



# VĚDECKÝ VÝBOR FYTOSANITÁRNÍ A ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

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

## Název dokumentu:

### MECHANISMUS PŘÍJMU RIZIKOVÝCH PRVKŮ ROSTLINAMI A JEJICH HROMADĚNÍ V BIOMASE

## Poznámka:

Vypracoval: Prof. Ing. Pavel Tlustoš, CSc., Doc. Ing. Daniela Pavlíková, CSc., Prof. Ing. Jiří Balík, CSc.  
Česká zemědělská univerzita v Praze

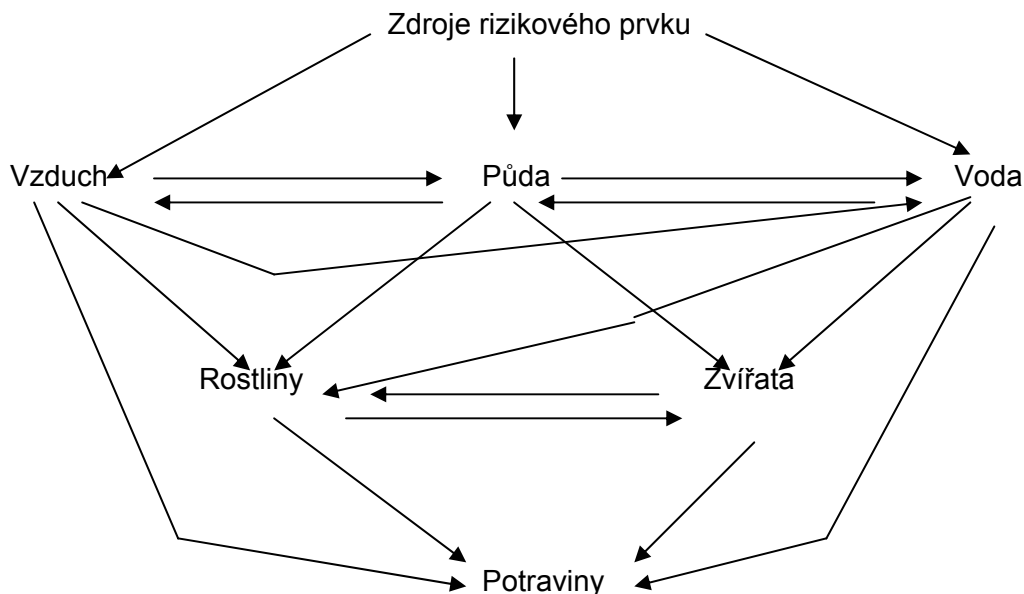
**Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 PRAHA 6 - Ruzyně**  
Tel.: +420 233 022 324 , fax.: +420 233 311 591, URL: <http://www.phytopsanitary.org>

1	Úvod .....	3
1.1	Zdroje kadmia a zinku v životním prostředí .....	4
2	Příjem kadmia a zinku rostlinou.....	6
2.1	Příjem kořeny .....	6
2.2	Vliv Cd a Zn na složení plazmatických membrán .....	7
2.3	Faktory ovlivňující příjem kadmia a zinku z půdy .....	8
2.4	Mimokořenový příjem .....	10
3	Kadmium v rostlině .....	12
3.1	Distribuce v rostlině .....	12
3.2	Toxické působení .....	13
4	Zinek v rostlině .....	16
4.1	Biochemická funkce zinku .....	16
4.2	Vizuální příznaky nedostatku zinku .....	18
4.3	Toxické působení zinku .....	19
5	Reakce rostliny na stres vyvolaný rizikovými prvky.....	21
5.1	Transportní blokády .....	23
5.1.1	Imobilizace .....	23
5.1.2	Omezení vstupu přes plazmatickou membránu .....	23
5.2	Metalloproteiny .....	23
5.2.1	Metallothioneiny.....	23
5.2.1.1	Fytochelatiny .....	24
5.3	Tvorba komplexů .....	27
5.4	Stresové proteiny.....	28
6	Závěr .....	29
7	Literatura .....	30

## 1 Úvod

Mezi prvky pro životní prostředí nebezpečné zařazují Alloway (1990) a Adriano (2001) především tyto prvky: As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb a Zn. Jejich zvýšený obsah v zemědělských půdách znamená potenciální nebezpečí kontaminace zemědělské produkce. Cesta rizikových prvků od zdrojů do potravin je znázorněna na obr. 1.

Obr. 1 Cesta rizikových prvků od zdrojů do potravin (Adriano, 2001)



Zinek patří k esenciálním prvkům, jehož určitá koncentrace je nezbytná pro člověka, zvířata i rostliny. Nedostatku zinku je přičítáno např. špatné hojení ran, malý vzrůst. Maximální denní dávka Zn pro člověka představuje 0,3-1,0 mg Zn na kg tělesné hmotnosti. Vysoký příjem zinku spojený s nízkým příjmem Cu vede k poruchám metabolismu cholesterolu. Toxické mohou být rozpustné soli zinku. Síran zinečnatý ve vyšších koncentracích leptá. Pro člověka je smrtelné jeho požití v dávce 3 – 5 g. Chlorid zinečnatý působí podobně, ale je toxičtější. Po akutní otravě může dojít až k zánětu ledvin a poškození srdečního svalu (Tichý, 2002).

Kadmium a jeho soli jsou pro člověka velmi nebezpečné. Ionty kadmia se především váží na volné sulfohydrylové skupiny enzymů, a tak ovlivňují reaktivitu enzymového metabolismu cukrů a inhibují sekreci insulinu. Otrava při tavení kadmia a jeho slitin je spojena s působením oxidu kademnatého (CdO), který vyvolává tzv. horečku slévačů. Nebezpečné jsou dobře rozpustné soli kadmia, dusičnan kademnatý (Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) a síran kademnatý (CdSO<sub>4</sub>). K akutním otravám dochází při požití potravin, které byly uchovány v konzervách, jejichž povrch byl upraven kadmiováním. Chronická expozice kadmia se může projevit stupňujícími se bolestmi v zádech a nohou (výskyt nemoci Itai-itai v Japonsku, způsobený kontaminací rýže sloučeninami kadmia). Hygienicko-epidemiologické

studie prokázaly zvýšený výskyt rakoviny prostaty lidí pracujících s kadmíem a jeho slitinami (Tichý, 2002).

### 1.1 Zdroje kadmia a zinku v životním prostředí

Nejdůležitějšími minerály obsahujícími zinek jsou sfalerit, magnetit, garnet, staurolit, amfibol, biotit (Adriano, 2001). Během tavby zinkové rudy dochází k emisím zinku do ovzduší, doprovázenými emisemi kadmia, arsenu, olova i jiných prvků. Významné znečištění půdy se objevuje v blízkém okolí zdrojů zinkových emisí. V průmyslu je zinek užíván při výrobě nekorozivních slitin, mosazi, oceli, při pozinkování železných plechů a drátů k ochraně proti korozi. Oxid zinečnatý je užíván v gumárenství a jako zinková běloba při výrobě barev.

Kadmium je kov chemicky příbuzný zinku. Vzhledem k této podobnosti se vyskytuje v rudách a v půdě společně se zinkem v poměru 1:100 až 1:1000. Je také získáváno jako vedlejší produkt při rafinaci zinku. Podle Adriana (2001) se při zpracování 1 t zinkové rudy uvolní kolem 3 kg Cd a jiných kovů, zejména olova a mědi. Pro svoji vlastnost chránit železo před korozi je používáno při výrobě plechů, především v automobilovém průmyslu. Je také přidáváno jako stabilizátor plastů a sulfid kademnatý je součástí barevných pigmentů přidávaných do plastů a barviv. Kadmium je využíváno jako součást elektrod v alkalických akumulátorech. Využití kadmia v průmyslu a spalování pohonných hmot a olejů vede ke kontaminaci životního prostředí tímto prvkem.

Zdrojem kontaminace životního prostředí je především atmosférická depozice. Rizikové prvky v atmosféře jsou původu přirozeného (např. ze sopečné činnosti, větrné eroze, lesních požárů) i antropogenního. Antropogenní spad zahrnuje emise elektráren, tepláren, metalurgie, chemického průmyslu, dopravy i zemědělství. Ross (1994) uvádí, že se atmosférický spad nejvíce podílí na celkových depozicích Hg (28,6 %) a Cd (22,1 %).

Monitoring atmosférické depozice, prováděný ÚKZÚZ Brno v souvislé řadě od roku 1993 v rámci celé ČR, potvrzuje postupný pokles depozice rizikových prvků. Nejvyšší pokles byl stanoven u niklu, chrómu i arsenu. Relativně nejméně poklesla depozice kadmia (Tlustoš et al., 1998). Vzhledem k toxicitě tohoto prvku jsou jeho emise stálým nebezpečím pro kontaminaci životního prostředí.

Dalším zdrojem rizikových prvků se stává zemědělská činnost. Použití minerálních a organických hnojiv, čistírenských kalů, závlah i aplikace některých pesticidů zvyšuje obsah těchto prvků v životním prostředí.

Hlavním zdrojem rizikových prvků z minerálních hnojiv jsou superfosfáty. Obsahují především kadmium, ale i chróm a arsen. Rozhodující pro obsah těchto prvků je použitá surovina, např. apatity obsahují kolem 0,15 ppm Cd, zatímco fosfority zejména z afrických nalezišť kolem 50 ppm Cd (Beneš, 1994). Také Raven a Loeppert (1997) poukázali na možné nebezpečí znečištění půd plynoucím z aplikace vysokých dávek fosforečných hnojiv. Jak ukázalo zjištění Pavlíčka et al. (1998), také organická hnojiva mohou být zdrojem těchto prvků v půdě.

V ČR se v posledních letech zvyšují množství kalů z čistíren odpadních vod aplikovaných na zemědělskou půdu. Kaly obsahují vysoký podíl organických látek a

některých živin, zejména N a P, ale i rizikové prvky a organické polutanty. Balík et al. (1998a, 1998b) a Tlustoš et al. (1997, 2000, 2001) popsali tendenci plodin ke zvýšenému obsahu kadmia a zinku po aplikaci kalů. Autoři neuvádějí jednoznačné zvýšení obsahu obou prvků, rozhodující vliv měla testovaná zemina. Podobné závěry publikovali i Dvořák et al. (2003), kteří sledovali vliv aplikace čistírenských kalů na kumulaci zinku v plodinách pěstovaných v dlouhodobých pokusech na pěti stanovištích. Podle jejich výsledků po aplikaci čistírenského kalu akumulovaly brambory (především nadzemní biomasa), pšenice a ječmen více Zn v porovnání s kontrolou. Naopak v biomase kukuřice byl zaznamenán pokles Zn.

Řada sledovaných rizikových prvků se v předchozích letech dostala do půdy jako součást některých pesticidů především na bázi mědi (fungicidy) a arsenu. Jejich intenzivní aplikací došlo k nárůstu obsahů uvedených prvků zejména v půdách vinic a sadů (Tiller, 1989).

## 2 Příjem kadmia a zinku rostlinou

### 2.1 Příjem kořeny

Pohyb rizikových prvků ke kořenům se děje difúzí a hmotovým půdním tokem. V bezprostřední blízkosti kořenů dochází po reakci rizikových prvků s organickými kyselinami vylučovanými rostlinou k tvorbě chelátů, zvyšuje se difúzní gradient a urychluje příjem prvku. Transport prvku z vnějšího roztoku buněčnou stěnou je proces pasivní, kdy jsou ionty transportovány difúzí (Cibulka et al., 1991; Procházka et al., 1998).

Rizikové prvky pronikají do kořenů rostlin přes epidermis a přes kortex apoplastem nebo symplastem do xylemu. Část z nich je poutána nemetabolickou fixací na záporné náboje buněčných stěn, nebo prochází buněčnou stěnou a je dále transportována do buněk, část je přímo transportována apoplastem. O transportu prvku či jeho vazbě rozhoduje interakce rostlinného genotypu a samotného prvku.

Primární buněčné stěny jsou tvořeny celulózou, hemicelulózou, pektiny a glykoproteiny. Pektiny v buněčných stěnách obsahují kyselinu polygalakturonovou, jejíž karboxylové skupiny se záporným nábojem ( $\text{COO}^-$ ) poutají kationty. V závislosti na hustotě záporných nábojů v buněčné stěně jsou ionty ireverzibilně nemetabolickou fixací poutány nebo výměnnou sorpcí pronikají dále a reagují se záporně nabitými zbytky střední lamely buněčné stěny. Střední lamely jsou složeny převážně z pektinových látek.

Ionty, které proniknou buněčnou stěnou, se soustředí v prostředí plazmatické membrány - plazmalemy. Zvýšený koncentrační gradient vede k transportu iontů přes plazmalemu do buňky. Permeabilita buněčné stěny je výrazně vyšší než permeabilita plazmalemy. Část iontů je transportována přímo apoplastem přes plazmalemu do cytoplasmy (Procházka et al., 1998).

V cytoplasmě kovy tvoří komplexy s rozpustnými sloučeninami, jako jsou organické kyseliny citrátového cyklu (kyselina jablečná, citronová, sukcinová), fenylypropanového metabolismu (kyselina kumarová, ferulová, skořicová aj.), z nichž mnohé jsou známé jako prekursorů stresových metabolitů fytoalexinů, případně volných aminokyselin, a polypeptidy bohaté na síru (především fytochelatiny), nebo se vážou na buněčné struktury. Např. kadmium je známo nejen jako abiotický indikátor – elicitor fytoalexinové reakce, ale také jako prvek, který ovlivňuje metabolismus prolinu (Boussama et al., 1999, Gouia et al., 2003). Rozpustné sloučeniny mohou také fungovat jako přenašeče kovů při jejich transportu přes tonoplast do vakuoly. Vakuoly slouží k imobilizaci různých xenobiotik, jako jsou toxiny přírodních látek apod. Výsledky Harmense et al. (1994) ukazují, že malát zinečnatý je transportován do vakuoly, kde se zinek po uvolnění váže na kyselinu šťavelovou. Volný ionofor (kyselina jablečná) je transportován zpět. Podobná zjištění byla zaznamenána u kadmia a mědi ve spojení s fytochelatinem (Steffens, 1990). Komplex Cd – fytochelatin vstupuje do vakuoly, kde se kadmium uvolní a fytochelatin se vrací zpět do cytoplasmy. Cd se následně ve vakuole váže na organickou kyselinu za tvorby Cd solí  $((\text{R-COO})_2\text{Cd})$ . Hall a Williams (2003) se zabývali otázkou přenašečů kovů v rostlinách a uvádějí, že je poměrně málo známo o molekulárním mechanismu přenosu kovů přes buněčnou membránu. S použitím genetických a molekulárních postupů byly identifikovány v rostlinách některé

přenašeče. Z nich pro přenos Cd a Zn jsou významné ATPasy pro přenos těžkých kovů (P typy) (v rodu *Arabidopsis* jich bylo identifikováno osm), Nramps (natural resistance associated macrophage proteins), ABC transportéry (ATP-binding cassette), CDF (cation diffusion facilitator) (Gen pro CDF transportér byl identifikován v Zn hyperakumulátoru *Thlaspi caerulescens* J. et C. Presl.), ZIP (ZRT (zinc-regulated transporter), IRT-like proteins (IRT – iron-regulated transporter)). Cerana et al. (1995) popisují existenci kanálů v tonoplastu, které jsou otevřené pro vtok malátu a v menší míře i sukcinátu, fumarátu a oxalacetátu.

