

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA
V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra biochemických věd

Vliv nanočástic na metabolismus rostlin

Disertační práce

Mgr. Tereza Cyrusová

Vedoucí disertační práce:

prof. Ing. Barbora Szotáková, Ph.D.

Odborný konzultant:

RNDr. Radka Podlipná, Ph.D.

Hradec Králové, 2020

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Hradec Králové, 2020

Mgr. Tereza Cyrusová

Poděkování

Ráda bych poděkovala své školitelce prof. Ing. Barboře Szotákové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a trpělivost při vedení mé disertační práce.

Taktéž bych chtěla poděkovat odborné konzultantce RNDr. Radce Podlipné, Ph.D. z Laboratoře rostlinných biotechnologií Ústavu experimentální botaniky AV ČR za pomoc při získání potřebných informací a podkladů, vstřícnost, ochotu a přátelský přístup. Kolegům z laboratoře děkuji za vytvoření podnětného prostředí.

V neposlední řadě děkuji za podporu rodině, a to zejména mé dceři Františce a její babičce Vladěce za čas, který mi poskytly k sepsání mé disertační práce.

Práce vznikla za podpory grantu Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR č. LD14100 a LH11047 a Specifického vysokoškolského výzkumu č. 260 550.

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Mgr. Tereza CYRUSOVÁ

Školitel: prof. Ing. Barbora SZOTÁKOVÁ, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Radka PODLIPNÁ, Ph.D.

Název disertační práce: Vliv nanočástic na metabolismus rostlin

Spolu s expanzí nanotechnologií, které jsou využívány v mnoha odvětvích, se v poslední době rozvíjí i obor nanotoxikologie. Ta se zabývá negativními vlivy uměle vytvořených nanočástic na životní prostředí a biotu. Toxicitě nanočástic pro rostliny byla věnována již značná pozornost, nicméně mechanismy odpovědné za jejich účinky zatím dokonale známy nejsou. Zároveň je v posledních letech zkoumán i možný pozitivní vliv nanočástic na rostliny.

Cílem naší práce bylo sledování a hodnocení vlivu nanočástic na růst vybraných druhů rostlin a hodnocení jejich fytotoxicity. Zaměřili jsme se na studium nanočástic ve formě oxidů kovů. Obsah nahromaděných kovů v klíčících rostlinách hořčice seté (*Sinapis alba* L.), v *in vitro* kulturách ostřice liščí (*Carex vulpina* L.) a koncentrace kovových iontů uvolněných do kultivačních médií byl měřen pomocí atomové absorpční spektrometrie (Cu, Fe, Mn, Zn) a optické emisní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou (Al, Ti). Sledování vlivu oxidů kovů probíhalo pomocí standardizovaného testu klíčení semen hořčice (Al_2O_3 , CuO, Fe_3O_4 , MnO, TiO_2 a ZnO), pomocí hodnocení růstu rostlin a morfologických parametrů kořenů ostřice a obsahu fotosynteticky aktivních pigmentů rovněž u ostřice (CuO a Fe_3O_4). Také byl u ostřice hodnocen protektivní vliv zinku při interakci s kadmíem.

Nanočástice Fe_3O_4 , TiO_2 , MnO_2 , a Al_2O_3 neovlivnily klíčení hořčice negativně v žádné z testovaných koncentrací. K inhibici klíčení pod vlivem nanočástic došlo pouze v případě CuO a ZnO a to v závislosti na jejich koncentraci. Růst ostřice, stejně jako morfologické vlastnosti jejích kořenů a množství fotosyntetických pigmentů byly významně zhoršeny po přidání nanočástic CuO o koncentraci 100 mg/L. Nanočástice Fe_3O_4 žádný z měřených parametrů neovlivnily. Protektivní účinek nanočástic zinku na obsah fotosyntetických pigmentů při interakci s kadmíem prokázán nebyl. Projevil se

pouze při ošetření rostlin rozpustnou solí $ZnSO_4$ v nízké koncentraci. Při použití oxidů kovů ve standardních velikostech byly výsledky ve všech případech obdobné jako u nanočástic.

Naše výsledky tedy ukazují, že nanovelikost nebo tvar částic nehrají zásadní roli ve vlivu sledovaných oxidů kovů na použité rostliny. Ionty kovů uvolněné do kultivačního média a akumulované v tělech rostlin naopak k fytotoxicitě oxidů kovů přispívají významně.

Abstract

Charles University

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biochemical Sciences

Candidate: Mgr. Tereza CYRUSOVÁ

Supervisor: prof. Ing. Barbora SZOTÁKOVÁ, Ph.D.

Consultant: RNDr. Radka PODLIPNÁ, Ph.D.

Title of Doctoral Thesis: Effect of Nanoparticles on Plant Metabolism

Along with the expansion of nanotechnologies, which are used in many disciplines, the field of nanotoxicology has recently been developed. It deals with the negative effects of engineered nanoparticles on the environment and biota. Considerable attention has already been paid to the toxicity of nanoparticles to plants, however, the mechanisms responsible for their effects are not fully understood yet. At the same time, the possible positive effect of nanoparticles on plants has been investigated in recent years.

The aim of our work was to study and evaluate the effect of nanoparticles on the growth of selected plant species and to evaluate their phytotoxicity. We focused on the study of nanoparticles in the form of metal oxides. The content of accumulated metals in germinating plants of mustard (*Sinapis alba* L.), in *in vitro* cultures of true-fox sedge (*Carex vulpina* L.) and the concentration of metal ions released into the culture media were measured by atomic absorption spectrometry (Cu, Fe, Mn, Zn) and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (Al, Ti). The influence of metal oxides was monitored by means of a standardized test of seed germination of mustard (Al₂O₃, CuO, Fe₃O₄, MnO, TiO₂ and ZnO), by evaluation of plant growth and morphological parameters of true-fox sedge roots and content of photosynthetically active pigments also in true-fox sedge (CuO and Fe₃O₄). At the same time, the protective effect of zinc when interacting with cadmium was evaluated on true-fox sedge.

Fe₃O₄, TiO₂, MnO₂, and Al₂O₃ nanoparticles did not adversely affect mustard germination at any of the tested concentrations. Dose-dependent germination inhibition under the influence of nanoparticles occurred only in the case of CuO and ZnO. True-fox sedge growth, as well as the morphological properties of its roots and the amount of photosynthetic pigments were significantly impaired after addition of CuO nanoparticles

at a concentration of 100 mg/L. Fe₃O₄ nanoparticles did not affect any of the measured parameters. The plants were not protected against cadmium-induced toxicity when ZnO nanoparticles were used. It manifested only in case of water-soluble zinc salt in a low concentration. However, when using bulk metal oxides, the results were similar to those obtained with nanoparticles in all cases.

Thus, our results show that the nanosize or shape of the particles does not play a crucial role in the influence of the monitored metal oxides on the plants used. Conversely, metal ions released into the culture medium and accumulated in plant tissues contribute significantly to the phytotoxicity of metal oxides.

Obsah

1.	Úvod.....	8
2.	Teoretická část	9
2.1.	Nanočástice.....	9
2.1.1.	Využití nanočástic	10
2.1.2.	Nanočástice v přírodě	12
2.1.3.	Příjem nanočástic rostlinou	13
2.1.4.	Pohyb nanočástic rostlinou a jejich akumulace	14
2.1.5.	Pozitivní vliv nanočástic na rostliny.....	15
2.1.6.	Negativní vliv nanočástic na rostliny	16
3.	Fytoremediace	17
3.1.	Fytoremediace za pomoci nanočástic	18
3.2.	Využití šachorovitých ve fytoremediacích	18
4.	Cíle práce	20
5.	Komentáře k publikacím.....	21
5.1.	Vliv nanočástic na rostliny	21
5.2.	Vliv oxidů kovů na klíčení rostlin: Fytotoxicita nanočástic, sypkých oxidů a iontů kovů.....	23
5.3.	Reakce mokřadní rostliny ostřice liščí (<i>Carex vulpina</i>) na nanočástice mědi a železa	25
5.4.	Vliv velikosti zinečnaté částice na fotosyntetické pigmenty při interakci kadmium – zinek	27
6.	Závěry	29
7.	Podíl předkladatelky na publikacích zahrnutých v disertační práci.....	30
8.	Reference	31
9.	Přílohy.....	39
9.1.	Publikace vztahující se k tématu disertační práce	39

1. Úvod

Nanočástice jsou atomové nebo molekulární partikule, které mohou mít ve srovnání se svými analogy ve standardních velikostech zcela jiné fyzikálně-chemické vlastnosti. Extrémně malá velikost, povrchové vlastnosti nebo vysoká reaktivita jsou některé z nich (Castiglione a Cremonini, 2009).

Rychlý pokrok v nanotechnologiích, který probíhá již od druhé poloviny 20. století vede k rozsáhlým komerčním aplikacím nanomateriálů v rozmanitých odvětvích. Nanočástice se následně dostávají do atmosféry, vody i půdy. Vystává tedy otázka, zda pro životní prostředí nepředstavují riziko (Courtois a kol., 2019). Rostliny jsou jednou z velkých a významných částí životního prostředí a zasahují do všech jeho oblastí. Musí se tedy s nanočásticemi vyskytujícími se v prostředí vypořádávat. Stále není zcela jasné, jaký dopad na život rostlin nanomateriály mají. Je tedy nezbytné tomuto tématu věnovat pozornost. V posledních letech se proto rozvíjí i obor nanotoxikologie zabývající se právě nepříznivými účinky a možným rizikem spojeným se strukturami menšími než 100 nm (Tripathi a kol., 2017).

Na druhou stranu bylo ale také prokázáno, že některé nanočástice mají na rostliny významný pozitivní vliv. V tomto směru je samozřejmě zásadní druh nanočástic a jejich koncentrace. Pozitivního vlivu nanočástic na rostliny je využíváno například v nanohnojivech. Další rozvíjející se oblastí, ve které je možné nanočástice využít, jsou fyto-remediace. Působením nanočástic na rostliny může být například podpořen jejich růst a tím zvýšena kapacita pro absorpci těžkých kovů z kontaminované oblasti (Zhu a kol., 2019).

V naší práci je důraz kladen na nanočástice oxidů kovů jakožto nejčastěji se vyskytující typ nanočástic. V případě studia tohoto druhu nanočástic je důležité jejich vliv na rostliny porovnávat s oxidy kovů ve standardních velikostech a, pokud jsou dostupné, i s analogickými rozpustnými solemi. Jedině tak může být odlišeno, zda je vliv dané látky způsoben skutečně její nano-povahou.

