

**UNIVERZITA KONŠTANTÍNA FILOZOFA
FAKULTA PRÍRODNÝCH VIED**

**Vplyv ťažkých kovov na vybrané fyziologické charakteristiky
sóje fazuľovej**

Bakalárska práca

Študijný program: učiteľstvo akademických predmetov biológia - chémia

Školiace pracovisko: Katedra botaniky a genetiky, FPV UKF v Nitre

Školiteľ: RNDr. Beáta Piršelová, PhD.

Nitra 2011

Lenka Karlová



Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre
Fakulta prírodných vied

ZADANIE ZÁVEREČNEJ PRÁCE

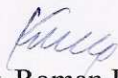
Meno a priezvisko študenta: Lenka Karlová
Študijný program: učiteľstvo biológie a chémie (Učiteľské štúdium, bakalársky I. st., denná forma)
Študijný odbor: 1.1.1 učiteľstvo akademických predmetov
Typ záverečnej práce: Bakalárska práca
Jazyk záverečnej práce: slovenský

Názov: Vplyv ťažkých kovov na vybrané fyziologické charakteristiky sóje fazuľovej

Anotácia: Téma sa teoreticky zameriava na problematiku vplyvu ťažkých kovov na rastliny. Praktická časť práce predstavuje analýzu vplyvu vybraných ťažkých kovov na niektoré fyziologické charakteristiky dvoch odrôd sóje fazuľovej (čerstvá hmotnosť koreňov a výhonkov, počet prieduchov, počet epidermálnych buniek, stomatálny index).

Školiteľ: RNDr. Beáta Piršelová, PhD.
Oponent: RNDr. Peter Boleček, PhD.
Katedra: KBG - Katedra botaniky a genetiky
Vedúci katedry: doc. RNDr. Roman Kuna, PhD.
Dátum zadania: 28.09.2010

Dátum schválenia: 24.02.2011


doc. RNDr. Roman Kuna, PhD.
vedúci/a katedry

ABSTRAKT

KARLOVÁ, Lenka: Vplyv ťažkých kovov na vybrané fyziologické charakteristiky sóje fazuľovej. [Bakalárska práca]. Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre. Fakulta prírodných vied. Školiteľ: RNDr. Beáta Piršelová, PhD. Stupeň odbornej kvalifikácie: Bakalár študijného programu učiteľstvo akademických predmetov, odbor biológia- chémia. Nitra: FPV, 2011. 37 s.

Ťažké kovy predstavujú pre rastliny významný stresový faktor, ktorý vyvoláva početné fyziologické zmeny vedúce k inhibícii rastu a v konečnom dôsledku i zániku rastlín. Cieľom bakalárskej práce bolo porovnať rozdiely v tolerancii dvoch odrôd sóje fazuľovej (*Glycine max*, cvs. Cordoba, Bolyi 44) na ióny kadmia a charakterizovať zmeny, ktoré nastávajú v počte prieduchov a epidermálnych buniek listov dvoch vývinových štádií vystavených účinkom iónov testovaného kovu. Korene odrody Bolyi a Cordoba reagovali na ióny kadmia omnoho citlivejšie (pokles čerstvej hmotnosti o 37,5 a 44,11%) ako výhonky (pokles čerstvej hmotnosti o 1,6 a 9,8%). V hodnotách stomatálneho indexu sme nezaznamenali výrazné zmeny oproti kontrole. V tomto parametri sme nezaznamenali rozdiely ani medzi vývinovými štádiami listov ani medzi testovanými odrodami. Výraznejšie medziodrodové rozdiely sme však zaznamenali v počte epidermálnych buniek na vrchnom a spodnom liste odrody Cordoba (na vrchnom liste nastalo zníženie o 17,18%, 16,02% a na spodnom liste zníženie o 3,44%, 1,88%).

Na základe hodnotených parametrov sme dospeli k záveru, že testovaná dávka kadmia ovplyvnila štruktúru epidermy listov, čo sa prejavilo zmenami v počte prieduchov a epidermálnych buniek. Výrazné medziodrodové zmeny v tolerancii na testovanú dávku kadmia sme však nezaznamenali.

Hlbšie biochemické a molekulárno-biologické analýzy daných odrôd by však mohli odhaliť ďalšie súvislosti v reakcii daných odrôd na ióny kadmia.

Kľúčové slová: Kadmium, Sója fazuľová, Stres, Stomatálny index

ABSTRACT (v anglickom jazyku)

KARLOVÁ, Lenka: Effect of heavy metals on some physiological characteristics of soybean. [Bachelor thesis]. Constantine the Philosopher University in Nitra. Faculty of Natural Sciences. Supervisor: RNDr. Beáta Piršelová, PhD. Degree Qualification level: Bachelor degree program Teaching, Department of Biology - Chemistry. Nitra: FNS, 2011. 37 p.

Heavy metals pose a significant stress factor for plants, which causes numerous physiological changes leading to growth inhibition and ultimately extinction of plants. The aim of our study was to compare differences in tolerance of two varieties of soybean (*Glycine max*, cvs. Cordoba, Bolyi 44) for cadmium ions and characterize the changes that occur in the number of stomata and epidermal cells of leaves of two life stages exposed to metal ions tested. The roots of the variety Bolyi and Cordoba responded to cadmium ions much more sensitive (fresh weight decrease by 37,50 and 44,11%) than shoots (fresh weight decrease by 1,6 and 9,8%). The stomatal index values, we did not experience significant changes when compared with control. This parameter was recorded on the differences between developmental stages of leaves or between test varieties. Intervarietal pronounced differences were observed in the number of epidermal cells on the upper and lower leaf of variety Cordoba (decrease by 17,18% and 16,02% in upper leaf and decrease by 3,44 and 1,88% in lower leaf).

Based on the evaluation parameters, we concluded that the test dose of cadmium affected the structure of leaf epiderma, which is reflected in changes in the number of stomata and epidermal cells. Intervarietal significant changes in tolerance to the test dose of cadmium, we have not seen.

Deeper biochemical and molecular biological analysis of the varieties, however, could reveal further response in respect of the varieties to cadmium ions.

Keywords: Cadmium, Soya bean, Stress, Stomatal index

OBSAH

1. Úvod.....	6
2. Prehľad literatúry.....	7
2.1 Rastlina.....	7
2.1.1 Listy a ich funkcia.....	7
2.1.2 Bunky pokožky.....	8
2.2 Rastliny a stres.....	11
2.2.1 Zdroje stresu rastlín.....	12
2.2.2 Fyziológia stresu.....	13
2.3 Ťažké kovy v rastline.....	13
2.3.1 Príjem a transport kovov rastlinami.....	14
2.3.1.1 Mechanizmus príjmu kovov.....	14
2.3.1.2 Transport kovov v rastline.....	15
2.3.2 Tolerancia rastlín voči ťažkým kovom.....	16
2.3.3 Kadmium.....	17
2.3.3.1 Mechanizmus príjmu kadmia rastlinami.....	19
2.3.3.2 Vplyv kadmia na rastliny.....	20
2.3.3.3 Tolerancia rastlín na ióny kadmia.....	21
2.4 Charakteristika sóje fazuľovej.....	22
2.4.1 Význam a využitie sóje.....	22
2.4.2 Požiadavky na podmienky prostredia.....	23
3. Ciele práce.....	25
4. Materiál a metodika.....	26
4.1 Založenie nádobového pokusu.....	26
4.2 Stanovenie fyziologických parametrov rastlín a tolerančného indexu.....	26
4.2.1 Meranie hmotnosti rastlinných orgánov.....	26
4.2.2 Stanovenie tolerancie koreňov a výhonkov na ióny Cd ²⁺	27
4.2.3 Stanovenie počtu prieduchov a stomatálneho indexu.....	27
5. Výsledky a diskusia.....	28
6. Záver.....	32
7. Zoznam použitej literatúry.....	33

1. Úvod

Rastliny sú dôležitou súčasťou životného prostredia a majú nezastupiteľný význam v každom ekosystéme. Z tohto a mnohých iných dôvodov sa často stávajú objektmi rôznych štúdií. Už Aristoteles a jeho žiaci uskutočnili prvé filozofické pokusy o pochopenie rastlín v ich komplexnosti. Spočiatku sa skúmal hlavne ich výskyt, taxonómia a morfológia. Neskôr, najmä vďaka technologickému pokroku, ktorý viedol k zostrojeniu mikroskopu, sa stali súčasťou „rastlinnej vedy“ aj anatómia a cytológia. V súčasnosti, vzhľadom na množstvo nových poznatkov, dosiahla fytoológia nový míľnik. Objavila sa rastlinná neurobiológia ako najnovšia oblasť rastlinných vied spájajúca molekulárnu biológiu s ekológiou.

Význam monitorovania a štúdia účinkov ťažkých kovov na živé organizmy vzrastá najmä v posledných desaťročiach. Desaťročia vykonávaný monitoring životného prostredia indikuje, že pôdy a recentné sedimenty v mnohých častiach sveta, najmä mestských a priemyselných oblastiach, obsahujú nepravidelne vysoké koncentrácie ťažkých kovov. Hoci v mnohých prípadoch nie sú také vysoké, aby zapríčinili akútne toxické problémy, zvýšené koncentrácie v potravinovom reťazci môžu spôsobovať významné zdravotné následky za dlhé časové obdobie.

Ťažké kovy predstavujú pre rastliny významný stresový faktor, ktorý vyvoláva početné fyziologické zmeny vedúce k inhibícii rastu a v konečnom dôsledku i zániku rastlín. Štúdium rastlín vystavených rôznym kontaminantom je mimoriadne dôležitý jednak preto, že rastliny predstavujú dôležitý článok potravinového reťazca a jednak preto, že rastliny predstavujú sľubný objekt pre dekontamináciu pôd v procese fytoremediácie. Vplyv ťažkých kovov na rastliny bol študovaný v mnohých súvislostiach, avšak mnohé mechanizmy rezistencie na ióny ťažkých kovov sú neobjasnené. Pomerne málo poznatkov existuje o vplyve iónov kovov na niektoré morfologické a fyziologické charakteristiky listov. Cieľom bakalárskej práce je porovnať rozdiely v tolerancii dvoch odrôd sóje fazuľovej na ióny kadmia a charakterizovať zmeny, ktoré nastávajú v počte prieduchov a epidermálnych buniek listov dvoch vývinových štádií vystavených účinkom iónov testovaného kovu.

Ďakujem svojej konzultantke RNDr. Beáte Piršelovej PhD., za cenné rady, poskytnutie nových informácií a odborné vedenie pri vypracovaní bakalárskej práce.

2. Prehľad literatúry

2.1 Rastlina

Organizmy sú dynamické systémy, ktoré sa vyznačujú neprestajnou výmenou látok v neoddeliteľnej súvislosti s okolitou prírodou.

