

PERSPEKTIVY FYTOREMEDIACE PŘI ODSTRAŇOVÁNÍ ORGANICKÝCH POLUTANTŮ A XENOBIOTIK Z ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

PETRA KUČEROVÁ^a, MARTINA MACKOVÁ^a
a TOMÁŠ MACEK^b

^a Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická, 166 28 Praha 6, e-mail: petra.kucerova@vscht.cz, ^b Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6

Došlo dne 17.XII.1997

Obsah

1. Úvod
2. Fytoremediace organických polutantů
 - 2.1. Příjem a přeměna organických látek v rostlinných buňkách
 - 2.2. Enzymy účastníci se degradačních a detoxikačních reakcí v rostlinných buňkách
 - 2.3. Využití rostlinných tkáňových kultur pro studium schopnosti rostlin přeměňovat organické látky
3. Využití fytoremediace v praxi
4. Závěr

1. Úvod

Rozvoj vědy a techniky umožnil vznik látek, které nemají přirozený původ v přírodě, ale byly uměle syntetizovány člověkem, tzv. xenobiotika. Řada těchto sloučenin (polychlorované bifenyly, polyjaderné aromáty, chlorované alifatické uhlovodíky) ještě před nedávnem patřila díky svým výhodným fyzikálním a chemickým vlastnostem mezi látky průmyslově významné. Mnohem později bylo zjištěno, že se jedná o perzistentní a toxické látky, které se hromadí v životním prostředí, mohou pronikat do potravního řetězce, a tak ohrožovat i lidské zdraví. Vzhledem k velkému rozšíření v prostředí je v dnešní době celosvětově věnována pozornost možnosti odstraňování těchto látek a dekontaminaci zasažených ploch.

Existuje řada účinných fyzikálně-chemických metod, které lze použít, avšak většinou se jedná o ekonomicky velmi náročné postupy. Jedním z alternativních způsobů je levnější a přirozenější biologická dekontaminace, která využívá organismy schopné v kontaminovaném prostředí přežít a kontaminující látky degradovat. V současné době jsou z tohoto hlediska středem zájmu bakterie, které odbourávají organické polutanty a xenobiotika za aerobních i anaerobních podmínek. Přestože i vyšší organismy, např. rostliny, jsou nedílnou součástí ekosystému, schopnosti rostlin metabolizovat xenobiotika byla věnována zatím velmi malá pozornost. Důvodem je pravděpodobně náročnější vedení pokusů, související se složitějším metabolismem, který vyžaduje komplexnější studie. Následující text shrnuje znalosti o schopnostech a využití rostlin při transformaci a degradaci organických polutantů a xenobiotik.

2. Fytoremediace organických polutantů

Fytoremediace je definována jako užití zelených rostlin k přesunu, akumulaci nebo odstraňování kontaminantů životního prostředí¹. Díky mnoha studiím byla prokázána schopnost rostlin efektivně a poměrně levně dekontaminovat znečištěné plochy. Rostliny adsorbují, ale i absorbují jak anorganické, tak organické kontaminanty z půdy a vody. Adsorpce, vylučování a metabolická transformace těchto polutantů jsou vhodné a potenciálně využitelné pro čištění kontaminovaných ploch². Fytoremediace se nejlépe uplatňuje v místech s povrchovým znečištěním a bylo zjištěno, že je účinná především pro hydrofobní polutanty jako jsou benzen, toluen, ethylbenzen, xylen, chlorovaná rozpouštědla, nebo nitrosloučeniny. Současný výzkum se zaměřuje především na cílenou fytoremediaci kontaminovaných ploch.

Fytoremediace používá dvě základní strategie – fytodekontaminaci a fytostabilizaci¹. Fytodekontaminace zahrnuje fytoextrakci, kdy rostliny akumulují kontaminanty v tkáních, jsou sklizeny a buď uloženy na bezpečné úložiště, nebo zpracovávány termálně či chemicky, a fytodegradaci, kdy rostliny kontaminanty přemění a produkty zabudují do rostlinných struktur. V přírodě existují rostliny, které jsou

schopny přežívat i na chudých a kontaminovaných půdách³. Aplikace těchto rostlin pro bioremediaci je však limitována několika důležitými faktory:

- často akumulují nebo přeměňují pouze určitou látku nebo skupinu látek,
- obvykle rostou pomalu a tvoří malé množství biomasy,
- není prozkoumána jejich fyziologie, podmínky pro pěstování, agrotechnické lhůty, schopnost odolat nákaze apod.