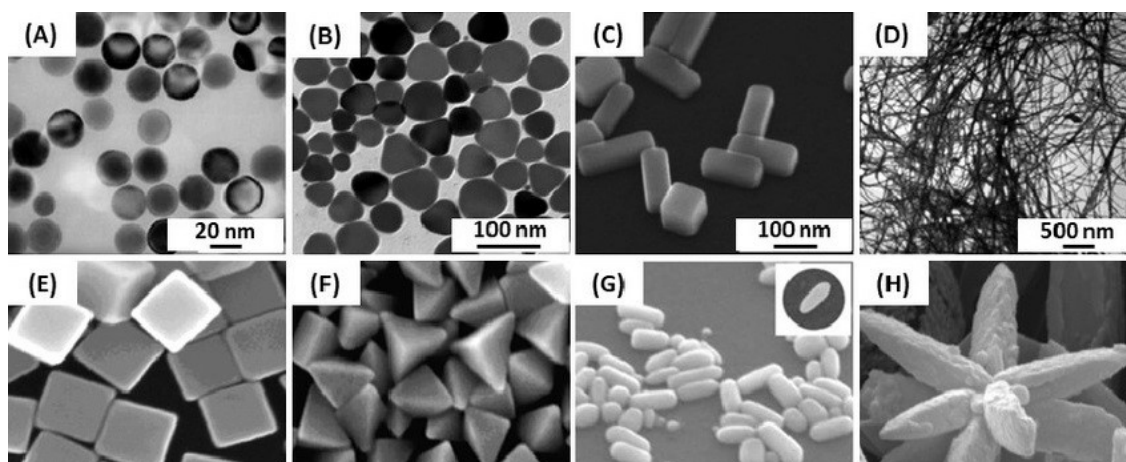
2. Teoretická část

2.1. Nanočástice

Definice vydaná Mezinárodní unií pro čistou a užitou chemii (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) uvádí, že nanočástice je částice jakéhokoli tvaru s rozměry v rozmezí 1×10^{-9} až 1×10^{-7} m, struktury pouze s dvěma rozměry pod 100 nm (trubice a vlákna) jsou rovněž považovány za nanočástice (Vert a kol., 2012). V roce 2008 Mezinárodní organizace pro standardizaci (International Organization for Standardization, ISO) definovala nanočástici jako samostatný (diskrétní) nanoobjekt, který má všechny tři kartézské rozměry menší než 100 nm. ISO standard podobně definoval „dvourozměrné“ nanoobjekty (tj. nanodisky a nanodesky) a „jednorozměrné“ nanoobjekty (tj. nanovlákna a nanotrubic). V roce 2011 Evropská komise schválila více technickou ale zároveň širší definici: přírodní, náhodně vzniknuvší nebo vyrobený materiál obsahující částice v nevázaném stavu nebo jako agregáty nebo jako aglomeráty, kde pro 50 % nebo více částic platí, že jeden nebo více jejich vnějších rozměrů je v rozsahu velikostí 1 nm - 100 nm (Dobson a kol., 2019).

Nanočástice mohou být děleny na různé skupiny podle rozličných kritérií, velikosti, tvaru, materiálových vlastností. Některé klasifikace je rozlišují na organické (dendrimery, lipozomy) a anorganické (fullereny, kvantové tečky, zlaté nanočástice). Jiné klasifikace je dělí podle toho, zda jsou na bázi uhlíku, keramické, polovodičové nebo polymerické. Zároveň mohou být nanočástice děleny na tvrdé (např. titaničité či křemičité částice, fullereny) a měkké (např. lipozomy, vezikuly). Způsob třídění nanočástic obvykle závisí na jejich aplikaci nebo může být odvozen od způsobu, jakým jsou vyrobeny. (Dobson a kol., 2019)

Tvar nanočástic je určen vnitřním krystalickým uspořádáním materiálu a prostředím, ve kterém dané částice vznikají. Výsledek ovlivňují například aditiva, která mohou inhibovat růst krystalů na určitých plochách, tvar kapek a micel v prekurzoru nebo tvar pórů v pevné matrix obklopující vznikající nanočástice. (Murphy, 2002). Nanočástice se vyskytují v nejrůznějších tvarech, které získaly mnohá neformální označení, jako například nanokuličky, nanotyče, nanokvěty nebo nanokorálový útes (Choy a kol., 2004).



Obr. 1: Různé tvary stříbrných nanočástic; Transmisní elektronový mikroskop: (A) nanokuličky, (B) nanohranoly, (C) nanotyče a (D) nanodráty. Skenovací elektronový mikroskop: (E) nanokostky, (F) pyramidy, (G) nanorýže a (H) nanokvěty (Loiseau a kol., 2019)

2.1.1. Využití nanočástic

Vysoký poměr povrchu k objemu spolu s kvantovými efekty způsobují, že nanočástice vykazují velmi osobité vlastnosti. Ty se často zcela liší od vlastností jejich analogů ve standardních velikostech, což přináší širokou škálu možných aplikací (Guo a kol., 2014).

Široké uplatnění nacházejí nanočástice ve farmacii a medicíně. Významná je jejich schopnost přecházet biologické bariéry a doručit léčivo na místo určení v optimálním dávkovacím rozmezí, což často vede ke zvýšené terapeutické účinnosti léčiv a slabším vedlejším účinkům (Alexis a kol., 2008). Superparamagnetické nanočástice oxidů železa s vhodným povrchem mohou být použity i na další četné aplikace *in vivo*, jako jsou například zvýšení kontrastu pro nukleární magnetickou rezonanci (MRI; magnetic resonance imaging), imunoeseje nebo separace buněk (Khan a kol., 2019). Stříbrné nanočástice jsou díky antimikrobiální aktivitě stále více používány v obvazovém materiálu a katétrech nebo různých výrobcích pro domácnost a v textilu (Khan a kol., 2019). Mnoho polovodičových a kovových nanočástic má obrovský potenciál v diagnostice a terapii rakoviny. Zlaté nanočástice účinně přeměňují silné absorbované světlo na lokalizované teplo, což lze využít pro fototermální terapii. Konjugace nanočástic zlata k ligandům specificky zaměřeným na biomarkery na rakovinných buňkách umožňuje molekulárně specifické odhalení rakoviny. (Jain a kol., 2007) Zlaté nanočástice s navázaným vhodným antisense oligonukleotidem jsou využity také v nově

vyvinutém testu pro detekci viru SARS-CoV-2. Jedná se o kolorimetrický test hodnotitelný pouhým okem bez použití jakékoli pokročilé instrumentální techniky (Moitra a kol., 2020). Nanostruktury mají potenciál i v léčbě infekce virem SARS-CoV-2. Zhang a kol. (2020) vyvinuli z plazmatických membrán odvozených z buněk lidského plicního epitelu nebo lidských makrofágů „nanohouby“. Ty mají proteinové struktury potřebné pro vstup viru do hostitelských buněk. Po inkubaci s „nanohoubami“ je virus neutralizován a není schopen infikovat další buňky.

Nanomateriály mají rovněž potenciál zlepšovat životní prostředí, a to jak přímo, aplikacemi těchto materiálů v detekci, prevenci a odstraňování znečišťujících látek, tak nepřímo pomocí čistějších průmyslových postupů a produkce ekologických výrobků. Například železné nanočástice mohou odstranit nečistoty z půdy a podzemní vody, nebo nano-senzory lépe detekují a sledují kontaminanty ve svém okolí. (Mansoori a kol., 2008) Díky tomu, že jsou menší než vlnové délky viditelného světla, mohou být nanočástice rozptýleny v čirém médiu, aniž by ovlivňovaly jeho průhlednost. Tato vlastnost je využívána při fotokatalýze (Tan a kol., 2006).

V České republice je významným světovým pracovištěm zabývajícím se studiem nanomateriálů Regionální centrum pokročilých technologií a materiálů (RCPTM), vědecké centrum Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. K oblastem jejich výzkumu mimo jiné patří výzkum nanočástic oxidů kovů pro katalytické, magnetické a biomedicínské aplikace, uhlíkových nanostruktur na bázi grafenu a kvantových teček, nanočástic kovů pro antimikrobiální úpravy a technologie čištění vod (RCPTM, 2018) (Datta a kol., 2016) (Naldoni a kol., 2017) (Georgakilas a kol., 2015).

Dalším odvětvím, kde se uplatňují nanotechnologie je energetika. V posledních letech je snaha ustupovat od získávání energie z fosilních paliv a nahradit ho výrobou energie z obnovitelných zdrojů. Jednou ze slibných možností je vodík získaný štěpením molekul vody (Khan a kol., 2019). Kromě štěpení vody se nanotechnologie mohou využívat při elektrochemické redukci CO₂ na prekurzory paliv, při výrobě solárních článků nebo piezoelektrických generátorů (Fang a kol., 2013). Nanotechnologie mohou být také využity v systémech pro uchování energie (Kasaeian a kol., 2015).

Speciální mechanické vlastnosti nanočástic umožňují aplikace v oborech jako je povrchové inženýrství, tribologie a nanomechanizace. Využívají se proto jako součást maziv, adheziv nebo nátěrů. Poskytují dobré kluzné a delaminační vlastnosti, tím zvyšují mazací účinek, což se může projevit nižším třením a opotřebením (Guo a kol., 2014).

2.1.2. Nanočástice v přírodě

Jak je vidět, rozmanité produkty nanotechnologií jsou v dnešní době všudypřítomné. Není tedy divu, že je v poslední době přitahována pozornost na oblast nanotoxikologie a také vzrůstají obavy ohledně možného toxického dopadu na člověka a kontaminace životního prostředí nanomateriály (Griffin a kol., 2018).

Syntetické nanočástice mohou vstoupit do životního prostředí během každé ze tří fází svého životního cyklu. Mohou se uvolňovat během výroby produktů obsahujících nanočástice, během jejich používání či po jejich likvidaci (nakládání s odpady). Emise nanočástic mohou probíhat buď přímo do okolního prostředí, jak se to děje například u výfukových plynů, nebo nepřímo prostřednictvím technických systémů jako jsou čistírny odpadních vod nebo skládky. K nepřímým emisím pravděpodobně dochází buď odtokem z čistíren odpadních vod, použitím vyhníklých kalů v hnojivech, nebo výluhy ze skládek (Bundschuh a kol., 2018). Bylo prokázáno, že většina syntetických nanočástic je do prostředí uvolněna právě během použití a likvidace, zatímco během produkce je uvolněno maximálně 2 % z jejich celkového množství (Gottschalk a Nowack, 2011).

