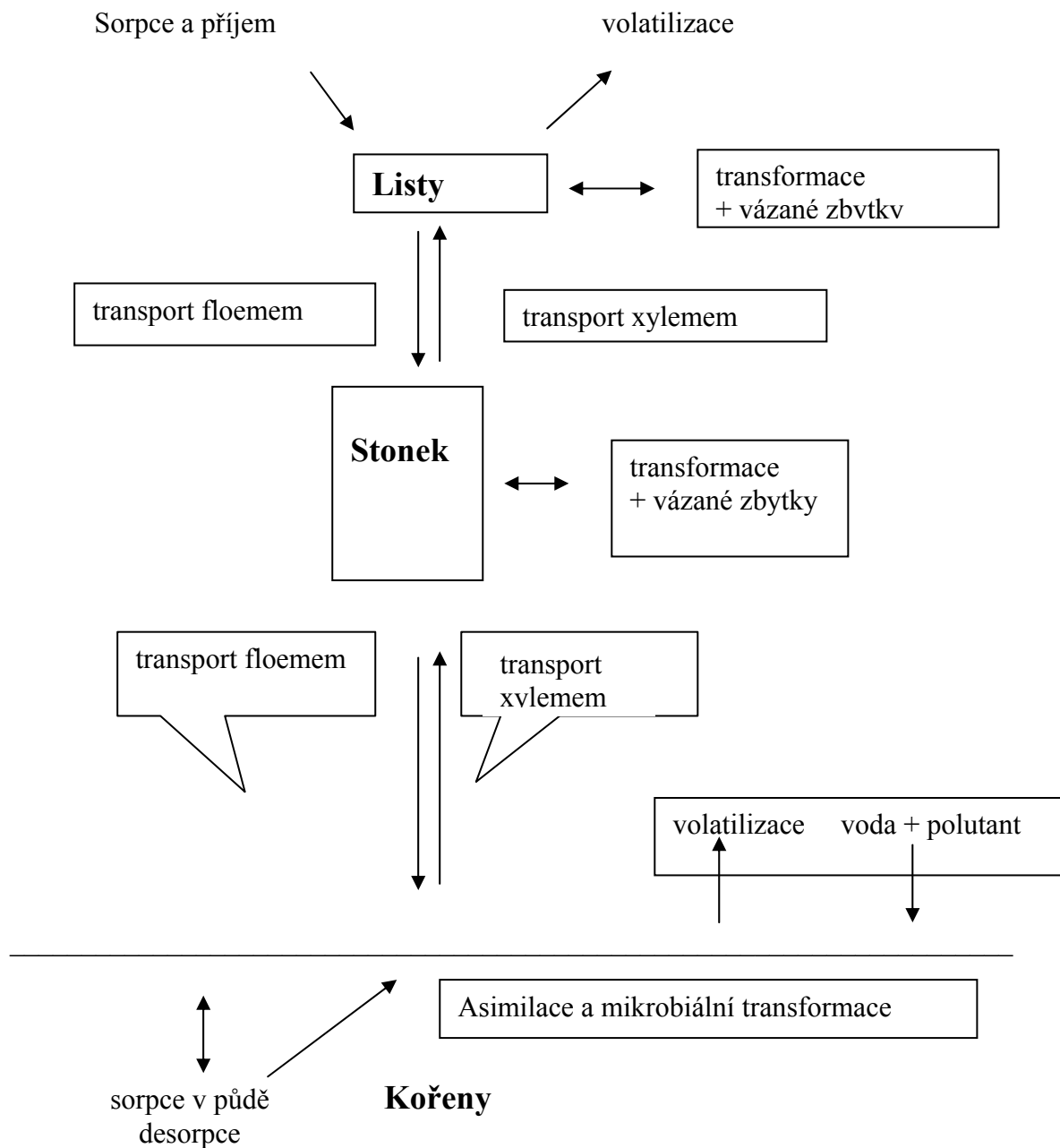
Skupina enzymů	Xenobiotický substrát	Přirozený substrát
Cytochrom P - 450	4-chlor-N -methylanilin	Kyselina skořicová
Glutathiontransferasy	Fluordifen, atrazin, alachlor	Kyselina skořicová
Karboxylesterasy	Diethylhexylftalát	Lipidy, acetylcholin
O - glukosyltransferasy	Chlorované fenoly	Flavonoidy, koniferylalkohol
O - malonyltransferasy	β -D-glukosidy pentachlorfenolu a 4-hydroxy-2,5-dichlorfenoxy- octové kyseliny	β -D-glukosidy flavonoidů a isoflavonoidů
N - glukosyltransferasy	Chlorované aniliny a metribuzin	Kyselina nikotinová
N - malonyltransferasy	Chlorované aniliny	1-aminocyklopropyl karboxylová kyselina, D-aminokyseliny

Druhá fáze zahrnuje konjugaci s glukosou, glutathionem (Dixon et al., 1998), nebo aminokyselinami. Vznikají rozpustné polární sloučeniny. Enzymy, které se účastní II. fáze jsou glutathion-transferasa, O- a N- glukosyltransferasy a malonyltransferasy. V případě nerozpustných konjugátů, vázajícími se se složkami buněčné stěny, vznikají neselektivními reakcemi s volnými radikály nebo inkorporací do hemicelulos.

Třetí fáze kompartmentace a skladování představuje ukládání ve vakuolách, nebo jako součást buněčné stěny.

Enzymy podporující transformaci látek v půdě

Měřením enzymových aktivit během transformace kontaminantů smíšených s půdními vzorky bylo identifikováno pět enzymových systémů, které se pravděpodobně významně podílejí na přeměně organických látek v životním prostředí. Jsou to dehalogenasy, nitroreduktasy, peroxidasy, lakasa, nitrilasy. Některé z těchto enzymů např. rostlinné peroxidasy již byly navrženy pro dekontaminaci fenolů a anilinů ve vodném prostředí (Schnoor et al., 1995, Macek et al., 2002, McCutcheon and Schnoor, 2003).