Navíc se tyto rostliny vyskytují obvykle řídce, rostou v odlehklých oblastech a je obtížné získat jejich odnože pro výzkum a pěstování. Z toho vyplývá, že užití rostlinných druhů, které se v kontaminované oblasti přirozeně vyskytují, je poměrně složité. Na základě výzkumu je třeba vybrat rostliny, které dokážou vytvořit dostatečně velké množství biomasy, současně absorbovat kontaminující látky a jsou také schopné čelit i nepříznivým podmínkám životního prostředí⁴. 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 kontaminantu⁵.

Aplikace rostlin v kontaminovaných oblastech má řadu výhod:

- dochází až k mineralizaci organických sloučenin,
- je vhodná pro různé typy kontaminantů,
- nízké náklady,
- energie je získávána ze slunečního záření,
- minimálně poškozuje okolí,
- estetický přínos,
- je dobře přijímána veřejností⁶.

Nevýhodou fytořemediace:

- 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.

Fytořemediace se pomalu stává jednou z velmi efektivních metod pro kontrolu a odbourávání xenobiotik. Vegetace zajišťuje i jiný užitek v kontaminované oblasti, fy-

tořemediací vzrůstá množství organického uhlíku v půdě, který stimuluje aktivitu mikroorganismů. Na druhé straně je nutné si uvědomit, že tuto metodu není možné aplikovat ve všech situacích a pro všechny škodlivé látky.

2.1. Příjem a přeměna organických látek v rostlinných buňkách

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 oblastech⁸. Nejrychleji a také neúspěšněji se tato metoda vyvíjí v oblasti dekontaminace organických látek. Mohla by být potenciálně aplikována při řemediaci petrochemických zbytků, skládek odpadů chemického průmyslu, v místech muničních odpadů nebo v oblastech se zbytky pesticidů. Aby mohly být organické látky metabolizovány, musí být biologicky přístupné pro adsorpci, absorpci, transport a transformaci buď rostlinami nebo systémem mikroorganismů v rhizosféře (viz tab. I), což je rozhraní mezi kořenovým systémem a půdou, kde dochází k intenzivnímu růstu nejrůznějších bakteriálních konsorcií, která žijí v symbióze s rostlinami. Dostupnost závisí na lipofilite sloučenin, typu půdy a stáří kontaminantů, tj. době, po níž byly kontaminanty ve styku s půdou. Při delší expozici dochází k pevnější vazbě a hlubšímu průniku škodlivin do částic půdy, čímž se snižuje jejich biologická dostupnost.

Rostliny přijímají a přeměňují organické látky pomocí několika mechanismů⁸:

- a) přímou adsorpcí kořeny a následným přesunem do rostlinné tkáně, s akumulací ve formě nefytotoxických metabolitů,
- b) uvolňováním enzymů, které podporují mikrobiální aktivitu a biochemickou transformaci v půdě,
- c) zvýšenou mineralizaci v rhizosféře, která je typická pro činnost hub a mikrobiálních konsorcií,
- d) adsorpcí povrchem listů z atmosféry.

Těkavé látky rozpuštěné ve vodě jsou spolu s vodou nasávány kořenovým systémem a mnohdy bez metabolického ovlivnění odpařovány povrchem listů do ovzduší (transpirace).

ad a) 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. Některé hydrofobní organické sloučeniny se váží pevně na povrch

Tabulka I

Rostlinné druhy, které prokázaly usnadnění degradace škodlivých organických sloučenin v rhizosféře¹²

Rostlina	Chem. sloučenina	Poznámky
Pšenice	meconprop ^a 2,4-D ^b MCPA ^c	Smíšené mikrobiální kultury jsou schopné využívat tyto sloučeniny jako zdroj uhlíku. Pšenice toleruje tuto skupinu herbicidů.
Cukrová třtina		V rhizosféře cukrové třtiny výskyt populace mikroorg. degradujících 2,4-D ^b , obě rostliny tolerují 2,4-D ^b .
Africký jetel	2,4-D ^b	
Rýže	karbofuran ^d	Stimulace nitrifikace v rhizosféře.
Rýže	olejové zbytky	<i>Bacillus sp.</i> izolovaný z rhizosféry rostlin rostoucích na olejových zůstatcích, ale jen v přítomnosti kořenových reziduí.
Rákosí	rozpuštěné organické slouč. ^e	Schopnost odstranění aromatických i alifatických sloučenin.
Kukuřice	atrazin ^f	Produkce degradovaných atrazinových metabolitů mikroorganismy rhizosféry.
Fazole	diazinon ^g parathion ^h	Vzrůst mineralizace obou sloučenin v rhizosféře.
Luštěniny	nafta	Luštěniny jsou schopny čistit půdu kontaminovanou naftou.
Tabák	Mh ⁱ	Mh napomáhá zvyšování nitrifikace a mineralizaci organických sloučenin v rhizosféře.
Borovice		Vzrůstající degradace TCE ^j v rhizosféře a růst mineralizace TCE ^j v půdách s těmito rostlinami.
Sojové boby	TCE ^j	