Vedle syntetických nanočástic se v životním prostředí vyskytuje obrovské množství nanočástic z přírodních zdrojů. Pochází většinou z rozkladu organické hmoty, chemického zvětrávání hornin nebo to mohou být nanoskopické částice prachu nebo sazí vzniknuvší během vulkanické aktivity, požárů nebo jiných spalování. Tyto částice mají velikost mezi 100 a 200 nm a jsou chemicky převážně na bázi křemíku, železa a uhlíku (Wu a kol., 2016) (Griffin a kol., 2018). Nemalou skupinu tvoří nanočástice vytvořené živými organismy. Kupříkladu *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* nebo bakterie z rodu *Lactobacillus* jsou schopny redukovat seleničitany (SeO_3^{2-}) a selenany (SeO_4^{2-}) na elementární selen ve formě sférických nanočástic. *Bacillus beveridgei* a *Rhodobacter capsulatus* jsou zase schopny redukovat teluričtany a produkovat nanotyče teluru (Estevam a kol., 2017).

Jak je zmíněno výše, nanočástice se vyskytují ve všech složkách životního prostředí. Rostliny do všech těchto oblastí zasahují, a jsou tedy nuceny s nimi interagovat na všech úrovních.

2.1.3. Příjem nanočástic rostlinou

Do semen nanočástice vstupují osemením přes akvaporiny. Přes parenchymatózní mezibuněčné prostory se mohou dostat až do děložního lístku (kotyledonu) (Kumar, a kol., 2019) (Tripathi a kol., 2017). Pokud jde o vzrostlé rostliny, existují dvě cesty, kudy mohou nanočástice vstupovat, jsou to listy nebo kořeny.

Listy jsou vystaveny nanočásticím vyskytujícími se v atmosféře, případně může dojít k postřiku či přímému vstříku do listu (Anjum a kol., 2016). Vyšší rostliny jsou chráněny voskovou kutikulou před ztrátou vody a nekontrolovanou výměnou rozpustných látek. Kutikula je považována za první přirozenou bariéru proti vstupu nanočástic do rostlinných pletiv. Pokud dojde ke změnám v kutikule vlivem životního stádia, klimatických podmínek nebo poškozením škůdci či chorobami, může být kutikula jakožto první bariéra překonána. Jedinou prokázanou cestou vstupu nanočástic do těla rostliny přes listy jsou průduchy (stomata) (Lv a kol., 2019). Například Giraldo a kol. (2014) prokázali schopnost jednostěnných uhlíkových nanotubic procházet stomaty špenátu, proniknout do chloroplastů a hromadit se na tylakoidech a ve stromě.

Vzhledem k jedinečné geometrické konstrukci a fyziologické funkci průduchů stále není známo, jaký je velikostní limit (nano)částic pro průnik průduchem do vnitřních struktur listu. Na základě výzkumu Eicherta a Goldbacha (2008) byl detekován průchod polystyrenových nanočástic o velikosti 43 nm, zatímco částice o velikosti 1,1 μm neprošly. Byla také pozorována distribuce fluorescenčních nanočástic v listovém apoplastu po vstupu do průduchové dutiny. Kim a kol. (2014) však zjistili, že nanočástice železa nulové valence vyvolaly indukci aktivity plazmatické H^+ ATPázy a podpořily otevření stomat u huseníčku (*Arabidopsis thaliana* L.). Velikost propuštěných nanočástic průduchy tedy velmi záleží na jejich povaze. Lze tedy očekávat, že rostlinné druhy s různou morfologií listů, velikostí a hustotou průduchů budou mít různou kapacitu pro foliární příjem nanočástic (Lv a kol., 2019).

Pokud se nanočástice vyskytují v okolí kořenů, jsou nejprve adsorbovány na jejich povrch. Kořeny rostlin mají díky přítomnosti trichomů drsný povrch. Tyto chloupky mohou vylučovat sliz nebo malé molekuly organických kyselin, které dávají povrchu kořenů negativní náboj. Vyšší pravděpodobnost adsorpce a akumulace na povrchu kořenů mají proto nanočástice s pozitivním povrchovým nábojem (Lv a kol., 2019). Nanočástice pak musí procházet řadou fyziologických bariér počínaje kořenovou kutikulou, přes epidermis, kůru, endodermis, Casparyho proužky až nakonec projdou do xylému. Není

jasné, zda mohou nanočástice prostupovat kutikulou na povrchu kořene. Kutikula je však nedostatečně vyvinutá na povrchu kořenových chloupků a vyvíjejících se kořenových čepiček hlavních a sekundárních kořenů. Proto je v těchto oblastech nanočásticím vystavena přímo epidermis (Schwab a kol., 2016).

2.1.4. Pohyb nanočástic rostlinou a jejich akumulace

Ve chvíli, kdy nanočástice projdou buněčnou stěnou, mohou difundovat v prostoru mezi buněčnou stěnou a plazmatickou membránou tzv. apoplastickou cestou. Ta je zprostředkována osmotickým tlakem nebo kapilárními silami. Apoplastem částice překonají epidermální a kortikální buňky a dosáhnou endodermis. Agregáty nanočástic se ale často v endodermis akumulují kvůli Casparyho proužkům, fungujícím zde jako odolná bariéra. Pro efektivní translokaci do výhonů musí nanočástice poté přejít do symplastu. (Deng a kol., 2014)

Symplastická cesta je považována za důležitější a vysoce regulovanou cestu pro transport nanočástic do těla rostlin. Do buněk se nanočástice mohou dostávat navázáním na transportní proteiny, přes akvaporiny, iontové kanály, endocytózou nebo vytvořením nových pórů. Hydrofobie či hydrofilie nanočástic jsou také vlastnosti ovlivňující jejich průchod membránami rostlinných buněk. Hydrofobní nanočástice mají tendenci se zapouštět do hydrofobních částí membrány, zatímco hydrofilní nanočástice upřednostňují adsorpci na povrch dvojvrstvy a častěji se vážou na intracelulární vezikuly (Li a kol., 2008). Jakmile jsou uvnitř buněk, endozomy obsahující nanočástice mohou být účinně transportovány do sousedních buněk přes plazmodezmata. Symplastická cesta je vysoce účinná při transportu nanočástic přes endodermis do stély a následně do cévních svazků. (Deng a kol., 2014)

Procesy jako adsorpce, translokace a akumulace nanočástic závisí na druhu rostliny a také na velikosti, typu, chemickém složení a stabilitě nanočástic (Anjum a kol., 2016).

Vizualizace řezů kořene pšenice (*Triticum aestivum* L.) ošetřené nanočásticemi Fe_3O_4 s navázanou kyselinou citronovou pomocí transmisní elektronové mikroskopie ukázala, že nanočástice Fe_3O_4 vstoupily do kořene apoplastickou cestou a poté byly detekovány v buněčné stěně kořenové epidermis. Nebyl však detekován žádný signál, který by naznačoval, že magnetické nanočástice byly translokovány vaskulárním systémem do nadzemních částí rostliny (Iannone a kol., 2016). Stejně tak nanočástice

stříbra se akumulovaly pouze v podzemních pletivech rákosu (*Phragmites australis* Cav.) (Fernandes a kol., 2017). V rostlinách bazalky (*Ocimum basilicum* L.) však došlo k translokaci nanočástic stříbra, kobaltu a niklu do stonků i listů (Antisari a kol., 2018). Wang a kol. (2012) za pomoci techniky rozdělení kořenů („split-root“) a transmisní elektronové mikroskopie s vysokým rozlišením zjistili, že 20–40 nm nanočástice CuO byly translokovány xylémem z kořenů kukuřice (*Zea mays* L.) do výhonů a poté floémem zpět z výhonů do kořenů. Cestu z výhonů do kořenů floémem potvrzuje i další studie Raliya a kol. (2016), nanočástice zlata byly tímto způsobem translokovány po foliární aplikaci u vodního melounu.

2.1.5. Pozitivní vliv nanočástic na rostliny

Růst každé rostliny je závislý na prostředí, ve kterém se vyskytuje, a na povaze a množství absorbovaných živin. Některé studie prokázaly, že přidání nanomateriálů do půdy má na rostliny významný pozitivní vliv (Zhu a kol., 2019). Například přidání nano TiO₂ může zvýšit rychlost fotosyntézy sóji luštinaté (*Glycine max* L.) změnami v chlorofylech nebo karotenoidech a tím podpořit její růst (Singh a Lee, 2018). Podobně přidání nanohydroxyapatitu do půdy (10 g/kg) může podpořit růst žita (Ding a kol., 2017).

Zkoumány byly také účinky nanočástic na obilniny. Bylo zjištěno, že nano Fe₃O₄ neměl žádný vliv na rychlost klíčení, růst rostlin a obsah chlorofylu v pšenici (*Triticum aestivum* L.). Nicméně po pěti dnech hydroponické kultivace nano Fe₃O₄ zvýšil aktivitu antioxidantních enzymů ve všech testovaných koncentracích (5, 10, 15 a 20 mg/L), což bylo pro růst pšenice výhodné (Iannone a kol., 2016). Přidání nanočástic ZnO o koncentraci 2 ppm do závlahové vody zase zvýšilo množství listové sušiny a index listové plochy kukuřice (Taheri a kol., 2015). Tarafdar a kol. (2014) syntetizovali nanočástice ZnO za pomoci houby *Rhizoctonia bataticola* TFR-6. Takto biosyntetizované nanočástice (o velikosti 15–25 nm) podpořily růst prosa (*Pennisetum americanum* L.). Oproti kontrole byl u šestidenních rostlin pozorován významně vyšší výnos zrna. Větší byla i délka výhonů a kořenů, plocha kořenů, obsah chlorofylu, obsah rozpustných proteinů v listech, větší množství sušiny, vyšší aktivity kyselá i alkalická fosfatázy, fytázy a dehydrogenázy. Koloidní roztok nanočástic mědi a zinku měl pozitivní vliv na redoxní rovnováhu, obsah fotosyntetických pigmentů a plochu listů u ozimé pšenice stepního ekotypu. Zejména zvýšená aktivita antioxidantních enzymů snížila úroveň akumulace látek reagujících s kyselinou thiobarbiturovou (TBARS), stabilizovala obsah

fotosyntetických pigmentů a zvýšila relativní obsah vody v listech. Tím se významně snížil negativní účinek sucha na tyto rostliny (Taran a kol., 2017). Ošetření lupiny bílé (*Lupinus termis* Forssk.) nanočásticemi ZnO o koncentraci 60 mg/L zase zvýšilo toleranci rostlin vůči zasolení (Latef a kol., 2016) (Faizan a kol., 2020).

