

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra chemie



**Vliv kadmia na obsah nutričně významných látek ve
vybrané odrůdě ječmene**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Luboš Paznocht

Vedoucí práce: Ing. Hana Vodičková, Ph.D.

© 2015 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv kadmia na obsah nutričně významných látek ve vybrané odrůdě ječmene" jsem vypracoval 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 autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 8. dubna 2015

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval paní Ing. Haně Vodičkové, Ph.D. za veškerou pomoc při psaní této práce a zpracování výsledků analýz. Můj dík patří paní Ing. Brigitě Zámečnickové, Ph.D. za skvělou realizaci pěstebního pokusu v rámci praktické části diplomové práce a dále také Ing. Zoře Kotíkové, Ph.D. a Ing. Daniele Miholové, CSc. za pomoc při stanovení vybraných minerálních látek. Poděkovat za veškerou podporu bych chtěl také celé rodině a přítelkyni.

Vliv kadmia na obsah nutričně významných látek ve vybrané odrůdě ječmene

Souhrn

Obiloviny jsou významným zemědělským produktem, jenž značnou měrou přispívá k zajištění nutričních potřeb člověka. Jsou bohatým zdrojem energie v podobě sacharidů, dále proteinů, vlákniny, vitamínu E, vitaminů skupiny B, hořčíku, zinku a dalších minerálních látek. Kadmium je pro rostliny neesenciálním toxickým těžkým kovem, který je rostlinami, navzdory své škodlivosti, snadno přijímán a kumulován. Jeho přítomnost v živném prostředí je jedním z rostlinných abiotických stresových faktorů. Důsledkem jeho působení jsou četné morfologicko-anatomické, fyziologické a biochemické změny. Jde například o změny ve funkcích kořenů a listů, narušení fotosyntézy, respiračního řetězce, příjmu živin, dále kvetení, embryogeneze a tvorby semen, což má v konečném důsledku vliv na výnos a kvalitu výsledného produktu. Těžké kovy také zvyšují produkci reaktivních forem kyslíku, čímž vyvolávají oxidační stres.

Tato práce je zaměřena na kadmium, jakožto významný polutant životního prostředí, jeho vliv na rostlinný metabolismus a změnu v obsahu nutričně významných látek (celkový obsah proteinů, některých volných aminokyselin a také esenciálních minerálních prvků – železa, zinku, mědi a manganu). Pro ověření vlivu kadmia na obsah těchto nutričně významných látek byl proveden laboratorní pěstební pokus s rostlinkami ječmene jarního (*Hordeum sativum* L. cv. Sebastian). Rostliny ječmene byly pěstovány hydroponicky ve dvou variantách (kontrolní a pokusné) v průběhu růstu bylo rostlinám pokusné varianty do živného roztoku přidáno kadmium v podobě chloridu kademnatého o koncentraci 10^{-5} mol.l⁻¹. Ve fázi třetího listu byly rostliny sklizeny a rozděleny na kořeny a nadzemní část, která byla dále rozdělena na stonky, první (nejstarší), druhé a třetí (nejmladší) listy. V těchto rostlinných částech byly stanoveny obsahy celkových ve vodě rozpustných proteinů, volných aminokyselin, esenciálních minerálních prvků (Cu, Zn, Fe a Mn) a Cd. V rostlinách pokusné varianty byl ve všech částech zaznamenán nárůst celkového obsahu ve vodě rozpustných proteinů. V biomase kořenů byl zaznamenán nárůst o 77,8 %, v bázích stonků o 34,9 % a ve třetích listech o 33,4 %. V důsledku přítomnosti kadmia došlo k ovlivnění obsahu všech sledovaných volných aminokyselin. Nejvýznamnější vliv kadmia byl pozorován v kořenech a třetích (nejmladších) listech. V kořenech došlo k výraznému snížení obsahu všech

aminokyselin, ve třetích listech naopak k významnému zvýšení obsahu některých aminokyselin. V kořenech došlo k efektivnímu zadržení kadmia, jeho obsah v nadzemních částech (bázích stonků, prvním, druhém, třetím listu) představoval pouhých 2,6 %, 1,8 %, 1,7 % a 1,4 % v porovnání s množstvím nalezeným v kořenech. Ve všech analyzovaných částech rostlin ječmene pokusné varianty byl, v porovnání s variantou kontrolní, zjištěn pokles obsahu železa. Nejvýraznější pokles byl zaznamenán v prvním listu a kořenech (o 47,0 % a 41,0 %). Dále byl ve všech částech (kromě prvních listů) zaznamenán nárůst obsahu zinku. Nejvyšší nárůst byl zjištěn v bázích stonků a třetích listech 70,2 % a 77,2 %). Co se týče mědi, v kořenech došlo ke značnému nárůstu (o 112,1 %) naopak výrazné snížení obsahu mědi bylo zaznamenáno v prvních a druhých listech (o 44,4 % a 40,9 %). V případě obsahu manganu byl, kromě prvních listů zaznamenán pokles, zvláště výrazný pak v třetích listech (o 79,0 %).

Klíčová slova: Obiloviny, nutričně významné látky, kadmium, HPLC

The effect of cadmium on the levels of nutritionally important substances in selected variety of barley

Summary

The cereals are a very important agriculture product which significantly contributes to securing of human nutrient needs. They are a good source of energy (in the form of carbohydrates), proteins, dietary fiber, vitamin E and vitamins of B complex, magnesium, zinc and other minerals. Cadmium is a non-essential toxic heavy metal, which is readily uptaken and accumulated by plants in spite of its harmful effects. The presence of this metal in a nutrient solution is a stress factor for the plants. It results in many morphological, anatomical, physiological and biochemical changes in plants. It comprises, for example, changes in the functions of roots and leaves, disruption of photosynthesis, respiration chain, nutrient uptake, flowering, embryogenesis and seed formation. In the end it has an influence on the yield and the quality of the final product. Heavy metals also induce a formation of reactive oxygen species and the oxidative stress.

This work is focused on cadmium, a serious pollutant in the environment, and its effect on the plant metabolism and the changes in the content of nutritionally important compounds (protein content, amount of some free amino acids and some metals – iron, zinc, copper and manganese). A laboratory experiment with barley seedlings (*Hordeum sativum* L. cv. Sebastian) was performed. There were two groups of seedlings – the control (without cadmium) and the experimental group (treated with cadmium in the concentration of $1 \cdot 10^{-5}$ mol.l⁻¹). After 11 days of exposure to cadmium – at the stage of the third leaf, the seedlings were harvested and divided into roots. The above-ground part was further separated into stems, the first (oldest), the second and the third (youngest) leaves. These samples were analyzed for the content of soluble proteins, free amino acids and the content and the distribution of the essential elements (Cu, Zn, Fe, and Mn) and Cd in plants. There was an increase found in the soluble protein content in all the tissues of cadmium-treated seedlings. It increased by 77,8 % in the roots, by 34,9 % in the stems and by 33,4 % in the third (youngest) leaves. It was observed a changes in amounts of all monitored free amino acids due to the presence of cadmium. The biggest influence was observed in the roots and in the third (youngest) leaves. There was significantly decreased an amount of all the amino acids in the roots, but on the other hand the content of most of free amino acids in the third leaves was

considerably highest compared to control. Cadmium was effectively retained in the roots. The amount of this metal in above-ground tissues (the stem; the first, the second and the third leaf) was only 2,6 %, 1,8 %, 1,7 % and 1,4 % respectively compared to the root cadmium content. There was a decrease found in the iron content in all the parts of cadmium-treated seedlings. The most effective reduction was observed in the first (the oldest) leaf and the roots (decrease by 47,0 % and 41,0 % respectively). There was an increase observed in the zinc content in all the plant tissues (except of the first leaves) of cadmium-treated plantlets. The highest increase was found in the stems and in the third leaves (increase by 70,2 % and 77,2 % respectively). The copper content in the root tissue increased by 112,1 %, on the other hand a significant decrease (by 44,4 % and 40,9 % respectively) in the first and the second leaves was observed. There was a decrease detected in the manganese content in all the plant tissues (with the exception of the first leaves), a particularly strong decrease (by 79,0 %) was found in the third leaves.

Keywords: Cereals, nutritionally important substances, cadmium, HPLC

1 Obsah

2 Úvod.....	9
3 Cíl práce.....	11
Teoretická část práce.....	13
4 Obiloviny.....	13
4.1 Historie a využití ječmene.....	13
4.2 Nutriční význam obilovin (ječmene) v lidské dietě, chemické složení zrna.....	14
4.2.1 Sacharidy	14
4.2.2 Proteiny.....	15
4.2.3 Lipidy.....	17
4.2.4 Minerální látky a vitaminy.....	17
4.2.4.1 Význam vybraných esenciálních prvků ve výživě člověka.....	18
5 Stresové podmínky pěstování plodin.....	19
5.1 Těžké kovy jako stresový faktor	21
5.2 Ostatní stresové faktory – radiace, extrémní teploty, nedostatek kyslíku v rhizosféře, sucho.....	24
6 Vliv kadmia na obsah nutričně významných látek.....	26
6.1 Vliv kadmia na obsah proteinů	27
6.2 Vliv kadmia na obsah volných aminokyselin.....	29
6.2.1 Aminokyselina prolin	30
6.2.2 Ostatní aminokyseliny	31
6.3 Vliv kadmia na obsah esenciálních minerálních prvků – Fe, Zn, Mn, Cu ..	32
7 Kadmium v potravinovém řetězci	34
Praktická část práce	36
8 Materiál a metodika práce	36
8.1.1 Chemikálie	36
8.1.1.1 Stanovení celkového obsahu ve vodě rozpustných proteinů.....	36
8.1.1.2 Stanovení obsahu volných aminokyselin	36
8.1.1.3 Stanovení obsahu vybraných prvků	36
8.1.2 Instrumentace.....	36
8.1.2.1 Stanovení celkového obsahu ve vodě rozpustných proteinů.....	36
8.1.2.2 Stanovení obsahu volných aminokyselin	37
8.1.2.3 Stanovení obsahu vybraných prvků	37
8.1.3 Pracovní postup.....	37
8.1.3.1 Metodika laboratorního pokusu	37

8.1.3.2	Metodika laboratorních prací	40
8.1.3.3	Zpracování výsledků	43
9	Výsledky	44
9.1	Stanovení obsahu kadmia	44
9.2	Stanovení celkového obsahu ve vodě rozpustných proteinů	45
9.3	Stanovení obsahu volných aminokyselin.....	49
9.4	Stanovení obsahu vybraných prvků	55
9.4.1	Stanovení obsahu železa	55
9.4.2	Stanovení obsahu zinku	56
9.4.3	Stanovení obsahu mědi	57
9.4.4	Stanovení obsahu manganu	59
9.4.5	Vliv kadmia na obsah Fe, Zn, Cu, Mn.....	63
10	Diskuse	64
11	Závěr.....	70
12	Seznam bibliografie:	72
13	Seznam použitých zkratk.....	82

2 Úvod

Kadmium je toxickým těžkým kovem a významným polutantem životního prostředí (Abdel-Latif, 2008). Ačkoliv jsou přirozeně koncentrace kadmia v půdě nízké, obsah tohoto

prvku se v důsledku mnoha lidských zásahů (aplikace hnojiv nebo čistírenských kalů obsahujících kadmium) stále zvyšuje (Zhang et al., 2002). Kadmium, navzdory tomu, že není pro rostliny esenciálním prvkem, je jimi snadno přijímáno a kumulováno (Abdel-Latif, 2008; Eker et al., 2013). Svou kumulací v rostlinných produktech tak může představovat významné riziko v potravním řetězci (Zhang et al., 2002), navíc v důsledku jeho vysoké toxicity negativně ovlivňuje růst a vývoj rostlin. Je schopné inaktivovat enzymy prostřednictvím vazby s thiolovými skupinami proteinů, může ovlivňovat příjem některých živin (Abdel-Latif, 2008) změnami permeability plasmatické membrány (Dong et al., 2006; Eker et al., 2013). Kadmium například inhibuje Fe^{3+} reduktasu v kořenech rostlin, čímž snižuje příjem Fe^{2+} iontů, nebo ovlivňuje kořenový příjem a následnou translokaci nitrátů z kořenů do nadzemních částí snížením aktivity enzymu nitrát reduktasy v kořenech (Benavides et al., 2005). Dalším z negativních důsledků působení kadmia je oxidativní stres rostlin buď v důsledku produkce volných kyslíkových radikálů či snížením množství enzymatických a neenzymatických antioxidantů (Benavides et al., 2005; Abdel-Latif, 2008).

Zemědělské plodiny pěstované v lokalitách s vysokými koncentracemi kadmia v půdě vykazují řadu fyziologických poruch jako je snížení obsahu chlorofylu, sacharidů, proteinů, s tímto spojený pokles intenzity fotosyntézy a v konečném důsledku i redukce výnosů (Zhang et al., 2002). Kadmium inhibuje normální příjem, translokaci a využití esenciálních minerálních látek (např. železa, manganu, zinku, mědi, hořčíku) (Skrebsky et al., 2008; Parmar et al., 2013). Zrno ovlivněné abiotickými stresory má často změněnou anatomickou stavbu i chemické složení. Dochází ke změnám v obsahu škrobu, bílkovin, tuků, některých cukrů, minerálních látek a vitaminů (Bláha a kol., 2002; Bláha a Sychrová, 2003).

Výsledný obsah minerálních látek v obilovinách je ovlivňován mnoha faktory, jde mimo jiné o množství živin přijímané kořeny (v závislosti na biologické dostupnosti z půdy) a následně schopnost redistribuce v rámci rostliny z vegetativních částí prostřednictvím floému v průběhu vývoje a tvorby zrna (Garnett a Graham, 2005; Borg et al., 2009). Během dozrávání dochází k významnému přesunu minerálních látek (železa, zinku) ze zásobních míst ve vegetativních částech rostliny do obilek (Teklić et al., 2013). Je-li v daném období omezena dostupnost těchto prvků z živného prostředí, je pak pro jejich kumulaci v konečném produktu rozhodující právě tato remobilizace (Teklić et al., 2013). Kadmium ovlivňuje také asimilaci dusíku v kořenech rostlin, prostřednictvím změny aktivity enzymu nitrátoreduktasy a nitritoreduktasy (Dinakar et al., 2008). Aminokyseliny, jakožto výsledek asimilace dusíku

v kořenech jsou s transpiračním tokem prostřednictvím xylému transportovány do starších listů. Odtud jsou společně se zde syntetizovanými aminokyselinami odváděny floémem do pletiv závislých na jejich importu, jako jsou semena, vyvíjející se listy a kořeny (Bush, 1999).

3 Cíl práce

Cílem této diplomové práce bylo:

- ověřit vliv kadmia na změny v obsahu nutričně významných látek v rostlinách ječmene pěstovaných v hydroponickém roztoku za definovaných podmínek

- stanovit obsah kadmia v jednotlivých částech rostlin ječmene metodou ETA-AAS a ICP-OES
- stanovit v jednotlivých částech rostlin ječmene obsah ve vodě rozpustných proteinů spektrofotometrickou metodou, metodou HPLC stanovit obsah volných aminokyselin, metodou ICP-OES stanovit obsah železa, zinku, mědi a manganu
- sledovat změny v obsazích zmíněných látek v důsledku kultivace v živném roztoku s obsahem kadmia

Hypotéza:

Kadmium jako toxický prvek indukuje v živém organismu změny v metabolických přeměnách nutričně významných látek se strukturou proteinů.

Teoretická část práce

4 Obiloviny

Obiloviny jsou velmi významným zemědělským produktem, který se celosvětově velkou měrou podílí na zajištění obživy lidí (Vasal, 2004). Obiloviny jsou jedlými semeny či zrny rostlin čeledi *Gramineae*. Patří sem rýže, pšenice, ječmen, žito, oves, triticales, kukuřice dále čirok a proso. Přičemž pšenice a rýže tvoří více než 50 % celosvětové produkce obilovin (McKevith, 2004), která v roce 2000 představovala asi 2060 milionů tun sklizených z celkové plochy okolo 675 milionů hektarů (Vasal, 2004). Největší mírou se na úhradě nutričních potřeb lidské populace podílí rýže, kukuřice, pšenice a ječmen (Teklić et al., 2013). Důležitým zdrojem potravy jsou obilniny díky svým vysokým výnosům (celosvětově okolo 3 t/ha) a dobrým nutričním vlastnostem. Další výhodou je nízká vlhkost v období sklizně (cca. 12 %) a také snadné skladování a transport. V různých částech světa nabyly na významu, v důsledku odlišných klimatických i přírodních podmínek pro růst, různé druhy obilnin (Morris a Bryce, 2000).

4.1 Historie a využití ječmene

Divoký ječmen byl pěstován na Středním Východě již kolem roku 10 000 př. n. l. (McKevith, 2004). Z oblasti tzv. úrodného půlměsíce se následně postupně rozšířil do celého světa. Příběhy zmiňující ječmen a pokrmy z ječmene připravené se objevují v nejstarší řecké, indické, židovské, mezopotámské i čínské mytologii. Ječné kaše byly běžnou součástí jídelníčku starověkých Řeků a Římanů, podávána byla i gladiátorům před zápasem v aréně jako posilující pokrm. O tehdejší obrovském významu svědčí i použití ječných obilek jako nejmenší váhové a délkové jednotky či měny. Na území dnešní České republiky je dle archeologických nálezů ječmen pěstován již asi 5 000 let. Běžným pokrmem ve středověké Evropě byl chléb pečený z ječné a žitné mouky. Později byl ječmen nahrazen pšenicí (Příhoda a kol., 2012). Celosvětově zaujímá ječmen v množství produkce čtvrté místo za kukuřicí, pšenicí a rýží (Newman a Newman, 2008). Dnes je převážná většina vypěstovaného ječmene krmivem pro hospodářská zvířata či surovinou pro výrobu sladu a následně piva nebo whisky (McKevith, 2004), dále lihu, škrobu, detergentů, kosmetických a farmaceutických přípravků (Zimolka a kol., 2006). Pouze malá část je přímo potravou pro člověka - ječné kroupy, mouka na pečení chleba, kaše (McKevith, 2004). Poptávka po potravinářském ječmeni však

v posledních letech stoupá a to zejména v souvislosti s prokázáním jeho hypocholesterolemického účinku díky obsahu β -glukanů, vlákniny a antioxidantů (Zimolka a kol., 2006). Historicky byl, a stále ještě je, ječmen stěžejním zdrojem potravy v mnoha částech světa (Střední Východ, severní Afrika, severní a východní Evropa, Asie) (Baik a Ullrich, 2008).

4.2 Nutriční význam obilovin (ječmene) v lidské dietě, chemické složení zrna

Obiloviny jsou stěžejní součástí lidské stravy, patří k vůbec nejstarším potravinám (Prugar a kol., 2008). Pro člověka jsou bohatým zdrojem energie v podobě sacharidů, dále proteinů, vlákniny, vitamínu E, vitaminů skupiny B, hořčíku, zinku (McKevith, 2004) a dalších minerálních látek, které jsou obsaženy také v jiných potravinách, třeba i ve vyšších koncentracích, ale spotřebou se obilovinám zdaleka nevyrovnají (Prugar a kol., 2008). O podstatnou část minerálních látek a vitaminů jsou nicméně ochuzovány během mlýnského zpracování (Poletti et al., 2004). Z nutričního hlediska je významný také obsah potravinové vlákniny (celulóza, hemicelulóza, lignocelulóza) (Prugar, 2002a). Nadměrný příjem okrajových částí zrna však představuje i určitá rizika spojená s možnou kontaminací těžkými kovy a řadou dalších nežádoucích látek. S rostoucím obsahem vlákniny ve výrobcích z obilovin se zvyšuje i obsah kyseliny fytové (Prugar, 2002b), obsažené v aleuronové vrstvě a obalech zrna ječmene (Zimolka a kol., 2006), která tvorbou nerozpustných komplexů s Ca, Mg, Fe, Zn, Cu snižuje jejich využitelnost z potravy (Prugar, 2002b).

4.2.1 Sacharidy

Obiloviny jsou velmi významným zdrojem sacharidů. Zrno je jimi tvořeno ze 75 % (McKevith, 2004) až 80 % (Newman a Newman, 2008). Mezi polysacharidy přítomné v obilce patří škrob (rozpuštěné polysacharidy) a neškrobové (nerozpuštěné) polysacharidy jako celulóza, β -glukany a arabinoxylany, které jsou součástí vlákniny, protože nejsou stravitelné lidským trávicím traktem. Za součást komplexu sacharidů je kvůli své úzké vazbě na celulosu považován i lignin. V malých množstvích (méně než 0,2 %) jsou přítomny i monosacharidy (glukosa a fruktosa) a disacharid sacharosa (Newman a Newman, 2008).