Rozdíly v koncentraci organických kyselin ovlivňují toleranci rostlin k jednotlivým rizikovým prvkům. Vyšší koncentrace kyseliny jablečné koreluje s tolerancí k zinku, nikoliv však k mědi či niklu. Nebyla zjištěna závislost mezi obsahem kyseliny citronové a šťavelové a tolerancí vůči zinku (Rauser, 1999). Oproti tomuto tvrzení existují práce uvádějící vysokou korelaci mezi rezistencí rostliny k rizikovým prvkům a obsahem kyseliny šťavelové (McKenna et al., 1992).

## 2.2 Vliv Cd a Zn na složení plazmatických membrán

Plazmalema tvoří vysoce selektivní bariéru mezi vnitrobuněčným obsahem a okolním prostředím. Částečně omezuje průnik rizikových prvků (Prasad a Hagemeyer, 1999). Přibližně polovinu hmotnosti plazmatické membrány tvoří lipidy - převážně fosfolipidy (65 %), glykolipidy (20 %) a steroly (5 %). Vysoká koncentrace kovových iontů mění celkový obsah lipidů v membráně, jejich složení i stupeň nasycení. Vliv koncentrace Cd na redukci délky nenasyčeného řetězce fosfatidylcholinového mastného acylu plazmatické membrány a stupně jeho nasycení pozorovali Ros et al. (1992). Snížení obsahu sitosterolů vlivem stejného prvku stanovili např. Hernandez a Cook (1997). Také Jemal et al. (2000) zjistili změny ve složení lipidů v rostlinách pepřovníku. V listech došlo při zvýšeném obsahu Cd ke snížení množství monogalaktosyldiacylglycerolu a ke zvýšené kumulaci fosfolipidů (fosfatidylcholinu, fosfatidylethanolaminu a fosfatidylglycerolu). V kořenech byl obsah fosfatidylcholinu a galaktolipidů snížen.

Změny ve složení lipidů biomembrány způsobené kovovými ionty mohou ovlivnit strukturu a funkci membrány. Základní komponentou všech biomembrán jsou molekuly lipidů (fosfolipidy a steroly) a bílkovin, v menší míře sacharidů. Např. zvýšení poměru mezi steroly a fosfolipidy vede ke snížení aktivity enzymu ATPasy. Snížená aktivita ATPasy v přítomnosti kovů může také způsobit změny v aktivaci energie enzymů vázaných na membráně (Ros et al., 1992) a změnu permeability membrány. Také Geuns et al. (1997) sledovali vliv stupňované koncentrace Cd (0 – 100  $\mu$ M) v hydroponickém roztoku na obsah sterolů v rostlině a zjistili, že zvýšená koncentrace tohoto prvku vedla k poklesu celkového obsahu sterolů, a to především vlivem poklesu obsahu 28-isofukosterolu a  $\beta$ -sitosterolu. Mohamed et al. (2000) pozorovali vliv deficitu Zn na složení sterolů fazolu.

Vlivem deficitu tohoto prvku došlo ke zvýšení obsahu kampesterolu, ale současně ke snížení obsahu stigmasterolu a  $\beta$ -sitosterolu. Dále změny složení lipidů mohou také ovlivnit aktivitu integrálních proteinů membrány (proteiny zabudované do dvojité vrstvy lipidů), snížit buněčnou kapacitu potřebnou k udržení iontové rovnováhy na obou stranách membrány

(Lindberg a Griffiths, 1993). Zinek v nízké koncentraci působí jako ochrana SH- skupin v membránových proteinech, naopak nadbytek Zn snižuje množství SH- skupin v plazmatické membráně kořenových buněk. Rengel (1995) zjistil důležitost SH- skupin na změny aktivity ATPasy.

Kromě změn ve složení mastných kyselin v membránách, dochází také ke zvýšení peroxidace lipidů membrán působením aktivními formami kyslíku. Nejvíce náchylné jsou membránové lipidy s vysokým obsahem nenasycených mastných kyselin. Mezi kovy zvyšující peroxidaci lipidů patří i kadmium (Ros et al., 1992; Singh a Tewari, 2003) a zinek (Weckx a Clijsters, 1997).

### 2.3 Faktory ovlivňující příjem kadmia a zinku z půdy

Podíl příjmu rizikových prvků z půdy je ovlivněn jejím znečištěním, jejími fyzikálními a chemickými vlastnostmi, druhem pěstované rostliny a specifickými vlastnostmi jednotlivých prvků.

Rozhodující pro příjem prvků rostlinami je jejich koncentrace v půdním roztoku. Půdní roztok je složen z několika forem jednotlivých prvků, především z volných disociovaných kationtů, anorganických a organických komplexů. Holm et al. (1995) sledovali speciaci Cd a Zn v půdním roztoku a zjistili, že stanovený obsah jednotlivých forem těchto prvků je závislý na použitém vyluhovacím činidlo a vzdálenosti od povrchu kořenů.

Uvolňování prvků do půdního roztoku může být ovlivněno celkovým obsahem prvků v půdě, jejich formami, ale i dalšími faktory, jako jsou půdní druh, kationtová výměnná kapacita (KVK), půdní reakce, obsah organické hmoty, redox potenciál půdy a též působení ostatních iontů (Adriano, 2001).

Hodnota KVK závisí na množství a druhu jílových minerálů, obsahu a kvalitě organické hmoty a oxidů Fe, Al, Mn. Řada autorů zjistila těsnou negativní korelaci mezi akumulací Cd a Zn rostlinami a hodnotou KVK testovaných zemin (Bjerre a Schierup, 1985; Sanders et al., 1986). Také Tlustoš et al. (2000) prokázali vliv KVK půdy na příjem rizikových prvků po aplikaci čistírenských kalů. King (1988) naopak nezjistil vliv KVK u devíti půd na příjem Cd tabákem, ale konstatoval že rozhodující podíl Cd byl sorbován na oxidy železa.

Transformovaná organická hmota má vyšší sorpční schopnost v porovnání s jílovými minerály. Organické látky se podílejí jak na procesech vedoucích ke snížení koncentrace prvků v roztoku nespecifickou či specifickou sorpcí, tak i na tvorbě rozpustných chelátů, které naopak chrání prvky před adsorpcí nebo vysrážením. Podle Koláře (1988) organická hmota nemá obecně pozitivní vztah na omezení příjmu rizikových prvků rostlinami, ale závisí na její kvalitě. Jedná se především o poměr fulvokyselin k huminovým kyselinám. Fulvokyseliny mají značnou schopnost tvorby vodorozpustných stabilních chelátů, a tím mohou mobilizovat rizikové prvky v půdě. Huminové kyseliny mají značnou kapacitu vázat kovy. Jejich molekulová hmotnost a uspořádání ukazují na jejich menší pohyblivost a tvorbu nerozpustných komplexů s těžkými kovy především v kyselém prostředí. Tyto komplexy pak mohou být důležitou frakcí, imobilizující pohyb kovů v půdě. Clemente et al. (2003) sledovali vliv hnoje a kompostu na přijatelnost rizikových prvků a zjistili, že po aplikaci organických hnojiv docházelo ke zvýšené fixaci prvků do frakcí, odkud jsou obtížně přijatelné pro rostlinu.



Podle Váchy et al. (2002) však zapravení vyšších dávek hnoje a především zeleného hnojení zvyšuje mobilitu rizikových prvků v půdním prostředí. Podobně také aplikace rašeliny vedla k růstu transferu rizikových prvků do rostlin.

Půdní reakce je jedním z faktorů, které rozhodujícím způsobem ovlivňují přijatelnost Cd a Zn pro rostliny. Podobně jako KVK i růst pH působí na kumulaci kationtů v rostlinných pletivech (Eriksson, 1990, Blake a Goulding, 2002). Sanders et al. (1986) zjistili, že koncentrace Zn v jílku pěstovaném na hlinitojílovité půdě byla přibližně třikrát vyšší při pH 5,8 než při pH 7,2. King (1988) neprokázal jednoznačný vliv vápnění na kumulaci Cd v rostlinách tabáku především na půdách s vysokým počátečním pH nebo s vysokým obsahem organické hmoty. Podle některých autorů (Jansson et al., 1999, Smolders et al., 1999) po vápnění soutěží kationty  $\text{Ca}^{2+}$  v půdním roztoku s dvojmocnými kationty rizikových prvků (především  $\text{Cd}^{2+}$ ) o volná vazebná místa na půdních částicích. Podle Smolders et al. (1999) vápnění zvýšilo příjem Cd kořeny rostlin. Zvýšení bylo způsobeno růstem kapacity příjmu Cd způsobeným změnou koncentrace  $\text{Zn}^{2+}$  a  $\text{H}^+$  v půdním roztoku při rostoucím pH.

Změna oxidačně redukčních podmínek, související s nasycením půdních pórů vodou, ovlivňuje i přijatelnost rizikových prvků. Podle Charlatchka a Cambier (2000) redukční podmínky vedly nejprve ke snížení pH a k rozpuštění Fe a Mn oxidů, a tím ke zvýšené přijatelnosti Cd a Zn. Při dlouhodobém zatopení došlo k opětovné fixaci rizikových prvků, spíše však resorpcí nebo precipitací než tvorbou nerozpustných sulfidů. Alloway (1990) při pěstování zelí na glejové a písčité půdě zjistil, že na těžké půdě obsahovalo zelí více Cd než na půdě písčité. Toto zjištění vysvětlil malou sorpcí Cd způsobenou nízkým obsahem Fe a Mn oxidů v glejích vzniklých za redukčních podmínek.

Přijatelnost rizikových prvků může být ovlivněna dalšími ionty v půdním roztoku. Dvojmocné ionty  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Zn}^{2+}$  nebo jednomocný  $\text{H}^+$  přítomné v půdním roztoku mohou lépe obsazovat sorpční místa než  $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Cd}^{2+}$  tak vytěsnit do půdního roztoku. Dvojmocné ionty mohou omezit sorpci Cd na jílové minerály (Adriano, 2001).

Fosforečnany mohou ovlivnit příjem Cd a Zn tvorbou stabilních komplexů zejména při vyšším pH. Bolan a Duraisamy (2003) zjistili omezený příjem rizikových prvků po aplikaci fosforečnanů, především Zn, nebo po vápnění. Hettiarachchi a Pierzynski (1999) sledovali vliv aplikace superfosfátu, přírodních fosfátových minerálů a kyseliny fosforečné na omezení přístupnosti Pb, Cd a Zn pro rostliny. Významné omezení přístupnosti bylo zjištěno pouze u Pb v závislosti na testované zemině.

Také další anionty mohou ovlivňovat příjem rizikových prvků rostlinami. Podle McLaughlin et al. (1994) se po závlahách obsah Cd zvyšoval v hlízách brambor s růstem koncentrace  $\text{Cl}^-$  iontů v půdním roztoku. Důvodem zvýšeného obsahu Cd bylo to, že tvorba chlorokomplexů zvyšuje difuzi Cd z půdy do kořenů nebo dochází k přímému příjmu  $\text{CdCl}_2$ . Také Backstrom et al. (2004) popsali zvýšení koncentrace Cd a Zn v půdním roztoku po aplikaci NaCl použitého v zimě k ošetření vozovek. Zvýšenou koncentrací obou prvků způsobila iontová výměna a také tvorba chlorokomplexů. Podobně uvádějí vliv draselných hnojiv na přijatelnost Cd Zhao et al. (2004). Jejich výsledky potvrdily významně zvýšený příjem Cd jarní pšenice nejen po aplikaci KCl ale i  $\text{K}_2\text{SO}_4$ . chloridy a sírany vytvořily komplexy

s  $\text{Cd}^{2+}$ , a tím zvýšily jeho přijatelnost pro rostliny. Byl potvrzen i vliv samotného iontu  $\text{K}^+$  na zvýšení příjmu Cd.

Vzájemný vztah Cd a Zn byl studován řadou autorů, jejichž výsledky si často odporují. Je uváděn antagonistický i synergický vztah mezi těmito prvky. McKenna et al. (1993) sledovali vzájemný vztah Cd a Zn při jejich akumulaci a distribuci rostlinami špenátu a salátu a zjistili, že na místech kontaminovaných oběma prvky nebyla zjištěna vzájemná konkurence v jejich příjmu rostlinami. Při nízké koncentraci Cd v půdním roztoku byl zjištěn významný antagonistický vliv Zn na jeho příjem špenátem i salátem. Poměr Zn : Cd v mladých rostlinách se zvýšil při růstu koncentrace Zn v půdním roztoku a současně rostla i koncentrace Zn v rostlinách na stanovišti s vysokou koncentrací Cd. McLaughlin et al. (1995) uvedli, že aplikace Zn hnojiv omezila příjem Cd pšenicí a bramborami. Podle jejich zjištění bylo omezení příjmu Cd silnější na půdách s nedostatkem Zn. Na půdách s dostatečnou zásobou Zn, nebyl obsah Cd v rostlinách ovlivněn. Mimokořenová aplikace Zn neměla na příjem Cd vliv. Hart et al. (2002) sledovali vzájemný vztah Cd a Zn na klíčících rostlinách pšenice a zjistili, že po přidavku Cd dojde k poklesu příjmu Zn a naopak zvýšený příjem Zn inhibuje příjem Cd. Při pěstování jarní pšenice a kukuřice v polních podmínkách prokázali Nan et al. (2002) synergický vztah mezi těmito ionty.

Kromě vzájemných vztahů mezi Cd a Zn byly popsány jejich interakce s dalšími ionty, především vztah P - Zn. Jak již bylo uvedeno výše, aplikace fosforečnanů omezila příjem zinku rostlinou (Bolan a Duraisamy, 2003). To potvrdili také Zhu et al. (2002). Vysoké dávky fosforu brzdí akropetální pohyb zinku v rostlině. Příjem zinku potlačuje rovněž vyšší obsah Fe a Cu. Kadmium snižuje příjem Mn, Fe, Ca, Mg, N. Naopak přidané železo snížilo příjem Cd rostlinou až o 17 %, podobně působí také Ca a Se. Synergický vztah je také popisován mezi Cd a Pb. Olovo je přednostně adsorbováno na půdní částice, a proto je více Cd přítomno v půdním roztoku (Alloway, 1990; Adriano, 2001).

## 2.4 Mimokořenový příjem

Koncentrace rizikových prvků v rostlinách může být výrazně ovlivněna jejich příjmem z atmosféry. Podíl příjmu z atmosféry převládá u málo pohyblivých prvků prvků Pb a Hg, zatímco u Cd je zpravidla dominantní příjem z půdy. Dalenberg a van Driel (1990) zjistili v laboratorních podmínkách za použití izotopů, že u travních porostů, špenátu, mrkve a zrna pšenice bylo atmosférickou depozicí přijato 73 – 95 % Pb. Příjem Cd byl velmi nízký a projevil se pouze v zrna pšenice. Harrison a Chirgawi (1989) sestavili na základě svých experimentů pořadí podílu příjmu prvků rostlinou z atmosféry:  $\text{Pb} > \text{Cr} > \text{Ni} > \text{Zn} = \text{Cd}$ .