2.1.6. Negativní vliv nanočástic na rostliny

Ačkoli mohou rostliny snižovat toxicitu některých sloučenin a prvků, nanomateriály mohou stále přecházet z kořenů do nadzemních (jedlých) částí rostlin a vstupovat tak do potravního řetězce (Antisari a kol., 2018). Některé nanomateriály mají na rostliny prokazatelně toxické účinky. Vyšší koncentrace nanomateriálů vedou zejména ke zpomalení růstu rostlin (Zhu a kol., 2019). Například železo nulové valence ve vysokých koncentracích (500, 750 a 1000 mg/kg) způsobuje pokles množství karotenoidů a chlorofylu u rýže. To má za následek chlorózu, ovlivňuje fotosyntézu, a tedy snižuje tvorbu biomasy (Wang a kol., 2016). Zvýšení obsahu reaktivních forem kyslíku, peroxidace lipidů, snížení obsahu chlorofylu a celkově viditelné poškození listů bylo pozorováno i u rostlin sóji (*Glycine max* L.) pěstovaných v půdě ošetřené nanočásticemi CeO₂ (Priester a kol., 2017). Negativní vliv nanočástic ZnO na přeslenici vodní (*Hydrilla verticillata* L.) a rákos obecný (*Phragmites Australis* Cav.) prokázali (Song a Lee, 2016). Vysoké koncentrace nanočástic ZnO (1000 mg/L) způsobily výraznou fytoxicitu. Dle autorů se ale zdá, že v tomto experimentu jsou zdrojem fytoxicity nanočástic ZnO rozpuštěné zinečnaté ionty. U zkoumaných vodních rostlin došlo ke snížení obsahu chlorofylů, zvýšení aktivity antioxidantních enzymů a zpomalení růstu. Toxický efekt nanočástic ZnO na přeslenici, jakožto ponořenou bylinu, se objevil hned v raných fázích experimentu, zatímco u rákosu byl pozorován až po několika týdnech. Rozdíly v toxicitě byly závislé na tom, zda rostliny používají k příjmu vody a živin kořeny nebo listy.

Na úrovni proteomu také dochází k významným změnám. Analýza u mladých rostlin sóji (*Glycine max* L.), jejichž semena byla ošetřena nanočásticemi Al₂O₃, ZnO a Ag, odhalila 104 změněných proteinů primárně spojených se sekundárním metabolismem, organizací buněk a metabolismem hormonů. Expres genů souvisejících s redoxní kaskádou byla zvýšená v kořenech sóji ošetřených nanočásticemi Al₂O₃ a snížena v případě nanočástic ZnO a stříbra. Růst rostlin, rigidita kořenů a životaschopnost kořenových buněk byly výrazně ovlivněny u rostlin stresovaných nanočásticemi ZnO a Ag, zatímco sazenice ošetřené nanočásticemi Al₂O₃ si zachovaly růst stejný jako kontrola

(Hossain a kol., 2015). U huseníčku (*Arabidopsis thaliana* L.) došlo pod vlivem nanočástic ZnO k inhibici exprese genů spojených s fotosyntézou, omezení biosyntézy chlorofylu, a tedy ke snížení účinnosti fotosyntézy. Při koncentraci 300 mg/L byl obsah chlorofylu *a* i *b* nižší o více než 50 %. Růst rostlin byl v porovnání s kontrolou omezen o 20 % (200 mg/L), respektive o 80 % (300 mg/L) (Wang a kol., 2016). Demir a kol. (2014) potvrdili také genotoxicitu nanočástic ZnO u buněk kořenového meristému cibule (*Allium cepa* L.). Pomocí kometového testu hodnotili genotoxicitu nanočástic ZnO o velikostech 35 a 50 nm. Prokázala se u obou velikostí, a to jak v parametru % DNA v ocasu tak v parametru tail moment (% DNA v ocasu × délka ocasu). V případě nanočástic TiO₂ došlo k signifikantním změnám jen v nejvyšší koncentraci 1000 µg/mL.

Nanočástice v prostředí mohou ovlivnit růst rostlin i nepřímo, a to narušením rhizosféry. Například nanočástice stříbra o koncentraci 10 mg/L tak způsobily změny ve struktuře mikrobiální populace v půdě (Fernandes a kol., 2017).

3. Fytoremediace

Termín fytoremediace popisuje technologii, která používá zelené rostliny a jejich přidruženou rhizosféru k odstraňování kontaminantů životního prostředí jako jsou těžké kovy, organické sloučeniny nebo radioaktivní sloučeniny přítomné v půdě nebo vodě pomocí akumulace nebo biotransformace. Druhy, které dokážou akumulovat kovy ve vysokých koncentracích se nazývají hyperakumulátory (např. *Thlaspi caerulescens* L., *Alyssum bertolonii* L., *Arabidopsis halleri* L.). Tyto druhy jsou schopny akumulovat ve svých nadzemních částech jeden nebo i více kovů až ve stonásobné koncentraci oproti běžným druhům. Nevýhodou pro fytoremediace je u těchto druhů jejich malý přírůstek biomasy. Mechanismy a účinnost fytoremediace závisí na několika faktorech – povaha kontaminantu, biologická dostupnost, vlastnosti půdy a rostlinné druhy. Je možné použít druhy, které akumulují méně znečišťujících látek, zato produkují více biomasy, jako jsou například *Brassica spp.* L., *Typha spp.* L. nebo *Arundo donax* L. V závislosti na povaze kontaminujících látek a / nebo mechanismu fytoremediace existují různé techniky fytoremediace: fytoextrakce, fytostabilizace, fytovolatilizace, fytodegradace, rhizofiltrace, rhizodegradace a fytodesalinace. (Cristaldi a kol., 2020)

3.1. Fytoremediace za pomoci nanočástic

Použití kombinace rostlin a nanomateriálů k sanaci znečištěné půdy nebo vody je založená na dvou hlavních principech. Je to ovlivnění vnitřní struktury rostlin, například chlorofylů nebo karotenoidů, nanomateriálem, aby byl podpořen růst rostliny a dále použití nanomateriálů v kombinaci s rostlinami k adsorpci kontaminantů (Zhu a kol., 2019).

Aplikace nanočástic TiO_2 (100, 200 a 300 mg/kg půdy) do půdy kontaminované cesiem významně zvýšila příjem a akumulaci ^{133}Cs sójou (*Glycine max* L.) (Singh a Lee, 2018). Stříbrné nanočástice o koncentracích 20 a 50 ppm zvýšily produkci fytohormonů na bázi kyseliny gibberelové a abscisové u kukuřice (*Zea mays* L.), což zlepšilo rostlinám odolnost vůči stresu, příjem živin a vody a pomohlo v růstu. Stříbrné nanočástice rovněž podpořily akumulaci niklu a olova ve výhonech kukuřice (Khan a Bano, 2016). Nanočástice chitosanu s navázanou kyselinou salicylovou mají zase významně příznivý vliv na účinnost fytoremediace u borytu (*Isatis cappadocica* Desv.). Ošetření borytu těmito nanočásticemi před vystavením arzenu zvýšilo obsah arzenu v kořenech a výhonech a zároveň snížilo toxický vliv arzenu na rostliny (Souri a kol., 2017). S pomocí žita byl studován vliv nanohydroxyapatitu na fytoremediaci půdy kontaminované olovem. Nanohydroxyapatit (10 g/kg půdy) významně snížil mobilitu a biodostupnost olova v půdě. Zároveň zvýšil exkreci kyseliny tartarové rostlinami, čímž pravděpodobně podpořil adsorpci iontů olova na svůj povrch (Ding a kol., 2017).

3.2. Využití šáchorovitých ve fytoremediacích

Mnoho rostlin rostoucích v mokřadech a kolem nich má přirozenou schopnost přijímat, akumulovat nebo degradovat organické i anorganické látky. Zřejmě kvůli menší produkci biomasy byla šáchorovitým (*Cyperaceae* Juss.) věnována menší pozornost než jiným čeledím. Bylo však zjištěno, že některé druhy šáchorovitých hromadí těžké kovy a mají tak ve fytoremediacích velký význam (Mishra a kol., 2015). Šáchor střídavolistý (*Cyperus alternifolius* L.) se ukázal jako účinný v odstraňování těžkých kovů – mědi, niklu, chromu, zinku a kobaltu (Soda a kol., 2012). Cheng a kol. (2002) také zaznamenali akumulaci Al a Mn různými částmi rostlin tohoto druhu. Rovněž se ukázalo, že volně rostoucí skřipina (*Scirpus sp.* L.) a šáchor hlíznatý (*Cyperus rotundus* L.) v některých mokřadech akumulují chrom, mangan, železo, měď, zinek a olovo, což zdůrazňuje

význam fytoremediace jako rentabilního nástroje pro čištění životního prostředí (Chattetjee a kol., 2011). Využitelnost šáchorovitých se ale neomezuje jen na těžké kovy. Například TNT (2,4,6-trinitrotoluen) byl účinně degradován ostřicí (*Carex vulpinoidea* Michx.), skřípinou (*Scirpus cyperinus* L.) a bahničkou (*Eleocharis obtuse* Willd.) (Best a kol., 1997).



Obr. 2 Zástupci šáchorovitých, zleva *Carex vulpinoidea* Michx. (GRAYBOX, *Carex vulpinoidea*, 2016), *Cyperus rotundus* L. (Wikipedia contributors, 2020), *Scirpus cyperinus* L. (GRAYBOX, *Scirpus cyperinus*, 2016)

4. Cíle práce

Hlavním cílem mého doktorského studia bylo sledování vlivu nanomateriálů, převážně oxidů kovů, na růst vybraných druhů rostlin a hodnocení jejich fytotoxicity.