Ječná obilka obsahuje 65-68 % škrobu (Zimolka a kol., 2006; Baik a Ullrich, 2008), který je ve formě škrobových zrn různých velikostí (malých 2 – 4 μm a velkých 15 – 25 μm)

uložen v endospermu obilky (McKevith, 2004; Newman a Newman, 2008). Škrob většiny odrůd ječmene je tvořen ze 72 – 78 % amylopektinem a z 22 – 28 % amylosou (Newman a Newman, 2008), poměr těchto dvou frakcí se však může měnit v důsledku šlechtění (Zimolka a kol., 2006).

4.2.2 Proteiny

Obiloviny jsou také důležitým zdrojem proteinů v lidské dietě (Shewry, 2007), jelikož představují až 50 % z celkového množství bílkovin konzumovaného člověkem, přičemž v rozvojových zemích se mohou na úhradě dietních potřeb bílkovin člověka podílet až z více než 70 % (Galili a Larkins, 1999). Obiloviny se však obsahem bílkovin navzájem liší (obvyklý obsah v sušině 6 – 15 %), rýže 7 %, kukuřice 9-10 %, o něco vyšším obsahem bílkovin, okolo 12 %, se vyznačuje pšenice a oves. Obsah bílkovin v ječné obilce se pohybuje v rozmezí 9-13 % (Newman a Newman, 2008), někdy dokonce až 16 % a jejich hlavní podíl je uložen v aleuronové vrstvě obilky (Prokeš, 2000). Obsah bílkovin je stanovován jako tzv. hrubý protein dle obsahu dusíku, avšak přímo z proteinů (resp. L-aminokyselin) pochází 80 – 85 % takto zjištěného dusíku, zbylých 15 – 20 % je dáno obsahem nebílkovinných dusíkatých látek. Obsah proteinů a aminokyselin je silně ovlivňován jak geneticky tak i přírodními podmínkami růstu, přičemž větší vliv mají právě podmínky růstu. Největší vliv na obsah proteinů má obsah využitelného dusíku v půdě. Celkový obsah aminokyselin se zvyšuje s proteosyntézou za přítomnosti dostatečného množství půdního dusíku a vlhkosti, avšak není zvyšován úměrně působením každého tohoto faktoru samostatně (Newman a Newman, 2008).

Kvalita proteinu je dána poměrem v zastoupení esenciálních a neesenciálních aminokyselin (Sun, 1999; Newman a Newman, 2008) a jejich biologickou dostupností (Sun, 1999). Pro člověka esenciálními aminokyselinami jsou methionin, leucin, lysin, fenylalanin, threonin, tryptofan, izoleucin a valin. Tyto aminokyseliny není lidské tělo schopno samo syntetizovat, a tudíž musí být přijímány ve stravě, nejlépe ve vhodném vzájemném poměru (Sun, 1999). Kvůli nerovnováze v aminokyselinovém složení jsou bílkoviny obilovin celkově méně nutričně hodnotné (Vasal, 2004). Limitujícími aminokyselinami v ječmeni jsou lysin (McKevith, 2004; Shewry, 2007; Newman a Newman, 2008), treonin, methionin a tryptofan (Vasal, 2004; Newman a Newman, 2008). Nízký obsah lysinu je dán nepatrným zastoupením esenciálního lysinu v prolaminech (necelé 1 %), které představují až 50 % celkového obsahu bílkovin. Jeho deficit je ještě více prohlubován aplikací extra dávek dusíkatých hnojiv kvůli zvýšení celkového obsahu bílkovin v zru. Přebytek dusíku je totiž začleněn právě do

obilných prolaminů (Shewry, 2007), jenž se vyznačují vysokým zastoupením neesenciálních aminokyselin (kyseliny glutamové, prolinu, glutaminu) a naproti tomu nízkými obsahy esenciálních aminokyselin, zejména lysinu, treoninu (Galili a Larkins, 1999; Newman a Newman, 2008) a tryptofanu, které patří mezi aminokyseliny pro člověka esenciální (Galili a Larkins, 1999). Byly však vyšlechtěny odrůdy ječmene, které obsahují až 5-6 % lysinu, což je o 2-3 % více než běžné odrůdy (Baik a Ullrich, 2008).

Obilné proteiny je možné klasifikovat na základě jejich rozpustnosti v různých rozpouštědlech do čtyř skupin – albuminy, globuliny, prolaminy a gluteliny. Albuminy a globuliny jsou rozpustné ve vodě a zředěných roztocích solí, prolaminy ve vodných roztocích alkoholu. Dle biologické funkce jsou rozlišovány bílkoviny zásobní a strukturální (Newman a Newman, 2008). Zásobní proteiny zahrnují v alkoholu rozpustné prolaminy, gluteliny (McKevith, 2004; Newman a Newman, 2008) a malou část globulinů. Hlavními zásobními bílkovinami endospermu ječmene jsou prolaminy nazývané též hordeiny, jenž představují 35 – 50 % z celkového obsahu dusíku v zrně (Newman a Newman, 2008), dle Prokeše (2000) 25 – 37 %. Název – prolaminy – je odvozen od vysokého obsahu neesenciálního prolinu. Gluteliny jsou strukturálně podobné prolaminům, ale nejsou rozpustné v alkoholu. Oproti hordeinům obsahují více lysinu (Newman a Newman, 2008), jejich podíl na celkovém obsahu bílkovin je přibližně 30 – 54 % (Prokeš, 2000). Strukturální bílkoviny, albuminy a globuliny, jsou strukturálními složkami buněčných stěn a metabolických proteinů jako jsou enzymy. Nachází se především v aleuronové vrstvě a embryu. Albuminy a globuliny se vyznačují také vyšším podílem treoninu, a proto jsou nutričně vyváženější oproti zásobním proteinům (Newman a Newman, 2008), jejich obsah je však poměrně nízký, albuminy tvoří asi 11 – 12 % z celkového obsahu bílkovin v zrně ječmene, globuliny jsou obsaženy v množství 8 – 15 % (Prokeš, 2000).

Dohromady jednoduché proteiny, zahrnující strukturální (albuminy, globuliny) a zásobní (prolaminy, gluteliny), představují 92 %, složené proteiny (glykoproteiny, fosfoproteiny, nukleoproteiny) pak zbylých 8 % z celkového obsahu proteinů (Prokeš, 2000).

4.2.3 Lipidy

Zrno ječmene obsahuje 2 – 3 % lipidů (Baik a Ullrich, 2008). Lipidy jsou koncentrovány v embryu, které, ačkoliv představuje pouhý asi 3 % z celkové hmotnosti obilky, obsahuje okolo 18 % celkového množství lipidů v obilce. Obsah lipidů v endospermu se pohybuje okolo 3 % (Newman a Newman, 2008).

Lipidy obsažené v ječných obilkách dělíme na škrobové a neškrobové (všechny lipidy nacházející se mimo škrobová zrna). Neškrobové lipidy jsou uloženy ve sférozomech (oleozomech či lipozomech), jejichž membrány jsou z polárních fosfolipidů. Uvnitř se nacházejí tri-, di- i monoacylglyceroly a volné mastné kyseliny. Hlavními mastnými kyselinami jsou kyselina palmitová (16:0), olejová (18:1), linolová (18:2) a linolenová (18:3) zastoupené z 23 %, 13 %, 56 % a 8 % z celkového obsahu. Kyselina stearová (18:0) představuje méně než 1 %. Škrobové lipidy se nacházejí uvnitř škrobových zrn a jedná se téměř výhradně o fosfolipidy. Vzájemný poměr volných a vázaných lipidů je v různých pletivech různý. Nepochární lipidy představují 75 % z celkového obsahu lipidů v obilce, zbylých 25 % tvoří polární lipidy – glykolipidy a fosfolipidy (Newman a Newman, 2008).

4.2.4 Minerální látky a vitaminy

Minerální látky a vitaminy se nacházejí především v oplodí, klíčku a aleuronové vrstvě (McKevith, 2004). Obsah minerálních látek v ječmeni, stanovovaný jako popel, se pohybuje v rozmezí od 2 % u nahých obilek do 3 % u ječmene pluchatého (Newman a Newman, 2008). Baik a Ullrich (2008) uvádějí celkový průměrný obsah minerálů 1,5 – 2,5 %. Z makrobiogenních prvků jsou to: vápník, fosfor, draslík, hořčík, sodík, chlor a síra. Mikrobiogenní prvky obsažené v ječmeni: kobalt, měď, železo, jód, mangan, selen a zinek (Newman a Newman, 2008). Dobrým zdrojem uvedených prvků jsou především celozrnné výrobky z obilovin (McKevith, 2004), jelikož u necelozrnných mouk během mlýnského zpracování, odstraněním obalových vrstev a klíčku, dochází ke ztrátě významného množství minerálních látek, v případě železa až 40 % jeho obsahu v obilce (Borg et al., 2009). Z vitaminů přítomných v obilovinách jsou to především vitaminy skupiny B (thiamin, riboflavin a niacin) a také vitamin E (McKevith, 2004). Podstatný je též obsah β -glukanů (4 – 9 %) (Baik a Ullrich, 2008). Železo je společně s dalšími minerálními látkami, draslíkem, vápníkem, manganem a zinkem, uloženo převážně v aleuronové vrstvě a embryu (Borg et al., 2009).

4.2.4.1 Význam vybraných esenciálních prvků ve výživě člověka

Nedostatečný příjem železa je globální problém, který ovlivňuje zdraví, kvalitu života a produktivitu miliónů lidí na celém světě. Jedná se o nejčastěji se vyskytující výživový deficit stopového prvku (Reilly, 2004). Železo je v lidském těle obsaženo v podobě krevního barviva hemoglobinu, svalového myoglobinu. Dále je součástí mnoha proteinů, jako jsou cytochromy či enzymy (katalázy, peroxidázy) (Kvasničková, 1998; Reilly, 2004). Jako volný ion se však v tělních tekutinách ani tkáních nenachází (Reilly, 2004). Významným zdrojem železa v lidské dietě je, mimo potravin živočišného původu (maso, vnitřnosti, vejce), chléb a různé cereálie (Kvasničková, 1998; Reilly, 2004). V Německu je např. denní příjem železa hrazen obilovinami a výrobky z nich z téměř 30 %, v Dánsku a Anglii dokonce z 50 % (Reilly, 2004).

Zinek je součástí mnoha proteinů a více než dvou set enzymů (Reilly, 2004) jako například karboanhydrasy, alkoholdehydrogenasy, dehydrogenasy kyseliny mléčné, některých peptidáz, aj. (Kvasničková, 1998). A právě proto, že je zinek v buňkách všudypřítomným prvkem s mnoha metabolickými funkcemi, je důvodem častého výskytu, mnohdy nespecifických, projevů jeho nedostatku (Reilly, 2004).

Měď se v lidském těle nachází vázaná v různých metaloproteinech, kde plní roli kofaktoru (Reilly, 2004). Je nezbytná pro funkci imunitního a nervového systému, kostí, plic a syntézu hemoglobinu (Kvasničková, 1998). Významným zdrojem mědi v lidské dietě jsou, pomíneme-li vnitřnosti a ořechy, celozrnné cereální výrobky. Nedostatek mědi se, díky její přítomnosti v široké škále potravin, vyskytuje pouze zřídka (Reilly, 2004).

Mangan je významným prvkem pro tvorbu kostí a metabolismus aminokyselin, cholesterolu a sacharidů. Je součástí několika enzymů, např. arginasy, glutamin syntetasy, fosfoenolpyruvát dekarboxylasy, superoxiddismutasy, katalasy a dalších (Kvasničková, 1998; Reilly, 2004). V důsledku podobnosti iontu Mn^{2+} s Mg^{2+} a Zn^{2+} může zastupovat hořčík v pyruvát karboxylase, či zinek v superoxid dismutase bez výraznějších vlivů na změnu aktivity daných enzymů (Reilly, 2004).

5 Stresové podmínky pěstování plodin

„Člověk chce něco jiného, než co „chce“ příroda, a to i tehdy, když se pro rostliny, které pěstuje, snaží vytvořit optimální podmínky.“ (Bláha a Sychrová, 2003).

Rostliny jsou v průběhu života vystaveny značně proměnlivým podmínkám vnějšího prostředí (Procházka a kol., 1998). Jakožto přisedlé organismy jsou nuceny se takovými podmínkám přizpůsobit, chtějí-li přežít (Gomes et al., 2012). Po celém světě obývají řadu prostředí s různou kombinací abiotických podmínek a biotických interakcí. Rostou v místech, kde teploty klesají k $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo naopak stoupají i nad $55\text{ }^{\circ}\text{C}$, v oblastech s vysokou intenzitou slunečního záření a naproti tomu i téměř v totální tmě (Nilsen a Orcutt, 1996). Nepříznivé vlivy vnějšího prostředí, jež ohrožují rostliny, jsou označovány jako stresové faktory (stresory). Tyto podmínky mohou zpomalovat jejich životní funkce, poškozovat jednotlivé orgány nebo vést až k úhynu (Procházka a kol., 1998).

Stres je změnou ve fyziologii, ke které dochází, je-li rostlina vystavena mimořádně nepříznivým podmínkám. Tyto podmínky nemusí představovat přímo ohrožení života, ale vyvolávají rostlinnou odezvu („rostlina bije na poplach“) (Nilsen a Orcutt, 1996). Larcher (2003) definuje pojem stres jako značnou odchylku od optimálních podmínek pro život, jejímž důsledkem jsou změny na všech funkčních úrovních organismu. Tyto změny mohou být reverzibilní, ale i stálé (Larcher, 2003). Procházka a kol. (1998) definují stres jako souhrnné označení stavu, kdy se rostlina nachází pod vlivem stresorů. Pojem stresor označuje aspekt životního prostředí, který vyvolává změny ve fyziologii rostlin. Stresory lze rozdělit na tři skupiny: fyzikální (sucho, teplota, záření, zavodnění, vítr, magnetické pole), chemické (salinita, půdní pH, těžké kovy, toxiny, pesticidy, znečištění vzduchu) a biotické (kompetice, alelopatie, býložravci, choroby, patogenní houby, viry) (Nilsen a Orcutt, 1996). Rozmanité množství stresových faktorů zásadním způsobem limituje rostlinnou produkci (Cvjetko et al., 2014). Evoluční proces vytvořil rostliny s propracovanými kombinacemi morfologických, anatomických a fyziologických rysů, které dělají populace úspěšnými v různorodých podmínkách prostředí (Nilsen a Orcutt, 1996). Jde jednak o pasivní ochranu rostlin (kutikula na listech, impregnace buněčných stěn, rezervoáry vody), ale také mechanismy aktivní odolnosti omezující negativní vliv stresorů až po proniknutí k plasmatické membráně buněk. Následně tak dochází k četným změnám, které jsou označovány jako stresové reakce (Procházka a kol., 1998).

Abiotické stresory přímo nebo nepřímo indukují tvorbu reaktivních forem kyslíku, čímž poškozují rostlinu na molekulární úrovni (Dinakar et al., 2008). Reaktivní formy kyslíku (ROS – reactive oxygen species), molekuly s nespárovaným elektronem (Yadav, 2010), jsou extrémně reaktivní a cytotoxické pro všechny organismy (Melo et al., 2011). Jejich přítomnost vede k oxidačnímu stresu (Sharma a Dietz, 2006). Patří sem superoxidový (O_2^-) a hydroxylový radikál (OH^\cdot) a peroxid vodíku (H_2O_2) (Humphreys a Humphreys, 2005). Nadbytek volných radikálů způsobuje oxidaci aminokyselin, proteinů, lipidů a DNA (Yadav, 2010), inhibuje fotosyntézu, narušuje integritu buněčných membrán (Humphreys a Humphreys, 2005). Konečným důsledkem je poškození růstu a vývoje rostliny (Yadav, 2010).

Mechanismem rostlinné odpovědi na oxidační stres je syntéza antioxidantních enzymů, jakými jsou superoxid dismutáza (SOD), kataláza (CAT), peroxidáza (POD) (Solanki a Dhankhar, 2011; Zhao et al., 2011), askorbát peroxidáza (APX) a glutathion reductáza. Dále antioxidanty α -tokoferol, karotenoidy, kyselina askorbová či glutathion. Tyto látky napomáhají obraně proti abiotickému stresu (Humphreys a Humphreys, 2005). Významným rostlinným mechanismem jak se vyrovnat s oxidačním stresem je syntéza prolinu, tedy volné aminokyseliny, jež prokazatelně redukuje volné radikály (Zhao et al., 2011), přičemž akumulace prolinu koreluje se schopností rostlin tomuto stresu odolávat (Chinnusamy et al., 2005).

Reakce rostlin na kombinaci více různých abiotických stresů je jedinečná a nelze ji odvozovat přímo ze znalosti reakcí rostlin na každý z různých stresů působících samostatně. Současná expozice rostlin různým abiotickým stresovým podmínkám má za následek aktivaci různých drah stresových reakcí, přičemž tyto reakce na sebe mohou vzájemně působit synergicky či antagonisticky. Kombinace stresových podmínek je nutné považovat za zcela novou stresovou situaci, nikoliv pouze za prostý součet dvou různých stresů. Například rostliny rostoucí v oblastech postižených suchem musí často čelit suchu v kombinaci s dalšími stresovými faktory jako je vysoká teplota či salinita. Reakcí rostlin na vysokou teplotu je otvírání průduchů, pokud však současně působí i sucho, průduchy se neotevírají a teplota listů roste. Další možnou kombinací je salinita či těžké kovy současně působící s vysokou teplotou. Kvůli zvýšené transpiraci dochází ke zvýšenému příjmu solí (včetně těžkých kovů). Bohužel je jen velmi málo známo o mechanismech aklimatizace rostlin na působení více různých stresorů najednou. Většina studií o působení abiotického stresu na rostliny je realizována

v kontrolovaných laboratorních podmínkách a jejich výsledky tak nemusí korespondovat s výsledky polních pokusů (Mittler, 2006).

Důležitost vlivu stresorů na kvalitu produkce roste v důsledku stále se zvyšujících výkyvů počasí a klimatických změn. Negativní fyzikální vlivy vnějšího prostředí významně ovlivňují znaky osiva. Zrno ovlivněné abiotickými stresory má často změněnou anatomickou stavbu i chemické složení. Dochází ke změnám v obsahu škrobu, bílkovin, tuků, některých cukrů, minerálních látek a vitaminů. Tyto změny v chemickém složení a technologické kvalitě se promítají i do následné generace (Bláha a kol., 2002; Bláha a Sychrová, 2003). Ze stresovaného osiva (tj. zrna pocházejícího z rostlin ovlivněných abiotickým stresem) se vyvíjejí morfologicky změněné rostliny. Většinou se slabším kořenovým systémem a sníženou schopností příjmu živin. Takovéto změny v životních pochodech, jako důsledek působení abiotických stresorů, jsou pro zemědělskou výrobu vesměs nevýhodné (Bláha a kol., 2002).

Bláha a Sychrová (2003) provedli pokusy na objasnění vlivu abiotických stresorů (sucho, vysoká teplota, nízké pH) na chemické složení zrna pšenice, z nichž vyplývá, že obsah škrobu zůstal prakticky nezměněn, obsah bílkovin byl nižší (z 14,80 % na 12,22 %) a obsah tuků mírně vzrostl (z 1,08 % na 1,37 %). Avšak v generaci následné (vypěstované právě z tohoto stresovaného osiva) došlo ke zvýšení obsahu škrobu (1,04 krát), snížení obsahu bílkovin (0,84 krát) i tuků (0,91 krát). Tuto skutečnost vysvětlují změněným poměrem kořenů a nadzemní biomasy, menším kořenovým systémem rostlin vypěstovaných ze stresovaného osiva v porovnání s nestresovanými. Kořenový systém představuje převážně dusíkatý metabolismus, nadzemní biomasa pak uhlíkatý, což odráží výsledný poměr obsahu bílkovin a škrobu.

5.1 Těžké kovy jako stresový faktor

Jedním ze základních předpokladů pro správný růst a vývoj rostlin je neustálý příjem vody a v ní rozpuštěných minerálních látek z rhizosféry. Esenciální ionty podporují nepřeberné množství strukturálních a fyziologických funkcí rostlinných buněk. Skupina, pro rostliny esenciálních prvků, zahrnuje i řadu tzv. těžkých kovů, prvků, jejichž hustota je větší než 5 g.cm^{-3} (například zinek, železo, mangan, molybden a měď). Avšak i navzdory tomu, že jsou pro rostlinu esenciálními, mohou se v případě výskytu v nefyziologických koncentracích (překročí-li metabolickou potřebu rostliny) stát limitujícím faktorem (Ovečka a Takáč, 2014).

