

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra botaniky a fyziologie rostlin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv kontaminace diklofenaku na obsahové látky v listech
lociky seté**

Diplomová práce

Bc. Markéta Marešová

Výživa a potraviny

Vedoucí práce: PharmDr. Jan Kubeš, Ph.D.

Konzultant: Ing. Jiří Kudrna

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv diklofenaku na obsahové látky v listech lociky seté" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 22. 4. 2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala PharmDr. Janu Kubešovi, Ph. D. a Ing. Jířímu Kudrnovi za jejich pomoc a cené rady při psaní diplomové práce a realizování experimentu. Tato práce byla zpracována za finanční podpory grantu: NutRisk Centre, reg č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000845. „Centrum pro studium vzniku a transformací nutričně významných látek v potravním řetězci v interakci s potenciálně rizikovými látkami antropogenního původu: komplexní posouzení rizika kontaminace půdy pro kvalitu zemědělské produkce.“

Vliv kontaminace diklofenaku na obsahové látky v listech lociky seté seté

Souhrn

Diplomová práce je zaměřena na vliv léčiva diklofenaku na obsah sekundárních metabolitů u lociky seté (*Lactuca sativa* L.). Polutanty jako jsou léčiva a jejich rezidua představují hrozbu pro životní prostředí a živé organismy. Tyto látky se dostávají do prostředí především skrze odpadní vody z domácností, nemocnic či farmaceutických továren. Čistírný odpadních vod stále nejsou v dnešní době schopny léčiva plně eliminovat a dostávají se tak ve změněných nebo nezměněných formách do recipientů, odkud se mohou dále dostávat na produkční plochy, a jsou zodpovědné za chemický stres rostlin. Při příjmu xenobiotik dochází, v rostlinách, k aktivaci obranných mechanismů, které pomáhají rostlině se s tímto stresem vyrovnat. Při působení stresových faktorů může dojít k ovlivnění produkce sekundárních metabolitů, které jsou vytvářeny rostlinami i jako reakce na různé stresory. Sekundární metabolity chrání rostlinu například před působením biotických škůdců, tvorbou nepříznivých chutí a pachů, nebo UV-B zářením. Mohou mít také antioxidační vlastnosti, které pomáhají snižovat oxidační stres a rostliny jsou pak schopny dále prosperovat i za nepříznivých podmínek.

V rámci experimentu byl zkoumán diklofenak, jakožto jedno z nejrozšířenějších volně prodejných nesteroidních protizánětlivých léčiv. Byl zkoumán vliv koncentrace 10 a 100 mg/l na dvě odrůdy lociky seté 'Král Máje' a 'Jupiter', které byly pěstovány v hydroponickém systému. Sledovanými parametry byla antioxidační aktivita, celkový obsah fenolů, flavonoidů, fenolických kyselin a malondialdehydu, který vzniká v důsledku peroxidace lipidů. U obou odrůd došlo k ovlivnění obsahu sledovaných látek. K nejvýraznějším změnám došlo u obsahu fenolických kyselin (PAC), kdy u odrůdy 'Jupiter' došlo k významnému zvýšení obsahu PAC oproti kontrolním hodnotám. Odrůda 'Král Máje' naopak vykazovala pokles jejich obsahu nebo hodnoty podobné jako u kontrolních variant. Při porovnání obou odrůd došlo u odrůdy 'Jupiter', k výraznějším změnám celkové kondice rostliny a obsahu sekundárních metabolitů.

Klíčová slova: *Lactuca sativa*, abiotický stres, NSAID, poškození membrán, sekundární metabolismus

Effect of diclofenac contamination on metabolites in lettuce leaves

Summary

The thesis is focuses on the effect of the diclofenac on the content of secondary metabolites in lettuce (*Lactuca sativa* L.). Pollutants such as pharmaceuticals and their residues pose an environmental threat to living organisms. These substances enter the environment mainly through wastewater from households, hospitals or pharmaceutical factories. Today, wastewater treatment plants are still not able to fully eliminate pharmaceuticals and they enter the receiving waters in altered or unaltered forms, from where they can further enter agricultural fields and are responsible for chemical stress to plants. When xenobiotics are ingested, defence mechanisms are activated in the plant to help the plant deal with this stress. When stressors are applied, secondary metabolites that are produced by plants in response to various stressors can be affected. Secondary metabolites protect the plant from, for example, the action of biotic pests, the formation of unfavourable tastes and odours, or UV-B radiation. They may also have antioxidant properties that help to reduce oxidative stress and plants are then able to continue to thrive even under adverse conditions.

The experiment is focused on diclofenac as one of the most widely used non-steroidal anti-inflammatory drugs. The effect of concentrations of 10 and 100 mg/l on two varieties of lettuce 'Kral Maje' and 'Jupiter' grown in a hydroponic system were investigated. The parameters monitored were antioxidant activity, total phenolics, flavonoids, phenolic acids and malondialdehyde content. Both varieties were affected by the content of the monitored substances. The most significant changes occurred in the content of phenolic acids (PAC), with a significant increase in the content of PAC in the 'Jupiter' variety compared to the control. The variety 'Kral Maje', on the other hand, showed a decrease in their content or values similar to those of the control. When comparing the two varieties, the 'Jupiter' variety showed more significant changes in overall plant condition and secondary metabolite content.

Keywords: *Lactuca sativa*, abiotics stress, NSAID, cellular damage, secondary metabolism

Obsah

1 Úvod	8
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3 Literární rešerše	10
3.1 Locika setá (<i>Lactuca sativa</i> L.)	10
3.1.1 Historie pěstování salátu.....	10
3.1.2 Obsah živin.....	12
3.2 Sekundární metabolity rostlin	13
3.2.1 Polyfenoly.....	14
3.2.1.1 Flavonoidy.....	14
3.2.1.2 Ne flavonoidní fenolické látky.....	16
3.2.2 Terpeny.....	18
3.2.3 Steroidy.....	19
3.3 Hydroponie	20
3.3.1 Historie hydroponického pěstování.....	21
3.3.2 Klady a zápory hydroponie.....	21
3.3.3 Hydroponické systémy.....	22
3.4 Xenobiotika	25
3.4.1 Léčiva v životním prostředí.....	26
3.4.2 Diklofenak.....	27
3.5 Stres rostlin	29
3.5.1 Stresové reakce rostlin.....	29
3.5.2 Stresové faktory.....	31
3.5.3 Biotický stres.....	31
3.5.4 Abiotický stres.....	32
3.5.4.1 Sucho.....	34
3.5.4.2 Teplota.....	34
3.5.4.3 Světlo.....	35
3.5.4.4 Zasolení.....	35
3.5.4.5 Hypoxie.....	36
4 Metodika	37
4.1 Založení pokusu	37
4.2 Pokusný materiál	38
4.3 Použité metody	38
4.3.1 Stanovení malondialdehydu.....	38
4.3.2 Stanovení celkových flavonoidů.....	38
4.3.3 Stanovení antioxidační aktivity.....	39

4.3.4	Stanovení celkových fenolických kyselin.....	39
4.3.5	Stanovení celkových fenolů.....	39
4.3.6	Statistické vyhodnocení	39
5	Výsledky	40
5.1	Stanovení malondialdehydu	40
5.2	Stanovení celkových flavonoidů	41
5.3	Stanovení antioxidační aktivity	43
5.4	Stanovení obsahu fenolických kyselin	44
5.5	Stanovení obsahu celkových fenolů	45
6	Diskuze	47
7	Závěr	51
8	Literatura.....	52
9	Seznam použitých zkratk a symbolů	66
10	Seznam obrázků a tabulek.....	68
11	Přílohy	I

1 Úvod

Locika setá (*Lactuca sativa* L.), obecně známá jako salát, patří mezi nejoblíbenější listovou zeleninu. V současné době je pěstována ve všech typech zemědělství a je rozšířena téměř po celém světě. Většinou je konzumována čerstvá, čímž se zachovává vysoký obsah živin (Kim et al. 2016). Na senzoryckých a nutričních vlastnostech nejen lociky, ale i dalších rostlin se podílejí fenoly, které vznikají v rámci sekundárního metabolismu a jsou přítomny v rostlinných orgánech (Crozier et al. 2006; Slatnar et al. 2012). Tyto metabolity nacházejí využití v medicíně, při výrobě léčiv, kosmetických prostředků, parfémů, nutraceutik, přídatných látek nebo v průmyslu (Verpoorte et al. 2002). Studie ukazují, že mohou mít pozitivní vliv na zdraví člověka, například v boji proti zánětům, oxidativnímu stresu a některým chronickým onemocněním jako je diabetes melitus II. typu, rakovina nebo neurodegenerace (Ramakrishna & Ravishankar 2011; Seeram et al. 2006; You et al. 2012).

Sekundární metabolity hrají klíčovou roli v adaptaci rostlin na různé stresové podmínky, ať už biotického či abiotického původu. Tyto látky přispívají k adaptaci rostlin na stresové podmínky a podílejí se na tvorbě aroma chutí nebo barev při napadení živými škůdci (Bennet & Wallsgrove 1994; Ramakrishna & Ravishankar 2011; Yang et al. 2018). Stresu je rostlina vystavena v průběhu celého života, a proto si vyvinula různé cesty, jak s nimi bojovat. Abiotický stres, jako jsou extrémní teploty, záření nebo chemický stres mají negativní dopad na úrodu po celém světě, kdy dochází ke snížení výnosů plodin (Atkinson & Urwin 2012; Gruissem et al. 2000; Mahajan & Tujeta 2005).

Chemický stres vzniká vlivem různých látek – herbicidů, různých průmyslových splodin, ale i léčiv, které jsou nezbytnou součástí našeho života používají se v každé fázi od prevence přes diagnostiku až po léčbu různých nemocí u lidí i zvířat. Průměrná roční spotřeba léčiv se pohybuje v rozmezí 15–150 g na osobu, jak uvádí Alder et al. (2006). Nicméně, tato léčiva se stávají také novodobými kontaminanty životního prostředí. Většina z nich se dostává do kanalizace a následně do čistíren odpadních vod, kde jsou buďto úplně nebo částečně odbourávána. Vzhledem k nedostatečné úrovni technologií v některých čistírnách odpadních vod (ČOV) se však část perzistentních léčiv dostává do vodního prostředí, kde se mohou pohybovat v koncentracích od ng/l až po µg/l. Z těchto vod se pak mohou dostat do zemědělské půdy během zavlažování, což může ovlivnit růst a vývoj rostlin a celkovou bezpečnost potravin. Tato léčiva mohou zůstat v půdě, kde se mohou kumulovat a interagovat s dalšími látkami, což může vést k vzniku dalších nežádoucích kontaminantů. Tyto kontaminanty tak představují riziko nejen pro životní prostředí, ale i pro ostatní organismy, které jsou jeho součástí (Leitão et al. 2021a; Zhang et al. 2021).

V diplomové práci bylo jako modelové léčivo použito diklofenak (DCF), což je jedno z nejběžnějších zástupců skupiny nesteroidních protizánětlivých léčiv (NSAIDs). V experimentální části jsme se zaměřili na zkoumání jeho vlivu na sekundární metabolity u hydroponicky pěstované lociky seté.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Diplomová práce bude zaměřena na sledování vlivu diklofenaku na vybrané biochemické parametry (poškození membrán, obsah sekundárních metabolitů, antioxidační aktivita) u dvou různých odrůd lociky seté – 'Král Máje' a 'Jupiter' pěstovaných v hydroponii.

Nulová hypotéza: Diklofenak nebude mít vliv u žádné z odrůd na sledované obsahové látky či antioxidační aktivitu během trvání experimentu.

Alternativní hypotéza 1: Diklofenak ovlivní alespoň jeden sledovaný parametr.

Alternativní hypotéza 2: Vybrané odrůdy se budou ve sledovaných parametrech mezi sebou lišit.

3 Literární rešerše

3.1 Locika setá (*Lactuca sativa* L.)

Locika setá (*Lactuca sativa* L.) se řadí mezi nejvýznamnějšího zástupce listové zeleniny po celém světě. Jde o jednoletý, dvouletý nebo vytrvalý druh byliny, který v taxonomickém systému spadá do krytosemenných rostlin (*Magnoliophyta*), třídy dvouděložné (*Rosopsida*), čeledi hvězdicovité (*Asteraceae*), podčeledi *Cichoriodeae*, kmene *Lactuceae*, rodu *Lactuca* (Křístková et al. 2008). Rod *Lactuca* zahrnuje několik druhů například *L. sativa*, *L. serriola*, *L. saligna* nebo *L. virosa* (Doležalová et al. 2002).

Jedná se o bylinu nižšího vzrůstu, s tenkým kulovým kořenem a plnou lodyhou, dosahující výšky 30–70 (případně 100) cm, která bývá lysá a hustě olistěná. Při poškození lodyhy se z ní uvolňuje latex ze směsi glykosidů, terpenoidů, fenolů, alkaloidů a proteinů. V latexu se nachází významná skupina terpenů – seskviterpeny, které slouží v rostlině jako fytoalexiny aktivující se při obraně proti nežádoucím stresorům, jako jsou mikroorganismy, UV záření apod. (Chadwick et al. 2013; Lebeda et al. 2013).

Listy mohou být dlouhé až 50 cm, nejspodnější jsou spirálovitě uspořádané tvořící hlávku nebo růžici a jsou krátce řapíkaté. Lodyžní jsou naopak přisedlé, zubaté, celokrajné, laločnaté nebo srdčité přisedlé. Listy jsou vejčité až a okraje listů jsou celistvé, často kadeřavé se zvlněným okrajem. Úbory jsou uspořádány v husté listenaté latě, z nichž vychází 7–15 (– 35) vejčité kopinatých tkvů (ligulů) žluté barvy s často nafialovělymi konci. Liguly skládají vrcholičnaté, latovité, hroznovité nebo klasovité květenství. Zákrov je víceřadý, válcovitý a dosahuje délky 10–15 cm, jeho zákrovní listeny jsou kopinaté, hnědozelené s bledým lemovaním, které se lekce překrývají (Doležalová et al. 2002; Lebeda et al. 2004; Grulich 2004).

Květenství je terminální a plodem je zobánkatá nažka s pěti až devíti tsetózovými žebry na obou stranách. Je to diploidní plod s devíti chromozomy. Délka nažky je 6–8 mm. Délka bez zobánku je přibližně 3 mm, zploštělá až vřetenovitá, šedavá. Zobánek nažky je stejné barvy nebo lehce bledší. Chmýr je tvořen dvěma řadami štěteček a může být opadavý nebo vytrvalý, s barvou od bílé až po hnědou (Doležalová et al. 2002; Lebeda et al. 2004; Křístková et al. 2008; Grulich 2004). Vegetativní a generativní orgány jsou zobrazeny na obrázku č. 1.

3.1.1 Historie pěstování salátu

Locika setá je kulturní plodina, která se v přírodě samovolně nevyskytuje (De Vries 1997). Pochází z divokého předchůdce lociky kompasové (*L. serriola*) jejíž přesná domestikace zůstává nejasná. O původu lociky seté se ve studiích vyskytují různé názory. Lindqvist (1960) označil jako centrum původu Egypt s odhadovanou dobou domestikace 7 000 let před naším letopočtem. Naopak Vavilov (1951) přišel s tvrzením, že pochází z oblasti Středomoří. Další zmínky se objevují z oblasti Blízkého východu a evropsko-sibiřské oblasti nebo oblasti Iráku/Iránu až Mezopotámie mezi řekami Eufrat a Tigris.

Nejvíce záznamů, je však z Egypta, kde byla dlouholistá forma salátu zobrazována na nástěnných malbách a hrobkových reliéfech. Její předpokládané využití bylo jako zelenina pro své listy, tak i semena pro olej, rituální obřady a byla považována za afrodisiakum. Dodnes je v Egyptě přesvědčení, že konzumace velkého množství salátu zvyšuje plodnost (Lindqvist 1960; Harlan 1986; De Vries 1997). Z Egypta se locika následně šířila na jih a do Řecka a Říma. Stejně jako v Egyptě jsou i zde známky o pěstování lociky typu Cos (*L. sativa* var. *longifolia* Lam.), a to kolem roku 550 před naším letopočtem. Na rozdíl od Egyptanů byl salát u Řeků považován za antiafrodisiakum a prostředek na uklidnění. Lékaři též přisuzovali salátu pozitivní vlastnosti, zejména v oblasti trávení a chuti (Akbar 2020; Maliqa et al. 2021).



Obrázek č. 1 – Vegetativní a generativní orgány Lociky seté (upraveno dle Pladias.cz).

V současné době je pěstována po celém světě ve všech typech zemědělství. Mezi nejnámější varianty patří hlávkový salát (*L. sativa* var. *capitata*), římský salát (*L. sativa* var. *longifolia*) a salát listový (*L. sativa* var. *crispa*) (Akbar 2020; Maliqa et al. 2021). Zároveň se salát stal první zeleninou pěstovanou na Mezinárodní vesmírné stanici. Nejčastěji se pěstuje se na zahradách, polích i ve sklenících (Akbar 2020). Při pěstování na polích a zahradách, vyžaduje teplá a slunná místa chráněná před větrem. Vyhovují jí lehké, hlinitopísčité, humózní, vlhké půdy. Optimální období pro výsadbu se odvíjí od jednotlivé odrůdy, ale většina odrůd je jarních a vysévají se od března. Podzimní odrůdy pak od konce září a sklízí se časně na jaře. Pěstovat salát lze dvěma způsoby, a to přímým vysetím do půdy nebo z předpěstovaných sazenic. Optimální teplota pro pěstování je okolo 15 °C, nižší teploty vedou ke snížení chutnosti salátu a ovlivnění dalších sensorických vlastností. Je velmi oblíbený nejen pro svou chuť, ale i pro krátkou vegetační dobu. Proto je často volen zemědělci jako jarní předplodina (Müller 1959; Šrot 1999).

Tabulka č. 1 – Přehled osevních a sklizňových ploch a celkové sklizně salátů v ČR (eAgri.cz 2023).

	2018	2019	2020	2021	2022	2023
Osevní plochy (ha)	506	452	451	479	495	585
Sklizňová plocha (ha)	672	677	680	716	676	/
Celková sklizeň v ČR (t)	11 955	16 259	16 439	20 869	12 283	/
Cena (Kč/ks)	23,65	23,95	23,33	22,76	26,13	28,18
Dovoz (t)	/	/	15084	15844	15144	10227
Vývoz (t)	/	/	2372	2476	2471	1447

*Období roku 2023 je od 1.1.2023 do 31.8.2023

Dle eAgri.cz (2023) je pokles v celkové sklizni salátu zapříčiněn velmi chladným a vlhkým počasím v jarních měsících, a v letních měsících naopak ovlivnilo kvalitu horké počasí nebo naopak déšť a krupobití. To mělo vliv i na dovoz a vývoz z České republiky (Tabulka č. 1).

3.1.2 Obsah živin

Vzhledem k nárustu obezity ve světě, hraje strava důležitou roli v cestě za zdravým životním stylem. Zelenina by měla být dennodenně zařazena do našeho jídelníčku, protože obsahuje řadu minerálních látek, vitamínů a živin (Kim et al. 2016). Obsah živin v salátu se odvíjí od faktorů, které na něj působí v období vývoje a růstu. Jedná se o abiotické a biotické faktory, hnojení, zavlažování a na kultivaru (Koudela & Petříková 2008). Salát se ve většině případů podává v čerstvém stavu, čímž si zachovává vysoký podíl živin.

Co se týká makroživin, salát obsahuje malé množství nasycených mastných kyselin (SFA) a větší část polynenasycených mastných kyselin (PUFA), které jsou pro zdraví člověka důležité. Hlavními polynenasycenými mastnými kyselinami jsou kyselina α -linolenová (ALA) a kyselina linolová (LA) v poměru 60:20 (ALA:LA) celkových mastných kyselin. Obě kyseliny jsou esenciální a denní příjem je okolo 12-17 g LA a 1,1-1,6 g ALA. Jejich příjem zabraňuje snižování imunity, dermatitidám či poruchám zraku (Kim et al. 2016).

Salát obsahuje také méně stravitelné sacharidy s nízkou kalorickou hodnotou. Příjem vlákniny snižuje riziko výskytu kardiovaskulárních onemocnění, cukrovky a dalších onemocnění snížením cholesterolu, krevního tlaku a lipoproteinů o nízké hustotě (LDL). Konzumace 100 g salátu poskytne 10 % doporučené denní dávky vlákniny (20–30 g/den). Co se týká obsahu bílkovin, je stejně jako u většiny zeleniny nízký (1,2 g). Z mikroživin je potřeba zmínit obsah vápníku (Ca), draslíku (K), železa (Fe) a vitamínů C, E a kyseliny listové (B9) (Tabulka č. 2). Největší zastoupení ze zmíněných vitamínů mají foláty. Při jejich nedostatku se snižuje syntéza DNA, a mohou být ovlivněny buněčné funkce, růst a vývoj člověka. Obsah vitamínu C je oproti ostatní listové zelenině nejnižší. Jeho hlavní forma v rostlinách je kyselina askorbová. U vitamínu E jsou hlavní formou v hlávkovém salátu α - a γ -tokoferoly. Typickou chuť salátu dodávají v něm obsažené kyseliny, jako je kyselina citronová, a jeho nahořklost zajišťují seskviterpeny laktucin a laktukopikrin (Kim et al. 2016).

Tabulka č. 2 – Popis látek obsažených ve 100 g listového salátu (Nzip.cz 2024).

Látky obsažené v hlavkovém salátu	Na 100 g jedlé části	Látky obsažené v hlavkovém salátu	Na 100 g jedlé části
Energie (kcal)	11	Železo (mg)	0,3
Tuky (g)	0,2	Vitamin A (μl)	187
Bílkoviny (g)	1,2	Vitamin B1 (mg)	0,06
Sacharidy (g)	1,1	Vitamin B2 (mg)	0,08
Vláknina (g)	1,4	Vitamin B3 (mg)	0,3
Draslík (mg)	172	Vitamin B6 (mg)	0,06
Vápník (mg)	20	Vitamin C (mg)	13
Hořčík (mg)	9	Vitamin E (mg)	0,6

3.2 Sekundární metabolity rostlin

V rostlinách probíhá velké množství procesů; především biochemické reakce, které poskytují energii pro rostlinu a podílejí se na syntéze látek nezbytných pro fyziologické pochody. Tento rostlinný metabolismus je založen na anabolických a katabolických procesech, které se odehrávají v buňkách a vzájemně se ovlivňují (Rontein et al. 2002). Rozdělujeme jej na primární a sekundární metabolismus podle biosyntetických funkcí a drah syntetizovaných látek. Přestože přesné hranice mezi nimi nejsou pevně stanoveny, většina sekundárních metabolitů vzniká jako produkty syntézy z primárních metabolitů, což jsou sloučeniny (aminokyseliny, sacharidy, lipidy, organické kyseliny), které se podílejí na fotosyntéze, dýchání a vývoji rostlin (Crozier et al. 2006). Sekundární metabolity, historicky považované za odpadní produkty primárních metabolitů, jsou ve skutečnosti látky vyvinuté rostlinami jako prostředek k přežití, často sloužící k ochraně proti nepříznivým faktorům (Bennet & Wallsgrove 1994; Crozier et al. 2006; Hassani et al. 2023).

Například alkaloidy, oxaláty nebo lektiny jsou řazeny do skupiny antinutričních látek, zatímco jiné látky přispívají k tvorbě specifických pachů, chutí nebo barev při napadení biotickými škůdci a mohou být využity i k mezidruhové komunikaci. Některé z těchto sekundárních metabolitů mají také potenciál v medicíně, vzhledem k možnému pozitivnímu vlivu na některá chronická onemocnění, včetně diabetes mellitus II. typu a kardiovaskulárních chorob (Bennet & Wallsgrove 1994; Crozier et al. 2006; Ramakrishna & Ravishankar 2011; Yang et al. 2018). Dále mohou být sekundární metabolity využity jako barviva, vonné látky, při výrobě parfémů, insekticidů a dalších průmyslově důležitých sloučenin (Verpoorte et al. 2002; Yang et al. 2018). Výtěžky látek z volně rostoucích rostlin bývají omezené a jejich produkce je podmíněna širokým spektrem faktorů, zahrnujících typ rostliny, fázi vývoje a její zdravotní stav (Ramachandra Rao & Ravishankar 2002). Biosyntéza a hromadění sekundárních metabolitů může být ovlivněna různými aspekty. Mezi ty patří také environmentální vlivy, jako je teplota, intenzita osvětlení, složení půdy, salinita a obsah půdní vody (Yang et al. 2018).

Sekundární metabolity jsou klasifikovány do čtyř hlavních skupin podle jejich různých struktur, a to na polyfenoly, alkaloidy, terpeny a steroidy. Tyto skupiny metabolitů, kromě svých specifických aktivit, vykazují také antioxidační a protizánětlivé vlastnosti (Bennet & Wallsgrove 1994).

3.2.1 Polyfenoly

Polyfenoly představují nejrozsáhlejší skupinu sekundárních rostlinných metabolitů, zahrnující přes 8000 různých struktur, mezi něž patří flavonoidy a jiné fenolické látky. Mezi nejprozkoumanější skupinu se řadí díky svému hojnému výskytu právě flavonoidy. Některé látky jsou specifické pro určité druhy rostlin (např. resveratrol v hroznovém víně) a některé se nachází ve všech rostlinných pletivech (např. kvercetin). Mezi polyfenoly se také řadí lignany a trísloviny (Manach et al. 2004).

