

## Kapradina *Pteris vittata*, hyperakumulátor arzenu na odkalištích zambijského Copperbeltu

### Chinese brake fern (*Pteris vittata*) as the hyperaccumulator of arsenic at tailing dams of the Zambian Copperbelt

BOHDAN KRÍBEK<sup>1</sup> – MARTIN MIHALJEVIČ<sup>2</sup> – ONDŘEJ ŠRÁČEK<sup>3</sup> – VLADIMÍR MAJER<sup>1</sup> – FRANTIŠEK VESELOVSKÝ<sup>1</sup> – JAROMÍR ŠIKL<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Česká geologická služba, Klárov 3, 118 21 Praha 1; bohdan.kribek@geology.cz

<sup>2</sup> Ústav mineralogie, geochemie a nerostných zdrojů, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Albertov 6, 128 43 Praha 2

<sup>3</sup> Ochrana podzemních vod, s. r. o., Bělohorská 31, 169 00 Praha 6



**Key words:** fern, *Pteris vittata*, arsenic, hyperaccumulation, Copperbelt, tailings

**Abstract:** Waterlogged and semi-dry parts of tailing dams after processing of copper and cobalt ores in Zambia are predominantly growing over by papyrus (*Cyperus papyrus*) and Chinese brake fern (*Pteris vittata* L). The tailings are very rich in copper (up to 0.8 wt.%) and cobalt (up to 0.25 wt.%). The amount of arsenic in tailings ranges between 0.24 and 180 ppm. Very high contents of arsenic in fern fronds (up to 6 197 ppm in dry matter) do not correlate with the amount and speciation of arsenic in tailings. Concentration of arsenic in leaves of papyrus, which is growing at same positions as fern, is much lower (9–30 ppm). The average concentrations of copper, cobalt and zinc are very similar in both plants. Results of this study demonstrate that the Chinese brake fern hyperaccumulates not only arsenic but can tolerate very high concentrations of other metals in substrate.

Některé rostliny označované jako hyperakumulátory jsou schopny koncentrovat mimořádně velká množství prvků, zejména kadmia, kobaltu, chromu, mědi, niklu, selenu a olova (Boyd 2007). Množství rostlinných druhů, které jsou považovány za hyperakumulátory prvků, se pohybuje v de-



Obr. 1. Kapradina křídelnice (*Pteris vittata*), šáchor (*Cyperus papyrus*) a travina *Rendlia altera* rostou na povrchu a v blízkosti akumulací sádrovice a zeminy v podmáčené části odkaliště Chambishi v Zambii. Tyto akumulace vznikají silným odpařováním vztlínajících podzemních vod v obdobích sucha. Na horizontu suchá část odkaliště, zarůstaná travinami *Rendlia altera* a *Pennisetum purpureum* (sloní travou).

sítkách. V případě arzenu je však jako hyperakumulátor známa pouze jediná rostlina – kapradina křídelnice (*Pteris vittata* L.; Ma et al. 2001; Cao et al. 2004). Vysoké koncentrace arzenu v kapradinách zambijského Copperbeltu zmiňují i Kříbek et al. (2003).

V současné době je kapradina křídelnice předmětem zvýšeného zájmu, zejména vzhledem k možnosti jejího použití při biologické rekultivaci ploch kontaminovaných arzenem (Rathinasabapathi 2008). Na odkalištích v Zambii tato kapradina roste spolu se šáchorem (*Cyperus papyrus*) a travinou *Rendlia altera* na polostíněných, ale i nestíněných stanovištích (obr. 1). Maximální hustoty dosahují její porosty v místech mělké hladiny podzemní vody. Vody odkaliště Chambishi, na kterém byla křídelnice studována, jsou bohaté na sírany a vápník. Hodnoty pH nefiltrovaného vodního výluhu se pohybují kolem 9,5 (Šrámek et al. 2009). Při mělké hladině spodní vody v odkalištích dochází proto v tropických podmínkách Copperbeltu k silnému kapilárnímu vztlínání a ke srážení sádrovice na jejich povrchu. Sádrovec a vyplavované jemné částice flotačních odpadů vytvářejí na povrchu odkaliště až 1 m vysoké akumulace (obr. 1), jejichž povrch je postupně erodován v období dešťů za vzniku drobných útvarů připomínajících zemní pyramidy (obr. 2). V sušších částech odkaliště množství kapradin rychle klesá a vegetaci tvoří převážně traviny *Rendlia altera* a *Pennisetum purpureum* (sloní tráva).