Vedle esenciálních těžkých kovů, přijímají rostliny z prostředí i další, neesenciální a někdy toxické těžké kovy. Mezi takové je řazeno kadmium, rtuť a olovo. Kontaminace životního prostředí těžkými kovy je celosvětovým problémem a představuje vážnou hrozbu pro ekosystém (Gomes et al., 2012). Zvláště významná je nebyvale rychle narůstající kontaminace orné půdy kadmiiem (Parmar et al., 2013), které je v důsledku své vysoké rozpustnosti ve vodě vysoce fyto toxické již při nízkých koncentracích (Gomes et al., 2012; Cvjetko et al., 2014). Zdroje znečištění tímto kovem je možno rozlišit na přírodní (například vulkanická činnost) a antropogenní (těžba a zpracování rud, průmyslové odpady, aplikace fosforečných hnojiv a další) (Parmar et al., 2013).

Pokud je kadmium rostlinou přijato a kumulováno, dochází k ovlivnění všech aspektů růstu a vývoje rostliny (Wahid et al., 2009). Pro většinu rostlin je toxický obsah kadmia v listech již 5-10 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (White a Brown, 2010). Ačkoliv není esenciálním prvkem, je rostlinami z živného prostředí snadno přijímáno a transportováno v rámci rostliny (Gomes et al., 2012; Eker, et al., 2013). Důsledkem jeho přítomnosti jsou četné morfologicko-anatomické, fyziologické a biochemické změny (Wahid et al., 2009; Bavi et al., 2011). Kadmium se pevně váže na báze a fosfát nukleových kyselin a –SH skupiny proteinů, čímž dochází ke změně jejich struktury i funkce (Skrebsky et al., 2008). Jde například o změny ve funkcích kořenů a listů (Ovečka a Takáč, 2014), resp. narušení fotosyntézy, respiračního řetězce, příjmu živin (Kryštofová a kol., 2011; Parmar et al., 2013), asimilace síry (Bavi et al., 2011) a dusíku (Staszková a Táborský, 2006; Solanki a Dhankhar, 2011), dále kvetení, embryogeneze a tvorby semen (Ovečka a Takáč, 2014) a v konečném důsledku i snížení výnosů (Kryštofová a kol., 2011). Viditelnými příznaky fyto toxicity kadmia jsou chlorózy listů a stonků, listové nekrózy, hnědnutí kořenových a listových špiček, menší vzrůst. Tyto symptomy přímo poukazují na intenzitu působícího stresu (Wahid et al., 2009). Wahid et al. (2009) a Benavides et al. (2005) dále uvádějí, že takové příznaky se objevují v případě nedostatku železa a fosforu či sníženém transportu manganu. Toto potvrzuje Parmar et al. (2013) tím, že kadmium snižuje příjem živin jako je mangan, železo a hořčík. Chlorózy listů vysvětlují interferencí Cd^{2+} s Mg^{2+} ionty. Tedy destrukcí chlorofylu následkem substituce hořečnatých kationtů kationty kademnatými (Parmar et al., 2013). Těžké kovy také zvyšují produkci aktivních (či reaktivních) forem kyslíku, čímž vyvolávají oxidační stres v buňkách (Humphreys a Humphreys, 2005; Wahid et al., 2009; Zhao et al., 2011; Kotíková a kol., 2013).

Ve snaze zmírnit stres vyvolaný působením kadmia (a těžkých kovů obecně), minimalizovat škodlivý efekt expozice a kumulace kadmia si rostliny vytvořily řadu mechanismů regulujících příjem, akumulaci, distribuci a detoxikaci (Wu et al., 2004; Cvjetko et al., 2014). Funkční jednotkou těchto mechanismů jsou transportéry kovů – molekuly proteinů – zodpovědné za příjem a vakuolární transport, chelatační činidla, zajišťující detoxikaci těžkých kovů a určující rostlinnou toleranci k nim, a také chaperony, rostlinné proteiny významně se podílející na přenosu kovových iontů (Cvjetko et al. 2014) či opravě konformace proteinů při mírném poškození (Procházka a kol., 1998). Glutathion a volné aminokyseliny působí jednak jako antioxidanty a také jako chelatační činidla, tedy činidla, která jsou schopná vázat ionty kovů a odstraňovat je z daného prostředí (Solanki a Dhankhar, 2011). Tyto mechanismy jsou aktivovány po proniknutí kadmia do buněčné cytoplasmy (Seregin a Ivanov, 2001).

Jedním z nejdůležitějších dedetoxikačních mechanismů je syntéza fytochelatinů. Jde o peptidy enzymaticky syntetizované z redukovaného glutathionu, nejhojnějšího rostlinného nízkomolekulárního thiolu se strukturou (γ -Glu-Cys-Gly) (Wu et al., 2004). Činnostmi enzymu fytochelatinsyntázy vznikají z tohoto tripeptidu fytochelatiny, jejichž molekula je složena z opakující se dipeptidové jednotky (Glu-Cys) zakončené glycinem ($(\gamma$ -Glu-Cys) n -Gly), alaninem ($(\gamma$ -Glu-Cys) n - β -Ala), kyselinou glutamovou ($(\gamma$ -Glu-Cys) n -Glu) nebo, typicky pro rostliny čeledi *Graminaceae*, kam obilniny patří, serinem ($(\gamma$ -Glu-Cys) n -Ser). Symbol „ n “ představuje číslo od 2 do 11 (Pal a Rai, 2010; Akhter et al., 2012). Tyto specifické peptidy s vysokým obsahem cysteinu (30 %), resp. thiolových skupin, jsou schopné vázat těžké kovy a tím modulovat jejich koncentraci, čímž brání zasažení životně důležitých procesů těmito kovy (Zehnálek a kol., 2004). Vznikající komplexy, pro rostlinu podstatně méně toxické v porovnání s volnými ionty Cd^{2+} , jsou transportovány do vakuol (Zhao et al., 2011). Ve vakuolách dochází k disociaci těchto komplexů, peptidy jsou degradovány vakuolárními proteázami a opouštějí tuto organelu, zatímco kadmennaté kationty jsou navázány na přítomné organické kyseliny (šťavelová kyselina, jablečná kyselina) (Seregin a Ivanov, 2001). Snižování toxicity těžkých kovů vyvazováním se dále účastní glutathion, histidin a další aminokyseliny (Sharma a Dietz, 2006).

Vlivem působení kteréhokoliv stresového faktoru dochází často během několika desítek minut ke kvalitativním i kvantitativním změnám proteinů přítomných v buňkách. Některé stresové proteiny jsou specificky spjaté s působením konkrétního stresoru, výskyt jiných může být reakcí na více různých typů stresu (Procházka a kol., 1998).

5.2 Ostatní stresové faktory – radiace, extrémní teploty, nedostatek kyslíku v rhizosféře, sucho

Radiační stres vzniká v reakci na nadbytek fotosynteticky aktivního záření a zvýšenou absorpci UV záření. Dochází k tvorbě agresivních kyslíkových radikálů. Fotosyntetický aparát rostlin je schopný efektivně absorbovat a využít viditelné světlo, avšak silné osvětlení přináší více fotochemické energie, než je možné využít pro fotosyntézu. Přetížení fotosyntetického procesu má za následek nižší využití a výnos asimilace (fotoinhibice, fotoinaktivace). Extrémně silné podráždění může ničit fotosyntetické pigmenty a strukturu thylakoidů. Takovéto poškození chloroplastů ve svrchních vrstvách palisádového parenchymu je pravděpodobně částečně zodpovědné za pokles fotosyntetické aktivity stárnoucích listů (Larcher, 2003).

Teplota a chlad, v závislosti na intenzitě a době trvání, narušují metabolické aktivity, růst a životaschopnost rostlin. Tyto termodynamické stavy jsou charakterizovány vysokou (teplo) a nízkou (chlad) kinetickou energií molekul. Teplota zvyšuje pohyb molekul, oslabuje vazby v makromolekulách a lipidové vrstvy biologických membrán činí více fluidními. Naproti tomu, vlivem nízké teploty jsou membrány tužší a rostoucí energie potřebná k aktivaci biochemických procesů. Teploty pod bodem mrazu (resp. přechod vody z kapalného stavu do pevného) jsou pro životní pochody v rostlinách nejškodlivější (Larcher, 2003). Dochází k zastavení membránového transportu a v případě dlouhodobějšího působení (hodiny až dny) pak až k vyčerpání energetických zdrojů a odumření buňky (Procházka a kol., 1998).

Dalším, poměrně často se vyskytujícím stresovým faktorem je nedostatek kyslíku v rhizosféře. Příčinou bývá nejčastěji zaplavení vodou. Půdní vzduch obsahuje méně kyslíku než atmosféra kvůli jeho spotřebě kořeny, půdními živočichy a aerobními mikroorganismy (Procházka a kol., 1998; Larcher, 2003). Atmosférický kyslík difunduje do ztuhlé a promočené půdy tak pomalu, že během několika hodin může jeho koncentrace klesnout na několik málo procent až zmizet úplně (Larcher, 2003). S poklesem koncentrace kyslíku dochází k inhibici aerobních respiračních procesů. Pyruvát (produkt glykolýzy, která inhibována není, jelikož pro její průběh není zapotřebí kyslíku) je zpracováván anaerobně – fermentací. Na pokrytí normálních energetických potřeb rostliny je proto spotřebováno mnohonásobně větší množství substrátu, což vede k jeho rychlému vyčerpání (Procházka a kol., 1998). Negativní vliv mají i látky tvořené anaerobními mikroorganismy (sulfan, sulfidy, kyselina mléčná a máselná) a jiné látky, které mohou dosáhnout koncentrací

toxických pro rostliny. Většina rostlin zpravidla dříve podlehne zaplavení než suchu (Larcher, 2003).

Stres suchem je jedním z hlavních abiotických stresorů a významným faktorem negativně ovlivňujícím množství a kvalitu výnosu pěstovaných plodin (Mohammad, 2011). Ze všech abiotických stresorů omezujících produktivitu rostlin stojí na prvním místě právě nedostatek vody (Procházka a kol., 1998). Stres suchem nastává v případě nízké dostupnosti vody rostlinám. Dostupnost vody může být snížena v důsledku vysušení půdy intenzivní evaporací, vysokým osmotickým tlakem v zasolených nebo zmrzlých půdách. Na rozdíl od ostatních druhů stresů, stres suchem nepřichází náhle, nýbrž pomalu a jeho intenzita roste s dobou trvání (Larcher, 2003). Rostliny jsou schopné přizpůsobit se podmínkám nedostatku vody a přežít mírný stres, který však může mít za následek vážné poruchy na fyziologické úrovni. Vodní deficit v rostlinných pletivech se zpočátku projevuje uzavřením průduchů (zabránění ztrátám vody), sníženou intenzitou fotosyntézy, transpirace a stomatální vodivosti (Šimonová a Šafránková, 2011). Vodní deficit dále vede ke snižování příjmu živin, omezení fotosyntézy a syntézy bílkovin, tvorby sušiny, růstu buněk a orgánů. Tento druh stresu má vliv na růst a vývoj rostlin, významně ovlivňuje fáze vývoje pšenice, dobu kvetení i stárnutí rostliny (Mohammad, 2011). Vhodným nástrojem pro identifikaci vodního deficitu rostlin je kvantifikace endogenní kyseliny abscisové, jež je řazena mezi stresové fytohormony, které se podílejí na udržení homeostáze rostlin (Vlasáková a kol., 2011).

Molekulární a metabolické reakce rostlin na kombinaci sucha a tepla jsou jedinečné a nelze je přímo odvodit z reakce rostlin na každý z těchto stresů působících individuálně (Mittler, 2006). Kombinace sucha a tepla má na plodiny daleko výraznější negativní vliv než působení každého z těchto faktorů samostatně. Dochází ke kumulaci metabolitů, především cukrů. Naproti tomu hladiny prolinu, aminokyseliny významné v obraně rostliny vůči stresu suchem, jsou silně potlačeny v důsledku kombinace sucha a vysokých teplot (Mittler, 2006).

Stresovými podmínkami pro růst rostlin je, i často se vyskytující, zvýšená salinita půdy (Larcher, 2003). Celosvětově je zvýšenou salinitou ohroženo asi 7 % celkové plochy obdělávané půdy (Kosová a kol., 2013). Nepříznivý vliv vysokých koncentrací solí na rostliny spočívá především v osmotickém zadržování vody a specifickém vlivu iontů na protoplasmu v důsledku kumulace iontů Na^+ v pletivech (Larcher, 2003; Kosová, 2013). Zvláště citlivé na účinky solí jsou růstové procesy. S rostoucí koncentrací solí klesá dostupnost vody pro rostliny. Ionty Na^+ a zvláště Cl^- narušují iontovou rovnováhu a působí na enzymové proteiny

a buněčné membrány. Důsledkem je nízká produkce energie fotofosforylací a fosforylací v dýchacím řetězci, narušení asimilace dusíku a metabolismu proteinů, a konečně kumulace diaminů (putrescinu, kadaverinu) a polyaminů (Larcher, 2003).

6 Vliv kadmia na obsah nutričně významných látek

Kadmium může ovlivňovat příjmem některých živin, v důsledku změny permeability plasmatické membrány buněk. Interakce mezi kadmiem a ostatními nutrienty může vést ke změně v jejich obsahu a různým fyziologickým poruchám, stejně tak jako k redukci rostlinného růstu a výnosu (Zhang et al., 2002).

Rostlinnou odpovědí na stres vyvolaný kadmiem může být i zvýšená syntéza látek, působících v různých oblastech metabolismu a podílejících se též na adaptabilních reakcích, které rostlině pomáhají překonat stresovou situaci (Zemanová a kol., 2011). Množství různých metabolitů je kumulováno v milimolárních množstvích (Sharma a Dietz, 2006). Jde o sacharidy (fruktosa, mannosu, rafinosa), specifické aminokyseliny (prolin, cystein, hydroxyprolin, glutamová kyselina, asparagová kyselina, arginin, glycin), polyaminy putrescin, spermin a spermidin (Sharma a Dietz, 2006; Staszková a Táborský, 2006; Zemanová a kol., 2011), glycinbetain, fytohormony (např. abscisová kyselina, cytokininy, brassinosteroidy, ethylen). Dále jsou syntetizovány fytochelatiny (Staszková a Táborský, 2006). Sharma a Dietz (2006) ještě navíc uvádějí glutathion a aminokyselinu histidin.

Úloha polyaminů v obraně rostlin proti stresům spočívá v ochraně buněčných membrán a DNA. Jejich syntéza vychází z aminokyselin argininu a ornitinu (Procházka a kol., 1998).

Důsledky fytotoxicity kadmia jsou pozorovatelné na celé rostlině, stejně tak na buněčné a molekulární úrovni. Nejpodstatnější jsou odchylky v metabolických procesech jako je fotosyntéza, přeměna energie, syntéza proteinů, poruchy příjmu živin (Wahid et al., 2009). Negativní vliv kadmia na vzrůst rostlin, tvorbu biomasy, příjem minerálních látek, syntézu fotosyntetických pigmentů a dalších procesů pozorovaných v časném vývojovém období rostlin pšenice může potenciálně ohrozit kvalitu a výnos této plodiny pěstované na kontaminovaných půdách (Shukla et al., 2003). Redukci tvorby biomasy i zhoršení nutriční kvality plodin pěstovaných na půdách s různým stupněm kontaminace těžkými kovy se zaznamenali již dříve Cottoine et al. (1976).

Hlavní vyživovací tepnou vyvíjejícího se zrna je floém. Pomocí těchto cévních svazků jsou živiny, uvolňované ze skladovacích míst stárnoucích listů a stonku, dopravovány do dozrávající obilky. Endosperm je plněn škrobem a zásobními proteiny, aleuronová vrstva shromažďuje minerální látky, proteiny, tuk a sacharidy (Borg et al., 2009). Stejně tak, prostřednictvím floému, může být do obilky společně s ostatními látkami vzniklými fotosyntézou distribuováno i kadmium (Greger a Löfstedt, 2004). Pro akumulaci zinku v obilkách je nezbytný jeho dostatečný obsah ve vegetativních částech rostliny v průběhu dozrávání. V případě omezené dostupnosti zinku v této fázi je remobilizace rozhodující pro akumulaci zinku v zrně (Teklić et al., 2013). V průběhu vytváření obilky klesá obsah železa ve všech ostatních (vegetativních) rostlinných orgánech. U pšenice seté (*Triticum aestivum*) byl zjištěn velice efektivní přesun železa (cca. 77 %) z vegetativních částí rostliny do obilky, resp. ze stárnoucích listů do dozrávajícího zrna. Při analýze distribuce dalších prvků (Mn, Zn, Cu) v rostlině pšenice Garnett a Graham (2005) zjistili, že v obilkách se nachází 27 % z celkového obsahu manganu v rostlině, 42 % zinku a 62 % mědi (Garnett a Graham, 2005).

6.1 Vliv kadmia na obsah proteinů

Proteiny jsou považovány za vůbec nejdůležitější složku lidské stravy, což vychází už ze samotného původu jejich označení, z řeckého slova „proteios“, tedy prvotní (Sun, 1999). Kvalita zásobních proteinů v semeni se odvíjí od nutričních podmínek rostliny. Například v případě nedostatku dusíku jsou méně syntetizovány aminokyseliny s vysokým obsahem dusíku, jako je arginin. Pokud je dusíku nadbytek, obsah asparaginu v zásobních proteinech může značně vzrůst. Nutriční a ekologické podmínky tak mají vliv na složení zásobních proteinů (Lea a Ireland, 1999).

Hlavními aminokyselinami transportovanými z listů do vyvíjejících se semen jsou asparagin a glutamin. Ve vyvíjejícím se semeni dochází k přetváření těchto aminokyselin na všechny ostatní aminokyseliny včetně lysinu a threoninu a k následnému začlenění volných aminokyselin do proteinů semene (Galili a Larkins, 1999). Do vyvíjejících se semen luskovin je většina dusíku transportována v podobě asparaginu, který je následně enzymem asparaginasou přeměňován na asparagovou kyselinu (aspartát). Tento enzym tak hraje

významnou roli v přerozdělování transportovaného dusíku a v metabolismu asparaginu, jenž může být kumulován v důsledku stresu (Ireland a Lea, 1999).

Kadmium v rostlinách zasahuje do řady fyziologických procesů, např. inhibuje syntézu proteinů (Vassilev et al., 1997; Kryštofová a kol., 2011), snižuje zabudovávání volných aminokyselin do proteinů (Solanki a Dhankhar, 2011), což má za následek snížení produktivity (Dinakar et al., 2008). Rostlinou odpovědí na abiotický stres, včetně stresu těžkými kovy, je v důsledku často změna v expresi proteinů, což vede ke kvalitativním i kvantitativním změnám v proteinech (Cvjetko et al., 2014). Stres kadmiem vyvolává změny v asimilaci dusíku, jelikož v kořenech rostlin inhibuje enzym nitrátreduktasu (Staszková a Táborský, 2006; Solanki a Dhankhar, 2011) a nitritreduktasu (Dinakar et al., 2008). El-Shintinawy a El-Ansary (2000) zjistili snížení aktivity nitrátreduktasy v kořenech sóji následkem přítomnosti kadmia v koncentraci $200 \mu\text{mol.l}^{-1}$. Snížením aktivity těchto enzymů je omezeno využití nitrátů a jejich transport do nadzemních částí (Staszková a Táborský, 2006). Výsledkem je nižší celkový obsah proteinů a růst rostliny (Solanki a Dhankhar, 2011). Přítomnost kadmia má vliv na zvýšení aktivity proteáz (Hsu a Kao, 2003), to vede k degradaci proteinů cestou metabolismu aminokyselin, což v důsledku opět znamená narušení celkového vývoje rostliny a nižší vzrůst (Costa a Spitz, 1997; Wu et al., 2004; Dinakar et al., 2008).

Costa a Spitz (1997) uvádí na příkladu lupiny bílé (*Lupinus albus* L.), že v kořenech i nadzemních částech sazenic vlivem přítomnosti kadmia klesá obsah bílkovin. K podobnému výsledku dospěli také Dinakar et al. (2008), kteří svým pokusem potvrdili snižující se obsah proteinů v kořenech a listech podzemnice olejné (*Arachis hypogaea* L.) s rostoucí koncentrací kadmia v živném roztoku. Obsah proteinů v kořenech a listech klesal ve všech růstových fázích s rostoucí koncentrací kadmia. Tento pokles byl výraznější v kořenech.