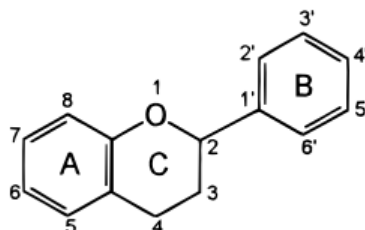
Tyto sloučeniny běžně nacházíme v kořenech, bylinkách, zelenině, ovoci, ořechách, luštěninách, obilovinách a také v kávě. Polyfenoly jsou spojovány s řadou prospěšných účinků v rámci lidské stravy, zahrnující ochranu před chronickými degenerativními onemocněními, snižování krevního tlaku a cholesterolu a regulaci energetického metabolismu (Sreenivasulu & Fernie 2022). Tyto látky navíc vykazují protizánětlivé a inzulin-senzibilizační vlastnosti, čímž podporují zdraví a předcházejí vzniku nemocí (Abbas et al. 2017; Martin & Li 2017; Sreenivasulu & Fernie 2022). Výzkumy dále prokázaly pozitivní účinky při léčbě kardiovaskulárních onemocnění (KVO), osteoporózy, neurodegenerativních poruch, rakoviny a diabetu mellitus. Tyto látky představují nejběžnější antioxidanty v lidské stravě, působí proti volným radikálům a zpomalují proces stárnutí. Dále brání oxidaci lipoproteinů s nízkou hustotou (LDL). Polyfenoly jsou metabolizovány střevní mikroflórou a jaterními enzymy, přičemž jejich účinky jsou závislé na spotřebovaném množství (Alvarez 2014).

Z chemického hlediska jsou polyfenoly aromatické sloučeniny, které se skládají z jednoho nebo více benzenových kruhů, jež nesou jednu nebo více hydroxylových skupin (-OH). Tyto hydroxylové skupiny se obvykle nacházejí v 3, 4. a 5. poloze. Většina fenolických sloučenin se tvoří v rámci fenylpropanoidové dráhy díky činnosti enzymu fenylalanin amoniak lyázy (PAL), což je důvodem, proč jsou často označovány jako fenylpropanoidy, vzhledem k jejich odvození od fenylalaninu (Chen et al. 2020; Lund 2021). Polyfenoly se běžně vyskytují v rostlinných pletivech ve formě glykosidů, přičemž základními strukturami flavonoidů jsou necukerné fragmenty glykosidů, tzv. aglykony (Singla et al. 2019).

3.2.1.1 Flavonoidy

Flavonoidy jsou nízkomolekulární látky, které jsou produkovány v cytosolu buňky. Jsou to také rostlinné pigmenty, které jsou obsaženy v buňkách zelených rostlin. Jsou syntetizovány z fenylalaninu, který vzniká v šikimátové dráze citrátového cyklu (TCA) (Havsteen 2002; Samantha et al. 2011). Přirozeně se vyskytují ve formě glykosidů. Přítomnost cukrů a hydroxylových skupin je činí rozpustnými ve vodě, zatím co methyl a isopentylové jednotky

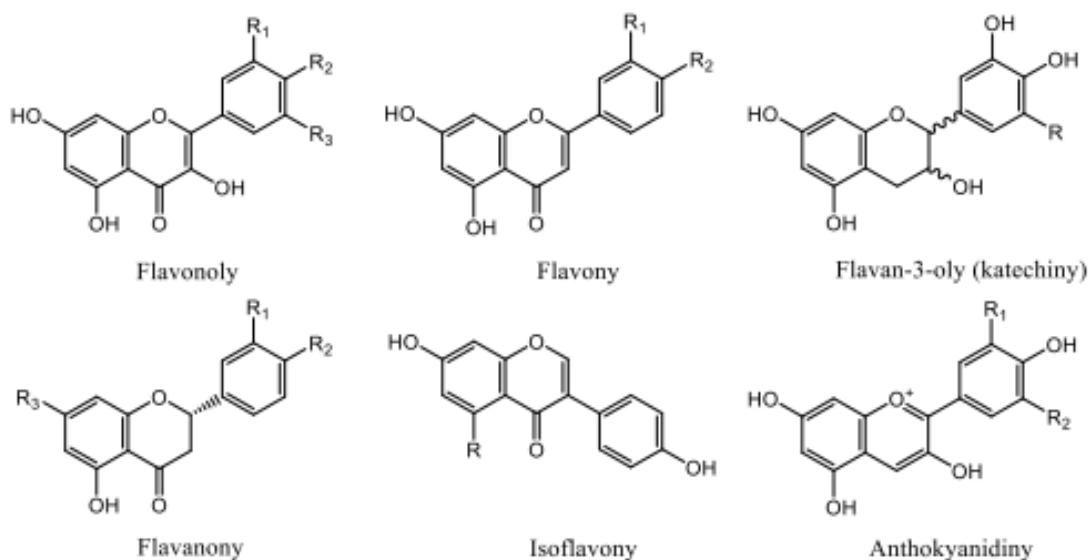
umožňují jejich rozpuštění v tucích. Základní strukturou flavonoidů je flavan, který je tvořen třemi cykly C₆-C₃-C₆ (A, C a B). Jednotlivé skupiny flavonoidů se liší stupněm oxidace a způsobem substituce na cyklu C, a jednotlivé sloučeniny se liší substitucí cyklů A a B (Obrázek č. 2). Biochemická aktivita flavonoidů je odvozena od jejich chemické struktury a uspořádání funkčních skupin. Tyto látky mohou existovat jako monomery, dimery nebo oligomery. Dle struktury je také dělíme na flavony, flavanoly, flavanony, katechiny, isoflavony a anthokyanidy (Obrázek č. 3) (Daglia 2012; Pietta et al. 2003; Samantha et al. 2011).



Obrázek č. 2 – Základní chemická struktura flavonoidů (Sudhakaran et al. 2019).

V rostlinách bylo identifikováno přes 4000 flavonoidů (Daglia 2012), které se kromě ovoce a zeleniny běžně vyskytují i v semenech, obilovinách, kořeni, červeném víně, čajích a některých léčivech. Konkrétně se například flavonoly kvercetin a kaempferol vyskytují v citrusech, zatímco flavony apigenin a luteolin se nacházejí v obilovinách a petrželi, tymiánu nebo rozmarýnu, a isoflavonoidy se vyskytují v luštěninách a slunečnicových semenech.

Tyto sloučeniny jsou syntetizovány rostlinami jak v různých pletivech, tak i v orgánech. Přítomnost flavonoidů má významný vliv na transport hormonu auxinu, který ovlivňuje řadu procesů v rostlinách (Samanta & Das 2011; Pietta, 2000). Flavonoidy fungují jako signální molekuly, fotoreceptory, antioxidanty, stimulanty a fytoalexiny. Dále slouží také jako UV filtry, chrání rostlinu před buněčným poškozením, a před biotickými škůdci a abiotickým stresem, zejména suchem. Přispívají také k výrazným odstínům barev květů a plodů, což napomáhá přilákání opylovačů. Modrá barva květů je například důsledkem přítomnosti anthokyanů (Pietta et al. 2003; Samantha et al. 2011).



Obrázek č. 3 – Rozdělení flavonoidů dle chemické struktury (Daglia 2012).

3.2.1.2 Neflavonoidní fenolické látky

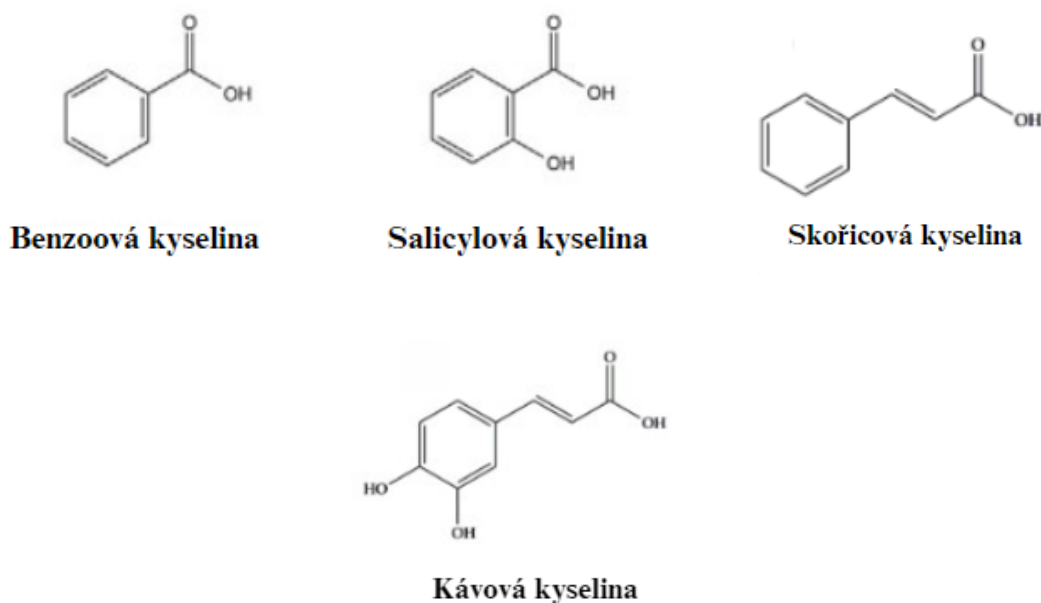
Další skupinou látek fenolického charakteru, které nemají flavonoidní skupinu, jsou neflavonoidní fenolické látky. Mezi ně řadíme fenolové kyseliny, fenyloctové kyseliny, deriváty kyseliny skořicové a benzoové kyseliny, stilbeny a lignany (Manach et al. 2004).

Fenolové látky jsou známé svou schopností dodávat chuť a vůni ovoci a zelenině. Často se vyskytují v čaji, kávě a některých vegetativních a generativních orgánech, například u malin a ředkviček (Abotaleb et al. 2020). Mohou být přítomny jako glykosidy nebo estery s jinými přírodními sloučeninami, jako jsou steroly, alkoholy nebo hydroxymastné kyseliny. V rostlinách reagují na stres z chladu a vysokého působení UV záření, což vede ke zvýšení jejich celkového obsahu.

Fenolové kyseliny jsou děleny do dvou skupin: kyseliny skořicové, obsahující devět atomů uhlíku, a kyseliny benzoové, obsahující sedm atomů uhlíku. Kyselina skořicová a její deriváty jsou bioaktivní sloučeniny, syntetizované z šikimové kyseliny. Biosyntetická dráha skořicových kyselin vede k syntéze různých dalších fytochemických sloučenin, jako jsou například kumariny, stilbeny nebo taniny. Mezi nejvýznamnější zástupce patří kyselina skořicová a kyselina kávová (Obrázek č. 4). Kromě toho, že ji můžeme získat ze skořice, se běžně vyskytuje ve špenátu, citrusech, čaji, kávě a brukvovité zelenině (Adisakwattana 2017; Ghasemzadeh 2011).

Benzoové kyseliny (BA) jsou aromatické karboxylové kyseliny, sloužící jako prekurzory široké škály esenciálních sloučenin a produktů, které přispívají k příznivému stavu rostliny. Nejkoumanějším zástupcem BA je rostlinný hormon kyselina salicylová (Obrázek č. 4), která je považována za klíčovou signální látku při obranné reakci rostlin, zejména u některých abiotických stresů, jako je chlad, sucho nebo působení UV záření. Podílí se také na

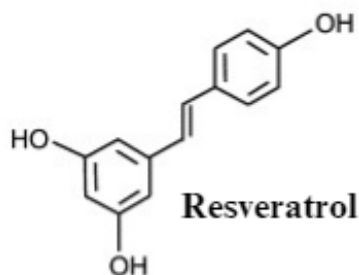
tvorbě kaskád, které řídí procesy stárnutí a kvetení. Další důležitou skupinou jsou aromatické cytokininy, mezi které patří například benzyl-purinový konjugát, který má prokázané účinky zpomalování stárnutí listů a podpory růstu kořínků. Benzyl, benzoyl a anthraniol se podílejí na lákání opylovačů a zároveň chrání rostliny i svou antimikrobiální aktivitou chrání rostliny. Biosyntetická dráha BA je stejná jako u skořicových kyselin a začíná ze šikimátové dráhy (Widhalm & Dudareva 2015).



Obrázek č. 4 – Příklad zástupců fenolových kyselin (Adisakwattana 2017; Widhalm & Dudareva 2015).

Lignany jsou nízkomolekulární látky, které jsou součástí stěn rostlinných buněk. Jejich hlavní úlohou v rostlinách je ochrana proti patogenům. Vyskytují se zejména v semenech, přičemž mezi nejbohatší zdroje patří lněná a sezamová semínka. Dále se vyskytují například v celozrnných obilovinách, některých druzích ovoce a zeleniny, čaji, kávě a červeném víně (Adlercreutz 2007; Bennet & Wallsgrove 1994).

Stilbeny tvoří malou skupinu fenylpropanoidů a bylo zjištěno, že jen malé množství rostlin je schopno stilbeny produkovat. Tyto sloučeniny se vyskytují například ve víně, borovicích nebo podzemnici olejné. Stilbeny jsou antimikrobiálními sloučeninami, které jsou syntetizovány při napadení biologickými škůdci nebo při mechanickém poranění rostliny. Mezi nejvýznamnější zástupce patří resveratrol (Obrázek č. 5), u kterého byly prokázány antikarcinogenní, antioxidační a fytoestrogenní účinky. Několik studií potvrdilo jeho schopnost zpomalovat průběh řady onemocnění, včetně kardiovaskulárních onemocnění a rakoviny (Chong et al. 2009; Manach et al. 2004).



Obrázek č. 5 – Příklad zástupců stilbenů (Croizer et al. 2006).

3.2.2 Terpeny

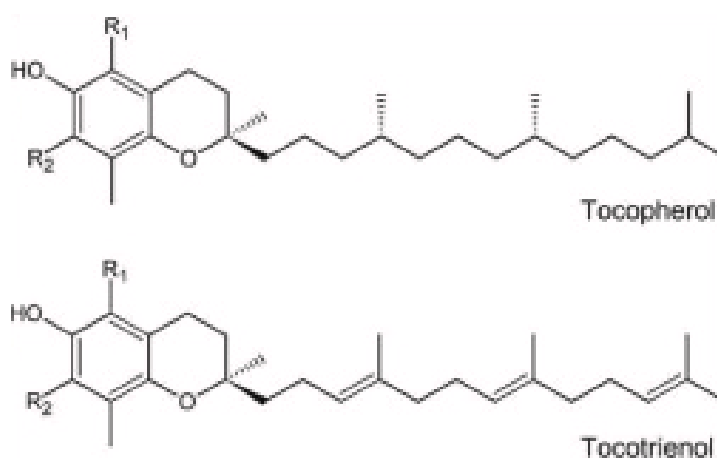
Terpeny jsou rozsáhlá skupina látek vyskytujících se v prostředí. Většina terpenů má cyklickou formu a podle počtu uhlíku se dělí na hemiterpeny (C₅), monoterpeny (C₁₀), seskviterpeny (C₁₅), diterpeny (C₂₀), triterpeny (C₃₀), tetraterpeny (C₄₀) a polyterpeny (C₈₀) (Goyal et al. 2012). Tyto látky jsou součástí primárního i sekundárního metabolismu v buňkách (Tetali 2019).

V rostlinách je jejich nejvyšší koncentrace v reprodukčních orgánech, v listech během kvetení a také jsou hlavní složkou rostlinných pryskyřic. V rostlinách plní funkci jako infochemikálie, atraktanty nebo repelenty, protože způsobují typickou vůni mnoha rostlin. Zároveň slouží vysoký obsah terpenoidů jako obranná zbraň proti býložravcům a patogenům. Biosynteticky jsou terpeny odvozeny od isoprenu, základní vzorec všech terpenů je tedy (C₅H₈)_n (n = počet molekul spojených izoprenových jednotek). Mohou existovat jako uhlovodíky, nebo jako sloučeniny obsahující kyslík, jako jsou hydroxylové, ketonové nebo aldehydové skupiny. Terpenoidy jsou deriváty terpenů vznikající redukcí, oxidací, izomerací či dalšími chemickými reakcemi (Paduch et al. 2007). V současnosti je známo přes 22 000 terpenoidů, a to z nich činí nejrozsáhlejší skupinu přírodních produktů. Z největší části jsou syntetizovány rostlinami, ale jsou přítomny i u dalších eukaryot, ale i u bakterií či archeí. Kromě jejich úlohy obrany před patogeny, hrají roly i v symbiotických mechanismech, jako repelenty proti hmyzu nebo naopak jako atraktanty pro specifické druhy opylovačů ke stimulaci křížového opylení (Silvestre & Gandini 2008).

Některé z mono- a seskviterpenů jsou hydrofilní těkavé povahy. Jsou součástí rostlinných esenciálních olejů a jsou to komunikační jednotky mezi rostlinou a opylovači (Tetali 2019). Ze zástupců seskviterpenů najdeme v salátu laktucin a laktukopikrin, které mu dodávají typickou nahořklou chuť (Kim et al. 2016). Seskviterpeny, triterpeny a polyterpeny se tvoří v cytosolu a endoplazmatickém retikulu, zatímco ostatní se tvoří v plastidech (Goyal et al. 2012). Terpeny si našly využití ve výživě, jako aromatické vůně či při výrobě biopaliv. Některé našly využití i ve farmaceutickém průmyslu díky svým protizánětlivým, antidiabetickým, antibakteriálním, protinádorovým, sedativním a analgetickým účinkům. Mají důležitou roly ve fyziologii zvířat i lidí, působí jako imunostimulanty, modulují transkripční faktory

a homeostázu krve. Terpeny jsou také integrální složkou několika produktů v lidské výživě, jako jsou např. vitaminy A, E, K, koenzym Q10.

Například karotenoidy a tokoferoly jsou základními zdroji vitamínu A a E u lidí a zvířat. Karotenoidy jsou tetra-terpeny poskytující přírodní barviva ve žlutých až červených odstínech. Působí jako přírodní antioxidanty a jejich příjem přispívá ke kardiovaskulárnímu zdraví, chrání před onemocněním jako je diabetes, obezita a rakovina (Tetali 2019). Vitamin E zahrnuje tokoferoly a tokotrienoly souhrnně označované jako „tokoly“, které jsou složeny ze dvou tokotrienolů a čtyř tokoferolů. Za důležité zdroje vitamínu E jsou považována semena, ořechy a jedlé oleje: lněný, slunečnicový, olivový, arašídový atd. Jeho deficit je spojen s anémií, retinopatií nebo neurologickými onemocněními, a může vést i k potratu u žen (Tetali 2019).

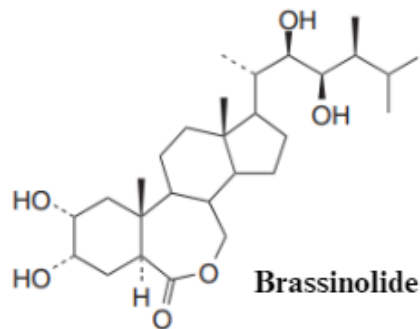


Obrázek č. 6 – Chemická struktura tokoferolů a tokotrienolů (Shahidi et al. 2021).

3.2.3 Steroidy

Steroidy jsou látky produkované rostlinami, živočichy a mikroorganismy. Jejich chemická a strukturní rozmanitost je dána jejich oxidačním stavem. Všechny steroidy jsou odvozeny od S-squalen-2,3-epoxidu, jakožto meziproduktu acetát-mevalonové cesty. V rostlinách jsou nejvíce zastoupeny fytosteroly, které jsou součástí lipidové dvojvrstvy rostlin, řídících fluiditu a propustnost membrán. Některé druhy brassinosteroidů (Obrázek č. 7) působí jako hormony a zásadně se podílí na vývoji rostlin. Steroidní alkaloidy zase působí jako chemické bariéry před patogeny (Gunaherath & Gunatilaka 2014).

Využití ve farmacii je pro jejich protizánětlivý, antioxidantní a protinádorový účinek. Snižují hladinu cholesterolu v krvi a slouží jako prevence před kardiovaskulárním onemocněním. Ve velkém množství je můžeme nalézt v luštěninách, rostlinných olejích, semínkách a ořechách (Ryan et al. 2007).



Obrázek č. 7 – Příklad chemické struktury steroidů (Gunaherath & Gunatilaka 2014).

3.3 Hydroponie

V posledních letech se tato inovativní metoda pěstování dostává čím dál více do povědomí a obohacuje oblast zemědělského výzkumu. Jedná se o moderní metodu pěstování rostlin bez využívání konvenčních pěstebních systémů (Khater et al. 2021; Sensorex 2020). Principem hydroponických systémů je cirkulace vody obohacené o nutrienty specifické pro danou rostlinu. V zásobní vaně je voda okysličována probubláváním. Za pomoci čerpadel a komplexu trubek je voda cirkulována na pojící médium ke kořenům rostliny (Kozai et al. 2019; Lee & Lee 2015). Dalšími důležitými faktory kromě přísunu živin a vody jsou světlo, oxid uhličitý a kyslík u kořene rostliny (EI-Kazzaz 2017).

Rostlina je umístěna do organického nebo anorganického média jako jsou kokosová vlákna, minerální vlna, keramika, šterk, kačírek, vermikulit nebo rašelina. To přináší jednu z výhod při růstu rostliny, kdy kořeny nejsou obklopeny zeminou a ke kořenům rostlin se tak dostává kyslík a živiny rychleji (Espiritu 2019).

Hydroponické systémy se mohou dělit na otevřené a uzavřené. V otevřených systémech, které neposkytují žádné mechanismy pro znovuvyužití, dochází k jednorázovému průchodu živinového roztoku systémem, který následně končí jeho likvidací. Toto jednorázové využití živin může mít významné environmentální dopady a zvyšovat náklady na zásobování potravin (Kwon et al. 2021). Naopak uzavřené systémy využívají princip recirkulace živinového roztoku, který se vrátí zpět do oběhu, případně je doplněn dalšími živinami. Tímto způsobem uzavřené systémy snižují odpad a mohou přispět ke zvýšení udržitelnosti zemědělského a akvakulturního sektoru (Hosseinzadeh et al. 2017).

Za zlomové období v rozšiřování hydroponických farem jsou roky 1930–1970, kdy začaly farmy vznikat ve všech koutech světa jako je Abu Dhabi, Arizona, Japonsko, Ruská federace, Itálie, Německo, Belgie a mnoho dalších (Sharma et al. 2018). V roce 2015 se staly největšími producenty hydroponických farem USA a Čína a v roce 2020 začala nejvíce ploch zaujímat Severní Amerika (35,78 %) (Mordor intelligence 2021). Naopak v Evropě v roce 2020 patřily k největším producentům Španělsko, Francie a Nizozemsko (Jan et al. 2020).

3.3.1 Historie hydroponického pěstování

Pěstování rostlin na vodě je zaznamenáno již ve Vysutých zahradách Babylonu a plovoucích zahrad v Číně (Espiritu 2019). Avšak za prvního člověka s moderními záznamy o pěstování rostlin na vodě je považován anglický lékař John Woodward. Jeho experimenty s pěstováním máty v čisté nebo dešťové vodě vedly ke zjištění, že rostliny v dešťové vodě rostly mnohem lépe než rostliny ve vodě čisté. Byl tedy předpoklad, že rostliny potřebují určitý přísun živin pro svůj růst. V 60. letech 19. století byl německými vědci Sachem a Knopem vytvořen roztok obsahující minerální látky, který měl prospívat rostlinám při jejich růstu (Hershey 1994). Espiritu (2019) potvrzuje využití tohoto roztoku při experimentu s rajčaty, který vedl rakouský profesor William Gericke roku 1925 na Kalifornské univerzitě. Tento pokus zároveň doplňoval jeho práci, ve které poukazyval na možnost pěstování rostlin bez půdy za využití vody obohacené o živiny. Následně tuto metodu pojmenoval jako hydroponie. Pojem hydroponie byl odvozen z řeckých slov "hydro" voda a "ponos" práce s vodou. Následně docházelo k rozšiřování povědomí o tomto typu pěstování rostlin po celém světě (Espiritu 2019; Sharma et al. 2018). V současnosti je běžně používán živný roztok Hoagland, který vychází z práce Hoagland & Snyder (1933), který byl v roce 1950 upraven do dnešní podoby, hojně používané pro odborné účely (Hoagland & Snyder, 1933; Hoagland & Arnon, 1938, Hoagland & Arnon, 1950).

3.3.2 Klady a zápory hydroponie

Hydroponické systémy sebou nesou mnoho výhod, díky kterým se stávají ve světě stále populárnějšími. Dle Sharma et al. (2018) tato metoda přináší potenciální řešení pro celosvětový nedostatek vody, protože v hydroponii je využita pouze malá část vody ve srovnání s konvenčním pěstováním.

Jedním z dalších významných benefitů této metody je absence rizika onemocnění přenášených půdou, hmyzem nebo škůdci, což výrazně snižuje nebezpečí poškození plodin. Tím se také eliminuje potřeba používání pesticidů a snižuje se tak jejich toxicita v prostředí. Rovněž se zkracuje doba, kterou rostliny potřebují k růstu ve srovnání s plodinami pěstovanými na poli, a to díky nepřítomnosti možných mechanických překážek pro kořeny, které mohou zpomalit růst. Současně s ohledem na rychlou urbanizaci a industrializaci se zmenšuje dostupná obdělávatelná půda a rostliny mohou být umístěny blízko sebe, protože ke kořenům rostlin se živiny dostávají rychle a kořeny se tak nemusí rozpínat (Maya Waiba et al. 2020; Sharma et al. 2018).

Tato technika se ukázala jako velmi užitečná zejména v oblastech s extrémními podmínkami, jako jsou vysoké teploty nebo pouštní klima. Rostliny v hydroponických systémech nejsou ovlivněny změnami počasí, což umožňuje jejich pěstování po celý rok, a proto jsou považovány za vhodné pro mimosezónní produkci potravin (Manzocco et al. 2011; Maya Waiba et al. 2020).

Komerční hydroponické systémy jsou často plně automatizované, což vede ke snížení potřeby pracovní síly a eliminaci tradičních zemědělských postupů, jako je pletí, postřikování,

zavlažování a celkově obdělávání půdy (Jovicich et al. 2003). Důsledkem toho je úspora vody, protože zavlažování a jiné druhy postřiků nejsou potřebné, což přispívá k celkové udržitelnosti prostředí (Sharma et al. 2018).