Fyziologické procesy v rastlinách sú výsledkom dvoch zákonitostí. Prvou je schopnosť živej rastliny vykonávať určité špecifické funkcie, ktoré sa súhrnne nazývajú život. Druhou je závislosť rastliny od faktorov mimo nej, napr. od tepla, svetla, vlhkosti. Rastlina môže životné funkcie vykonávať len v určitom rozsahu týchto faktorov a nemožno ju oddelovať od jej adekvátneho prostredia.

Prostredie je všetko, čo rastlinu obklopuje. Životné deje sa môžu uskutočňovať len v určitom prostredí. Tie zložky prostredia, ktoré na rastlinu akýmkoľvek spôsobom vplývajú, nazývame ekologické faktory a dovedna tvoria ekologické prostredie (Pastýrik, 1979).

2.1.1 Listy a ich funkcia

V procese evolúcie sa vyšším rastlinám vyvinuli listy ako bočné výrastky stonky. Listy a stonka tvoria organický celok, ktorý sa označuje výhonok (*frons*). Listy na rozdiel od stonky majú obmedzený rast.

List v najširšom zmysle slova sa nazýva *fylom*. Najčastejšie ho tvorí do plochy rozšírená listová čepeľ (*lamina*), rôzne dlhá stopka (*petiolus*) a niekedy aj pošva (*vagina*). Rôznym druhom rastlín môžu chýbať niektoré časti listov, prípadne niektorá časť je vyvinutá na úkor druhej. Miesto, kde sa na stonke pripája list, sa nazýva listová inercia. Opisná morfológia rozlišuje veľké množstvo rôznych listových foriem podľa členenia listovej plochy aj podľa tvaru alebo celkového obrysu (Luxová, 1974).

Podľa anatomickej stavby sa listy rozdeľujú na jednolíce (monofaciálne) a dvojlíce (bifaciálne). Monofaciálne listy majú rovnako diferencovanú vrchnú i spodnú stranu listu. Takéto listy majú mnohé tropické, výslnné rastliny napríklad eukalyptus- *Eucalyptus sp.*, monofaciálne listy sú napríklad aj listy kosatca nízkeho- *Iris pumila L.*, listy niektorých ľaliovitých rastlín- *Liliaceae* a patria sem i rúrkovité listy cibule kuchynskej- *Allium cepa L.*

V rámci anatomickej stavby listu sa rozlišujú pokožkové pletivá, základné pletivá a vodivé pletivá (Hudák a i., 1989).

Anatomická stavba listu je dokonale prispôsobená jeho fyziologickej funkcii. Základné fyziologické funkcie typického zeleného listu sú:

1. fotosyntetická asimilácia
2. transpirácia (vyparovanie vody z tela rastliny v podobe vodnej pary)
3. dýchanie - výmena plynov

Diferenciácia listov a ich anatomická stavba sú v úzkom vzťahu s faktormi prostredia a prebieha tak, aby v optimálnej miere zabezpečovala plnenie fyziologickej funkcie listu. Anatomická stavba listu sa mení v závislosti od podmienok prostredia (Napp - Zink, 1973; Eliáš, 1981; Benčať, 1986).

List vykonáva svoje funkcie vďaka špecializovaným bunkám krycím, vodivým a základným pletív.

2.1.2 Bunky pokožky

Krycie pletivá sú z cytologického hľadiska veľmi heterogénne. Pokožka kryje celý primárny povrch rastliny počas primárneho rastu a jej kontakt s vonkajším prostredím predurčuje jej funkcie i štruktúru. Transpiráciu zamedzuje vrstva kutínu (kutikula) na povrchu buniek (pri niektorých druhoch i vosk). Tesné usporiadanie buniek a kutikula zaručujú tiež mechanickú funkciu epidermy. Na výmenu plynov sú špecializované prieduchy. Pokožka koreňov (rizoderma) je prispôsobená absorpcii živín predovšetkým tvorbou koreňových vlásokov. Na pokožke sú rôzne trichómy, väčšinou s ochrannou funkciou, v niektorých prípadoch sú na pokožke aj špecializované sekrečné štruktúry.

Pokožkové bunky obsahujú aj v dospelosti živý protoplast a často majú aj dôležitú zásobnú funkciu, najmä pri zhromažďovaní vody. Cytoplazma s organelami sa obmedzuje na tenkú nástennú oblasť, stred bunky je vyplnený vakuolou, často obsahujúcou antokyan. Jadro je guľovité, elektrón transportné, jadierko malé a kompaktné. Plastidy v pokožke väčšiny rastlín nie sú typické chloroplasty, ich lamelárny systém je vyvinutý len veľmi slabo a aj obsah chlorofylu je nízky. Môžu však obsahovať škrob alebo bielkoviny. Mitochondrie majú dobre vytvorený systém kríst. Zastúpenie endoplazmatického retikula je v závislosti od druhu rôzna, Golgiho aparát je zvyčajne vysoko aktívny.

Plazmalema je poprehýbaná a zvltnená, častý je výskyt vezikúl v priestore medzi plazmalemou a bunkovou stenou, čo súvisí s transportom látok z vnútra bunky na povrch

(Hudák a i., 1989).

Prieduchy

Epiderma nie je súvislá vrstva buniek, ale je prederavená množstvom otvorov-prieduchov, ktoré majú charakteristickú stavbu i funkciu. Otvory prieduchov tvoria sotva 1% celkovej plochy listu, a preda nimi prechádza takmer všetka vyparovaná voda. Transpirácia otvorom prieduchu je fyzikálny proces vyparovania. Fyzikálne zákonitosti vyparovania sa uplatňujú najmä vo funkcii prieduchov, ktorých otvory sú síce len nepatrnými vyparovacími plochami, ale celkove predstavujú veľkú vyparovaciu plochu intercelulár mezofylu.

Počet a veľkosť prieduchov je osobitnou vlastnosťou rastlinného druhu. Aj u toho istého rastlinného druhu sa menia podľa podmienok prostredia a podľa polohy na liste. Prieduchy rastlín vlhkých stanovišť majú zatváracie bunky nad úrovňou epidermy, kým rastliny suchých stanovišť ich majú pod jej úrovňou, čím sa tvorí dutinka so závetrím spomaľujúcim odvíevanie vodných pár z otvoru prieduchu.

Osobitnou vlastnosťou prieduchov je schopnosť regulovať transpiráciu. Zatváracie bunky prieduchov môžu zväčšovať alebo zmenšovať otvor, čo sa odzrkadľuje v zmenách intenzity transpirácie.

Účelné pohyby, t.j. otváranie a zatváranie prieduchov, sú vyvolané zmenami osmotického napätia (turgoru) zatváracích buniek. Osmoticky aktívne látky si zatváracie bunky produkujú jednak samy, lebo majú fotosyntetizujúce chloroplasty, a jednak ich získavajú difúziou zo susedných buniek. Takýmito osmoticky účinnými látkami sú cukry. Otvorenie prieduchov je výsledkom hydrolytického štiepenia škrobu na cukry. Škrob je nerozpustný, a teda osmoticky inaktívny, kým monosacharidy glukóza a fruktóza sú rozpustné a osmotickú aktivitu prejavia zvýšením sacej sily bunky, a tým aj zvýšením turgoru. Prieduchové bunky nasávajú vodu z okolitých buniek, napnú sa, čo vyvolá otvorenie a rozšírenie štrbiny medzi nimi. Zatvorenie prieduchov je opačný proces-kondenzácia rozpustných monosacharidov na škrob vyvolá pokles osmotickej hodnoty, zníženie turgoru a zúženie alebo uzavretie otvoru.

Pri osmotickom otváraní a zatváraní prieduchov má význam hladina enzýmov, ktorú ovplyvňuje kyslosť bunkovej šťavy (obsah vakuol). Z vonkajších podmienok má význam svetlo ako faktor ovplyvňujúci fotosyntetickú činnosť a tvorbu asimilátov, ktorých tvorbou a ukladaním sa menia pomery acidity. Na svetle je acidita bunkovej šťavy

zavíracích buniek prieduchov vyššia ako pH 6, v tme klesne pod pH 5. Táto zmena sa prejaví tým, že svetlo podporuje otváranie prieduchov. Ak rastlinu pestovanú v tme osvetlíme, vyvoláme zmenu pH, na čo rastlina reaguje otvorením prieduchov. To je fotoaktívna reakcia prieduchov. V prírode sa uskutočňuje ráno, čo vzápätí vyvolá zvýšené vyparovanie vody.

Na pohyby zavíracích buniek prieduchov má vplyv aj obsah a prísun niektorých iónov minerálnej výživy. Rýchle otváranie prieduchov na svetle v podmienkach, keď voda nie je limitujúcim faktorom, je zapríčinené iónmi K^+ , ktoré sa dostávajú aktívne do zavíracích buniek energiou získanou z ATP vyprodukovaného pri cyklickej fosforylácii. Mechanizmus pôsobenia iónov K^+ vnútri zavíracích buniek sa vysvetľuje ich priamym účinkom na osmotický potenciál s následným rýchlym príjmom vody a zväčšením otvoru prieduchu. Ióny K^+ rozptýlené v bunkách epidermy sa po osvetlení rýchle hromadia v zavíracích bunkách a spôsobia otvorenie prieduchov. Za neprítomnosti iónov K^+ nahrádzajú ich funkciu ióny Na^+ . Ióny NH_4^+ otváranie prieduchov inhibujú (Pospíšilová a i., 1982).

Pokles obsahu vody v rastline sa prenáša z cievnych zväzkov do mezofylových a pokožkových buniek, ktoré susedia s prieduchmi, načo sa prieduchy zavrú. To je hydroaktívna reakcia prieduchov. V prírode sa to deje pri dočasnom vädnutí listov za suchého, slnečného a horúceho počasia, pričom hydroaktívna reakcia prevláda nad fotoaktívnou.

Dlhotrvalé dažde zásobujú rastliny nadmerným množstvom vody, čo sa prejaví abnormálnym rozťahovaním a napínaním buniek epidermy, ktoré tlačia na prieduchové bunky a svojím tlakom ich mechanicky stlačia a zavrú otvor medzi nimi. Táto hydropasívna reakcia prieduchov je pasívnym úkazom a nesúvisí s aktívnou regulačnou schopnosťou prieduchov.

S pravidelnou pulzáciou svetelných, teplotných a vlhkostných podmienok sa periodicky otvárajú a zavírajú aj prieduchy. Za normálnych vlhkostných pomerov sa prieduchy otvárajú v súhlase s ich fotoaktívnou reakciou a najviac sú otvorené okolo poludnia. Za prechodného nedostatku vody sa pletivá nemôžu plynule zásobovať vodou, preto v poludňajších hodinách začína prevládať hydroaktívna reakcia a otvor prieduchov sa prechodne zužuje alebo zavára. Regulačná činnosť prieduchov závisí aj od vývinového stavu listov. Prieduchy na celkom mladých, z púčikov vyrastených listoch sú zo začiatku zavíracie a svoje typické regulačné pohyby začínajú vykonávať až neskôr. Ku koncu vegetačného obdobia zasa svoju citlivú reaktivnosť prieduchy strácajú a prechádzajú do

stavu střípnutosti, čo sa v čase zvýšenej transpirácie prejavuje dočasným vädnutím a ovisnutím listov.