Snížení obsahu proteinů může být způsobeno zvýšenou aktivitou proteáz, tedy degradací proteinů (Hsu a Kao, 2003; Rastgoo a Alemzadeh, 2011) či sníženou syntézou, nebo různými strukturními a funkčními změnami proteinů v důsledku jejich denaturace a fragmentace (Rastgoo a Alemzadeh, 2011). K fragmentaci proteinů dochází působením reaktivních forem kyslíku, jejichž tvorba je indukována mimo jiné právě přítomností iontů těžkých kovů (Solanki a Dhankhar, 2011).

6.2 Vliv kadmia na obsah volných aminokyselin

Těžké kovy (nejčastěji v podobě chloridů a dusičnanů) ovlivňují různé oblasti metabolismu buněk jak v nízkých ($0,01 - 1 \mu\text{mol.l}^{-1}$) tak i ve vysokých koncentracích ($100 - 500 \mu\text{mol.l}^{-1}$) (Staszková a kol., 2002). V rostlinách mohou zvyšovat obsah aminokyselin (prolinu, hydroxyprolinu, kyseliny glutamové, lysinu, glycinu, methioninu) a rozpustných proteinů (Staszková a kol., 2004).

Stavebními kameny rostlinných i živočišných proteinů je celkem dvacet L-aminokyselin kódovaných pomocí DNA. Tyto aminokyseliny jsou nazývány jako tzv. proteinogenní. Z celkového počtu dvaceti aminokyselin je osm pro člověka esenciálních (isoleucin, leucin, lysin, methionin, fenylalanin, threonin, tryptofan a valin), tedy musí být obsaženy ve stravě. Dvě jsou považovány za semi-esenciální, tedy částečně esenciální, zvláště pokud jejich množství syntetizované v těle není dostačující pro normální růst dětí. Těmi jsou arginin a histidin. Ostatní (alanin, asparagin, asparagová kyselina, cystein, glutamová kyselina, glutamin, glycin, prolin, serine a tyrosin) nejsou pro člověka esenciální (Velíšek a Cejpek, 2006). Rostliny jsou schopné syntetizovat mimo všech zmíněných dvaceti aminokyselin nezbytných pro tvorbu proteinů také více než 700 tzv. neproteinogenních aminokyselin, které do syntetizovaných proteinů zabudovávány nejsou. Některé z těchto aminokyselin jsou meziprodukty syntézy rostlinných signálních molekul, vitaminů a dalších látek. Tyto aminokyseliny představují zásobní formy dusíku a síry v rostlinách a některé z nich zvyšují rostlinnou toleranci k abiotickým stresům (Velíšek et al., 2006a).

Aminokyseliny, jakožto výsledek asimilace dusíku v kořenech jsou s transpiračním tokem prostřednictvím xylému transportovány do starších listů. Odtud jsou společně se zde syntetizovanými aminokyselinami odváděny floémem do pletiv závislých na jejich importu, jako jsou semena, vyvíjející se listy a kořeny. Tyto aminokyseliny slouží nejen jako stavební jednotky pro biosyntézu proteinů, ale i jako prekurzory veškerých látek obsahujících ve své molekule dusík, jako jsou nukleové kyseliny, růstové regulátory, fotosynteticky aktivní pigmenty, alkaloidy a celá řada dalších esenciálních sloučenin (Bush, 1999).

Jednou z možností jak zvýšit obsah lysinu a threoninu, tedy v případě obilovin limitních aminokyselin (Newman a Newman, 2008), v rostlinách je zvýšená syntéza a akumulace volných aminokyselin. Vyšší obsah volných aminokyselin může výrazně přispět ke konečnému obsahu esenciálních aminokyselin ve vegetativních či skladovacích orgánech jako jsou semena či hlízy. Nízký obsah esenciálních aminokyselin (lysinu a threoninu) v různých rostlinných pletivech limituje jejich začlenění do proteinů (Galili a Larkins, 1999).

6.2.1 Aminokyselina prolin

V důsledku stresu kadmiem rostou hladiny volného prolinu v rostlinných buňkách (Dinakar et al., 2008, Solanki a Dhankhar, 2011; Zemanová a kol., 2011). Na jeho biosyntézu má vliv ale i celá řada dalších stresových faktorů jako například sucho, zasolení, vysoká i nízká teplota a další (Staszková a kol., 2004; Szabados a Savouré, 2009). V rostlinách je syntetizován hlavně z kyseliny L-glutamové nebo L-ornitinu a následně kumulován v buněčné šťávě (Zemanová a kol., 2011). Staszková a Táborský (2006) zjistili, že v reakci na působení těchto stresorů dochází k výraznému zvýšení aktivity enzymu glutamátkinasy, který je součástí bifunkčního enzymu $\Delta 1$ -pyrrolin-5-karboxylátsynthetasy katalyzujícího syntézu prolinu, tím roste rychlost biosyntézy prolinu, v důsledku čehož dochází k jeho hromadění (Staszková a Táborský, 2006). Prolin je tedy jakýmsi indikátorem stresu (Staszková a kol., 2002). Po dlouhou dobu byl považován za inertní osmolyt, který chrání subcelulární struktury a makromolekuly před osmotickým stresem. Kumulace prolinu však může ovlivnit toleranci vůči stresu více způsoby, jelikož v rostlině zastává mnoho metabolických a ochranných funkcí (Szabados a Savouré, 2009). Je osmolytem, radikálovým akceptorem, stabilizátorem makromolekul a složek buněčných stěn (membránových proteinů) (Chinnusamy et al., 2005; Sharma a Dietz, 2006; Zemanová a kol., 2011), může zvyšovat aktivitu některých enzymů nebo například chrání enzym nitrátreduktasu během osmotického stresu a stresu těžkými kovy (Szabados a Savouré, 2009). Role prolinu jako osmolytu je společná pro různé typy stresu (Sharma a Dietz, 2006). Vyšší produkce prolinu koreluje s rostlinnou tolerancí k vyšším koncentracím těžkých kovů (Sharma a Dietz, 2006).

Prolin potlačuje transpiraci, čímž zabraňuje ztrátám vody a také příjmu a translokaci kadmia v rámci rostliny. Z toho vyplývá, že rostliny schopné efektivní osmoregulace, jako jsou rostliny odolné suchu, se pravděpodobně lépe vyrovnávají s toxicitou kovů, jež zahrnuje také rozvoj vodního deficitu například v důsledku inhibice růstu kořenů (Sharma a Dietz, 2006). Zvýšená akumulace prolinu rostlinou v přítomnosti kadmia je příkládána spíše stresu v důsledku vodního deficitu, který je kadmiem indukován, než přímo toxickému působení kadmia samotného. Prolin napomáhá udržení vodní bilance, prostřednictvím zmírnění vodního deficitu tak může výrazně přispět k rostlinné toleranci ke kadmiu (Hsu a Kao, 2003). Další významnou funkcí prolinu je chelatace kovových iontů. Tato aminokyselina redukuje aktivitu volných iontů kovů prostřednictvím tvorby komplexů. Ve vztahu ke kadmiu je ale v porovnání s chelatací prolinem podstatně významnější chelatace fytochelatiny (Sharma a Dietz, 2006).

Sharma a Dietz (2006) uvádějí, že nárůst obsahu prolinu v důsledku působení těžkých kovů je často výraznější v nadzemních částech v porovnání s kořeny. Pozitivní korelaci mezi koncentrací kadmia v živném prostředí a kumulací prolinu zaznamenali i Rastgoo a Alemzadeh (2011) při pokusech s rostlinou *Aeluropus littoralis* Parl..

6.2.2 Ostatní aminokyseliny

V důsledku stresu kadmíem dochází k různým změnám v obsahu volných aminokyselin, což hraje zásadní roli v rostlinné adaptaci na tento druh stresu (Zemanová a kol., 2014). Obvyklou rostlinnou reakcí na abiotický stres je akumulace aminokyselin, především prolinu a dále aminokyselin odvozených od kyseliny asparagové – asparagin, leucin, isoleucin, methionin a valin (Hsu a Kao, 2003).

Leskó et al. (2002) pozorovali značnou změnu v obsahu volných aminokyselin v rostlinkách pšenice (*Triticum aestivum* L. cv. Alföld-90) pěstovaných hydroponicky v Knoppově roztoku s přídavkem kadmia v koncentracích (10^{-7} mol.l⁻¹ a 10^{-3} mol.l⁻¹) v porovnání s kontrolní variantou. Nejvyšší celkový obsah volných aminokyselin byl zaznamenán ve variantě 10^{-3} mol.l⁻¹ Cd. Hlavními aminokyselinami v kontrolních variantách byly: asparagová kyselina, alanin, valin, lysin, histidin a arginin. V kořenech pokusných variant byl nejvíce zastoupen prolin (významný stresový marker), ve variantě Cd 10^{-7} mol.l⁻¹ došlo k nárůstu až na pětinašobek kontroly, variantě Cd 10^{-3} mol.l⁻¹ bylo zaznamenáno dokonce 28krát vyšší množství prolinu oproti kontrole, zatímco u kyseliny glutamové došlo k mírnému poklesu.

Histidin významně reguluje biosyntézu ostatních aminokyselin. Jeho role dále spočívá v chelataci a transportu kovových iontů (Stepansky a Leustek, 2006). Asparagin je nejvýznamnější skladovací a transportní formou dusíku v metabolismu vyšších rostlin (Lea a Azevedo, 2007). Dusík v podobě glutamové kyseliny a glutaminu může být přetransformován do různých aminokyselin, nukleových kyselin, či polyaminů. Kyselina asparagová je prekurzorem asparaginu a dalších aminokyselin jako jsou lysin, threonin, methionin a isoleucin, které jsou pro člověka esenciální (Lea a Azevedo, 2007).

Modifikované aminokyseliny jsou často výsledkem eliminačních reakcí proteinogenních aminokyselin. Například dekarboxylací glutamové kyseliny vzniká

α -aminomáselná kyselina, další možností je eliminace sulfanu z cysteinu či vody ze serinu (Velíšek et al., 2006b).

6.3 Vliv kadmia na obsah esenciálních minerálních prvků – Fe, Zn, Mn, Cu

Všechny živé organismy potřebují řadu esenciálních minerálních látek pro zachování správné funkce všech fyziologických procesů probíhajících v buňce (Borg et al., 2009), přičemž lidské tělo vyžaduje přinejmenším 22 minerálních prvků (White a Broadley, 2009). Nutriční význam stopových prvků je dán jejich přítomností v enzymech, které jsou biologickými regulátory fyziologických procesů. Atom kovu je obsažen v aktivních centrech asi 30 % veškerých známých enzymů (Reilly, 2004). Nedostatečný příjem některých esenciálních mikronutrientů, hlavně železa a zinku, je celosvětovým problémem (Garnett a Graham, 2005). Miliony lidí po celém světě trpí nedostatkem alespoň některého ze stopových prvků. Mikronutrientová malnutrice, někdy také označovaná jako „skrytý hlad“ (hidden hunger), je záležitostí nejenom rozvojových, ale i rozvinutých zemí světa (Teklić et al., 2013). White a Broadley (2009) uvádějí, že až 60 % celosvětové populace trpí nedostatkem železa, více než 30 % nedostatkem zinku, 30 % jódu a asi 15 % populace chybí dostatek selenu. Dalšími prvky, často se vyskytujícími v lidské dietě v nedostatku, jsou vápník, hořčík a měď (Teklić et al., 2013). V mnohých částech světa je příjem těchto prvků hrazen především konzumací obilovin (Garnett a Graham, 2005).

K zajištění adekvátní výživy rostlin je zapotřebí přinejmenším 14 minerálních prvků. Deficience některého z nich, ale na druhou stranu, i vysoké koncentrace minerálů v půdním prostředí mohou redukovat rostlinný růst a tvorbu výnosu. (White a Brown, 2010). Rostliny jsou autotrofními organismy, jenž slouží jako primární dodavatelé esenciálních minerálních látek do potravního řetězce (Borg et al., 2009; White a Brown, 2010), jsou „prvním krokem“ v cestě kovů z půdy do heterotrofních organismů včetně člověka (Teklić et al., 2013). Příjem a distribuce minerálních látek v rámci rostliny je významná nejen pro výživu rostliny samotné, ale následně i pro výživu člověka prostřednictvím zvyšování obsahu těchto elementů v jedlých částech (White a Brown, 2010). Finální obsah těchto prvků v obilovinách, resp. v obilce, je ovlivňován mnoha faktory. Jde mimo jiné o množství živin přijímané kořeny (v závislosti na biologické dostupnosti z půdy) a následně schopnost redistribuce v rámci rostliny z vegetativních částí prostřednictvím floému v průběhu vývoje a tvorby zrna.

Důležitým faktorem je také schopnost transportu konkrétního prvku floémem (Garnett a Graham, 2005; Borg et al., 2009).

Jedním z nejvýznamnějších faktorů působení těžkých kovů na rostlinný metabolismus je jejich vztah s ostatními minerálními živinami (Siedlecka, 1995). Nadměrné hromadění kadmia má vliv na rychlost absorpce a distribuci některých živin v rostlině, v důsledku čehož je zodpovědné za nedostatek (popřípadě nerovnováhu) minerálních látek a depresi růstu rostlin (Dong et al., 2006). Zvýšená koncentrace kadmia má vliv na minerální výživu rostlin, negativní korelace mezi koncentrací kadmia a příjmem některých makro- a mikroelementů byla zaznamenána v různých částech rostlin (Wahid et al., 2009). Tento toxický těžký kov inhibuje normální příjem, translokaci a využití esenciálních minerálních látek (Skrebsky et al., 2008), jako například železa, manganu, hořčíku (Shukla et al., 2003; Parmar et al., 2013), dále fosforu, zinku a mědi (Wahid et al., 2009). Jde tedy o interakci s esenciálními prvky stejného mocenství (Dong et al., 2006; Eker et al., 2013), což je příčinou deficiencie těchto živin zvláště u druhů rostlin citlivých na přítomnost kadmia. Kadmium zřejmě využívá stejných přenašečů kovů jako uvedené esenciální prvky (Wahid et al., 2009), pozměňuje permeabilitu plasmatické membrány, čímž ovlivňuje transport prvků (Dong et al., 2006; Eker et al., 2013). Často sledovaná je interference kadmia se zinkem, přičemž v případě této dvojice prvků bylo různými autory na různých rostlinách popsáno antagonistické, ale i synergické působení (Eker et al., 2013). Železo je pro rostliny jednou z klíčových živin a jeho nedostatek v důsledku působení jiných těžkých kovů, znamená výrazné ovlivnění rostlinného metabolismu (Siedlecka, 1995).

Zhang et al. (2002) pozorovali v důsledku vysokého obsahu kadmia v živném prostředí snížení obsahu železa a manganu v obilkách pšenice seté (*Triticum aestivum* L.). Tento pokles se v případě železa v obilkách různých odrůd (Huabei 45-4, Li 667, E81513, Zhemei 1 a Ailuyuang) pohyboval v rozmezí od 15,3 % do 58,3 % a u manganu od 13,1 % do 51,4 %.

Na druhou stranu mangan a jiné pro rostliny esenciální prvky mohou inhibovat příjem kadmia (Siedlecka, 1995). Vzájemná interakce mezi prvky je tak jedním z faktorů, který ovlivňuje vstup kadmia do potravního řetězce (Benavides et al., 2005).

7 Kadmium v potravinovém řetězci

Kadmium je toxickým prvkem pro rostliny i živočichy včetně člověka. Velkým problémem dnešní doby je kumulace kadmia v živých organismech v důsledku celosvětově se zvyšujícího znečištění životního prostředí (Chen et al., 2007). Vysoké koncentrace těžkých kovů v půdě, ať už v důsledku lidské činnosti či původem z neantropogenních zdrojů, se nacházejí v celé řadě suchozemských stanovišť. Rostliny, jakožto základní článek potravního řetězce, jsou tak potenciálně významným zdrojem kontaminace těžkými kovy (Ovečka a Takáč, 2014). Přitomno v zemědělských systémech může kadmium ohrozit produktivitu zemědělských plodin a následně kvalitu produktů (Chen et al., 2007). Kadmium, stejně tak jako ostatní toxické prvky, není biologicky degradovatelné a je kumulováno v potravním řetězci. Lidé jsou působení kadmia vystaveni primárně v důsledku konzumace kontaminovaných potravin, jako jsou především cereálie (Stolt et al., 2003; Park et al., 2005). Výskyt těžkých kovů v obilovinách je velkým problémem zejména v zemích, kde jsou obiloviny primárním zdrojem obživy. Chronická expozice i velmi nízkým množstvím těchto kovů představuje zdravotní riziko a může mít na organismus negativní vliv (Park et al., 2005). Dochází totiž k jeho kumulaci v ledvinách, játrech i jiných orgánech a při nadměrném příjmu může dojít k jejich poškození (Wångstrand et al., 2007).

Těžké kovy do rostlin vstupují především prostřednictvím kořenového systému aktivním nebo pasivním transportem a následně jsou xylémem transportovány do nadzemních částí (Cvjetko et al., 2014). Na samotný příjem a distribuci kadmia v rostlině má vliv celá řada vnějších faktorů jako je vlhkost či přítomnost zinečnatých kationtů. Kvůli chemické podobnosti Cd a Zn může docházet k významné vzájemné interakci v akumulaci. Relativní vlhkost vzduchu ovlivňuje transpiraci, s jejímž tokem je transport kadmia v rámci rostliny úzce spjatý (Chen et al., 2007). Dalšími vnějšími faktory majícími vliv na příjem kadmia rostlinami jsou: koncentrace prvku v prostředí, jeho forma, hodnota půdního pH, interakce s ostatními přítomnými prvky, obsah organické půdní hmoty či přítomnost jiných komplexotvorných látek (Seregin a Ivanov, 2001; Benavides, et al., 2005). Schopnost příjmu a kumulace kadmia je dána také vnitřními faktory rostliny resp. druhem a odrůdou (Cibulka a kol., 1991), jak na příkladu dvojice pšenice tvrdé (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) a pšenice obecné (*Triticum aestivum* L.) potvrzují Stolt et al. (2003).

Kumulace kadmia v rostlině je regulována různými fyziologickými procesy, jako je příjem Cd z půdy prostřednictvím kořenů a z atmosféry povrchem listů, transport xylémem

z kořenů do nadzemních částí a translokace floémem do zrna v průběhu dozrávání (Shukla et al., 2003; Chen et al., 2007). Kadmium se dle Gregera a Löfstedta (2004) i Harrise a Taylora (2013) do dozrávající obilky dostává jednak přímým transportem z kořenů prostřednictvím xylému v období dozrávání a také floémem společně s ostatními produkty fotosyntézy po uvolnění z úložišť v listech a stoncích. Právě v těchto orgánech dochází ke kumulaci kadmia, které je rostlinou přijato a transportováno z kořenů do nadzemních částí ještě před počátkem kvetení. Koncentrace tohoto kovu v rostlinných orgánech klesá ve směru k vyvíjejícímu se klasu (Harris a Taylor, 2013). Zvýšená remobilizace Cd^{2+} z listů a stonků do dozrávajícího zrna může být částečně zodpovědná za vysokou akumulaci kadmia v obilkách (Shukla et al., 2003).

Obvykle je většina kademnatých iontů zadržena v kořenech a pouze malé množství se dostane do nadzemních částí rostliny (Benavides et al., 2005). Koncentrace kumulovaného kadmia v rostlinných orgánech klesá v pořadí kořeny – stonky – listy – semena (Seregin a Ivanov, 2001; Benavides et al., 2005; Wahid et al., 2009; Cvjetko et al., 2014). Toto potvrzuje i Zhang et al. (2002), který v pokusech s pšenicí zjistil, asi dvacetkrát vyšší koncentraci kadmia v kořenech v porovnání se stonky a téměř desetkrát nižší obsah v obilkách oproti stonkům. Vysoká retence těžkých kovů v kořenech a stoncích je v případě obilnin velmi žádoucí, jelikož tyto části nejsou obvykle konzumovány člověkem (Zhang et al., 2002).

Kumulace kadmia v obilkách pšenice je nejvyšší v porovnání s ostatními běžnými obilninami. Pšenice tvrdá > pšenice setá > oves > ječmen > žito (Wångstrand et al., 2007; Eker et al., 2013).