I přes množství výhod, které tento typ pěstování přináší, existuje několik omezení, která je nutno brát v úvahu. Mezi hlavní z těchto omezení patří potřeba pokročilých technických znalostí a vynaložení vysokých počátečních investice (Resh 2013). Nákladné však nemusí být pouze pořízení, ale i případné opravy a údržba. Kromě toho je nutné brát v úvahu také nároky na energii a osvětlení. Hydroponické systémy často vyžadují zásobování světlem a energií, což může způsobit další náklady, zejména pokud jsou systémy umístěny v chráněných konstrukcích, jako jsou skleníky. S tím také souvisí nutnost dodržování vhodných podmínek pro pěstování jako jsou udržování optimálního pH, elektrické vodivosti (EC) a správné koncentrace živného roztoku, aby nedošlo k poškození nebo ztrátě plodiny (Sharma et al. 2018).

Espiritu (2019) uvádí také výskyt patogenů jako jsou plísně a jejich spóry nebo jiné patogenní organismy, které se vyskytují ve vlhkém prostředí. Tyto organismy se mohou začít šířit v živném roztoku nebo u pojíciho média a vlivem cirkulace vody se mohou dostat do celého pěstebního traktu. Nejrozšířenějšími rody vyskytujícími se v těchto systémech jsou rody *Fusarium*, *Phytophthora* a *Pythium*. Je tedy důležitá pravidelná kontrola a dodržování předepsaných postupů a hygienických podmínek (Espiritu 2019; Lee & Lee 2015).

3.3.3 Hydroponické systémy

Při výběru hydroponického systému je nutno zohlednit jaké máme podmínky pro pěstování a výběr plodiny. V dnešní době se nejvíce používá 6 typů systémů, kterými jsou: knotový systém, vodní kultury, systém odlivu a přílivu, odkapávací systém, nutrient film technique (NFT) a aeroponické systémy, které jsou zobrazeny na obrázku č. 8. Každý systém funguje na základě jiného principu a nese řadu výhod a nevýhod. Ty jsou uvedeny ve výčtu jednotlivých systémů (Sensorex 2020).

1. Knotový systém (Wicked systém)

Dle Shrestha & Dunn (2017) se jedná o nejjednodušší variantu ze všech dostupných systémů. Nevyžaduje přísun elektrické energie a nejsou potřeba čerpadla a vzduchovadlo. Tím se řadí i mezi jeden z nejméně nákladných. Principem tohoto systému je umístění rostliny do absorpčního média jako je perlit, kokosové vlákno nebo vermikulit. Z absorpčního média, konkrétně od kořene rostlin, vedou nylonové knoty do zásobní nádrže s vodou. Voda s živným roztokem se k rostlinám přivádí kapilárně. Je vhodná pro mladé pokojové rostliny, sazenice, bylinky nebo koření. Není vhodný pro rostliny, které vyžadují velký přísun vody (Sensorex 2020; Sharma et al. 2018).

2. Vodní kultury (Deep water culture, DWC)

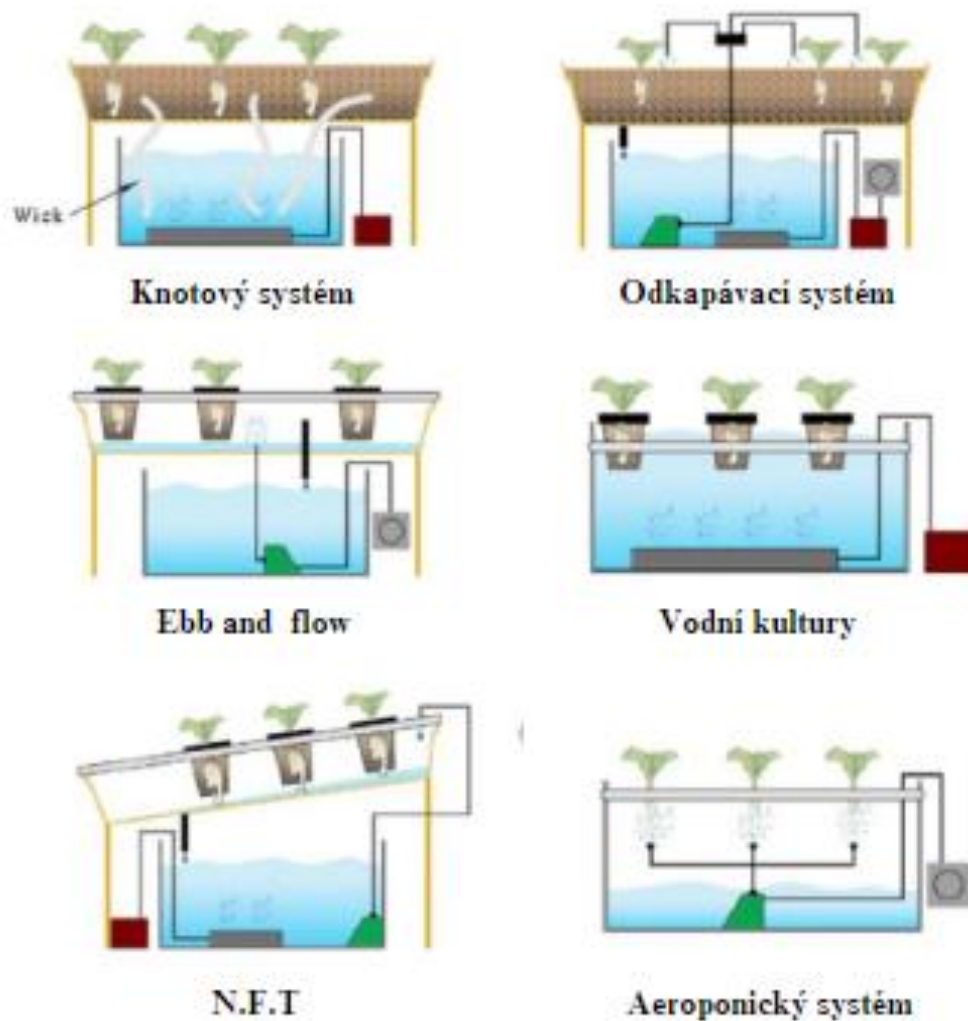
Principem deep water culture je umístění rostlin do síťových květináčů přímo nad zásobní nádrží. Kořeny rostlin jsou umístěny přímo ve vodě a díky tomu se živiny dostávají ke kořenům rychleji. Vzduch je vháněn ke kořenům za pomoci difuzéru nebo vzduchového kamene. Je zde nutné pečlivě sledovat koncentrace kyslíku, živin, slanost a vlhkost, pH, aby nedocházelo k hnilobám nebo růstu a pomnožení řas a plísní (Domingues et al. 2012; Sensorex 2020). Díky rychlému přísunu živin k rostlině dochází k rychlému a hojnému růstu. Tento systém je určen i pro větší rostliny s plody jako jsou okurky a rajčata (Jan et al. 2020; Sensorex 2020).

3. Systém odlivu a přílivu (Ebb & Flow system)

Jedná se o první typ hydroponického systému, který funguje na principu zaplavení a vypouštění. Je tedy složen ze dvou hlavních částí. První je nádoba, ve které se nachází rostliny a druhá je zásobní vana s vodou a živným roztokem. Voda je k rostlinám přiváděna čerpadlem ve velkém objemu. V podstatě dojde k zaplavení nádoby, ale aby nepošlo k úplnému zaplavení rostliny je v nádobě u rostlin umístěna přepadová trubice. Ta je umístěna do výšky pojícího média nebo bývá umístěna u spodní části stonku a veškerá přebytečná voda je recirkulována zpět do zásobní vany. Čerpání vody probíhá v pravidelných intervalech např. 30 minut zapnuto a 15 minut v klidu. Během klidové části dochází k okysličování živného roztoku, díky tomu není za potřeba vzduchového kamene. Tento typ je vhodný téměř pro všechny druhy rostlin např. zástupce kořenové zeleniny – mrkev, ředkvičky atd. (Maya Waiba et al. 2020; Sensorex 2020; El-Kazzaz 2017).

4. N.F.T (Nutrient Film Technology)

Domingues et al. (2012) uvádí jako důvod vzniku této metody, vylepšení metody odlivu a přílivu. Stejně jako u předchozí metody se skládá ze dvou částí, zásobní vany a nádoby s rostlinami. Rostliny jsou umístěny na kanálcích v síťových květináčích. Živný roztok je čerpadlem přiváděn ze zásobní vany do nádoby s rostlinami, kde je rozváděn kanálky ke kořenům rostlin. Konec potrubí je sveden a dochází k recirkulaci živného roztoku zpět do zásobní vany. Vana s rostlinami je neustále v 1,2–3% spádu, aby nedocházelo ke stojatosti vody a tím i vyčerpání kyslíku, což může způsobit zpomalení růstu rostlin. Průtok nutrientů kanálky je zhruba 1–3 l za minutu. Rychlost a množství průtoku záleží na typu a stáří plodiny (Resh 2013; Sensorex 2020). Sheikh (2006) doporučuje menší průtok vody pro mladé rostliny, aby nedošlo k jejich poškození, a silnější průtok pro starší rostliny. Přisun živného roztoku k rostlinám může být kontinuální 24 h cyklus nebo můžeme zavést přerušovaný cyklus. Při přerušovaném cyklu ale musíme brát v potaz volbu vhodné nádrže, aby byla schopna pojmout v době klidu veškerý živný roztok (Resh 2013). Jeho výhodou je přizpůsobení pro pěstování různých druhů rostlin a vhodnost pro krátkodobé i dlouhodobé pěstování. Nejčastěji je tento typ využíván pro pěstování zeleniny (okurky, celer, salát, rajčata), ale i koření a bylinky (Mohammed & Sookoo 2016).



Obrázek č. 8–6 typů hydroponických systémů (Lee a Lee 2015).

5. Odkapávací systém (Drip system)

Jedná se o podobný systém jako je systém odlivu a přílivu. Stejně jako u předchozích typů se skládá ze dvou van (zásobní a pěstební). Živný roztok je v intervalech a přesném množství dodáván do pěstební vany, ke kořenům rostliny. Ty jsou umístěny na pojícím médiu nebo jsou umístěny v síťových květináčích. Ideální volbou je mírně savé médium, kdy živný roztok pomalu odkapává zpět do zásobní vany a tím dochází k jeho neustálé recirkulaci (Sharma et al. 2018). Při volbě síťového květináče dochází ke shromažďování roztoku v pěstební vaně a následně je odčerpán do zásobního kontejneru (Jan et al. 2020). Jedná se o oblíbený systém pěstitelů, kteří střídají pěstování různých druhů zeleniny, bylin a koření. Je vhodný i pro pěstování plodové zeleniny a rostliny s kořenovými baly jako jsou brambory (El-Kazzaz 2017; Sensorex 2020).

6. Aeroponický systém

Posledním, poněkud odlišným typem patřící do hydroponie je aeroponický systém. Jedná se o moderní metodu, jejímž principem je kultivace rostlin za pomoci vody a vzduchu. Dle El-Kazzaz (2017) máme 3 druhy aeroponických systémů – vysokotlaký aeroponický rámec, nízkotlaký rámec (nejvyužívanější) a ultrazvukové mlhovače. Rostliny jsou zavěšeny na konstrukcích v síťových květináčích a kořeny rostlin se nacházejí v utěsněné nádobě za naprosté tmy (Osvald et al. 2001). Horní část rostliny je nad vlhkou zónou a dostává se k ní denní světlo. V zatměné nádobě jsou pod kořeny umístěny tlakové trysky, které v předem stanovených intervalech rozprašují vodu s živným roztokem na kořeny rostlin (Lakhiar et al. 2018; Mbiyu et al. 2012). Výhodou této metody jsou nízké náklady na zařízení a udržování. Zároveň je vhodná pro pěstování různých druhů rostlin např. rajčata, brambory, ananas, avokádo a citrusy (Lakhiar et al. 2018).

3.4 Xenobiotika

Xenobiotika jsou látky nebo sloučeniny syntetického původu, které se za běžných okolností v životním prostředí nevyskytují a za určitých koncentrací na něj mohou mít nepříznivý vliv (Schröder P & Collins Ch 2002). Volně se mohou také vyskytovat chemické látky (endobiotika), která se stávají xenobiotiky až za vysokých koncentrací (Štefanac et al. 2021).

Lidskou činností se vyprodukuje vysoké množství chemických látek, které se úmyslně nebo neúmyslně dostávají do životního prostředí. (Schröder & Collins 2002). K jejich vzniku dochází např. při spalování fosilních paliv, spalováním v koksových pecích nebo jinými antropogenními procesy. Dalším místem odkud se tyto látky mohou dostávat do životního prostředí jsou čistírny odpadních vod (ČOV), které nejsou schopny plně odbourat veškeré znečišťující látky, které se tak dostávají znovu do oběhu. Do skupiny xenobiotik řadíme ale i některé rostlinné produkty (alkaloidy, barviva a flavonoidy), látky syntetické (průmyslové a zemědělské chemikálie jako jsou pesticidy, herbicidy atd.), přísady do potravin, kosmetické přípravky a také léčiva a jejich rezidua (Orcutt et al. 2000; Piwowarska & Kiedrzyńska 2021; Schröder & Collins 2002).

Zprávy o vlivu léčiv a jejich reziduí se dostávají čím dál více do popředí. Vliv humánních a veterinárních přípravků je nežádoucí i za nízkých koncentrací a představuje pro naše prostředí hrozbu. Vzhledem k hojnému počtu podávání léků se začali řadit do třídy mikropolutantů (Huber et al. 2012). Dle Halling-Sørensen et al. (1998) se jedná se především o antibiotika, antikoncepci, steroidní a nesteroidní léčiva, která se do oběhu dostávají v nezměněné nebo chemicky modifikované formě. Většina těchto látek má i ve stopovém množství vliv na organismy a rostliny (Orcutt et al. 2000).

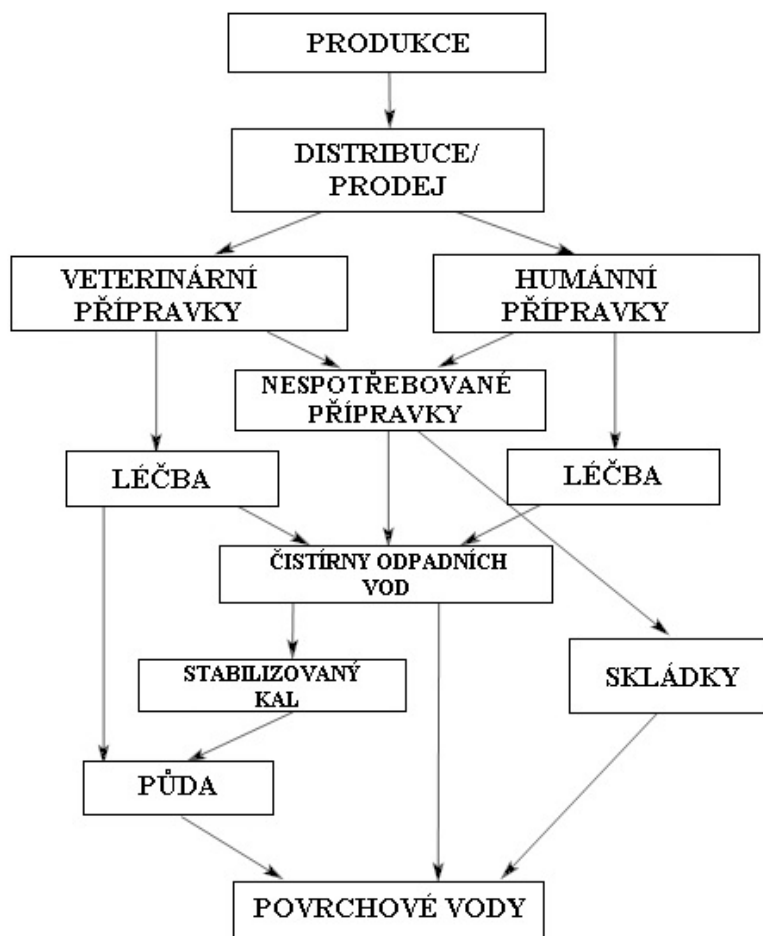
3.4.1 Léčiva v životním prostředí

Množství léčiv využívaných pro prevenci, diagnostiku a léčbu nemocí lidí a zvířat se pohybuje v rozmezí 15 až 150 g na osobu ročně (Alder et al. 2006). Za posledních 10 let došlo k rapidnímu nárůstu výskytu léčiv a jejich reziduí v životním prostředí. V některých zemích jsou kromě volně dostupných léků dostupná např. i antibiotika, jejichž obsah v prostředí může být vyšší než obsah agrochemikálií. Navzdory známé přítomnosti těchto látek v prostředí není vyžadováno testování dávky při jejich dlouhodobé expozici. To vede k nejednoznačným výsledkům přítomnosti a účinku léčivých látek. Byl však prokázán značně toxický účinek ve vodním prostředí pro vodní organismy i rostliny. Ve světě byly detekovány různé druhy léčiv ve vodě v rozmezí koncentrací ng/l až mg/l. Jedná se tak o jeden z hlavních problémů, se kterým se ekotoxikologické odvětví potýká (Fatta-Kassinios et al. 2011; Huber et al. 2012).

Jejich nebezpečnost lze předpovídat na základě biologických a fyzikálně-chemických vlastností jako je polymorfismus, složitá chemická struktura, transformace v prostředí a fakt, že mají více ionizačních míst po celé buňce (Babić et al. 2007; Fatta-Kassinios et al. 2011). Důležitou roli má i to, v jaké formě se látka vyskytuje, jestli se jedná o jednoduché organické molekuly nebo větší polymery jako jsou proteiny a další sloučeniny se složitou strukturou.

Veterinární léčiva vstupují močí nebo výkaly zvířat přímo do ekosystému, humánní léčiva procházejí kanalizací do ČOV, kde dojde k čištění a následnému odvodu do recipientu, což může být řeka, potok nebo jezero (Kolpin et al. 2002). Podrobný popis vstupu diklofenaku do prostředí je znázorněn na obrázku č. 9. Při studii provedené ve Velké Británii Bound & Voulvoulis (2005) zjistili, že zhruba 63 % respondentů nedoužívané léky vyhodila do domovního odpadu, 22 % je přineslo zpět do lékárny a 12 % je vylilo do odpadní kanalizace (Zhang et al. 2008). Jak již bylo zmíněno, v současné době nejsou čistírny odpadních vod schopny zcela odstranit zbytky léčiv a tyto látky se tak dostávají ve změněné či nezměněné formě zpět do ekosystému.

Touto problematikou se zabývá mnoho studií a je vynaložena snaha o zařazení nových kroků do ČOV, které by měly být v odstraňování účinnější. V Evropě jsou běžně v čistírnách pouze biologická a fyzikální čištění a jen menšina využívá terciální nebo jiná pokročilá čištění jako je ionizace, ultrafiltrace, flokulace nebo osmóza (Zorita et al. 2009). Z ČOV se dostává do recipientů čistírenský kal, kde se mohou znečišťující látky znovu uvolnit nebo začít reagovat s jinými látkami a působit toxicky pro vodní nebo půdní prostředí. Díky opakovanému využívání těchto vod pro závlahy zemědělských ploch v rámci udržování vodní bilance nebo přísunu obohacených vod však může dojít ke kontaminaci půdy a následně i rostlin (Fatta-Kassinios et al. 2011). V tu chvíli hraje významnou roli adsorpce rostlin, která ovlivňuje dostupnost a transport. Léčiva i jiná xenobiotika prochází řadou chemických, fyzikálních i biologických změn jako jsou mineralizace a oxidace, a může tak dojít k jejich degradaci jak ve vodě, půdě i rostlině (Piwowarska & Kiedrzyńska 2021).



Obrázek č. 9 – Vstup diklofenaku do prostředí (Kotzya et al. 2009).

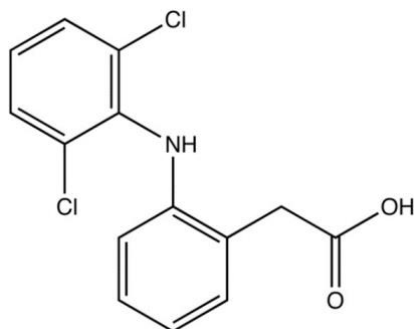
3.4.2 Diklofenak

Mezi velkou skupinou léčiv a mezi hlavní kontaminanty vodního a půdního prostředí patří především nesteroidní protizánětlivá léčiva (NSAID) využívána v humánní i veterinární medicíně. Jejich celosvětová dostupnost a nedostatečné schopnosti jejich eliminace vedou k jejich všude přítomnosti (Siemieniuk et al. 2021). Jedná se především ibuprofen (IBU), naproxen (NPX), kyselinu acetylsalicylovou, (ASA), paracetamo (PCM) ketoprofen a v této práci sledovaný diklofenak (DCF) (Parolini 2020).

Diklofenak ($C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$, kyselina 2-[(2,6-dichlorfenyl) amino] fenyloctová) je derivát kyseliny fenyl octové ($C_6H_5CH_2COOH$) využívaný pro mnoho účelů, např. sražení horečky, snížení výskytu zánětů a bolesti spojených s artritidou a osteoartritidou (Todd & Sorkin 1988). Jedná se o bílý nebo slabě nažloutlý krystalický prášek, který je mírně rozpustný ve vodě. Je využíván pro své analgetické, antipyretické a protizánětlivé účinky. Působí inhibicí cyklooxygenáz což vede ke snížení tvorby produkce protizánětlivých

prostaglandinů, prostacyklinů a dalších látek ve veterinární i humánní medicíně (Livertox 2017).

Ve Spojených státech je vydáván na předpis, zatím co v Evropě se jedná o volně prodejné léčivo, které lze sehnat pod názvy jako Voltaren, Duravoltaren, Dcu, Difen, Diklotab, Novo-difenac, Acoflam, Almiral, Algosenac, Monoflam, Effekton a další (Livertox 2017; Parolini 2020), a to ve formě gelu nebo tablet. Tato dostupnost z něj dělá jedno z nejvíce používaných léčiv ze skupiny NSAID (Livertox 2017). Davies a Anderson uvedli, že v lidském těle se 65-70 % dávky vyloučí močí a 30-35 % stolicí v nezměněné podobě nebo ve formě konjugátů, kdy jeho přibližná rozpustnost ve vodě je 2,37 mg/l. Jeho opětovná dostupnost byla v ČOV detekována v jednotkách $\mu\text{g/L}$ (Vieno & Sillanpää 2014). Dle některých studií se naměřené hodnoty pohybují v rozmezí 0,44-7,1 $\mu\text{g/l}$. Kromě ČOV je jeho výskyt nejvyšší ve vodách z nemocnic a odpadech od farmaceutických výrobců. Byla předložena žádost o zařazení DCF na seznam prioritních látek při revizi rámcové směrnice o vodě (2000/60/EC). Byl však zařazen ve směrnici 2013/39/EU pouze do skupiny látek sledovaných. Při tomto začlenění mu byla přidělena norma environmentální kvality (NEK) 100 ng/l pro vody vnitrozemské a 10 ng/l pro vody pobřežní. Za pomoci konvenčního čištění se odstraní přibližně 30-70 % DCF. Díky obsahu atomu chloru ve struktuře DCF je špatně biologicky odbouratelný a do prostředí se dostává zpět převážně v nezměněné podobě (Haiba et al. 2017). Tam může reagovat s jinými látkami nebo prvky a vytvořit jiný kontaminant s vyšší toxicitou pro rostliny i živočichy (Lonappan et al. 2016). Chemická struktura DCF je znázorněna na obrázku č. 10.



Obrázek č. 10 – Chemická struktura diklofenaku (Stabilis 2024).

3.5 Stres rostlin

Rostliny se během svého životního cyklu setkávají s různými situacemi a podmínkami v prostředí, které mohou mít různý vliv na jejich růst a produkci. Tyto podmínky mohou pro některé druhy působit příznivě, zatímco jiné naopak mohou reagovat na tyto podněty stresovými reakcemi. Tato problematika je klíčová pro porozumění adaptabilním mechanismům rostlin a jejich schopnosti přežít a prosperovat v různých podmínkách (Lichtenthaler 1996).

Pojem stres definoval v roce 1936 kanadský endokrinolog Hans Selye (Selye 1936). Následně se začal využívat i pro pojmenování nepříznivých stavů u rostlin (Lichtenthaler 1996). Můžeme ho chápat jako stav, který rostlině neumožňuje správný chod životních funkcí, udržování homeostázy a zároveň může způsobit její deformaci či úmrtí. Levitt (1980) pak definoval stres u rostlin jako „Jakýkoli faktor prostředí potenciálně nepříznivý pro živé organismy.“

Stres rostlin lze rozdělit do několika kategorií. První z nich je dělení podle typů působícího stresu na biotické a abiotické (Mahajan & Tujeta 2005). Abiotické pak můžeme dále dělit na chemické a fyzikální, nebo na přirozené a antropogenní (Lichtenthaler 1998). Tyto faktory ovlivňující kvalitu plodin a řadíme sem například i vliv teploty, nedostatek a nadbytek vody, mechanickou zátěž, nadměrné záření atd. (Jellouli et al. 2008).

Biotické faktory mohou vážně zasáhnout do vývoje rostliny. Patří mezi ně živočišní škůdci, patogenní organismy, jako jsou houby, viry a mikrobi, nebo sem patří vzájemné nepříznivé ovlivňování rostlin (Bhoi et al. 2022). Kranner et al. (2010) popsal rozdělení dle typu působícího stresu a rozděлил jej na eustres a distres. Stejně jako u člověka má eustres pro rostlinu stimulující účinek a může zvyšovat fyziologickou aktivitu rostlin, zatímco distres sebou nese poškození pro rostlinu a má na ni silně negativní účinek (Lichtenthaler 1996). Je zde velmi důležitá rovnováha mezi citlivostí a tolerancí rostlin, které ovlivňuje účinek stresoru. Dle délky působení stresu ho můžeme rozdělit na krátkodobý a dlouhodobý. S krátkodobými stresory se rostlina dokáže vyrovnat v rezistenční fázi, kdy dochází k posílení rostliny obrannými mechanismy. Následkem působení dlouhodobého stresu se rostlina může dostat do fáze vyčerpání a následně uvadnout. Je však nutno brát v potaz, že každá látka se pro rostlinu se může stát jedem při velikosti dávky a expozici v čase (Kranner et al. 2010; Lichtenthaler 1996; Mosa et al. 2017).