^a 2-(2-Methyl-4-chlorfenoxy)propionová kys., ^b 2,4-dichlorfenoxyoctová kyselina, ^c 2-methyl-4-chlorfenoxyoctová kyselina, ^d 2,3-dihydro-2,2-dimethyl-7-benzofuranyl methylkarbamát, ^e benzen, bifenyl, chlorbenzen, toluen, ethylbenzen, naftalen, *p*-nitrotoluen, chloroform, 1,1,1-trichlorethan, ^f 2-chlor-4-ethylamin-6-isopropylamin-s-triazin, ^g O,O-diethyl-O-(2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinyl)fosforthionát, ^h O,O-diethyl-O-*p*-nitrofenylfosforthionát, ⁱ hydrazid kys. maleinové, ^j 1,1,2-trichlorethylen

kořenů a není snadné je odstranit. V takovém případě je nutné tyto rostliny sklídit i s navázanými látkami. Rozpuštější kontaminanty se nesorbují příliš pevně a jsou transportovány skrze membrány do rostlinné tkáně. Rostliny mohou organické sloučeniny skladovat v nepřeměněné formě nebo jsou původní sloučeniny pomocí detoxikačního metabolismu transformovány na nefytotoxické metabolity, které se uloží v různých místech rostlinné buňky, např. ve formě ligninu nebo ve vakuole. Organické sloučeniny mohou být také metabolisovány, rozloženy na oxid uhličitý a vodu nebo mohou být odpařeny.

ad b) 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 pro-

středí. Jsou to dehalogenasy, reduktasy organických nitrosloučenin, peroxidasy, lakasa (fenoloxidas) a nitrilasy⁹. Některé z těchto enzymů např. rostlinné peroxidasy již byly navrženy pro dekontaminaci fenolů a anilinů ve vodném prostředí¹⁰.

ad c) Biodegradace probíhající v rhizosféře

Rostliny napomáhají mikrobiální transformaci v rhizosféře. Mikroorganismy mohou využívat kontaminanty jako zdroj energie a uhlíku a přeměňovat je až na oxid uhličitý a vodu. Mikroorganismy transformují některé organické sloučeniny procesem zvaným kometabolismus, kdy příslušné organické polutanty neslouží jako zdroj energie a uhlíku¹¹. Typické složení rhizogenní oblasti zahrnuje 5×10^6 bakterií, 9×10^5 aktinomycet a 2×10^3 hub na gram půdy¹². Kořeny vytvářejí vhodné prostředí pro růst hub čeledi *Mycorrhizae*, které metabolisují organické polutanty¹³.

Tento typ hub roste v symbióze s rostlinnými kořeny a obsahuje unikátní enzymovou dráhu, jež napomáhá při degradaci organických látek, které nemohou být transformovány samotnými bakteriemi či rostlinami. Rostliny také vylučují exudáty stimulujiící bakteriální transformaci a podporující využití organického uhlíku v kořenové oblasti. Exudáty obsahují enzymy, alifatické a aromatické látky, aminokyseliny a cukry. Bylo prokázáno, že v rhizosféře některých rostlin např. pšenice, kukuřice a hrachu, se mikrobiální nárůst zvýší až 100 krát. Navíc samotný rychlý rozpad kořenových zbytků vede také k důležitému obohacení půdy o jednoduché organické sloučeniny, které posilují mikrobiální mineralizaci¹⁴.

ad d) 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 listů¹⁵.

2.2. Enzymy účastníci se degradačních a detoxikačních reakcí v rostlinných buňkách

Rostliny i živočichové jsou vystaveni řadě potenciálně toxických cizorodých chemických látek (xenobiotik). U živočichů dochází k metabolismu xenobiotik v játrech, kde jsou nepolární (lipofilní) škodliviny metabolisovány na rozpustnější formy. 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 výkalech¹⁶.

Metabolismus xenobiotik u rostlin můžeme také rozdělit do tří obdobných fází, přestože rostliny nemají skutečnou efektivní cestu vylučování¹⁶. Transformační (1. fáze) a konjugační (2. fáze) jsou obdobné, ukládání (3. fáze) nahrazuje vylučování. Místem ukládání v buňkách jsou vakuoly pro rozpustné a buněčná stěna pro nerozpustné konjugáty. Rostliny se podobají játrům i svou schopností metabolisovat široké spektrum xenobiotik, včetně polychlorovaných a polycyklických uhlovodíků. Rostliny se díky tomu nazývají "zelená játra" planety a hrají významnou roli při metabolisaci polutantů v životním prostředí.