Mezi dílčí cíle patřilo:

- Zmapovat oblast environmentálních dopadů nanomateriálů a poznatky využít pro další práci
- Odhalit, jakou roli hraje velikost, tvar a uvolňování kovových iontů ve fytotoxicitě nanočástic oxidů kovů
- Porovnat akumulaci nanočástic oxidů kovů s oxidy kovů ve standardní velikosti a rozpustnými kovovými solemi v *in vitro* kulturách
- Sledovat vliv nanočástic oxidů kovů na růst rostlin
- Otestovat protektivní účinek nanočástic zinku při interakci s kadmíem

5. Komentáře k publikacím

5.1. Vliv nanočástic na rostliny

Cyrusová, T., Podlipná, R., Vaněk, T. (2015) The effect of nanoparticles on plants. *Chemické listy* 109, stránky 274–278.

Nanotechnologie se uplatňují téměř ve všech oblastech lidské činnosti. V posledních letech došlo k prudkému rozvoji nanomateriálů a velký přínos byl zaznamenán hlavně v medicíně a farmaceutickém průmyslu. Bohužel, nanomateriály mají vedle velkého užitečného potenciálu také srovnatelně velký potenciál rizik pro lidské zdraví a životní prostředí, rostliny nevyjímaje. Nanomateriály se tak v poslední době staly důležitou skupinou kontaminantů životního prostředí. Částice, které mají alespoň dva rozměry v řádu nanometrů, mají oproti svým standardním analogům mnohem větší povrch. Z toho vyplývá potenciál efektivněji interagovat s biologickými systémy.

Voda, půda i atmosférické části prostředí mohou být zdrojem kontaminace nanočásticemi. Rostliny jsou tedy nuceny s nimi interagovat na všech těchto úrovních.

Z nejrůznějších vědeckých publikací vyplývá, že k příjmu nanočástic rostlinou dochází mnoha mechanismy. Nejčastěji jsou přijaty kořeny spolu s vodou a jinými nutrienty z půdy a po dosažení cévního systému jsou transportovány transpiračním proudem do nadzemních částí rostliny, tam mohou nanočástice pronikat i průduchy. Do intracelulárního prostoru přecházejí pomocí proteinových přenašečů, akvaporinů, iontovými kanály, endocytózou nebo vytvořením nových pórů. Některé studie ovšem přenos nanočástic z kořenů do výhonů vyvracejí. Protichůdné výsledky ukazují na to, jak jsou interakce mezi nanočásticemi a rostlinami výrazně ovlivňovány druhem nanočástic, druhem rostliny a podmínkami experimentu.

Nejčastějšími prostředky zkoumání fytotoxicity nanomateriálů jsou měření délky klíčku a výhonů, hodnocení elongace kořenů či produkce biomasy. Nanomateriály v půdě mohou chování rostlin ovlivnit i nepřímo a to např. změnami v charakteru kolonií půdních mikroorganismů nebo inhibicí půdních proteáz, kataláz a peroxidáz. Výsledky fytotoxikologických testů jsou ale velmi variabilní a v mnoha faktech se rozcházejí, proto musí být podmínky experimentů přesně charakterizovány.

Mechanismus nanotoxicity zůstává z velké části neprozkoumán, nicméně úzce souvisí s chemickým složením, chemickou strukturou, velikostí a povrchem nanočástic. Schopnost nanomateriálů vstupovat do buněk zvyšuje jejich potenciál vytvářet buněčnou a genovou toxicitu. Nejčastěji indukují oxidační stres. Nanočástice mohou způsobit chromosomální aberace, tvorbu mikrojader a také mohou snižovat mitotický index.

Dopad nanočástic na rostliny se tedy liší v závislosti na jejich povaze, velikosti, struktuře, chemickém složení, povrchových vlastnostech a na jejich množství. Působení nanočástic také závisí na druhu rostliny.

5.2. Vliv oxidů kovů na klíčení rostlin: Fytotoxicita nanočástic, syvkých oxidů a iontů kovů

Landa, P., Cyrusová, T., Jeřábková, J., Drábek, O., Vaněk, T., Podlipná, R. (2016) Effect of Metal Oxides on Plant Germination: Phytotoxicity of Nanoparticles, Bulk Materials, and Metal Ions. *Water, Air & Soil Pollution* 227, 448 (1-10)

TiO₂ a ZnO jsou celosvětově nejvíce vyráběnými nanomateriály na bázi oxidů kovů. Proto jsme si položili otázku týkající se možných toxických účinků těchto a dalších nanočástic uvolňovaných do životního prostředí. Většina studií popisuje toxické účinky nanomateriálů na rostliny, byly ale také pozorovány jejich pozitivní dopady.

Cílem této studie bylo odhalit, jakou roli hraje velikost, tvar a uvolňování kovových iontů ve fytotoxicitě uměle vytvořených nanočástic. Testovány byly oxidy kovů (Al₂O₃, CuO, Fe₃O₄, MnO, TiO₂ a ZnO) ve formě nanočástic nebo nanovláken, částic ve standardní velikosti a odpovídající rozpustné soli těchto kovů (kromě Ti). Ke stanovení fytotoxicity byl použit standardizovaný test, založený na měření elongace 72 hodin rostoucích klíčících kořinek hořčice seté (*Sinapis alba* L.). Dále byl měřen obsah nahromaděných kovů v klíčících rostlinách a koncentrace kovových iontů uvolněných do kultivačního média pomocí atomové absorpční spektrometrie (Cu, Fe, Mn, Zn) a optické emisní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou (Al, Ti).

Ve skupině nanočástic vykazovaly inhibici elongace kořenů závislou na množství pouze CuO a ZnO. Nanočástice Fe₃O₄, TiO₂, MnO₂ ani Al₂O₃ neměly na elongaci kořenů negativní vliv ani v jedné z testovaných koncentrací. V porovnání s oxidy kovů ve standardní velikosti se neukázaly žádné významné rozdíly. Pouze kořeny semen vystavených Fe₃O₄ (100 mg/L), MnO₂ (1000 mg/L), a Al₂O₃ (10 mg/L) byly kratší než u semen vystavených odpovídajícím nanočásticím. Vliv nanovláken (ZnO, MnO₂, Al₂O₃ a TiO₂) nebyl významně odlišný od vlivu odpovídajících nanočástic i oxidů o standardní velikosti. Kovy ve formě iontů (aplikované v množství analogickém obsahu kovu v daném oxidu) vykazovaly vyšší toxicitu než odpovídající oxidy.

Koncentrace zinečnatých iontů uvolněných ze ZnO byly velmi podobné u všech forem ZnO. Toxicita a koncentrace zinečnatých iontů v kultivačním médiu ošetřeném ZnSO₄ koreluje s koncentrací iontů uvolněných ze ZnO.

Částice CuO inhibovaly elongaci kořenů podobně jako tomu bylo u ZnO, ale uvolňovaly významně méně iontů do kultivačního média. Ačkoli jsou ionty mědi

toxičtější než ionty zinku, nemůže být toxicita vysvětlena pouze uvolněním iontů do kultivačního média. Ta se zdá být způsobena spíše akumulací mědi v klíčící rostlině.

Přítomnost Fe_3O_4 a MnO_2 ve formě nanočástic i ve standardní velikosti neovlivnila negativně růst, zřejmě díky relativně nízké toxicitě iontů železa a manganu.

Nečekané výsledky byly pozorovány v případě použití hliníkové soli a částic Al_2O_3 o koncentraci 1000 mg/L. Obsah iontů hliníku v semenech byl nízký, avšak růst kořenů byl významně redukován. Oproti tomu v případě nanočástic Al_2O_3 o stejné koncentraci byl obsah hlinitých iontů v semenech vysoký a růst kořenů ovlivněn nebyl. Zdá se, že klíčící rostliny jsou schopné blokovat příjem iontů Al nebo je aktivně vylučovat, pokud je jejich zdrojem sůl. Zatímco nanočástice Al_2O_3 se zřejmě neakumulují v rostlině, ale adsorbují na povrchu. Tento fakt je podpořen i skutečností, že byla pozorována vyšší koncentrace Al na/v kořenech vystavených nanočásticím a nanovláknům Al_2O_3 než Al_2O_3 ve standardní velikosti. Podobné poznatky byly pozorovány i v případě TiO_2 .

Z této studie vyplývá, že velikost ani tvar částic fytotoxicitu testovaných materiálů neurčují. Uvolňování iontů do kultivačního média v kombinaci s toxicitou hraje důležitou roli v případě částic ZnO . Hromadění toxických iontů Cu uvolňovaných z částic CuO v rostlinných tkáních je považováno za klíčový faktor fytotoxicity CuO . Nízká nebo žádná toxicita ostatních testovaných oxidů kovů pravděpodobně souvisí s nízkým uvolňováním iontů (TiO_2) nebo nízkou toxicitou iontové formy (Fe_3O_4 , MnO_2 a Al_2O_3).

5.3. Reakce mokřadní rostliny ostrice liščí (*Carex vulpina*) na nanočástice mědi a železa

Cyrusová, T., Petrová, Š., Vaněk, T., Podlipná, R. (2017) Responses of Wetland Plant *Carex vulpina* to Copper and Iron Nanoparticles. *Water, Air & Soil Pollution* 228, 258 (1-8).

Nanočástice oxidů kovů patří mezi nejčastěji používané nanomateriály. Bylo prokázáno, že některé nanočástice oxidů kovů, jako například CuO, mají na rostliny negativní vliv. Na druhou stranu některé nanočástice v přiměřených koncentracích mohou podpořit růst rostlin a mohly by být používány jako součást hnojiv.

V naší studii jsme porovnávali akumulaci nanočástic oxidů kovů (CuO a Fe₃O₄) s oxidy kovů ve standardní velikosti a rozpustnými kovovými solemi v *in vitro* kulturách ostrice liščí (*Carex vulpina* L.) a zároveň jsme sledovali jejich vliv na růst této mokřadní rostliny. Stanovení koncentrace mědi a železa v kořenech a špičkách listů bylo provedeno pomocí atomové absorpční spektrometrie. Obsah fotosynteticky aktivních pigmentů v metanolovém extraktu centrálních částí listů byl stanoven UV spektrometrií. Kořeny rostlin byly naskenovány a jejich morfologické parametry byly vyhodnoceny softwarem WinRHIZO.