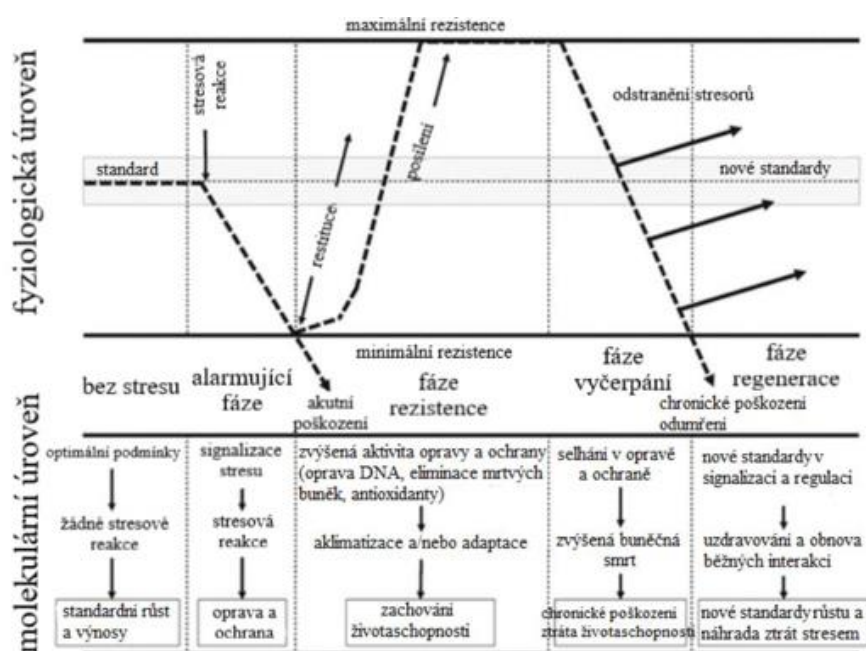
3.5.1 Stresové reakce rostlin

U rostlin vystavených stresovým podmínkám se objevuje GAS syndrom neboli general alarm syndrom (Selye 1998). Jedná se o dynamický proces, který je tvořen třemi fázemi a Lichtenthaler (1996) ho rozšířil o čtvrtou fázi (Obrázek č. 11). Jedná se o:

1. Fáze **poplachová** (počáteční) nastává ihned po styku rostliny se stresorem, který způsobí rostlině šok. Začíná docházet k odchylkám chování rostliny od její funkční normy, poklesu vitality, narušení buněčných struktur a katabolické procesy začínají

převyšovat nad anabolickými. Tento proces trvá pár sekund. V případě, že je počáteční stres silný může dojít k vyčerpání organismu a úmrtí.

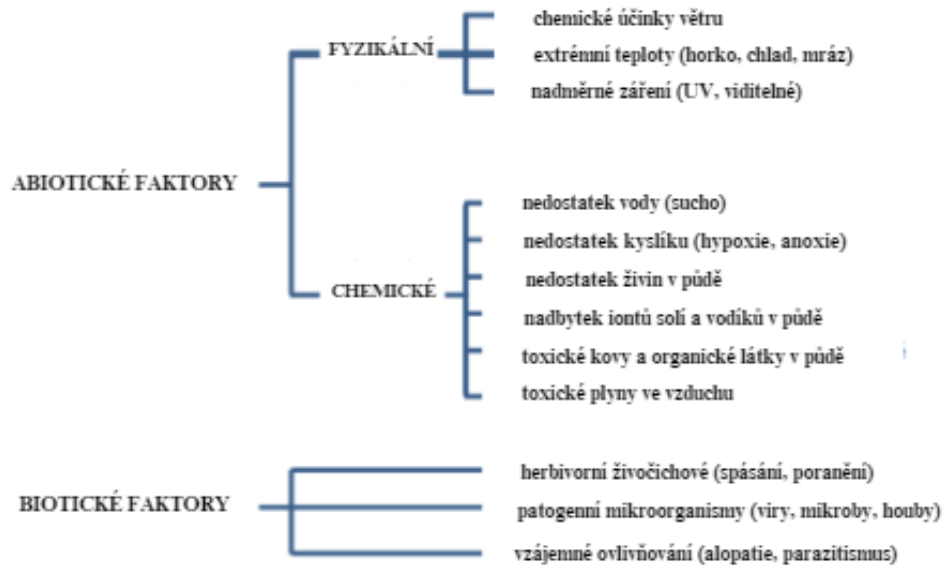
2. **K fázi resistance** (aklimatizace) dochází při expozici rostliny stresoru a začínají se spouštět obranné mechanismy (Mosa et al. 2017). Tato fáze trvá několik dní a během působení stresu dochází k nastolení nové homeostázy, což vede ke zvýšení tolerance vůči stresoru. Nově vytvořenou homeostázu si rostlina snaží udržet, aby došlo k zotavení organismu. K tomu přispívají skupiny enzymů a proteinů, které se snaží o eliminaci poškození.
3. **Fáze vyčerpání organismu** nastává v případě, že stres působí delší dobu a rostlina se není schopna nově vytvořenou homeostázu udržet. To vede k vyčerpání adaptačních schopností, a následně může dojít k chronickému poškození nebo uhynutí. Tato fáze může trvat různě dlouho, záleží na velikosti dávky působící na organismus.
4. **Regenerační fáze** nastává v případě, že je stres omezen nebo odstraněn z rostliny před jejím uhynutím. V této fázi dochází k obnovení životních funkcí a buněčné homeostázy za původních nestresových podmínek (Kosová et al. 2011; Mosa et al. 2017).



Obrázek č. 11 – Fáze rostlinného stresu na fyziologické i molekulární úrovni (přeloženo dle Mosa et al. 2017).

3.5.2 Stresové faktory

Jak bylo zmíněno, dle druhu působícího stresu dělíme stresory na biotické a abiotické. Procházka et al. (1998) je rozdělil následovně (Obrázek č. 12):



Obrázek č. 12 – Rozdělení stresových faktorů (Procházka 1998).

3.5.3 Biotický stres

Biotický stres je způsoben živými organismy jako jsou patogeny (bakterie, houby, viry, hlístice atd.) a býložravými škůdci, zahrnuje také interakce mezi různými druhy rostlin (Atkinson & Urwin 2012; Bhoi et al. 2022). Jejich přítomnost vede k významným ztrátám před sklizní i po sklizni (Gull et al. 2019). Výskyt a šíření jsou z velké části ovlivněny klimatickými změnami. Pokud tyto organismy napadnou rostlinu během nebo po abiotickém stresu, mohou způsobit výrazně větší škody. Abiotické stresory totiž oslabují obranné mechanismy rostlin, čímž zvyšují jejich náchylnost k infekci (Atkinson & Urwin 2012; Madgwick et al. 2011; Mittler & Blumwald 2010). Tito činitelé jsou spojeni s přibližně 50 tis. rostlinnými chorobami, které se mohou projevit různými způsoby, jako jsou padlí, hniloby, nekrózy, skvrny apod. (Čelík et al. 2020).

3.5.4 Abiotický stres

Působením abiotického stresu na rostliny je myšleno působení neživých faktorů, které se v prostředí nevyskytují samostatně. Většinou se jedná o působení dvou nebo více faktorů souběžně, které se navzájem v účinku synergicky podporují. Jedná se o jednu z hlavních příčin neúrody plodin po celém světě, kdy dochází ke snížení výnosů až o polovinu a ohrožují tak chod zemědělského průmyslu (Gruissem et al. 2000). Jedná se o teplotu, zasolení, sluneční záření, vodní režim (sucho, záplavy), chemický stres (těžké kovy, pesticidy, toxiny apod.) a mechanický stres (vítr, submergence). Reakce rostlin na stres závisí na pletivu nebo orgánu, který byl poškozen. Reakce může být dynamická nebo komplexní.

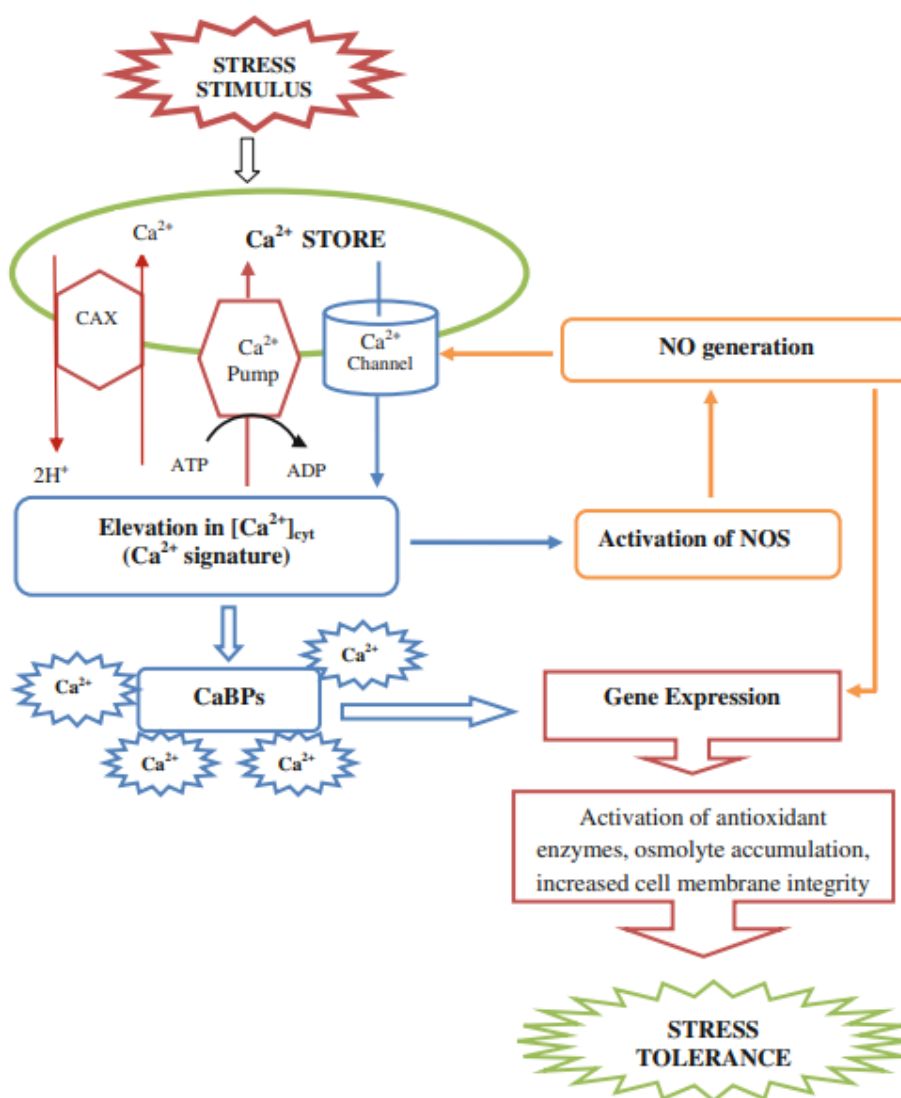
Aby se rostliny se stresem dokázaly vypořádat, vyvinuly se u nich obranné mechanismy, které jim s tolerováním pomáhají. Mezi základní signální molekuly podílející se na zvládnutí stresu patří abscisová kyselina (ABA), salicylová kyselina (SA), vápník, polyaminy a jasmonáty. Jednou z první reakcí metabolických reakcí je inhibice syntézy proteinů a jejich zpracování, postupně pak dochází ke komplexním změnám metabolismu. Po molekulární stránce zahrnuje první ze signálů u mnoha abiotických faktorů reaktivní formy kyslíku (ROS) a reaktivní formy dusíku (RSN), které tvoří koordinovanou síť regulující geny a modifikující aktivitu enzymů. ROS se v mírných koncentracích nachází v rostlinách již během vývoje, abiotický stres pouze zvětšuje jejich produkci, která může mít za následek smrt. Během působení abiotického stresu je produkovány mitochondrie, chloroplasty, peroxizómy a apoplast. Jejich akumulace přímo ovlivňuje proteiny, změny metabolických toků, transkripci a hladinu a funkci různých rostlinných hormonů jako je ABA, auxin, brassinosteroidy (BR) či gibereliny (GA) (Choudhary et al. 2021).

Mezi významné fytohormony při procesu regulace stresu patří výše zmíněná kyselina abscisová (ABA) a ethylen. ABA je regulátor reakcí na environmentální stesy, především osmotické. Reguluje uzavírání stomat, změnu genové exprese a akumulaci osmoprotektantů (Danquah et al. 2014). Její signalizace je velmi rychlá a nemusí zahrnovat transkripční aktivitu. Signalizace ABA zahrnuje tři složky, a to receptory (PYR/PYL/RCAR), proteinové fosfatázy (PP2C) a proteinové kinázy (SNRK2/OST1). Ethylen se zase uplatňuje u stresových reakcích jako je sucho, záplavy, teplo, chlad, zranění a UV-B záření. Interakce ethylenu a ABA jsou například během sucha, dozrávání plodů a dormance pupenů. Jedním z výsledků společné interakce může být např. inhibice syntézy proteinů (Choudhury et al. 2017; Cramer et al. 2011).

Některé ze stresů přímo nebo nepřímo ovlivňují syntézu, metabolismus, transport a skladování cukrů. Rozpustné cukry jsou potencionální signální molekuly reagující se světlem a dusíkem. Interakce rozpustných cukrů s ethylenem, ABA a cytokininy reguluje růst a vývoj rostliny (Cramer et al. 2011).

Dalším typem signalizace je pomocí iontů Ca^{2+} . Jeho signální dráha se skládá ze tří kroků: generování změn, jejich rozpoznání a transdukce. V klidovém stavu se obsah vápníku v cytoplazmě pohybuje okolo 200 nM a většina je uložena ve vakuolách, endoplazmatickém retikulu a buněčné stěně. Při vnějším podnětu dochází k uvolnění ze zásobních organel do cytoplazmy (Dodd et al. 2010). Tyto změny jsou specifické pro daný podnět a opakují se s různou frekvencí v závislosti na intenzitě podnětu. Transport Ca^{2+} do buněk a organel je

pomocí specifických pump a kanálků. Změny koncentrace jsou snímány Ca^{2+} senzory jako jsou kalmuduliny (CaM), proteinkinázy (CDPK) nebo anexiny, sloužící k dekodování. Do tolerance rostlin proti stresu se zapojuje také oxid dusný (NO), který se může účastnit s vápníkem v přenosových dráhách. Jedná se o signální molekulu podílející se na přenosu signálů při působení sucha, zasolení, působení těžkých kovů, chladu nebo UV-B. Rovněž se předpokládá, že hraje důležitou roli v regulaci homeostázy Ca^{2+} v rostlinných buňkách viz obrázek č. 13 (Khan et al. 2014; Yang et al. 2010).



Obrázek č. 13: Zjednodušené znázornění dráhy vápníku a oxidu dusného při toleranci vůči stresu (Khan 2014).

Při zaznamenání stresového podnětu dochází k uvolnění Ca^{2+} ze zásob do cytosolu pomocí kanálků, což vede ke zvýšení koncentrace cytosolového Ca^{2+} . To je nezbytné pro aktivaci proteinů iniciujících změny genové exprese a produkci NO. Tyto změny vedou ke zvýšení stresové tolerance rostlin. Doplnění Ca^{2+} a návrat ke klidovým hladinám je možný pomocí Ca^{2+} pumpy využívající ATP nebo využitím jiných transportérů pro kationty (Khan 2014).

3.5.4.1 Sucho

Sucho patří k nejvýznamnějším abiotickým faktorům po celém světě, který omezuje růst a vývoj rostlin a tím jejich produktivitu. Často je spojeno s vysokými teplotami a intenzivním slunečním zářením, což vede k úbytku vody v půdě. Při nedostatku vody rostlina zvyšuje příjem vody z půdy a snižuje její odpaření z listů. Dlouhodobé vystavení suchu pak vede k trvalé ztrátě vody v rostlině, což má za následek dehydrataci buněk a poškození buněčných membrán (Farooq et al. 2009; Seleiman et al. 2021). Ochrana buněk je zajištěna pomocí osmoticky aktivních látek, zejména polysacharidů jako je manitol, sorbitol, fruktany, trehalóza, které nahrazují vázané molekuly vody v makromolekulách a na povrchu membrán (Darko et al. 2019; Sajid & Aftab 2022). Podobnou funkci jako osmoticky aktivní látky mají dehydriny – proteiny o nízké molekulové hmotnosti, které indukuje kyselina abscisová (ABA) na úrovni mRNA. Geny regulující vodní deficit tak mohou být rozděleny do tří skupin dle jejich citlivosti k ABA:

1. Neresponzivní **k ABA**, kdy exprese genů je regulována vodním deficitem, nikoliv dodáním kys. abscisové do nadzemních částí.
2. **Responzivní k ABA**, kdy exprese genů je indukována vodním deficitem nebo aplikací kys. abscisové.
3. Geny, které ke své expresi **vyžadují ABA** (Soma et al. 2021; Stevenson et al. 2016).

Kyselina abscisová je klíčový stresový fytohormon aktivující se při vystavení rostlin suchu, chladu a zasolení. Je syntetizována v kořenech a listech a zajišťuje komunikaci mezi kořeny a nadzemními částmi rostliny. Mezi její hlavní účinky patří: činnost průduchů rostlin, zvyšování hydraulické vodivosti v kořenech, stimulace osmoticky aktivních látek, zpomalení snižování obsahu pigmentů a aktivit fotosyntetických enzymů (Pospíšilová et al. 2008; Chaves et al. 2003).

3.5.4.2 Teplota

Podle Miura & Furumoto (2013) je poškození rostlin chladem nejčastějším abiotickým faktorem. Toto poškození lze rozdělit na chlad (0-15 °C) a mráz (<0 °C). Rostliny v mírném pásmu vykazují vyšší toleranci vůči chladu nebo ji mohou zvýšit prostřednictvím procesu nazývaného chladová aklimatizace. Tento proces zahrnuje ochranu buněčných membrán, posílení antioxidačních mechanismů, zvýšení hladiny cukrů a akumulaci polyaminů, které chrání intracelulární proteiny (Mahajan & Tuteja 2005). Naopak rostliny v tropickém a subtropickém pásmu postrádají chladovou aklimatizaci a jsou náchylnější k poškození chladem. Signální dráhy rostlin reagují na chlad různě a nemusí se všechny aktivovat současně. Například může dojít k fyzikálním změnám membrán, jako je ztráta tekutosti, což vede ke změně textury na semikrystalickou. Důležitou roli hraje vápník, který způsobuje přechodné zvýšení hladiny Ca^{2+} v cytosolu, což vede k regulaci exprese genů COR, a to je první krok v obraně rostliny proti chladu (Mahajan & Tujeta 2005; Miura & Furumoto 2013). V reakci na stres způsobený chladem začne rostlina zvyšovat produkci ochranných sloučenin, jako jsou rozpustné cukry (sacharóza), nízkomolekulární dusíkaté sloučeniny (prolin) nebo alkoholy

(sorbitol). Dochází také ke zvýšení produkce polyfenolů, které se ukládají do buněčných stěn jako součást suberinu, což pomáhá rostlině zvýšit odolnost vůči chladu a mrazu (Griffith & Yaish 2004; Mahajan & Tujeta 2005; Miura & Furumoto 2013).

Na druhé straně se rostliny potýkají i s vysokými teplotami. S rostoucím obsahem skleníkových plynů v atmosféře a transformací krajiny dochází k nepředvídatelným změnám v klimatu, což negativně ovlivňuje produkci a růst rostlin. Dochází zejména k poškození reprodukčních orgánů během jejich vývoje, snížení a deformaci kvetoucích větví a květů. Například u rajčat, luštěnin a bavlny může dojít k poškození plodů, zejména u teplot vyšších než 30 °C (Sage et al. 2015). Na obraných mechanismech se podílí stejné hormony jako u chladu. Zejména ABA, SA a auxiny. Během vysokých teplot potřebuje rostlina dostatečné množství ATP pro tvorbu zásob, které chrání před škodlivými účinky ROS, jež jsou hlavním důsledkem vysokých teplot. Důležitou roli hraje také antioxidační kapacita rostlin, která zahrnuje enzymatické reakce a biosyntézu nízkomolekulárních metabolitů, jako jsou askorbát, α -tokoferol, karotenoidy, flavonoidy a prolin (Feller & Vaseva 2014; Gill & Tuteja 2010).

3.5.4.3 Světlo

Lidská aktivita způsobuje také znečištění ovzduší, což vede ke zvýšení expozice zemského povrchu UV-B záření, například díky poškození celistvosti ozonové vrstvy (de Gruijl & van der Leun 2000). UV-B, krátkovlnné ultrafialové světlo s vlnovou délkou mezi 280–320 nm, působí na buněčný metabolismus rostlin několika způsoby, včetně tvorby DNA dimerů, poškození membránové struktury, inaktivace enzymů a produkce reaktivních radikálů, což má za následek poškození fotosyntetických procesů. Rostliny vyvinuly různé ochranné mechanismy, přičemž primární ochranu zajišťují fenolické sloučeniny, jako jsou flavonoidy, hydroxyskořicová kyselina a anthokyaniny, které pohlcují UV-B záření v epidermis listů (Sharma et al. 1998). Tyto metabolity vychytávají volné radikály a přenáší je jako elektrony. Rostliny také disponují antioxidačním systémem, zahrnujícím kyselinu askorbovou, tokoferoly, karotenoidy a enzymy, které chrání rostliny před oxidačním stresem (Costa et al. 2002; Piri et al. 2011). Klíčovou roli v tomto systému hraje kyselina askorbová, která neutralizuje peroxid vodíku (H_2O_2), který je metabolizován světlem na hydroxylový radikál, škodlivý pro buněčné struktury, jako je DNA (Costa et al. 2002; Piri et al. 2011).

3.5.4.4 Zasolení

Jedná se o druh abiotického stresu, kdy se v půdě všeobecně vyskytuje přebytek minerálů, jako Na^+ nebo Cl^- a další (Munns 2005). Salinita půdy je tradičním jevem, avšak její zhoršení je často spojeno s moderními zemědělskými metodami a aplikací hnojiv. Rozlišujeme mezi přirozenou (primární) a antropogenně vyvolanou (sekundární) slaností. Primární slanost je důsledkem akumulace solí vlivem přirozených procesů, jako je zvětrávání hornin obsahujících rozpustné soli – chlorid sodíku, uhličitany vápníku a hořčíku. Dalším příkladem může být usazování oceánských solí, které jsou přenášeny větrem. Sekundární salinita je způsobena narušením rovnováhy mezi srážkovou (dešťovou) vodou a vodou dostupnou rostlinám, často v důsledku zemědělských praktik jako je orba nebo intenzivní pěstování jednoletých plodin či zavlažování solí nasycenou vodou (Greenway & Munns 1980; Munns

2005; Stavi et al. 2021). Přítomnost soli v půdě omezuje schopnost rostlin přijímat vodu (osmotický deficit). Nadměrný příjem soli při transpiračním toku může poškodit buňky v listech. Tento efekt vede ke třem hlavním účinkům: snížení vodního potenciálu, poruchám iontové homeostázy a toxicity, což má za následek nedostatek základních minerálních iontů a omezení růstu a produktivity rostlin. Rostliny pod vlivem slanosti projevují snížené klíčení, růst, fotosyntézu, výnos apod. (Greenway & Munns 1980; Okon 2019; Parihar et al. 2015). Kořeny přijímají nadbytečný Na^+ a Cl^- , což může vést k jejich nadměrné akumulaci v cytosolu a snížení apoplastického vodního potenciálu. Pro většinu rostlin je Na^+ mnohem toxičtější než Cl^- . Po přijetí Na^+ kořeny je transportován xylémem do vyšších částí rostliny, ale recirkulace zpět do kořenů je omezená, a tak dochází k jeho akumulaci v listech (Okon 2019). Kromě přímého vlivu solí na rostlinu dochází k nadměrné akumulaci reaktivních forem kyslíku (ROS), které vedou opět k poškození DNA, oxidaci proteinů, peroxidaci lipidů, nebo mohou začít reagovat s jinými důležitými látkami. Rostliny reagují na stres způsobený solí uzavřením průduchů, což způsobuje snížení dostupnosti CO_2 pro fotosyntézu a inhibici fixace uhlíku, čímž dochází ke zvýšené tvorbě ROS, jako je superoxid (O_2^-), peroxid vodíku (H_2O_2) nebo hydroxylový radikál (OH^\cdot). Mezi hlavní ionty signalizující solný stres patří Na^+ , K^+ , H^+ a Ca^+ (Ahmad & Sharma 2008; Greenway & Munns 1980; Parihar et al. 2015)

3.5.4.5 Hypoxie

Dostupnost kyslíku je nezbytným předpokladem pro život většiny živých organismů. (Vartapetian et al. 2014). U rostlin je při nedostatečném zásobování kyslíkem (hypoxie) narušena většina buněčných funkcí, což může v krajním případě, vést k smrti rostliny (Loreti et al. 2016). Hypoxie může nastat v důsledku nadměrných srážek a zamokření půdy, což může omezit růst rostlin, které tento stav vnímají a spouští adaptivní reakce (Loreti & Perata 2020). V případě hydroponie může tento stres nastat v momentě, kdy se dostupnost kyslíku snižuje v důsledku nedostatečné intenzity zavlažování kořenového systému a nedostatečného provzdušnění proudícího média (Kęska et al. 2021).

V půdě může hypoxie omezit kapacitu dýchání, příjem minerálů a pohyb vody v kořenech (Dorais & Pepin 2011). Během růstu pak primární kořeny akcelerují růst do stran, čímž v ideálním případě unikají z půdních oblastí se sníženou dostupností kyslíku. Hypoxie může ovlivňovat fotosyntézu a související procesy, přičemž chronický nedostatek O_2 snižuje expanzi listů u C_3 i C_4 rostlin. (Loreti & Perata, 2020). Aby rostliny přežily nedostatek kyslíku, vyvinuly si řadu morfologických a anatomických adaptací (Zahra et al. 2021).