Již před více než patnácti lety bylo dokázáno, že rostliny

obsahují enzymy, které se podobají v mnoha srovnávaných kriteriích dvěma enzymovým systémům v játrech, hlavním místě metabolisace xenobiotik u savců. Jsou to cytochrom P-450 monoxygenasy a glutathiontransferasy, ale také UDP-glukuronyltransferasy¹⁷. Byly detegovány rostlinné O-glukosyl a O-malonyltransferasy, právě tak jako N-glukosyl a N-malonyltransferasy se specifitou k chlorovaným xenobiotikům a karboxylesterasy se specifitou k chemickým látkám používaným jako změkčovadlo plastických hmot (tab. II).

V poslední době se věnuje značná pozornost velké skupině enzymů - monoxygenas, označovaných souhrnným názvem cytochrom P-450 (cit.¹⁸). Tyto enzymy mají v rostlinných buňkách řadu funkcí, mezi něž patří i funkce detoxikační¹⁹. Bylo zjištěno, že různé cytochrom P-450 monoxygenasy se mohou podílet na detoxifikaci xenobiotik proto, že se účastní demethylačních, dealkylačních, hydroxylačních, dehalogenačních, deaminačních a epoxidačních reakcí.

V praxi byly některé rostlinné enzymy také užity při dekontaminaci polutantů obsahujících fenolické sloučeniny. Detoxikační efekt byl zprostředkovan peroxidasami obsaženými v rostlinné tkáni. Tyto oxidoreduktasy byly schopny oxidovat fenol^{9,20}, a aromatické aminy²¹ na volné radikály nebo na chinony a benzochinonové iminy. Oxidační produkty se vázaly mezi sebou a výsledkem byly ve vodě nerozpustné oligomery. V půdním prostředí se tyto produkty vázaly na humus. Vznik oligomerů i vazba na humus byly doprovázeny detoxikačním efektem^{22,23}. Oxidační reakce zprostředkované křenovými peroxidasami by mohly být využívány pro vysrážení nejen fenolů, ale i anilinů a jiných aromatických sloučenin z vodných roztoků²⁴. Stejně reakce byly také zkoušeny pro odstranění polutantů z půdních sedimentů. Zpětné uvolňování detoxikovaných polutantů z oligomerů nebo humusu probíhá jen ve velmi malém měřítku, proto oxidační reakce mohou být považovány za bezpečný způsob dekontaminace.

Křenová peroxidasa byla též testována při dekontaminaci míst zamořených karcinogenními aromatickými aminy. Tyto látky se v současnosti dostávají do životního prostředí z různých zdrojů - výroba barev a jiných organických chemikálií, z uhelného průmyslu, výroba pryskyřic a plastů, textilní průmysl atd. Dosud používané metody pro odstranění aromatických aminů z vody zahrnují adsorpci na aktivní uhlík, extrakci, mikrobiální a chemickou oxidaci, elektrochemické metody a ozařování²⁵.

Křenové peroxidasy jsou v současnosti nejstudovanějšími enzymy užívanými při dekontaminaci. Nevýhodou je,

Tabulka II

Rostlinné enzymy účastnící se transformace organických látek¹⁶

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-dichlorfenoxyoctové kyseliny	β -D-glukosidy flavonoidů a isoflavonoidů
N-Glukosyltransferasy	chlorované aniliny a metribuzin	kyselina nikotinová 1-aminocyklopropyl
N-Malonyltransferasy	chlorované aniliny	karboxylová kyselina, D-aminokyseliny

že enzymové metody jsou drahé, především kvůli požadované 70-100 % čistotě enzymů.

Znalosti o rostlinných enzymech jsou zatím dosti omezené. Kromě křenové peroxidasy jsou dobře prozkoumány isoenzymy glutathion-S-transferasy se specifitou k určitým herbicidům^{26,27} a pšeničné esterasy, jejichž substrátem může být změkčovač plastů např. bis(ethylhexyl)ftalát²⁸.

2.3. Využití rostlinných tkáňových kultur pro studium schopnosti rostlin přeměňovat organické látky

V posledních letech bylo provedeno mnoho praktických pokusů pěstování různých druhů rostlin v kontaminovaných oblastech. Většina těchto experimentů však nebyla podložena výsledky výzkumu v menším měřítku (např. laboratorními pokusy, skleníkovými pokusy), které by dokumentovaly chování rostlinných druhů v kontaminovaném prostředí a pomohly tak rychleji vybrat ty, které jsou schopné v takovém prostředí nejen přežít, ale též účinně metabolizovat organické polutanty.