Praktická část práce

8 Materiál a metodika práce

8.1.1 Chemikálie

8.1.1.1 Stanovení celkového obsahu ve vodě rozpustných proteinů

Destilovaná voda (H_2O), 0,5% roztok pentahydrátu síranu měďnatého ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) v 1% vinanu draselnosodném, 2% roztok uhličitanu sodného (Na_2CO_3) v 0,1 mol.l⁻¹ roztoku hydroxidu sodného (NaOH), fenolové (Follinovo) činidlo, standardní roztok proteinu (200 µg.ml⁻¹)

8.1.1.2 Stanovení obsahu volných aminokyselin

Demineralizovaná voda, AccQ Fluorkit (obsahuje borátový pufr, fluorescenční činidlo), 6N chlorovodíková kyselina (6N HCl), AccQ Tag eluent (koncentrát) a standard aminokyselin – asparagová kyselina (ASP), serin (SER), glutamová kyselina (GLU), glycin (GLY), histidin (HIS), arginin (ARG), treonin (THR), alanin (ALA), prolin (PRO), tyrosin (TYR), valin (VAL), metionin (MET), lysin (LYS), izoleucin (ILE), leucin (LEU), fenylalanin (PHE)), AccQ pufr (pH 4,8), 60% acetonitril

8.1.1.3 Stanovení obsahu vybraných prvků

Dusičná kyselina (67%) dusičná kyselina (1,5%), peroxid vodíku (36%)

8.1.2 Instrumentace

8.1.2.1 Stanovení celkového obsahu ve vodě rozpustných proteinů

Celkový obsah ve vodě rozpustných proteinů byl stanoven za pomoci spektrofotometru Marcel Mini od firmy Merzet (Polsko).

Při přípravě vzorků byla použita centrifuga Sigma 3-18K (Německo) a třepačka GFL 3006 (Německo).

8.1.2.2 Stanovení obsahu volných aminokyselin

Kapalinový chromatograf Alliance Waters Separations Module e2695 s kolonou Nova Pak C18, rozměry nerezové kolony 3,9 x 150 mm, velikost částic 4 µm (WATERS, Milford, USA). S detektorem Waters 474 Scanning Fluorescence Detector.

Při přípravě vzorků byla použita centrifuga Sigma 3-18K (Německo) a třepačka GFL 3006 (Německo).

8.1.2.3 Stanovení obsahu vybraných prvků

K měření koncentrace kadmia v mineralizátech rostlin kontrolní skupiny, kde koncentrace kadmia v kultivačním roztoku byla nulová, byla použita metoda AAS s elektrotermickou atomizací (ETA-AAS) na přístroji Varian SpectrAA 280 Z (Varian, Austrálie) opatřeném grafitovým atomizátorem GTA 120 a automatickým dávkovačem PSD 120.

Koncentrace kadmia v mineralizátech rostlin pokusné varianty, kultivovaných v živném roztoku s obsahem kadmia, byla změřena metodou ICP-OES na přístroji Varian VistaPro (Varian, Austrálie). Stejným způsobem byl měřen obsah železa, zinku, mědi a manganu v mineralizátech rostlin kontrolní i pokusné varianty.

8.1.3 Pracovní postup

8.1.3.1 Metodika laboratorního pokusu

Pěstování rostlinek ječmene jarního (odrůda Sebastian) bylo realizováno v prostorách kultivační místnosti Výzkumného ústavu rostlinné výroby Ruzyně – fytotron.

Klíčení bylo realizováno v klíčidlech na filtračním papíře (3 vrstvy, 80 semen, 23 ml destilované vody. Vše bylo uloženo do termostatu při teplotě 20 °C.

Po čtyřech dnech byla naklíčená zrna přesázena do kultivačních nádob (zrna byla vložena mezi skleněné destičky s vrstvou molitanu, kořínky ponořeny do živného roztoku) (viz obr. č. 1). Živným roztokem byl modifikovaný Knopův roztok – uvedeno v g.l⁻¹ živného roztoku:

- 1 g Ca(NO₃)₂
- 0,25 g MgSO₄·7H₂O

- 0,25 g KH_2PO_4
- 0,125 g KCl
- 0,01 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Rostliny byly umístěny v klimatizované kultivační místnosti s umělým osvětlením. Byly použity výbojky, žárovky a úsporné zářivky. Předem byly změřeny ozáření (tato se dá změnit snižováním, nebo zvyšováním osvětlovacích těles nad porostem. Vlhkost vzduchu byla upravena pomocí zařízení mist maker a větráku, který zabezpečuje stejné vlhkostní podmínky v celé kultivační místnosti. Byly nastaveny časy osvětlení a tmy 14/10 hodin, teploty 22 °C /16 °C. Ozáření při kultivaci činila $400 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Rostliny ječmene byly pěstovány ve dvou variantách – ve variantě kontrolní a ve variantě pokusné, která byla v průběhu růstu rostlin ošetřována roztokem chloridu kadmnatého o koncentraci $10^{-5} \text{mol.l}^{-1}$.

Po dalších třech dnech byl rostlinám do živného roztoku přidán roztok $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5 \text{H}_2\text{O}$ v koncentraci $10^{-5} \text{mol.l}^{-1}$.

V průběhu kultivace byla dolívána destilovaná voda (v závislosti na jejím odpařeném množství).

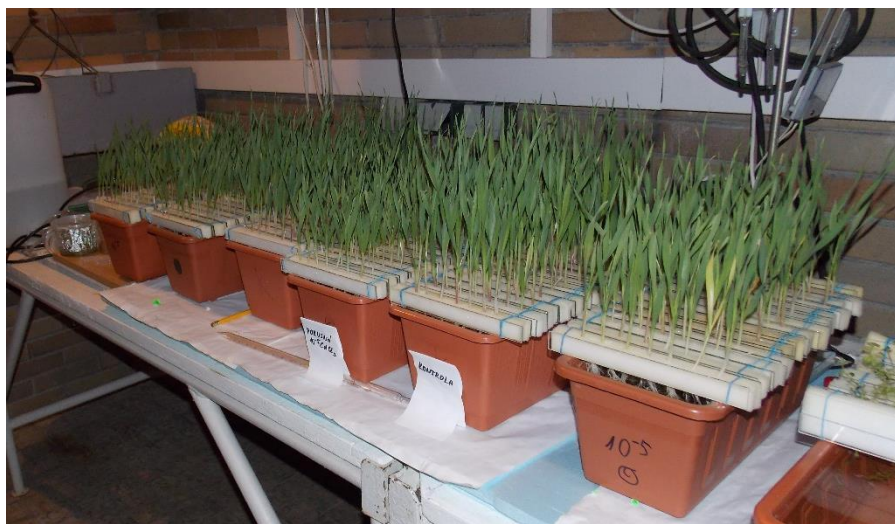
Po týdenní kultivaci byl všem rostlinám dodán základní živný roztok. Opět byly nádoby doplněny destilovanou vodou, provzdušněny a přemístěny pod osvětlením.

Po jedenácti dnech kultivace od přidání Cd do roztoku byly rostliny sklizeny, oddělena nadzemní část od kořenů, kořeny byly opláchnuty v destilované vodě, nadzemní část byla dále rozdělena na bázi stonku, první (nejstarší), druhý a třetí (nejmladší) list.

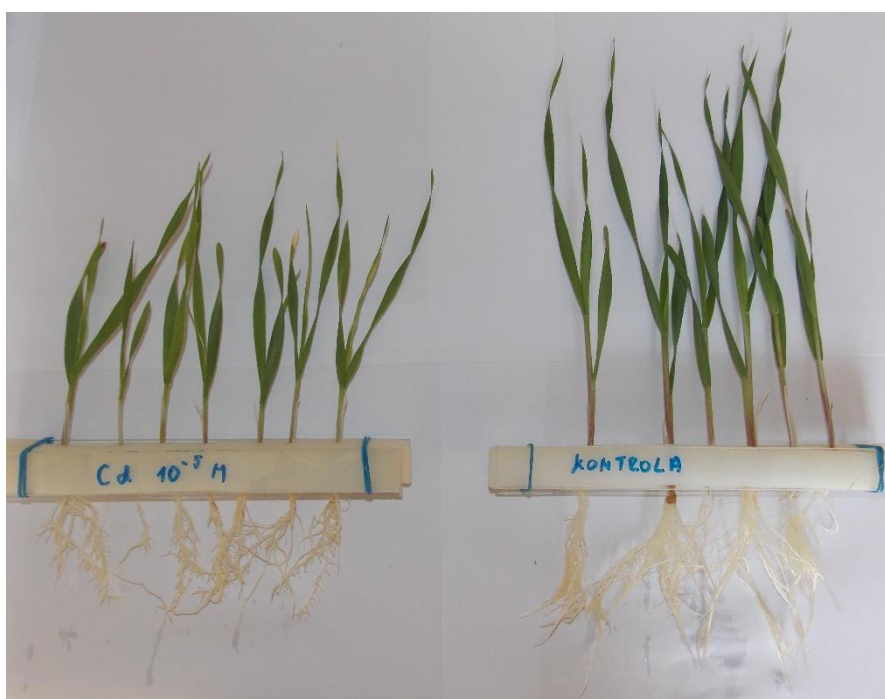
Pro nedostatek vypěstovaného materiálu bylo naprosto stejným způsobem provedeno ještě druhé opakování pokusu.



Obr. č. 1 Naklíčená zrna v kultivačních nádobách



Obr. č. 2 Rostlinky ječmene po 18 dnech od počátku naklíčování



Obr. č. 3 Porovnání rostlin kontrolní a pokusné varianty (po 11 dnech kultivace v živném roztoku s přidávkem kadmia v koncentraci 10^{-5} mol.l⁻¹)

Zjevnými příznaky zvýšeného obsahu kadmia v rostlinách jsou: zpomalení růstu a poškození kořenů projevující se hnědnutím kořenových vlásků a špiček, chlorózy listů a červenohnědé zbarvení listových okrajů či žilnatiny. Přítomnost kadmia v živném roztoku má za následek nižší vzrůst rostlin, menší množství a délku kořenů, celkově nižší tvorbu biomasy a obsah chlorofylu (Zhao et al., 2011; Kotíková a kol., 2013). Redukce růstu může být důsledkem interference Cd^{2+} s mnohými metabolickými procesy spojenými s normálním vývojem rostliny jako jsou syntéza proteinů, aktivita významných enzymů či biosyntéza chlorofylu (Shukla et al., 2003).

8.1.3.2 Metodika laboratorních prací

Příprava rostlinného materiálu k analýzám

Rostliny ječmene byly po 11 dnech hydroponické kultivace vyndány z pěstebních nádob, opláchnuty destilovanou vodou a následně rozstříhány na jednotlivé části (kořeny, stonky, první – nejstarší listy, druhé a třetí – nejmladší – listy). Takto upravený materiál byl dále lyofilizován. Po zhruba třídní lyofilizaci v přístroji LYOVAC-2 (Leybold, GmbH, Německo) byly suché vzorky rozemlety v analytickém mlýnku IKA A11 basic (WERKE GmbH). Namletý materiál byl skladován v chladničce v igelitových sáčcích uložených do exsikátoru.

8.1.3.2.1 Stanovení celkového obsahu ve vodě rozpustných proteinů

Stanovení proteinů spektrofotometrickou metodou

Celkový obsah proteinů ve vzorcích byl stanoven metodou dle Lowryho, fenolovým (Folinovým) činidlem. Principem této metody je proměřování modrého zbarvení, které poskytuje v proteinech přítomný tyrozin s fenolovým činidlem.

Příprava vzorku

Z rozemletého rostlinného materiálu bylo naváženo vždy přibližně 100 mg. Tento materiál byl po přidání křemičitého písku a 1 ml demineralizované vody 3 minuty homogenizován na třecí misce. Veškeré množství homogenátu bylo pomocí demineralizované vody kvantitativně převedeno do plastových centrifugačních zkumavek a centrifugováno po dobu 20 minut při 10 000 otáčkách za minutu. Supernatant byl následně slit do kalibrovaných zkumavek a doplněn demineralizovanou vodou na výsledný objem 10 ml. Takto připravený extrakt byl ještě před samotnou přípravou k analýze filtrován pomocí filtru Millipore Millex – HV (Hydrophilic PVDF 0,45 μ M).

Nejprve byla připravena sada standardů proteinu o koncentracích 200; 100; 50; 25 a 12,5 μ g . ml⁻¹. Do první zkumavky byl odměřen přesně 1 ml zásobního standardního roztoku proteinu. Postupným ředěním tohoto roztoku byly připraveny všechny ostatní nižší koncentrace. K těmto standardům bylo přidáno po 4 ml roztoku, již dříve připraveného smísením 2% Na₂CO₃ v 0,1 mol.l⁻¹ NaOH s 0,5% CuSO₄ . 5H₂O v 1% vinanu draselinosodném v poměru 50:1. Obsah zkumavek byl následně promísen a ponechán 10 minut při laboratorní teplotě. Poté bylo do všech zkumavek napipetováno 0,5 ml fenolového (Folinova) činidla, vše bylo důkladně promíseno a ponecháno 30 minut stát při laboratorní

teplotě. Současně s těmito standardy byl připraven slepý vzorek (bez roztoku proteinu). Poté byla proměřena absorbance těchto standardních roztoků při vlnové délce 750 nm a sestrojena kalibrační křivka a rovnice této křivky (viz graf č. 2), s jejíž pomocí byla následně absorbance konkrétních vzorků přepočítána na skutečný obsah proteinů v sušině.

Vzorky připravené z rostlinného materiálu bylo nejprve nutné pro optimalizaci měření 20krát naředit. Namísto 1 ml extraktu bylo tedy použito 50 μ l přefiltrovaného extraktu a 950 μ l destilované vody.

8.1.3.2.2 Stanovení obsahu volných aminokyselin

Obsah volných aminokyselin byl stanoven metodou HPLC s fluorescenční detekcí AccQ.

Příprava vzorku

Z rozemletého rostlinného materiálu bylo naváženo vždy přibližně 100 mg. Tento materiál byl po přidání křemičitého písku a 1 ml demineralizované vody 3 minuty homogenizován na třecí misce. Veškeré množství homogenátu bylo pomocí demineralizované vody kvantitativně převedeno do plastových centrifugačních zkumavek a centrifugováno po dobu 20 minut při 10 000 otáčkách za minutu. Supernatant byl následně slit do kalibrovaných zkumavek a doplněn demineralizovanou vodou na výsledný objem 10 ml. Takto připravený extrakt byl ještě před samotnou přípravou k analýze filtrován pomocí filtru Millipore Millex – HV (Hydrophilic PVDF 0,45 μ M).

AccQ*Tag metoda je založena na specifické reakci fluorescenčního AccQ-Fluor činidla (6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl karbamát) s primárními a sekundárními aminokyselinami za vzniku produktu, který je velmi stabilní po dobu jednoho týdne při pokojové teplotě a vykazuje silnou fluorescenci při 395 nm. K derivatizaci aminokyselin byl použit AccQ*Fluor kit (WATERS, Milford, USA), který obsahuje AccQ-Fluor činidlo, AccQ*fluor roztoky a standard hydrolyzátu aminokyselin (2,5 mmol.l⁻¹ směs 17 aminokyselin). Extrakt nebo standard hydrolyzátu aminokyselin o objemu 10 μ l byl přidán do 70 μ l AccQ*fluor borátového pufru a následně derivatizován 20 μ l AccQ*Fluor derivatizačního činidla. Po několikasekundovém míchání na Vortexu byly vzorky zahřívány při 55 °C po dobu 10 minut a analyzovány na koloně s reverzní fází Nova Pak C18 s mobilní fází AccQ*Tag eluent za podmínek uvedených v tabulce č. 1.

Tab. č. 1 Gradientová eluce na koloně s reverzní fází Nova Pak C18, složení mobilní fáze: A - AccQ pufr, pH 4,8; B – 60 % acetonitril průtok 1 ml.min⁻¹ (AccQ*Tag metoda - analýza aminokyselin)

Čas (min)	% A	% B
0	100	0
0,5	98	2
15	93	7
19	90	10
32	67	33
33	67	33
34	0	100

8.1.3.2.3 Stanovení obsahu vybraných prvků

Kadmium ve vzorcích rostlin kontrolní varianty bylo stanoveno metodou AAS s použitím elektrotermické atomizace (ETA-AAS). Stanovení kadmia ve vzorcích rostlin pokusné varianty a všech ostatních prvků (Fe, Zn, Cu, Mn) ve vzorcích kontrolní i pokusné varianty bylo provedeno metodou ICP-OES.

Příprava vzorků

Do teflonových váženek DAP-60S bylo naváženo asi 0,15 g vzorku s přesností 0,0001 g. Ke vzorku byly přidány 2 ml koncentrované dusičné kyseliny (67%) a poté 3 ml peroxidu vodíku (36%). Nádobky byly protřepány a ponechány na půl hodiny stát. Po odstání byly teflonové nádobky uzavřeny a vloženy do mineralizačního zařízení MWS-3⁺ speed wave (Berghof), kde proběhl tlakový rozklad vzorků. Při tlaku 20 bar, teplotách od 100 °C do 190 °C po dobu 60 minut.

Po skončení teplotního rozkladu byly nádobky vyjmuty a ponechány vychladnout na laboratorní teplotu. Obsah nádobek byl pomocí ultračisté vody kvantitativně převeden do 50 ml kádinek. Kádinky se vzorky byly umístěny na elektrickou topnou desku, kde byly při 120 °C odpařeny téměř do sucha. Po odpaření byly mineralizáty znovu rozpuštěny v 1,5% kyselině dusičné, poté byly převedeny do 10 ml kalibrovaných zkumavek a pomocí stříčky s 1,5% kyselinou dusičnou byly doplněny po rysku. Takto připravené vzorky byly analyzovány na obsah kadmia, mědi, zinku, železa a manganu. Zároveň se vzorky byl proveden slepý pokus se všemi činidly a stejným postupem, ale bez navážky vzorku. Kvantifikace byla provedena metodou externí kalibrace, při které byly srovnány plochy

kalibračních standardů (5-50 $\mu\text{g.l}^{-1}$ pro Cd, 50-500 $\mu\text{g.l}^{-1}$ pro Cu, 1-10 mg.l^{-1} pro Fe, Zn a Mn) s plochami analytu ve vzorku. Pro kontrolu byl současně analyzován certifikovaný referenční materiál 1567a (pšeničná mouka) a slepé vzorky, jenž byly připraveny stejným způsobem jako ostatní analyzované vzorky, ale bez navážky rostlinného materiálu.

8.1.3.3 Zpracování výsledků

Výsledky byly zpracovány pomocí programů Microsoft Office Excel 2013 a statistického programu Statistica.

9 Výsledky

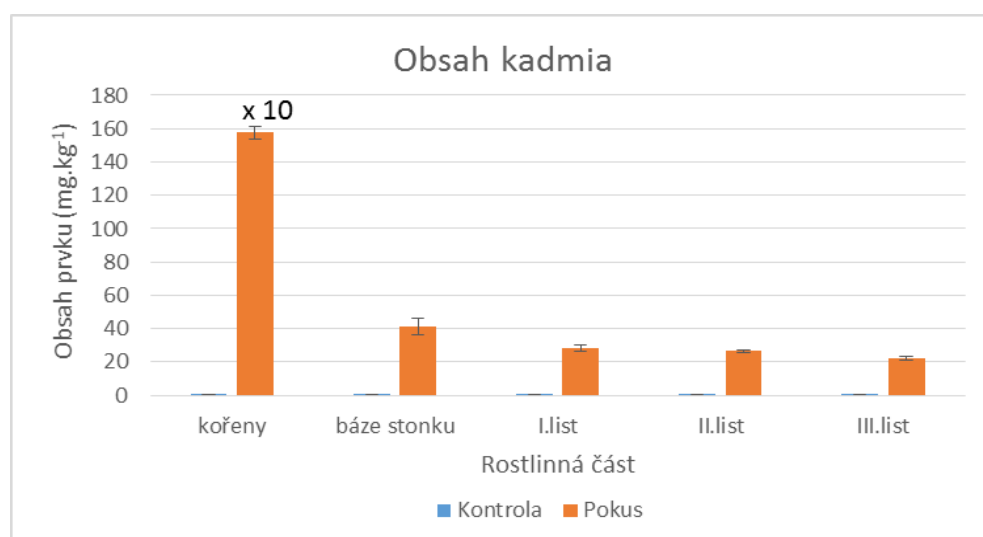
9.1 Stanovení obsahu kadmia

Výsledné zjištěné obsahy kadmia, včetně směrodatných odchylek a variačních koeficientů, v jednotlivých částech rostlin kontrolních i pokusných variant jsou uvedeny v následující tabulce č. 2. (v závorce uvedené symboly: K = vzorky kontrolní varianty; P = vzorky pokusné varianty).

Tab. č. 2 Stanovené obsahy kadmia v jednotlivých částech rostlin ječmene

Cd			
rostlinná část	průměrný obsah (mg.kg ⁻¹)	směrodatná odchylka (mg.kg ⁻¹)	variační koeficient (%)
I. list (K)	0,02	0,00	9,2
II. list (K)	0,03	0,01	22,4
III. list (K)	0,16	0,03	19,5
kořeny (K)	0,38	0,03	8,9
báze (K)	0,02	0,01	39,8
I. list (P)	28,40	0,59	2,1
II. list (P)	26,47	0,21	0,8
III. list (P)	21,98	0,26	1,2
kořeny (P)	1575,65	55,26	3,5
báze (P)	41,20	2,06	5,0

Výsledné hodnoty, uvedené v tab. č. 2 výše, jsou pro názornost a porovnání vyneseny do sloupcového grafu. Viz graf č. 1.