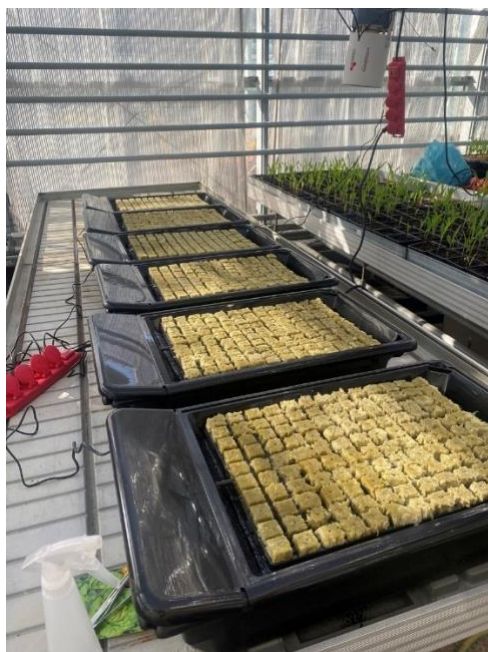
Samostatnou kapitolou jsou rostliny rezistentní k hypoxii, jako je například rýže setá (*Oryza sativa* L.), která si vyvinula alternativní mechanismy příjmu kyslíku (Adak et al. 2023). Absolutní stav nedostatku kyslíku se pak nazývá anoxie (Gibbs et Greenway 2003).

4 Metodika

4.1 Založení pokusu

Experiment byl založen 1. března 2023 v pokusném skleníku KBFR, FAPPZ za částečně kontrolovaných podmínek: denní teplota 25 °C, noční teplota 18 °C, světelný režim 14 hodin a 10 hodin tma, relativní vlhkost skleníku se pohybovala v rozmezí 65–85 %. Pokusné odrůdy lociky seté (*Lactuca sativa* L.) 'Král Máje' (KM) a 'Jupiter' (JP) byly pěstovány v hydroponickém systému. Pokus byl proveden v šesti pokusných vanách (tři vany pro každou odrůdu), s objemem vany 15 l. Jako živné médium byl použit živný roztok Hoagland (Hoagland & Aron 1938). Rostliny byly pěstovány v kostičkách minerální vlny Rockwool. V každé vaně bylo umístěno 130 kostiček a do každé bylo vloženo jedno semínko. Semena salátu byla nejprve klíčena čtyři dny v deionizované vodě a po dalších čtyřech dnech byl do systému aplikován živný roztok.

Pokus se skládal ze čtyř experimentálních variant – jedné varianty kontrolní a tří variant s různými koncentracemi diklofenaku pro obě odrůdy. U kontrolní varianty (K) byl použit samotný živný roztok Hoagland II (Hoagland & Snyder, 1950). Aplikace diklofenaku (čistota ≥ 98 %; Sigma-Aldrich Německo) byla provedena ve fázi třetího pravého listu v koncentraci V1 (10 mg/l) a V2 (100 mg/l). Po celou dobu experimentu byla do van doplňována destilovaná voda, aby byla dodržena stabilní hodnota 15 l s tolerancí výkyvu 0,15 l. Byla provedena celkem čtyři měření. První měření bylo před aplikací léčiva a tři měření již po aplikaci: 24 h (2. měření), 72 h (3. měření), 168 h (4. měření) od zahájení pokusu.



Obrázek č. 14: Založení pokusu 1. března 2023 a konec pokusu 17. května (Foto: autorka 2023).

4.2 Pokusný materiál

Pro pokus byly zvoleny odrůdy 'Král Máje' a 'Jupiter' od firmy Donapo.

Král Máje – je tradiční odrůdou jarního salátu se střední odolností vůči vybíhání. Má středně velkou, optimálně uzavřenou hlávkou s typicky zeleným listem. Jedním z poznávacích znaků je červenání okrajů vrcholových listů při nižších teplotách. Po vysetí dobře reaguje na pokrytí netkanou textilií. Vysazuje se buď v únoru až březnu do hloubky 0,4 cm do sadbovače a následně v dubnu lze sazeničky přesadit do záhonu, nebo se od konce března až do konce května seje přímo do záhonu. Sklízí se v květnu a červnu.

Jupiter – Je letní salát s velmi dobrým zdravotním stavem, a je odolný např. vůči plísni salátové nebo virové mozaice salátu. Hlávky jsou velké, jemné a dobře uzavřené. Má příjemnou chuť a je rovněž odolný vůči vybíhání. Sází se od dubna do června do hloubky 1 cm přímo na záhon. Sklízí se od července do září (Donapo 2020).

4.3 Použité metody

4.3.1 Stanovení malondialdehydu

Stanovení obsahu malondialdehydu (MDA) bylo provedeno dle metodiky Du & Bramlage (1992). Pro analýzu bylo 0,5 g listu rozdrobeno v tekutém dusíku na jemný prášek, který byl následně rozetřen v 80% ethanolu. Extrakt byl získán separací přes filtrační papír (0,45 μm), a stejné objemové díly byly smíchány s roztokem 2-thiobarbiturové kyseliny v kyselině trichloroctové. Výsledná směs byla zahřívána ve vodní lázni při 95 °C po dobu 25 minut. Po vychladnutí byly vzorky odstředěny při 11000 rpm jednu minutu a supernatant byl proměřen na spektrofotometru proti slepému vzorku (H_2O). Obsah MDA v listech salátu byl vypočten z absorbancí při vlnových délkách 440 nm, 523 nm a 660 nm a vyjádřen v nmol/g čerstvé váhy.

4.3.2 Stanovení celkových flavonoidů

Stanovení obsahu celkových flavonoidů (TFC) bylo provedeno spektrofotometrickou metodou podle Tsanova-Savona et al. (2018). Do zkumavky byl odpipetován extrakt z předchozího stanovení MDA, ke kterému byla přidána destilovaná voda a 5% NaNO_2 . Vzorek byl poté inkubován 5 minut při laboratorní teplotě. Následně byl přidán 10% AlCl_3 a 1M NaOH . Vzorky byly následně proměřeny při vlnové délce 415 nm oproti slepému vzorku (H_2O). Celkový obsah flavonoidů byl vyjádřen v ekvivalentu kvercetinů (QE) v mg/g čerstvé hmotnosti.

4.3.3 Stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita byla stanovena spektrofotometrickou metodou dle Prieto et al. (1999). Tato metoda je založena na redukci molybdenu z oxidačního stavu Mo^{VI} na Mo^{V} v analytu vzorku. Do zkumavky bylo napipetováno 10 μl extraktu, 90 μl ultračisté vody a 1 ml činidla pro stanovení antioxidační kapacity, připraveného z fosforečnanu sodného a heptamolybdenanu amonného za přítomnosti kyseliny sírové. Směs byla důkladně promíchána a po dobu 1,5 hodiny zahřívána ve vodní lázni při 95 °C. Po vychladnutí byly vzorky proměřeny při vlnové délce 695 nm oproti kontrolnímu vzorku (H_2O). Antioxidační aktivita byla vypočtena jako ekvivalent kyseliny askorbové (AAE) v mg/g čerstvé hmotnosti.

4.3.4 Stanovení celkových fenolických kyselin

Stanovení celkových fenolických kyselin (PAC) bylo provedeno pomocí upravené metody z Českého lékopisu z roku 2017. Ve zkumavce byl postupně smíchán extrakt vzorku s destilovanou vodou, 200 μl 0,5 M HCl, 400 μl Arnovova činidla a 400 μl 1M NaOH na výsledný objem 2 ml. Po promíchání směsi byly vzorky proměřeny při vlnové délce 490 nm oproti slepému vzorku. Výsledky byly vyjádřeny v ekvivalentu kávové kyseliny (CAE) v mg/g čerstvé hmotnosti.

4.3.5 Stanovení celkových fenolů

Pro stanovení celkového obsahu fenolů (TPC) byla použita upravená metoda dle Singleton & Rossi (1965), kdy dochází k oxidaci fenolických látek v alkalickém prostředí. Do zkumavky bylo odpipetováno 25 μl extraktu, ke kterému bylo přidáno 750 ml 10 \times zředěného Folin-Ciocalteuova činidla. Směs se nechala inkubovat po dobu 6 minut, následně se přidalo 800 ml 7% Na_2CO_3 . Výsledný roztok byl doplněn na objem 2,5 ml destilovanou vodou a promíchán. Roztok se poté nechal 90 minut inkubovat ve tmě při laboratorní teplotě. Následně se proměřila absorbance vzorků při vlnové délce 760 nm. Celkový obsah fenolů byl vyjádřen v ekvivalentu gallové kyseliny (GAE) v mg/g čerstvé hmotnosti.

4.3.6 Statistické vyhodnocení

V případě prvního odběru byla použita one-way ANOVA, pro další odběry byla použita multifaktoriální ANOVA. Signifikantní rozdíly na při hladině významnosti $\alpha=0,05$ byly testovány za použití Tukey HSD post-hoc metody. Provedení těchto testů bylo provedeno po zamítnutí nulové hypotézy (Lepš & Šmilauer 2016). Veškeré kalkulace byly provedeny v programu Statistica 13.5 (Statsoft, Tulsa, USA).

5 Výsledky

V rámci diplomové práce bylo použito několik metod pro zjištění vlivu diklofenaku o koncentraci 10 mg/l (V1) a 100 mg/l (V2) v živném médiu hydroponicky pěstovaných odrůd 'Král Máje' (KM) a 'Jupiter' (JP). Pomocí stanovení malondialdehydu (MDA) bylo sledováno možné poškození mebrán a odpověď rostliny analýzou celkového obsahu vybraných skupin sekundárních metabolitů (flavonoidy – TFC, fenolické kyseliny – PAC, fenolické látky obecně – TPC) včetně celkové antioxidační kapacity založené na reakci fosfomolybdenanu (PAP).

5.1 Stanovení malondialdehydu

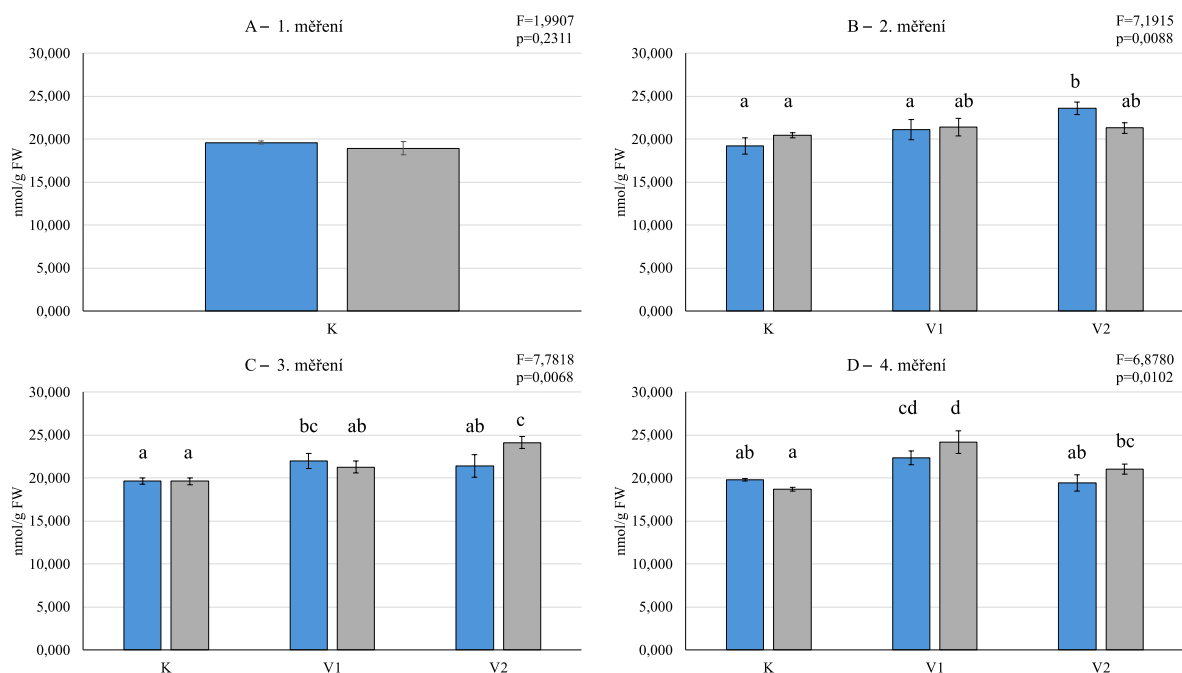
Graf č.1A ukazuje obsah malondialdehydu (MDA) v listech salátu před aplikací léčiva do živného roztoku. Z grafu je patrné, že mezi odrůdami není statisticky významný rozdíl v obsahu MDA v předaplikační fázi. Obsah u KM byl naměřen o něco vyšší (19,61 nmol/g) než u JP (18,95 nmol/g).

Na grafu č. 1B je znázorněno druhé měření, kdy byly vzorky odebrány 24 h po aplikaci diklofenaku. KM vykazoval u obou variant s koncentrací léčiva (V1 – 21,10 nmol/g, V2 – 23,62 nmol/g) nárůst obsahu MDA oproti kontrolní variantě (19,21 nmol/g). Nicméně byl prokázán statisticky významný rozdíl pouze u V2. U JP došlo stejně jako u KM k nárůstu u obou koncentrací (V1 – 21,42 nmol/g, V2 – 21,30 nmol/l) oproti kontrole (20,47 nmol/g). Ani u jedné z koncentrací však nebylo zvýšení množství této látky statisticky významné.

U grafu č. 1C jsou viditelné nárůsty oproti K (KM – 19,36 nmol/g, JP – 18,68 nmol/g) u obou odrůd, kdy vzorky byly odebrány 72 h po aplikaci léčiva do živného média. Vyšší obsah MDA byl viditelný u JP, konkrétně 21,29 nmol/g (V1) a 24,14 nmol/g (V2). Statisticky významný rozdíl byl však prokázán pouze u V2, zároveň se jednalo o nejvyšší naměřenou hodnotu MDA v tomto odběru. U KM byl naopak vyšší nárůst malondialdehydu u V1 (21,98 nmol/l), kde byl prokázán i statisticky významný rozdíl oproti kontrole.

Z hlediska výskytu statisticky významných rozdílů mezi variantami bylo ovlivněno čtvrté měření (Graf č. 1D), kde byly analyzovány vzorky odebrané po 168 h. U odrůdy JP došlo stejně jako u předchozích měření ke zvýšení obsahu MDA (V1 – 24,18 nmol/g, V2 – 21,02 nmol/g) ve srovnání s kontrolou (18,68 nmol/g). Tento nárůst byl u obou koncentrací dle provedené statistiky průkazný. Naopak u KM došlo k signifikantnímu nárůstu pouze u V1 (22,36 nmol/l), ale u V2 došlo k poklesu na 19,40 nmol/g oproti kontrole (19,81 nmol/g).

Z grafu č. 1 lze shrnout, že u kontrolních variant, nezávisle na odrůdě, nedošlo v průběhu celého měření k výrazným změnám obsahu MDA. U variant s přidaným léčivem v průběhu pokusu byl obsah malondialdehydu vyšší ve všech případech až na poslední měření, kdy u KM V2 byl pozorován mírný pokles oproti kontrole. Jediný statisticky významný rozdíl mezi odrůdami byl pozorován po 72 h v případě aplikace 100 mg/l DCF. V rámci porovnání odrůd se mezi sebou hodnoty MDA statisticky nelišily s výjimkou V2 u třetího měření.



Graf č. 1: Celkový obsah malondialdehydu (MDA) v závislosti na aplikované dávce DCF (V1: 10 mg/l; V2: 100 mg/l) u odrůdy 'Král Máje' (modrá) a 'Jupiter' (šedá). A–1. měření, B–2. měření, C–3. měření, D–4. měření. Sloupce se stejnými písmeny vyjadřují výsledky, kde nebyly statisticky průkazné rozdíly dle provedeného ANOVA testu při $p < 0,05$ s následujícím post-hoc testem. Hodnoty představují průměr 3 měření \pm SD.

5.2 Stanovení celkových flavonoidů

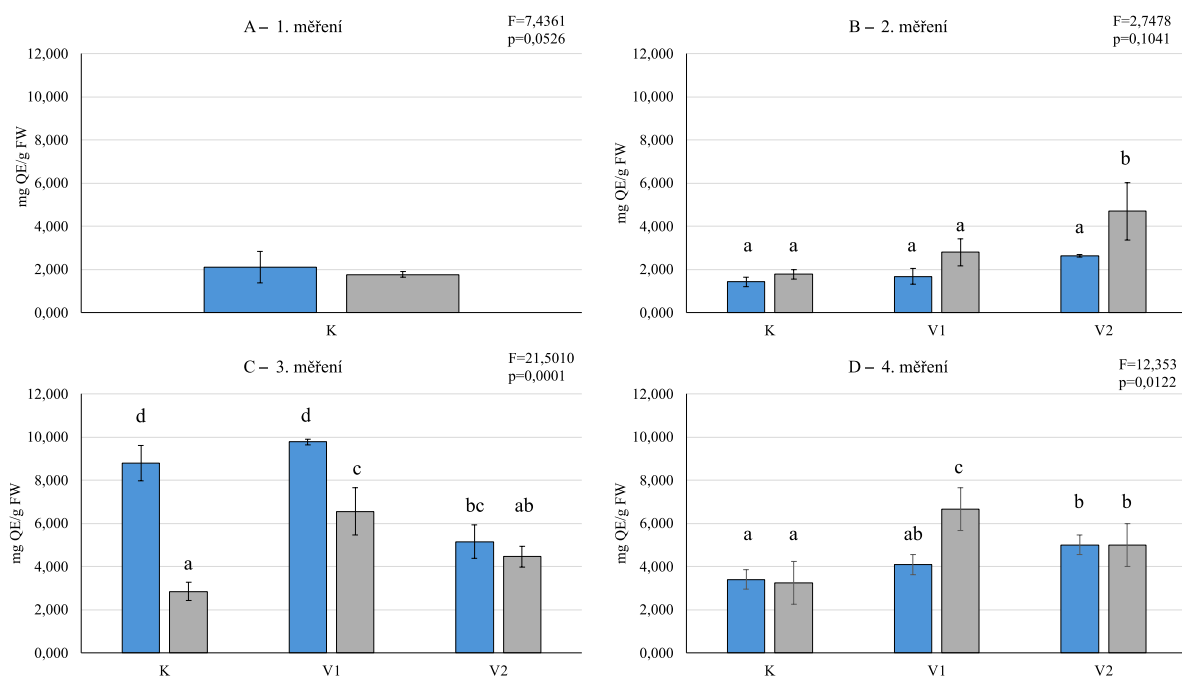
Graf č. 2A znázorňuje celkový obsah flavonoidů (TFC) u vzorků odebraných před aplikací DCF. Obě odrůdy měly podobné množství flavonoidů, nicméně vyšší hodnoty byly pozorovány u KM (2,11 mg QE/g FW), kdy rozdíl vůči JP (1,76 mg QE/g FW) ale nebyl dle provedené statistiky významný.

Při druhém odběru (Graf č. 2B), který se uskutečnil 24 h od aplikace léčiva, došlo u obou odrůd k nárůstu TFC se zvyšující se koncentrací DCF v roztoku. Vyšší hodnoty vykazovala odrůda JP, kde došlo oproti kontrole (1,78 mg QE/g FW) u V2 k průkaznému zvýšení TFC na 4,70 mg QE/g FW. Ani u jedné z variant KM statistika neukázala významný nárůst flavonoidů oproti kontrole, nicméně vyšší naměřená hodnota je vidět u V2 (2,65 mg QE/g FW). Při porovnání odrůd byl větší obsah naměřen u odrůdy 'Jupiter' signifikantně u V2.

Na grafu č. 2C je vidět měření se vzorky odebranými po 72 h. U KM došlo k rapidnímu nárůstu u kontrolní varianty (8,80 mg QE/g FW) a V1 (9,78 mg QE/g FW) oproti druhému měření. Statisticky významný rozdíl v obsahu flavonoidů byl pozorován mezi kontrolou a V2, kde byl ale TFC nižší. U JP došlo v případě kontroly také ke zvýšení koncentrace flavonoidů v listech oproti 2. měření, ale hodnoty byly nižší jak ve srovnání s KM, tak variantami s DCF. Nejvyšší naměřená hodnota v rámci JP byla u V1 (6,56 mg QE/g FW), která se signifikantně lišila jak od zbývajících variant (K, V2), tak KM rostoucí pod stejným ošetřením (10 mg/l).

Poslední měření (Graf č. 2D) ukázalo, že vzorky odebrané po 168 h vykazovaly postupné navýšení TFC s rostoucí koncentrací léčiva. Nejvyšší naměřená hodnota byla u JP – V1 (6,67 mg QE/g FW). Rozdíl v obsahu flavonoidů mezi kontrolou a touto variantou byl stejně jako u V2 ze statistického pohledu průkazný. Významný nárůst byl zjištěn i u KM, ale pouze v případě V2 (5,01 mg QE/g FW) oproti kontrole (3,40 mg QE/g FW). Vliv na odrůdy se v rámci měření projevil pouze u V1.

V rámci pozorování TFC (Graf č. 2) lze shrnout, že až na výkyv u 3. měření (KM – K a V1) byl vyšší nárůst obsahu flavonoidů oproti K zaznamenán u odrůdy 'Jupiter', zejména po 72 h od aplikace 10 mg/l DCF. Ani u jedné z odrůd nedošlo ve variantách s léčivem k poklesu hodnoty TPC pod kontrolní hodnotu a výraznější nárůst mezi jednotlivými odrůdami v rámci měření byl zaznamenán většinou u V1.



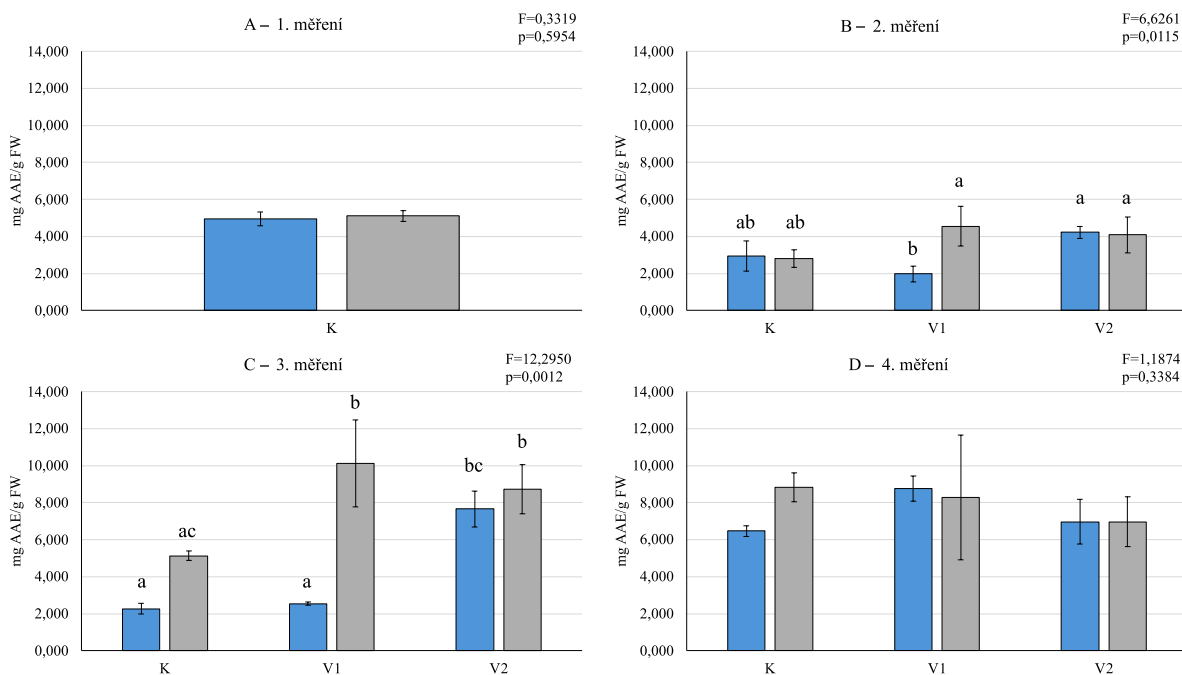
Graf č. 2: Celkový obsah flavonoidů (TFC) v závislosti na aplikované dávce DCF (V1: 10 mg/l; V2: 100 mg/l) u odrůdy 'Král Máje' (modrá) a 'Jupiter' (šedá). A–1. měření, B–2. měření, C–3. měření, D–4. měření. Sloupce se stejnými písmeny vyjadřují výsledky, kde nebyly statisticky průkazné rozdíly dle provedeného ANOVA testu při $p < 0,05$ s následujícím post-hoc testem. Hodnoty představují průměr 3 měření \pm SD.

5.3 Stanovení antioxidační aktivity

Hodnoty antioxidační aktivity (PAP) vyjádřené jako ekvivalent askorbové kyseliny (AAE) před aplikací diklofenaku jsou znázorněny na grafu č. 3A. U jednotlivých odrůd se od sebe hodnoty PAP výrazně nelišily, o něco vyšší byly u JP (JP – 5,10 mg AAE/g FW, KM – 4,95 mg AAE/g FW).

Na grafu č. 3B je znázorněno měření po 24 h od aplikace diklofenaku do roztoku. U odrůdy 'Jupiter' došlo působením obou koncentrací léčiva (V1 – 4,54 mg AAE/g FW, V2 – 4,09 mg AAE/g FW) ke zvýšení PAP oproti kontrolní variantě, u které byl oproti prvnímu měření pozorován určitý pokles. Ani u jedné z variant u této odrůdy nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi zjištěnými výsledky. U kontroly KM došlo po prvním měření k poklesu antioxidační aktivity stejně jako u JP. Signifikantní snížení obsahu pak bylo v tomto odběru zaznamenáno ale po aplikaci 10 mg/l DCF (1,97 mg AAE/g FW) při srovnání s V2, i s odrůdou JP v rámci této varianty.