Obr. 1: Potenciální příjem a transformace organických polutantů v půdě (Schnoor , 2002)

Biodegradace probíhající v rhizosféře - rhizoremediace

Rostliny napomáhají mikrobiální transformaci v rhizosféře, tzn. v rostlinném kořenovém systému (Obr. 1). Typické složení rhizogenní oblasti zahrnuje 5×10^6 bakterií, 9×10^5 aktinomycet, 2×10^3 hub na gram půdy. Kořeny vytvářejí vhodné prostředí pro růst mykorrhizních hub, které ovlivňují přísun živin ke kořenům, transport toxických látek a také metabolizují některé organické polutanty. Tento typ hub roste v symbióze s rostlinnými kořeny (Batkhuugyin et al., 2000) a obsahuje unikátní enzymové dráhy, napomáhající při degradaci organických látek, které nemohou být transformovány samotnými bakteriemi či rostlinami (Olson and Fletcher, 2000, Narasimhan, 2003, Ryšlavá et al., 2003, Leigh et al., 2002).

Rostliny také vylučují exudáty stimulující bakteriální transformaci (Bertin et al., 2003) a podporují využití organického uhlíku v kořenové oblasti. Navíc rychlý rozpad kořenových zbytků vede k důležitému obohacení půdy o jednoduché organické sloučeniny (aminokyseliny, cukry atd.) (Donely and Fletcher, 1994, Donely et al., 1994). Jejich přidavek posiluje mikrobiální mineralizaci. Briggs a kol. (1982) definovali tzv. Kořenový koncentrační faktor (RCF) jako poměr organické sloučeniny sorbované na kořeny vůči koncentraci polutantu v mediu. Sloučeniny které mají Kow vyšší než 3,0 jsou na kořeny vázány velmi pevně (Schnoor et al., 2002). Tyto kontaminanty mohou být transformovány na povrchu kořenů extracelulárními nebo membránově vázanými enzymy (Leigh et al., 2002).

Fytovolatilizace

Některé sloučeniny mohou být přijímány rostlinami. VOCs (těkavé organické sloučeniny) mohou radiálně difundovat tkání stonku a mohou být v plynném stavu transpirovány do atmosféry. Jedná se např. o TCE, PCE, nebo MTBE. Množství uvolněných VOCs je ale velmi malá ve srovnání s emisemi z jiných zdrojů (Vose et al., 2002, Garbisu et al., 2002, Schnoor, 2002).

Absorpce pomocí listů

Stupeň akumulace polutantů ze vzduchu závisí na rozdělovacím koeficientu vodné a plynné fáze, typu polutantu, druhu rostliny, velikosti a na typu povrchu listů a také na obsahu lipidů v epidermu listů (Schnoor, 2002).

Již v polovině 70. let byla ve Švédsku vyhodnocována schopnost různých druhů městské zeleně absorbovat polyaromatické uhlovodíky z výfukových plynů. Jako nejúčinnější se ukázal kaštan, jírovec maďal (Lars Bjoerk, osobní sdělení), který má však v současnosti velmi sníženou aktivitu vzhledem k požeru listů klíněnkou korovcovou. V Japonsku je nyní intenzivně studována schopnost rostlin zneškodňovat oxidy dusíku.

Rostliny a jejich schopnost akumulovat těžké kovy

Všechny rostliny jsou schopné akumulovat z půdy nebo z vody ty těžké kovy, které jsou esenciální pro jejich růst a vývoj. Mnoho anorganických látek, považovaných za kontaminanty prostředí jsou fakticky důležitou živinou, která je absorbována kořenovým systémem. Mezi tyto kovy patří železo, mangan, zinek, měď, hořčík, molybden a pravděpodobně i nikl. Některé rostliny však dokáží akumulovat i takové těžké kovy, u nichž není prokázána žádná biologická funkce (Gril et al., 1989, Salt et al., 1995, Raskin, 2000, Sandermann, 2004, Tlustos et al., 1997). Do této skupiny lze zařadit kadmium, chrom, olovo, kobalt, stříbro, selen a rtuť.

U většiny rostlin se schopnost akumulace těchto kovů pohybuje v rozmezí hodnot 0,1-100 mg/kg sušiny. Vyšší schopnost akumulovat těžké kovy byla zaznamenána jen u některých rostlin, tzv hyperakumulátorů (Baker et al., 1994, Macek et al., 2002, Prasat et al., 2003). Tyto rostliny jsou z taxonomického hlediska v rostlinné říši značně rozšířeny. Příklady některých rostlin, u nichž byla zjištěná schopnost hyperakumulovat těžké kovy z půdy uvádí tab. II (Macek et al., 2002, 2004).

Kromě druhů uvedených v tabulce II patří mezi hyperakumulující rostlinné druhy, které rostou a jsou schopné akumulovat těžké kovy z vody - vodní hyacint (*Eichhornia crassipes*), *Hydrocotyle umbellata*, okřehek (*Lemna minor*) a *Azolla pinnata*. U těchto druhů byla zjištěna zvýšená schopnost akumulovat olovo, měď, kadmium, železo a rtuť.

Nevýhodou hyperakumulujících rostlin, která v řadě případů téměř vylučuje jejich použití při fytoremediaci, je malá schopnost růstu a tvorby biomasy (např. *Thlaspi rotundifolium* akumulující 8 200 mg Pb/kg sušiny má velmi nízký přírůstek 50 mg sušiny za pět měsíců). Další nevýhodou hyperakumulujících rostlin je pak specifická schopnost akumulace pouze určitého prvku (Banuelos and Terry, 2002). Přes tyto nevýhody, hyperakumulující rostliny představují zásobárnu významných genetických a fyziologických vlastností. Přenos, rozšíření těchto vlastností, zvýšení schopnosti translokace a toleranční kapacity u rostlin s lepšími agronomickými vlastnostmi než mají samotné hyperakumulující rostliny (Glass, 1999, Kaerenlampi, 2000) může znamenat řešení pro použití a zvýšení účinnosti fytoremediace v místech kontaminovanými těžkými kovy.