Růst rostlin, uváděný jako hodnota GV (growth value), byl negativně ovlivněn nejvíce po přidání vysoce rozpustných solí (CuSO₄ a FeSO₄). Potlačení růstu bylo významné také po aplikaci CuO jak ve standardní velikosti, tak v nanoformě. Účinky Fe₃O₄ v obou formách nebyly významné. Snížení růstu po aplikaci sloučenin mědi je dáno především snížením množství fotosyntetických pigmentů, zejména chlorofylu *a*. Množství mědi v kořenech bylo v obou případech přibližně tisíckrát vyšší ve srovnání s množstvím mědi v kontrolních vzorcích, ale v případě nanoformy bylo desetkrát více mědi translokováno do listů než v případě oxidu ve standardní velikosti. Množství mědi v kořenech rostlin ošetřených solí (CuSO₄) bylo 3krát vyšší než u oxidů. Na rozdíl od GV, kořenové charakteristiky byly více ovlivněny CuO než CuSO₄, zejména v případě CuO ve standardní velikosti.

V případě rostlin ošetřených Fe₃O₄ (v obou formách) nedošlo ke snížení GV, změně v obsahu fotosyntetických pigmentů ani k výraznému ovlivnění kořenových charakteristik. Obsah železa v kořenech rostlin ošetřených Fe₃O₄ byl tři až čtyřikrát vyšší než v kontrolních rostlinách. Obsah železa v listech byl však zvýšen pouze minimálně.

Rozdíl v obsahu železa v kořenech i listech rostlin ošetřených oxidy železa v nanoformě a ve standardní velikosti byl zanedbatelný.

Obecně se zdá, že účinek na rostliny je dán spíše chemickou podstatou kovů než formou, v jaké jsou do rostliny přijaty. Železo není pro rostlinu toxické ani ve vysokých koncentracích, proto pravděpodobně nevykazují toxicitu ani příslušné nanočástice.

5.4. Vliv velikosti zinečnaté částice na fotosyntetické pigmenty při interakci kadmium – zinek

Haisel, D., Cyrusová, T., Vaněk, T., Podlipná, R. (2019) The effect of nanoparticles on the photosynthetic pigments in cadmium—zinc interactions. *Environmental Science and Pollution Research* 26, stránky 4147–4151.

Kontaminace těžkými kovy je jeden z největších globálních problémů. V životním prostředí se nachází směs různých kovů, avšak hodnocení rizik se provádí téměř výhradně na základě působení každého kovu zvlášť. Kadmium v přírodě často doprovází zinek a je díky své podobnosti s ním přijímáno do rostliny transportéry pro zinek a zároveň pro další živiny jako je železo nebo vápník. Bylo prokázáno, že Cd a Zn interagují antagonisticky nebo synergicky v různých rostlinách.

Cílem této studie bylo otestovat účinek zinkových nanočástic v interakci zinek-kadmium u mokřadní rostliny ostřice liščí (*Carex vulpina* L.). Byly použity relativně nízké koncentrace zinku (10 a 50 μM ZnO ve standardní a nanovelikosti a ZnSO_4) společně s kadmii (10 μM $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$) ke zjištění, zda může zinek zmírnit negativní účinky kadmia na fotosyntetické pigmenty. Vycházeli jsme z poznatku, že zinek v nízké koncentraci snižuje negativní dopady kadmia v semenech a vzrostlých rostlinách tabáku (Tkalec a kol., 2014). Ostřice liščí byla vybrána jakožto druh mokřadní rostliny potenciálně vhodný pro fytoremediace.

Obsah zinku a kadmia byl stanoven atomovou absorpční spektrometrií, obsah jednotlivých fotosyntetických pigmentů (chlorofyly, karotenoidy a xantofyly) za použití HPLC na reverzní fázi. Téměř ve všech testovaných skupinách byly nalezeny vyšší koncentrace Cd v kořenech než v listech. Aplikace zinku pomohla snížit akumulaci kadmia pouze v nejvyšší koncentraci (50 μM) a to pouze v případě použití ZnO ve standardní velikosti (pouze v kořenech) a ve formě soli (v kořenech i listech).

Obsah chlorofylu a aktivita xantofylového cyklu v rostlinách byly ovlivněny významně. Rostliny ošetřené pouze kadmii vykazovaly výrazný pokles v množství neoxantinu a luteinu, a chlorofylů *a* i *b*. Významný nárůst v obsahu β -karotenu ukazuje na obrannou reakci proti narůstajícímu množství reaktivních forem kyslíku (ROS) ve fotosyntetickém komplexu. Aktivace xantofylového cyklu je prokázána zvýšením obsahu zeaxantinu a anteraxantinu a hodnotou DEPS (de-epoxidation state of the xanthophyll cycle pigments). Aplikace Zn, ale pouze ve formě rozpustné soli při nízké koncentraci,

potlačila stres způsobený přítomností Cd v mediu. Oxidy zinku jsou mnohem méně rozpustné ve vodě než ZnSO₄, mají tedy nižší biologickou dostupnost. To může vysvětlit nižší protektivní účinky ZnO než ZnSO₄. Rostliny ošetřené kadmíem a současně nanočásticemi ZnO vykazovaly nejvyšší míru stresu. Tento fakt je dokumentován vyšším DEPS a sníženým poměrem chlorofylů *a/b* i jejich sníženým obsahem. Nižší obsah neoxantinu a luteinu indikoval částečné poškození fotosyntetických komplexů. Přítomnost nano-ZnO v porovnání se ZnO ve standardní velikosti ovlivnila akumulaci β -karotenu, což dále ukazuje na vyšší stres a větší poškození rostlin.

V tomto experimentu se protektivní účinek zinku projevil pouze při ošetření rostlin rozpustnou solí ZnSO₄ v nízké koncentraci. Naproti tomu jiné formy zinku, tj. nanočástice ZnO i ZnO ve standardní velikosti, zvyšovaly negativní účinek kadmia na použité rostliny.

6. Závěry

Předkládaná disertační práce byla zaměřena na studium vlivu nanomateriálů, převážně oxidů kovů, na růst vybraných druhů rostlin a hodnocení jejich fytotoxicity. Na základě vytyčených cílů mohou být dosažené výsledky shrnuty do následujících bodů:

- Literární rešerše o současném stavu environmentálních dopadů nanomateriálů vedla k sepsání přehledného článku.
- Z testování vlivu oxidů kovů (Al_2O_3 , CuO , Fe_3O_4 , MnO , TiO_2 a ZnO), ve formě nanočástic nebo nanovláken, oxidů kovů ve standardní velikosti a odpovídajících rozpustných solí, na klíčení semen hořčice seté vyplynulo, že velikost ani tvar částic fytotoxicitu testovaných materiálů neurčují.
- Při pěstování ostřice liščí v médiích s přídavkem nanočástic oxidů kovů, oxidů kovů ve standardní velikosti a rozpustných kovových solí je obsah příslušných kovů v rostlinách významně vyšší pouze v případě rozpustných solí. Obecně se zdá, že účinek na rostliny je dán spíše chemickou podstatou kovů než formou, v jaké jsou do rostliny přijaty.
- Toxicita způsobující omezení růstu rostlin po stresování oxidy kovů (v nanoformě, ve standardní velikosti a ve formě soli) je dána spíše chemickou povahou daných kovů. Rozdíl v toxicitě oxidů kovů v nanoformě a ve standardní velikosti je minimální, nejvýraznější toxický efekt se projevuje při aplikaci rozpustných solí.
- Protektivní účinek nanočástic zinku na obsah fotosyntetických pigmentů při interakci s kadmiiem nebyl prokázán. Protektivní účinek zinku se projevuje pouze při ošetření rostlin rozpustnou solí ZnSO_4 v nízké koncentraci. Nanočástice ZnO i ZnO ve standardní velikosti, zvyšovaly negativní účinek kadmia na použité rostliny zřejmě kvůli své nižší rozpustnosti a nižší biologické dostupnosti.

Z naší práce vyplývá, že vliv nanočástic na metabolismus rostlin určuje spíše chemická podstata daných látek. Nanočástice v prostředí často agregují, čímž jsou eliminovány vlastnosti vyplývající z jejich nanovelikosti. Nicméně, nanotechnologie je moderní obor využívaný v mnoha odvětvích, je tedy dobré nadále fytotoxicitu nanočástic sledovat.

7. Podíl předkladatelky na publikacích zahrnutých v disertační práci

Cyrusová, T., Podlipná, R., Vaněk, T. (2015) The effect of nanoparticles on plants. *Chemické listy* 109, stránky 274–278.

- Literární rešerše
- Sepsání publikace

Landa, P., **Cyrusová, T.**, Jeřábková J., Drábek O., Vaněk T., Podlipná R. (2016) Effect of Metal Oxides on Plant Germination: Phytotoxicity of Nanoparticles, Bulk Materials, and Metal Ions. *Water, Air & Soil Pollution* 227(12), 448 (1-10).

- Test fytotoxicity
- Měření obsahu kovů pomocí AAS

Cyrusová, T., Petrová, Š., Vaněk, T., Podlipná, R. (2017) Responses of Wetland Plant *Carex vulpina* to Copper and Iron Nanoparticles. *Water, Air & Soil Pollution* 228(7), 258(1-8).

- Kultivace rostlinného materiálu
- Analýza kořenů
- Měření obsahu kovů pomocí AAS
- Podíl na sepsání publikace

Haisel, D., **Cyrusová, T.**, Vaněk, T., Podlipná R. (2019) The effect of nanoparticles on the photosynthetic pigments in cadmium—zinc interactions. *Environmental Science and Pollution Research* 26, stránky 4147–4151.