Při třetím měření (Graf 3C) došlo u odrůdy KM k přímému nárůstu PAP s rostoucí koncentrací diklofenaku. U V2 došlo ke zvýšení hodnoty až na 7,66 mg AAE/g FW, kdy byl rozdíl oproti kontrole statisticky významný. Extrakt z listů JP měl signifikantně vyšší antioxidační aktivitu oproti kontrole (5,13 mg AAE/g FW) u V1 (10,13 mg AAE/g FW) i V2, ale diklofenakem ošetřené varianty se z hlediska statistiky vzájemně nelišily.



Graf č. 3: Celková antioxidační aktivita (PAP) v závislosti na aplikované dávce DCF (V1: 10 mg/l; V2: 100 mg/l) u odrůdy 'Král Máje' (modrá) a 'Jupiter' (šedá). A–1. měření, B–2. měření, C–3. měření, D–4. měření. Sloupce se stejnými písmeny vyjadřují výsledky, kde nebyly statisticky průkazné rozdíly dle provedeného ANOVA testu při $p < 0,05$ s následujícím post-hoc testem. Hodnoty představují průměr 3 měření \pm SD.

U čtvrtého měření (Graf č. 3D) bylo vidět, že u JP byla PAP oproti kontrole menší s rostoucím obsahem léčiva (V1 – 8,29 mg AAE/g FW, V2 – 7,50 mg AAE/g FW). Oproti tomu, u KM došlo k nárůstu PAP u obou variant po aplikaci DCF (V1 – 8,76 mg AAE/g FW, V2 – 6,97 mg AAE/g FW) oproti variantě kontrolní. V tomto odběru však nebyl z hlediska statistiky mezi hodnotami u jednotlivých variantam ani odrůd prokázán významný rozdíl.

Podle grafu č. 3 lze shrnout, že byla více ovlivněna odrůda 'Jupiter', kde byla vyšší antioxidační aktivita pozorována především u varianty s koncentrací diklofenaku 10 mg/l, zároveň tato hodnota byla nejvyšší průměrná hodnota byla už již zmiňované odrůdy i koncentrace při třetím měření (10,13 mg AAE/g FW). Významné rozdíly mezi odrůdami byly naměřeny u V1 při druhém a třetím měření.

5.4 Stanovení obsahu fenolických kyselin

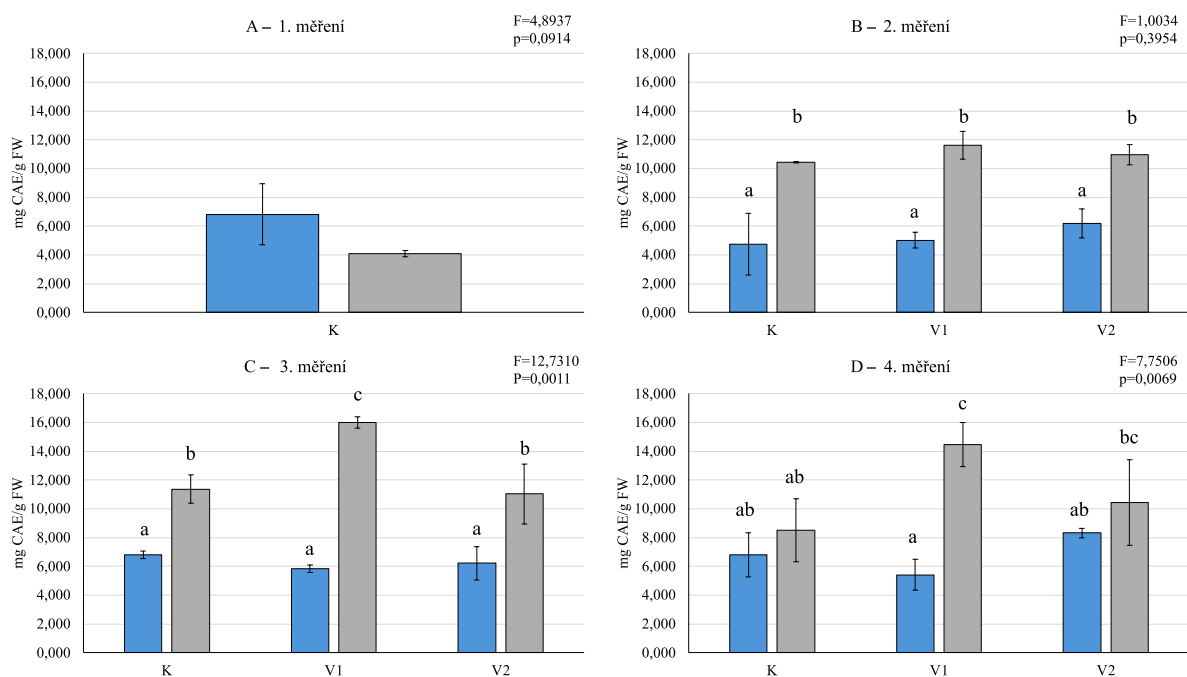
Graf č. 4A znázorňuje obsah fenolických kyselin (PAC) v listech lociky seté před aplikací diklofenaku. Odrůda 'Král Máje' měla PAC v tomto odběru vyšší (6,82 mg CAE/g FW) než 'Jupiter' (4,09 mg CAE/g FW), rozdíl ale nebyl statisticky významný.

Po 24 h (Graf č. 4B) měly varianty s koncentrací DCF vyšší obsah fenolických kyselin, oproti kontrole nebyly rozdíly v hodnotách ze statistického hlediska průkazné. Naopak u odrůdy 'Jupiter' došlo výraznému zvýšení obsahu oproti prvnímu měření u všech variant. Nejvyšší naměřená hodnota byla u V1 (11,61 mg CAE/g FW), ale mezi hodnotami opět nebyly významné rozdíly, pouze ve srovnání odrůd jako takových.

Na grafu č. 4C jsou vidět výsledky ze třetího měření, tedy po 72 h od aplikace diklofenaku. Z grafu je patrné, že více byla opět ovlivněna odrůda 'Jupiter', kde došlo k signifikantnímu nárůstu PAC u V1 (15,99 mg CAE/g FW) oproti kontrolní variantě (11,37 mg CAE/g FW) i V2 (11,04 mg CAE/g FW), mezi kterými významný rozdíl nebyl. KM naopak vykazoval u obou koncentrací neprůkazný pokles (V1 – 5,84 mg CAE/g FW, V2 – 6,22 mg CAE/g FW) ve srovnání s kontrolou (6,80 mg CAE/g FW).

Poslední měření, které proběhlo po 168 h, je znázorněno na grafu č. 4D. U listů KM došlo u V1 opět k neprůkaznému poklesu obsahu fenolických kyselin, a to na hodnotu 5,42 mg CAE/g FW. U V2 naopak došlo ke zvýšení na 8,32 mg CAE/g FW, ale tento nárůst také nebyl dle statistiky významný. U odrůdy JP došlo u obou variant s koncentrací léčiva ke zvýšení obsahu nad hodnotu kontrolní (V1 – 14,46 mg CAE/g FW, V2 – 10,42 mg CAE/g FW), u V1 signifikantně.

V průběhu celého měření obsahu fenolických kyselin nedošlo u KM ani k jedné změně koncentrace těchto metabolitů, která by byla statisticky významná. U obou odrůd docházelo k výkyvům PAC mezi kontrolou a ošetřenými variantami, ale pouze u JP byl zaznamenán při třetím a čtvrtém měření statisticky významným nárůst u V1. Lze tedy shrnout, že v průběhu pokusu tvořila odrůda 'Jupiter' fenolických kyselin více, zejména pak po aplikaci 10 mg/l diklofenaku. V rámci porovnání odrůd se všechny hodnoty mezi sebou výrazně lišily. Pouze u čtvrtého měření K a V2 měly rozdíl v množství obsah PAC neprůkazný.



Graf č. 4: Celkový obsah fenolických kyselin (PAC) v závislosti na aplikované dávce DCF (V1: 10 mg/l; V2: 100 mg/l) u odrůdy 'Král Máje' (modrá) a 'Jupiter' (šedá). A–1. měření, B–2. měření, C–3. měření, D–4. měření. Sloupce se stejnými písmeny vyjadřují výsledky, kde nebyly statisticky průkazné rozdíly dle provedeného ANOVA testu při $p < 0,05$ s následujícím post-hoc testem. Hodnoty představují průměr 3 měření \pm SD.

5.5 Stanovení obsahu celkových fenolů

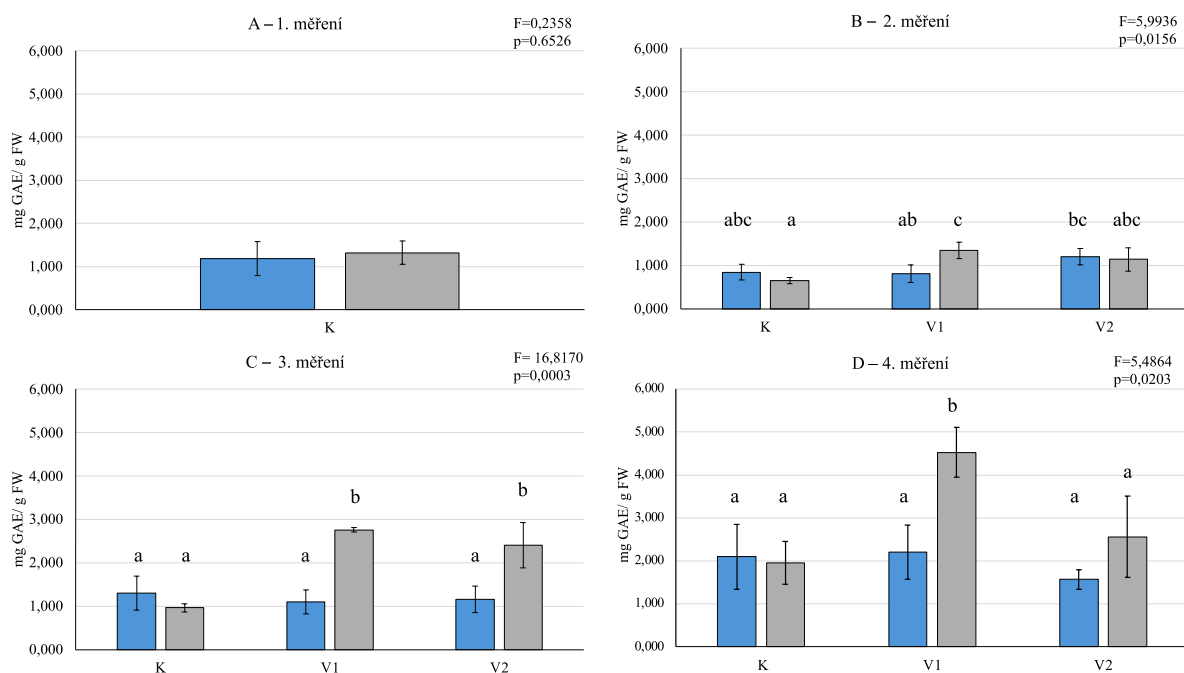
Na grafu č. 5A je znázorněno první měření, kdy byly vzorky odebrány v den před aplikací diklofenaku (DCF). Celkový obsah fenolů (TPC) byl u obou odrůd podobný, nicméně vyšší hodnoty byly naměřeny u odrůdy 'Jupiter' (1,32 mg GAE/g FW) ve srovnání s 'Král Máje' (1,19 mg GAE/g FW).

V rámci druhého měření (Graf č. 5B), kdy byly odebrány vzorky 24 h po aplikaci DCF do živného média, došlo u JP k nárůstu TPC u ošetřených variant (V1 – 1,35 mg GAE/g FW, V2 – 1,14 mg GAE/g FW) oproti kontrolní. Tento zvýšený obsah byl vyhodnocen jako statisticky významný pouze v případě V1. Určitý nárůst TPC se projevil i v případě KM rostoucí v médiu se 100 mg/l DCF, ten ale nebyl z hlediska statistiky průkazný. Při srovnání obou odrůd, pouze u JP došlo v případě koncentrace V1 k nárůstu TPC oproti KM, zároveň tato hodnota byla nejvyšší z tohoto měření.

Třetí měření (Graf č. 5C) bylo provedeno po 72 h od přidání DCF k testovaným odrůdám. U JP byl stále pozorován nárůst TPC u obou koncentrací léčivé látky. Trend byl podobný jako v předcházejícím odběru, kdy u V1 bylo zjištěno největší množství fenolických látek v listech salátu (2,76 mg GAE/g FW) než u V2 (2,41 mg GAE/g FW), nicméně statisticky významný rozdíl oproti kontrole se zde projevil u obou variant, mezi nimi však opět ne. U KM došlo naopak u V1 i V2 oproti kontrole k mírnému neprůkaznému poklesu; ve srovnání s JP tak lze pozorovat, že u KM neměl DCF ani po 72 h na TPC výrazný vliv.

Graf č. 5D ukazuje obsah TPC v listech po 168 h od aplikace diklofenaku. Stejně jako u předchozích měření byla z hlediska těchto látek více ovlivněna odrůda JP, zejména V1 (4,53 mg GAE/g FW), u které byl zjištěn jediný statisticky významný rozdíl oproti všem ostatním sledovaným variantám. Nicméně i u V2 byl zde pozorován určitý nárůst, zatímco v rámci stejné varianty v případě KM spíše pokles. Výrazná změna mezi odrůdami byla pouze u V1, ostatní nevykazovaly významný rozdíl.

Z hlediska pozorování TPC v rámci celého pokusu (Graf č. 5) lze shrnout, že mezi neošetřenými odrůdami nebyly v jednotlivých odběrech výrazné rozdíly, a že se celkový obsah fenolických látek postupně zvyšoval. Tento nárůst je možné sledovat i u variant s aplikovaným diklofenakem, zejména u odrůdy JP, která výrazně reagovala na koncentraci 10 mg/l živného média. U KM docházelo v průběhu experimentu k určitému kolísání hodnot TPC, tyto změny však nikdy nebyly u ošetřených variant průkazné a celkové množství fenolických látek se tak nelišilo od kontroly.



Graf č. 5: Celkový obsah fenolů (TPC) v závislosti na aplikované dávce DCF (V1: 10 mg/l; V2: 100 mg/l) u odrůdy 'Král Máje' (modrá) a 'Jupiter' (šedá). A-1. měření, B-2. měření, C-3. měření, D-4. měření. Sloupce se stejnými písmeny vyjadřují výsledky, kde nebyly statisticky průkazné rozdíly dle provedeného ANOVA testu při $p < 0,05$ s následujícím post-hoc testem. Hodnoty představují průměr 3 měření \pm SD.

SD.

6 Diskuze

Xenobiotika na bázi léčiv v zemědělství vyvolávají oprávněné obavy z potenciálního negativního dopadu na celý řetězec rostlinné i živočišné produkce a na životní prostředí jako celek. Zdroje kontaminace jsou různé, ať už pocházejí z průmyslové činnosti, produktů osobní péče, léčiv nebo nedostatečné úpravy odpadních vod, jejich dlouhodobé působení na životní prostředí je bez pochyb negativní. To ukazuje i množství prací a experimentů, které se věnovaly vlivu léčiv např. na vodní faunu a flóru (Yang et al. 2020; Xia et al. 2017; Ortúzar 2022; Hejna et al. 2022; Martins et al. 2020; Alkimin et al. 2019; Sousa et al. 2019; Bácsi et al. 2016)

Hydroponický systém byl vybrán jako optimální modelové prostředí, díky němuž můžeme, pro výzkumné účely, částečně zanedbat komplexní působení půdního prostředí. Velazquez-Gonzales et al. (2022) označuje hydroponii jako další úroveň precizního zemědělství, kdy můžeme kontrolovat většinu charakteristik pěstebního média, čímž se můžeme snadněji přibližovat k plnému výnosovému potenciálu rostlin ve srovnání s konvenčním pěstováním. Spolu s umělým osvětlením se lze dostat na úroveň plně řízených podmínek, které jsou sice energeticky náročnější, ale lze díky nim snadněji cílit na potřeby pěstovaných rostlin (Pomoni et al. 2023). S narůstající globální populací, kdy predikce uvádějí počet obyvatel naší planety přes 9 mld. v roce 2030 (UN 2000) a stále se zvyšujícími nároky na výkon v zemědělství, se v budoucnu hydroponie jeví jako možné řešení (Ayipio et al. 2019).

Vliv xenobiotik na životní prostředí, rostliny, ale i zdraví člověka je tedy v dnešní době důležitým vědeckým tématem. Čistírenské systémy odpadních vod stále nejsou schopny plně eliminovat léčiva a jejich metabolity, a ty se tak dostávají zpět do ekosystému (Mouele et al. 2021; Edwards 2018; Luo et al. 2018; Sophia 2018). Jejich přítomnost má nežádoucí efekt na růst a vývoj rostlin i na celkovou bezpečnost potravin, a je třeba stanovit míru rizika, případně definovat postupy, jak tato rizika omezovat, či eliminovat.

V rámci této diplomové práce byl zkoumán a prokázán vliv nesteroidního protizánětlivého léčiva diklofenaku (DCF) v koncentracích 10 a 100 mg/l na změnu obsahu sekundárních metabolitů v listech lociky seté u dvou odrůd ('Král Máje' a 'Jupiter'). K ovlivnění došlo u všech sledovaných parametrů (celkový obsah fenolických látek, flavonoidů, fenolických kyselin, malondialdehydu a antioxidační aktivity), ať už snížením nebo zvýšením naměřených hodnot. K prokázání vlivu různých xenobiotik na rostliny lociky seté již došlo v několika pracích a postupně roste množství nových studií na toto téma (Kudrna et al. 2020; Leitão et al. 2021).

U stanovení obsahu malondialdehydu (MDA; Graf č.1) došlo u obou odrůd v jejich listech ke zvýšení tohoto produktu peroxidace lipidů. Výjimkou byla při posledním měření (Graf č. 1D) odrůda KM s koncentrací DCF 100 mg/l v médiu, kde došlo k neprůkaznému poklesu. Jak popsal Zezulka et al. (2019), vzrůstající koncentrace léčiv (0–10 mg/l DCF nebo paracetamolu) v roztoku se projeví zvýšením peroxidu vodíku v kořenech hrachu setého a kukuřice seté, a s tím bylo spojené i narušení integrity buněčných membrán a nárůst MDA. Autoři také uvedli, že hůře na přítomnost DCF reagoval hrách, zatímco paracetamol se negativněji projevil u kukuřice. V listech lociky seté se pak vzrůstající koncentrace použitých léčiv projeví elevací malondialdehydu v případě antiepileptika karbamazepinu, a to zejména

v listech Leitão et al. (2020) 'Král Máje' i 'Jupiter' vykazovaly podobný nárůst v obsahu MDA, kdy hodnoty s koncentracemi léčiva se pohybovaly v rozmezí 21,44 nmol/g až 24,15 nmol/g oproti kontrolním hodnotám, které se pohybovaly okolo 20 nmol/g. Obdobný nárůst hodnot MDA pozoroval v rostlinách tollice vojtěšky (*Medicago sativa* L.) Christou et al. (2016), který v průzkumu použil spolu s diklofenakem i sulfamethoxazol, trimethoprim, 17 α -ethinylestradiol (Christou et al. 2016).

V případě, kdy se negativní vliv léčiv projevil spíše u nižších použitých koncentrací (Graf č. 1D), můžeme data porovnávat se studií Pawlowské et al. (2021) pozorovala vliv DCF a naproxenu po dvou týdnech na obsah MDA v semenáčích ječmene (*Hordeum vulgare* L.). V případě DCF bylo v uvedené práci pozorováno, že nejnižší použitá koncentrace (0,1 mg/kg půdy) způsobila jak nárůst H₂O₂, tak malondialdehydu v pletivech *H. vulgare*. U vyšších koncentrací se negativní vliv xenobiotik se stoupající kontaminací projevil spíše u naproxenu, ale u DCF se množství MDA od kontroly průkazně nelišilo nebo bylo naopak menší i u nejvyšší použité koncentrace (1000 mg/kg půdy). Pawlowska et al. (2021) uvedli, že reakce na přítomnost kontaminantů se opět může lišit v závislosti na zkoumaném organismu. Odlišný vliv NSAID (2 mg/l DCF nebo naproxenu) se také ukázal při srovnání kukuřice a lilku rajčete (*Solanum lycopersicum* L.) v různých odběrech, kdy u listů *Z. mays* byl obsah MDA po prvním týdnu menší oproti kontrole, ale vzrostl až po 14 dnech (Siemeniuk et al. 2021). U rajčete pak byl pozorován opačný stav. Podobný fenomén klesajícího trendu nebo stabilizace hodnot MDA pod vlivem stresu, v tomto případě ze sucha, ve své práci popsal i Mihaljević et al. (2021) u různých odrůd jablek (*Malus domestica* Borkh.).

Flavonoidy se vyskytují velmi hojně v rostlinách, ovoci a semenech a jsou zodpovědné za barvu, vůni a chuťové vlastnosti. V rostlinách flavonoidy plní mnoho funkcí, jako je regulace růstu buněk, fungují jako atraktant opylovačů hmyzu a dále se podílí na procesech přispívajících k ochraně rostlin před biotickými a abiotickými stresy, kdy se podílí na fyziologické odezvě (Dias et al. 2021; Shomali et al. 2022).

Stejně jako u předchozího parametru, tak i u obsahu flavonoidů (TFC; Graf č. 2) došlo ke zvýšení jejich obsahu u obou odrůd. Vyšší nárůst byl u všech měření pozorovatelný u 'Jupiteru' s koncentrací 10 mg/l, kdy nejvyšší obsah byl naměřen u vzorků odebraných po 168 h (Graf č. 2D) (V1 6,67 mg QE/g FW). Rostliny odrůdy 'Král Máje' vykazovaly v rámci všech měření proměnlivý obsah flavonoidů u kontrolních variant, nicméně v rámci měření u KM docházelo, s výjimkou V2 u třetího měření (Graf č. 2C) k postupnému nárůstu obsahu TFC v závislosti na koncentraci DCF.

Tvorba flavonoidů za stresových podmínek je známou strategií rostlin za účelem zvýšení jejich odolnosti vůči stresu. Příkladem může být případ kombinovaného teplotního stresu a zasolení, kdy dochází ke zvýšení akumulace flavonoidů v důsledku upregulace genu *F3H* u rostlin lilku rajčete (Jan et al. 2021). Oproti tomu, ve studii Opris et al. (2020), došlo u špenátu (*Spinacia oleracea* L.) vlivem působení diklofenaku (0,1–1 mg/l) k poklesu hodnot TFC pod kontrolní hodnoty, zvláště u nejnižší koncentrace léčiva. S navýšením xenobiotika v roztoku pak ale začal obsah flavonoidů opět stoupat. V této práci se také ukázalo, že v případě lebedy rozkladité (*Atriplex patula* L.), byl trend poklesu po aplikaci DCF opačný. To popsala i Taschina et al. (2022), kde byl sledován vliv NSAID (0,5 mg/l) na hrách (*Pisum sativum* L.),

čočku (*Lens culinaris* L.), vikev (*Vicia sativa* L.) a cizrnu (*Cicer arietinum* L.). U všech sledovaných plodin došlo rovněž po 20 dnech k poklesu flavonoidů u všech použitých léčiv. Nejvyšší pokles byl vlivem DCF zaznamenán u čočky, u ostatních plodin se více projevil indomethacin. V případě provedeného experimentu s locikou setou, se zde mohl právě projevit vliv rostlinného druhu.

Změna antioxidační aktivity (PAP; Graf č. 3) se více projevila u obou odrůd, ale rychleji na diklofenak začala reagovat odrůda 'Jupiter', kdy u třetího měření (Graf č. 3C) došlo u obou koncentrací léčiva k výraznému nárůstu PAP. 'Král Máje' začal vykazovat vyšší nárůst až u posledního měření. Leitão et al. (2020) ve své studii sledovali změny antioxidační aktivity, provedené pomocí DPPH, pod vlivem výše uvedených koncentrací karbamazepinu v listech a kořenech lociky seté. V listech byl v rámci tří měření (0, 8, 15 dní) viditelný nárůst antioxidační aktivity s rostoucí koncentrací léčiva. U nižší koncentrace nastal po dvou týdnech pokles aktivity na úroveň kontroly, což by bylo podobné jako v případě varianty KM V1 (Graf č. 3B a 3C) nebo u odrůdy JP v posledním odběru (Graf č. 3D). U kořenů nebyl nárůst antioxidační aktivity tak znatelný a v rámci měření docházelo k výkyvům obsahu MDA.

Nárůst látek, které se podílejí na antioxidační aktivitě jako je askorbová kyselina, u nižších koncentrací popsal Zezulka et al. (2019). V případě diklofenaku se množství askorbátu u hrachu i kukuřice s vyššími koncentracemi léčiva snižovalo. Podobný trend měla i vlastní celková antioxidační kapacita. Neprůkazný nárůst kyseliny askorbové u nižší koncentrace DCF oproti kontrole následovaný poklesem u vzorků, kde bylo léčiva aplikováno více, bylo opět pozorováno i ve studii Pawlowska et al. (2021). To by opět mohlo vysvětlovat i námi zjištěné údaje (Graf č. 3). Oproti tomu, u výše uvedené studie Opris et al. (2020), diklofenak v jimi použitých koncentracích neměl u lociky seté ani špenátu na antioxidační kapacitu stanovenou DPPH metodou vliv. U lebedy se ale tento parametr v závislosti na koncentraci léčiva snížil.