Tabulka II: Příklady rostlinných hyperakumulátorů těžkých kovů

Těžký kov	Rostlinný druh	Koncentrace kovu po sklizni (mg/kg sušiny)
kadmium	<i>Thlaspi caerulescens</i>	1 800 ve výhoncích
meď	<i>Ipomoea alpina</i>	12 300 ve výhoncích
kobalt	<i>Haumaniastrum robertii</i>	10 200 ve výhoncích
olovo	<i>Thlaspi rotundifolium</i>	8 200 ve výhoncích
mangan	<i>Macadamia neurophylla</i>	51 800 ve výhoncích
nikl	<i>Psychotria douarrei</i>	47 500 ve výhoncích
	<i>Sebertia acuminata</i>	25% hm. sušiny dřeva
zinek	<i>Thlaspi caerulescens</i>	51 600 ve výhoncích

Vliv biologické dostupnosti na příjem a akumulaci těžkých kovů

Akumulace kovů pomocí rostlin může být ovlivněna nejen schopnostmi dané rostliny, charakterem kontaminující látky, ale též její koncentrací a formou, ve které se v daném prostředí vyskytuje. Kovy se např. v půdě vyskytují v různých fyzikálně-chemických formách. Velice často se jedná o takové formy, které jsou pro rostliny méně dostupné (Macek et al., 2000, Salt and Kraemer, 2000, Schnoor 2002).

Formy výskytu kovů v přírodě jsou:

- 1) volné ionty kovů a rozpustné půdní komplexy
- 2) ionty kovů specificky adsorbované na anorganické složky půdy
- 3) organicky vázané kovy
- 4) sraženiny nebo nerozpustné sloučeniny (oxidy, uhličitany, hydroxidy)
- 5) křemičité minerály

Z výše uvedeného přehledu vyplývá, že pro fytořemediaci je forma výskytu kritickým hlediskem (Schnoor 2002, Prasad and Freitas, 2003). Rostlinné kořeny dobře absorbují kovy, jestliže jsou dostupné pouze v rozpustné formě. Dostupnost a akumulaci lze zvýšit v případě mnoha kovů snížením pH půdy, přidáním chelatačních činidel (EDTA, ethylendiamintetraoctová kyselina) (Romkens et al., 2002), použitím vhodných hnojiv, nebo změnou iontového složení půdy. Přidání chelatačních činidel způsobuje tvorbu komplexů, které brání precipitaci a sorpci kovů na složky půdy, a tím se zvyšuje biologická dostupnost

těžkých kovů pro kořeny. Snížení pH vede k uvolnění kovů do půdního roztoku, a tedy opět ke zvýšení biologické dostupnosti. Je dále známo, že akumulace některých minerálních látek (Fe, Mn) rostlinnými kořeny je stimulována i přítomností mikroorganismů v rhizosféře. Bylo např. zjištěno, že přítomnost bakterií rodů *Pseudomonas* a *Bacillus* usnadňovala akumulaci kadmia.

V principu při odstraňování anorganických látek se uplatňují následující procesy (McCutcheon, Schnoor, 2003):

- a) fytoextrakce - kdy rostliny dekontaminují prostředí tím, že transportují a koncentrují kovy z půdy do těch částí, které lze později sklídit (části kořenů, výhonky). Procesy spojené s fytoextrakcí jsou uvedené na obr. 1
- b) "rhizofiltrace" - představuje procesy kdy rostlinné kořeny absorbují těžké kovy, dochází k precipitaci a zakoncentrování
- c) fytostabilizace - kdy rostliny tolerující vyšší koncentrace těžkých kovů jsou používány pro snižování jejich mobility, čímž se snižuje riziko další kontaminace např. spodní vody
- d) hydraulická kontrola
- e) fytovolatilizace

Fytoextrakce

Optimální rostlinou pro uplatnění fytořemediace na principu fytoextrakce je takový druh, který nejen toleruje a akumuluje vysoké koncentrace kovů v částech, které lze sklídit, ale současně i rychle roste a produkuje vyšší množství biomasy (Griga et al., 2003). Jak bylo však výše uvedeno hyperakumulující rostliny rostou naopak velmi pomalu, což znamená jejich omezený význam při použití fytoextrakce jako fytořemediační techniky. Bylo prokázáno, že nejlepší doposud identifikovaný hyperakumulátor těžkých kovů, rostlina *Thlaspi caerulescens* (*Brassicaceae*) by potřeboval při optimálních podmínkách a běžně se vyskytujících koncentracích zinku třináct až čtrnáct let k dekontaminaci znečištěného místa. Aby fytoextrakce mohla být považována za účinný způsob dekontaminace bylo by nutné, aby rostlina poskytovala výnos nejméně 3tuny sušiny z hektaru ročně a ve sklíditelné části akumulovala přes 1000 mg kovu na 1 kg sušiny.

Obecně platí, že biodostupnými kovy pro příjem v rostlinách je Ni, Cd, Zn, As, Se a Cu. Méně dostupnými jsou Co, Mn, Fe, zatímco Pb, Cr a U nejsou dostupné bez přídavku komplexačních činidel. Pro olovo je to přídavek EDTA, pro chrom a uran je to chemická oxidace (Schnoor, 2002).

Rhizofiltrace

Rhizofiltrace představuje sorpci kořenů, koncentraci precipitaci kovů (Duschenkov, 1995). Ideální rostlinou pro tento způsob fytořemediace je druh s rychle rostoucím kořenovým systémem, který v průběhu určité doby odstraňuje toxické kovy z roztoku, např. z kontaminovaných odpadních vod. Takové schopnosti byly zjištěny např. i u kulturních zemědělských plodin jako je rýže, kukuřice nebo slunečnice. Většinou se však rhizofiltrace uplatňuje u mokřadů (constructed wetlands), které jsou cíleně konstruovány pro dekontaminaci odpadních a kontaminovaných vod.