Okrem vonkajších faktorov sa na činnosti prieduchov zúčastňujú aj vnútorné faktory protoplastu (Pastýrik, 1979).

Množstvo vody vyparenej transpiráciou nie je výsledkom výlučne fyzikálnych zákonitostí vyparovania vody. Prieduchy sú len výkonnými orgánmi celej sústavy živých buniek a pletív listu, vlastností cytoplazmy. Zmeny týchto vlastností sa prejavujú v činnosti zatváracích buniek.

2.2 Rastliny a stres

Rastlina je schopná vnímať tlak, teplotu, gravitáciu a rôzne typy stresu (Baluška, 2010). Rastliny k tomu používajú pamäť. Pokiaľ je rastlina dočasne vystavená stresu, tak si to nejakým spôsobom zapamätá a v budúcnosti vie na nedostatok reagovať pohotovejšie ako rastlina, ktorá nedostatok nikdy nepoznala. Ak je jedna rastlina vystavovaná postupne čoraz väčším a väčším stresom z nedostatku a druhá nie, a ak sú potom obe vystavené veľkému nedostatku, tak tá prvá to na základe predchádzajúcich skúseností dokáže prežiť, pričom tá druhá odumiera (Baluška, 2010).

Termín stres rastlín je pojem veľmi široký a ťažko ho jednoznačne definovať pre niekoľko faktorov. Najdôležitejší z nich je komplex interakcií medzi rastlinami a prostredím. V prírode sa väčšinou nevyskytujú také podmienky, pri ktorých by pôsobil iba jeden stresový faktor bez spolupôsobenia s inými. Mnohé faktory prostredia samostatne nemusia vyvolávať stres, ale v rôznych kombináciách môžu vytvoriť stresové podmienky pre rastliny. Väčšina štúdií v tejto oblasti sa uskutočnila v definovaných podmienkach, a preto sa stres všeobecne definuje ako biotický a abiotický faktor, ktorý zabraňuje rastline v jej normálnych funkciách, čo má za následok redukciu rastu a reprodukcie (Slováková a Mistrík, 2007).

Keďže rastliny nemôžu opustiť stresové prostredie, vyvinuli sa u nich počas evolúcie rôzne stratégie adaptácie na meniace sa podmienky okolia.

V silných stresových podmienkach rastlina môže vnímať, správne rozpoznať stresové signály a použiť signály ako spojnicu na vyvolanie špecifických zmien na rôznych úrovniach. Tieto zmeny, ako adaptačná reakcia, sa prejavujú v morfologickej štruktúre, vo fyziológii modifikáciami biochemických procesov a expresiou stresovo- špecifických

génov (DalCorso a i., 2010). Negatívne vonkajšie vplyvy (stresory) pôsobia na celú rastlinu, teda na korene, nadzemné časti a reprodukčné orgány. Rôzne rastlinné druhy sú prispôsobené vykonávať svoje životné funkcie pri pomerne širokom rozsahu kolísania faktorov prostredia. Pôsobením stresorov môže rastlina dosiahnuť nový rovnovážny stav činnosťou kompenzačných procesov. Kaskáda reakcií, ktoré sa spúšťajú pôsobením stresorov je stresová reakcia, pozostávajúca z fázy poplachovej, reštitučnej, rezistentnej a fázy vyčerpania. Pri poplachovej fáze dochádza bezprostredne po začiatku pôsobenia stresového faktora alebo častejšie skupiny faktorov, k narušeniu bunkových štruktúr a funkcií. Ak intenzita stresorov neprekročí určitú hladinu (letálnu), mobilizujú sa kompenzačné mechanizmy- fáza reštitučná, ktorých činnosťou sa zvyšuje odolnosť rastliny syntézou ochranných látok a zmenami v štruktúre bunky počas aklimácie voči nepriaznivým faktorom- fáza rezistencie. Pri dlhodobom a intenzívnom pôsobení stresorov môže byť zvýšenie odolnosti prekonané a dostavuje sa fáza vyčerpania a pokles odolnosti (Slováková a Mistrík, 2007).

2.2.1 Zdroje stresu rastlín

Podľa pôvodu stresorov sa stresy rozdeľujú na:

1. abiotické- stres z prostredia (fyzikálny alebo chemický)
 - a) nepriaznivé meteorogénne faktory (voda- nadbytok alebo deficit, teplota- vysoká, nízka)
 - b) nedostatok výživy a kyslíka v pôde
 - c) slaný stres
 - d) iónový stres
 - e) antropogénny stres
 - f) radiačný stres
2. biotické
 - a) živočíšny škodcovia (hmyz, bylinožravce)
 - b) patogény (bakteriózy, mykózy, virózy)
 - c) súťaživosť medzi rastlinami (kompetícia)

Podľa spôsobu vplyvu a účinku sa stresy rozdeľujú na:

1. primárne (priamy vplyv na metabolizmus rastliny),
2. sekundárne (výsledná reakcia sa dostavuje na podnet iného stresového faktora),

3. viacnásobné (v prirodzených podmienkach pôsobí na rastlinu vždy viacero stresorov) (Slováková a Mistrík, 2007).

2.2.2 Fyziológia stresu

Reakcia na stres nastáva vtedy, ak ho rastlina rozpozná na úrovni bunky. Rozpoznanie aktivuje prenos signálov sprostredkovaných signálnymi molekulami (kyselina abscisová- ABA, kyselina jasmónová, etylén, kalcium), ktoré šíria informáciu v jednotlivých bunkách ako aj v celej rastline. Následné zmeny v expresii génov (zvyšovanie obsahu špecifickej mRNA, zvýšenie translácie, stabilizovanie proteínov, zmena aktivity proteínov a tiež kombinácie uvedeného) môžu modifikovať rast a vývin a ovplyvniť tak reprodukčnú schopnosť rastlín.

Aktiváciu obranných mechanizmov a nadobudnutie vyváženého stavu (homeostázy) dosahujú rastliny iba na úkor zvýšených energetických požiadaviek hlavne na syntézu špecifických metabolitov. Prebiehajú v nich aj ďalšie zmeny zaisťujúce odolnosť ako napr. udržiavanie zvýšenej rýchlosti produkcie nových zdrojov hmoty a energie, čo znižuje tvorbu biomasy (Slováková a Mistrík, 2007).

2.3 Ťažké kovy v rastline

Označenie ťažké kovy bolo prevzaté z metalurgie. Používa sa na označenie 37 prvkov periodickej sústavy prvkov, ktoré majú hustotu vyššiu ako 5 g.cm^{-3} a patria do skupín prechodných prvkov alebo skupín 3A, 4A, 5A, 6A (Ďurža a Khun, 2001). Z enviromentálneho a toxikologického hľadiska sa pojem ťažké kovy obyčajne spája s kovovými prvkami, ktoré spôsobujú nežiadúce toxické účinky a znečisťujú životné prostredie. Jedná sa najmä o prvky: As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb a Zn (Alloway a Ayres, 1993).

Zvýšenie prirodzených obsahov ťažkých kovov v rastlinách je rizikové pre samotné rastliny aj pre ich konzumentov- zvieratá a človeka.

Rastlina môže byť kontaminovaná ťažkými kovmi cez koreňový systém z pôdy a cez nadzemné orgány z atmosféry. O množstve ťažkého kovu prijatého koreňom vo všeobecnosti rozhoduje jeho koncentrácia v pôdnom roztoku, prísun pôdneho roztoku ku

koreňovému systému, pôdna sorpčná kapacita, pH a celý rad ďalších faktorov. Uvedené parametre rozhodujú o skutočnom príjme prvkov- *fytoprítomnosť* (Häni, 1996).

Príjem prvku rastlinou je priamym indikátorom jeho prijateľnosti a mobility v pôde. Preto bude variabilný tiež pomer medzi množstvom prvku v pôde a v rastline. Pri antropogénnom znečistení pôd zvýšená mobilita kovov vedie k zvýšeniu ich koncentrácie v rastline do takej miery, že môže pôsobiť na rastliny ako stresový faktor, vyvolávajúci fyziologické zmeny a ich následkom inhibíciu rastu až vyhynutie rastliny (Barman a Lal, 1994).

Rastliny na toxické pôsobenie ťažkých kovov reagujú blokovaním ich príjmu alebo transportu do nadzemných častí rastlín (Hegedúsová a i., 2006).

Rezistencia k ťažkým kovom je dedičným znakom alebo nadobudnutá adaptáciou. Santos a i. (1993) uvádzajú zvýšený výskyt populácií rastlín tolerantných k ťažkým kovom predovšetkým v okolí rudných baní a hút. Tolerancia k zvýšeným koncentráciám týchto kovov je často spojená s ich akumuláciou v pletivách. Larcher (1988) odporúča využívať tieto rastliny ako indikátory rudných ložísk. Koncentrácia ťažkých kovov v biomase metalofytov (jedince geneticky adaptované na špecificky chemický substrát) je 100 až 1000-krát väčšia než je normálna koncentrácia stopových prvkov.

Odolné rastliny majú charakteristické zastúpenie izoenzýmov a zvýšenú odolnosť protoplazmy voči ťažkým kovom. Zvýšená koncentrácia viacerých ťažkých kovov vyvoláva u adaptovaných populácií tzv. „multiplicitnú toleranciu“ (Domažlická, 1992; Ducsay a i., 1997).

Rôzna miera vstupu ťažkých kovov do jednotlivých druhov rastlín umožňuje biologickú dekontamináciu pôd. Na kontaminovaných pôdach je potrebné pestovať plodiny, ktoré aj pri vyšších koncentráciách ťažkých kovov zostanú hygienicky nezávadné (Bláha, 1990).

2.3.1 Príjem a transport kovov rastlinami

2.3.1.1 Mechanizmus príjmu kovov

Rastliny prijímajú ťažké kovy prevažne koreňmi, menej listami. Koreň plní dôležitú funkciu bariéry pre prienik ťažkých kovov do nadzemných častí rastlín. Korene rastlín prijímajú ťažké kovy v iónovej forme ako kationy, resp. anióny alebo viazané v chelátoch. Adsorpcia iónov povrchom koreňov je regulovaná charakterom bunkových

membrán, ktoré svojou biokatalytickou aktivitou podmieňujú prenos látok. Iónový transport prebieha pasívnou difúziou v smere koncentračného spádu, ale tiež proti koncentračnému spádu ako aktívny metabolický transport, ktorý závisí od procesov respirácie a fotosyntézy. Energia je dodávaná priamo prostredníctvom membránových potenciálov vytváraných elektrónovým tokom alebo nepriamo hydrolýzou ATP. Charakter bunkových membrán umožňuje prednostný príjem kationov pred aniónmi.