Cílem naší práce bylo ověřit, zda na studovaném odkališti kapradina křídelnice akumuluje kromě arzenu i jiné kovy, např. měď nebo kobalt, jejichž obsahy jsou v uložených substrátech extrémně vysoké. Jako referenční rostlina při studiu bioakumulace prvků kapradinou byl použit šáchor, který roste na stejných stanovištích jako kapradina. Výsledky studia distribuce prvků v rostlinách jsou diskutovány ve vztahu k jejich koncentracím a speciaci ve flotačních odpadech.

### Materiály a metody

Vzorky vegetace byly odebrány z odkaliště dolu Chambishi, který se nachází 40 km z. od města Kitwe v provincii Copperbelt. Obsahy prvků byly stanoveny jednak přímo, rengenfluorescenční analýzou (XRF) z vysušených a homogenizovaných vzorků vegetace, jednak po jejich pomalém spálení při teplotě 450 °C v muflové peci metodou plamenové atomové adsorpční spektrometrie (AAS). Výsledky analýzy popelovin byly přepočteny na sušinu.

Výsledky stanovení obsahů arzenu metodou XRF a stanovení arzenu v popelovinách metodou AAS ukázaly velmi dobrou korelaci ( $r^2 = 0,985$ ). Vzorky flotačních odpadů byly vysušeny, kvartovány a síťovány plastickým sítem (velikost oka 0,02 mm) a homogenizovány v achátovém mlýnu. Pro stanovení celkového obsahu prvků byly vzorky extrahovány směsí kyseliny solné a dusičné (*aqua regia*). Množství prvků ve výměnné formě bylo pak stanoveno extrakcí do 0,01 M roztoku  $\text{CaCl}_2$ , množství biopřístupných kovů, tj. kovů, které mohou být rozpuštěny organickými kyselinami nebo cheláty vylučovanými kořeny rostlin, bylo stanoveno extrakcí do roztoku kyseliny diethylenetriaminpentaoctové (DTPA) ve směsi s trethanolaminem (TEA) podle metodiky ISO/DIS 14870 (sine 1996). Sekvenční analýzy substrátů byly provedeny na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze metodou podle Raureta et al. (2000). Množství výměnných kovů a kovů vázaných ve formě karbonátů bylo stanoveno loužením 0,11 M kyselinou octovou po dobu 16 hodin při laboratorní teplotě a poměru pevná fáze roztok (S/L) 1/40. Množství kovů vázaných na špatně krystalické hydratované oxidy železa a manganu (redukovatelná frakce) bylo stanoveno ve výluhu rezidua 0,5 M hydroxylaminu hydrochloridu ( $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ) okyseleného 2 M  $\text{HNO}_3$  na pH 1,5 při S/L = 1/40. Množství kovů vázaných na organickou hmotu a špatně krystalické sulfidy (oxidovatelná frakce) bylo stanoveno oxidací rezidua 10 ml  $\text{H}_2\text{O}_2$  (pH 2–3), vzorek byl ponechán 1 hodinu při laboratorní teplotě a následně byl v sušárně 1 hodinu zahříván při teplotě  $85 \pm 2$  °C. Celý krok byl zopakován a po vychladnutí byly mobilizované látky resorbovány z pevného zbytku 1 M octanem amonným při S/L = 1/50. Množství kovů v reziduální frakci (pevné oxidy, částečně silikáty) bylo stanoveno loužením varem 10 ml lučavky královské pod zpětným chladičem. Pro loužení byla použita navážka 1 g vzorku, pevná fáze od výluhů byla ve všech krocích oddělena centrifugací. Připravené výluhy byly naředěny tak, aby celkový obsah solí nepřekračoval 2 g/l a následně byly analyzovány hmotnostní spektrometrií s indukčně vázanou plazmou.