Přístupnost jednotlivých rizikových prvků z atmosféry je ovlivněna jejich rozpustností a přítomným nosičem. Lum et al. (1987) uvádějí odlišnou přístupnost prvků z celkových srážek. Nejvyšší přístupnost byla zjištěna u Cd 85 %, nižší u Pb 43 % a nejnižší u Zn 26 %. Pouze část prvku, který dopadne na rostlinu, je přijata, zbytek může být odstraněn např. smyvem nebo zachycen na povrchu. Pokud prvky ulpívají na povrchu rostlin, např. olovo, stačí ke snížení jejich koncentrace omytí (Kabata-Pendias a Pendias, 1986). Schlascha et al. (1987) zjistili, že v období provozu hutě bylo 90 % Pb odstraněno z povrchu rostlin omytím.

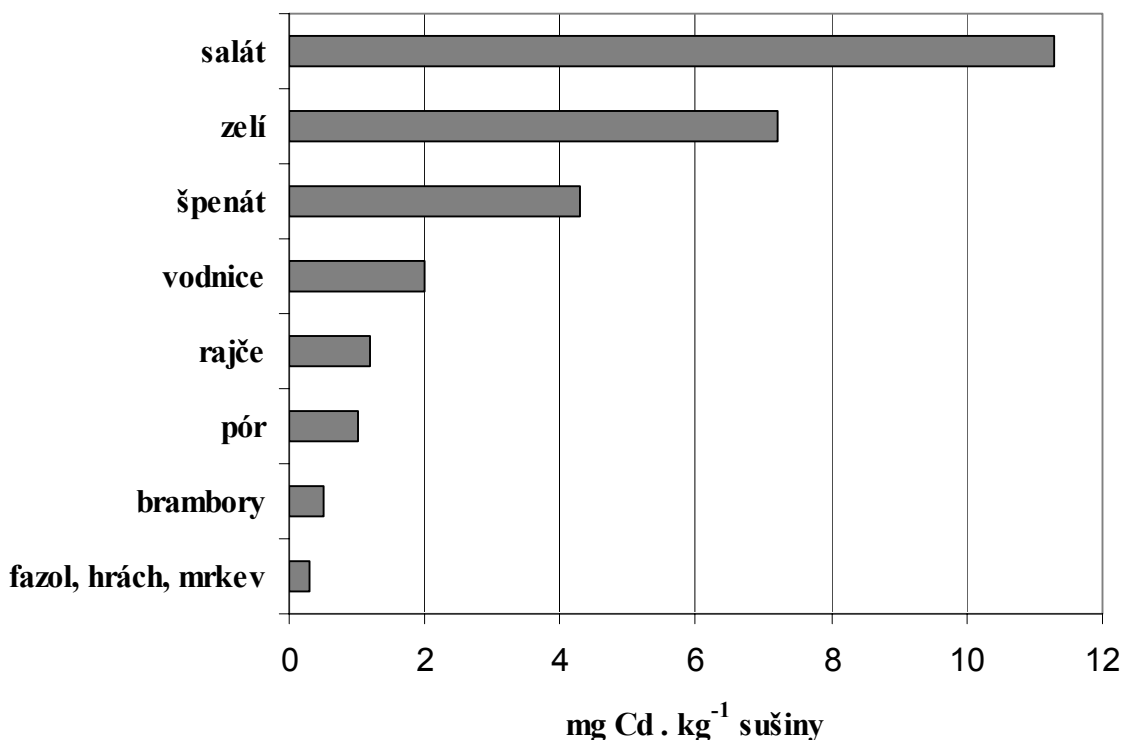
Vlastní příjem se skládá ze dvou fází, nemetabolické, při které dochází k proniknutí prvku kutikulou do mesofylu, a metabolické, působící proti koncentračnímu spádu a umožňující přechod prvku přes plazmalemu (Kabata-Pendias a Pendias, 1986). Intenzita absorpce rizikových prvků závisí především na druhu plodiny, tloušťce kutikuly, stáří listu, vlhkosti povrchu listů a konkrétním prvku (Marschner, 1995). Druhy rostlin se liší složením epikutikulárních a intracelulárních lipidů a mají tedy odlišnou propustnost. Kadmium, zinek a měď pronikají z povrchu listů do rostlinných pletiv lépe než olovo, které bývá adsorbováno do epikutikulárních lipidů na povrchu listů (Prasad a Hagemeyer, 1999). Také podmínky prostředí ovlivňují příjem těchto prvků listy. Nízké pH srážek snižuje foliární příjem Cd (Greger et al., 1993). Kyselý déšť ovlivňuje proces výměny kationtů tak, že  $H^+$  z tohoto deště uvolňují kationty z vazebných míst v kutikule. Také Ca snižuje příjem kadmia působením na procesy výměny kationtů. Samotný příjem rizikových prvků kořeny mění složení kutikuly – epikutikulární lipidy jsou kratší s větší polaritou. Výsledkem je vyšší propustnost kutikuly, a tím zvýšení příjmu Cd listy (Greger et al., 1993).

### 3 Kadmium v rostlině

#### 3.1 Distribuce v rostlině

Kadmium proniká do kořenů rostlin přes epidermis a přes kortex apoplastem (permeabilní buněčné stěny a vodivé svazky) nebo symplastem (protoplasty spojené plazmodezmami) do xylému, kde tvoří komplexy s ligandy (organické kyseliny a pravděpodobně fytochelatiny). Převážný podíl Cd zůstává v kořenech. Literární údaje se shodují na 60 – 80 % z celkového obsahu (Mench et al., 1989; Lubben a Sauerbech, 1991; Tlustoš, 1999). Dunbar et al. (2003) zkoumali distribuci kadmia v bramborách a stanovili koncentraci Cd takto: kořeny > nadzemní biomasa >> hlízy. Toto zjištění potvrzuje pohyb Cd xylémem, ale také jeho export floémem. U některých plodin, především u tabáku, jsou však uváděny nejvyšší obsahy v listech, a to až 80 % z přijatého množství (Mench et al., 1989; Macek et al., 2002).

Obr. 1 Obsah Cd v konzumních částech zelenin (Tiller, 1989)



Podle Tlustoše (1999) mrkev, špenát a ředkvička obsahovaly sice v kořenovém vlášení maximum Cd, ale ve vlastním kořenu či bulvě ředkvičky byla zjištěna pouze jedna třetina Cd v porovnání s nadzemní biomasou. Také Keefer et al. (1986) sledovali zastoupení kadmia v kořenech a listech ředkvičky a mrkve a potvrdili vyšší akumulaci tohoto prvku v nadzemní biomase. Tiller (1989) publikoval obsahy Cd v konzumním podílu některých zelenin pěstovaných na stejné půdě (obr. 1). Nejvyšší obsahy byly stanoveny v listových zeleninách (salát, špenát) a zelí, nejnižší v kořenech mrkve, v semenech fazolu a hrachu.

### 3.2 Toxické působení

Mezi nejčastěji uváděné symptomy toxického působení Cd patří hnědnutí kořenových vlásků a špiček kořenů rostlin, červenohnědé zbarvení žilnatiny, červenohnědé nekrózy na mladých listech a především redukce růstu (Adriano, 2001; Sanita di Toppi a Gabbrielli, 1999; Sappin-Didier et al., 1997) (obr. 2).

Obr. 2 Toxické působení Cd na listech čiroku cukrového a na rostlinách tabáku virginského



čirok cukrový



tabák virginský

Prasad a Hagemeyer (1999) uvádějí vyšší redukci hmotnosti nadzemní biomasy v porovnání s kořeny. Redukce růstu se projevuje potlačením rychlosti prodlužovacího růstu buněk, zvláště stonků, protože kadmium inhibuje činnost protonové pumpy odpovědné za tento děj (Aidid a Okamoto, 1993). Cd omezuje klíčivost semen inhibicí esteras a alkoholdehydrogenasy. Podle Adriana (2001) redukují výnos biomasy o 50 % následující koncentrace Cd v půdním roztoku - řepa, bob, tuřín 0.2 ppm; kukuřice, hlávkový salát 1.0 ppm; rajče, ječmen 5.0 ppm; zelí 9 ppm. Khan a Frankland (1983) konstatovali, že toxické působení Cd je spojeno s nedostatkem Zn v rostlině. Chlorózy na listech mohou být způsobeny inhibicí biosyntézy chlorofylu, fyziologickou deficiencí železa (při relativně vysokém obsahu v rostlinách) nebo kadmiiem indukovaným poklesem obsahu hořčíku (Larbi et al., 2002). Příčinou výskytu červenohnědých skvrn jsou pravděpodobně změny v metabolismu fenolických látek.

Krycí pletiva rostlin kontaminovaných kadmiiem se vyznačují redukovanou velikostí epidermálních buněk, zvýšeným výskytem trichomů na jednotku listové plochy, redukcí intercelulárních prostorů a trvalým uzavřením svěracích buněk průduchů. Dochází i k rozsáhlým ultrastrukturálním změnám v plastidech zejména obvodových vrstev kortexu stonků. Jedná se především o změny tvaru plastidů, dezintegraci vnitřního membránového prostoru a zvýšené zastoupení plastoglobulů (Barceló et al., 1988).

Toxické působení Cd se nejprve projeví v buňkách kořenů. Kadmium mění syntézu RNA a inhibuje aktivitu ribonukleasy (Shah a Dubey, 1995). Omezením aktivity

nitrátreduktasy se snižuje také příjem nitrátů a jejich transport z kořenů do nadzemní části rostliny. Nitráty se hromadí v kořenech (Hernandez et al., 1996). Podle Boussama et al. (1999) a Chiraz et al. (2003) kadmium významně snižuje obsah nitrátů v rostlině inhibicí aktivity enzymů nitrátreduktasy, nitritreduktasy, glutaminsyntetasy, ferredoxinglutaminsyntetasy a NADH-glutamátsyntetasy. Cd naopak zvyšuje aktivitu proteasy a způsobuje hromadění amonného N v pletivech rostlin. Tyto změny aktivit enzymů jsou doprovázeny snížením celkového obsahu aminokyselin a proteinů jak v nadzemní biomase, tak v kořenech. Podobně sledovali vliv Cd na aktivitu nitrátreduktasy Gouia et al. (2000, 2003) a uvádějí, že pod vlivem stresu se v rostlinách kumulovaly glutamát a následně prolin.

Významné je působení kadmia na DNA, které spočívá ve vzniku jedno anebo dvouřetězcových zlomů DNA, křížových vazeb DNA–protein nebo DNA–DNA a modifikací bází. Kadmium je kovalentně vázáno s N v poloze 7 místem adeninu, thyminu nebo guaninu a může uvnitř řetězce formovat bifunkční adukty adenin – thymin. Interakce  $Cd^{2+}$  s adeninem a adenosin-5-monofosfátem způsobuje posun v jejich rovnováze. Tento posun vede k trvalé změně a může způsobit chybné párování.  $Cd^{2+}$  se také váže na fosfáty v nukleotidech. Zvýšená koncentrace kademnatých solí působí poškození DNA kovalentní vazbou  $Cd^{2+}$  a DNA a kysele katalyzovanou hydrolýzou N-glykosidové vazby v DNA. Hydrolýza N-glykosidové vazby způsobuje její rozštěpení mezi bází a pentosovým cukrem a vznik volných bází. Štěpení je tím silnější, čím je větší atak protonů ( $H^+$ ) na purinové báze (Hossain a Huq, 2002).

Rizikové prvky, mezi nimi i Cd, působí na průběh fotosyntézy v rostlině. Kadmium inhibuje  $Fe^{III}$  reduktasu. Toto omezení vede k nedostatku  $Fe^{II}$  v rostlině, a tím i k ovlivnění fotosyntézy (Alcantara et al., 1994). Také Siedlecka a Krupa (1996, 1999) potvrzují vliv poměru Cd/Fe na fotosystém I a II a Calvinův cyklus. Ve fotosystému I kadmium inhibuje elektronový tok (Siedlecka a Baszynski, 1993). Inhibice probíhá mezi primárním elektronovým akceptorem X a  $NADP^+$ . Cd ovlivňuje syntézu ATP, dalšího produktu světelné fáze fotosyntézy, tím, že v buňce poutá určité množství dostupného fosforu. Fosfáty těžkých kovů jsou nerozpustné a mohou blokovat syntézu ATP a s ATP spojené metabolické cesty. Siedlecka et al. (1997) sledovali vliv Cd a Fe na primární uhlíkatý metabolismus ve fazolu. Zjistili, že zvýšená hladina Cd v rostlině vedla ke zvýšení obsahu ATP a poměru ATP/ADP jako důsledku snížené spotřeby ATP. Současně byla stanovena inhibice aktivity Rubisco karboxylasy (ribulosa-1,5-bisfosfátkarboxylasa). Zvýšený obsah Fe vedl k obnovení aktivity enzymů Calvinova cyklu. Pankovic et al. (2000) konstatovali snížení efektivnosti elektronového toku fotosystému II vlivem vyššího obsahu Cd, ale současně i nárůst obsahu Rubisco proteinu. Také Malik et al. (1992) potvrdili snížení aktivity fotosystému II vlivem Cd a pozorovali současně omezení výměny  $CO_2$ . Podle Weigla (1995 a,b) kadmium ovlivňuje fotosyntézu inhibicí různých reakčních kroků Calvinova cyklu a ne interakcí s fotosyntetickými reakcemi v thylakoidních membránách.

Další z příčin inhibice fotosyntézy může být uzavírání průduchů, které ale podle Sanita di Toppi a Gabrielli (1999) spíše souvisí se silnými interferenčními vlivy  $Cd^{2+}$ ,  $K^+$ ,

$\text{Ca}^{2+}$  a kyseliny abscisové v buňkách, než pouze se samotným vlivem kadmia, nebo vzrůstající odpor průduchů a listového mezofylu k příjmu  $\text{CO}_2$ .

Kadmium přímo ovlivňuje fotosyntetické reakce v důsledku změn a složení fotosyntetických pigmentů. Larsson et al. (1998) uvádějí snížení obsahu chlorofylu a karotenoidů v rostlinách řepky vlivem tohoto prvku. Obsah chlorofylu může být snížen v důsledku omezení jeho syntézy na úrovni fotoaktivního protochlorofylreduktasového komplexu a syntézy 5-aminolevulové kyseliny. Chloroplasty rostlin kontaminovaných kadmiiem mají redukováný objem a vyskytují se v menší hustotě na jednotku plochy než u rostlin nekontaminovaných. Jedním z uváděných symptomů poškození chloroplastů je degradace acylu lipidů v thylakoidních membránách (zejména fosfatidylcholinu a fosfatidylglycerolu spojených s fungováním fotosystému II a brzděním syntézy některých polypeptidů thylakoidních membrán). Důsledkem těchto poruch jsou změny molekulární struktury a fungování chlorofyl a/b proteinového komplexu II (Krupa, 1988; Krupa a Moniak, 1998). Barceló et al. (1988) dávali změny chloroplastů způsobené kadmiiem do souvislosti s vodním stresem – důsledkem kadmiiem indukovaného uzavření průduchů.

Kadmium ovlivňuje i dýchání rostlin. Kessler a Brand (1995) popsali Cd jako inhibitor oxidativní fosforylace v mitochondriích. Tento prvek podle autorů zvyšuje pasivní propustnost mitochondriální membrány pro  $\text{H}^+$ . Reese a Roberts (1985) se zabývali interferencí kadmia s respiračním metabolismem cukrů a konstatovali, že inhibice není pravděpodobně spojena ani s glykolysou ani s pentosovým cyklem (přeměna glukosy na pentosofosfáty), ale s působením Cd v Krebsově cyklu. Za primární místo působení je považován sukcinát-dehydrogenasový komplex.