Príjem kovov koreňmi je v lineárnej závislosti na koncentrácii voľných iónov v živnom prostredí (Greger a Lindberg, 1986). Ku koreňom sa dostávajú difúziou a tokom v pôde. V bezprostrednej blízkosti koreňov sa chelatizujú organickými kyselinami, ktoré vylučujú bunky koreňov rastlín, čo zvyšuje difúzny gradient a zrýchľuje príjem prvku rastlinou (Mullins a Sommers, 1986). Pavlík a i., (1997) konštatujú, že až 90% kovov ktoré prijímajú rastliny, pochádza z pôdy a len 10% z atmosféry.

Príjem kovov do koreňov je komplexný proces obsahujúci prenos z pôdných roztokov do povrchov koreňa a dovnútra bunky koreňa. Vstup ťažkých kovov z pôdy do rastlinného organizmu je ovplyvnený viacerými faktormi: koncentráciou kovov v pôde, hodnotou pH pôdy, schopnosťou absorpcie a výmeny iónov, redoxným potenciálom, podielom organických látok, činnosťou mikroorganizmov, druhom a ontogenetickým štádiom rastliny.

Za biologicky dostupné frakcie kovov v pôde sa všeobecne považujú voľné ióny kovov v pôdnom roztoku. Aktivita voľných kovových iónov v pôdnom roztoku je nízka a rastliny si vyvinuli spôsoby zvýšenia príjmu kovov. Rastliny sú schopné ovplyvňovať rozpustnosť kovov v rizosfére vylučovaním chelátov a zmenami pH rizosféry. Železo a iné kovy chelátované fyto-metalofórmami predstavujú hotovú zásobu kovov na redukciu a transport cez plazmatickú membránu. Fyto-metalofóry sú látky vylučované koreňmi na chelátovanie kovov, sú nimi napr. rôzne organické kyseliny a reduktanty (Macnair, 2000).

2.3.1.2 Transport kovov v rastline

Transport kovov v rastline sa realizuje dvomi hlavnými transportnými dráhami: xylómom a floémom.

Transport kovových iónov cez xylóm sa deje smerom hore pohybom vody vytvoreným transpiračným prúdom. Zloženie, pH a redoxný potenciál xylémovej šťavy ovplyvňujú typ a množstvo, a teda aj pohyb druhov kovov v xylémovej šťave. Med' je

napr. v xylémovej šľave 100% viazaná na aminokyseliny a zinok je prevažne komplexne viazaný v kyseline citrónovej a jablčnej.

Pri nadbytku je prítomnosť kovov obmedzená zväčša na korene, pričom transport do ďalších častí môže byť obmedzený špecifickými mechanizmami (napr. väzbou kovov na bunkové steny, syntézou lignínu a pod.) (Slováková a Mistrík, 2007).

Transport kovov floémom sa deje gradientom pozitívneho hydrostatického tlaku, ktorý sa vytvára prísunom sacharózy do floému z dospelých, aktívne fotosyntetizujúcich listov a jej odsunom do pletív spotreby, ako sú rýchlorastúce pletivá, apikálna koreňová zóna a reprodukčné orgány. Pohyb kovov floémom je ovplyvnený druhom rastliny, ako aj jednotlivými orgánmi rastliny (Slováková a Mistrík, 2007).

Pohyb iónov ťažkých kovov k vodivým pletivám rastlín prebieha podľa Alexejeva (1987) dvoma cestami- *apoplastickou* (voľnými medzibunkovými priestormi) a *symplastickou* (vnútornými priestormi buniek). Vstup ťažkých kovov do rastliny apoplastickou cestou závisí od obsahu týchto kovov v pôdnom roztoku. Symplastická cesta pre ťažké kovy je málo pravdepodobná po súvislej symplazme prepojenej plazmodezmami, pretože sa blokujú v okamihu styku s cytoplazmou. Podiel jednotlivých ciest rozhoduje o ich distribúcii do koreňov, listov a stoniek. Z hľadiska celkového čerpania daného ťažkého kovu z pôdy a jeho distribúcie do jednotlivých orgánov je významná aj špecifita rastlinného druhu (Richter a Hlušek, 1988; Venter, 1993).

2.3.2 Tolerancia rastlín voči ťažkým kovom

Toleranciu rastlín voči ťažkým kovom možno definovať ako schopnosť prežiť v pôde, ktorá je pre ostatné rastliny toxická. Prejavuje sa vzájomnou interakciou genotypu a prostredia (Macnair, 2000).

Rastliny majú na bunkovej úrovni širokú škálu potenciálnych mechanizmov, ktoré zahŕňajú samotnú detoxifikáciu, ako aj toleranciu na stres vyvolaný ťažkými kovmi. Mechanizmy zabraňujúce kumulácii ťažkých kovov v rastlinách sú rozličné. Na tolerancii ku kovu sa značnou mierou podieľajú aj koreňové exudáty a plazmatická membrána. Existuje množstvo mechanizmov vo vnútri protoplastu. Napríklad na obnove stresom poškodených proteínov sa podieľajú HSP (proteíny teplotného šoku). Transport kovov do

vakuoly je zase zabezpečený väzbou na fytochelatíny, metalotioníny alebo organické kyseliny.

Na potenciálnom bunkovom mechanizme využiteľnom pri detoxifikácii ťažkého kovu a jeho tolerovaní v organizme vyšších rastlín sa podieľa:

- a) obmedzenie pohybu kovu koreňovou mykorízou
- b) väzba na bunkovú stenu a koreňové exudáty
- c) redukcia vtoku (influx) cez plazmatickú membránu
- d) aktívny tok (efflux) do apoplastu
- e) chelatácia pomocou ligandov v cytosóle
- f) ochrana a obnova plazmatickej membrány v podmienkach stresu
- g) transport chelatovaného komplexu s kovom do vakuoly
- h) pohyb a akumulácia kovov vo vakuole

Rastliny často- krát rastú v prostredí obsahujúcom viaceré ťažké kovy. Ich tolerancia by mohla byť výsledkom menej špecifického mechanizmu, ktorý určuje širokú rezistenciu na viaceré ťažké kovy (ko-tolerancia) alebo znamená sériu nezávislých, pre kovy špecifických mechanizmov, tzv. mnohonásobnú toleranciu. V závislosti od afinity kovov možno rastliny zadeliť do troch typov: hyperakumulátor (akumuluje kovy v pletivách v nadzemných častiach vo vysokej koncentrácii), indikátor (v rastline sa objemovo nachádza rovnaké množstvo kovu ako v pôde) a exkludér (má mechanizmy na vytváranie bariér pre vstup kovu do rastliny) (Hall, 2002).

Je pravdepodobné, že rôzne druhy vyvinuli rozdielne mechanizmy tolerancie na nadbytok kovov, dokázané boli dokonca vnútrodruhové rozdiely. Rastliny majú konštitutívne (využívané pri citlivých tolerantných fenotypov) a adaptívne (využívané iba tolerantnými) mechanizmami na prežitie nadbytku kovov (Slováková a Mistrík, 2007).

2.3.3 Kadmium

Kadmium (Cd) je chemický prvok s atómovým číslom 48. Názov tohto prvku je odvodený zo starogréckeho slova „kadmeia“, ktorým označovali zinkovú rudu. V prírode sa kadmium vyskytuje najmä v sfalerite ZnS a v hemimorfite čiže kalamíne $Zn_2(OH)_2 SiO_3$. Jeho prirodzený obsah v horninách sa mení podľa charakteru materskej horniny, intenzity zvetrávania a následného transportu. V zemskej kôre je pomerne vzácnym prvkom, pričom jeho stopové množstvá sa nachádzajú aj v uhlí a ropných produktoch (Adriano, 1986; Holobradý, 1989).

Kadmium je lieskobiely, pomerne mäkký, veľmi ťažný, neušľachtilý kov (Bína a i., 1981). Všetky zlúčeniny kadmia sú jedovaté. V praxi sa používa len siriak kademnatý CdS ako pekná ostro žltá maliarska farba (Jirkovský a i., 1980).

Zo zdravotného hľadiska patrí kadmium medzi ťažké kovy, ktoré majú toxické vlastnosti už pri relatívne nízkych koncentráciách.

Do kolobehu v prírode sa dostáva aj antropogénnou činnosťou najmä v podobe priemyselných exhalátov vzniknutých spaľovaním nafty a vykurovacích olejov. Do pôdy sa dostáva aj prostredníctvom odpadových vôd. Na aktivitu a rozpustnosť zlúčenín kadmia v pôde výrazne vplýva pH a Eh (redoxný potenciál). So stúpajúcimi hodnotami pH klesá rozpustnosť zlúčenín kadmia a v alkalickom prostredí je značne imobilný. Najintenzívnejšie prijímajú rastliny kadmium z kyslých pôd, chudobných na vápnik a humus. Zvýšený obsah kadmia v zelenine a v ovocí súvisí teda aj s kyslými dažďami (Poláček a i., 2006).

Výsledky viacerých autorov potvrdili, že na kontaminácii rastlín má významný podiel znečistené ovzdušie. Uvádza sa, že rôzne druhy rastlín môžu prijímať priamo z atmosféry 10-60% z celkového obsahu Cd v rastline, pričom určujúci vplyv na prienik Cd do pletív majú vodorozpustné komponenty (Gunnarson, 1983; Howmand a i., 1983).

Tento ión interferuje s metabolizmom sacharidov v rastlinných bunkách, pravdepodobne s ireverzibilnou substitúciou inej mikroživiny v enzýmoch, ktoré inhibujú vznik chlorofylu. Fyziologický efekt nadmerného množstva Cd súvisí s narušením procesu fotosyntézy, transpirácie, premien zlúčenín dusíka a so zmenami štruktúry DNA (deoxyribonukleovej kyseliny).

Najintenzívnejšou kumuláciou Cd sa vyznačujú pletivá koreňov, nasledujú listy, stonky, plody a zásobné orgány. V dôsledku fytotoxického koncentrácie Cd v rastlinách sa objavujú chlorózy a sčervenanie listových žiliek. Listy sa skrúcajú, hrubnú a skracujú sa. Fytotoxické koncentrácie sú stanovené na 5-10 ppm pre citlivé rastliny a 10-30 ppm pre rezistentné (Kabata a Pendias, 1992). Najvyššie prípustné množstvo Cd v konzumných častiach rastlín sa pohybuje v rozmedzí 0,1- 1,0 mg.kg⁻¹.