- Kultivace rostlinného materiálu
- Stresování rostlin
- Měření obsahu kovů pomocí AAS

8. Reference

- Alexis, F., Pridgen, E., Molnar, L. K., & Farokhzad, O. C. (2008). Factors Affecting the Clearance and Biodistribution of Polymeric Nanoparticles. *Molecular Pharmaceutics*, 5(4), stránky 505-515. doi:10.1021/mp800051m
- Anjum, N. A., Rodrigo, M. M., Moulick, A., Heger, Z., Kopel, P., Zítka, O., Adam, V; Lukatkin, A S; Duarte, A C; Pereira, E; & Kizek, R. (2016). Transport phenomena of nanoparticles in plants and animals/humans. *Environmental Research* (151), stránky 233-243. doi:10.1016/j.envres.2016.07.018
- Antisari, L. V., Carbone, S., Bosi, S., Gatti, A., & Dinelli, G. (2018). Engineered nanoparticles effects in soil-plant system: Basil (*Ocimum basilicum* L.) study case. *Applied Soil Ecology* (123), stránky 551-560. doi:10.1016/j.apsoil.2018.01.007
- Best, E., Zappi, M., Fredrickson, H., Sprecher, S., Larson, S., & Ochman, M. (1997). Screening of Aquatic and Wetland Plant Species for Phytoremediation of Explosives-contaminated Groundwater from the Iowa Army Ammunition Plant. *Annals of the New York Academy of Science*, 829 (1), stránky 179-194. doi:10.1111/j.1749-6632.1997.tb48574.x
- Bundschuh, M; Filser, J; Lüderwald, S; McKee, M S; Metreveli, G; Schaumann, G E; Schulz, R; & Wagner, S. (2018). Nanoparticles in the environment: where do we come from, where do we go to? *Environmental Sciences Europe*, 30(6). doi:10.1186/s12302-018-0132-6
- Castiglione, M. R., & Cremonini, R. (2009). Nanoparticles and Higher Plants. *Caryologia*, 62(2), stránky 161-165. doi: 10.1080/00087114.2004.10589681
- Courtois, P., Rorat, A., Lemiere, S., Guyoneaud, R., Attard, E., Levard, C., & Vandebulcke, F. (2019). Ecotoxicology of silver nanoparticles and their derivatives introduced in soil with or without sewage sludge: A review of effects on microorganisms, plants and animals. *Environmental Pollution* (253), stránky 578-598. doi: 10.1016/j.envpol.2019.07.053
- Cristaldi, A., Copat, C., Conti, G. O., Zuccarello, P., Grasso, A., & Ferrante, M. (2020). Phytoremediation. V *The Handbook of Environmental Remediation: Classic and Modern Techniques*. Royal Society of Chemistry. stránky 268-298. doi:10.1039/9781788016261-00268

- Datta, K. J.; Gawande, M. B.; Datta, K.K. R.; Ranc, V.; Pechousek, J.; Krizek, M; Tucek, J.; Kale, R.; Pospisil, P.; Varma, R. S.; Asefa, T.; Zoppellaro, G.; & Zboril, R.. (2016). Micro–mesoporous iron oxides with record efficiency for the decomposition of hydrogen peroxide: morphology driven catalysis for the degradation of organic contaminants. *Journal of Materials Chemistry A*, 4(2), stránky 596-604. doi:10.1039/c5ta08386a
- Demir, E., Kaya, N., & Kaya, B. (2014). Genotoxic effects of zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles on root meristem cells of *Allium cepa* by comet assay. *Turkish Journal of Biology* (38), stránky 31-39. doi:10.3906/biy-1306-11
- Deng, Y.-Q., White, J. C., & Xing, B.-S. (2014). Interactions between engineered nanomaterials and agricultural crops: implications for food safety. *Journal of Zhejiang University SCIENCE A*, 15(8), stránky 552-572. doi:10.1631/jzus.A1400165
- Ding, L., Li, J., Liu, W., Zuo, Q., & Liang, S.-X. (2017). Influence of Nano-Hydroxyapatite on the Metal Bioavailability, Plant Metal Accumulation and Root Exudates of Ryegrass for Phytoremediation in Lead-Polluted Soil. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(5), str. 532. doi:10.3390/ijerph14050532
- Dobson, P., King, S., & Jarvie, H. (2020). *Nanoparticle*. Získáno 15. 5. 2020 z Encyclopædia Britannica: <https://www.britannica.com/science/nanoparticle>
- Eichert, T., & Goldbach, H. E. (2008). Equivalent Pore Radii of Hydrophilic Foliar Uptake Routes in Stomatous and Astomatous Leaf Surfaces--Further Evidence for a Stomatal Pathway. *Physiologia Plantarum*, 132(4), stránky 491-502. doi:10.1111/j.1399-3054.2007.01023.x
- Estevam, E C; Griffin, S; Nasim, M J; Denezhkin, P; Schneider, R; Lilischkis, R; Dominiquez-Alvarez, E; Witek, K; Latacz, G; Keck, C; Schäfer, K-H; Kieć-Kononowicz, K; Handzlik, J; & Jacob, C. (2017). Natural selenium particles from *Staphylococcus carnosus*: Hazards or. *Journal of Hazardous Materials* (324), stránky 22-30. doi:10.1016/j.jhazmat.2016.02.001
- Faizan, M., Hayat, S., & Pichtel, J. (2020). Effects of Zinc Oxide Nanoparticles on Crop Plants: A Perspective Analysis. V *Sustainable Agriculture Reviews* 41. Springer, Cham. stránky 83-99 doi:10.1007/978-3-030-33996-8_4

- Fang, X.-Q., Liu, J.-X., & Gupta, V. (2013). Fundamental formulations and recent achievements in piezoelectric nano-structures: a review. *Nanoscale* (5), stránky 1716-1726. doi:10.1039/C2NR33531J
- Fernandes, J. P., Mucha, A. P., Francisco, T., Gomes, C. R., & Almeida, C. R. (2017). Silver nanoparticles uptake by salt marsh plants – Implications for phytoremediation processes and effects in microbial community dynamics. *Marine Pollution Bulletin*, 119(1), stránky 176-183. doi:10.1016/j.marpolbul.2017.03.052
- Georgakilas, V; Demeslis, A.; Ntararas, E.; Kouloumpis, A.; Dimos, K.; Gournis, D.; Kocman, M.; Otyepka, M.; & Zbořil, R. (2015). Hydrophilic Nanotube Supported Graphene–Water Dispersible Carbon Superstructure with Excellent Conductivity. *Advanced Functional Materials*, 25(10), stránky 1481-1487. doi:10.1002/adfm.201403801
- Giraldo, J P; Landy, M P; Faltermeier, S M; McNicholas, T; Iverson, N M; Boghossian, A A; Reuel, N F; Hilmer, A J; Sen, F; Brew, J A; & Strano, M S (2014). Plant Nanobionics Approach to Augment Photosynthesis and Biochemical Sensing. *Nature Materials*, 13(4), stránky 400-408. doi:10.1038/nmat3890
- Gottschalk, F., & Nowack, B. (2011). The release of engineered nanomaterials to the environment. *Journal of Environmental Monitoring* (5), stránky 1145-1155. doi:10.1039/C0EM00547A
- GRAYBOX. (2016). *Carex vulpinoidea*. Získáno 9. 9 2020, z Hoffman Nursery: <http://hoffmannursery.com/plants/details/carex-vulpinoidea>
- GRAYBOX. (2016). *Scirpus cyperinus*. Získáno 9. 9 2020, z Hoffman Nursery: <http://hoffmannursery.com/plants/details/scirpus-cyperinus>
- Griffin, S; Masood, M I; Nasim, M J; Sarfraz, M; Ebokaiwe, A P; Schäfer, K-H; Keck, C M; & Jacob, C (2018). Natural Nanoparticles: A Particular Matter Inspired by Nature. *Antioxidants*, 7(1). doi:10.3390/antiox7010003
- Guo, D., Xie, G., & Luo, J. (2014). Mechanical properties of nanoparticles: basics and applications. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 47(1). doi:10.1088/0022-3727/47/1/013001
- Hossain, Z., Mustafa, G., Sakata, K., & Komatsu, S. (2015). Insights into the proteomic response of soybean towards Al₂O₃, ZnO, and Ag nanoparticles stress. *Journal of Hazardous Materials* (304), stránky 294-305. doi:10.1016/j.jhazmat.2015.10.071

- Chattetjee, S., Chetia, M., Singh, L., Chattopadhyay, B., Datta, S., & Mukhopadhyay, S. K. (2011). A study on the phytoaccumulation of waste elements in wetland plants of a Ramsar site in India. *Environmental Monitoring and Assessment* (178), stránky 361-371. doi:10.1007/s10661-010-1695-x
- Cheng, S., Grosse, W., Karrenbrock, F., & Thoennessen, M. (2002). Efficiency of constructed wetlands in decontamination of water polluted by heavy metals. *Ecological Engineering*, 18(3), stránky 317-325. doi:10.1016/S0925-8574(01)00091-X
- Choy, J.-H., Jang, E.-S., & Won, J.-H. (2004). Hydrothermal route to ZnO nanocoral reefs and nanofibers. *Applied Physics Letters*, 84(2). doi:10.1063/1.1639514
- Iannone, M. F., Groppa, M. D., de Sousa, M. E., van Raap, M. F., & Benavides, M. P. (2016). Impact of magnetite iron oxide nanoparticles on wheat (*Triticum aestivum* L.) development: Evaluation of oxidative damage. *Environmental and Experimental Botany* (131), stránky 77-88. doi:10.1016/j.envexpbot.2016.07.004
- Jain, P. K., El-Sayed, M., & El-Sayed, I. H. (2007). Au nanoparticles target cancer. *NanoToday*, 2(1), stránky 18-29. doi:10.1016/S1748-0132(07)70016-6
- Kasaeian, A., Eshghi, A. T., & Sameti, M. (2015). A review on the applications of nanofluids in solar energy systems. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (43), stránky 584-598. doi:10.1016/j.rser.2014.11.020
- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*(12), stránky 908-931. doi:10.1016/j.arabjc.2017.05.011
- Khan, N., & Bano, A. (2016). Modulation of phytoremediation and plant growth by the treatment with PGPR, Ag nanoparticle and untreated municipal wastewater. *International Journal of Phytoremediation*, 18(12), stránky 1258-1269. doi:10.1080/15226514.2016.1203287
- Kim, J.-H., Oh, Y., Yoon, H., Hwang, I., & Chang, Y.-S. (2014). Iron Nanoparticle-Induced Activation of Plasma Membrane H⁺-ATPase Promotes Stomatal Opening in *Arabidopsis thaliana*. *Environmental Science & Technology*, 49(2), stránky 1113-1119. doi:10.1021/es504375t
- Kumar, V., Lakkaboyana, S. K., Sharma, N., Abdelaal, A. S., Maitra, S. S., & Pant, D. (2019). Engineered nanomaterials uptake, bioaccumulation and toxicity mechanisms in plants. V *Engineered Nanomaterials and Phytonanotechnology*:

- Challenges for Plant Sustainability* 87. Elsevier. stránky 111-131. doi:10.1016/bs.coac.2019.09.005
- Latef, A., Alhmad, M., & Abdelfattah, K. E. (2016). The Possible Roles of Priming with ZnO Nanoparticles in Mitigation of Salinity Stress in Lupine (*Lupinus termis*) Plants. *Journal of Plant Growth Regulation* (36), stránky 60-70. doi:10.1007/s00344-016-9618-x
- Li, Y., Chen, X., & Gu, N. (2008). Computational Investigation of Interaction between Nanoparticles and Membranes: Hydrophobic/Hydrophilic Effect. *The Journal of Physical Chemistry B*, 112(51), stránky 16647-16653. doi:10.1021/jp8051906
- Loiseau, A., Asila, V., Boitel-Aullen, G., Lam, M., Salmain, M., & Boujday, S. (2019). Silver-Based Plasmonic Nanoparticles for and Their Use in Biosensing. *Biosensors*, 9(2). doi:10.3390/bios9020078
- Lv, J., Christie, P., & Zhang, S. (2019). Uptake, translocation, and transformation of metal-based nanoparticles in plants: recent advances and methodological challenges. *Environmental Science: Nano* (6), stránky 41-59. doi:10.1039/c8en00645h
- Mansoori, G., Ahmadpour, A., Bastami, T. R., & Es'haghi, Z. (2008). Environmental application of nanotechnology. V *Annual Review of Nano Research* 52. World Scientific Pub. Co. stránky 439-493. doi:10.1142/9789812790248_0010
- Mishra, S., Tripathi, A., Tripathi, D. K., & Chauhan, D. K. (2015). Role of sedges (*Cyperaceae*) in wetlands,. V *Plant-Environment Interaction: Responses and Approaches to Mitigate Stress*. John Wiley & Sons, Ltd. stránky 327-338. doi:10.1002/9781119081005.ch18
- Moitra, P., Alafeef, M., Dighe, K., Frieman, M. B., & Pan, D. (2020). Selective Naked-Eye Detection of SARS-CoV-2 Mediated by N Gene Targeted Antisense Oligonucleotide Capped Plasmonic Nanoparticles. *ACS Nano*, 14(6), stránky 7617-7627. doi:10.1021/acsnano.0c03822
- Murphy, C. J. (2002). Nanocubes and Nanoboxes. *Science*, 298(5601), stránky 2139-2141. doi:10.1126/science.1080007
- Naldoni, A., ShalaeV, V. M., & Brongersma, M. L. (2017). Applying plasmonics to a sustainable future. *Science*, 356(6341), stránky 908-909. doi:10.1126/science.aan5802
- Priester, J H; Moritz, S C; Espinosa, K; Ge, Y; Wang, Y; Nisbet, R M; Schimel, J P; Goggi, A S; Gardea-Torresdey, J L; & Holden, P A (2017). Damage assessment

- for soybean cultivated in soil with either CeO₂ or ZnO manufactured nanomaterials. *Science of The Total Environment* (579), stránky 1756-1768. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.11.149
- Raliya, R., Franke, C., Chavalmane, S., Nair, R., Reed, N., & Biswas, P. (2016). Quantitative Understanding of Nanoparticle Uptake in Watermelon Plants. *Frontiers in Plant Science* (7), str. 1288. doi:10.3389/fpls.2016.01288
- RCPTM. (2018). *O centru*. Získáno 10. 8 2020, z RCPTM Regionální centrum pokročilých technologií a materiálů: <https://www.rcptm.com/cs/>
- Schwab, F., Zhai, G., Kern, M., Turner, A., Schnoor, J. L., & Wiesner, M. R. (2016). Barriers, Pathways and Processes for Uptake, Translocation and Accumulation of Nanomaterials in plants--Critical Review. *Nanotoxicology*, 10(3), stránky 257-278. doi:10.3109/17435390.2015.1048326
- Singh, J., & Lee, B.-K. (2018). Effects of Nano-TiO₂ particles on bioaccumulation of ¹³³Cs from the contaminated soil by Soybean (*Glycine max*). *Process Safety and Environmental Protection* (116), str. 301311. doi:10.1016/j.psep.2018.02.016
- Soda, S., Hamada, T., & Yamaoka, Y. (2012). Constructed wetlands for advanced treatment of wastewater with a complex matrix from a metalprocessing plant: bioconcentration and translocation factors of various metals in *Acorus gramineus* and *Cyperus alternifolius*. *Ecological Engineering* (39), stránky 63-70. doi:10.1016/j.ecoleng.2011.11.014
- Song, U., & Lee, S. (2016). Phytotoxicity and accumulation of zinc oxide nanoparticles on the aquatic plants *Hydrilla verticillata* and *Phragmites Australis*: leaf-type-dependent responses. *Environmental Science and Pollution Research* (23), stránky 8539-8545. doi:10.1007/s11356-015-5982-5
- Souri, Z., Karimi, N., Sarmadi, M., & Rostami, E. (2017). Salicylic acid nanoparticles (SANPs) improve growth and phytoremediation efficiency of *Isatis cappadocica* Desv., under As stress. *IET Nanobiotechnology*, 11(6), stránky 650-655. doi:10.1049/iet-nbt.2016.0202
- Taheri, M., Qarache, H. A., Qarache, A. A., & Yoosefi, M. (2015). The Effects of Zinc-Oxide Nanoparticles on Growth Parameters of Corn (SC704). *STEM Fellowship Journal*, 1(2), stránky 17-20. doi:10.17975/sfj-2015-011
- Tan, S. S., Zou, L., & Hu, E. (2006). Photocatalytic reduction of carbon dioxide into gaseous hydrocarbon using TiO₂ pellets. *Catalysis Today*, 115(1-4), stránky 269-273. doi:10.1016/j.cattod.2006.02.057

- Tarafdar, J. C., Raliya, R., Mahawar, H., & Rathore, I. (2014). Development of Zinc Nanofertilizer to Enhance Crop Production in Pearl Millet (*Pennisetum americanum*). *Agricultural Research*(3), stránky 257-262. doi:10.1007/s40003-014-0113-y
- Taran, N., Storozhenko, V., Svetlova, N., Batsmanova, L., Shvartau, V., & Kovalenko, M. (2017). Effect of Zinc and Copper Nanoparticles on Drought Resistance of Wheat Seedlings. *Nanoscale Research Letters*, 12(60). doi:10.1186/s11671-017-1839-9
- Tkalec, M., Štefanić, P. P., Cvjetko, P., Sikić, S., Pavlica, M., & Balen, B. (2014). The Effects of Cadmium-Zinc Interactions on Biochemical Responses in Tobacco Seedlings and Adult Plants. *PLoS ONE*, 9(1). doi:10.1371/journal.pone.0087582
- Tripathi, D K; Gaur, S; Singh, S; Singh, S; Pandey, R; Singh, V P; Sharma, N, C; Prasad, S, M; Dubey, N, K; & Chauhan, D K (2017). An overview in manufactured nanoparticles in plants: Uptake, translocation, accumulation and phytotoxicity. *Plant Physiology and Biochemistry* (110), stránky 2-12. doi:10.1016/j.plaphy.2016.07.030
- Vert, M; Doi, Y; Hellwich, K-H; Hess, M; Hodge, P; Kubisa, P; Rinaudo, M; & Schué, F. (2012). Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure and Applied Chemistry*, 84(2). doi:10.1351/PAC-REC-10-12-04
- Wang, J., Fang, Z., Cheng, W., Yan, X., Tsang, P. E., & Zhao, D. (2016). Higher concentrations of nanoscale zero-valent iron (nZVI) in soil induced rice chlorosis due to inhibited active iron transportation. *Environmental Pollution* (210), stránky 338-345. doi:10.1016/j.envpol.2016.01.028
- Wang, X; Yang, X; Chen, S; Li, Q; Wang, W; Hou, C; Gao, X; Wang, L; & Wang, S. (2016). Zinc Oxide Nanoparticles Affect Biomass Accumulation and Photosynthesis in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science* (6). doi:10.3389/fpls.2015.01243
- Wang, Z., Xie, X., Zhao, J., Liu, X., Feng, W., White, J. C., & Xing, B. (2012). Xylem- and phloem-based transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays* L.). *Environmental Science and Technology*, 46(8), stránky 4431-4441. doi:10.1021/es204212z.

- Wikipedia contributors. (6. 9 2020). *Wikipedia, The Free Encyclopedia*. Získáno 9. 9 2020, z *Cyperus rotundus*:
https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Cyperus_rotundus&oldid=976976781
- Wu, C.-Y., Martel, J., Wong, T.-Y., Young, D., Liu, C.-C., Lin, C.-W., & Young, J. D. (2016). Formation and characteristics of biomimetic mineralo-organic particles in natural surface water. *Scientific Reports*, 6(1). doi: 10.1038/srep28817
- Yasur, J., & Rani, P. U. (2013). Environmental effects of nanosilver: impact on castor seed germination, seedling growth, and plant physiology. *Environmental Science and Pollution Research* (20), stránky 8636-8648. doi:10.1007/s11356-13-1798-3
- Zhang, Q; Honko, A; Zhou, J; Gong, H; Downs, S N; Vasquez, J H; Fang, R H; Gao, W; Griffiths, A; & Zhang, L (2020). Cellular Nanosponges Inhibit SARS-CoV-2 Infectivity. *Nano Letters*, 20(7), stránky 5570-5574. doi:10.1021/acs.nanolett.0c02278
- Zhu, Y; Xu, F; Liu, Q; Chen, M; Liu, X; Wang, Y; Sun, Y; & Zhang, L (2019). Nanomaterials and plants: Positive effects, toxicity and the remediation of metal and metalloid pollution in soil. *Science of the Total Environment*(662), stránky 414-421. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.01.234

9. Přílohy

9.1. Publikace vztahující se k tématu disertační práce

Cyrusová, T., Podlipná, R., Vaněk, T. (2015) The effect of nanoparticles on plants. *Chemické listy* 109, stránky 274–278.

Landa, P., **Cyrusová, T.,** Jeřábková J., Drábek O., Vaněk T., Podlipná R. (2016) Effect of Metal Oxides on Plant Germination: Phytotoxicity of Nanoparticles, Bulk Materials, and Metal Ions. *Water, Air & Soil Pollution* 227(12), 448 (1-10).

Cyrusová, T., Petrová, Š., Vaněk, T., Podlipná, R. (2017) Responses of Wetland Plant *Carex vulpina* to Copper and Iron Nanoparticles. *Water, Air & Soil Pollution* 228(7), 258(1-8).

Haisel, D., **Cyrusová, T.,** Vaněk, T., Podlipná R. (2019) The effect of nanoparticles on the photosynthetic pigments in cadmium—zinc interactions. *Environmental Science and Pollution Research* 26, stránky 4147–4151.