Akumulace fenolických kyselin v reakci na abiotický stres je způsobena aktivací fenylypropanoidní biosyntetické dráhy, která produkuje širokou škálu monomerních a polymerních fenolických sloučenin (Šamec et al. 2021). Jak je uvedeno v práci Kumara et al. (2023), například stres suchem vyvolává akumulaci fenolových kyselin a flavonoidů v různých rostlinných druzích, jako je právě locika setá (*Lactuca sativa* L.) nebo brukev řepka (*Brassica napus* L.), okurka setá (*Cucumis sativus* L.), tabák viržinský (*Nicotiana tabacum* L.), bazalka (*Ocimum* spp.), réva vinná (*Vitis vinifera* L.), tymián obecný (*Thymus vulgaris* L.), štírovník růžkatý (*Lotus japonicus* L.) a chryzantéma (r. *Chrysanthemum*). Při stanovení obsahu fenolických kyselin (PAC; Graf č. 4) vykazovala odrůda 'Král Máje' mírné poklesy nebo podobné hodnoty obsahu jako varianta kontrolní. Naopak u 'Jupiteru' došlo po 24 h k nárůstu u všech tří variant a u dalších měření docházelo k vyšší tvorbě PAC u variant s koncentrací léčiva 10 mg/l. Jednalo se tedy o opačnou reakci, než měl 'Král Máje'. Xenobiotika mohou významně ovlivňovat metabolismus a množství PAC v různých organismech. Vliv xenobiotik na PAC může nastat prostřednictvím několika mechanismů, jako je změna aktivity receptorů citlivých na xenobiotika, modifikace exprese enzymů zapojených do metabolismu PAC a indukce oxidačního stresu nebo poškození DNA (Schröder & Collins 2002).

V této práci jsme analyzovali hodnoty obsahu fenolických látek v listech lociky seté (Graf č. 5). TPC se více zvýšil v rámci působení diklofenaku u odrůdy 'Jupiter'. Nejvyšší obsah byl v rámci měření pozorován u variant s obsahem DCF 10 mg/l, kdy nejvyšší naměřená hodnota byla u čtvrtého měření (Graf č. 5D) V1 – 4,52 mg GAE/g FW. U 'Krále Máje' docházelo při každém měření ke zvýšení obsahu, ale ani v jednom případě obsah nebyl vyšší než u kontrolní varianty (1. měření 1,18 mg GAE/g FW, 4. měření 2,09 mg GAE/g FW). Espinosa et al. (2023) dává nárůst obsahu fenolických látek do souvislosti všeobecně s narůstající intenzitou abiotického stresu, což je v souladu s výsledky a daty z dalších provedených experimentů (Waśkiewicz et al. 2013; Bacha et al. 2017; Caliskan et al. 2017), kdy došlo ke zvýšení TPC celkově v závislosti na přítomnosti stresu a jeho intenzitě.

Ve studii Opris et al. (2020) také zkoumali změnu celkového obsahu fenolických látek u lociky a špenátu působením DCF, ibuprofenu a naproxenu. U lociky seté (*Lactuca sativa* L.) působením žádného z léčiv nebyl pozorován významný výkyv v obsahu TPC podobně jako u odrůdy KM na grafu č. 5. Naopak u špenátu došlo k poklesům pod kontrolní hodnoty u DCF i ibuprofenu, a u naproxenu došlo s rostoucí koncentrací ke zvýšení obsahu TPC. Vliv na TPC rovněž nebyl pozorován ani v případě karbamazepinu (Leitão et al. 2020). Stimulační efekt na tvorbu TPC u různých rostlin se ale ukázal u výše zmíněné studie Siemiński et al. (2021), kde byl větší nárůst oproti kontrole zaznamenán u rajčete ve srovnání s kukuřicí. Naopak negativní s rostoucí koncentrací TPC byl popsán v práci Zezulka et al. (2019), kdy měly DCF větší dopad na kukuřici než na hrách.

Závěrem lze shrnout, že u všech sledovaných parametrů byla více ovlivněna odrůda 'Jupiter', kdy u všech analýz docházelo k navýšení k měřeným hodnotám. 'Krále Máje' vykazoval nárůst u všech analýz až na obsah fenolických kyselin, kde docházelo naopak k poklesu. Rozdíl odrůd salátu v závislosti na intenzitu stresu a produkci obsahových látek byl diskutován například v práci zaměřené na vliv salinity u *Lactuca sativa* L. var. *acephala* a srovnání 'Green Salad Bowl' and 'Red Salad Bowl', kde Carillo et al. (2020) odlišnou reakci sledovaných variant.

7 Závěr

Cílem této práce bylo posouzení vlivu stresového působení diklofenaku na vybrané biochemické parametry lociky seté (*Lactuca sativa* L.) u dvou jejích odrůd – 'Král Máje' a 'Jupiter', a na základě analýzy dat stanovit míru působení xenobiotika na obsah sekundárních metabolitů.

- Diklofenak ovlivnil všechny sledované parametry.
- Biochemická odpověď byla rozdílná u různých koncentrací aplikovaných na rostliny v rámci odrůdy.
- Jednotlivé odrůdy se mezi sebou lišily ve sledovaných parametrech pod vlivem působení diklofenaku.

Působení diklofenaku ovlivnilo všechny sledované parametry. Výrazné změny byly pozorovány v obsahu fenolických kyselin, s odlišnými odpověďmi odrůd. Odrůda 'Jupiter' vykazovala největší reakci na různé koncentrace diklofenaku, s významným nárůstem obsahu fenolických kyselin při aplikaci 10 mg/l (15,98 mg/g). Naopak odrůda 'Král Máje' neprokázala podobně zvyšování jejich obsahu, ale docházelo k poklesu hodnot anebo naměření hodnot blízkých kontrolní variantě. Nejvyšší naměřená hodnota oproti kontrole (6,78 mg/g) byla při posledním měření u koncentrace 100 mg/l (8,32 mg/g).

Při hodnocení všech sledovaných parametrů reagovala na aplikaci léčiva více odrůda 'Jupiter', kde docházelo k znatelnějším nárůstům obsahu daných látek u všech analýz. U 'Krále Máje' došlo k viditelnému ovlivnění u antioxidační aktivity a obsahu flavonoidů, u ostatních došlo k mírnému navýšení, poklesu nebo neodchýlení se od podobného množství jako měla kontrolní varianta. Tím byly potvrzeny obě alternativní hypotézy a došlo k zamítnutí hypotézy nulové.

Je důležité zdůraznit, že vliv léčiv na rostliny a následnou potravinou bezpečnost jsou důležitým tématem, které vyžaduje další zkoumání. Tyto studie jsou důležité k pochopení jejich dopadů, ovlivnění obsahu nutričních látek a zajištění bezpečnosti pro spotřebitele. S tím souvisí provedení hodnocení rizik spojených s konzumací potravin kontaminovaných xenobiotiky, aby mohla být přijata opatření, které zajistí bezpečnost potravinového řetězce. Samostatnou kapitolou je fenotypová odlišnost, kdy je důležité brát v úvahu, že jednotlivé odrůdy se mezi sebou liší a různá je i jejich fyziologická odpověď. Na tomto principu můžeme selektivně vybírat odrůdy, které jsou rezistentní nebo tolerantní vůči vybranému stresu.

8 Literatura

- Abbas M, Saeed F, Anjum FM, Afzaal M, Tufail T, Bashir MS, Ishtiaq A, Hussain S, Suleria HAR. 2017. Natural polyphenols: An overview. *International Journal of Food Properties* **20**:1689–1699.
- Abotaleb M, Liskova A, Kubatka P, Büsselberg D. 2020. Therapeutic Potential of Plant Phenolic Acids in the Treatment of Cancer. *Biomolecules* **10**:221.
- Adisakwattana S. 2017. Cinnamic Acid and Its Derivatives: Mechanisms for Prevention and Management of Diabetes and Its Complications. *Nutrients* **9**:163.
- Adlercreutz H. 2007. Lignans and Human Health. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* **44**:483–525.
- Ahmad P, Sharma S. 2008. Solný stres a fyto-biochemické reakce rostlin. *Rostlinné půdní prostředí* **54**:89–99.
- Akbar S. 2020a. *Lactuca sativa* L. (Asteraceae/Compositae). Pages 1067–1075 *Handbook of 200 Medicinal Plants*. Springer International Publishing, Cham.
- Akbar S. 2020b. *Lactuca sativa* L. (Asteraceae/Compositae). Pages 1067–1075 *Handbook of 200 Medicinal Plants*. Springer International Publishing, Cham.
- Alder L, Greulich K, Kempe G, Vieth B. 2006. Residue analysis of 500 high priority pesticides: Better by GC–MS or LC–MS/MS? *Mass Spectrometry Reviews* **25**:838–865.
- Alkimin GD, Daniel D, Dionísio R, Soares AMVM, Barata C, Nunes B. 2019. Effects of diclofenac and salicylic acid exposure on *Lemna minor*: Is time a factor? *Environ. Res* **177**:108609.
- Alvarez MA. 2014. Plant biotechnology for health: From secondary metabolites to molecular farming.
- Anjum F, Yaseen M, Rasool E, Wahid A, Anjum S. 2003. Water stress in barley (*Hordeum vulgare* L.) on chemical composition and chlorophyll contents. *Pakistan Journal of Agriculture Science* **40**:1–2.
- Atkinson NJ, Urwin PE. 2012. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of Experimental Botany* **63**:3523–3543.
- Ayipio E, Wells DE, McQuilling A, Wilson AE. 2019. Comparisons between Aquaponic and Conventional Hydroponic Crop Yields: A Meta-Analysis. *Sustainability* **11**: 6511.
- Babić S, Horvat AJM, Mutavdžić PD, Kaštelan-Macan M. 2007. Determination of pKa values of active pharmaceutical ingredients. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **26**:1043–1061.
- Bacha H, Tekaya M, Drine S, Guasmi F, Touil L, Enneb H, Triki T, Cheour F, Ferchichi A. 2017. Impact of salt stress on morpho-physiological and biochemical parameters of *Solanum lycopersicum* cv. Microtom leaves. *S. Afr. J. Bot.* **108**:364–369.

- Bácsi I, B-Béres V, Kókai Z, Gonda S, Novák Z, Nagy SA, Vasas G. 2016. Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on cyanobacteria and algae in laboratory strains and in natural algal assemblages. *Environ. Pollut.* 212:508–518.
- Bennet RN, Wallsgrove RM. 1994. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist* 127:617–633.
- Bhoi A, Yadu B, Chandra J, Keshavkant S. 2022. Mutagenesis: A coherent technique to develop biotic stress resistant plants. *Plant Stress* 3:100053.
- Bound JP, Voulvoulis N. 2005. Household Disposal of Pharmaceuticals as a Pathway for Aquatic Contamination in the United Kingdom. *Environmental Health Perspectives* 113:1705–1711.
- Carbas B, Machado N, Oppolzer D, Ferreira L, Queiroz M, Brites C, Rosa EA, Barros AI. 2020. Nutrients, Antinutrients, Phenolic Composition, and Antioxidant Activity of Common Bean Cultivars and their Potential for Food Applications. *Antioxidants (Basel)* 9:186.
- Carillo P, Giordano M, Raimondi G, Napolitano F, Di Stasio E, Kyriacou MC, Roupheal Y. 2020. Physiological and nutraceutical quality of green and red pigmented lettuce in response to NaCl concentration in two successive harvests. *Agronomy* 10:1358.
- Çelik Ö, Meriç S, Ayan A, Atak Ç. 2020. Biotic stress-tolerant plants through small RNA technology. Pages 435–468 *Plant Small RNA*. Elsevier.
- Caliskan O, Radusiene J, Temizel KE, Staunis Z, Cirak C, Kurt D, Odabas MS. 2017. The effects of salt and drought stress on phenolic accumulation in greenhouse-grown. *Hypericum pruinatum*. *Ital. J. Agron* 12.
- Cook SD, Nichols DS, Smith J, Chourey PS, McAdam EL, Quittenden L, Ross JJ. 2016. Auxin Biosynthesis: Are the Indole-3-Acetic Acid and Phenylacetic Acid Biosynthesis Pathways Mirror Images? *Plant Physiol* 171:1230-41.
- ČR, ministerstvo zdravotnictví. Český lékopis 2017. Praha: Grada 2017, 140-141.
- Chadwick M, Trewin H, Gawthrop F, Wagstaff C. 2013. Sesquiterpenoids Lactones: Benefits to Plants and People. *International Journal of Molecular Sciences* 14:12780–12805.
- Chaves MM, Maroco JP, Pereira JS. 2003. Understanding plant responses to drought - From genes to the whole plant. *Functional Plant Biology* 30:239–264.
- Chen Y, Huang L, Liang X, Dai P, Zhang Y, Li B, Lin X, Sun Ch. 2020. Enhancement of polyphenolic metabolism as an adaptive response of lettuce (*Lactuca sativa*) roots to aluminum stress. *Environmental Pollution* 261:114230.
- Chong J, Poutaraud A, Huguency P. 2009. Metabolism and roles of stilbenes in plants. *Plant Science* 177:143–155.
- Choudhary P, Pramitha L, Rana S, Verma S, Aggarwal PR, Muthamilarasan M. 2021. Hormonal crosstalk in regulating salinity stress tolerance in graminaceous crops. *Physiologia Plantarum* 173:1587–1596.

- Choudhury FK, Rivero RM, Blumwald E, Mittler R. 2017. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *The Plant Journal* **90**:856–867.
- Christou A, Antoniou Ch, Christodoulou Ch, Hapeshi E, Stavrou C, Fatta-Kassinou D, Fotopoulos V. 2016. Stress-related phenomena and detoxification mechanisms induced by common pharmaceutical alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants. *Sci Total Environ* **557-558**:652-64.
- Costa H, Gallego SM, Tomaro ML. 2002. Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Science* **162**:939–945.
- Cramer GR, Urano K, Delrot S, Pezzotti M, Shinozaki K. 2011. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *BMC Plant Biology* **11**:163.
- Crozier A, Clifford MN, Ashihara H. 2006. *Plant Secondary Metabolites*. Wiley.
- Daglia M. 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology* **23**:174–181.
- Danquah A, de Zelicourt A, Colcombet J, Hirt H. 2014. The role of ABA and MAPK signaling pathways in plant abiotic stress responses. *Biotechnology Advances* **32**:40–52.
- Darko E, Végh B, Khalil R, Marček T, Szalai G, Pál M, Janda T. 2019. Metabolic responses of wheat seedlings to osmotic stress induced by various osmolytes under iso-osmotic conditions. *PLOS ONE* **14**: e0226151.
- de Gruijl FR, van der Leun JC. 2000. Environment and health: 3. Ozone depletion and ultraviolet radiation. *CMAJ: Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne* **163**:851–5.
- de Vries IM. 1997. Origin and domestication of *Lactuca sativa* L. *Genetic Resources and Crop Evolution* **44**:165–174.
- Dias MC, Pinto DCGA, Silva AMS. 2021. Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. *Molecules* **26**:5377.
- Denaxa NK, Tsafouros A, Roussos PA. Chapter 11 - Role of phenolic compounds in adventitious root formation. *Environmental, Physiological and Chemical Controls of Adventitious Rooting in Cuttings*:251-288.
- Dodd AN, Kudla J, Sanders D. 2010. The language of calcium signaling. *Annu Rev Plant Biol* **61**:593–620.
- Doležalová I, Křístková E, Lebeda A, Vinter V. 2002. Description of morphological characters of wild *Lactuca* L. spp. Genetic resources. *Hort Science*.
- Domingues DS, Takahashi HW, Camara CAP, Nixdorf SL. 2012. Automated system developed to control pH and concentration of nutrient solution evaluated in hydroponic lettuce production. *Computers and Electronics in Agriculture* **84**:53–61.
- eAgri.cz. 2023. Situační a výhledová zpráva: Zelenina. Available from: <https://eagri.cz/public/portal/-a37054---oEZB2q5t/publikace-situacni-a-vyhledova-zprava-zelenina-2023>.

- Edwards QA, Sultana T, Kulikov SM, Garner-O'Neale LD, Yargeau V, Metcalfe CD. 2018. Contaminants of Emerging Concern in Wastewaters in Barbados, West Indies. *Bull. Environ. Contam. Toxicol* **101**:1–6.
- EI-Kazzaz A. 2017. Soilless Agriculture a New and Advanced Method for Agriculture Development: an Introduction. *Agricultural Research & Technology: Open Access Journal* **3**.
- Espinosa NJ, Garcia-Ibañez P, Lopez-Zaplana A, Yepes-Molina L, Albaladejo-Marico L, Carvajal M. 2023. Confronting Secondary Metabolites with Water Uptake and Transport in Plants under Abiotic Stress. *Int J Mol Sci* **24**:2826.
- Espiritu K. 2019. History of Hydroponics: When Was Hydroponics Invented?
- Farooq M, Wahid A, Kobayashi D, Fujita SMA, Basra. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* **29**:185–212.
- Fatta-Kassinos D, Kalavrouziotis IK, Koukoulakis PH, Vasquez MI. 2011. The risks associated with wastewater reuse and xenobiotics in the agroecological environment. *Science of The Total Environment* **409**:3555–3563.
- Feller U, Vaseva II. 2014. Extreme climatic events: impacts of drought and high temperature on physiological processes in agronomically important plants. *Frontiers in Environmental Science* **2**.
- Ghasemzadeh A, Ghasemzadeh N. 2011. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research* **5**.
- Gill SS, Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* **48**:909–930.
- Goyal S, Lambert C, Cluzet S, Mérillon JM, Ramawat KG. 2012. Secondary metabolites and plant defence. *Page Plant Defence: Biological Control* :109–138.
- Greenway H, Munns R. 1980. Mechanisms of Salt Tolerance in Nonhalophytes. *Annual Review of Plant Physiology* **31**:149–190.
- Griffith M, Yaish MWF. 2004. Antifreeze proteins in overwintering plants: a tale of two activities. *Trends in Plant Science* **9**:399–405.
- Gruissem W, Buchannan B, Jones J. 2000. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, American Society of Plant Biologists. Rockville.
- Grulich V. 2004. *Lactuca L – locika*-In Slavík B, Štěpánková J, Štěpánek J. (eds), *Květena České republiky* 7: 487–497, Academia, Praha.
- Gull A, Ahmad LA, UI IWN. 2019. Biotic and Abiotic Stresses in Plants. *Page Abiotic and Biotic Stress in Plants*. IntechOpen.
- Gunaherath GMK, Gunatilaka AAL. 2014. Plant Steroids: Occurrence, Biological Significance and their Analysis. Pages 1–26 *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Wiley.
- Haiba E, Nei L, Sandre K, Lillenberg M. 2017. Degradation of diclofenac and triclosan residues in sewage sludge compost. *Agronomy Research* **15**:395–405.

- Halling-Sørensen B, Nors Nielsen S, Lanzky PF, Ingerslev F, Holten Lützhøft HC, Jørgensen SE. 1998. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. *Chemosphere* **36**:357–393.
- Harlan JR. 1986. Lettuce and Sycomore: Sex and Romance in Ancient Egypt. *Economic Botany* **40**:4–15.
- Hasanuzzaman M, Nahar K, Alam Md, Roychowdhury R, Fujita M. 2013. Physiological, Biochemical, and Molecular Mechanisms of Heat Stress Tolerance in Plants. *International Journal of Molecular Sciences* **14**:9643–9684.
- Hassani D, Lu Y, Ni B, Zhu RL, Zhao Q. 2023. The endomembrane system: how does it contribute to plant secondary metabolism? *Trends in Plant Science* **28**:1222–1236.
- Havsteen B. 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics* **96**:67–202.
- Hejna M, Kapuścińska D, Aksmann A. 2022. Pharmaceuticals in the Aquatic Environment: A Review on Eco-Toxicology and the Remediation Potential of Algae. *Int J Environ Res Public Health* **19**:7717.
- Hershey DR. 1994. Solution Culture Hydroponics: History & Inexpensive Equipment. *The American Biology Teacher* **56**:111–118.
- Hnilickova H, Kraus K, Vachova P, Hnilicka F. 2021. Salinity Stress Affects Photosynthesis, Malondialdehyde Formation, and Proline Content in *Portulaca oleracea* L. *Plants* **10**:845.
- Hoagland DR, Snyder WC. 1933. “Nutrition of strawberry plant under controlled conditions. (a) Effects of deficiencies of boron and certain other elements, (b) susceptibility to injury from sodium salts”. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*. **30**:288–294.
- Hoagland DR, Arnon DI. 1938. The water-culture method for growing plants without soil (Circular (California Agricultural Experiment Station), 347. ed.). Berkeley, Calif.: University of California, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station.
- Hoagland DR & Arnon DI 1950. The water-culture method for growing plants without soil. (Circular (California Agricultural Experiment Station), 347. ed.). Berkeley, Calif.: University of California, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station. (Revision).
- Hosseinzadeh S, Verheust Y, Bonarrigo G, Van Hulle S. 2017. Closed hydroponic systems: operational parameters, root exudates occurrence and related water treatment. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* **16**:59–79.
- Huber C, Bartha B, Schröder P. 2012. Metabolism of diclofenac in plants – Hydroxylation is followed by glucose conjugation. *Journal of Hazardous Materials* **243**:250–256.
- Jan R, Kim N, Lee SH, Khan MA, Asaf S, Lubna, Park JR, Asif S, Lee IJ, Kim KM. 2021. Enhanced Flavonoid Accumulation Reduces Combined Salt and Heat Stress Through Regulation of Transcriptional and Hormonal Mechanisms. *Front Plant Sci*. **12**:796956.

- Jan S, Rashid Z, Ahngar TA, Iqbal S, Naikoo MA, Majeed S, Bhat TA, Gul R, Nazir I. 2020. Hydroponics – A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* **9**:1779–1787. Available from <https://www.ijcmas.com/abstractview.php?ID=18767&vol=9-8-2020&SNo=206>.
- Jellouli N, Ben Jouira H, Skouri H, Ghorbel A, Gourgouri A, Mliki A. 2008. Proteomic analysis of Tunisian grapevine cultivar Razegui under salt stress. *Journal of Plant Physiology* **165**:471–481.
- Jovicich E, Cantliffe DJ, Stoffella PJ. 2003. “Spanish” repper trellis system and high plant density can increase fruit yield, fruit quality, and reduce laborator in a hydroponics, passive-ventilated greenhouse. *Acta Horticulturae*:255–262.
- Khan MN, Mohammad F, Mobin M, Saqib MA. 2014. Tolerance of Plants to Abiotic Stress: A Role of Nitric Oxide and Calcium. Pages 225–242 *Nitric Oxide in Plants: Metabolism and Role in Stress Physiology*. Springer International Publishing, Cham.
- Khater E-S, Bahnasawy A, Abass W, Morsy O, El-Ghobashy H, Shaban Y, Egela M. 2021. Production of basil (*Ocimum basilicum* L.) under different soilless cultures. *Scientific Reports* **11**:12754.
- Kim MJ, Moon Y, Tou JC, Mou B, Waterland NL. 2016a. Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Food Composition and Analysis* **49**:19–34.
- Kim MJ, Moon Y, Tou JC, Mou B, Waterland NL. 2016b. Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Food Composition and Analysis* **49**:19–34.
- Kolpin DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurman EM, Zaugg SD, Barber LB, Buxton HT. 2002. Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999–2000: A National Reconnaissance. *Environmental Science & Technology* **36**:1202–1211.
- Kosová K, Vítámvás P, Prášil IT, Renaut J. 2011. Plant proteome changes under abiotic stress — Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. *Journal of Proteomics* **74**:1301–1322.
- Kotyza J, Soudek P, Kafka z, Vaněk T. 2009. Léčiva – „nový“ environmentální polutant. *Chemické listy* **103**:540–547.
- Koudela M, Petříková K. 2008. Nutrients content and yield in selected cultivars of leaf lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *crispa*). *Horticultural Science* **35**:99–106.
- Kozai T, Niu G, Takagaki M. 2019. Plant factory: an indoor vertical farming system for efficient quality food production. Page (Elsevier Science Publishing Co Inc, editor).
- Kranner I, Minibayeva FV, Beckett RP, Seal ChE. 2010. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. *New Phytologist* **188**:655–673.

- Křístková E, Doležalová I, Lebeda A, Vinter V, Novotná A. 2008. Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. *Horticultural Science* **35**:113–129.
- Kudrna J, Hnilicka F, Kubes J, Vachova P, Hnilickova H, Kuklova M. 2020. Effect of Acetaminophen (APAP) on Physiological Indicators in *Lactuca sativa*. *Life* **10**:303.
- Kumar K, Debnath P, Singh S, Kumar N. 2023. An Overview of Plant Phenolics and Their Involvement in Abiotic Stress Tolerance. *Stresses* **3**:570-585.
- Kwon MJ, Hwang Y, Lee J, Ham B, Rahman A, Azam H, Yang J-S. 2021. Waste nutrient solutions from full-scale open hydroponic cultivation: Dynamics of effluent quality and removal of nitrogen and phosphorus using a pilot-scale sequencing batch reactor. *Journal of Environmental Management* **281**:111893.
- Lakhiar IA, Gao J, Syed TN, Chandio FA, Buttar NA. 2018. Modern plant cultivation technologies in agriculture under controlled environment: a review on aeroponics. *Journal of Plant Interactions* **13**:338–352.
- Lebeda A, Doležalová I, Křístková E, Novotná A. 2004. Morphological and developmental characteristics of *Lactuca serriola* germplasm originating from Europe. *Sandman Hotel Montreal Longueuil*:28–31.
- Lebeda A, Doležalová E, Kittner M, Mieslerová B, Jemelková M, Pink DAC. 2013. Wild *Lactuca* species, their genetic diversity, resistance to diseases and pests, and exploitation in lettuce breeding. *European Journal of Plant Pathology*:597–640.
- Lee S, Lee J. 2015. Beneficial bacteria and fungi in hydroponic systems: Types and characteristics of hydroponic food production methods. *Scientia Horticulturae* **195**:206–215.
- Leitão I, Mourato MP, Carvalho, Oliveira MC, Marques MM, Martins LL. 2020. Antioxidative response of lettuce (*Lactuca sativa*) to carbamazepine-induced stress. *Environmental Science and Pollution Research* **28**:45920-45932.
- Leitão I, Leclercq CC, Ribeiro DM, Renaut J, Almeida AM, Martins LL, Mourato MP. 2021a. Stress response of lettuce (*Lactuca sativa*) to environmental contamination with selected pharmaceuticals: A proteomic study. *Journal of Proteomics* **245**:104291.
- Leitão I, Martins LL, Carvalho L, Oliveira MC, Marques MM, Mourato MP. 2021b. Acetaminophen Induces an Antioxidative Response in Lettuce Plants. *Plants (Basel)* **10**:1152.
- Lepš J, Šmilauer P. 2016. *Biostatistika*. Nakladatelství Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích.
- Levitt J. 1980. *Responses of Plants to Environmental Stress*, 2nd Edition, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses. Page (Academic Press, editor).
- Lichtenthaler HK. 1996. Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants. *Journal of Plant Physiology* **148**:4–14.