Príjem Cd rastlinami závisí aj od rastlinného druhu. Niektoré rastliny sú veľmi citlivé na jeho príjem, iné menej. Rastliny vykazujúce odolnosť proti vysokému obsahu Cd, tvoria rôzne zlúčeniny tzv. fytochelatíny, ktoré viažuc kov neutralizujú jeho fytotoxicitu. Kukuricu, cirok, konopu, láskavec, peniažtek, mak, indiánsku horčicu, niektoré vodné rastliny a huby možno označiť za hyperakumulátory Cd (Zhu a i., 1999; Terry a i., 2003; Fomina a i., 2005; Vollmannová a i., 2006).

Zistilo sa, že nízke koncentrácie Cd, ale aj iných ťažkých kovov, pôsobia na rast stimulačne, vyššie koncentrácie pôsobia retardačne hlavne na rast koreňov. Predpokladá sa, že redukcia rastu je dôsledkom stagnácie bunečného delenia a predlžovania orgánov v rastových zónach.

Na zníženie toxicity Cd majú vplyv antagonistické interakcie s inými prvkami. Najväčšia pozornosť je venovaná pomeru Cd/Zn, ktorý sa zakladá na obmedzení prijímania alebo škodlivosti Cd pri zvýšenom obsahu Zn.

Keďže ťažké kovy sa nedajú biologicky alebo chemicky odbúravať, treba ich zneškodniť inými spôsobmi, t.j. adsorpčnými alebo desorpčnými metódami. Jednou z možností eliminácie ťažkých kovov a kontaminantov použitím adsorbentov je aplikácia prírodných a minerálnych sorbentov (Hegedúsová a i., 2006).

2.3.3.1 Mechanizmus príjmu kadmia rastlinami

Pohyb Cd ku koreňom rastlín sa deje difúziou a hromadným pôdnym tokom. V blízkosti koreňov dochádza k chelatácii kovu organickými kyselinami vylučovanými rastlinou, zvyšuje sa difúzny gradient a urýchľuje príjem prvku (Mullins a Sonners, 1986).

Príjem kadmia rastlinami sa zvyšuje za prítomnosti Cl⁻ v pôde (tvorba ľahko rozpustných chlorokomplexov zvyšuje bioprítomnosť Cd) (Makovníková, 2006).

Checkai a i. (1987) pri sledovaní kinetiky prijímania kadmia pri jeho nízkych koncentráciách vo vonkajšom prostredí zistili absorpčné izotermy, ktoré sú charakteristické pre sprostredkovaný príjem.

Akumulácia kadmia v rastlinách závisí na jeho koncentrácii v prostredí, na jeho forme, hodnote pH, na interakcii s ďalšími prvkami, na obsahu organických a ďalších komplexotvorných látkach, teplote a ďalších faktoroch. Eriksson (1989) konštatuje, že pri zvýšení pH pôdy z hodnoty 5 na 7 sa obsah kadmia v rastlinách redukuje. Iwai a i. (1975), Barceló a i. (1988) a iní autori odporúčajú, ako účinné agromelioračné opatrenie, úpravu pH pôdy na hodnotu >6,5 vápnením pri súčasnom znížení používania kyslých hnojív.

Popri prijímaní kadmia koreňmi rastlín, existuje aj mimokoreňový príjem. Uskutočňuje sa prostredníctvom buniek listov. Do rastlinných pletív však touto cestou prechádza len malé množstvo kadmia, väčšia časť ostáva na povrchu rastlín. Cestami vstupu do listov sú otvorené prieduchy, trhliny v kutikule, trichómy a poranenie (Capelli a i., 1989).

2.3.3.2 Vplyv kadmia na rastliny

Najbežnejšími symptómami pôsobenia kadmia na rastliny je inhibícia rastu a chlorózy. Chlorózy z nadbytku kadmia vznikajú následkom potlačania príjmu železa rastlinou. Kadmium inhibuje fotosyntézu a to ako v dôsledku uzatvárania prieduchov, tak aj zásahom do fotosyntetických reakcií. Jedná sa o inhibíciu fosforylácie a rozpájania elektrónového transportného toku (Van Duyvendijk- Matteoli a Desmet, 1975).

Pri dlhodobom pôsobení znižuje kadmium aj syntézu chlorofylu. Deje sa tak pravdepodobne v dôsledku enzymatickej degradácie tohto pigmentu, alebo cestou inhibície jeho syntézy. Stobard a i. (1985) sa domnievajú, že k inhibícii dochádza na úrovni fotoaktívneho protochlorofilidreduktázového komplexu a syntézy 5-aminolevulovej kyseliny.

Nízke koncentrácie kadmia naopak môžu stimulovať respiráciu. K stimulácii dochádza pravdepodobne preto, že kadmium redukovaná fosforylácia nie je schopná zabezpečiť rastlinu dostatočným ATP (Sokol a i., 1998).

Toxicita kadmia indikuje nedostatok fosforu a tiež redukuje transport mangánu. Kadmium tiež obmedzuje príjem, transport a využitie niektorých prvkov (Ca, Mg, P a K), ako aj vody. Z celkového množstva Cd akumulovaného rastlinou najväčšia časť, 60% zostane v koreňoch a len malá časť, približne 15%, sa dostane do listov. Do chloroplastov a mitochondrií sa dostane len 13% z množstva akumulovaného v listoch. Napriek tomu aj nízke koncentrácie kadmia môžu viesť k výraznej inhibícii procesov fotosyntézy (Slováková a Mistrík, 2007).

Kadmium inhibuje delenie buniek meristematických pletív (napr. v koreňových špičkách) a vyvoláva zvýšenie chromozómových aberácií (Mukherjee a Sharma, 1987).

Kadmium pôsobí pravdepodobne na replikačné a reparačné enzýmy, kde vytláča pôvodné ióny a spôsobuje tak zámenné mutácie, alebo sa viaže na fosfátové skupiny a heterocyklické bázy nukleových kyselín. Tým destabilizuje štruktúru DNA a pôsobí aj na transkripciu (Melničuk a i., 1983). Kadmium spôsobuje aj zmeny v mitochondriách a to najmä tvorbu invaginácii vnútornej membrány a vytváranie nefunkčných fosfolipidových štruktúr (Duret a i., 1986). Barceló a i. (1988) opisujú zmeny tvaru plastidov, dezintegráciu vnútorného membránového systému a zvýšené zastúpenie plastoglobulov. Vplyvom kadmia sa významne redukuje povrch tylakoidov.

2.3.3.3 Tolerancia rastlín na ióny kadmia

Vyvinutie tolerancie na kovy je hlavným spôsobom redukcie škodlivého vplyvu zvýšenej expozície k iónom ťažkých kovov. Cd- tolerantné rastliny musia byť schopné zabráňovať nadmernej absorpcii Cd alebo ho detoxikovať po absorpcii. Základný mechanizmus tolerancie na Cd je spojený s ochranou výhonku pred nadbytkom Cd. Menia sa aktivity niektorých enzýmov, ako peroxidáza a kyslá fosfatáza, čo naznačuje metabolické odpovede rastlín na stresové podmienky.

Reakcie rastlín na stres vyvolaný Cd sú komplexným fenoménom. Cd vyvoláva odozvu na paralelné alebo následné javy: rýchle fyziologické a pomalé morfológické zmeny, v ktorých každý mechanizmus môže byť v rovnakom čase príčinou metabolickej zmeny, či už priamo alebo nepriamo spojený s Cd- stresom. Rastliny sa môžu účinne vyrovnávať prostredníctvom zneškodnenia, detoxifikácie a opravy poškodenia. Mechanizmy odpovede sa stres vyvolaný Cd na úrovni rastlinnej bunky môžu byť nasledovné:

- a) imobilizácia
- b) exklúzia
- c) syntéza fytochelatínov
- d) kompartmentalizácia
- e) syntéza metalotionínov (pravdepodobne)
- f) syntéza stresových proteínov
- g) produkcia stresového etylénu (Slováková a Mistrík, 2007).

Na rozdiel od tolerancie rastlín ku kadmiu, existujú aj mechanizmy rezistencie. Jedná sa o blokádu, či obmedzovanie príjmu alebo retenciu kovu v koreňoch. Môže sa to uskutočňovať väzbou kovov na membrány a stavebné zložky bunkových stien (Mullins a i., 1985).

2.4 Charakteristika sóje fazuľovej

Rod sója (*Glycine*) zahŕňa veľký počet druhov, väčšinou divo rastúcich v Ázii, Afrike a Amerike.

Stonka sóje je hrubá, na priereze okrúhla, skladá sa obyčajne z 10-15 článkov. Je zelená alebo s antokyánovým nádychom, pri dozrievaní žltá alebo sivožltá. Hlavná stonka sa rozkonáruje, čo závisí od kultivaru, úrodnosti pôdy, organizácie porastu, spôsobu sejby a od použitej agrotechniky. Celá stonka, kanáriký i listy sú chlpaté, množstvo chlpatosti aj farba sú rozdielne podľa kultivarov.

Sója klíči epigeicky, t.j. kľúčne listy vyrastajú nad povrch pôdy. Prvé listy sú zložené prevažne z troch lístkov. Jednotlivé lístky sú v závislosti od kultivaru vajcovité, kyjovité, okrúhle, srdcovité, široké, úzke a pod. Kvety sú drobné bez vône, usporiadané do strapca po 3-15. Korunné lupienky bývajú biele, svetlofialové alebo fialové. Sója je samoopelivá rastlina. Struky sú 25-70 mm dlhé, 5-15 mm široké. V struku sú 1-4 semená. Farba strukov býva svetlohnedá, sivá, žltá, škoricová, hnedá až čierna. Semená sú najčastejšie guľaté, prevažne žlté, hnedé, sivé, čierne (Šinský a i., 1985).

2.4.1 Význam a využitie sóje

Význam sóje určuje jej chemické zloženie, biologická hodnota produktov a všestranná úžitkovosť celej rastliny. Úžitok prináša celá rastlina od koreňov až po semená. Preto už v dávnej minulosti patrila medzi päť posvätných rastlín starej Číny.

Prednosti využitia sóje priamo vo výžive človeka spočívajú vo vysokej produkcii bielkovín a v ich vysokom zastúpení v semene (až 40%). Bielkoviny sóje majú najvyšší obsah esenciálnych aminokyselín (až 38%). Semená ďalej obsahujú tuk v bezcholesterovej forme, bezškrobové cukry, veľa lecitínu a veľkú paletu vitamínov. Kvalita bielkovín sóje je veľmi blízka kvalite živočíšnych bielkovín, preto je opodstatnená požiadavka konzumovať ju priamo (Šinský a i., 1985).