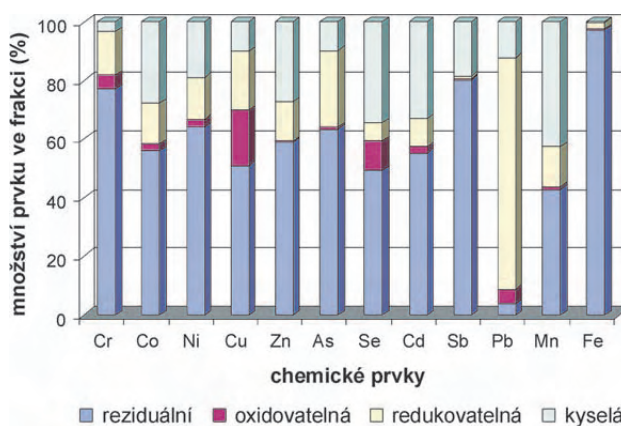
## Výsledky

### Chemické složení flotačních odpadů a speciace kovů

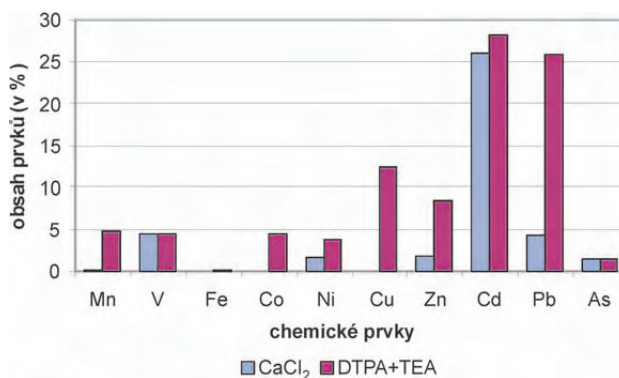
Studované flotační odpady jsou velmi bohaté mědí a kobaltem, ale obsahují i řadu dalších kovů a polokovů. Celkové koncentrace Co, Cu, As a Pb (výluh *aqua regia*) jsou vyšší v podmáčené okrajové části odkaliště (tab. 1), což lze vysvětlit vyluhováním odpadů ve větší hloubce (v redukčních podmínkách). Výsledky sekvenčních analýz odpadů ukázaly, že více než 50 % z celkového množství analyzovaných prvků je vázáno na reziduální frakci (obr. 3). Výjimku tvoří mangan a zejména olovo, které je nejvíce v redukovatelné frakci. To naznačuje vazbu převážného množství olova na amorfni hydratované oxidy železa a manganu. Na stejnou frakci je vázáno i značné množství arzenu. Poměrně značné množství prvků – s výjimkou železa a chromu – je vázáno na kyselou frakci, což naznačuje jejich vazbu na



Obr. 2. Povrch akumulace sádrovce, erodovaný v období deštů za vzniku útvarů připomínajících zemní pyramidy.