Autoři, zabývající se problematikou Cd, se shodují na jeho výrazném vlivu, většinou se jedná o inhibici, aktivity enzymů (např. glukoso-6-fosfátdehydrogenasa, glutamát-dehydrogenasa, isocitrátdehydrogenasa) (Mattioni et al., 1997), Rubisco, karboanhydrasa (Siedlecka et al., 1997), pravděpodobně v důsledku interakce  $\text{Cd}^{2+}$  s  $-\text{SH}$  skupinami enzymů. V klíčních rostlinách kukuřice pěstovaných při koncentraci Cd do  $20 \mu\text{M} \cdot \text{l}^{-1}$  popsali Ju et al. (1997) značný nárůst polypeptidů fosfoenolpyruvátkarboxylasy, ale ne další syntézy polypeptidů glutamátdehydrogenasy ani glutamát-synthasy.

Vadnutí rostlin jako důsledek fyziologického působení kadmia bylo popsáno řadou autorů (např. Cibulka et al., 1991). Příčiny jsou spatřovány v inhibici transpirace spojené s uzavřením průduchů, případně v redukci podílu xylému schopného vedení vody ve stonku, redukováném průměru trachejí a ucpávání elementů xylému produkty degradace buněčných stěn. Kadmium způsobuje zvýšenou tvorbu krystalů, zvláště šřavelanu vápenatého v buňkách, tím snižuje koncentraci vápníku v xylému a omezuje jeho transport xylémem (Barceló et al., 1988; Barceló a Poschenrieder, 1990). Kadmium snižuje odolnost rostlin k vodnímu stresu. Z pokusů Barceló et al. (1986) vyplývá, že tento prvek snižuje elasticitu buněčných stěn v listech fazolu, a způsobuje tak ztrátu turgoru při vyšším vodním potenciálu a vyšším relativním obsahu vody v listech.

Kadmium také patří mezi rizikové prvky vyvolávající oxidační stres. Ionty kadmia mohou inhibovat nebo naopak stimulovat aktivitu některých antioxidačních enzymů. Gallego et al. (1996) zjistili v listech slunečnice nárůst peroxidace lipidů, zvýšení aktivity

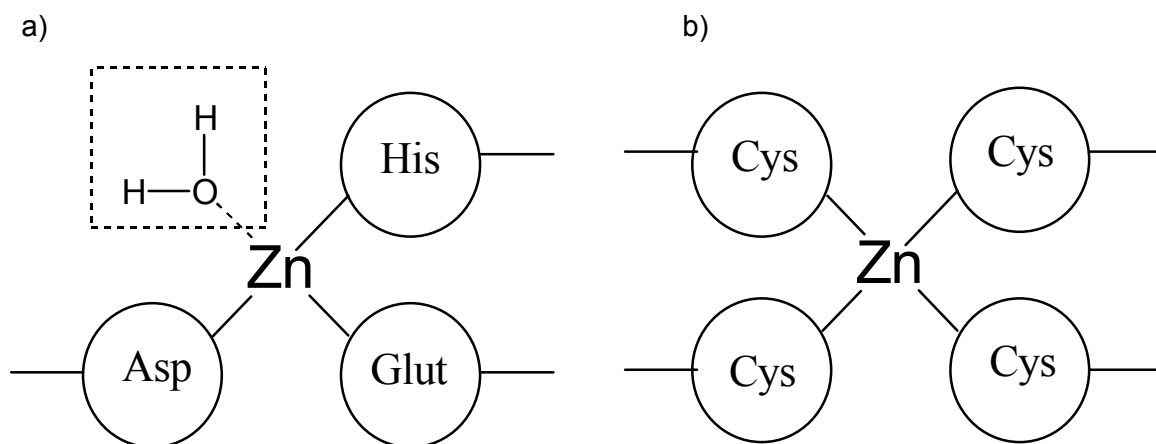
lipooxygenasy a snížení aktivity následujících antioxidačních enzymů – superoxidas-dismutasy, katalasy, askorbátperoxidasy, glutathionreduktasy a dehydroaskorbátreduktasy. Zvýšení peroxidace lipidů uvádějí i další autoři (Chaoui et al., 1997; Lozano-Rodríguez et al., 1997), zatímco Sanita di Toppi et al. (1998) v rostlinách mrkve tuto reakci nepotvrdili. Podobné zjištění publikovali i Zornoza et al. (2002) pro rostliny lupiny. Odlišná zjištění v předchozích dvou citacích lze vysvětlit rozdílnou koncentrací Cd v rostlině, která indukuje změnu koncentrace látek obsahujících thiolové skupiny, protože tyto skupiny mají antioxidační vlastnosti a mohou snižovat oxidační stres.

## 4 Zinek v rostlině

### 4.1 Biochemická funkce zinku

Zinek se, jako esenciální mikroelement, vyskytuje v rostlinách jako volný ion, nebo v komplexu s různými nízkomolekulárními sloučeninami, metalloproteiny a v nerozpustné formě zabudovaný do buněčných stěn. Během transportu xylemem je poután do organických kyselin nebo zůstává jako volný kationt. Ve floemu je koncentrace tohoto prvku značně vysoká a zinek vytváří komplexy s organickými nízkomolekulárními sloučeninami (Kochian, 1991). Inaktivace v buňce probíhá tvorbou komplexů s ligandy nebo kyselinou fosforečnou ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) vázanou např. na inository. V závislosti na druhu rostliny a její části je z celkového obsahu zinku 58 – 91 % rozpustných (Brown et al., 1993; Walker a Welch, 1987). Rozpustný podíl zinku je fyziologicky aktivní. Zinek tvoří komplexy s N, O a S-ligandy, a tím hraje katalytickou a strukturální úlohu v enzymatických reakcích (Vallee a Auld, 1990). V enzymech, v kterých má katalytickou úlohu (např. karbonátdehydrogenasa), je atom zinku vázán se čtyřmi ligandy (obr. 3a). Tři z nich jsou aminokyseliny – nejčastěji histidin (His), dále glutamin (Glu) a asparagin (Asp) – molekula vody je čtvrtým ligandem (obr. 3a). Při strukturální funkci (např. enzym alkoholdehydrogenasa) je atom zinku podle Colemana (1992) a Marschnera (1995) vázáný na síru po odstranění protonů ( $\text{H}^+$ ) ze čtyř  $\text{SH}^-$  skupin cysteinů (Cys) a vytváří vysoce stabilní strukturu (obr. 3 b). Většina enzymů obsahuje pouze jeden atom Zn v molekule, výjimkou je např. alkoholdehydrogenasa, karbonátdehydratasa.

Obr. 3 Vazba Zn s katalytickou funkcí





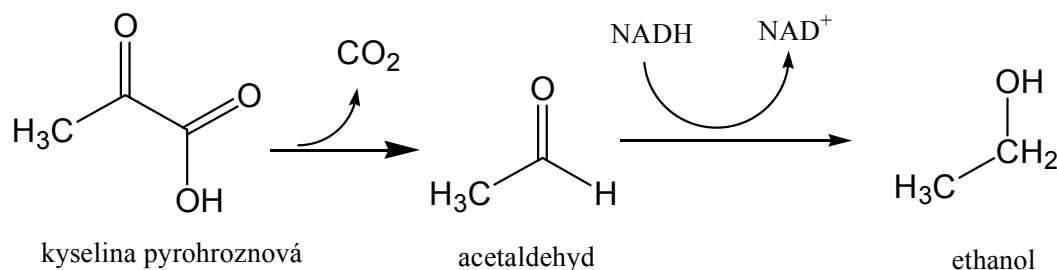
Mezi enzymy, v kterých má zinek katalytickou funkci, je klíčový enzym fotosyntézy - karbonátdehydratasa. Působením tohoto enzymu se zvyšuje dostupnost  $\text{CO}_2$  pro Rubisco a naopak i hydrogenuhličitanu pro PEPkarboxylasu. Karbonátdehydratasa katalyzuje následující reakci:  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$

Obsahuje šest atomů zinku v molekule. Vyskytuje se zejména ve stromatu chloroplastů a v plazmalemě, ale i v nefotosyntetických pletivech a u živočichů.

Zinek se při katalýze účastní takto:

- náboj kovových iontů způsobuje, že na ně vázané molekuly vody jsou kyselejší než volná  $\text{H}_2\text{O}$  a jsou tedy zdrojem iontů  $\text{OH}^-$  i při neutrálním pH,
- vzniklý anion  $\text{OH}^-$ , vázaný na  $\text{Zn}^{2+}$ , nukleofilně napadá sousední enzymově vázaný  $\text{CO}_2$ , tím ho přeměňuje na  $\text{HCO}_3^-$ ,
- katalytické místo se regeneruje vazbou a ionizací další molekuly  $\text{H}_2\text{O}$  zinkem, pokud možno před uvolněním iontu  $\text{HCO}_3^-$ , a vytváří se přechodný pentakoordinovaný komplex  $\text{Zn}^{2+}$  (Voet a Voetová, 1995).

Dalším z enzymů obsahující dva atomy Zn v molekule, jeden s katalytickou a druhý se strukturální funkcí, je alkoholdehydrogenasa redukující při alkoholovém kvašení acetaldehyd na ethanol. Za aerobních podmínek se ethanol tvoří u rostlin především v meristematických pletivech kořenů. Při nedostatku Zn se aktivita alkoholdehydrogenasy snižuje. Alkoholdehydrogenasa je jedním z důležitých enzymů klíčení pylu (Pavlík a Jandurová, 2000). V anaerobních podmínkách je v kořenu alkohodehydrogenasa klíčovým enzymem. Při dostatku Zn je její aktivita zvýšena až dvojnásobně v porovnání s deficitem tohoto prvku v rostlině. Snižovaná aktivita tohoto enzymu může v anaerobních podmínkách poškodit funkci kořene (Moore a Patrick, 1988).



Ochranu před poškozením aktivními formami kyslíku ve všech částech buňky poskytují rostlinám některé specializované enzymy. K těm patří především superoxidodismutasa (SOD). V rostlinách se vyskytují tři typy SOD, z nichž jeden obsahuje zinek – Cu/Zn-SOD. Atom mědi představuje katalytický komponent, zinek strukturální. Při nedostatku Zn dochází k poklesu aktivity SOD, a tím k zvyšování koncentrace kyslíkových radikálů. Jejich vysoká koncentrace vede k přeměnám membránových lipidů a následnému zvýšení permeability membrán (Cakmak a Marschner, 1988; Pinton et al., 1993).

Zinek je součástí i dalších enzymů, jako jsou:

- alkalická fosfatasa, fosfolipasa – oba tyto enzymy obsahují tři atomy zinku, z nichž poslední má katalytickou funkci,
- karboxypeptidasa, obsahující atom Zn s katalytickou funkcí,
- RNA polymerasa atd. (Coleman, 1992).

Tzv. regulační proteiny tvoří polypeptidový řetězec složený z ohybů stabilizovaných ionty  $Zn^{2+}$ . Tyto strukturní jednotky se nazývají zinkové prsty. Zinkovými prsty se regulační protein váže na specifické místo na DNA. Bez těchto prstů nemůže RNA polymerasa splnit svoji funkci přenosu genetické informace z DNA na RNA. Rentgenová absorpční měření prokázala, že zinek je tetraedrálně vázán s dvěma cysteiny a dvěma histidiny nebo čtyřmi cysteiny. Specifita pro danou sekvenci bází je zřejmě dána určitým pořadím variabilních zbytků aminokyselin v jednotlivých zinkových prstech. Tato role zinku je zkoumána teprve v posledním desetiletí (Coleman, 1992).

Zinek je nezbytnou strukturální součástí ribosomů. Jeho obsah v ribosomální RNA je v rozsahu  $650-1280 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  RNA, v buňkách s nedostatkem Zn se jeho obsah snižuje na  $300-380 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  RNA (Marschner, 1995). Při nedostatku Zn se poškozuje celistvost ribosomů. Zvláště vysoké nároky na zinek má rostlina v místech syntézy proteinů, např. v pylových láčkách bylo v rostoucích špičkách stanoveno  $150 \mu\text{g Zn}\cdot\text{g}^{-1}$  suché hmoty, v bazální části pouze  $50 \mu\text{g Zn}\cdot\text{g}^{-1}$  (Ender et al., 1983). Nízký obsah proteinů a vysoký obsah aminokyselin v rostlinách s nedostatkem Zn není pouze výsledkem snížené transkripce a translace, ale také zvýšené rychlosti degradace RNA. Vysoká aktivita RNAsy je typickým rysem nedostatku Zn v rostlině.

Zinek je nezbytný i pro řadu enzymů metabolismu sacharidů, např. pro fruktoso-1,6-bisfosfatasu a aldolasu. Oba enzymy se nacházejí v chloroplastech a cytoplazmě. Fruktoso-1,6-bisfosfatasa je klíčový enzym při štěpení  $C_6$  cukrů v chloroplastech a v cytoplazmě. Aldolasa štěpí fruktoso-1,6-bisfosfát na dvě fosfotriosy – dihydroxyacetonfosfát a glyceraldehyd-3-fosfát. Při nedostatku zinku se aktivita aldolasy výrazně omezí. Jestliže se vlivem nedostatku zinku omezí aktivita enzymů a rychlost fotosyntézy, dojde k hromadění tuků a cukrů v rostlině.

Významnou roli hraje zinek při tvorbě růstových hormonů. Ovlivňuje syntézu tryptofanu, z něhož vzniká kyselina  $\beta$ -indolyloctová, řazená do skupiny rostlinných auxinů. Nízký obsah kyseliny  $\beta$ -indolyloctové v rostlinách majících nedostatek zinku může být důsledkem inhibice její syntézy nebo dokonce její degradace (Cakmak et al., 1989).

#### 4.2 Vizualní příznaky nedostatku zinku

Nároky jednotlivých druhů rostlin na tento prvek jsou dosti rozdílné. Jeho obsah se v pletivech rostlin pohybuje v rozmezí 20 – 100 ppm Zn v sušině. Obsah nižší než 20 ppm Zn představuje deficit a příjem pod 10 ppm Zn je již provázen zjevnými příznaky nedostatku (Vaněk et al., 2002). Podle Adriana (2001) může být nedostatek zinku způsoben třemi faktory:

1. Nízkým obsahem v půdě, např. v písčitéch kyselých půdách, odkud se zinek snadno vyplavuje.

2. Omezenou přijatelností Zn obsaženého v půdě způsobenou vysokým pH, vysokým obsahem organické hmoty v půdě.
3. Agrochemickými zásahy snižujícími přijatelnost Zn, např. po hnojení vyššími dávkami P.

Obr. 4 Příznaky nedostatku Zn na listech révy vinné



Nedostatek zinku vyvolává poruchy v dělení buněk na špičkách kořenů a vegetačních vrcholů a v kambiálních pletivech. Je omezena syntéza proteinů. Je redukován růst rostlin. Mezi žilnatinou listů se objevují světlé až bílé skvrny (obr. 4). V chlorotických pásmech se vytvářejí červenohnědé nekrotické zóny, které se zvětšují až listy odumírají. K rostlinám, které jsou citlivé na nedostatek zinku, patří kukuřice. Při hlubším deficitu má zakrnělý růst, listy na vegetačním vrcholu jsou stočené, stonek je silný a často puká. U ovocných stromů je omezen růst letorostů, mladé výhonky snadno namrzají, předčasně odumírají. Listy jsou menší, úzké, a podobně jako větvičky nahloučené, mají šedozelenou barvu a často předčasně opadávají.