V laboratořích nejsou vždy využívány celé rostliny, ale často rostlinné tkáňové kultury (rostlinné buňky kultivované *in vitro*), které mají kratší generační dobu, velký nárůst biomasy, lze je pěstovat za standardních podmínek bez závislosti na počasí. Používá se několik typů tkáňových kultur - amorfní kalusové kultury, diferencované kultury, nebo transformované kořenové „hairy root“ kultury či embryogenní klony s výhonky^{29,34}.

Velmi významné je, že tyto asepticky pěstované rost-

linné buňky, tkáň či celé orgány rostou za definovaných podmínek, neobsahují mikroorganismy, a proto pokusy s nimi poskytují výsledky, za něž je odpovědný pouze metabolismus rostlin. Kultury typu „hairy root“ vzniklé transformací T-DNA bakterie *Agrobacterium rhizogenes* představují díky svému rychlému růstu vhodný experimentální model³³ vzhledem k tomu, že jejich vlastnosti jsou téměř shodné s vlastnostmi kořenů normálních rostlin.

Vodní rostliny *Myriophyllum aquaticum* (stolístek) a *M. spicatum* a hairy root kultury *Catharanthus roseus* (barvínek) byly použity pro zkoumání metabolismu TNT (cit.²⁹). Pomocí radioaktivně značeného TNT bylo zjištěno, že dochází k jeho transformaci a produkty 4-amino-2,6-dinitrotoluen a 2-amino-4,6-dinitrotoluen byly nalezeny jak v extraktu získaném z rostlinných buněk, tak extracelulárně v mediu. Mineralizace TNT nebyla zjištěna.

Velká pozornost je v současné době věnována přeměně a odbourávání PCB^{30,33}. Byl studován vliv inkubačních podmínek na účinnost přeměny kongenerů přítomných ve směsi polychlorovaných bifenyly, Deloru 103 (cit.³³). Bylo zjištěno, že přeměna výchozího množství PCB (50–100ppm) může dosahovat 40–50 % během 14–20 dnů inkubace. Při screeningu klonů odvozených od několika rostlinných druhů se ukázalo, že kultury transformované plasmidem bakterie *Agrobacterium tumefaciens* a/nebo diferencované kmene, přeměňují PCB ve většině případů s vyšší účinností než nediferencované kalusy --.

Wilken a kol.³¹ zjišťovali průběh metabolismu některých vybraných kongenerů PCB (např. 2-chlorbifenyly, 4,4'-dichlorbifenyly, 2,2',5,5'-tetrachlorbifenyly), kdy se prokázalo že méně chlorované kongenery jsou snáze transformovatelné než více chlorované. Jako produkty metabolismu byly nalezeny mono- a dihydroxy metabolity.

Sledováním přeměny 3,4-dichloranilinu³⁴ listy a suspenzními tkáňovými kulturami *soji* bylo zjištěno, že oba systémy téměř kompletně metabolisují tuto látku během 48 hodin. Jako produkty metabolismu byly identifikovány N-glukosyl a N-malonyl konjugáty 3,4-dichloranilinu, jejichž množství bylo různé v listech, buňkách a mediu suspenzní kultury. Zatímco v listech byly na struktury buněčných stěn vázány residua 6'-O-malonylesteru N-glukosyl-3,4-dichloranilinu, buňky suspenzní kultury, které tyto buněčné struktury postrádají, vytvářely především rozpustné do media vylučované N-malonyl-konjugáty.

3. Využití fytořemediace v praxi

Každá oblast, kontaminovaná určitým typem organických nebo anorganických látek, vyžaduje jiný typ rostliny nebo větší počet rostlinných druhů ve skupině. Často bývá používána vojtěška pro svojí schopnost fixovat dusík a díky vlastnostem kořenů, které dosahují vhodné hloubky. Velmi výhodné pro fytořemediaci jsou stromy z rodu *Salicaceae* (topoly a vrby), které jsou odolné a velmi rychle rostou. Byly vysázeny v různých lokalitách, kde pomáhaly regulovat tok spodní vody. Řebříček vodní byl využit k částečnému odstranění škodlivých látek ve spodní vodě³⁵. Například, v Auburn University byly prováděny testy se stolístkem (*Myriophyllum aquaticum*)⁸. Tyto rostliny byly zasazeny do půdy z oblastí kontaminovaných trinitrotoluenem (TNT), kromě reakce rostlin závislé na kontaminaci byla testována i přítomnost enzymu nitrátoreduktasy. Při sledování vlivu zvyšující se koncentrace TNT na další půdní organismy bylo zjištěno, že při obsahu 5000 ppm je půda zcela sterilní. Vysazení stolísku do kontaminované půdy již po týdnu způsobilo, že koncentrace rozpuštěného trinitrotoluenu klesla ze 128 ppm na 10 ppm. Vymizení TNT z půdy, připsované přítomnosti a schopnostem rostlin stolísku, proběhlo tak rychle, že přežily i modelové organismy nasazené spolu s rostlinami do vzorků půdy (šneci a pulci). Při sledování reakce jednotlivých částí stolísku vysázeného na kontaminované půdě bylo zjištěno, že nové kořeny vyrůstající podél okrajů kontaminované oblasti pronikají do větší hloubky a zachycují i škodliviny ze spodních vrstev půdy.