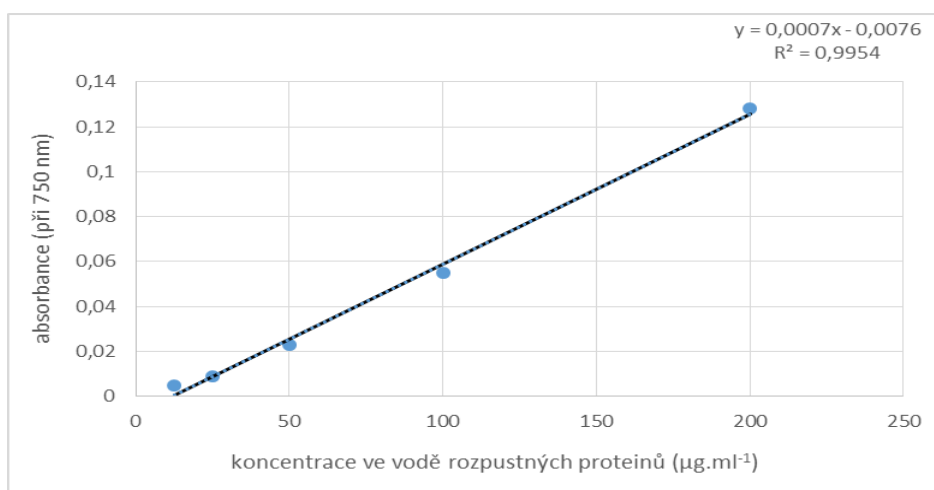
Graf č. 1 Stanovené průměrné obsahy kadmia v jednotlivých částech rostlin ječmene s vyznačením směrodatných odchylek

Z grafu je patrné, že nejvyšším obsah kadmia byl nalezen v kořenech rostlin pokusné varianty (1575,65 mg.kg⁻¹ v sušině). V dalších částech rostlin pokusné varianty pak byla nalezena výrazně nižší množství kadmia, konkrétně v bázích stonků 41,20 mg.kg⁻¹, v prvních listech 28,40 mg.kg⁻¹, v druhých listech 26,47 mg.kg⁻¹ a ve třetích listech 21,98 mg.kg⁻¹, což představuje 2,6 %, 1,8 %, 1,7 % a 1,4 % z množství nalezeného v kořenech).

Pro lepší přehlednost grafu je uvedena 10krát nižší hodnota obsahu kadmia v kořenech rostlin pokusné varianty.

9.2 Stanovení celkového obsahu ve vodě rozpustných proteinů

Pro stanovení celkového obsahu ve vodě rozpustných proteinů, byla sestavena kalibrační závislost absorbance daného standardního roztoku proteinu na jeho koncentraci (byly použity koncentrace: 200; 100; 50; 25 a 12,5 μg.ml⁻¹). Získaná kalibrační závislost je uvedena v grafu č. 2.



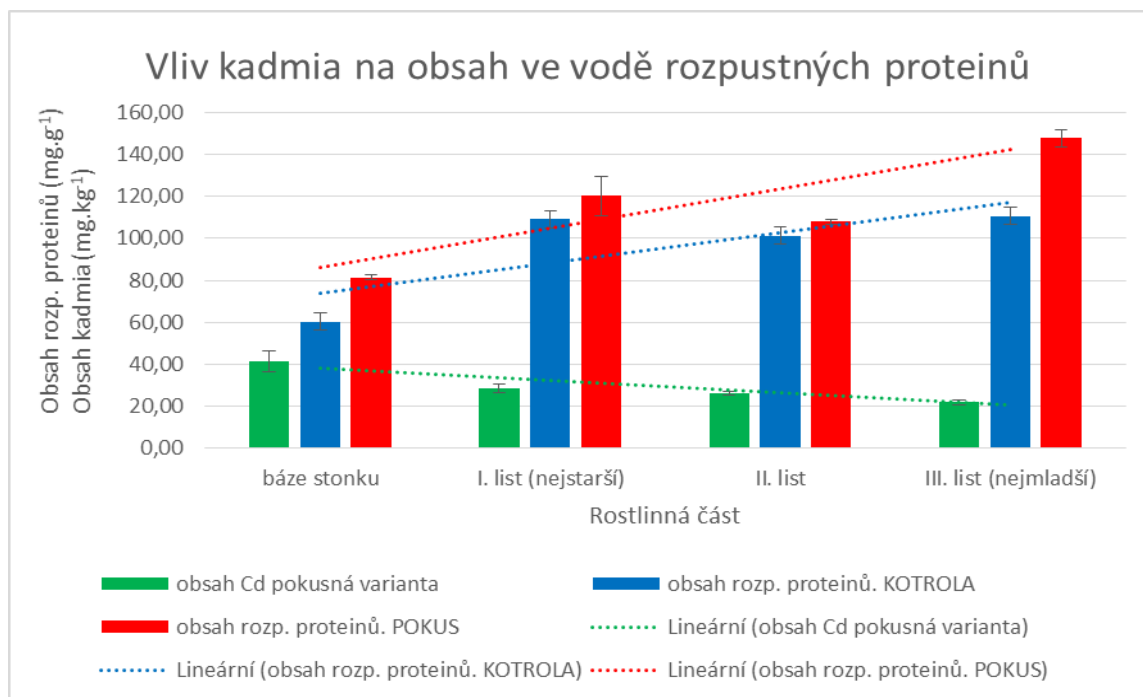
Graf č. 2 Kalibrační závislost pro stanovení celkového obsahu ve vodě rozpustných proteinů dle Lowryho

Proměřením absorbance reálných vzorků a výpočtem z regresní rovnice byly zjištěny následující hodnoty koncentrace ve vodě rozpustných proteinů (viz tab. č. 3). V tabulce jsou uvedeny hodnoty ze dvou opakování měření (A a B). Označení vzorků: K = kontrolní varianta; P = pokusná varianta.

Tab. č. 3 Obsah ve vodě rozpustných proteinů ve vzorcích ječmene

vzorek	opakování	absorbance při 750 nm	obsah proteinů v sušině (mg.g ⁻¹)	průměrný obsah proteinů v sušině (mg.g ⁻¹)	směrodatná odchylka (mg.g ⁻¹)	variční koeficient (%)
K I.list	A	0,030	105,01	109,20	5,92	5,4
	B	0,033	113,39			
K II.list	A	0,029	97,37	101,36	5,64	5,6
	B	0,032	105,35			
K III.list	A	0,037	118,76	114,77	5,65	4,9
	B	0,034	110,77			
K kořen	A	0,015	61,26	65,33	5,75	8,8
	B	0,018	69,40			
K báze stonku	A	0,016	64,46	60,37	5,79	9,6
	B	0,013	56,27			
P I.list	A	0,034	110,98	120,32	13,20	10,9
	B	0,041	129,65			
P II.list	A	0,034	109,24	107,93	1,86	1,7
	B	0,033	106,62			
P III.list	A	0,047	151,90	147,73	5,90	3,9
	B	0,044	143,55			
P kořen	A	0,037	118,21	108,93	13,12	12,0
	B	0,030	99,66			
P báze stonku	A	0,023	82,79	81,44	1,91	2,4
	B	0,022	80,09			

Výsledné hodnoty, uvedené v tab. č. 3 výše, jsou pro názornost a porovnání vyneseny do sloupcového grafu. Viz graf č. 3.



Graf č. 3 Průběh změny celkového obsahu ve vodě rozpustných proteinů (K = kontrolní varianta; P = pokusná varianta) s vyznačením směrodatných odchylek.

Z grafu č. 3 je patrné, že ve všech nadzemních částech rostlin ječmene pokusné varianty došlo v porovnání s variantou kontrolní v důsledku přítomnosti kadmia k nárůstu celkového obsahu ve vodě rozpustných proteinů. V biomase bází stonků byl zaznamenán nárůst o 34,9 % (z 60,37 mg.g⁻¹ na 81,44 mg.g⁻¹), v prvních listech o 10,2 % (z 109,20 mg.g⁻¹ na 120,32 mg.g⁻¹), v druhých listech o 6,5 % (ze 101,36 mg.g⁻¹ na 107,93 mg.g⁻¹) a ve třetích listech o 33,4 % (ze 110,77 mg.g⁻¹ na 147,73 mg.g⁻¹). V biomase kořenů byl taktéž zaznamenán nárůst v obsahu ve vodě rozpustných proteinů, a sice o 77,8 % (ze 109,20 mg.g⁻¹ na 120,32 mg.g⁻¹), s ohledem na hodnocení kvality výsledného produktu (zrna) však byly sledovány především změny v nadzemních částech rostlin.

Ze statistického vyhodnocení na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ vyplývá, že existuje statisticky významný rozdíl mezi rostlinami kontrolní a pokusné varianty v obsahu ve vodě rozpustných proteinů kořenech, bázích stonků a třetích (nejmladších) listech (viz tab. č. 4). Statisticky byla také prokázána závislost procentuálního rozdílu v obsahu ve vodě rozpustných proteinů mezi kontrolní a pokusnou variantou na obsahu kadmia v jednotlivých rostlinných částech. Ze statistického šetření vyplývá, že čím nižší je obsah kadmia v dané rostlinné části, tím menší je procentuální rozdíl v obsahu ve vodě rozpustných proteinů mezi kontrolní a pokusnou variantou.

Tab. č. 4 Statistické zhodnocení významnosti rozdílu mezi kontrolní a pokusnou variantou v obsahu ve vodě rozpustných proteinů (výstup z programu Statistica)

Symbol * v tabulce č. 4 značí existenci statisticky významného rozdílu (na hladině významnosti $\alpha = 0,05$) mezi kontrolní a pokusnou variantou v obsahu ve vodě rozpustných proteinů v příslušné rostlinné části.

Obsah ve vodě rozpustných proteinů											
rostlinná část	průměr kontroly	průměr pokusu	hodnota t	stupeň volnosti	p	poč. plat. Kontrola	poč. plat. Pokus	sm.odch. kontrola	sm.odch. pokus	F-poměr Rozptyly	p-rozptyly
kořen *	65,33	108,93	-4,30	2	0,05	2	2	5,75	13,12	5,20	0,53
báze stonku *	60,37	81,44	-4,88	2	0,04	2	2	5,79	1,91	9,18	0,41
I. list	109,20	120,32	-1,09	2	0,39	2	2	5,92	13,20	4,97	0,54
II. list	101,36	107,93	-1,56	2	0,26	2	2	5,64	1,86	9,24	0,40
III. list *	114,77	147,73	-5,71	2	0,03	2	2	5,65	5,90	1,09	0,97

9.3 Stanovení obsahu volných aminokyselin

Výsledné zjištěné obsahy volných aminokyselin v jednotlivých částech rostlin kontrolní i pokusné varianty jsou uvedeny v tab. č. 5.

V kořenech došlo k významnému poklesu (v pokusné variantě v porovnání s kontrolní o více než 30 %) obsahu všech sledovaných aminokyselin s výjimkou argininu, u kterého byl zaznamenán naopak významný nárůst (o 168,8 %). V bázi stonku rostlin pokusné varianty došlo taktéž ke snížení obsahu všech sledovaných volných aminokyselin (s výjimkou isoleucinu, jehož obsah se nezměnil). Výrazný pokles (o více než 30 %) byl zaznamenán u Asp, Glu, Gly, His, Arg, Ala, Tyr, Met a Phe, pokles obsahu ostatních aminokyselin již nebyl tak výrazný. V prvním listu prakticky nedošlo k výrazné změně v obsahu žádné ze sledovaných aminokyselin s výjimkou Ala a Leu, u nichž byl v pokusné variantě pozorován nárůst o cca. 30 %. Ve druhém listu byl u všech sledovaných aminokyselin s výjimkou Asp a Thr, jejichž obsah se téměř nezměnil, zaznamenán pokles, který byl zvláště významný u aminokyselin Gly, His, Arg, Tyr, Val, Met, Lys. Ve třetím listu byl zaznamenán výrazný pokles aminokyselin Glu, Gly a His, množství všech ostatních (s výjimkou Arg a Ala, jejichž obsah zůstal téměř nezměněn) výrazně vzrostlo, v případě esenciálního Met, Lys a Leu dokonce o více než 100 %.

Tab. č. 5 Průměrné obsahy volných aminokyselin v jednotlivých částech rostlin kontrolní i pokusné varianty

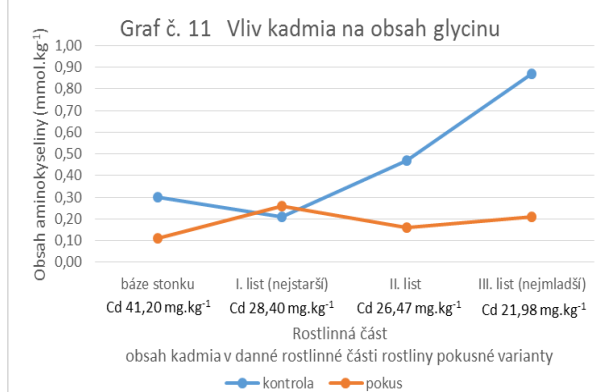
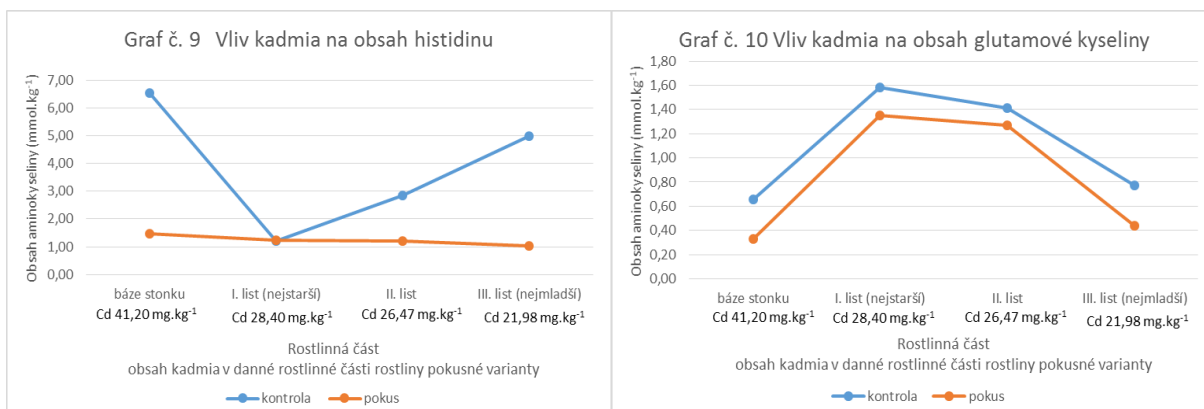
Symbol * značí existenci statisticky významného rozdílu (na hladině významnosti $\alpha = 0,05$) mezi obsahem dané volné aminokyseliny v konkrétním vzorku pokusné varianty v porovnání s odpovídajícím vzorkem varianty kontrolní.

AMK	kořen			báze stonku			I. list (nejstarší)			II. list			III. list (nejmladší)		
	kontrola (mmol.kg ⁻¹)	pokus (mmol.kg ⁻¹)	změna (%)	kontrola (mmol.kg ⁻¹)	pokus (mmol.kg ⁻¹)	změna (%)	kontrola (mmol.kg ⁻¹)	pokus (mmol.kg ⁻¹)	změna (%)	kontrola (mmol.kg ⁻¹)	pokus (mmol.kg ⁻¹)	změna (%)	kontrola (mmol.kg ⁻¹)	pokus (mmol.kg ⁻¹)	změna (%)
ASP	1,49	0,57	-61,7*	1,30	0,75	-42,3*	1,83	1,76	-3,8	1,95	1,98	1,5	1,28	2,07	61,7*
SER	2,61	2,12	-18,8	9,26	6,80	-26,6*	2,47	2,44	-1,2	3,33	2,73	-18,0*	4,79	8,77	83,1*
GLU	1,81	0,78	-56,9*	0,66	0,33	-50,0*	1,58	1,35	-14,6*	1,41	1,27	-9,9	0,77	0,44	-42,9*
GLY	0,23	0,10	-56,5*	0,30	0,11	-63,3*	0,21	0,26	23,8	0,47	0,16	-66,0*	0,87	0,21	-75,9*
HIS	3,64	1,46	-59,9*	6,54	1,48	-77,4*	1,22	1,24	1,6	2,86	1,22	-57,3*	4,99	1,03	-79,4*
ARG	0,16	0,43	168,8*	0,22	0,15	-31,8*	0,32	0,32	0,0	0,36	0,22	-38,9*	0,23	0,25	8,7
THR	0,55	0,37	-32,7*	0,76	0,61	-19,7*	0,71	0,84	18,3	1,08	1,13	4,6	0,85	1,24	45,9*
ALA	4,10	0,98	-76,1*	3,72	1,58	-57,5*	1,91	2,50	30,9*	2,59	1,98	-23,6	1,77	2,03	14,7
TYR	0,07	0,04	-42,9*	0,09	0,06	-33,3*	0,21	0,22	4,8	0,22	0,11	-50,0*	0,13	0,19	46,2
VAL	0,59	0,26	-55,9*	0,46	0,40	-13,0	0,47	0,44	-6,4	0,65	0,39	-40,0*	0,39	0,65	66,7*
MET	0,07	0,03	-57,1*	0,05	0,03	-40,0	0,17	0,16	-5,9	0,18	0,08	-55,6*	0,06	0,13	116,7*
LYS	0,28	0,17	-39,3*	0,19	0,17	-10,5*	0,81	0,71	-12,3	0,68	0,46	-32,4*	0,29	0,62	113,8*
ILE	0,23	0,13	-43,5*	0,18	0,18	0,0	0,24	0,23	-4,2	0,24	0,18	-25,0	0,16	0,29	81,3*
LEU	0,30	0,17	-43,3*	0,24	0,20	-16,7	0,54	0,72	33,3*	0,53	0,42	-20,8	0,27	0,61	125,9*
PHE	0,13	0,08	-38,5*	0,19	0,13	-31,6	0,31	0,30	-3,2	0,30	0,22	-26,7*	0,21	0,28	33,3



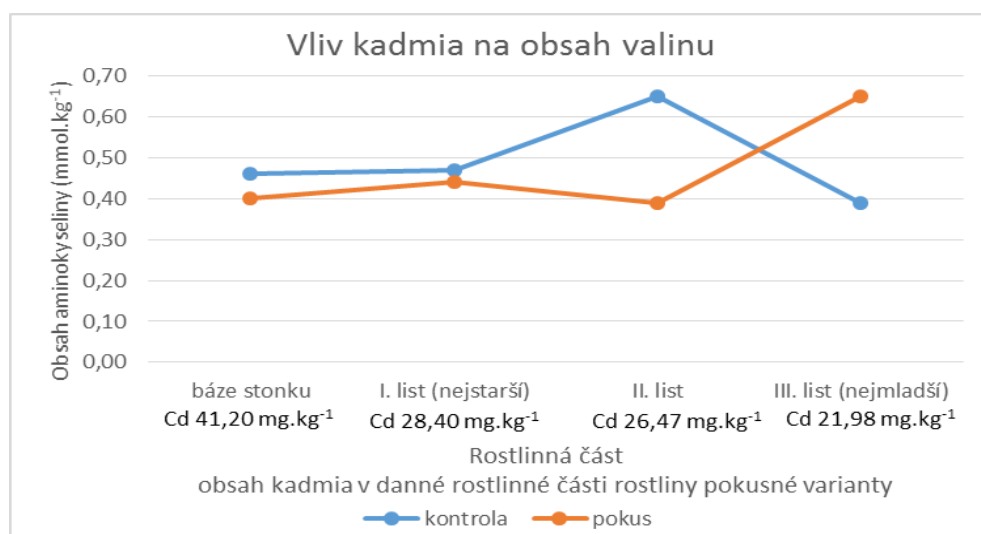
Grafy č. 4, č. 5, č. 6, č. 7 a č. 8 Změny v obsahu volných aminokyselin v jednotlivých částech rostlin ječmene kontrolní a pokusné varianty.

Z grafů č. 4, č. 5, č. 6, č. 7 a č. 8 je zřejmé, že v kořenech a bázích stonků došlo v důsledku přítomnosti kadmia k poklesu všech sledovaných volných aminokyselin. Naproti tomu ve třetím listu byl u většiny sledovaných volných aminokyselin zaznamenán výrazný nárůst v obsahu. V prvním (nejstarším) listu nedošlo k žádným výrazným změnám.