#### 4.3 Toxické působení zinku

Výskyt toxického působení zinku v životním prostředí bývá spojen s antropogenní činností, především s emisemi z hutí. Koncentrace Zn v listech rostlin vyšší než 100 ppm má pro řadu rostlin za následek snížení výnosu, pokles turgoru a projevy toxicity podobné chlorózám způsobeným nedostatkem Fe (Brown et al., 1993) (obr. 5).

Obr. 5 Toxické působení Zn na listech jahodníku a letorostu vrby



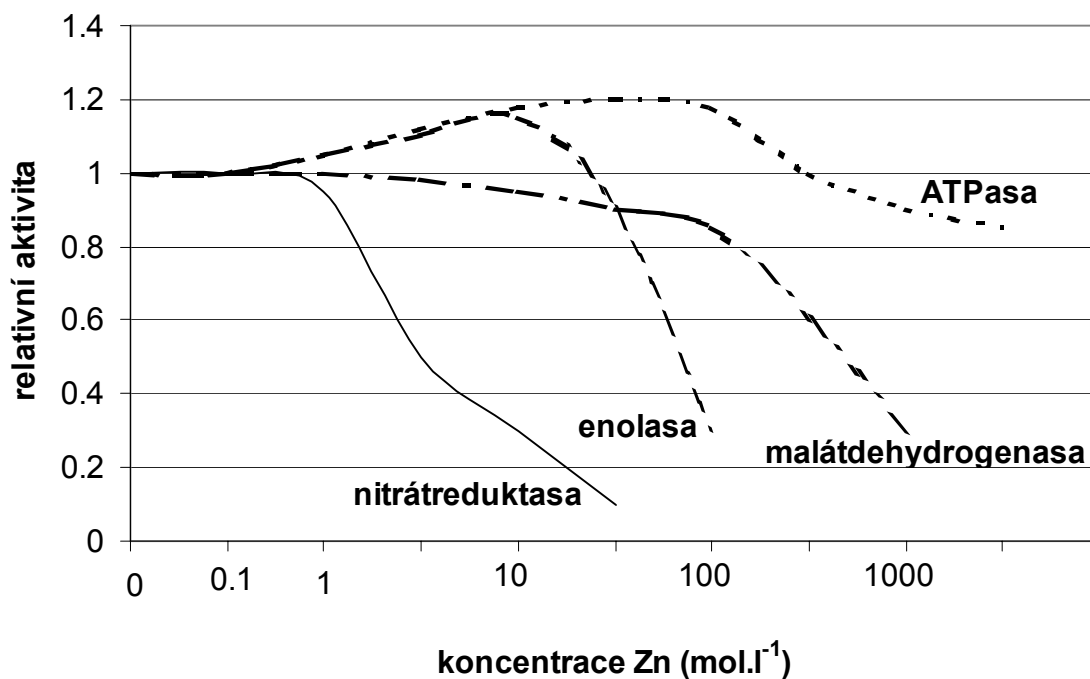
Vysoká koncentrace Zn v rostlině také omezuje příjem Mn rostlinou. Toxická hladina zinku omezuje růst rostliny, především kořenů. Brune et al. (1994) studovali vliv zinku na růst rostlin ječmene a zjistili pouze 35 % délku kořenů u rostlin pěstovaných při vysoké hladině Zn v porovnání s kontrolou. Růst listů byl omezen pouze nevýznamně, přestože obsah zinku v nich silně vzrostl. Současně autoři sledovali i distribuci Zn a stanovili jeho nejvyšší obsah v cytoplasmě mezofylových protoplastů. Při vysoké koncentraci omezující růst kořenů se obsah Zn nejvíce zvýšil v prostoru apoplastu, dále v epidermálních buňkách a mezofylových vakuolách.

Toxická hladina Zn inhibuje fotosyntézu v různých stupních a odlišnými mechanismy. Omezení aktivity Rubisco je způsobeno pravděpodobně konkurencí s manganem a inhibice fotosystému II přemístěním manganu v membránách thylakoidů (Monnet et al., 2001). Podobně jako kadmium inhibuje i zinek fixaci fotosyntetického  $\text{CO}_2$  a aktivitu Hillovy reakce. Tripathy a Mohanthy (1980) popsali inhibici fotosyntetického elektronového transportu v izolovaných chloroplastech ječmene.

Z obr. 6 je vidět rozdílnou citlivost některých enzymů v listech *Silene cucubalus* Wibel. ke stoupajícímu množství iontů přidaných do živného roztoku.

Jak již bylo uvedeno, kadmium a zinek mají vyšší afinitu k mitochondriálním strukturám než  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ , a proto mají silnější vliv na mitochondriální metabolismus (tab. 1).

Obr. 6 Rozdílná citlivost vybraných enzymů ke koncentraci iontů Zn v živném roztoku (Procházka et al., 1998)



Expozice vysokou koncentrací zinku vede ke stárnutí buněk xylému a floému v primárních listech fazolu. Plazmodezmy parenchymatických buněk xylému i floému jsou pokrývány vrstvou neprostupnou pro elektrony (Robb, 1981). Zinek i kobalt a nikl omezují proces akumulace asimilátů floémem (tzv. plnění floému), což má za následek kumulaci škrobu v listech (Rauser a Samarakoon, 1980). Herren a Feller (1997) potvrdili vliv Zn na inhibici symplastického transportu asimilátů floémem v pšenici způsobenou buď sníženou akumulací asimilátů floémem nebo snížením hmotového toku sítkovicemi. Není primárně ovlivněna metabolická aktivita sinku.

Tab. 1 Vliv rizikových prvků na strukturu a procesy mitochondrií (Prasad a Hagemeyer, 1999)

Rizikový prvek	Ovlivněný proces či struktura
Pb, Hg	Substrátové transportéry
Zn, Pb, Hg	Systémy elektronového transportu
Cu, Pb, Zn, Cd, Hg	Propustnost pro K <sup>+</sup> , H <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> ionty
Hg	Fosforylace
Cd, Pb, Hg, Cu, Ni, Zn	Citrátový cyklus

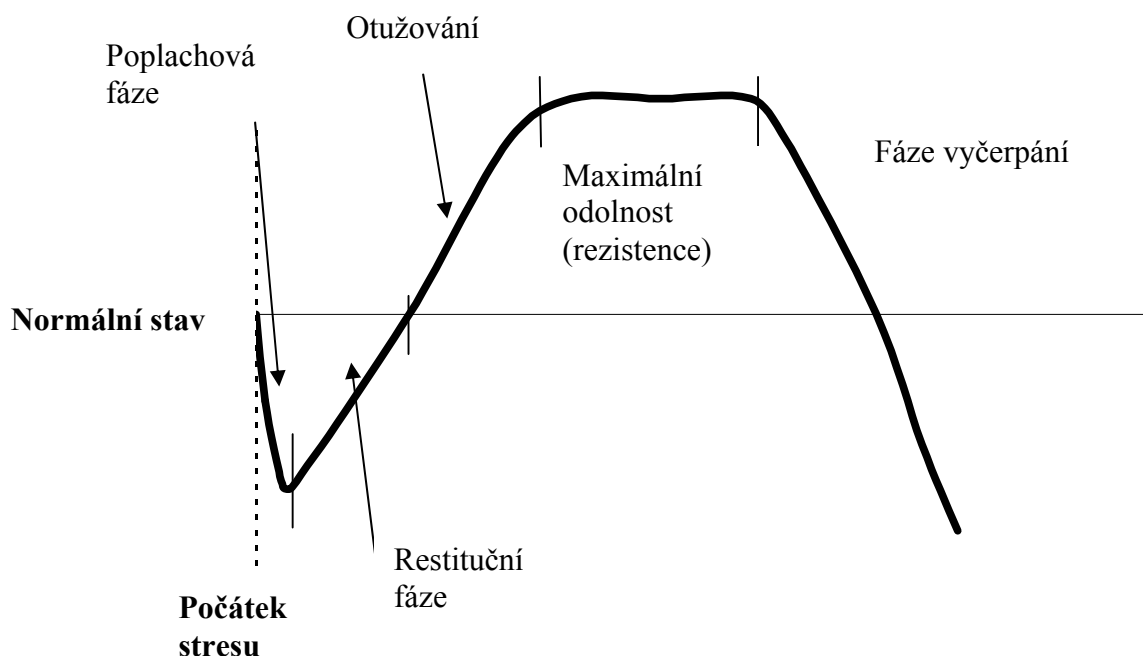
## 5 Reakce rostliny na stres vyvolaný rizikovými prvky

Průběh stresové reakce (obr. 7) vyvolané u rostliny závisí na intenzitě a délce působení stresového faktoru, ale i na adaptační schopnosti rostliny. Na počátku působení

stresového faktoru dochází k narušení buněčných struktur a funkcí (poplachová fáze). Pokud intenzita působení stresoru není letální, dochází k mobilizaci kompenzačních mechanismů (restituční fáze), které směřují ke zvýšení odolnosti rostliny (fáze rezistence). Zvýšení odolnosti a opětovné ustavení homeostáze bývá obvykle dosahováno jen za cenu dodatečných energetických nákladů, hlavně na syntézu specifických enzymů a metabolitů. I některé další změny v metabolismu zajišťující vysokou odolnost bývají často provázeny snížením rychlosti získávání nových zdrojů hmoty a energie, a tedy snížením rychlosti tvorby biomasy. V odolnosti rostlin k působení rizikových prvků existují velké rozdíly nejen mezi druhy, ale i uvnitř téhož druhu. Zvýšení odolnosti nemusí mít trvalý charakter. Při dlouhodobém a intenzivním působení stresového faktoru může být vystřídáno dalším poklesem (fáze vyčerpání).

Jako reakci na stres vyvolaný zvýšenou hladinou rizikových prvků mohou rostlinné buňky uplatnit ochranné systémy, jako jsou imobilizace rizikových prvků v buněčných stěnách, zamezení vstupu přes membrány, syntéza metallothioneinů, tvorba komplexů vázajících rizikové prvky, syntéza stresových proteinů, produkce stresového ethylenu a dalších stresových metabolitů.

Obr. 7 Idealizovaný průběh stresové reakce (Procházka et al., 1998)



## 5.1 Transportní blokády

### 5.1.1 Imobilizace

První bariérou proti kadmii, především v kořenech, může být jeho imobilizace v buněčných stěnách. Cd ionty se váží především na pektiny a hystidylové skupiny buněčných stěn (Leita et al., 1996; Sanita di Toppi et al., 1998). Důležitost tohoto systému závisí na koncentraci Cd v prostředí a rostlinném druhu. Podle Rausera (1987) bylo v buněčných stěnách kořenů kukuřice imobilizováno přibližně 4-7 % Cd, v kořenech traviny *Agrostis gigantea* Roth. 11-15 %.

### 5.1.2 Omezení vstupu přes plazmatickou membránu

Zamezení vstupu Cd iontů do cytosolu přes plazmatickou membránu může být považováno za nejlepší ochranný systém. Vstup Cd může být značně znesnadněn selektivitou transportních proteinů a blokováním transkripce genů kódujících transportní proteiny. Ale bylo zjištěno, že v období klíčení semen ředkvičky docházelo k pronikání kadmia do buňky prostřednictvím Ca kanálů v plazmatické membráně (Rivetta et al., 1997). Costa et al. (1997) stanovili zvýšenou hladinu asparaginu v kořenových exudátech salátu a lupiny. Tito autoři spíše vysvětlují reakci poruchou plazmatických membrán při koncentraci Cd přibližně 1  $\mu\text{M}$  Cd než výsledkem specifického mechanismu indukce aminokyseliny, jehož cílem by byla tvorba chelátů s Cd.

## 5.2 Metalloproteiny

Rizikové prvky jsou vázány na řadu metalloproteinů elektrostatickými silami nebo koordinačními vazbami. Esenciální prvky (např. Zn, Cu) atakují katalytická místa metalloenzymů a umožňují vytvořit řadu různých metalloproteinů. Příkladem jejich významu pro tvorbu metalloproteinů je řada proteinů vázajících DNA. Kadmium a jiné neesenciální rizikové prvky, stejně jako esenciální prvky ve vysoké koncentraci, mohou působit na rostlinu toxicky, protože jejich vysoká afinita ke zbytkům aminokyselin ovlivňuje biologické funkce. Toxické hladiny volných kovových iontů jsou redukovány vazbou na intracelulární ligandy.

### 5.2.1 Metallothioneiny

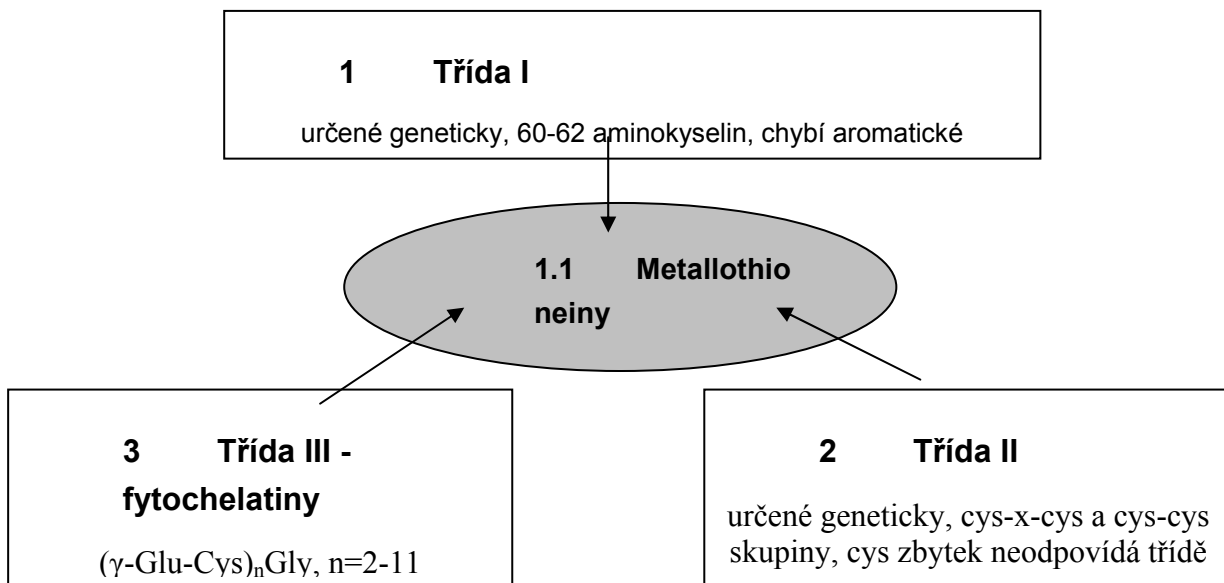
Jedna ze skupin těchto ligandů se nazývá metallothioneiny (MT). Název metallothionein byl poprvé použit v práci Margoshes a Vallee (1957 – in Kotrba et al., 1999) pro protein vázající Cd v savčích ledvinách. Metallothioneiny, postupně izolované z dalších zdrojů, byly rozděleny do tříd na základě strukturální podobnosti (obr. 8). MT třídy I jsou polypeptidy, jejichž primární struktura je podobná savčím metallothioneinům. Jsou tvořené obvykle 60-62 aminokyselinami vázajícími na 20 cysteinových zbytcích maximálně 7 divalentních nebo 12 monovalentních kovových iontů a neobsahují aromatické aminokyseliny.