Jiný rostlinný systém, hybridní topoly, nabízí také různé výhody pro dekontaminaci znečištěné půdy především organickými kontaminanty. Tyto hybridy jsou stabilní, dlouho žijí (25-50 let), rychle rostou a snázejí poměrně vysoké koncentrace organických látek. Hybridní topoly rostou z dlouhých štěpů zasazených hluboko do půdy, mohou být

pokáceny a přesazeny z kusů kořenů. Byly použity vzorky hybridních topolů *Imperial Carolina (Populus deltoides nigra, DN 34)*, které mají upravený kořenový systém pro růst do hloubky 1,7 metru. V období sucha dosahují kořeny až k hladině spodní vody a tvoří hustou kořenovou síť, která zajišťuje velký odběr vody. Topoly podporují půdní prosakování a snižují migraci polutantů. V dobrých půdních a teplotních podmínkách mohou stromy růst až do výšky dvou metrů hned v prvním období po zasazení a později dosáhnout výšky pět až osm metrů. Stromky byly vysázeny v počtu 10 000 na hektar, ale po několika letech došlo k přirozenému poklesu na 2 000 na hektar. Průměrná fixace uhlíku v prvních letech byla $2,5 \text{ kg} \times \text{m}^{-2} \times \text{rok}^{-1}$.

Čtyři řady hybridních topolů byly vysázeny v Iowě jako nárazníková zóna při úniku zemědělských hnojiv. Cílem bylo zastavit a odstranit atrazinové a dusíkaté polutanty před jejich rozšířením do blízkého potoka a spodní vody. Koncentrace dusičnanů ve spodní vodě poklesla po vysazení stromů z $50-100 \text{ mg} \times \text{l}^{-1}$ na méně než $5 \text{ mg} \times \text{l}^{-1}$. Dále bylo prokázáno, že stromy navázaly 10–20 % z celkového množství atrazinu.

Topoly se využívají pro osazení městských ploch⁸. V Beavertonu, Oregon, bylo ve spolupráci s projektantskou firmou vysázeno 10 000 stromů na hektar. Hlavním cílem osazení volných ploch ve městě nebylo odstranění organických nebo jiných polutantů, ale udržení čistoty místa a snižování hladiny prашných škodlivin. Po třech letech byla výrazně snížena hladina prašnosti a navíc byla půda zbavena kontaminantů. Obecně se hybridní topoly zdají být vhodné pro odstraňování organických látek a udržení čistého životního prostředí, ale vyšší koncentrace kovů, solí nebo amonných sloučenin jsou pro ně toxické.

Tabulka III ukazuje některé další možné využití rostlin při fytořemediaci.

Dalšími rostlinami uplatňujícími se při fytořemediaci jsou vodní hyacinty, které byly použity jako součást programu pro čištění užitkové vody před vypouštěním do řek¹ a vojtěška, která absorbuje chlorované organické sloučeniny³⁶.

Jeden ze zavedených způsobů fytořemediace je užití mrkve pro absorpci dichloro-difenyiltrichloroethanu. Biomasa je po sklizni a vysušení spálena a popel je uložen na vyhrazených zabezpečených skládkách³⁷.

Při odstraňování lipofilních polutantů byly při testech na polích použity cukina (*Cucurbita pepo* L. convar. *gironi* cv. Diamant F1), dýně (*Cucurbita pepo* L. cv. Gelber Zentner) a okurka (*Cucumis sativus*). Cukiny a dýně vykazovaly vysokou schopnost akumulace dibenzofuranů z půdy, okurky pak vyšší schopnost absorpce ze vzduchu¹⁵.