2.4.2 Požiadavky na podmienky prostredia

Požiadavky na svetlo

Sója patrí k rastlinám krátkeho dňa. Reakcia jednotlivých kultivarov na zmenu dĺžky dňa je rozličná. Vzťah k dĺžke dňa je základným znakom prispôsobivosti kultivaru k danej geografickej oblasti. Najväčšie nároky na svetlo má sója v období kvitnutia a nasadzovania strukov až do vytvorenia semien. Znáša mierne zatienenie najmä v letných horúčavách, a preto sa jej dobre darí s kukuricou, čo môžeme s úspechom využiť pri pestovaní na záhradke (Šinský a i., 1985).

Požiadavky na teplo

Sója je teplomilná rastlina. Pre normálny rast a vývin potrebuje sumu vegetačných teplôt 2000-3000°C. Rozhodujúce teploty sú od kvitnutia do dozrievania. Na klíčenie potrebuje minimálne 6-7°C, optimálna teplota pre vzchádzanie je 15-20°C. V priaznivých podmienkach vzchádza za 10-12 dní po zasiatí. Mladé rastliny znesú krátkodobé i nízke teploty -3 až -5°C bez väčšieho poškodenia (Šinský a i., 1985).

Požiadavky na vodu

Voda v niektorých rokoch býva limitujúcim faktorom pri pestovaní sóje v našich podmienkach. Sója je náročná na vodu. Na tvorbu 1g sušiny potrebuje 600- 1000g vody. Ak je v pôde nedostatok vody, sója nerovnomerne vzchádza, čo sa prejaví nekompletnosťou porastu a znížením úrod. Najvhodnejšia vlhkosť pôdy je asi 60-70% plnej vodnej kapacity. Sója pre normálny rast a vývin potrebuje asi 700mm zrážok. Celoročné zrážky, ale ani zrážky v priebehu vegetačného obdobia nie sú zárukou úspešného pestovania sóje. Rozhodujúce je rozdelenie zrážok v priebehu vegetácie sóje. Veľký význam majú zrážky v druhej polovici leta (Šinský a i., 1985).

Požiadavky na pôdu a živiny

Sója vyžaduje pôdy hlboké, biologicky činné a výhrevné. Vhodné sú pôdy hlinité až piesočnato- hlinité s dobrým vodným režimom, dostatočne zásobené humusom, vápnikom a bohaté na živiny. Môžeme ju pestovať takmer na všetkých typoch pôd okrem ťažkých, zamokrených a kyslých. Na ľahkých pôdach trpí obyčajne nedostatkom vlahy. Neznáša pôdy zaburinené. Vhodné sú pôdy s neutrálnou a slabo kyslou až mierne

zásaditou reakciou. Optimum je pri pH= 6,5 až 7. Na niektorých lokalitách sója priaznivo reaguje na prihnojovanie mikroprvkami (Šinský a i., 1985).

3. Ciele práce

V práci sme si vytýčili nasledovné ciele:

- porovnať toleranciu vybraných odrôd sóje fazuľovej na ióny kadmia na základe vybraných fyziologických ukazovateľov
- poukázať na vplyv kadmia na vybrané fyziologické procesy sóje fazuľovej
- posúdiť zmeny v hodnotách stomatólneho indexu u vybraných odrôd sóje fazuľovej vplyvom iónov kadmia

4. Materiál a metodika

Pri výskume boli použité semená dvoch odrôd sóje fazuľovej (*Glycine max* L.), ktoré boli získané zo spol. Saatbau Linz s.r.o. (odroda Cordoba) a z poľnohospodárskeho podniku Bólyi v Maďarsku (Mezőgazdasági Termelő és Kereskedelmi Részvénytársaság Vetőmaguzem Bóly).

4.1 Založenie nádobového pokusu

Sterilizované semená vybraných odrôd sóje fazuľovej sme nakličovali na Petriho miskách s navlhčeným filtračným papierom. Po 3-4 dňoch nakličovania sme približne rovnako naklíčené semená zasadili do plastových nádob so zmesou rašeliny (BORA) a perlitu v pomere 4:1. Následne sme semená zaliali destilovanou vodou, ktorá zodpovedala maximálnej sorpčnej kapacite pôdy. Rastliny sme nechali rásť do štádia prvých asimilačných listov, následne sme ich zaliali destilovanou vodou alebo roztokmi ťažkých kovov do výslednej koncentrácie $50\text{mg Cd}^{2+}.\text{kg}^{-1}$ pôdy. Ióny kadmia boli aplikované formou roztoku $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2.4\text{H}_2\text{O}$. V ďalších štádiách pokusu už zálievky neobsahovali kov a aplikovali sme ich podľa potreby v podobe destilovanej vody. Pokusy sme uskutočnili v rastovej komore s kontrolovanou klímou pri teplote 20°C , vlhkosti vzduchu 60-70%, svetelnej perióde 12 hod. svetlo/ 12 hod tma a pri intenzite žiarenia 500 luxov. Pokus sme uskutočnili v troch nezávislých opakovaniach.

4.2 Stanovenie fyziologických parametrov rastlín a tolerančného indexu

Po desiatich dňoch rastu v kontaminovanej pôde sme výhonky všetkých rastlín oddelili od koreňov, korene očistili od pôdy a dôkladne premyli vodou. Získaný materiál sme podrobili ďalším analýzám (4.2.1 – 4.2.3).

4.2.1 Meranie hmotnosti rastlinných orgánov

Korene sme oddelili od výhonku a hmotnosť orgánov sme stanovili na digitálnych analytických váhach. Pri každom variante sme analyzovali 5 rastlín a experiment opakovali nezávisle tri- krát.

4.2.2 Stanovenie tolerancie koreňov a výhonkov na ióny Cd²⁺

Toleranciu odrôd sóje k iónom Cd²⁺ sme stanovili tolerančným indexom podľa Wilkinsa (1978).

$$TI (\%) = \frac{\text{hodnota parametra stresovanej rastliny}}{\text{hodnota parametra kontrolnej rastliny}} \cdot 100$$

4.2.3 Stanovenie počtu prieduchov a stomatálneho indexu

Počet prieduchov sme stanovili na adaxiálnej (vrchnej) a abaxiálnej (spodnej) strane listov dvoch vývinových štádií (vrchný a spodný list) (Obr. 1). List pokusnej rastliny



vrchný list

spodný list

sme vystreli. Na povrchu rubu i líca listu sme naniesli bezfarebný lak. Po zaschnutí sme priložili pásik priesvitnej lepiacej pásky, ktorý sme pritlačili, opatrne stiahli a pritlačili na podložné sklíčko. Preparáty sme pozorovali svetelným mikroskopom v 24 opakovaníach každého variantu experimentu. Obrázky sme nasníмали kamerou (Sony DXCS500) a stanovili sme počet prieduchov a epidermálnych buniek. Následne sme tieto hodnoty prepočítali na 1mm² listovej plochy. Dĺžku a šírku prieduchov sme určili pomocou programu AxioVision AC z nasnímaných fotografií.

Obr. 1 Sója fazuľová.
Vývinové štádiá listov, ktoré
boli podrobené analýzam

Stomatálny index sme stanovili podľa Kalinu a Slováka (2002):

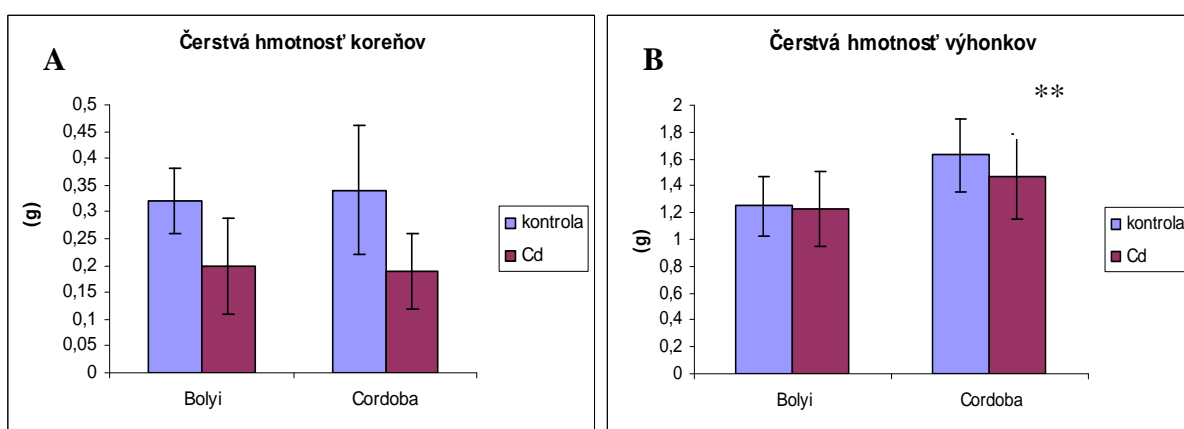
$$(I) = S / (E+S) \cdot 100,$$

kde S je počet prieduchov určitej plochy a E je počet epidermálnych buniek na ploche S.

5. Výsledky a diskusia

Rastliny dvoch odrôd sóje fazuľovej boli pestované v rastovej komore a vystavené 10 dní účinkom iónov kadmia. Zamerali sme sa na stanovenie tolerancie vybraných odrôd na základe vybraných fyziologických parametrov (čerstvá hmotnosť koreňov a výhonkov) a zároveň sme sledovali vplyv daného kontaminantu na počet prieduchov a epidermálnych buniek na adaxiálnej a abaxiálnej strane listov dvoch vývinových štádií (vrchný a spodný list).

V prípade čerstvej hmotnosti koreňov odrody Bolyi sme vplyvom kadmia zaznamenali štatisticky významné zníženie o 37,50% a u odrody Cordoba až o 44,11% oproti kontrolnému variantu. Čerstvá hmotnosť výhonkov bola ovplyvnená iónmi kadmia iba minimálne. V prípade odrody Bolyi došlo k inhibícii rastu výhonku o 1,60% a v prípade odrody Cordoba o 9,80% (Obr. 2). Na základe hodnotenia daných parametrov, možno konštatovať, že korene reagovali na aplikovanú dávku kadmia citlivejšie. Výrazné medziodrodové rozdiely sme v daných parametroch nezaznamenali.



Obrázok 2 Vplyv kadmia na čerstvú hmotnosť koreňov (A) a výhonkov (B).

Hodnoty zodpovedajú aritmetickému priemeru \pm štandardná odchýlka. Hladiny významnosti rozdielov: ** $P < 0,01$

V ďalších častiach experimentu sme sa zamerali na vyhodnotenie vplyvu kadmia na počet prieduchov a epidermálnych buniek na rôznych vývinových štádiách listov (spodný a vrchný list) a na stanovenie stomatálneho indexu.

Po aplikácii kadmia sme zaznamenali minimálny nárast počtu prieduchov na adaxiálnej (o 4,92%) a abaxiálnej (o 9,20%) strane vrchného listu odrody Bolyi. Pri odrode

Cordoba sme zaznamenali signifikantné zníženie (o 1,10%) počtu prieduchov na abaxiálnej strane. Na adaxiálnej strane listu pod vplyvom kadmia došlo k zníženiu počtu prieduchov o 1,20%, ktoré však nebolo signifikantné (Tab. 1).