Mechanismus odstraňování kovů rostlinnými kořeny nemusí být pro různé kovy nezbytně stejný. V případě olova je sorpce kořeny pravděpodobně nejrychlejší součástí procesu odstraňování kovu. Sorpce na povrch je kombinací fyzikálně-chemických reakcí jako je chelatace, výměna iontů a specifická adsorpce. Sorpce nevyžaduje biologickou aktivitu, tzn. může být pozorována i u mrtvých kořenových buněk. Naopak biologické procesy představují pomalejší způsob odstraňování z roztoku. Ty zahrnují intracelulární akumulaci, ukládání do vakuol nebo translokaci do výhonků. Transport do výhonků však způsobuje snížení účinnosti "rhizofiltrace", tím že vzniká větší množství kontaminované rostlinné biomasy. Je nutné podotknout, že schopnost translokace do výhonků rostlin je, na rozdíl od schopnosti akumulace v kořenech, vlastností velice různorodou. Nejpomalejším způsobem odstraňování těžkých kovů je kořeny zprostředkovaná precipitace. Například u olova tento proces představuje vznik nerozpustného fosforečnanu olovnatého. Buněčná stěna kořenů pak akumuluje vysoké koncentrace nerozpustného uhličitanu olovnatého, vzniklého z oxidu uhličitého, který se uvolňuje při dýchání. "Rhizofiltrace" představuje účinný proces při nízkých koncentracích kontaminantů a velkých objemech vody, je vhodná pro anorganické i organické polutanty.

Fytostabilizace

Plochy znečištěné těžkými kovy obvykle vzhledem k toxicitě kovů postrádají celoplošný pokryv nějakou vegetací. Tyto plochy jsou pak mnohem náchylnější k erozi a vyplavování, které způsobují rozšiřování kontaminace. Řešením situace je cílené pěstování tolerantních druhů rostlin na těchto plochách. Bylo zjištěno, že kromě výše uvedených procesů mohou rostliny omezit vyplavování, a tedy rozšiřování kontaminace, i přeměnou rozpustné formy kovu na nerozpustnou (redukce toxické formy Cr(VI) na méně toxickou formu Cr(III) (Schnoor, 2002).

Rostlinné druhy, které se dají dobře využít pro fytostabilizaci jsou schopné snášet vysoké koncentrace těžkých kovů, tyto kovy "imobilisují" díky funkci kořenového systému, kde dochází k akumulaci, precipitaci nebo redukci těžkých kovů.

Fytostabilizace je postup, který lze využít při zajištění a přípravě kontaminované oblasti před dekontaminací nebo při regulaci průtoku kontaminované podzemní vody půdním sedimentem a při jejím zadržování v problémové oblasti. To je možno ovlivnit např. vysázením některých rychle rostoucích dřevin, jejichž kořenový systém odsává značné množství vody. Vodítkem mohou být chemické analýzy vzorků zeminy či podzemních vod, které umožňují odhadnout rychlost a směr migrace kontaminantu.

Fytovolatilizace anorganických látek byla zaznamenána u těkavých kovů a metaloidů. Rtuť může být přijímána rostlinami jako kationt Hg^+ , Hg^{2+} a může být v geneticky modifikovaných rostlinách redukována na Hg^0 . Ta se snadno vypařuje (Heaton, 2002). Obdobně selen se vyskytuje v půdě a vodě v oxidované formě jako SeO_4 (Rugh et al., 1998, Schnoor 2002, McCutcheon and Schnoor, 2003). Transportní bílkovina sulfátpermeasa umožňuje příjem tohoto metaloidu. Kromě toho může být redukován na dimethyldiselenid a může se povrchem listů vypařit.

Způsoby uplatnění fytořemediace je možné rozdělit též podle kontaminovaného materiálu. Půda, sedimenty, tuhý odpad mohou být dekontaminovány: fytoextrakcí, fytostabilizací, rhizodegradací, fytodegradací, fytovolatilizací, použitím pokrývky rostlinami. Naopak při dekontaminaci vody se používá fytodegradace, fytovolatilizace, rhizofiltrace, hydraulická regulace, pokrývky rostlinným porostem.

Většina termínů byla vysvětlena v předchozí části kromě hydraulické kontroly, výhod využití pokrývky rostlinným porostem (Schnoor, 2002) a využití mokřadů (Young, 2002). Hydraulická regulace představuje využití rostlin s hlubokými kořeny, které mohou nasávat vodu, tu vypařují do atmosféry, a tím udržují půdu sušší a zabraňují migraci kontaminantů do spodní vody a dokonce tvoří hydraulickou bariéru. Rostliny mohou tvořit vertikální i horizontální bariéru. V případě potřeby čistit spodní vodu, lze použít tzv. „pump and treat“ systém, přičemž je čerpadly odsávaná kontaminovaná spodní voda použita k závlaze dekontaminující rostlinné kultury. Tabulka III shrnuje uplatnění některých principů a metod v praxi.

Tabulka III: Aplikace fytořemediace (Schnoor, 2002)

Metoda	popis	kontaminant	rostlina
Půda			
Fytotransformace	Sorpce, příjem, přeměna	organické látky, nitroaromáty, chlorované alif. a aromat. látky	stromy a trávy
rhizosferní biodegradace	mikrobiální biodegradace v rhizosféře	PAH, ropné uhlovodíky, TNT, pesticidy	trávy, vojtěška, stromy
Fytostabilizace	stabilizace na složky půdy, zabránění prosakování	kovy, organické látky	různé druhy s hlubokými kořeny
Fytoextrakce	Příjem kontaminantů z půdy do sklíditelných částí	kovy, radionuklidy	Hyperakumulátory (<i>Thalaspia</i> , <i>Alysum</i> , <i>Brassica</i>)
Voda, spodní voda			
Rhizofiltrace	Sorpce do nebo na kořenech	kovy, radionuklidy, hydrofobní látky	vodní rostliny, <i>Brassica</i> , slunečnice
Hydraulická regulace	Odstranění velkých objemů pomocí stromů	anorg. látky, chlorovaná rozpouštědla	topol, vrba
Fytovolatilizace	Příjem a volatilizace, konverze Se a Hg na těkavou formu	Těkavé organické látky, Se, Hg	stromy, trávy, <i>Brassica</i>
Pokrývka porostem	Zabránění prosakování	organické, anorganické látky	stromy, topol, trávy

Rostliny se běžně užívají také jako uzávěry skládek (landfill caps), což je další alternativa využití schopností rostlin. Využívány jsou především různé druhy travního porostu. Pod trávou je vrstva půdy, dále nepropustná geomembrána a vrstva málo vodivého materiálu. Tráva zabraňuje erozi půdy, a tím, že zvýší evapotranspiraci z povrchu kontaminované plochy, zabraňuje vlhkostí pronikat ke kontaminovaným vrstvám skládky a pomáhá ji udržovat suchou, aby nedocházelo k průsakům přebytečné vody do spodních vod a zdrojů pitné vody. Také přispívá k ochraně před kyslíkem, brání kontaminujícím látkám, aby mohly přijít do kontaktu s atmosférou.