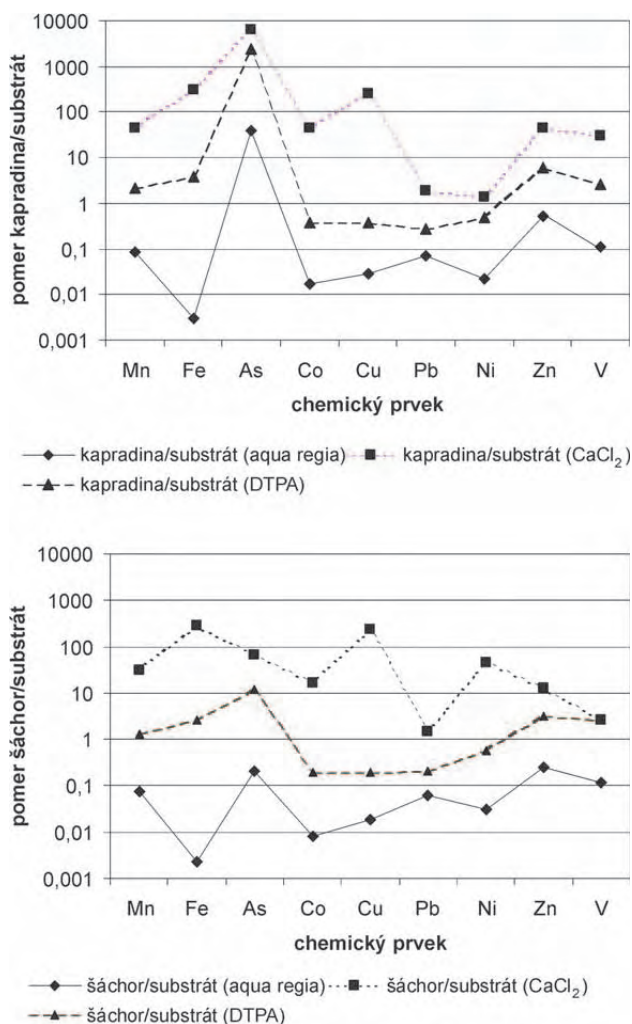


Obr. 3. Obsahy prvků (v procentech jejich celkového množství) v jednotlivých frakcích sekvenční analýzy flotačního odpadu na úložišti v Chambishi. Reziduální frakce: prvky vázané na špatně rozpustné minerály železa a manganu a na silikáty. Oxidovatelná frakce: prvky vázané na sulfidy nebo organickou hmotu. Redukovatelná frakce: prvky vázané na amorfni hydratované oxidy železa a manganu. Kyselá frakce: prvky vázané v substrátu iontovou výměnou a prvky vázané na karbonáty.



Obr. 4. Průměrné obsahy prvků vázaných výměnnou formou (extrakt  $\text{CaCl}_2$ ) a obsahy biopřístupných prvků (extrakt DTPA + TEA) ve flotačních odpadech na úložišti v Chambishi. Obsahy prvků v procentech jejich celkové koncentrace v substrátu.





Obr. 5. Poměr koncentrací uvedených prvků v listech kapradiny křídelnice a šáchoru a celkové koncentrace stejných prvků v zemině (*aqua regia*), koncentrace biologicky přístupného množství prvků (DTPA) a množství prvků vázaných v zemině iontovou výměnou (CaCl<sub>2</sub>).

karbonáty. Obsahy karbonátového uhlíku ve flotačních odpadech se pohybují mezi 0,7–2,3 %. Vazba na organickou hmotu a sulfidy (tj. prvky vázané na oxidovatelnou frakci) hraje významnější roli pouze u mědi a selenu. Vzhledem k velmi nízkým obsahům organického uhlíku v sedimentech odkaliště (0,04–0,33 %) jde zřejmě převážně o vazbu na sulfidy.

Vzhledem k celkovému množství sledovaných prvků je množství prvků vázaných ve výměnné formě (tj. množství prvků, které je možno extrahovat do roztoku CaCl<sub>2</sub>) velmi malé (obr. 4). Výjimkou je kadmium. Rovněž množství prvků přístupné pro metabolismus rostlin (tj. množství, které je možno extrahovat roztokem DTPA) je – s výjimkou kadmia, olova a mědi – velmi nízké. Množství biopřístupného arzenu činí například pouhých 1,54 % jeho celkového množství v odpadech.

### Chemické složení vegetace

Listy kapradiny křídelnice obsahují v průměru daleko více arzenu než listy šáchoru, přestože obě rostliny rostou na

stejných stanovištích (tab. 1). Obsahy dalších kovů, například kobaltu, mědi, zinku a olova, jsou v obou rostlinách řádově stejné. Ačkoliv odpady v podmačené části odkaliště obsahují ve srovnání s jeho suchou částí daleko více arzenu, kobaltu a mědi, obsahy stejných kovů v listech obou rostlin se na obou stanovištích příliš neliší. Znamená to, že obsahy prvků v rostlinách nejsou přímo úměrné celkovému množství uvedených prvků v substrátu. Podobně nebyla nalezena závislost mezi obsahy prvků v rostlinách a množstvím výměnných či biopřístupných prvků v substrátu. Je tedy zřejmé, že forma výskytu nebo způsob vazby jednotlivých prvků v substrátu nejsou určujícím faktorem jejich akumulace oběma rostlinami.