Struktura třídy II MT obsahuje sekvence pouze podobné savčím metallothioneinům nebo je neobsahuje vůbec. Tyto MT jsou izolovány např. z kvasinek, řas, pšenice, kukuřice. Velmi dobře byl popsán MT třídy II označený jako  $E_c$  protein. Byl izolován z pšenice. Na rozdíl od savčích MT genů jsou  $E_c$  geny jednotlivě lokalizovány v chromozomech 1A, 1B a

1D hexaploidní pšenice (Kotrba et al., 1999). Vysoká hladina těchto genů byla zjištěna v raném vývojovém stádiu pšenice, kdy dochází k buněčnému dělení a diferenciaci. Výše uvedení autoři předpokládají, že tento protein má vliv na homeostatickou rovnováhu  $Zn^{2+}$  a regulaci metalloproteinů závislých na Zn. Neovlivňuje však vazbu Zn v pšeničném embryu (pouze 5 % Zn je vázáno na  $E_c$ ).

Jako MT třídy III byly klasifikovány polypeptidy, nazývané jako fytochelatiny, izolované z hub a vyšších rostlin.

Obr. 8 Rozdělení metallothioneinů (Prasad a Hagemeyer, 1999)



V devadesátých letech minulého století byly popsány tzv. „metallothionein-like“ proteiny. Podle klasické definice se jedná spíše o peptidy, protože jejich relativní molekulová hmotnost je nižší než 10 kDa. Jejich název vychází z faktu, že tyto MT-like proteiny vykazují určité odlišnosti od metallothioneinů. Sekvence cDNA odpovídající MT-like proteinům byla nalezena v řadě jedno i dvouděložných rostlin. Většina rostlinných MT-like proteinů se skládá z 63 – 83 aminokyselin. Základní odlišností od savčích a houbových MT i od  $E_c$  proteinu spočívá v tom, že terminální domény MT-like proteinů bohaté na Cys zbytky jsou oddělené vnitřní částí bez Cys zbytků. Vnitřní část je tvořena přibližně 40 aminokyselinami a obsahuje také aromatické kyseliny.

### 5.2.1.1 Fytochelatiny

Velmi účinnou obranou reakcí rostlin je tvorba fytochelatinů schopných poutat rizikové prvky vazbou do chelátových komplexů. V roce 1973 byla zjištěna přítomnost fytochelatinů v listech tabáku ošetřených rtutí (Anelli et al., 1973). Složení fytochelatinů v buněčné kultuře popsali Grill et al. (1985). Základní sekvencí polypeptidu je spojení molekul kyseliny  $\gamma$ -glutamové a cysteinu s jednou molekulou glycinu  $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{Gly}$ , kde  $n = 2-11$ . Syntéza fytochelatinů neprobíhá v ribosomech, ale přímou biochemickou cestou. Enzymem katalyzujícím syntézu fytochelatinů je  $\gamma$ -glutamylcystein-dipeptidyl-transpeptidasa (fytochelatinsynthasa). Primární sekvence enzymu fytochelatinsynthasy je různá v závislosti

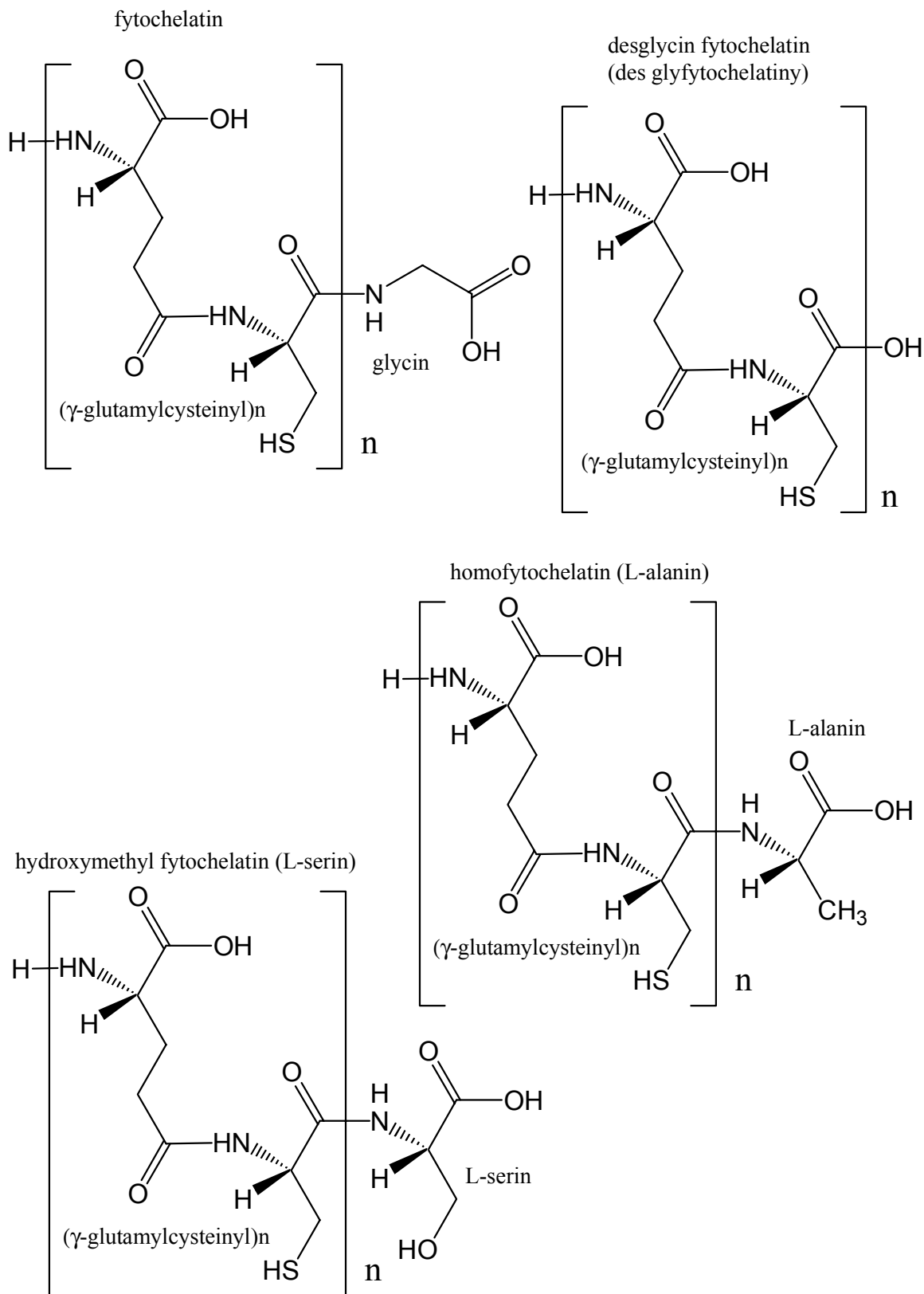


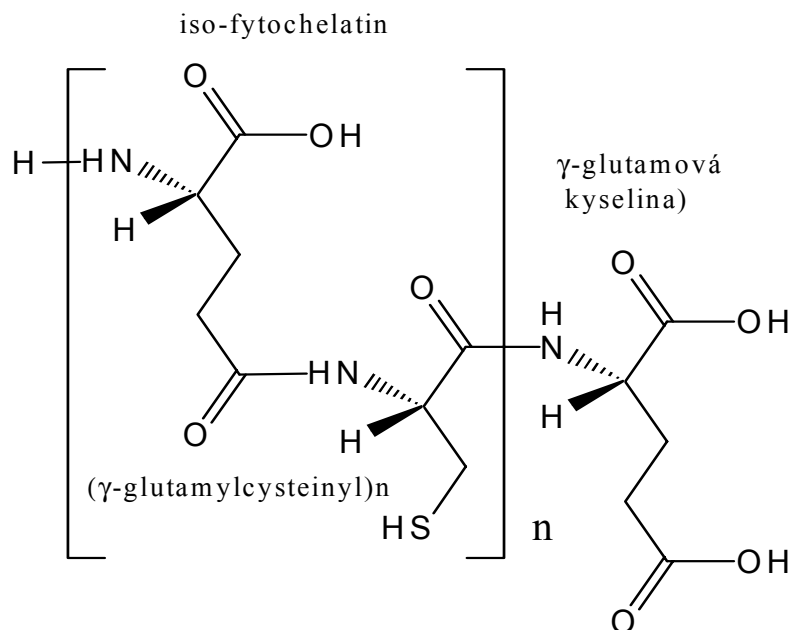
na organismu. Enzym se liší u různých druhů počtem aminokyselin, molekulovou hmotností a také počtem cysteinů obsažených v molekule (tab. 6). Zenk (1996) popsal tzv. iso-fytochelatin, polypeptidy podobné fytochelatinům, obsahující místo molekuly glycinu  $\beta$ -alanin, serin nebo kyselinu glutamovou. V rostlinách produkujících fytochelatin a iso-fytochelatin byly zjištěny také desGly-fytochelatin (Bernhard a Kägi, 1987), obsahující místo glycinu cystein. Vznikají degradací fytochelatinů, kdy dochází vlivem karboxypeptidasy k uvolnění glycinu (Kubota et al., 1995).

Tab. 2 Známé formy fytochelatinů (Vacek et al., 2003)

Název	Zkratka	Vzorec
fytochelatin	PC	$(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$
homofytochelatin ( $\beta$ -alanin)	iso-PC ( $\beta$ -Ala)	$(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-}\beta\text{-Ala}$
hydroxymethyl fytochelatin (serin)	iso-PC (Ser)	$(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Ser}$
iso-fytochelatin (glutamová kyselina)	iso-PC (Glu)	$(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Glu}$
desglycin fytochelatin	DesGly-PC	$(\gamma\text{-Glu-Cys})_n$

Aktivita enzymu závisí na přítomnosti některých prvků v cytosolu. Fytochelatin byly v buněčných kulturách zjištěny jako reakce na řadu rizikových prvků (např.  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{AsO}_4^{3-}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ). Naopak některé další prvky ( $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ) syntézu fytochelatinů nevyvolaly (Kotrba et al., 1999). Především kadmium je uváděno jako prvek, který nejsilněji indukuje syntézu fytochelatinů (Kotrba et al., 1999; Sanita di Toppi a Gabrielli, 1999). Scheller et al. (1987) popsali pozitivní korelaci mezi koncentrací Cd v živném mediu v rozsahu 50-400  $\mu\text{M.l}^{-1}$  a kumulací fytochelatinů v buněčných kulturách rajčete. Zinek působil podobně jako kadmium v buněčné kultuře tabáku, ovšem v koncentraci 900-1800  $\mu\text{M.l}^{-1}$  (Reese a Wagner, 1987). Komplexně vázané toxické ionty jsou transportovány do vakuoly, kde po uvolnění z fytochelatinu jsou inaktivovány vysokou koncentrací organických kyselin. Řada autorů uvádí, že syntéza fytochelatinů nekoreluje vždy s odolností rostliny k rizikovým prvkům (de Knecht et al., 1994; Leopold et al., 1999; Schat a Kolff, 1992). Tato zjištění jsou dána skutečností, že odolnost rostliny ke stresu je založena polygenně.





### 5.3 Tvorba komplexů

Významnou úlohu ve snížení toxického vlivu rizikových prvků na rostlinu hrají vakuoly, které brání cirkulaci jejich volných iontů v cytosolu a poutají je v omezeném prostoru. Jak již bylo uvedeno výše, v cytoplazmě tvoří kovy komplexy s rozpustnými sloučeninami, jako jsou organické kyseliny a polypeptidy bohaté na síru (především fytochelatiny). Cd stimuluje tvorbu fytochelatinů v cytosolu. S nimi tvoří komplex s „nízkou molekulovou hmotností“ (Vögeli-Lange a Wagner, 1996) nebo se „střední molekulovou hmotností“ (Cd se váže na fytochelatiny s vyšší polymerizační hladinou) (Kneer a Zenk, 1992). Tyto komplexy se váží s kyselými labilními sulfidy ( $S^{2-}$ ) a tvoří vysokomolekulární komplex s vysokou afinitou k Cd iontům. Molární poměr  $S^{2-}:Cd^{2+}$  vysokomolekulárního komplexu může přesahovat 1 (Reese et al., 1992). Vysokomolekulární komplex stabilizovaný skupinami  $S^{2-}$  se zdá být rozhodující pro detoxifikaci Cd. Tento komplex je transportován proti koncentračnímu spádu přes tonoplast do vakuoly. Zde komplex v kyselém prostředí disociuje a kadmium tvoří komplex s organickými kyselinami (citronovou, jablečnou, šťavelovou) a je možné, že i s aminokyselinami (Sanita di Toppi a Gabbrielli, 1999). Fytochelatiny mohou být degradovány hydrolasami ve vakuole nebo se mohou vracet do cytosolu a pokračovat ve své funkci. Volné  $Cd^{2+}$  ionty mohou vstupovat do vakuoly prostřednictvím  $Cd^{2+}/2H^{+}$  antiportu (Gries a Wagner, 1998). V pokusech *in vitro* zjistili Kneer a Zenk (1992), že fytochelatiny chrání enzymy citlivé na obsah rizikových prvků před jejich toxickým působením. Komplex  $Cd^{2+}$ -fytochelatin inhiboval deset až tisíckrát méně enzymy Rubisco, nitrátreduktasu, alkoholdehydrogenasu, glyceraldehid-3-fosfátdehydrogenasu a ureasu v porovnání s volnými ionty kadmia.

#### 5.4 Stresové proteiny

K vnitrobuněčným detoxikačním mechanismům patří i tvorba stresových proteinů zahrnující odolnější isoenzymy, ale také proteasy a ubikvitin pro urychlení rozkladu poškozených proteinů. Stresové proteiny mohou být indukovány nespecificky působením různých typů stresorů, nebo jejich indukce může být specificky vázána na receptor a vyvolána určitým stresovým faktorem. Většina proteinů indukovaných nespecificky patří mezi tyto funkční skupiny – molekulární chaperony, proteasy a ubikvitin. Jedná se obvykle o konstitutivní proteiny, které jsou výbavou buněk všech genotypů. Při stresu se jejich množství mnohonásobně zvětšuje. Jejich intenzivní tvorba souvisí se vzrůstem počtu poškozených proteinů v různých buněčných strukturách. Chaperony slouží nejen k řízení změn konformace proteinů při transportu přes membránu, ale také jsou schopny upravit jejich konformaci při mírném poškození. Pokud dojde k nenapravitelným změnám, je takový protein „označen“ molekulou ubikvitinu a rozložen pomocí proteas na aminokyseliny (Procházka et al., 1998).

## 6 Závěr

Jak ukázaly výše uvedené výsledky, odezva rostliny na stresové podmínky vyvolané rizikovými prvky je komplexní projev. Stresové podmínky vyvolávají paralelní a nebo po sobě jdoucí děje, rychlé fyziologické a pomalé morfologické procesy, jejichž mechanismus může ovlivňovat metabolické změny přímo či nepřímo vyvolané stresem.