Vegetační kryty (vegetative caps) představují zcela odlišný systém, kdy kořeny rostlinného porostu prorůstají půdní vrstvou až ke kontaminaci. Systémy bez jílového uzávěru a bez geotextilií umožňují průnik většího množství kyslíku a vody do kontaminované vrstvy. Výhodou je podpora biodegradace. Kromě toho je rostlinný porost výhodný i z hlediska rychlejší stabilizace znečištění a snížení produkce plynu. Výhodou je bezesporu i estetické hledisko.

Transgenní rostliny

Zejména při akumulaci těžkých kovů, ale i odstraňování organických sloučenin je hlavním limitujícím faktorem použití rostlin dlouhá doba potřebná k dekontaminaci. Z tohoto důvodu je v současnosti uplatňována snaha, šlechtěním či genovými manipulacemi získat rostliny upravené na míru požadavkům fytoremediace (Rugh et al., 1998, Newman et al., 1998., Borovka et al., 1998, French et al., 1999, Macek et al., 2002, Sura et al., 2003, Francova et al., 2003, Morikawa et al., 2003, Macek et al., 2004). V nedávné době se již objevily v odborné literatuře zmínky o možnosti zvýšení exprese existujících genů, nebo vnesení bakteriálních nebo savčích genů do rostlin. Expese těchto genů by zajistila zvýšení účinnosti přirozených metabolických drah a schopností rostlin. Zatím použití geneticky modifikovaných rostlin pro tento účel nebylo realizováno v praxi v širším měřítku, přesto je to však pouze otázka času, kdy dojde i k rozsáhlejším polním pokusům.

V tabulce III jsou uvedeny příklady transgenů a transgenních rostlin, které byly dosud připraveny pro zvýšení akumulace, rezistence a transportu některých anorganických polutantů. V tabulce IV jsou pak dokumentovány příklady transgenních rostlin se zvýšenou schopností transformace organických polutantů.

Transgen	Produkt	Zdroj	Transgenní rostlina	Účel/efekt	Kultivační médium
<i>mer A</i>	Hg (II) reduktasa	G ⁻ bakterie	<i>Liriodendrom tulipifera</i> <i>Nicotiana tabacum</i>	zvýšená akumulace Hg + vypařování	agar, půda
<i>mer A</i> <i>mer B</i>	Hg (II) reduktasa lyasa	G ⁻ bakterie	<i>Arabidopsis thaliana</i>	zvýšená tolerance Hg + vypařování	agar roztok
<i>APS1</i>	ATP sulfurylase	<i>A. thaliana</i>	<i>Brassica juncea</i>	dvojnásobná akumulace Se	hydroponie
<i>MT-I</i>	MT ^a	myš	<i>N. tabacum</i>	20-ti násobná rezistence Cd	agar
<i>CUP1</i>	MT ^a	<i>S. cerevisiae</i>	<i>B. oleracea</i>	16-ti násobná rezistence Cd	hydroponie
<i>HisCUP1</i>	polyHis-MT ^a	<i>S. cerevisiae</i>	<i>N. tabacum</i>	akumulace Cd 190%	agar, půda
<i>gsh2</i>	GSH-synthasa	<i>E. coli</i>	<i>B. juncea</i>	akumulace Cd 125%	hydroponie
<i>gsh 1</i>	γ-Glu-Cys synthasa	<i>E. coli</i>	<i>B. juncea</i>	akumulace Cd 190%	hydroponie
<i>NtCBP4</i>	kanal pro M ^{+b}	<i>N. tabacum</i>	<i>N. tabacum</i>	tolerance Ni, akumulace Pb 200%	hydroponie
<i>ZAT1</i>	transport Zn	<i>A. thaliana</i>	<i>A. thaliana</i>	zvýšení tolerance Zn	hydroponie
<i>ACC</i>	ACC ^c deaminasa	bakterie	<i>Lycopersicon esculentum</i>	zvýšená rezistence, akumulace Cd, Co, Cu, Ni, Pb, Zn	půda
<i>FRO2</i>	reduktasa železitého chelátu	<i>A. thaliana</i> <i>S. cerevisiae</i>	<i>A. thaliana</i> <i>N. tabacum</i>	redukce Fe(III) na Fe (II) na povrchu kořenů	hydroponie

^aMT = metalothionein, ^bM⁺ = kation, ^cACC = aminocyklopropan-karboxylová kyselina

Tabulka IV: Příklady transgenních rostlin se zvýšenou akumulací, resistencí nebo zvýšeným transportem těžkých kovů, (převzato a upraveno dle Krämer a Chardonnens, 2001, Francova et al., 2001, Macek et al., 2004)

Transgen	Produkt	Zdroj	Transgenní rostlina	Účel/efekt	Kultivační médium
<i>PETNred</i> ³¹	pentaerythritol tetranitrát reduktasa	<i>Enterobacter cloacae</i> PB2	<i>N. tabacum</i>	odbourávání výbušnin, schopnost růstu na některých výbušninách	agar
<i>cyp2E1</i> ³⁰	dehalogenasa cytP450 2E1	savčí	<i>N. tabacum</i>	640-ti násobná oxidace TCE, debrominace EDB	hydroponie
<i>bph C</i> ³³	dihydroxybifenyldioxygenasa	<i>Comamonas testosteroni</i>	<i>N. tabacum</i>	odbourávání hydroxyderivátů PCB zvýšení rezistence	agar

Tabulka V: Příklady transgenních rostlin se zvýšenou schopností transformovat organické polutanty, (převzato a upraveno dle Krämer a Chardonnens, 2001, Francova et al., 2001, Macek et al., 2004)

Výhody a nevýhody využití rostlin pro fytoremediace

Aplikace rostlin v kontaminovaných oblastech má řadu výhod:

- dochází až k mineralizaci organických sloučenin
- je vhodná pro různé typy kontaminantů
- nízké náklady
- energii je získávána ze slunečního záření
- minimálně poškozuje okolí
- estetický přínos
- je dobře přijímána veřejností

Fytoremediační postupy jsou zpravidla mnohem levnější než jiné postupy (viz Tab. VI).