- Lichtenthaler HK. 1998. The Stress Concept in Plants: An Introduction. *Annals of the New York Academy of Sciences* **851**:187–198.
- Lin D, Xiao M, Zhao J, Li Z, Xing B, Li X, Kong M, Li L, Zhang Q, Liu Y, Chen H, Qin W, Wu H, Chen S. 2016. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. *Molecule* **25**:1374.
- Lindqvist K. 1960. On the origin of cultivated lettuce. *Hereditas* **46**:319–350.
- Livertox. 2017, December. Clinical and Research Information on Drug-Induces Liver Injury.
- Lonappan L, Brar SK, Das RK, Verma M, Surampalli RY. 2016. Diclofenac and its transformation products: Environmental occurrence and toxicity – A review. *Environment International* **96**:127–138.
- Lund MN. 2021. Reactions of plant polyphenols in foods: Impact of molecular structure. *Trends in Food Science & Technology* **112**:241–251.
- Luo Y, Yang Y, Lin Y, Tian Y, Wu L, Yang L, Hou X, Zheng C. 2018. Low-Temperature and Atmospheric Pressure Sample Digestion Using Dielectric Barrier Discharge. *Anal. Chem.* **90**: 1547–1553.
- Madgwick JW, West JS, White RP, Semenov MA, Townsend JA, Turner JA, Fitt BDL. 2011. Impacts of climate change on wheat anthesis and fusarium ear blight in the UK. *European Journal of Plant Pathology* **130**:117–131.
- Mahajan S, Tujeta N. 2005. Cold, salinity and drought stresses:an overview. *Arch Biochem Biophys* **444**:139–158.
- Maliqa M, Khan JN, Ahmad SQM, Masoodi KZ, Afroza B, Parvaze S. 2021. Evaluation of hydroponic systems for the cultivation of Lettuce (*Lactuca sativa* L., var. Longifolia) and comparison with protected soil-based cultivation. *Agricultural Water Management* **245**:106572.
- Manach C, Scalbert A, Morand Ch, Rémésy Ch, Jiménez L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* **79**:727–747.
- Manzocco L, Foschia M, Tomasi N, Maifreni M, Dalla Costa L, Marino M, Cortella G, Cesco S. 2011. Influence of hydroponic and soil cultivation on quality and shelf life of ready-to-eat lamb's lettuce (*Valerianella locusta* L. Laterr). *Journal of the Science of Food and Agriculture* **91**:1373–1380.
- Martin C, Li J. 2017. Medicine is not health care, food is health care: plant metabolic engineering, diet and human health. *New Phytologist* **216**:699–719.
- Martins M, Sousa B, Lopes J, Soares C, Machado J, Carvalho S, Fidalgo F, Teixeira J. 2020. Diclofenac shifts the role of root glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase for maintaining nitrogen assimilation and proline production at the expense of shoot carbon reserves in *Solanum lycopersicum* L. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **27**:29130–29142.
- Mattila P, Hellström, Törrönen R. 2006. Phenolic Acid s in Berries, Fruits, and Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**: 7193–7199.

- Maya Waiba K, Sharma P, Sharma A, Chadha S, Kaur M, Author C. 2020. Soilless vegetable cultivation: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* **9**:631–636.
- Mbiyu M.W, Muthoni J, Kabira J, Elmar G, Muchira C, Pwaiswai P, Ngaruiya J, Otieno S, Onditi J. 2012. Use of aeroponics technique for potato (*Solanum tuberosum*) minitubers production in Kenya. *Journal of Horticulture and Forestry* **4**:172–177.
- Mihaljević I, Viljevac Vuletić M, Šimić D, Tomaš V, Horvat D, Josipović M, Zdunić Z, Dugalić K, Vuković D. 2021. Comparative Study of Drought Stress Effects on Traditional and Modern Apple Cultivars. *Plants* **10**: 561.
- Mittler R, Blumwald E. 2010. Genetic Engineering for Modern Agriculture: Challenges and Perspectives. *Annual Review of Plant Biology* **61**:443–462.
- Miura K, Furumoto T. 2013. Cold Signaling and Cold Response in Plants. *International Journal of Molecular Sciences* **14**:5312–5337.
- Mohammed S. B., Sookoo R. 2016. Nutrient Film Technique for Commercial Production. *Agricultural Science Research Journal* **6**:269–274.
- Mordor intelligence. 2021. Hydroponics market – Growth, Trends, Covid-19 Impact, and Forecast (2022-2027).
- Mosa KA, Ismail A, Helmy M. 2017. *Plant Stress Tolerance An Integrated Omics Approach*. Springer, Cham.
- Mouele ESM, Tijani JO, Badmus KO, Perea O, Babajide O, Zhang Ch, Shao T, Sosnin E, Tarasenko V, Fatoba OO, Laatikainen K, Petrik LF. 2021. Removal of Pharmaceutical Residues from Water and Wastewater Using Dielectric Barrier Discharge Methods – Review. *Int J Environ Res Public Health* **18**: 1683.
- Müller S. 1959. *Encyklopedie zelinářství, část speciální díl III.*, Československá akademie zemědělských věd. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Munns R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist* **167**:645–663.
- Nacif de Abreu I, Mazzafera P. 2005. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. *Plant Physiology and Biochemistry* **43**:241–248.
- Nzip.cz. 2024. Hlávkový salát. Available from: <https://www.nzip.cz/clanek/1010-hlavkovy-salat>
- Okon O G. 2019. Effect of Salinity on Physiological Processes in Plants. Pages 237–262.
- Orcutt DM, Nilsen ET, Lipp C, Semones S. 2000. *Physiology of Plants Under Stress: Soil and Biotic Factors*. Page (John Wiley & Sons NYork, editor).
- Opris O, Lung I, Soran ML, Ciorîță A, Copolovivi L. 2020. Investigating the effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on the composition and ultrastructure of green leafy vegetables with important nutritional values. *Plant Physiology and Biochemistry* **151**:342-351.

- Ortúzar M, Esterhuizen M, Olicón-Hernández DR, González-López J, Aranda E. 2022. Pharmaceutical Pollution in Aquatic Environments: A Concise Review of Environmental Impacts and Bioremediation Systems. *Microbiotechnology* **13**.
- Osvald J, Petrovic N, Demšar J. 2001. Sugar and organic acid content of tomato fruits (*Lycopersicon lycopersicum* mill.) grown on aeroponics at different plant density. *Acta Alimentaria* **30**:53–61.
- Paduch R, Kandefér-Szerszeń M, Trytek M, Fiedurek J. 2007. Terpenes: substances useful in human healthcare. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis* **55**:315–327.
- Parihar P, Singh S, Singh R, Singh VP, Prasad SM. 2015. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research* **22**:4056–4075.
- Parolini M. 2020. Toxicity of the Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) acetylsalicylic acid, paracetamol, diclofenac, ibuprofen and naproxen towards freshwater invertebrates: A review. *Science of The Total Environment* **740**:140043.
- Pawłowska B, Telesiński A, Biczak R. 2021. Effect of diclofenac and naproxen and their mixture on spring barley seedlings and *Heterocypris incongruens*. *Environ Toxicol Pharmacol* **88**:103746.
- Pietta P, Minoggio M, Bramati L. 2003. Plant Polyphenols: Structure, Occurrence and Bioactivity. Pages 257–312.
- Piri Eissa, Babaeian Mahdi, Tavassoli Abolfatz, Esmaeilian Yasser. 2011. Effects of UV irradiation on plants. *African Journal of Microbiology Research* **5**:1710–1716.
- Piwowarska D, Kiedrzyńska E. 2021. Xenobiotics as a contemporary threat to surface waters. *Ecohydrology & Hydrobiology* **23**.
- Prieto P, Pineda M, Aguilar M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry* **269**: 337-341.
- Pomoni DI, Koukou MK, Vrachopoulos MG, Vasiliadis LA. 2023. Review of Hydroponics and Conventional Agriculture Based on Energy and Water Consumption, Environmental Impact, and Land Use. *Energies* **16**:1690.
- Pospíšilová L, Fasurová N, Barančíková G, Liptaj T. 2008. Spectral characteristic of humic acids isolated from south Moravian lignaite and soils. *Petroleum and Coal* **50**:30–36.
- Procházka S. 1998. *Fyziologie rostlin*. Academia Praha.
- Ramachandra Rao S, Ravishankar GA. 2002. Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances* **20**:101–153.
- Ramakrishna A, Ravishankar G. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior* **6**:1720–1731.
- Rahman MM, Rahaman MS, Islam MR, Rahman F, Mithi FM, Alqahtani T, Almikhlaifi MA, Alghamdi SQ, Alruwaili AS, Hossain MS, Ahmed M, Das R, Emran TB, Uddin MS. 2021.

- Role of Phenolic Compounds in Human Disease: Current Knowledge and Future Prospects. *Molecules* **27**: 233.
- Resh H. 2013. Good agricultural practises for greenhouse vegetable crops. Soilless culture. National Center for Agricultural Research and Extension:303–355.
- Rontein D, Dieuaide-Noubhani M, Dufourc EJ, Raymond P, Rolin D. 2002. The Metabolic Architecture of Plant Cells. *Journal of Biological Chemistry* **277**:43948–43960.
- Ryan E, Galvin K, O'Connor TP, Maguire AR, O'Brien NM. 2007. Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. *Plant Foods for Human Nutrition* **62**:85–91.
- Sage TL, Bagha S, Lundsgaard-Nielsen NV, Branch HA, Sultmanis S, Sage SF. 2015. The effect of high temperature stress on male and female reproduction in plants. *Field Crops Research* **182**:30–42.
- Sajid ZA, Aftab F. 2022. Improvement of Polyethylene Glycol, Sorbitol, Mannitol, and Sucrose-Induced Osmotic Stress Tolerance through Modulation of the Polyamines, Proteins, and Superoxide Dismutase Activity in Potato. *International Journal of Agronomy* **2022**:1–14.
- Samantha A, Das SK, Das G. 2011. Roles of flavonoids in Plants. *Int J Pharm Sci Tech* **6**.
- Šamec D, Karalija E, Šola I, Vujčić Bok V, Salopek-Sondi B. 2021. The Role of Polyphenols in Abiotic Stress Response: The Influence of Molecular Structure. *Plants (Basel)* **10**: 118.
- Schröder P, Collins Ch. 2002. Conjugating Enzymes Involved in Xenobiotic Metabolism of Organic Xenobiotics in Plants. *International Journal of Phytoremediation* **4**:247–265.
- Seeram NP, Adams LS, Zhang Y, Lee R, Sand D, Scheuller HS, Heber D. 2006. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**:9329–9339.
- Seleiman M, Al-Suhaibani N, Ali N, Akmal M, Alotaibi M, Refay Y, Dindaroglu T, Abdul-Wajid HH, Battaglia ML. 2021. Drought Stress Impacts on Plants and Different Approaches to Alleviate Its Adverse Effects. *Plants* **10**:259.
- Selye H. 1936. A Syndrome produced by Diverse Nocuous Agents. *Nature* **138**:32–32.
- Selye H. 1998. A Syndrome Produced by Diverse Nocuous Agents. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* **10**:230–231.
- Sensorex. 2020. 6 Types of Hydroponic Systems Explained.
- Shahidi F, Pinaffi-Langley ACC, Fuentes J, Speisky H, de Camargo AC. 2021. Vitamin E as an essential micronutrient for human health: Common, novel, and unexplored dietary sources. *Free Radical Biology and Medicine* **176**:312–321.
- Sharma N, Acharya S, Kumar K, Singh N, Chaurasia OP. 2018. Hydroponics as an advanced technique for vegetable production: An overview. *Journal of Soil and Water Conservation* **17**:364–369.

- Sharma PK, Anand P, Sankhalkar S, Shety R. 1998. Photochemical and biochemical changes in wheat seedlings exposed to supplementary ultraviolet-B radiation. *Plant Science* **132**:21–30.
- Sheikh B. A. 2006. Hydroponics: Key to sustain agriculture in water stressed and urban environment. *Pakistan Journal of Agriculture, Agriculture Engeneering and Veterinary Sciences* **22**:53–57.
- Shrestha A, Dunn B. 2017. Hydroponics. Available from: <https://extension.okstate.edu/fact-sheets/hydroponics.html>.
- Shomali A, Das S, Arif N, Sarraf M, Zahra N, Yadav V, Aliniaiefard S, Chauhan DK, Hasanuzzaman M. 2022. Diverse Physiological Roles of Flavonoids in Plant Environmental Stress Responses and Tolerance. *Plants (Basel)* **11**: 3158.
- Siemieniuk A, Ludynia M, Rudnicka M. 2021. Response of Two Crop Plants, *Zea mays* L. and *Solanum lycopersicum* L., to Diclofenac and Naproxen. *International Journal of Molecular Sciences* **22**:8856.
- Silvestre AJD, Gandini A. 2008. Terpenes: Major Sources, Properties and Applications. Pages 17–38 *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*. Elsevier.
- Singla RK, Dubey AK, Garg A, Sharma RK, Fiorino M, Ameen SM, Haddad MA, Al-Hiary M. 2019. Natural Polyphenols: Chemical Classification, Definition of Classes, Subcategories, and Structures. *Journal of AOAC International* **102**:1397–1400.
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture* **16**: 144-158.
- Slatnar A, Jakopic J, Stampar F, Veberic R, Jamnik P. 2012. The Effect of Bioactive Compounds on In Vitro and In Vivo Antioxidant Activity of Different Berry Juices. *PLoS ONE* **7**: e47880.
- Soma F, Takahashi F, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. 2021. Cellular Phosphorylation Signaling and Gene Expression in Drought Stress Responses: ABA-Dependent and ABA-Independent Regulatory Systems. *Plants* **10**:756.
- Sophia AC, Lima EC. 2018. Removal of emerging contaminants from the environment by adsorption. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **150**: 1–17.
- Sousa B, Lopes J, Leal A, Martins M, Soares C, Valente IM, Rodrigues JA, Fidalgo F, Teixeira J. 2019. Response of *Solanum lycopersicum* L. to diclofenac–Impacts on the plant’s antioxidant mechanisms. *Environ. Pollut.* **258**:113762.
- Sreenivasulu N, Fernie AR. 2022. Diversity: current and prospective secondary metabolites for nutrition and medicine. *Current Opinion in Biotechnology* **74**:164–170.
- Šrot R. 1999. 1000 dobrých rad zahrádkářům. Nakladatelství Brázda s. r. o. , Praha.
- Stabilis. 2024, April. Diclofenac. Available from <https://www.stabilis.org/Monographie.php?IdMolecule=517&codeLangue=CZ-cz> (accessed April 7, 2024).

- Štefanac T, Grgas D, Dragičević. Xenobiotics-Division and Methods of Detection: A Review. *Xenobiot* 11: 130-141.
- Stevenson SR et al. 2016. Genetic analysis of *Physcomitrella patens* identifies ABSCISIC ACID NON-RESPONSIVE (ANR), a regulator of ABA responses unique to basal land plants and required for desiccation tolerance. *The Plant Cell*: tpc.00091.2016.
- Sudhakaran M, Sardesai S, Doseff AI. 2019. Flavonoids: New Frontier for Immuno-Regulation and Breast Cancer Control. *Antioxidants* **8**:103.
- Tetali SD. 2019. Terpenes and isoprenoids: a wealth of compounds for global use. *Planta* **249**:1–8.
- Todd PA, Sorkin EM. 1988. Diclofenac Sodium. *Drugs* **35**:244–285.
- Tsachina M, Moisa C, Lupitu A, Copolovici DM, Copolovici L. 2022. Influence of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) on Photosynthetic Parameters and Secondary Metabolites of Plants from Fabaceae Family. *Appl. Sci.* **12**:6326.
- Tsanova-Savova S, Ribarova F, Petkov V. 2018. Quercetin content and ratios to total flavonols and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Bulg Chem Commun* 50: 69-73.
- United Nations. World Population Prospects: The 2000 Revision—Highlights; ESA/P/WP.165; United Nations: New York, NY, USA. 2001. Available from: <http://enerpedia.net/images/2/2c/Wpp2000h.pdf> (accessed on 28 November 2001).
- Vavilov NI. 1951. The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. *Chron. Bot.* **13**:32–51.
- Velazquez-Gonzalez, Roberto, Garcia-Garcia, Adrian, Ventura-Zapata, Elsa, Barceinas – Sanchez, Jose & Sosa, Julio. 2022. A Review on Hydroponics and the Technologies Associated for Medium –and Small-Scale Operations. *Agriculture*. DOI: 12.646.10.3390/agriculture12050646.
- Verpoorte R, Contin A, Memelink J. 2002. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochemistry Reviews* **1**:13–25.
- Vieno N, Sillanpää M. 2014. Fate of diclofenac in municipal wastewater treatment plant — A review. *Environment International* **69**:28–39.
- Wan J, Griffiths R, Ying J, McCourt P, Huang Y. 2009. Development of Drought-Tolerant Canola (*Brassica napus* L.) through Genetic Modulation of ABA-mediated Stomatal Responses. *Crop Science* **49**:1539–1554.
- Waśkiewicz A, Muzolf-Panek M, Goliński P. 2013. Phenolic Content Changes in Plants Under Salt Stress. *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress* 283–314.
- Widhalm JR, Dudareva N. 2015. A Familiar Ring to It: Biosynthesis of Plant Benzoic Acids. *Molecular Plant* **8**:83–97.
- Xia L, Zheng L, Zhou JL. 2017. Effects of ibuprofen, diclofenac and paracetamol on hatch and motor behavior in developing zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere* **182**: 416-425.

- Yang Ch, Song G, Lim W. 2020. A review of the toxicity in fish exposed to antibiotics. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* **237**.
- Yang L, Yang L, Ruan X, Zhao YX, Wei F, Wang Q. 2018. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules* **21**:1–26.
- Yang T, Shad Ali G, Yang L, Du L, Reddy ASN, Poovaiah BW. 2010. Calcium/calmodulin-regulated receptor-like kinase CRLK1 interacts with MEKK1 in plants. *Plant Signaling & Behavior* **5**:991–994.
- You Q, Chen F, Wang X, Jiang Y, Lin S. 2012. Anti-diabetic activities of phenolic compounds in muscadine against alpha-glucosidase and pancreatic lipase. *LWT - Food Science and Technology* **46**:164–168.
- Zezulka Š, Kummetová M, Babula P, Hájková M, Oravec M. 2019. Sensitivity of physiological and biochemical endpoints in early ontogenetic stages of crops under diclofenac and paracetamol treatments. *Environmental Science and Pollution Research* **26**:3965–3979.
- Zhang Ch, Barron L, Sturzenbaum S. 2021. The transportation, transformation and (bio)accumulation of pharmaceuticals in the terrestrial ecosystem. *Science of The Total Environment* **781**.
- Zhang Y, Geißen SU, Gal C. 2008. Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere* **73**:1151–1161.
- Zhanyuan D, Bramlage WJ. 1992. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **40**: 1566-1570.
- Zorita S, Mårtensson L, Mathiasson L. 2009. Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden. *Science of The Total Environment* **407**:2760–2770.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

AAA – Ekvivalent askorbové kyseliny

ABA – Abscisová kyselina

ALA – Kyselina linolenová

ASA – acetylsalicylová kyselina

ATP – Adenosintrifosfát

BR – Brassinosteroidy

CAE – Ekvivalent kávové kyseliny

CaM – Kalmuduliny

CDPK – Proteinkinázy

ČOV – čistírny odpadních vod

DCF – Diklofenak

DNA – Deoxyribonukleová kyselina

EC – Elektrická vodivost

FAPPZ – Fakulta agrobiologie, přírodní a potravinových zdrojů

GA – Giberelová kyselina

GAE – Ekvivalen gallové kyseliny

GAS – General alarm syndrom

IBU – Ibuprofen

JP – Jupiter

KBFR – Katedra botaniky a fyziologie rostlin

KM – Král Máje

KVO – Kardiovaskulární onemocnění

LA – Kyselina linolová

LDL – Lipoproteiny o nízké hustotě

MDA – Malondialdehyd

NEK – Norma environmentální kvality

NSAID – Nesteroidní protizánětlivá léčiva

NPX – Naproxen
PAC – Celkový obsah fenolických kyselin
PAP – Antioxidační aktivita
PCM – Paracetamol
PUFA – Polynenasycené mastné kyseliny
QE – Ekvivalent kvercetinu
ROS – Reaktivní formy kyslíku
RSN – Reaktivní formy dusíku
SA – Salicylová kyselina
SFA – Nasycené mastné kyseliny
TCA – Citrátový cyklus
TFC – Celkový obsah flavonoidů
TPC – Celkový obsah fenolů
UV-B – Ultrafialové sluneční záření, spektrum B

10 Seznam obrázků a tabulek

- Obrázek č. 1 – Důležité růstové fáze salátu (upraveno dle Maier et al. 2009).
- Obrázek č. 2 – Základní chemická struktura flavonoidů (Sudhakaran et al. 2019).
- Obrázek č. 3 – Rozdělení flavonoidů dle chemické struktury (Daglia 2012).
- Obrázek č. 4 – Příklad zástupců fenolových kyselin (Adisakwattana 2017; Widhalm & Dudareva 2015).
- Obrázek č. 5 – Příklad zástupců stilbenů (Croizer et al. 2006).
- Obrázek č. 6 – Chemická struktura tokoferolů a tokotrienolů (Shahidi et al. 2021)
- Obrázek č. 7 – Příklad chemické struktury steroidů (Gunaherath & Gunatilaka 2014).
- Obrázek č. 8–6 typů hydroponických systémů (Lee a Lee 2015).
- Obrázek č. 9 – Vstup diklofenaku do prostředí (Kotyza et al. 2009).
- Obrázek č. 10 – Chemická struktura diklofenaku (Stabilis 2024).
- Obrázek č. 11 – Fáze rostlinného stresu na fyziologické i molekulární úrovni (přeloženo dle Mosa et al. 2017).
- Obrázek č. 12 – Rozdělení stresových faktorů (Procházka et al. 1998).
- Obrázek č. 13: Zjednodušené znázornění dráhy vápníku a oxidu dusného při toleranci vůči stresu (Khan 2014).
- Obrázek č. 14 - Založení pokusu 1. března 2024 a konec pokusu 17. května (autor 2023).

Tabulka č. 1 – Přehled osevních ploch, sklizně, spotřeby a dovozu salátu v ČR (Aegri.cz).

Tabulka č. 2 – Popis látek obsažených ve 100 g listového salátu (Nzip. cz).

Graf č. 1: Celkový obsah malondialdehydu (MDA) v závislosti na aplikované dávce DCF (V1: 10 mg/l; V2: 100 mg/l) u odrůdy 'Král Máje' (modrá) a 'Jupiter' (šedá). A–1. měření, B–2. měření, C–3. měření, D–4. měření. Sloupce se stejnými písmeny vyjadřují výsledky, kde nebyly statisticky průkazné rozdíly dle provedeného ANOVA testu s následujícím post-hoc testem. Hodnoty představují průměr 3 měření \pm SD.

Graf č. 2: Celkový obsah flavonoidů v závislosti na aplikované dávce DCF (V1: 10 mg/l; V2: 100 mg/l) u odrůdy 'Král Máje' (modrá) a 'Jupiter' (šedá). A–1. měření, B–2. měření, C–3. měření, D–4. měření. Sloupce se stejnými písmeny vyjadřují výsledky, kde nebyly statisticky průkazné rozdíly dle provedeného ANOVA testu s následujícím post-hoc testem. Hodnoty představují průměr 3 měření \pm SD.

Graf č. 3: Celková antioxidační aktivita v závislosti na aplikované dávce DCF (V1: 10 mg/l; V2: 100 mg/l) u odrůdy 'Král Máje' (modrá) a 'Jupiter' (šedá). A–1. měření, B–2. měření, C–3. měření, D–4. měření. Sloupce se stejnými písmeny vyjadřují výsledky, kde nebyly statisticky průkazné rozdíly dle provedeného ANOVA testu s následujícím post-hoc testem. Hodnoty představují průměr 3 měření \pm SD.

Graf č. 4: Celkový obsah fenolických kyselin v závislosti na aplikované dávce DCF (V1: 10 mg/l; V2: 100 mg/l) u odrůdy 'Král Máje' (modrá) a 'Jupiter' (šedá). A–1. měření, B–2. měření, C–3. měření, D–4. měření. Sloupce se stejnými písmeny vyjadřují výsledky, kde nebyly statisticky průkazné rozdíly dle provedeného ANOVA testu s následujícím post-hoc testem. Hodnoty představují průměr 3 měření \pm SD.

Graf č. 5: Celkový obsah fenolů v závislosti na aplikované dávce DCF (V1: 10 mg/l; V2: 100 mg/l) u odrůdy 'Král Máje' (modrá) a 'Jupiter' (šedá). A–1. měření, B–2. měření, C–3. měření, D–4. měření. Sloupce se stejnými písmeny vyjadřují výsledky, kde nebyly statisticky průkazné rozdíly dle provedeného ANOVA testu s následujícím post-hoc testem. Hodnoty představují průměr 3 měření \pm SD.

11 Přílohy



Příloha č. 1: Odrůda 'Jupiter' a 'Král Máje' (Foto autorka 2023)