V prípade počtu prieduchov odrody Bolyi na adaxiálnej strane spodného listu nastalo mierne zvýšenie (o 10,67%), ale na abaxiálnej strane došlo k zníženiu o 10,67%. V prípade odrody Cordoba na adaxiálnej strane spodného listu došlo k miernemu zvýšeniu o 5,60%, avšak na abaxiálnej strane sme zaznamenali zníženie počtu prieduchov (o 1,00%) (Tab. 2).

Kasim (2006) zaznamenal vplyvom Cd štatisticky významný pokles v počte prieduchov na abaxiálnej strane listov ciroku (*Sorghum bicolor*), naopak viacerí autori (Greger a Johansson, 1992; Kastori a i., 1992; Dimitrova a Yurukova, 2005; Shi a Caia, 2009) poukázali na zvýšený počet prieduchov epidermy so zvyšujúcou sa koncentráciou ťažkých kovov.

Tabuľka 1 Počet prieduchov na adaxiálnej a abaxiálnej strane vrchného listu

Strana listu	Bolyi 44		Cordoba	
	Kontrola	Cd (50 mg.kg ⁻¹ pôdy)	Kontrola	Cd (50 mg.kg ⁻¹ pôdy)
Adaxiálna	8,94 ± 2,68	9,38 ± 2,38	8,12 ± 2,12	6,74 ± 1,96
Abaxiálna	30,69 ± 5,35	33,5 ± 4,84	23,35 ± 4,66	20,47 ± 2,74 *

Hodnoty zodpovedajú aritmetickému priemeru ± štandardná odchýlka. Hladiny významnosti rozdielov: * P<0,05

Tabuľka 2 Počet prieduchov na adaxiálnej a abaxiálnej strane spodného listu

Strana listu	Bolyi 44		Cordoba	
	Kontrola	Cd (50 mg.kg ⁻¹ pôdy)	Kontrola	Cd (50 mg.kg ⁻¹ pôdy)
Adaxiálna	6,37 ± 2,57	7,05 ± 2,55	6,78 ± 1,88	7,16 ± 2,48
Abaxiálna	22,70 ± 3,92	20,72 ± 2,84	22,00 ± 3,39	19,94 ± 3,33

Hodnoty zodpovedajú aritmetickému priemeru ± štandardná odchýlka.

V počte epidermálnych buniek sme zaznamenali rozdiely medzi testovanými odrodami. V prípade odrody Bolyi došlo k nárastu počtu epidermálnych buniek na adaxiálnej a abaxiálnej strane vrchného listu (o 6,36% a 8,36%). Naopak, v prípade odrody

Cordoba nastalo štatisticky významné zníženie počtu epidermálnych buniek o 17,18% a 16,02% na oboch stranách vrchného listu (Tab. 3). V prípade odrody Bolyi nastalo taktiež štatisticky významné zníženie na abaxiálnej strane spodného listu (o 9,67%). Na adaxiálnej strane však došlo k zvýšeniu o 3,88%, ktoré nebolo štatisticky významné. U odrody Cordoba sme nezaregistrovali signifikantné zmeny, nastalo však zníženie počtu epidermálnych buniek na oboch stranách listu o 3,44% a 1,88% (Tab. 4).

Podľa Barceló a i. (1988) dochádza vplyvom kontaminácie k zníženiu počtu a veľkosti epidermálnych buniek.

Tabuľka 3 Počet epidermálnych buniek na adaxiálnej a abaxiálnej strane vrchného listu

Strana listu	Bolyi 44		Cordoba	
	Kontrola	Cd (50 mg.kg ⁻¹ pôdy)	Kontrola	Cd (50 mg.kg ⁻¹ pôdy)
Adaxiálna	151,72 ± 26,61	161,38 ± 27,34	140,62 ± 37,82	116,47 ± 14,46 *
Abaxiálna	146,11 ± 14,46	158,33 ± 28,74	131,53 ± 20,8	110,46 ± 12,74 **

Hodnoty zodpovedajú aritmetickému priemeru ± štandardná odchýlka. Hladiny významnosti rozdielov: * P<0,05; ** P<0,01

Tabuľka 4 Počet epidermálnych buniek na adaxiálnej a abaxiálnej strane spodného listu

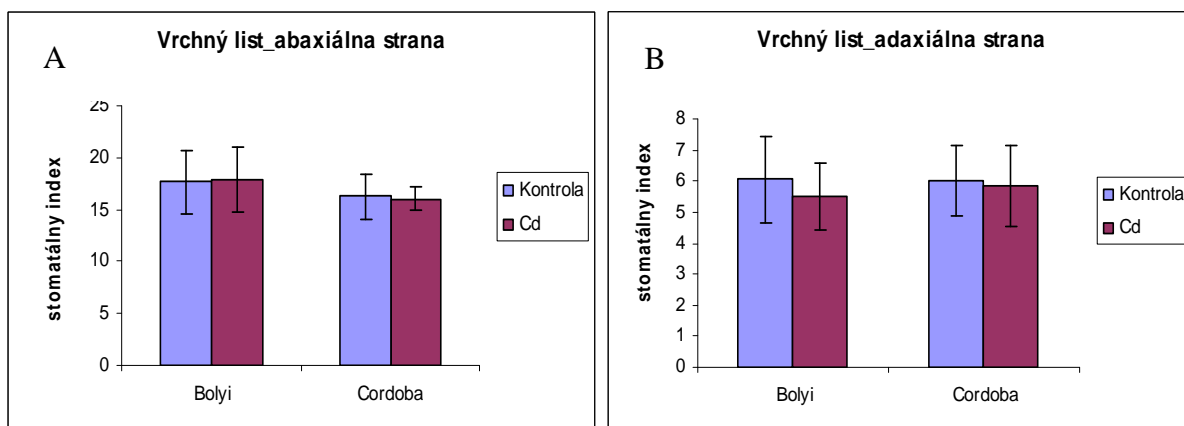
Strana listu	Bolyi 44		Cordoba	
	Kontrola	Cd (50 mg.kg ⁻¹ pôdy)	Kontrola	Cd (50 mg.kg ⁻¹ pôdy)
Adaxiálna	115,18 ± 12,94	119,65 ± 21,25	115,66 ± 24,72	111,68 ± 19,35
Abaxiálna	106,39 ± 12,54	96,11 ± 10,26 **	98,35 ± 11,76	96,50 ± 10,47

Hodnoty zodpovedajú aritmetickému priemeru ± štandardná odchýlka. Hladiny významnosti rozdielov: ** P<0,01

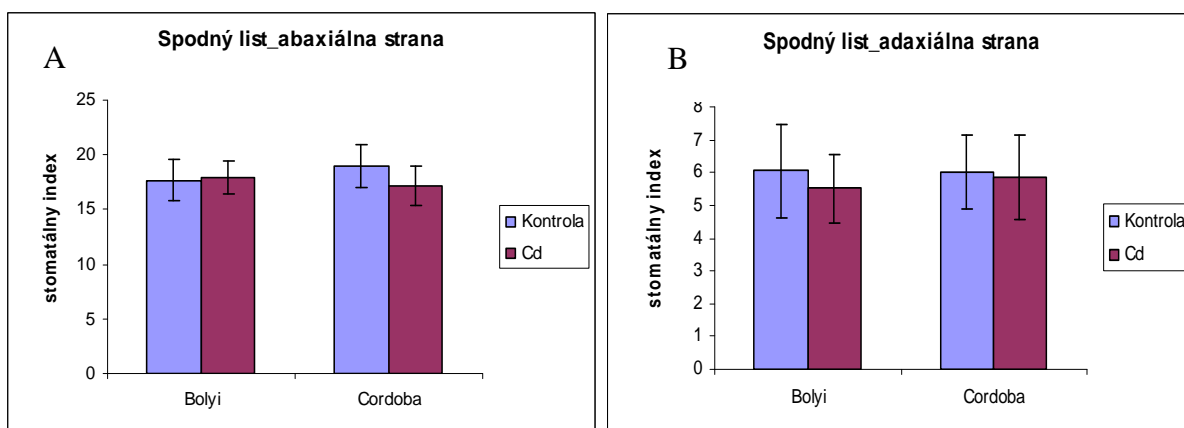
Na základe počtu prieduchov a epidermálnych buniek sme stanovili hodnoty stomatálneho indexu.

Na vrchnom liste sa nezaznamenali takmer žiadne rozdiely medzi odrodami (Obr. 3). Menšie rozdiely sme zaznamenali len u odrody Bolyi na adaxiálnej strane, kde došlo k zníženiu o 8,80% (Obr. 3). V prípade spodného listu sme zaznamenali rozdiely u odrody Cordoba na abaxiálnej strane, kde došlo k zníženiu stomatálneho indexu o 9,68%. U odrody Bolyi taktiež došlo k zníženiu o 8,80%, avšak na adaxiálnej strane (Obr. 4).

K podobným zisteniam pri svojich experimentoch s kadmom dospeli aj Verma a i. (2006), ktorí zaznamenali štatisticky významné zníženie hustoty prieduchov a stomatálneho indexu u *Ipomea pes-tigridis*.



Obrázok 3 Stomatálny index na abaxiálnej (A) a adaxiálnej (B) strane vrchného listu. Hodnoty zodpovedajú aritmetickému priemeru \pm štandardná odchýlka.



Obrázok 4 Stomatálny index na abaxiálnej (A) a adaxiálnej (B) strane spodného listu. Hodnoty zodpovedajú aritmetickému priemeru \pm štandardná odchýlka.

Vyššie uvedené skutočnosti naznačujú, že počet prieduchov, počet epidermálnych buniek a hodnota stomatálneho indexu závisia od charakteru epidermy, od formy aplikovaného polutantu a tiež od rastlinného druhu resp. odrody.

Záver

V bakalárskej práci sme sa zamerali na stanovenie tolerancie vybraných odrôd sóje fazuľovej (Bolyi, Cordoba) na ióny kadmia po 10 dňoch rastu v kontaminovanej pôde na základe vybraných fyziologických parametrov (čerstvá hmotnosť koreňov a výhonkov). Zároveň sme sledovali vplyv daného kontaminantu na počet prieduchov a epidermálnych buniek na adaxiálnej a abaxiálnej strane listov dvoch vývinových štádií (vrchný a spodný list). Na základe našich experimentov sme došli k nasledovným záverom:

- korene oboch odrôd reagovali na ióny kadmia omnoho citlivejšie (pokles čerstvej hmotnosti o 37,50% u odrody Bolyi a o 44,11% u odrody Cordoba) ako výhonky (v prípade odrody Bolyi došlo k inhibícii rastu výhonku o 1,60% a v prípade odrody Cordoba o 9,80%).