Průběh stresové reakce i její konečný výsledek závisí na působení stresového faktoru (elicitoru) i na geneticky vázaných předpokladech odpovědi, souhrnně označovaných jako adaptační schopnosti. Obranný mechanismus rostliny reaguje již na nízkou hladinu rizikového prvku a významně se „kvalitativně“ neliší od mechanismu obrany při vysokých koncentracích. Vliv doby expozice není podle Sanita di Toppi a Gabrielly (1999) tak významný. Podle těchto autorů planě rostoucí rostlina reaguje na hladinu kadmia zrychlením lignifikace, vazbou Cd do buněčných stěn, tvorbou komplexů s organickými kyselinami, indukci tvorby fytochelatinů, stresového ethylenu atd. „kvalitativně“ nezávisle na koncentraci Cd a době expozice. Zdá se, že odezva vyšších rostlin na nízkou hladinu Cd spíše vede k udržení buněčné homeostatické rovnováhy než k vlastnímu mechanismu obrany.

Podle Sanita di Toppi a Gabrielly (1999) je možné, že první odezvou na stres vyvolaný Cd je mechanismus tvorby fytochelatinů a tvorby kompartmentů ve vakuolách – tj. množství fytochelatinů tvořící vysokomolekulární komplexy, počet jednotek  $\gamma$ -Glu-Cys, vysoká schopnost  $S^{2-}$  začlenit se do komplexů, hladina redukce fytochelatinů, a také možná mechanismus přenosu signálů pro rytmické procesy. Pro tyto procesy jsou důležité cyklický adenosinmonofosfát (cAMP), koncentrace iontů  $Ca^{2+}$  a její změny. Jak již bylo uvedeno výše, významná je koncentrace organických kyselin, nezbytná pro udržování osmotické rovnováhy a tvořící sloučeniny s rizikovými prvky.

Na stres způsobený hladinou rizikových prvků rostlina dále reaguje tvorbou stresových proteinů, stresového ethylenu a zvýšením či snížením aktivity peroxidasy (např. askorbátperoxidasy). Tyto mechanismy obrany lze sledovat především při vysokých hladinách rizikových prvků. Stresové proteiny jsou syntetizovány několikanásobně více v kořenech než v dalších částech rostlin. Obranný mechanismus kořenů způsobuje změnu pH v rhizosféře, zvyšuje vylučování organických kyselin kořeny a tvorbu slizové bariéry na kořenových špičkách.

## 7 Literatura

- Adriano D.C. (2001): Trace elements in terrestrial environments. Springer-Verlag, New York, 866 s.
- Aidid S.B., Okamoto H. (1993): Responses of elongation rate, turgor pressure and cell wall extensibility of stem cells of *Impatiens balsamina* to lead, cadmium and zinc. *BioMetals*, 6: 245-249
- Alcantara E., Romera F.J., Canete M., Delaguardia M.D. (1994): Effect of heavy metals on both induction and function of root Fe(III) reductase in Fe-deficient cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants. *J. Exp. Bot.*, 45: 1893-1989
- Alloway B.J. (1990): Heavy metals in soil. J. Wiley & Sons, New York, 331 s.
- Anelli G., Pelosi P., Galoppini C. (1973): Influence of mercury on the amino acid composition of tobacco leaves. *Agric. Biol. Chem.*, 37: 1579-1582
- Backstrom M., Karlsson S., Backman L., Folkesson L., Lind B. (2004): Mobilisation of heavy metals by deicing salts in a roadside environment. *Water Res.*, 38: 720-732
- Balík J., Tlustoš P., Pavlíková D., Száková J., Blahník R., Kaewrahan S. (1998a): Vliv čistírenských kalů na obsah zinku v půdě a rostlinách. *Rostl. Výr.*, 44: 457 – 462
- Balík J., Tlustoš P., Száková J., Pavlíková D., Balíková M., Blahník R. (1998b): Změny obsahu kadmia v rostlinách po aplikaci čistírenských kalů. *Rostl. Výr.*, 44: 449 – 456
- Barceló J., Poschenrieder Ch. (1990): Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. *J. Plant Nutr.*, 13: 1-37
- Barceló J., Poschenrieder Ch., Andreu I., Gunsé B. (1986): Cadmium-induced decrease of water stress resistance in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Contender). I. Effects of Cd on water potential, relative water content and cell wall elasticity. *J. Plant Physiol.*, 125: 17-25
- Barceló J., Vazquez M.D., Poschenrieder Ch. (1988): Structural and ultrastructural disorders in cadmium-treated bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *New Phytol.*, 108: 37-49
- Beneš S. (1994): Obsahy a bilance prvků ve sférách životního prostředí. II. část, MZe ČR, 159 s.
- Bernhard W.R., Kägi J.H.R. (1987): Purification and characterization of atypical cadmium-binding polypeptides from *Zea mays*. *Experientia*, 52: 309-315
- Bjerre G.K., Schierup H.H. (1985): Uptake of six heavy metals by oat as influenced by soil type and additions of cadmium, lead, zinc and copper. *Plant Soil*, 88: 57-69
- Blake, L., Goulding, K.W.T. (2002): Effect of atmospheric deposition, soil pH and acidification on heavy metal contents in soils and vegetation of semi-natural ecosystems at Rothamsted Experimental Station, UK. *Plant Soil*, 240: 235-251
- Bolan N.S., Duraisamy V.P. (2003): Role of inorganic and organic soil amendments on immobilisation and phytoavailability of heavy metals: a review involving specific case studies. *Aust. J. Soil Res.*, 41: 533-555
- Boussama N., Ouriti O., Suzuki A., Ghorbal M.H. (1999): Cd-stress on nitrogen assimilation. *J. Plant Physiol.*, 155: 310-317
- Brown P.H., Cakmak I., Zhang Q. (1993): Form and function of zinc plants. In: Robson A.D. (ed.): Zinc in soils and plants. Vol. 55, Kluwer Academic Publishers: 93-118

- Brune A., Urbach W., Dietz K.J. (1994): Compartmentation and transport of zinc in barley primary leaves as basic mechanisms involved in zinc tolerance. *Plant Cell Environ.*, **17**: 153-162
- Cakmak, I., Marschner, H. (1988): Increase in membrane permeability and exudation of root of zinc-deficient plants. *J. Plant Physiol.*, **73**: 356-361
- Cakmak, I., Marschner, H., Bangerth F. (1989): Effect of zinc nutritional status on growth, protein metabolism and levels of indole-3-acetic acid and other phytohormones in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Exp. Bot.*, **40**: 405-412
- Clemente R., Walker D.J., Roig A., Bernal M.P. (2003): Heavy metal bioavailability in a soil affected by mineral sulphides contamination following the mine spillage at Aznalcollar (Spain). *Biodegradation*, **14**: 199-205
- Cerana R., Giromini L., Colombo R. (1995): Malate-regulated channels permeable to anions in vacuole of *Arabidopsis thaliana*. *Aust. J. Plant Physiol.*, **22**: 115-121
- Cibulka J. a kol. (1991): Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře. Academia, Praha, 432 s.
- Coleman J.E. (1992): Zinc proteins: enzymes, storage proteins, transcription factors, and replication proteins. *Annu. Rev. Biochem.*, **61**: 897-946
- Costa G., Michaut J.C., Gucker A. (1997): Amino acids exuded from axenic roots of lettuce and white lupin seedlings exposed to different cadmium concentrations. *J. Plant Nutr.*, **20**: 883-900
- Ender Ch., Li M.Q., Martin B., Povh B., Nobiling R., Reiss H.-D., Traxel K. (1983): Demonstration of polar zinc distribution in pollen tubes of *Lilium longiflorum* with the Heidelberg proton microprobe. *Protoplasma*, **116**: 201-203
- Dalenberg J.W., van Driel W. (1990): Contribution of atmospheric deposition to heavy metals concentrations in field crops. *Neth. J. Agric. Sci.*, **38**: 369-379
- de Knecht J.A., van Dillen M., Koevoets P.L., Schat H., Verkleij J.A.C., Ernst W.H.O. (1994): Phytochelatins in cadmium-sensitive and cadmium-tolerant *Silene vulgaris* – chain-length distribution and sulfide incorporation. *Plant Physiol.*, **104**: 255-261
- Dunbar K.R., McLaughlin M.J., Reid R.J. (2003): The uptake and partitioning of cadmium in two cultivars of potato (*Solanum tuberosum* L.). *J. Exp. Bot.*, **54**: 349-354
- Dvořák P., Tlustoš P., Száková J., Černý J., Balík J. (2003): Distribution of soil fractions of zinc and its uptake by potatoes, maize, wheat and barley after soil amendment by sludge and inorganic Zn salt. *Plant Soil Environ.*, **49**: 203-212
- Eriksson J.E. (1990): Effects of nitrogen-containing fertilizers on solubility and plant uptake of cadmium. *Water, Air, Soil. Pollut.*, **49**: 355-365
- Gallego S.M., Benavides M.P., Tomaro M.L. (1996): Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress. *Plant Sci.*, **121**: 151-159
- Geuns J.M.C., Cuypers A.J.F., Michiels T., Colpaert J.V. Van Laere A., Van Den Broeck K.A.O., Vandecasteele C.H.A. (1997): Mung bean seedlings as bio-indicators for soil and water contamination by cadmium. *Sci. Total Environ.*, **203**: 183-197
- Gouia H., Ghorbal M.H., Meyer C. (2000): Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. *Plant Physiol. Biochem.*, **38**: 629-638
- Gouia H., Suzuki A., Brulfert J., Ghorbal M.H. (2003): Effects of cadmium on the co-ordination of nitrogen and carbon metabolism in bean seedlings. *J. Plant Physiol.*, **160**: 367-376

- Greger M., Johansson M., Stihl A., Hamza K. (1993): Foliar uptake of Cd by pea (*Pisum sativum*) and sugar beet (*Beta vulgaris*). *Physiol. Plant.*, 88: 563-570
- Gries G.E., Wagner G.J. (1998): Association of nickel versus transport of cadmium and calcium in tonoplast vesicles of oat roots. *Planta*, 204: 390-396
- Grill E., Winnacker E.-L., Zenk M.H. (1985): Phytochelatins: the principal heavy metal complexing peptides of higher plants. *Science*, 230: 674-676
- Hall J.L., Williams L.E. (2003): Transition metal transporters in plants. *J. Exp. Bot.*, 54: 2601-2613
- Harmens H., Koevoets P.L.M., Verkleij J.A.C., Ernst W.H.O. (1994): The role of low molecular weight organic acids in mechanisms of increased zinc tolerance in *Silene vulgaris* (Moench) Garcke. *New Phytol.*, 126: 615-621
- Harrison R.M., Chirgawi M.B. (1989): The assessment of air and soil as contributors of some trace metals to vegetable plants. I. Use of a filtered air growth cabinet, II. Translocation of atmospheric and laboratory-generated cadmium aerosols to and within vegetable plants, III. Experiments with field grown plants. *Sci. Total Environ.*, 83: 13-62
- Rauser W.E., Samarakoon A.B. (1980): Vein loading in seedlings of *Phaseolus vulgaris* exposed to excess cobalt, nickel and zinc. *Plant Physiol.*, 65: 578-583
- Hernandez L.E., Carpena-Ruiz R., Garate A. (1996): Alterations in the mineral nutrition of pea seedlings exposed to cadmium. *J. Plant Nutr.*, 19: 1581-1598
- Hernandez L.E., Cooke D.T. (1997): Modification of the root plasma membrane lipid composition of cadmium treated *Pisum sativum*. *J. Exp. Bot.*, 48: 1375-1381
- Hettiarachchi G.M., Pierzynski G.M. (1999): Effect of phosphorus and other soil amendments on soil lead, cadmium and zinc bioavailability. Proc. 5<sup>th</sup> ICOBTE congress, Vienna, Austria: 514-515
- Holm P.E., Christensen T.H., Tjell J.C., McGrath S.P. (1995): Speciation of cadmium and zinc with application to soil solutions. *J. Environ. Qual.*, 24: 183-190
- Hossain Z., Huq F. (2002): Studies on the interaction between Cd<sup>2+</sup> ions and nucleotides. *J. Inorg. Biochem.*, 90: 97-105
- Chaoui A., Mazhoudi S., Ghorbal M.H., El Ferjani E. (1997): Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Sci.*, 127: 139-147
- Charlatchka R., Cambier P. (2000): Influence of reducing conditions on solubility of trace metals in contaminated soils. *Water, Air, Soil Pollut.*, 118: 143-167
- Chiraz C., Houda G., Habib G.M. (2003): Nitrogen metabolism in tomato plants under cadmium stress. *J. Plant Nutr.*, 26: 1617-1634
- Jansson G., Öborn I., Berggren D. (1999): Effect of liming on Cd species in soil solution and uptake of Cd in potatoes. Proc. 5<sup>th</sup> ICOBTE congress, Vienna, Austria: 558-559
- Jemal F., Zarrouk M., Ghorbal M.H. (2000): Effect of cadmium on lipid composition of pepper. *Biochem. Soc. Trans.*, 28: 907-910
- Ju G.C., Li X.-Z., Rauser W.E., Oaks A. (1997): Influence of cadmium on the production of  $\gamma$ -glutamylcysteine peptides and enzymes of nitrogen assimilation in *Zea mays* seedlings. *Physiol. Plant.*, 101: 793-799
- Kabata-Pendias A., Pendias H. (2001): Trace elements in soils and plants. 3<sup>rd</sup> ed., Boca Raton, Florida, CRC Press, 413 s.
- Keefer R.F., Singh R.N., Horvath D.J. (1986): Chemical composition of vegetable grown on an agricultural soil amended with sewage sludge. *J. Environ. Qual.*, 15, 2: 146-152



- Kessler A., Brand M.D. (1995): The mechanism of the stimulation of state 4 respiration by cadmium in potato tuber (*Solanum tuberosum*) mitochondria. *Plant Physiol. Biochem.* 33: 519-528
- Khan D.H., Frankland B. (1983): Effects of cadmium and lead on radish plants with particular reference to movement of metals through soil profile and plant. *Plant Soil* 70, 3: 335-345.
- King D.G. (1988): Effect of selected soil properties on cadmium content of tobacco. *J. Environ. Qual.*, 17: 251-255
- Kneer R., Zenk M.H. (1992): Phytochelatins protect plant enzymes from heavy metal poisoning. *Phytochemistry*, 31: 2663-2667
- Kochian L.V. (1991): Mechanism of micronutrient uptake and translocation in plants. In: *Micronutrients in agriculture* (ed. Mortvedt J.J.), Soil Sci. Soc. Am., book series No. 4, Madison WI: 229-296
- Kolář, L. (1988): Cesty omezení vstupu těžkých kovů do zemědělské produkce. In: *Cizorodé látky v půdě a v rostlině*. ČSVTS Tábor: 126-137
- Kotrba P., Macek T., Ruml T. (1999): Heavy metal-binding peptides and proteins in plants. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 64: 1057-1086
- Krupa Z. (1988): Cadmium-induced changes in the composition and structure of the light-harvesting chlorophyll a/b protein complex-II in radish cotyledons. *Physiol. Plant*, 73: 518-524
- Krupa Z., Moniak M. (1998): The stage of leaf maturity implicates the response of the photosynthetic apparatus to cadmium toxicity. *Plant Sci.*, 138: 149-156
- Kubota H., Sato K., Yamada T., Maitani T. (1995): Phytochelatines (class III metallothionein) and their desglycyl peptides induced by cadmium in normal root cultures of *Rubia tinctorum* L. *Plant Sci.*, 106: 157-166
- Larbi A., Morales F., Abadia A., Gogorcena Y., Lucena J.J., Abadia J. (2002): Effect of Cd and Pb in sugar beet plants grown in nutrient solution: induced Fe deficiency and growth inhibition. *Funct. Plant Biol.*, 29: 1453-1464
- Larsson E.H., Bornman J.F., Asp H. (1998): Influence of UV-B radiation and Cd<sup>2+</sup> on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*. *J. Exp. Bot.*, 49: 1031-1039
- Leita L., De Nobili M., Cesco S., Mondini C. (1996): Analysis of intracellular cadmium forms in root and leaves of bush bean. *J. Plant Nutr.*, 19: 2001-2012
- Leopold I., Günther D., Schmidt J., Neumann D. (1999): Phytochelatins and heavy metal tolerance. *Phytochemistry*, 50: 1323-1328
- Lindberg S., Griffiths G. (1993): Aluminium effects on ATPase activity and lipid composition of plasma membrane in sugar beet roots. *J. Exp. Bot.*, 44: 1543-1550
- Lozano-Rodríguez E., Hernandez L.E., Bonay P., Carpena-Ruiz R.O. (1997): Distribution of cadmium in shoot and root tissues of maize and pea plants: physiological disturbances. *J. Exp. Bot.*, 306: 123-128
- Lubben K.R., Sauerbeck D.R. (1991): The uptake and distribution of heavy metals by spring wheat. *Water, Air, Soil Pollut.*, 57 – 58: 239-247
- Lum K.R., Kokotich E.A., Schroeder W.H. (1987): Bioavailable Cd, Pb and Zn in wet and dry deposition. *Sci. Total Environ.*, 63: 161-173
- Macek T., Macková M., Pavlíková D., Száková J., Truksa M., Singh-Cundy A., Kotrba P., Yancey N. and Scouten W.H. (2002): Accumulation of cadmium by transgenic tobacco. *Acta Biotechnol.*, 22:101-106.