Tabulka VI: Náklady remediačních postupů (v případě fytoremediace se jedná o travní porost)

Použitá metoda	Náklady \$/t
Fytoremediace	10-35
In situ bioremediace	50-150
Venting	20-220
Thermální desorpce	120-300
Vymývání půdy	80-200
Solidifikace, stabilizace	240-340
Extrakce rozpouštědly	360-440
Incineration	200-1500

Nevýhody fytoremediace:

- je pomalejší než běžné fyzikálně-chemické metody
- je možné negativní ovlivnění průběhu dekontaminace změnou životních podmínek (kyslík, voda, živiny)
- je možný vliv dalších faktorů, např. struktury půdního profilu, pH, koncentrace solí a polutantů, přítomnost dalších toxinů
- u biologických metod nedochází ke 100 % odstranění polutantů

Webové stránky s informacemi o fytořemediaci

Tabulka VII: Dostupné zdroje na internetu týkající se problematiky fytořemediace

GWR TAC	Organization/Office Website Address
EPA Technology Innovation Office, Citizen's Guide to Phytoremediation (CLUIN)	www.clu-in.org
Ground-Water Remediation Technologies, Analysis Center (GWR TAC)	www.gwrtac.org
Hazardous Substances Research Center, Kansas State University (HSRC)	www.engg.ksu.edu/HSRC/phytozem/home.html
Interstate Technology and Regulatory Cooperation Work Group (ITRC)	www.itrcweb.org
Phytonet, University of Parma, Italy, PHYTONET)	www.dsa.unipr.it/phytonet/
Remediation Technologies Development Forum, EPA Technology Innovation Office (RTDF)	www.rtdf.org

Literatura

Baker AJM, McGrath SP, Sidoli CMD, Reeves RD. The possibility of *in situ* heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal accumulating plants. *Resour Conserv Recyc* 1994; 11: 41–49.

Banuelos GS, Lin ZQ, Terry N. Phytoremediation of selenium-contaminated soils and waters: Fundamentals and future prospects. *Rev Environ Health* 2002; 17: 291–306.

Batkhuugyin E, Rydlova J, Vosatka M. Effectiveness of indigenous and non-indigenous isolates of arbuscular mycorrhizal fungi in soils from degraded ecosystems and man-made habitats. *Appl Soil Ecol* 2000; 427: 1–11.

Bertin B, Yang X. and Weston L.A.: The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant and Soil* 256, 67-73, 2003

Borovka R, Szekeres M, Macek T, Kotrba P, Sylvestre M, Macková M. First steps in attempt to enhance the ability of plants to metabolise polychlorinated biphenyls by introduction of bacterial genes to plant DNA. *Int Biodeterior Biodegrad* 1998; 42: 243.

Boyajian GE, Carreira LH. Phytoremediation: A clean transition from laboratory to marketplace? *Nat Biotechnol* 1997; 15: 127–128.

Burken JG, Schnoor JL. Predictive relationships for uptake of organic contaminants by hybrid poplar trees. *Environ Sci Technol* 1998; 31: 1399–1406.

Cunningham SD, Berti WR, Huang JW. Phytoremediation of contaminated soils. *TIBTECH* 1995; 13: 393–397.

Cunningham SD, Ow DW. Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiol* 1996; 110: 715–719.

Davidenko T. I. , O. V. Oseychuk, Sevastyanov O. V., I. I. Romanovskaya Peroxidase Oxidation of Phenols. *Appl. Microbiol. Biotechniko.* 40, 542-546, 2004

Dixon PD, Cummins J, Cole DJ, Edwards R. Glutathione-mediated detoxification systems in plants. *Curr Opin Plant Biol* 1998; 1: 258–266.

Donnelly PK, Hedge RS, Fletcher JS. Growth of PCB-degrading bacteria on compounds from photo-synthetic plants. *Chemosphere* 1994; 28: 984–988.

Donnelly PK, Fletcher JS. Potential use of mycorrhizal fungi as bioremediation agents. In: Anderson TA, Coats JR, eds, *Bioremediation Through Rhizosphere Technology*, ACS Symposium Series No. 563, American Chemical Society, 1994; 93–99.

Dushenkov V, PBA Nanda Kumar, H Motto, I Raskin. Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environmental Science and Technology* 29:1239-1245 (1995).

Ellis D.R. *et al.*, Production of Se-methylselenocysteine in transgenic plants expressing selenocysteine methyltransferase, *BMC Plant Biol.* 4 2004, p. 1.

Flathman PE, Lanza GR, Glass DJ. Phytoremediation Issue. *Soil Groundwater Cleanup* 1999; 2: 4–11.

Francova K, Mackova M, Macek T, Sylvestre M. Ability of bacterial biphenyl dioxygenases from *Burkholderia sp.* LB400 and *Comamonas testosteroni* B-356 to catalyse oxygenation of ortho-hydroxy-biphenyls formed from PCBs by plants. *Environ Pollut* 2004; 127/1: 41–48.

Francova K, Sura M, Macek T, Szekeres M, Bancos S, Demnerova K, et al. Generation of plants carrying bacterial enzyme for degradation of polychlorinated biphenyls. *Fresenius Environ Bull* 2003; 12: 309–313.