Tabulka III
Aplikace fytořediacce na kontaminovch mstech⁸

Lokalita	Využití	Typ kontaminantů	Výsledky
Amana, Iowa	hybridní topoly fytořediacce, odstranění kontaminace	NO ₃ ⁻ , atrazin, alachlor, půdní eroze	NO ₃ ⁻ a 0,1-20 % atrazinu odstraněno
Amana, Iowa	topoly, kukuřice aplikace na pdu s odpadními polutanty	PCB	imobilizace organických látek
Beaverton, Oregon	obecn znečiřtn plocha - hybridní topoly	organické látky, kovy amonn sloučeniny	celkov vyčiřtn oblasti
Iowa City, Iowa	topoly - odst vody ze zavodněných oblastí	sloučeniny chloru, kovy, NH ₃	topoly přeřily 1200 mg x l ⁻¹
New Mexico	<i>Datura</i> sp., <i>Lycopersicon</i> sp. kontaminovan půda	trinitrotoluen	vznamn odstranění
Oak Ridge, Tennessee	borovice, zlat dř na půdě s organickými škodlivinami	trichlorethylen a dalř	zvýšení biomineralizace
Salt Lake City, Utah	přenice na kontaminovan půdě	pentachlorfenol, fenantren	zvýšení mineralizace
New Jersey, Illinois	topoly pro čiřtn spodní vody	NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺	pokles znečiřtn
Corvallis, Oregon	topoly, soja na půdě s rozpuřtnmi organickými sloučeninami	nitrobenzen a dalř vborn	akumulace v lab. podm.
McMinnville, Oregon	topoly na 6 ha - zabránění prosakování	NH ₃ , soli	nulov zůstatek kontaminace
Childersburg, Alabama	půda se stolstkem		zvýšení degradace

trinitrotoluen

4. Závěr

Uveden výsledky praktických i laboratorních pokus jednoznačně potvrzují význam fytořediacce a mořnost jejího využití při velkoplošnm odstraňování škodlivin. Z přehledu je také zřejm, že v dosavadních aplikacích pevařuj empirick přístupy a je nutn rozshl základní výzkum, který by umořnil vybrat „na míru“ druhy rostlin potebn k odstranění znečiřtn urit lokality v závislosti na druhu znečiřtn a typu lokality. Nejnovř výsledky zskan pomocí kultur rostlinných bunek kultivovaných *in vitro* a pomocí genových manipulací nm poskytují důvody k oprávněnému optimismu.

Tato prce byla vypracována s podporou grantu . 203/96/0499 Grantov agentury České republiky.

LITERATURA

- Cunningham D. S., Berti W. R., Huang W. J.: TIB-TECH 13, 393(1995).

Rostliny mohou být také pouřity pro identifikaci některých druhů polutantů vyskytujících se ve vzduchu, jejichž koncentrace se nedá stanovt břnmi analytickými metodami. Napřiklad trichloroactov kyselina (TCA), kter byla uřivna do roku 1960 jako herbicid, a kter vzniká také v technologickm procesu některých papíren. pro stanoven emisí TCA byly ve Finsku v oblasti papíren vysazeny v okruhu 5-120 km borovice (*Pinus sylvestris*) a prokázalo se, že koncentrace TCA akumulovan borovicemi se vzdáleností od továrny klesá. Plošn testy s borovicemi byly prováděny v celé Evropě pro zjiřtn oblastí kontaminovaných organochlorovanmi sloučeninami. V bval NDR byla nalezena vřř koncentrace DDT, koncentrace PCB, hexachlorcyklohexanu a hexachlorbenzenu byla stejn ve vřech zkoumaných oblastech, v severním Švédsku byla prokázána zvšen koncentrace pentachlorfenolu¹⁵.

Dále byly uřivny čern ořeřky (*Juglans nigra*), topoly (*Liriodendron tulipifera*), duby (*Quercus alba*) a javory (*Acer saccharum*, *Acerrubrum*) ke zjiřtn koncentrace PCB v Indian. PCB se kumuluje v kůře stromů a jeho koncentrace udává stupeň kontaminace oblasti.