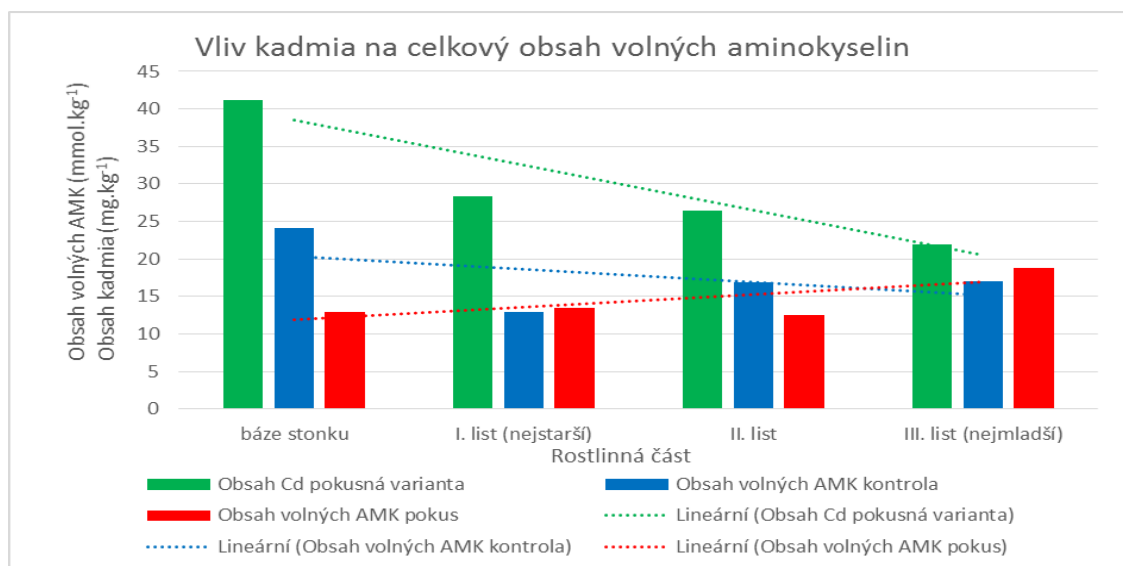
Grafy č. 9, č. 10 a č. 11 Vliv kadmia na obsah volných aminokyselin histidinu, glutamové kyseliny a glycinu.

Z těchto grafů je patrné snížení obsahu uvedených aminokyselin v důsledku přítomnosti kadmia. V případě kyseliny glutamové a glycinu by možným vysvětlením mohlo být jejich využití rostlinou pro syntézu fytochelatinů (viz kap. 5.1).



Graf č. 12 Vliv kadmia na obsah volného valinu v nadzemních částech rostlin

Z grafu č. 12 je patrné, že v důsledku přítomnosti kadmia došlo k výraznému snížení obsahu volného valinu ve druhém listu a naopak ke zvýšení jeho obsahu ve třetím (tedy nejmladším) listu. Obdobný průběh byl pozorován také u dalších volných aminokyselin: argininu, tyrosinu, methioninu, lysinu, isoleucinu, leucinu a fenylalaninu.

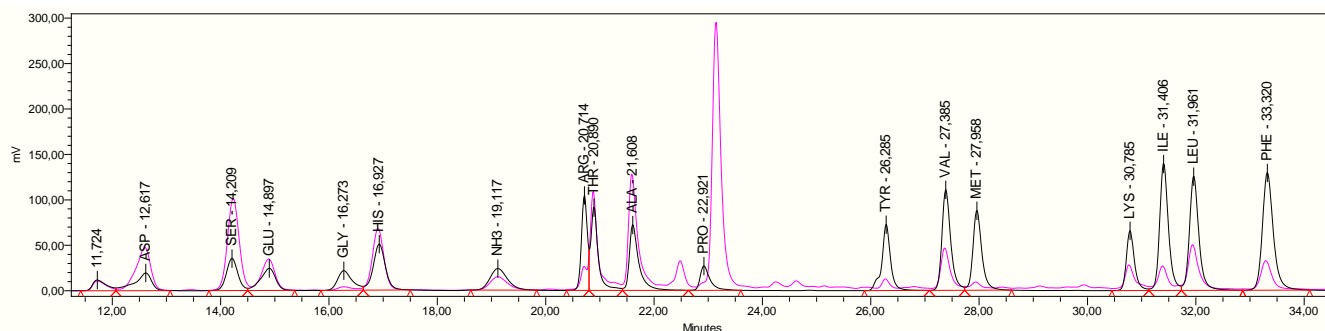


Graf č. 13 Celkový obsah volných aminokyselin v jednotlivých částech rostlin kontrolní a pokusné varianty

Červená tečkovaná čára v grafu č. 13 znázorňuje mírný trend rostoucího celkového obsahu volných aminokyselin v uvedených rostlinných částech. V témže pořadí jednotlivých rostlinných částí byl pozorován trend klesajícího obsahu kadmia (zelená tečkovaná čára). Závislost celkového obsahu volných aminokyselin na obsahu kadmia však nebyla statisticky prokázána.

Metodou HPLC bylo docíleno rozdělení a identifikace všech volných (proteinogenních) aminokyselin (dle použitého standardního roztoku aminokyselin) v reálných extraktech s výjimkou cysteinu a prolinu. Cystein je sirná aminokyselina obsahující –SH skupinu, která musí být během derivatizace chemicky ochráněna před oxidací. Ve výše uvedených výsledcích není dále zahrnuta volná aminokyselina prolin, jelikož z výsledků získaných metodou HPLC nelze tuto aminokyselinu jednoznačně identifikovat. Jak je zřejmé z obr. č. 4, byly nalezeny dva nové píky v blízkosti retenčního času

odpovídajícího aminokyselině prolinu, které však neodpovídají retenčnímu času prolinu dle standardu aminokyselin.



Obr. č. 4 Chromatografický záznam analýzy vzorku (druhého listu rostlin pokusné varianty) a standardního roztoku aminokyselin.

Analýza na koloně s reverzní fází Nova Pak C18 s mobilní fází AccQ*Tag eluent za podmínek změny gradientu v průběhu 33 minut ze 100 % mobilní fáze A (AccQ pufru) na 67 % mobilní fáze A a 33 % mobilní fáze B (60 % acetonitril) při průtoku $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$.

Černá linka je záznamem standardního roztoku, pík s retenčním časem 22,921 sekundy patří prolinu. Jak je z obrázku patrné, retenční časy aminokyselin ve vzorku rostlinného materiálu (fialová křivka) odpovídají standardu, výjimkou je pouze prolin, kterému dle tohoto záznamu nelze jednoznačně přiřadit žádný pík. Stejný výsledek byl zaznamenán ve všech rostlinných vzorcích kontrolní i pokusné varianty. Možným vysvětlením je přítomnost modifikované aminokyseliny hydroxyprolinu viz kap. 6.2 nebo methylované formy prolinu. Retenční časy píků náležících všem ostatním aminokyselinám v extraktech ječmene s retenčními časy standardu aminokyselin jsou shodné (viz obr. č. 4).

9.4 Stanovení obsahu vybraných prvků

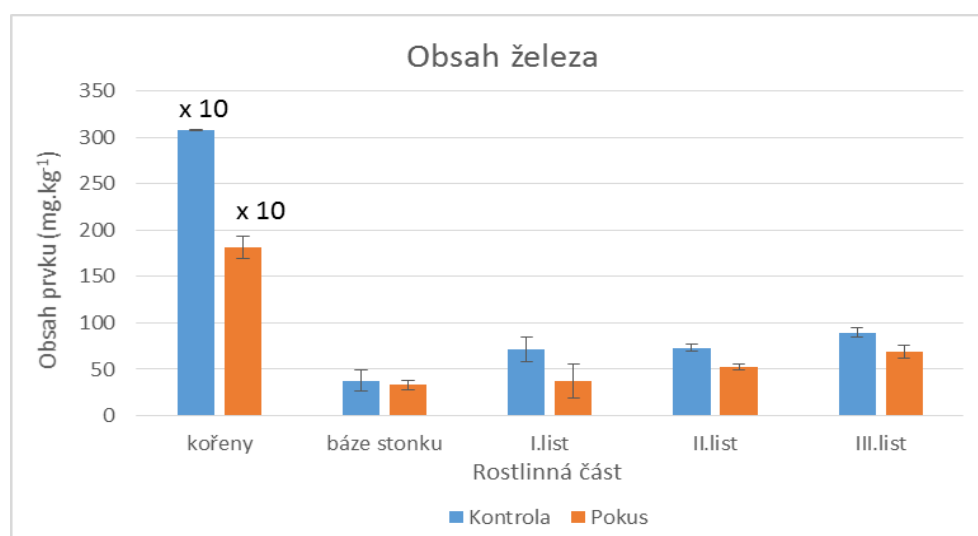
9.4.1 Stanovení obsahu železa

Výsledné zjištěné obsahy železa, včetně směrodatných odchylek a variačních koeficientů, v jednotlivých částech rostlin kontrolních i pokusných variant jsou uvedeny v následující tabulce č. 6. (v závorce uvedené symboly: K = vzorky kontrolní varianty; P = vzorky pokusné varianty)

Tab. č. 6 Stanovené obsahy železa v jednotlivých částech rostlin ječmene

Fe			
rostlinná část	průměrný obsah (mg.kg ⁻¹)	směrodatná odchylka (mg.kg ⁻¹)	variační koeficient (%)
I. list (K)	71,16	13,22	18,6
II. list (K)	72,96	3,88	5,3
III. list (K)	89,65	5,20	5,8
kořeny (K)	3078,01	9,48	0,3
báze (K)	37,91	11,60	30,6
I. list (P)	37,71	8,37	22,2
II. list (P)	52,52	3,63	6,9
III. list (P)	68,86	6,90	10,0
kořeny (P)	1816,76	122,03	6,7
báze (P)	33,04	4,63	14,0

Výsledné hodnoty, uvedené v tab. č. 6 výše, jsou pro názornost a porovnání vyneseny do sloupcového grafu. Viz graf č. 14.



Graf č. 14 Změna obsahu železa v jednotlivých částech rostlin ječmene, porovnání kontrolní a pokusné varianty s vyznačením směrodatných odchylek.

Ve všech analyzovaných částech rostlin ječmene pokusné varianty byl, v porovnání s variantou kontrolní, zjištěn pokles obsahu železa. V nejméně výrazný pokles byl zaznamenán v prvním listu (o 47,0 %, ze 71,16 mg.kg⁻¹ na 37,71 mg.kg⁻¹) a kořenech (o 41,0 %, z 3078,01 mg.kg⁻¹ na 1816,76 mg.kg⁻¹). V ostatních částech nebyl pokles tak výrazný. V druhém listu došlo ke snížení obsahu železa o 28,0 % (ze 72,96 mg.kg⁻¹ na 52,52 mg.kg⁻¹), ve třetím listu o 23,2 % (z 89,65 mg.kg⁻¹ na 68,86 mg.kg⁻¹) a bázi stonku o 12,9 % (z 37,91 mg.kg⁻¹ na 33,04 mg.kg⁻¹).

Pro lepší přehlednost grafu je uvedena 10 krát nižší hodnota obsahu železa v kořenech rostlin kontrolní i pokusné varianty.

Ze statistického vyhodnocení na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ vyplývá, že existuje statisticky významný rozdíl mezi rostlinami kontrolní a pokusné varianty v obsahu železa v kořenech, prvních (nejstarších) a druhých listech (viz tab. č. 10).

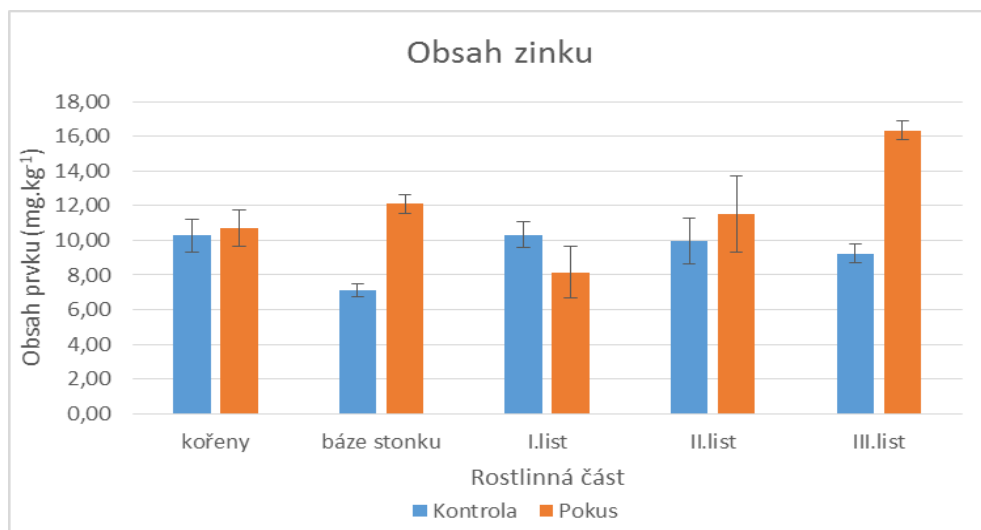
9.4.2 Stanovení obsahu zinku

Výsledné zjištěné obsahy zinku, včetně směrodatných odchylek a variačních koeficientů, v jednotlivých částech rostlin kontrolních i pokusných variant jsou uvedeny v následující tabulce č. 7. (v závorce uvedené symboly: K = vzorky kontrolní varianty; P = vzorky pokusné varianty)

Tab. č. 7 Stanovené obsahy zinku v jednotlivých částech rostlin ječmene

Zn			
rostlinná část	průměrný obsah (mg.kg ⁻¹)	směrodatná odchylka (mg.kg ⁻¹)	variační koeficient (%)
I. list (K)	10,33	0,76	7,3
II. list (K)	9,96	1,32	13,3
III. list (K)	9,23	0,53	5,8
kořeny (K)	10,29	0,96	9,3
báze (K)	7,11	0,38	5,4
I. list (P)	8,15	1,48	18,2
II. list (P)	11,53	2,20	19,1
III. list (P)	16,35	0,53	3,3
kořeny (P)	10,70	1,05	9,8
báze (P)	12,10	0,56	4,6

Výsledné hodnoty, uvedené v tab. č. 7 výše, jsou pro názornost a porovnání vyneseny do sloupcového grafu. Viz graf č. 15.



Graf č. 15 Změna obsahu zinku v jednotlivých částech rostlin ječmene, porovnání kontrolní a pokusné varianty s vyznačením směrodatných odchylek.

Z grafu č. 15 je patrné, že ve všech částech rostlin ječmene kromě prvních listů (pokles o 21,1 % oproti kontrolní variantě, z 10,33 mg.kg⁻¹ na 8,15 mg.kg⁻¹) byl v pokusné variantě zaznamenán nárůst obsahu zinku. Tento nárůst v kořenech dosáhl 4 % (z 10,29 mg.kg⁻¹ na 10,70 mg.kg⁻¹) v kořenech, 70,2 % (z 7,11 mg.kg⁻¹ na 12,10 mg.kg⁻¹) v bázích stonků, 77,2 % (z 9,23 mg.kg⁻¹ na 16,35 mg.kg⁻¹) ve třetích listech a 15,8 % (z 9,96 mg.kg⁻¹ na 11,53 mg.kg⁻¹) druhých listech.

Ze statistického vyhodnocení na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ vyplývá, že existuje statisticky významný rozdíl mezi rostlinami kontrolní a pokusné varianty v obsahu zinku v bázích stonků a třetích (nejmladších) listech (viz tab. č. 11).

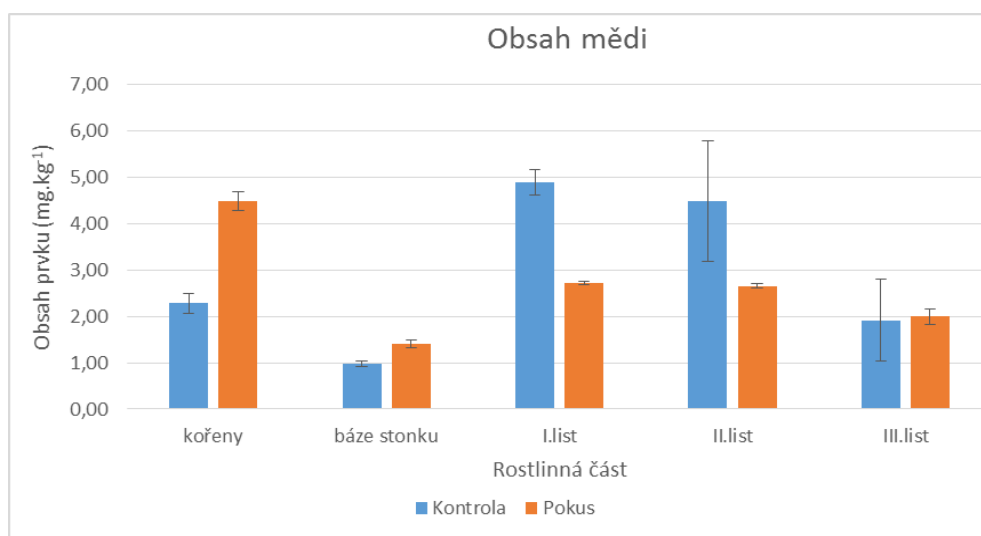
9.4.3 Stanovení obsahu mědi

Výsledné zjištěné obsahy mědi, včetně směrodatných odchylek a variačních koeficientů, v jednotlivých částech rostlin kontrolních i pokusných variant jsou uvedeny v následující tabulce č. 8. (v závorce uvedené symboly: K = vzorky kontrolní varianty; P = vzorky pokusné varianty)

Tab. č. 8 Stanovené obsahy mědi v jednotlivých částech rostlin ječmene

Cu			
rostlinná část	průměrný obsah (mg.kg ⁻¹)	směrodatná odchylka (mg.kg ⁻¹)	variační koeficient (%)
I. list (K)	4,90	0,28	5,7
II. list (K)	4,49	1,30	28,9
III. list (K)	1,92	0,47	24,5
kořeny (K)	2,28	0,21	9,1
báze (K)	0,98	0,06	6,1
I. list (P)	2,72	0,03	1,1
II. list (P)	2,66	0,05	1,8
III. list (P)	2,00	0,17	8,5
kořeny (P)	4,84	0,20	4,1
báze (P)	1,40	0,09	6,3

Výsledné hodnoty, uvedené v tab. č. 8 výše, jsou pro názornost a porovnání vyneseny do sloupcového grafu. Viz graf č. 16.



Graf č. 16 Změna obsahu mědi v jednotlivých částech rostlin ječmene, porovnání kontrolní a pokusné varianty s vyznačením směrodatných odchylek.

V kořenech, bázích stonků a třetích listech pokusných rostlin byl zaznamenán nárůst obsahu mědi. V kořenech tento nárůst dosáhl dokonce 112,1 % (z 2,28 mg.kg⁻¹ na 4,84 mg.kg⁻¹), v bázích stonků došlo ke zvýšení obsahu mědi o 42,4 % (z 0,98 mg.kg⁻¹ na 1,40 mg.kg⁻¹). Pouze k nepatrné změně (navýšení o 4,3 %) v obsahu mědi došlo ve třetích listech (z 1,92 mg.kg⁻¹ na 2,00 mg.kg⁻¹). K výraznému snížení obsahu mědi došlo v prvních (o 44,4 %, z 4,90 mg.kg⁻¹ na 2,72 mg.kg⁻¹) a druhých listech (o 40,9 %, z 4,49 mg.kg⁻¹ na 2,66 mg.kg⁻¹).

Ze statistického vyhodnocení na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ vyplývá, že existuje statisticky významný rozdíl mezi rostlinami kontrolní a pokusné varianty v obsahu mědi v kořenech, bázích stonků a prvních (nejstarších) listech (viz tab. č. 12).