Poměry průměrných koncentrací sledovaných kovů v listech obou rostlin a v substrátu, tj. hodnoty biogeochemického koeficientu obohacení, jsou vyneseny v obr. 5. V poměru k celkovému množství kovů v substrátech je obsah arzenu v listech kapradiny křídelnice téměř o dva řády vyšší. U šáchoru je naopak obsah arzenu v listech ve srovnání se substrátem téměř řádově nižší. U kapradiny poměr množství prvků v listech k množství stejných prvků v substrátu stoupá v pořadí: Fe > Co, Cu, Ni > Pb, V > Zn > As. U šáchoru je tato sekvence poněkud odlišná: Fe > Co, Cu > Pb, Ni > Mn, V > As, Zn. Vysokou míru akumulace zinku je u obou rostlin možno vysvětlit tím, že jde o bioesenciální prvek. Poměrně vysokou míru bioakumulace u vanadu je třeba hodnotit velmi opatrně vzhledem k tomu, že obsahy tohoto prvku se pohybují těsně nad hranicí citlivosti použité analytické metody.

Poměry obsahů prvků v rostlině a obsahů biopřístupných prvků (extrakt DTPA) jsou ve srovnání s celkovým množstvím kovů v substrátu daleko vyšší (obr. 5). To proto, že koncentrace biopřístupného množství prvků jsou ve srovnání s jejich celkovými obsahy v substrátu daleko nižší (obr. 4). Nicméně, poměry obsahů prvků v listech rostlin a jejich celkového a biopřístupného množství v substrátu v principu sledují stejný trend. Znamená to, že příjem prvků rostlinami není příliš ovlivňován rozdíly v biologické přístupnosti jednotlivých kovů. Z obrázku 4 například vyplývá, že množství biopřístupného olova je ve srovnání s arzenem daleko vyšší. Přesto je arzen oběma rostlinami akumulován více než olovo. Poměry průměrných koncentrací sledovaných prvků ve tkáních rostlin a koncentrací stejných prvků vázaných v substrátu ve výměnné formě (extrakt CaCl<sub>2</sub>) se od poměru prvků v rostlině a celkového množství prvků v substrátu výrazně liší, a to zejména u mědi. To však může být způsobeno velmi nízkou koncentrací mědi přítomné v substrátu ve výměnné formě (0,01 % z celkového množství mědi).

### Diskuse

Výsledky této studie ukazují, že kapradina křídelnice ve srovnání s šáchozem akumuluje ve svých listech podstatně vyšší množství arzenu, a to nezávisle na obsazích arzenu v půdě. Tato schopnost kapradiny je v literatuře živě diskutována. Kapradina zřejmě přijímá arzen ve formě arzeničnanů (AsO<sub>4</sub><sup>3-</sup>), které jsou v rostlinné tkáni redukovány na

Tabulka 1. Průměrný obsah prvků ve flotačních odpadech a v listech šáchoru (*Cyperus papyrus*) a kapradiny křídelnice (*Pteris vittata*) v podmáčené a polosuché části úložiště flotačních odpadů po zpracování měděných a kobaltových rud na ložisku Chambishi v zambijské části Copperbeltu

prvek (ppm)	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Pb	V
podmáčená část odkaliště									
substrát (flotační odpad)	200	25 750	2 369	44	10 135	39	167,6	48	26
šáchor, listy	41	467	13	1	112	11	25,2	2	3
křídelnice, listy	37	672	33	1	197	20	3 639,3	2	3
polosuchá část odkaliště									
substrát (flotační odpad)	987	36 625	353	28	1 757	40	16,8	9	35
šáchor, listy	41	252	9	0,6	124	6	13,3	2	3
křídelnice, listy	45	527	28	1	216	28	5 607,5	3	3