2. Cunningham D. S., Berti W. R.: *Cell. Dev. Biol.* **29P**, 207(1993).
3. Gabbriellini R., Mattioni C, Vergnano O.: *J. Plant Nutr.* **14**, 1067(1991).
4. Barz W, Ellis B. E.: *Bot. Ges.* **94**, 1 (1981).
5. Hanks J., Ritchie J. T.: *Am. Soc. Agron.* **31**, 231 (1991).
6. Shimp J. F., Tracey J. C, Davis L. C, Lee E., Huang W., Erickson L. E., Schnoor J. L.: *CRC Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **23**, 41 (1993).
7. Glass D. J.: *Gen. Engin. News* **8**, 41 (1997).
8. Schnoor J. L., Licht L. A., McCutcheon C. S., Wolfe N. L., Carreira L. H.: *Environ. Sci. Technol.* **29**, 318 (1995).
9. Nicell J. A., Bewtra J. K., Biswas N., Taylor K. E.: *Wat. Res.* **27**, 1629(1993).
10. Bollag J.-M.: *Environ. Sci. Technol.* **26**, 1876(1992).
11. Nichols T. D., Wolf D. C, Rogers H. B., Beyrouy C. A., Reynolds C. M.: *Wat. Air Soil Pol.* **95**, 165(1997).
12. Anderson T. A., Guthrie E. A., Walton B. T.: *Environ. Sci. Technol.* **27**, 2630(1993).
13. Walton B. T., Anderson T. A.: *Appl. Environ. Microbiol.* **56**, 1012(1990).
14. Abramowicz M.: *Crit. Rev. Biotechnol.* **10**, 241 (1990).
15. Simonich S. L., Hites R. A.: *Environ. Sci. Technol.* **29**, 2905 (1995).
16. Sandermann H.: *TIBTECH* **17**, 82 (1992).
17. Kreuz K., Tommasini R., Martinoia E.: *Plant Physiol.* **777**, 349 (1996).
18. Schuler M.: *Crit. Rev. Plant Sci.* **75**, 235 (1996).
19. Bollwel G. P., Bozak K., Zimmerlin A.: *Phytochemistry* **37**, 1491 (1994).
20. Dec J., Bollag J. M.: *Biotechnol. Bioeng.* **44**, 1132 (1994).
21. Klibanov A. M., Morris E. D.: *Enzyme Microbiol. Technol.* **i**, 119(1981).
22. Bollag J. M., Shuttleworth K. L., Anderson D. H.: *Appl. Environ. Microbiol.* **54**, 3086 (1988).
23. Shannon M. J. R., Bartha R.: *Appl. Environ. Microbiol.* **54**, 1719(1988).
24. Klibanov A. M., Tu T. M., Scott K. P.: *Science* **227**, 259(1983).
25. Slein M. W., Sansone E. B.: *Degradation of Chemical Carcinogens*. Van Nostrand Reinhold Co, New York 1980.
26. Timmerman K. P.: *Physiol. Plantarum* **77**, 465(1989).
27. Coleman J. O. D., Blake-Kalff M. M. A., Emyr Davis T. G.: *Trends Plant Sci.* **2**, 144 (1997).
28. Nicell J. A., Bewtra J. K., Taylor K. E., Biswas N., St. Pierre C.: *Wat. Sci. Technol.* **25**, 157 (1992).
29. Hughes B.J., Shanks J., Vanderford M., Lauritzen J, and Bhadra R.: *Environ. Sci. Technol.* **31**, 266 (1997).
30. Lee I., Fletcher J.S.: *Plant Cell Rep.* **77**, 94 (1992).
31. Wilken A., Bock C, Bokern M., Harms H.: *Environ. Chem. Toxicol.* **14**, 2017 (1995).
32. Macková M., Macek T., Očenášková J., Burkhard J., Demnerová K., Pazlarová J.: *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **39**, 317(1997).
33. Macková M., Macek T., Kučerová P., Burkhard J., Pazlarová J., Demnerová K.: *Biotechnol. Lett.* **19**, 787 (1997).
34. Gareis Ch., Rivero Ch., Schuphan I., Schmidt B.: *Z. Naturforsch.* **47**, 823 (1992).
35. Nyer K. E., Gatliff G. E.: *Treatment Technol.* **1996**, 58.
36. Narayanan M., Davis L. C, Erickson L. E.: *Environ. Sci. Technol.* **29**, 2437 (1995).
37. Cunningham S. D., Ow D. W.: *Plant Physiol.* **110**, 715 (1996).

P. Kučerová^a, M. Macková^a, and T. Macek^b (^a*Institute of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology,* ^b*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Perspectives of Phytoremediation in Decontamination of Organic Pollutants and Xenobiotics**

Vegetation is able to remove, contain or render harmless environmental organic contaminants. Recently this ability of plants has been used for *in situ* treatment of contaminated soils and sediments and this technology - phytoremediation - has already been shown to be effective in a number of full-scale and pilot studies This paper provides an overview of the experiences of the practical use of phytoremediation in decontamination of organic pollutants, summarizes the advantages and disadvantages of this technique in contrast with other technologies. Enzymes taking part in transformation reactions are described and the mechanism used by plants for the transformation and degradation of organic pollutants are discussed. The use of plant cells cultivated *in vitro* as model systems for studying the metabolism of exogenously applied pollutants is also shown.