French CE, Rosser SJ, Davies GJ, Nicklin S, Bruce N. Biodegradation of explosives by transgenic plants expressing pentaerythritol tetranitrate reductase. *Nat Biotechnol* 1999; 17: 491–494.

G.F. Garifullina *et al.*, Expression of a mouse selenocysteine lyase in *Brassica juncea* chloroplasts affects selenium tolerance and accumulation, *Physiol. Plant.* 118 (2003), pp. 538–544.

Glass DJ. Current market trends in phytoremediation. *Int J Phytorem* 1999; 1: 1–8.

Griga M., Bjelkova M. and Tejklova E. (2003) Phytoextraction of heavy metals by fibre crops: *Linum usitatissimum* L. case study. In: Kalogerakis N. and Psillakis E. (eds.) *Proc. 2nd Eur Bioremediation Conf.* Chania, Crete, TU Crete, pp 353-356.

Grill E, Löffler S, Winnacker EL, Zenk MH. Phytochelatins, the heavy-metal-binding peptides of plants, are synthesised from glutathione by a specific γ -glutamylcysteine dipeptidyl transpeptidase (phytochelatin synthase). *Proc Nat Acad Sci USA* 1989; 84: 6838–6846.

Heaton ACP, Rugh CL, Wang NJ, Meagher RB. Phytoremediation of Hg-polluted soils by genetically engineered plants. *J Soil Cont* 1998; 7: 497–509.

Huang, X.-D., Glick, B.R., Greenberg, M.B., 2001. Combining remediation technologies increases kinetics for removal of persistent organic contaminants from soil. In: Greenberg, B.M., Ruth, N.H., Roberts, H.M., Gensemer, W.R. (Eds.), *Environmental Toxicology and Risk Assessment*. Vol. 10: ASTM, pp. 271–278.

Chromá L, Macková M, Demnerová K, Macek T. Decolorization of RBBR by plant cells and correlation with the transformation of PCBs. *Chemosphere* 2002; 49: 739–748

Jones RL. ASPP recommends hazardous waste remediation technologies to DOE. *ASPP Newsletter* 1994; 21: 12–13.

Jordahl JL, L Foster, JL Schnoor, and PJJ Alvarez. Effect of hybrid poplar trees on microbial populations important to hazardous waste bioremediation. *Environ. Toxicol. and Chem.* 16:1318-1321 (1997).

Koller, G., Moder, M., Czihal, K. 2000. Peroxidative degradation of selected PCBs: a mechanistic study. *Chemosphere* 41, 1827-1834.

Koncz C, Martini N, Szabados L, Hroudá M, Bachmair A, Schell, J. Specialized vectors for gene tagging and expression studies. In: *Plant Molecular Biology Manual*. Belgium, Kluwer Academic Publishers, 1994; 1–22.

Kraemer U, Chardonens AN. The use of transgenic plants in the bioremediation of soils contaminated with trace elements. *Appl Microbiol Biotechnol* 2001; 55: 661–672.

Kucerova P, Mackova M, Macek T. Metabolism of PCB by plant cells and analysis of the products. *Crit Rev Anal Chem* 1999; 29: 94.

Kučerová P., Macková M., Macek T.: Perspektivy fytořemediace při odstraňování

organických polutantů a xenobiotik z životního prostředí. Chem. Listy 93, 19-26, (1999)

Lamoureux GL, Frear DS. Pesticide metabolism in higher plants: In vitro enzyme studies. In: Paulson GD, Frear DS, Marks EP, eds, *Xenobiotic Metabolism. Methods*, American Chemical Society Symposium Series. Vol. 97, ACS, Washington DC, USA: 1979; 72–128.

Langebartels C, Harms H. Metabolism of pentachlorophenol in cell suspension cultures of soybean and wheat: Pentachlorophenol glucoside formation. *Z Pflanzenphysiol* 1984; 113: 201–211.

Lee, I. and Fletcher, J.S. 1992. Involvement of mixed function oxidase systems in PCB metabolism by plant cells. *Plant Cell Reports*, 11, 97-100.

Leigh MB, Fletcher J, Nagle D, Kucerová P, Macková M, Macek T. Rhizosphere remediation of PCBs based on field studies in the Czech Republic. In: Macek T, Macková M, Jenc P, Demnerová K, eds, *Book of Abstracts, 12th International Biodeterioration and Biodegradation Symposium*, Prague, Czech Republic: 2002; 170.

Leigh MB, Fletcher JS, Fu X, Schmitz FJ. Root turnover: an important source of microbial substrates in rhizosphere remediation of recalcitrant contaminants. *Environ Sci Technol* 2002; 36: 1579–1583.

Macek T, Macková M, Burkhard J, Demnerová K. Introduction of green plants for the control of metals and organics in remediation. In: Holm, ed, *Effluents from Alternative Demilitarization Technologies*. NATO PS Ser. 1, Vol. 12, Dordrecht, Germany: Kluwer Academic Publishers 1998; 71–85.

Macek T, Macková M, Kucerová P, Burkhard J, Kotrba P, Demnerová K. Phytoremediation—its possible application in chemical weapons demilitarisation. In: Chillcott, ed, *Proc Int Cong Chemical Weapons Demilitarisation, CWD99 Wien, Austria: DERA UK, 1999: 863–912.*

Macek T, Macková M, Kucerová P, Chromá L, Burkhard J, Demnerová K. Phytoremediation. In: Agathos SN, Reineke W, eds, *Biotechnology for the Environment: Soil Remediation*, Brussels, Belgium: Kluwer Academic Publishers 2002; 115–137.

Macek T, Macková M, Pavliková D, Száková J, Truksa M, Singh Cundy A, et al.. Accumulation of cadmium by transgenic tobacco. *Acta Biotechnol* 2002; 22, 101–106.

Macek T., Pavliková D. and Macková M. (2004) Phytoremediation of Metals and Inorganic Pollutants. In: *Soil Biology, Vol. 1, Applied Bioremediation and Phytoremediation*, (A. Singh and O.P. Ward, eds.), Springer Verlag Berlin, Heidelberg, pp. 135-157.