počet vzorků = 10

arzenitany ( $\text{AsO}_3^{3-}$ ). Tato redukce je katalyzována speciálním enzymem, glutaredoxinem (Rathinasabapathi 2008). Příčina hyperakumulace arzenu křídelnicí není známa. Obecně může docházet k hyperakumulaci kovů rostlinami z různých příčin (Boyd 2007): může se jednat o pasivní příjem kovů ze silně mineralizovaných půdních roztoků nebo o aktivní příjem kovů a jejich použití jako antioxidantů v době sucha. Rostliny mohou zřejmě používat toxické kovy i jako přirozenou ochranu před cizopasnými a před spásáním býložravci, nebo může jít o náhradu esenciálních prvků, které jsou pro rostlinu deficitní. Aglej et al. (2005) například poukázali na to, že příjem arzenu křídelnicí je umocňován činností mykorrhizních hub, které zvyšují příjem fosforu do tkání celé řady jiných rostlin. Vzhledem k chemické podobnosti fosforečnanů a arzeničnanů mohou zřejmě tyto houby při malém množství přístupného fosforu v substrátu zásobovat kapradinu arzenem.

## Závěr

Studie prokázala, že kapradina křídelnice se podobně jako řada dalších rostlin afrického Copperbeltu přizpůsobila vysokým obsahům mědi, kobaltu a dalších kovů v půdách a v průmyslových odpadech této oblasti. Navíc dokáže růst i na povrchu substrátů, které jsou velmi chudé živinami nezbytnými pro metabolismus rostlin. Vysoká adaptabilita této kapradiny na různé podmínky tak vytváří velmi dobré předpoklady pro její použití při biologické rekultivaci území kontaminovaných arzenem i při vysokých koncentracích jiných kovů v zeminách.

*Studie byla provedena v rámci Grantového projektu GAČR č. 205/08/0321 Vliv těžby a úpravy rud na životní prostředí v provincii Copperbeltu v Zambii: Model cyklů těžkých kovů a sýry v půdách, sedimentech, ve vodách a vegetaci.*

## Literatura

- AGELY, A. A. – SYLVIA, D. M. – MA, L. Q. (2005): Mycorrhizae increase arsenic uptake by the hyperaccumulator Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.). – J. Environ. Quality, 34, 2181–2186.
- BOYD, R. S. (2007): The defense hypothesis of elemental hyperaccumulation: status, challenges and new directions. – Plant & Soil, 293, 153–176.
- CAO, X. – MA, L. Q. – TU, C. (2004): Antioxidative responses to arsenic in the arsenic hyperaccumulator Chinese brake fern (*Pteris vittata*). – Environ. Pollut., 128, 317–325.
- KŘÍBEK, B. – KNĚSL, I. – MAJER, V. – RAMBOUSEK, P. – MWALE, M. – NYAMBE, I. (2003): Evaluation of the environmental impacts of copper and cobalt mining in the Zambian part of the Copperbelt. Record Office, File Report No. 1/2003. – MS Czech Geol. Surv., Prague.
- MA, L. Q. – KOMAR, K. M. – ZHANG, W. H. – CAI, Y. – KENNELLEY, E. D. (2001): A fern that hyperaccumulates arsenic – A hardy, versatile, fast growing plant helps to remove arsenic from contaminated soils. – Nature (London), 409, 579.
- ŠRÁČEK, O. – MIHALJEVIČ, M. – KŘÍBEK, B. – MAJER, V. – VESELOVSKÝ, F. (2009): Geochemistry and mineralogy of Cu and Co in mine tailings at the Copperbelt, Zambia. – J. African Sci.
- RATHINASABAPATHI, B. (2008): Arsenic hyperaccumulation in ferns: Understanding an adaptation through functional genomics. 93<sup>rd</sup> ESA Annual Meeting, Abstract 00S 7–8. – Milwaukee, Wisconsin.
- RAURET, G. – LÓPEZ-SÁNCHEZ, J. F. – SAHUQUILLO, A. (2000): Application of a modified BCR sequential extraction procedure for the determination of extractable trace metal contents. – J. Environ. Monit., 2, 228–233.
- sine (1996): ISO/DIS 14670. Soil quality: Extraction of trace elements by buffered DTPA solution. – Int. Org. Stand. Genova.