- vplyvom iónov kadmia došlo aj k zmenám v počte prieduchov a epidermálnych buniek. Veľké rozdiely sme zaznamenali najmä v počte epidermálnych buniek na vrchnom a spodnom liste odrody Cordoba (na vrchnom liste nastalo zníženie o 17,18% a 16,02% a na spodnom liste sme zaznamenali zníženie o 3,44% a 1,88%).

- v prípade stomatálneho indexu sme veľké rozdiely nezaznamenali, nastali len menšie výchylky hodnôt v rámci vrchného a spodného listu.

Na základe hodnotených parametrov sme dospeli k záveru, že sledované odrody sóje neprejavujú výrazné zmeny v tolerancii na testovanú dávku kadmia.

Hlbšie biochemické a molekulárno-biologické analýzy daných odrôd by však mohli odhaliť ďalšie súvislosti v reakcii daných odrôd na ióny kadmia.

7. Zoznam použitej literatúry

- ADRIANO, D. C. 1986. Trace elements in the terrestrial environment. New York: Springer Verlag, 1986, 533 s.
- ALEXEJEV, J. V. 1987. Tjažolye metally v počvach i rastenijach. Leningrad: VO-Agropromizdat, 1987.
- ALLOWAY, B. J. – AYRES, D. C. 1993. Chemical Principles of Environmental Pollution. Blackie Academic and Professional. London, 1993, č. 2, 291 s.
- BALUŠKA, F. 2010. Recent surprising similarities between plant cells and neurons Plant Signal Behaviour, 5. 2010, s. 87–89.
- BARCELÓ, J. – VAZQUEZ, M. D. – POSCHENRIEDER, CH. 1988. New Phytologist, 108. 1988, s. 37- 49.
- BARMAN, S. C. C. - LAL, M. M. 1994. Accumulation of Heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) in soil and cultivated vegetables and weeds grown in industrially polluted fields. Journal of Environmental Biology, 1994, s. 107- 115.
- BENČAĎ, T. 1986. Biológia, 41. Bratislava: Vydavateľstvo Bratislava, 1986, 881 s.
- BÍNA, J. a i. 1981. Malá encyklopédia chémie. Bratislava: Obzor, 1981, 359 s.
- BLÁHA, L. 1990. Možnosti výberu vhodných druhů obilnin do imisemi zaťažená oblasti v okolí chomutova. In: Zemědělské a životní prostředí. Praha: ČSVTS, 1990, 93 s.
- CAPELLI, M. – MANFREDI, V. R. – MORETTI, G. F. – TRENTI, A. 1989. Toxicological and Environmental Chemistry, 18. 1989, s. 257- 268.
- DAL CORSO, G. – FARINATI, S. – FURINI, A. 2010. Regulatory network of cadmium stress in plants. Plant signaling and Behaviour 5:6. Regulatory networks of cadmium stress in plants. Landes Bioscience. 2010, s. 663- 667.
- DOMAŽLICKÁ, E. 1992. Tolerancia rastlín k ťažkým kovom. Úroda: 1992, 525 s.
- DOMAŽLICKÁ, E. – OPATRŇÝ, Z. 1989. The effect of cadmium on tobacco cell culture and the selection of potentially Cd- resistant cell lines. Plant Physiology and Biochemistry, 31. 1989, s. 408- 412.
- DUCSAY, L. a i. 1997. Problematika riešenia niektorých rizikových prvkov v ekosytémoch. In: Cudzorodé látky v životnom prostredí. In: Zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra, 1997, s. 107- 111.

- DURET, S. - BONALY, J. – BARIAUD, A. – VANNERBAU, A. 1986. *Environmental Research*, 39. 1986, s. 96- 103.
- ĎURŽA, O. – KHUN, M. 2001. *Environmentálna geochémia niektorých ťažkých kovov* (Vysokoškolské skriptá). Bratislava: Prírodovedecká fakulta UK, 2001, 133 s.
- ELIÁŠ, P. 1981. *Biológia*. Bratislava: SAV, 1981, 841 s.
- ERIKSSON, J. E. 1989. *Air soil pollution*, 48. 1989, s. 317- 335.
- FOMINA, M. a i. 2005. Role of oxalic acid overexcretion in transformations of toxic metal minerals by *Beauveria caledonica*. In: *Applied and environmental Microbiology*, 2005, s. 371- 381.
- GREGER, M. – LINDBERG, S. 1986. *Plant Physiology*, 66. 1986, s. 69 - 74.
- GUNNARSON, O. 1983. *Fertilizers and Agriculture*, 37. 1983, č. 85, s. 27- 42.
- HALL, J. L. Cellular mechanism for heavy metal detoxification and tolerance. In: *Journal of Experimental Botany*, 2002, č. 53, s. 1-11.
- HÄNI, H. 1996. *Community Soil Sci. Plant Analist.* 1996, s. 289- 306.
- HEGEDŮSOVÁ, A. – HEGEDŮS, O. – MUSILOVÁ, J. 2006. *Riziká kontaminácie pôd kadmíom*. Nitra: Fakulta prírodných vied Nitra, 2006. ISBN 80-8094-047-9.
- HOLOBRADÝ, K. 1989 *Exhaláty ako obmedzujúci faktor poľnohospodárskej výroby*. Košice: ČSVTS, 1989, 463 s.
- HOWMAND, M. F. a i. 1983. Plant uptake of airborne cadmium. *Environmental Pollution*. 1983, s. 27- 38.
- HUDÁK, J. a i. 1979. *Biológia rastlín*. Bratislava: Slovenské pedagogické nakladateľstvo, 1989. ISBN 80-08-00065-1.
- CHECKAI, R. T. – COREY, R. P. – HELMKE, P. A. 1987. *Plant Soil*, 99. 1987, s. 335- 345.
- IWAI, I. – HARA, T. – SONODA, Y. 1975. *Soil sci plant Nutrition*, 21. 1975, s. 37- 46.
- JIRKOVSKÝ, R. – TRŽIL, J. – MAŽÁRIOVÁ, G. 1967. *Využitie radioizotopů v hutníctví a hornictví*. Praha, 1967.
- KABATA, - PENDIAS, A. – PENDIAS, H. 1992. *Trace elements in soils and plants*. Boca Raton- London: CRC Press, 1992.
- LARCHER, W. a i. 1988. *Fyziologická ekologie rostlin*. Praha: Academia Praha, 1988.
- LUXOVÁ, M. 1965. *Zemědělská botanika 1. Anatomie a morfologie rostlin*. Praha: Staré zemědělské nakladatelství, 1965.

- MACNAIR, M. R. – TILSTONE, G. H.- SMITH, S. E. The genetics of metal tolerance and accumulation in higher plants. In.: Phytoremediation of contaminated soil and water. 2000, s. 235-250.
- MAKOVNÍKOVÁ, J. 2006. Anorganické kontaminanty v pôdnom ekosystéme. In: Chemické listy. č.100, 2006, s. 424- 432.
- MELNIČUK, J. P. – LIŠKO, A. K. – KALININ, F. L. 1983. Fyziologie Biochemistry Kult. Rast, 15. 1983, s. 589- 593.
- MUKHERJEE, A. – SHARMA, A. 1987. Current Science, 56. 1987, s. 1097- 1100.
- MULLINS, M. – HARDWICK, K. – THURMAN, D. A. 1985. Heavy metal location by analytical electron microscopy in conventionally fixed and freeze- substituted roots of metal tolerant and non tolerant ecotypes. In: Conference “Heavy Metals in the Enviroment. Athens, 1985.
- MULLINS, G. L. – SONNERS, L. E. 1986. Characterization cadmium and zinc in four soils treated with sewage sludge. Journal Environmental Quality, 1986, s. 382- 387.
- NAPP- ZINK, K. 1973. Anatomie des blattes. Berlín: Gebrüder Borntraeger, 1973, 758 s.
- PASTÝRIK, L. 1979. Fyziológia rastlín. Bratislava: Slovesné pedagogické nakladateľstvo, 1979, 370 s.
- PAVLÍK, V. a i. 1997. Ekologické problémy v priemyselne exponovaných regiónoch východného Slovenska vo vzťahu k poľnohospodárstvu. Nitra: VUŽV, 1997.
- POLÁČEK, Š. – KULICH, J. – TOMÁŠ, J. – VOLLMANNOVÁ, A. 2006. Anorganická chémia. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra, 2006. ISBN 80-8069-753-1.
- POSPÍŠILOVÁ, J. – SOLÁROVÁ, J. – JANDA, J. 1982. Responses of epidermal diffusive conductance to simultaneous changes in two factors: Determination of interactions. 1982, s. 155- 157.
- RICHTER, R. – HLUŠEK, J. 1988. Vliv obsahu Zn, Pb, Cd v zemine na koncentraci techto prvků ve vybraných zeleninách. In: Ťěžké kovy v životnom prostredí, České Budějovice: ČSAV, 1988, s. 1- 8.
- SANTOS, P. L. a i. 1993. Lead- 210 in vegetables and soils from an area of high natural radioactivity. In: Brasil Science of the Total Environment, 1993, s. 37- 46.
- SLOVÁKOVÁ, Ľ. – MISTRÍK, I. 2007. Fyziologické procesy rastlín v podmienkach stresu. Bratislava: UK, 2007. ISBN 978-80-223-2322-2.
- SOKOL, J. a i. 1998. Kadmium a jeho výskyt v organizmoch živočíchov. Nitra: Štátna veterinárna správa Slovenskej republiky, 1998. ISBN 80-7148-022-3.

- STOBART, A a i. 1958. *Physiology Plant*, 63. 1985, s. 293- 298.
- ŠINSKÝ, T a i. 1985. *Strukoviny*. Bratislava: Príroda , 1985, 157 s.
- TERRY, N. a i. 2003. *Biotechnological Approaches for Enhancing Phytoremediation of Heavy Metals and Metalloids*. In: *Acta Biotechnological*, 2003, s. 281- 288.
- VAN DUYVENDIJK- MATTEOLI, M. A. – DESMET, G. M. 1975. *Biochimica et Biophysica Acta*, 408. 1975, s. 164- 169.
- VENTER, F. 1993. Heavy metal content of various vegetables. *Vortrage zum generalthema des 105. VDLUFA Kongress vom 20.- 25.9. 1993 in Hamburg*, 1993.
- VOLLMANNOVÁ, A. a i. 2006. Využitie láskavca na znižovanie pôdnych obsahov kadmia. In: *Environmentálne inžinierstvo*, Košice, 2006. ISBN 80-8073-607-3.
- ZHU, Y. G. a i. 1999. Cadmium tolerance and accumulation in Indian mustard is enhanced by overexpressing gammaglutamylcysteine synthetase. In: *Plant Physiology*, 1999, s. 1169- 1177.