Macková M, Chromá L, Kučerová P, Burkhard J, Demnerová K, Macek T. Some aspects of PCBs metabolism by horseradish cells. *Int J Phytorem* 2001; 4: 401–414.

McCutcheon SC, Schnoor JL. *Phytoremediation. Transformation and Control of Contaminants*, John Wiley & Sons, Inc. Publication Hoboken, New Jersey, 2003.

Morikawa H, Takahashi M, Hakata M, et al. Screening and genetic manipulation of plants for decontamination of pollutants from the environments. *Biotechnology Adv.* 22 : 9-15, 2003

Narasimhan K., Basheer Ch, Bajic V.B., and Swarup S.: Enhancement of Plant-Microbe Interactions Using a Rhizosphere Metabolomics-Driven Approach and Its Application in the Removal of Polychlorinated Biphenyls. *Plant Physiol.* 132, 146-153, 2003

Newman LA, Doty SL, Gery KL, Heilman PE, Muiznieks I, Shang TQ, et al. Phytoremediation research at the University of Washington. *J Soil Cont* 1998; 7: 531–542.

Newman LA, Doty SL, Gery KL, Heilman PE, Muiznieks I, Shang TQ, et al. Phytoremediation research at the University of Washington. *J Soil Cont* 1998; 7: 531–542.

Olson PE, Fletcher JS. Natural attenuation/phyto-remediation in the vadose zone of a former industrial sludge basin. *Environ Sci Pollut Res* 2000; 7: 195–204.

P. Kučerová, M. Macková a T. Macek: Perspektivy fyto-remediace při odstraňování organických polutantů a xenobiotik z životního prostředí. *Chem. Listy* 93, 19-26, (1999)

P. Kučerová, M. Macková, L. Poláčková, J. Burkhard, K. Demnerová, J. Pazlarová and T. Macek: Correlation of PCB transformation by plant tissue cultures with their morphology and peroxidase activity changes. *Coll. Czech Chem. Commun.* 64 (9), 1497-1509, (1999)

P. Romkens, L. Bouwman, J. Japenga, C. Draaisma: Potentials and drawbacks of chelate-enhanced phytoremediation of soils. *Env. Pollution* 116, 109-121, 2002

Pletsch M, Santos de Araujo B, Charlwood BV. Novel biotechnological approaches in environmental remediation research. *Biotechnol Adv* 1999; 17: 679–687.

Prasad M.N.V. and Freitas H.M. O: Metal hyperaccumulation in plants - Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic J. of Biology* 6, 2003

Raskin I, BD Ensley (Eds.) *Phytoremediation of toxic metals – using plants to clean up the environment.* New York: Wiley, (2000).

Rugh CL, Senecoff JF, Meagher RB, Merkle SA. Development of transgenic yellow poplar for mercury phytoremediation. *Nat Biotechnol* 1998; 16: 925–928.

Rugh CL, Senecoff JF, Meagher RB, Merkle SA. Development of transgenic yellow poplar for mercury phytoremediation. *Nat Biotechnol* 1998; 16: 925–928.

Ryslava E, Krejčík Z, Macek T, Novakova H, Mackova M. Study of PCB biodegradation in real contaminated soil. *Fresenius Environ Bull* 2003; 12: 296–301.

S. Kaerenlampi, H. Schat, J. Vangronsveld, J.A.C. Verkleij, D. van der Lelie, M. Mergeay, A.I. Tervahauta Genetic engineering in the improvement of plants for phytoremediation of metal polluted soils. *Env. Pollut.* 107, 225-231, 2000

Salt DE and U Krämer. Mechanism of metal hyperaccumulation in plants. In *Phytoremediation of Toxic Metals*, I Raskin and B Ensley (Eds.). John Wiley & Sons, New York, pp. 231-246 (2000).

Sandermann H.: *Molecular Ecotoxicology of Plants.* Springer Heidelberg, Berlin. 2004.

Sandermann, H. 1994. Higher plant metabolism of xenobiotics: the “green liver” concept. *Pharmacogenetics* 4, 225-241.

Schnoor JL. *Phytoremediation of Soil and Ground-water.* GWRT Series, E-Series: TE-02-01, 2002; 1–45.

Singer A.C., Thomson I.P., Bailey M.J.: The tritrophic trinity: a source of pollutant-degrading enzymes and its implications for phytoremediation. *Curr. Opinion Microbiol.* 7, 239-244, 2004

Singh et al., Unravelling rhizosphere–microbial interactions: opportunities and limitations. Trends in Mikrobiology 12, 389-393, (2004)

Singh O.V. and Jain R.K.: Phytoremediation of toxic aromatic pollutants from soil. Appl. Microbiol. Biotechnol. 25, 325-332, 2003

Stiborová M, Anzenbacher P. What are the principal enzymes oxidizing the xenobiotics in plants: cytochromes P450 or peroxidases? (A hypothesis). Gen Physiol Biophys 1991; 10: 209–216.

Sura M, Francova K, Macek T, Szekeres M, Bancos S, Mackova M. Approaches to increase PCB degradative properties of plants by introduction of bacterial genes. In: Dick RP, ed, Enzymes in the Environment, Activity Ecology and Applications, Prague, Czech Republic: Praha, ICARIS Ltd, 2003; 25.

Tlustos P, Balík J, Pavlíková D, Száková J. The uptake of cadmium, zinc, arsenic and lead by chosen crops. Rost Vyr 1997; 43: 487–494.

Trapp S, McFarlane JC, eds, Plant Contamination: Modelling and Simulation of Organic Chemical Processes. Boca Raton, Florida, USA: Lewis Publishers, 1994.

Vose JM, GJ Harvey, KJ Elliot, BD Clinton. Measuring and modeling tree stand level transpiration. In: *Phytoremediation- Degradation and Control of Contaminants*, SC McCutcheon and JL Schnoor (eds.). Wiley Interscience, New York, in press (2002).

Zechendorf B. Sustainable development: how can biotechnology contribute? TIBTECH 1999; 17: 219–225.