- Malik D., Sheoran I.S., Singh R. (1992): Carbon metabolism in leaves of cadmium-treated wheat seedlings. *Plant Physiol. Biochem.*, 30: 223-229
- Marschner H. (1995): Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London, 889 s.
- Mattioni C., Gabbrielli R., Vangronsveld J., Clijsters H. (1997): Nickel and cadmium toxicity and enzymatic activity in Ni-tolerant and non-tolerant populations of *Silene italica*. *Pers. J. Plant Physiol.*, 150: 173-177
- McKenna I.M., Chaney R.L., Tao S.H., Leach R.M., Williams F.M. (1992): Interactions of plant zinc and plant-species on the bioavailability of plant cadmium to japanese-quail fed lettuce and spinach. *Environ. Res.*, 57: 73-87
- McKenna I.M., Chaney R.L., Williams F.M. (1993): The effects of cadmium and zinc interactions on the accumulation and tissue distribution of zinc and cadmium in lettuce and spinach. *Environ. Pollut.*, 79: 113-120
- McLaughlin M.J., Maier N.A., Freeman K., Tiller K.G., Williams C.M.J., Smart M.K. (1995): Effect of potassic and phosphatic fertilizer type, fertilizer Cd concentration and zinc rate on cadmium uptake by potatoes. *Fert. Res.*, 40: 63-70
- McLaughlin M.J., Palmer L.T., Tiller K.G., Beech T.A., Smart M.K. (1994): Increased soil-salinity causes elevated cadmium concentrations in field-grown potato-tubers. *J. Environ. Qual.*, 23: 1013-1018
- Mench M., Tancogne J., Gomez A., Juste C. (1989): Cadmium bioavailability to *Nicotiana tabacum* L., *Nicotiana rusticana* L., and *Zea mays* L. grown in soil amended or not amended with cadmium nitrate. *Biol. Fert. Soils*, 8: 48-53
- Mohamed A.A., Khalil I., Varanini Z., Pinton R. (2000): Increase in NAD(P)H-dependent generation of active oxygen species and changes in lipid composition of microsomes isolated from roots of zinc-deficient bean plants. *J. Plant Nutr.*, 23: 285-295
- Monnet F., Vaillant N., Vernay P., Coudret A., Sallanon H., Hitmi A. (2001): Relationship between PSII activity, CO<sub>2</sub> fixation, and Zn, Mn and Mg contents of *Lolium perenne* under zinc stress. *J. Plant Physiol.*, 158: 1137-1144
- Moore, P.A., Patrick, W.H. (1988): Effect of zinc deficiency on alcohol dehydrogenase activity and nutrient uptake in rice. *Agron. J.*, 80: 882-885
- Nan Z.R., Li J.J., Zhang J.M., Cheng G.D. (2002): Cadmium and zinc interactions and their transfer in soil-crop system under actual field conditions. *Sci. Total Environ.*, 285: 187-195
- Pankovic D., Plesnicar M., Arsenijevic-Maksimovic I., Petrovic N., Sakac Z., Kastori R. (2000): Effects of nitrogen nutrition on photosynthesis in Cd-treated sunflower plants. *Ann. Bot.*, 86: 841-847
- Pavliček V., Steiner A., Klementová L. (1998): Obsahy biogenních a rizikových prvků v chlévském hnoji. Severomoravského regionu. *Bulletin 98, ÚKZÚZ Brno, VI (2): 32-38*
- Pavlík M., Jandurová O. (2000): Fungicides cytotoxicity expressed in male gametophyte development in *Brassica campestris* after in vitro application of converted field doses. *Environ. Exp. Bot.*, 44: 49-58
- Pinton R., Cakmak I., Marschner H. (1993): Effect of zinc deficiency on proton fluxes in plasma membrane – enriched vesicles isolated from bean roots. *J. Exp. Bot.*, 44: 623-630
- Prasad M.N.V., Hagemeyer J. (1999): Heavy metal stress in plants: from molecules to ecosystem. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 401 s.
- Procházka S., Macháčková I., Krekule J., Šebánek J. a kol. (1998): Fyziologie rostlin. AV ČR Praha, 484 s.

- Rauser W.E. (1987): Compartmental efflux analysis and removal of extracellular cadmium from roots. *Plant Physiol.*, **85**: 62-65
- Rauser W.E. (1999): Structure and function of metal chelators produced by plants. *Cell Biochem. Biophys.*, **31**: 19-48
- Rauser W.E., Samarakoon A.B. (1980): Vein loading in seedlings of *Phaseolus vulgaris* exposed to excess cobalt, nickel and zinc. *Plant Physiol.*, **65**: 578-583
- Raven K.P., Loeppert R.H. (1997): Trace element composition of fertilizers and soil amendments. *J. Environ. Qual.*, **26**: 551-557
- Reese R.N., Roberts L.W. (1985): Effects of cadmium on whole cell and mitochondria respiration in tobacco cell suspension cultures (*Nicotiana tabacum* L. var. Xanthi). *J. Plant Physiol.*, **120**: 123-130
- Reese R.N., Wagner G.J. (1987): Effects of buthionine sulfoximine on Cd-binding peptide levels in suspension-cultured tobacco cells treated with Cd, Zn or Cu. *Plant Physiol.*, **84**: 574-577
- Reese R.N., White C.A., Winge D.R. (1992): Cadmium-sulfide crystallites in Cd-( $\gamma$ -E<sub>c</sub>)(n)G peptide complexes from tomato. *Plant Physiol.*, **98**: 225-229
- Rengel Z. (1995): Sulphohydril groups in root-cell plasma membranes of wheat genotypes differing in Zn efficiency. *Physiol. Plant.*, **95**: 604-612
- Rivetta A., Negrini N., Cocucci M. (1997): Involvement of Ca<sup>2+</sup>-calmodulin in Cd<sup>2+</sup> toxicity during the early phases in radish (*Raphanus sativus* L.) seed germination. *Plant Cell Environ.*, **20**: 600-608
- Robb J. (1981): Early cytological effects of zinc toxicity in white bean leaves. *Ann. Bot.*, **47**: 829-834
- Ros R., Morales A., Segura J., Picazo I. (1992): In vivo and in vitro effects of nickel and cadmium on the plasmalemma ATPase from rice (*Oryza sativa* L.) shoots and roots. *Plant Sci.*, **83**: 1-6
- Ross S.M. (1994): Toxic metals in soil-plant systems. J. Wiley&Sons, Chichester, 453 s.
- Sanders J.R., McGrath S.P., Adams T.Mc. (1986): Zinc, copper and nickel concentrations in ryegrass grown on sewage sludge-contaminated soils of different pH. *J. Sci. Food Agric.*, **37**: 961-965
- Sanita di Toppi L., Gabbriellini R. (1999): Response to cadmium in higher plants. *Environ. Exp. Bot.*, **41**: 105-130
- Sappin-Didier V.L., Mench M.J., Gomez A.N., Lambrot C. (1997): Use of inorganic amendments for reducing metal bioavailability to ryegrass and tobacco in contaminated soils. In: Iskandar, I.K. and Adriano, D.C. (eds.) Remediation of soils contaminated with metals. Cambian Printers, Aberystwyth, Wales: 85-98.
- Shah K., Dubey R.S. (1995): Effect of cadmium on RNA level as well as activity and molecular forms of ribonuclease in growing rice seedlings. *Plant Physiol. Biochem.*, **33**: 577-584
- Schalscha E.B., Morales M., Pratt P.F., (1987): Lead and molybdenum in soils and forage near an atmospheric source. *J. Environ. Qual.*, **16**: 313-315
- Schat H., Kolff M.M.A. (1992): Are phytochelatin involved in differential metal tolerance or do they merely reflect metal-imposed strain? *Plant Physiol.*, **99**: 1475-1480
- Scheller H.V., Huang B., Hatch E. Goldsbrough P.B. (1987): Phytochelatin synthesis and glutathione levels in response to heavy-metals in tomato cell. *Plant Physiol.*, **85**: 1031-1035

- Siedlecka A., Baszynski T. (1993): Inhibition of electron flow around photosystem I in chloroplasts of Cd-treated maize plants is due to Cd-induced iron deficiency. *Physiol. Plant.*, **87**: 199-202
- Siedlecka A., Krupa Z. (1996): Interaction between cadmium and iron and its effects on photosynthetic capacity of primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol. Biochem.*, **34**: 833-841
- Siedlecka A., Krupa Z. (1999): Cd/Fe interaction in higher plants – its consequences for the photosynthetic apparatus. *Photosynthetica*, **36**, 3: 321-331
- Siedlecka A., Krupa Z., Samuelsson G., Öquist G., Gardenström P. (1997): Primary carbon metabolism in *Phaseolus vulgaris* plants under Cd/Fe interaction. *Plant Physiol. Biochem.*, **35**: 951-957
- Singh P.K., Tewari R.K. (2003): Cadmium toxicity induced changes in plant water relations and oxidative metabolism of *Brassica juncea* L. plants. *J. Environment. Biol.*, **24**: 107-112
- Smolders E., Bissani C., Helmke P.A. (1999): Liming reduces cadmium uptake from soil: Why doesn't it work better? Proc. 5<sup>th</sup> ICOBTE congress, Vienna, Austria: 528-529
- Tichý M. (2002): *Toxikologie pro chemiky*. Karolinum, Praha, 90 s.
- Tiller K.G. (1989): Heavy metals in soils and environmental significance. *Adv. Soil Sci.*, **9**: 113-142
- Tlustoš P. (1999): *Mobilita arsenu, kadmia a zinku v půdách a možnosti omezení jejich příjmu rostlinami*. [Habilitationní práce] ČZU v Praze, 191 s.
- Tlustoš P., Balík J., Dvořák P., Száková J., Pavlíková D. (2001): Zinc and lead uptake by three crops planted on different soils treated by sewage sludge. *Rostl. Výr.*, **47**: 129-134
- Tlustoš P., Balík J., Pavlíková D., Száková J. (1997): Příjem kadmia, zinku, arsenu a olova vybranými plodinami. *Rostl. Výr.*, **43**: 487 - 494
- Tlustoš P., Balík J., Pavlíková D., Száková J., Kaewrahn S. (2000): The accumulation of potentially toxic elements in spinach biomass grown on nine soils treated with sewage sludge. *Rostl. Výr.*, **46**: 9-16
- Tlustoš P., Pavlíková D., Balík J., Száková J., Hanč A., Balíková M. (1998): Příjem a distribuce arzenu a kadmia rostlinami. *Rostl. Výr.*, **44**: 463-469
- Tripathy B.C., Mohanthy P. (1980): Zinc inhibited electron transport of photosynthesis in isolated barlea chloroplasts. *Plant Physiol.*, **66**: 1174-1178
- Vacek J., Kizek R., Klejdus B., Havel L. (2003): *Fytochelatiny a jejich role pro detoxifikaci těžkých kovů: biosyntéza, regulace a transport*. *Biol. Listy*, **68**: 133-153
- Vácha, R., Podlešáková, E., Němeček, J., Poláček, O. (2002): Immobilisation of As, Cd, Pb and Zn in agricultural soils by the use of organic and inorganic additives. *Rostl. Výr.*, **48**: 335-342
- Vallee B.L., Auld D.S. (1990): Zinc coordination, function, and structure of zinc enzymes and other proteins. *Biochemistry*, **29**: 5647-5659
- Vaněk V., Balík J., Pavlíková D., Tlustoš P. (2002): *Výživa a hnojení polních a zahradních plodin*. Ing. M. Sedláček, 3. vydání, 132 s.
- Voet D., Voetová J.G. (1995): *Biochemie*. Victoria publishing Praha, 1325 s.
- Vögeli-Lange R., Wagner G.J. (1996): Relationship between cadmium, glutathione and cadmium-binding peptides (phytochelatin) in leaves of intact tobacco seedlings. *Plant Sci.*, **114**: 11-18

- Walker C.D., Welch R.M. (1987): Low molecular weight complexes of zinc and other trace metals in lettuce leaf. *J. Agric. Food Chem.*, 35: 721-726
- Weckx J.E.J., Clijsters H.M.M. (1997): Zn phytotoxicity induces oxidative stress in primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol. Biochem.*, 35: 405-410
- Weigel H.J. (1995a): Inhibition of photosynthetic reactions of isolated intact chloroplast by cadmium. *J. Plant Physiol.*, 119: 179-189
- Weigel H.J. (1995b): The effect of cadmium on photosynthetic reaction of mesophyll protoplast. *Physiol. Plant.*, 63: 192-200
- Zenk M.H. (1996): Heavy metal detoxification in high plants. *Gene*, 179: 21-30
- Zhao Z.Q., Zhu Y.G., Smith S.E., Smith F.A. (2004): Effects of forms and rates of potassium fertilizers on cadmium uptake by two cultivars of spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environ. Int.*, 29: 973-978
- Zhu Y.G., Smith F.A., Smith S.E. (2002): Phosphorus efficiencies and their effects on Zn, Cu, and Mn nutrition of different barley (*Hordeum vulgare*) cultivars grown in sand culture. *Aust. J. Agric. Res.*, 53: 503-521
- Zornoza P., Vazquez S., Esteban E., Fernandez-Pascual M., Carpena R. (2002): Cadmium-stress in nodulated white lupin: strategies to avoid toxicity. *Plant Physiol. Biochem.*, 40: 1003-1009