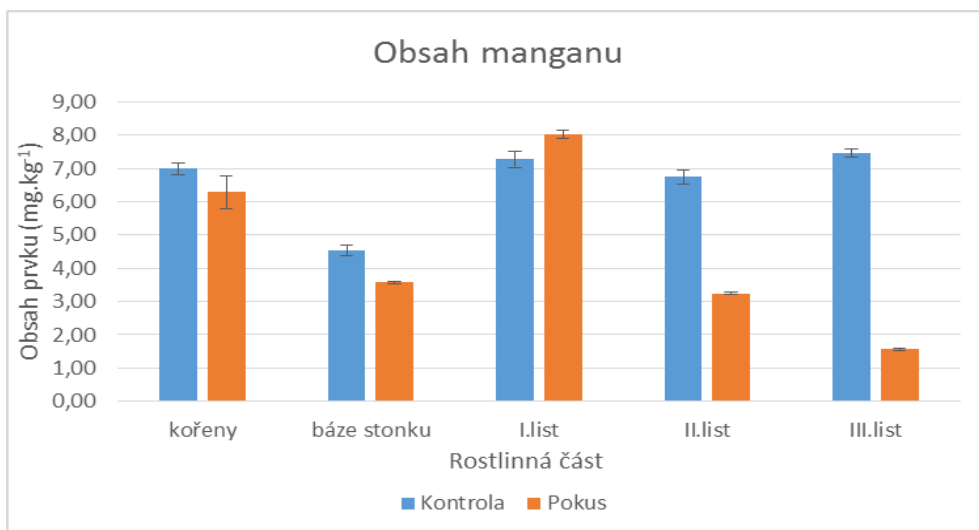
9.4.4 Stanovení obsahu manganu

Výsledné zjištěné obsahy manganu, včetně směrodatných odchylek a variačních koeficientů, v jednotlivých částech rostlin kontrolních i pokusných variant jsou uvedeny v následující tabulce č. 9. (v závorce uvedené symboly: K = vzorky kontrolní varianty; P = vzorky pokusné varianty)

Tab. č. 9 Stanovené obsahy manganu v jednotlivých částech rostlin ječmene

Mn			
rostlinná část	průměrný obsah (mg.kg ⁻¹)	směrodatná odchylka (mg.kg ⁻¹)	variační koeficient (%)
I. list (K)	7,27	0,24	3,3
II. list (K)	6,74	0,21	3,1
III. list (K)	7,45	0,13	1,7
kořeny (K)	6,99	0,18	2,6
báze (K)	4,54	0,17	3,8
I. list (P)	8,01	0,12	1,5
II. list (P)	3,25	0,03	1,0
III. list (P)	1,57	0,04	2,7
kořeny (P)	6,28	0,48	7,7
báze (P)	3,57	0,05	1,3

Výsledné hodnoty, uvedené v tab. č. 9 výše, jsou pro názornost a porovnání vyneseny do sloupcového grafu. Viz graf č. 17.



Graf č. 17 Změna obsahu manganu v jednotlivých částech rostlin ječmene, porovnání kontrolní a pokusné varianty s vyznačením směrodatných odchylek.

V případě obsahu manganu byl, kromě prvních listů (nárůst o 10,2 %, z 7,27 mg.kg⁻¹ na 8,01 mg.kg⁻¹) zaznamenán pokles. V kořenech došlo ke snížení o 10,2 % (z 6,99 mg.kg⁻¹ na 6,28 mg.kg⁻¹), v bázích stonků o 21,4 % (z 4,54 mg.kg⁻¹ na 3,57 mg.kg⁻¹). Výrazný pokles obsahu manganu byl zjištěn v druhých (o 51,8 %, z 6,74 mg.kg⁻¹ na 3,25 mg.kg⁻¹) a třetích listech, kde byl tento pokles ještě výraznější (o 79,0 %, z 7,45 mg.kg⁻¹ na 1,57 mg.kg⁻¹).

Ze statistického vyhodnocení na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ vyplývá, že existuje statisticky významný rozdíl mezi rostlinami kontrolní a pokusné varianty v obsahu manganu ve všech sledovaných rostlinných částech s výjimkou kořenů (viz tab. č. 13).

Tab. č. 10 Statistické zhodnocení významnosti rozdílů mezi kontrolní a pokusnou variantou v obsahu železa (výstup z programu Statistica)

Symbol * v tabulce č. 10 (dále také v tabulkách č. 11, č. 12 a č. 13) značí existenci statisticky významného rozdílu (na hladině významnosti $\alpha = 0,05$) mezi kontrolní a pokusnou variantou v obsahu daného prvku v příslušné rostlinné části.

Obsah železa											
rostlinná část	průměr kontroly	průměr pokusu	hodnota t	stupeň volnosti	p	poč. plat. Kontrola	poč. plat. Pokus	sm.odch. kontrola	sm.odch. pokus	F-poměr Rozptyly	p-rozptyly
kořen *	3078,01	1816,76	17,85	4	0,00	3	3	9,48	122,03	165,79	0,01
báze stonku	37,91	33,04	0,68	4	0,54	3	3	11,60	4,63	6,27	0,28
I. list	71,16	37,71	2,56	4	0,06	3	3	13,22	18,37	1,93	0,68
II. list *	72,96	52,52	6,66	4	0,00	3	3	3,88	3,63	1,14	0,93
III. list *	89,65	68,86	4,17	4	0,01	3	3	5,20	6,90	1,76	0,73

Tab. č. 11 Statistické zhodnocení významnosti rozdílů mezi kontrolní a pokusnou variantou v obsahu zinku (výstup z programu Statistica)

Obsah zinku											
rostlinná část	průměr kontroly	průměr pokusu	hodnota t	stupeň volnosti	p	poč. plat. Kontrola	poč. plat. Pokus	sm.odch. kontrola	sm.odch. pokus	F-poměr Rozptyly	p-rozptyly
kořen	10,29	10,70	-0,50	4	0,64	3	3	0,96	1,05	1,20	0,91
báze stonku *	7,11	12,10	-12,70	4	0,00	3	3	0,38	0,56	2,14	0,64
I. list	10,33	8,15	2,27	4	0,09	3	3	0,76	1,48	3,82	0,42
II. list	9,96	11,53	-1,06	4	0,35	3	3	1,32	2,20	2,79	0,53
III. list *	9,23	16,34	-16,32	4	0,00	3	3	0,53	0,53	1,00	1,00

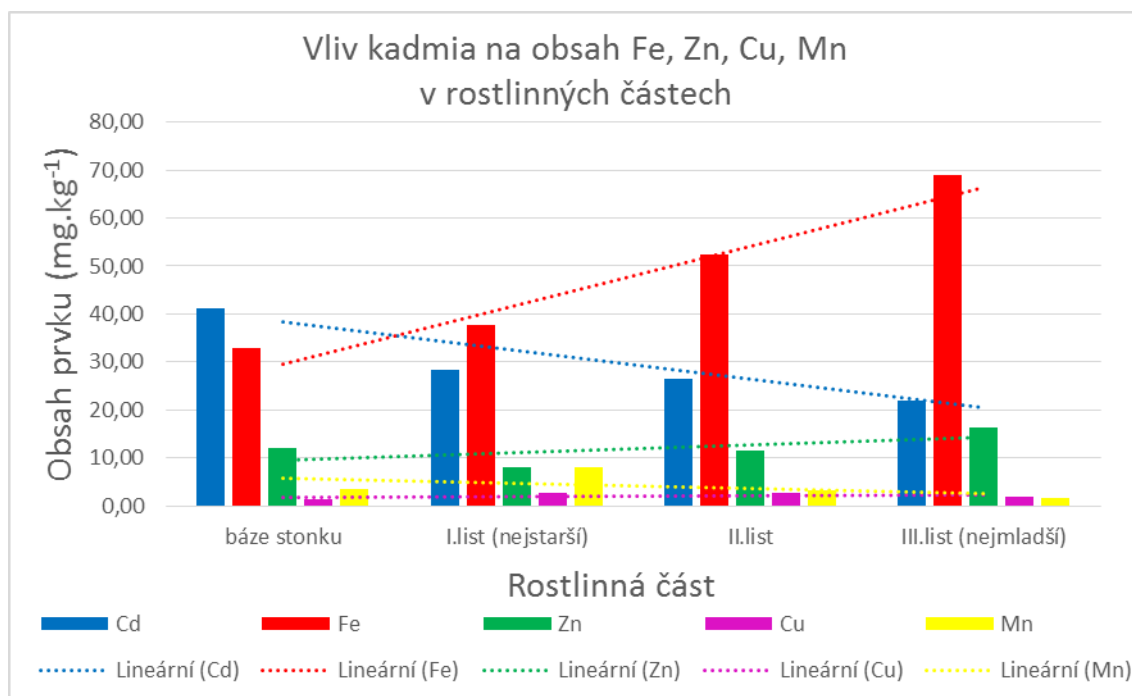
Tab. č. 12 Statistické zhodnocení významnosti rozdílů mezi kontrolní a pokusnou variantou v obsahu mědi (výstup z programu Statistica)

Obsah mědi											
rostlinná část	průměr kontroly	průměr pokusu	hodnota t	stupeň volnosti	p	poč. plat. Kontrola	poč. plat. Pokus	sm.odch. kontrola	sm.odch. pokus	F-poměr Rozptyly	p-rozptyly
kořen *	2,28	4,84	-15,36	4	0,00	3	3	0,21	0,20	1,08	0,96
báze stonku *	0,98	1,40	-6,74	4	0,00	3	3	0,06	0,09	2,18	0,63
I. list *	4,90	2,72	13,50	4	0,00	3	3	0,28	0,03	80,93	0,02
II. list	4,49	2,66	2,44	4	0,07	3	3	1,30	0,05	742,61	0,00
III. list	1,92	2,00	-0,16	4	0,88	3	3	0,88	0,17	27,07	0,07

Tab. č. 13 Statistické zhodnocení významnosti rozdílů mezi kontrolní a pokusnou variantou v obsahu manganu (výstup z programu Statistica)

Obsah manganu											
rostlinná část	průměr kontroly	průměr pokusu	hodnota t	stupeň volnosti	p	poč. plat. Kontrola	poč. plat. Pokus	sm.odch. kontrola	sm.odch. pokus	F-poměr Rozptyly	p-rozptyly
kořen	6,99	6,28	2,39	4	0,08	3	3	0,18	0,48	7,00	0,25
báze stonku *	4,54	3,57	9,40	4	0,00	3	3	0,17	0,05	13,67	0,14
I. list *	7,27	8,01	-4,87	4	0,01	3	3	0,24	0,12	4,06	0,40
II. list *	6,74	3,25	28,94	4	0,00	3	3	0,21	0,03	41,39	0,05
III. list *	7,45	1,57	74,71	4	0,00	3	3	0,13	0,04	9,73	0,19

9.4.5 Vliv kadmia na obsah Fe, Zn, Cu, Mn



Graf č. 18 Vliv kadmia na obsah železa, zinku, mědi a manganu v jednotlivých částech rostlin pokusné varianty.

Z grafu je patrné, že s klesajícím obsahem kadmia v rostlině vzrůstal obsah železa a zinku. Statisticky však tyto závislosti potvrzeny nebyly.

10 Diskuse

Nejvyšší obsah kadmia byl zaznamenán v kořenech rostlin pokusné varianty ($1575,65 \text{ mg.kg}^{-1}$), což je 38krát vyšší koncentrace v porovnání s průměrným obsahem kadmia v bázích stonků téže varianty a 63násobek obsahu v listech. Tyto výsledky poukazují na vysokou schopnost rostlin (s výjimkou tzv. bioakumulátorů) zadržet kadmium v kořenech a částečně tak zabránit přesunu do nadzemních částí. Vysokou míru retence kumulovaného kadmia zaznamenali i El-Shintinawy a El-Ansary (2000) při pokusu s rostlinami sóji. Tito autoři uvádí, že v kořenech bylo zadrženo 98 % z celkového obsahu kadmia v rostlině. Zadržení kadmia v kořenech je dle Skrebskyho et al. (2008) výsledkem efektivní vazby s glutathionem a fytochelatinu a následného přesunu části kadmia do vakuol nebo imobilizace v buněčných stěnách. Obsah kadmia v listech závisí zejména na stáří listů, přičemž u většiny rostlin se vysoká množství tohoto kovu vyskytují především ve starších listech (Seregin a Ivanov, 2001). Eker et al. (2008) na základě výsledků svých pokusů s pšenicí uvádí, že s rostoucí koncentrací kadmia v živném prostředí, dochází i k vyšší akumulaci tohoto prvku v nadzemních částech rostlin.

Ve všech částech rostlin ječmene pokusné varianty došlo v porovnání s variantou kontrolní k nárůstu celkového obsahu ve vodě rozpustných proteinů. V biomase kořenů byl zaznamenán nárůst o 77,8 %, v bázích stonků o 34,9 %, v prvních, druhých a třetích listech o 10,2 %; 6,5 % a 33,4 %. Tento nárůst celkového obsahu rozpustných proteinů může mít, v případě stresu těžkými kovy, souvislost se syntézou stresových proteinů, enzymů citrátového cyklu, glutathionu a fytochelatinů (Rastgoo a Alemzadeh, 2011). Vlivem kadmia na obsah proteinů se zabývali také El-Shintinawy a El-Ansary (2000), kteří provedli pokus s rostlinami sóji, které pěstovali za přítomnosti kadmia v různých koncentracích (0; 5; 50; 100 a $200 \mu\text{mol.l}^{-1}$). V rostlinách pokusné varianty (pěstovaných při obsahu kadmia $200 \mu\text{mol.l}^{-1}$, tedy koncentraci 20krát vyšší v porovnání s našim pokusem) zjistili pokles obsahu rozpustných (o 21,1 %) i nerozpustných proteinů (o 21,5 %). Pokles obsahu rozpustných proteinů zaznamenali také Rastgoo a Alemzadeh (2011), a sice v rostlině *Aeluropus littoralis* Parl. v přítomnosti kadmia v koncentraci 50 i $100 \mu\text{mol.l}^{-1}$. Costa a Spitz (1997) pozorovali pokles celkového obsahu proteinů v kořenech i nadzemních částech sazenic lupiny bílé (*Lupinus albus*) pěstovaných v *in vitro* podmínkách v živném roztoku s obsahem kadmia (0; 0,01; 0,1; 1; 10 a $100 \mu\text{mol.l}^{-1}$). V pletivech kořenů, byl tento pokles výraznější v porovnání s nadzemní částí. Na podobný trend poukazují i Hsu a Kao (2003), kteří zjistili pokles obsahu

proteinů v sazenicích rýže (*Oryza sativa* L.), jež byly pěstovány v živném roztoku s obsahem kadmia $500 \mu\text{mol.l}^{-1}$. Současně se snížením obsahu proteinů pozorovali zvýšenou aktivitu proteáz. Kryštofová a kol. (2011) při studiu vlivu různých koncentrací kademnatých iontů (kontrola; 5; 10; 50; 100 a $500 \mu\text{mol.l}^{-1}$) na růst a metabolické markery slunečnice roční zjistili, že tyto ionty inhibovaly proteosyntézu v celé škále použitých koncentrací a naopak zvyšovaly syntézu thiolových sloučenin, které jsou důležitou součástí obranných mechanismů rostlin proti působení toxických kovů. Značnou změnu v obsahu proteinů zaznamenali také Bavi et al. (2011) při pokusech s rostlinami hrachu, jež byly pěstovány v živném roztoku s různými koncentracemi kadmia (20; 50 a $100 \mu\text{mol.l}^{-1}$). V porovnání s kontrolní variantou došlo v kořenech rostlin pokusných variant k poklesu obsahu proteinů o 31 %, 30 % a 38 %. Příčinou této změny je dle zmíněných autorů snížení syntézy či naopak vyšší míra degradace proteinů. U 21 dní starých rostlin pšenice byl Shuklou et al. (2003) zaznamenán pokles obsahu proteinů i volných aminokyselin v kořenech i nadzemní části, který negativně koreloval s rostoucí koncentrací kadmia (kontrola; 0,25; 0,50; 1,0; 2,5 a 5 mg.l^{-1} resp. 0; 2,23; 4,45; 8,90; 22,25 a $44,50 \mu\text{mol.l}^{-1}$) v živném roztoku.

Nejvýraznější změny v zastoupení jednotlivých volných aminokyselin v důsledku obsahu kadmia v živném roztoku byly pozorovány v kořenech a třetích (nejmladších) listech. V kořenech rostlin pokusné varianty došlo v porovnání s kontrolní variantou k významnému poklesu obsahu všech sledovaných aminokyselin s výjimkou argininu, v jehož případě byl naopak zaznamenán významný nárůst (o 168,8 %). V bázi stonku rostlin pokusné varianty došlo taktéž ke snížení obsahu všech sledovaných volných aminokyselin (výjimkou byl pouze isoleucin, jehož obsah se nezměnil). Výrazný pokles (o více než 30 %) byl zaznamenán u Asp, Glu, Gly, His, Arg, Ala, Tyr, Met a Phe, pokles obsahu ostatních aminokyselin již natolik výrazný nebyl. V prvním (nejstarším) listu nebyla pozorována výraznější změna v obsahu žádné ze sledovaných aminokyselin s výjimkou Ala a Leu, u nichž byl v pokusné variantě pozorován nárůst o cca. 30 %. Tato rostlinná část tak byla z pohledu změny obsahu volných aminokyselin přítomností kadmia v živném prostředí ovlivněna nejméně. Ve druhém listu byl u všech sledovaných aminokyselin s výjimkou Asp a Thr, jejichž obsah se téměř nezměnil, zaznamenán pokles, který byl zvláště významný (o více než 50 %) u aminokyselin Gly, His, Tyr a Met. Ve třetím listu byl zaznamenán výrazný pokles aminokyselin Glu, Gly a His. Pokles obsahu glutamové kyseliny a glycinu by mohl být důsledkem zabudování těchto aminokyselin do fytochelatinů jakožto prostředku pro detoxikaci kadmia v rostlině. Množství

všech ostatních (s výjimkou Arg a Ala, jejichž obsah zůstal téměř nezměněn) výrazně vzrostlo, v případě esenciálního Met, Lys a Leu dokonce o více než 100 %.

U volných aminokyselin: argininu, tyrosinu, methioninu, lysinu, isoleucinu, leucinu a fenylalaninu byl pozorován obdobný trend poklesu v druhém listu a naopak značného zvýšení obsahu v třetím listu.

Změnami obsahu volných aminokyselin v rostlinách ječmene v důsledku stresu kadmíem se zabývali také Wu et al. (2004), kteří provedli pokus na dvou různých odrůdách ječmene. Zjišťovali vliv různých koncentrací kadmia ($0,5$ a $5 \mu\text{mol.l}^{-1}$) v živném roztoku mj. na obsah volných aminokyselin (FAA – free amino acid) v různých částech rostlinek ječmene. Z výsledků vyplynulo, že nejvíce zastoupenou aminokyselinou v kontrolní variantě byl serin (Ser), který tvořil 20,3 % z celkového obsahu volných aminokyselin v kořenech, 42,4 % ve stoncích a 46,0 % v listech. Přídavek kadmia do živného roztoku měl za následek změnu v aminokyselinovém složení i koncentraci volných aminokyselin. S rostoucí koncentrací iontů Cd^{2+} vzrůstala i koncentrace FAA. Při koncentraci kadmia $5 \mu\text{mol.l}^{-1}$ zaznamenali v kořenech nárůst obsahu Ser, Pro, His a Ala, obsah ostatních FAA se změnil pouze nepatrně. V nadzemních částech došlo k nárůstu obsahu Ser a Pro případě odrůdy ZAU 3 (kadmium-rezistentní genotyp) vzrostl obsah Pro ve stoncích o 23,5 % a v listech dokonce o 81,0 %. U odrůdy Wumaoliuling (kadmium-senzitivní genotyp) byl zaznamenán nárůst Pro ve stoncích o 11,0 % a v listech o 30,8 %. Další aminokyseliny (Glu, Tyr, Ala, His, Tyr, Ala, His, Thr, Arg a Val) v nadzemních částech vykazovaly nárůst při koncentraci kadmia $0,5 \mu\text{mol.l}^{-1}$, ale naopak pokles ve variantě $5 \mu\text{mol.l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$. K poklesu obsahu Asp, Lys, Thr, Glu a Ser v nadzemních částech došlo v rostlinách obou pokusných variant.

Wu et al. (2004) uvádějí, že v pokusných variantách (rostlin vystavených působení kadmia) došlo k nárůstu koncentrace prolinu ve všech částech rostlin. Z tohoto usuzují na jistou roli prolinu v detoxikaci těžkých kovů, buď přímo nebo prostřednictvím biosyntézy chelatačních peptidů. Koncentrace histidinu v kořenech vzrostla v důsledku přítomnosti kadmia v živném roztoku. V listech se při koncentraci $\text{Cd}^{2+} 0,5 \mu\text{mol.l}^{-1}$ projevil nárůst množství histidinu, avšak při koncentraci $5 \mu\text{mol.l}^{-1}$ došlo k jeho poklesu (Wu et al., 2004). El-Shintinawy a El-Ansary (2000) zaznamenali pokles obsahu všech volných aminokyselin v rostlinách sóji pěstovaných v přítomnosti kadmia v koncentraci $200 \mu\text{mol.l}^{-1}$.

Costa a Spitz (1997) sledovali vliv kadmia na obsah volných aminokyselin, a celkového proteinu v 15ti denních rostlinkách lupiny bílé (*Lupinus albus* L. var. Lublanc).

Při tomto pokusu použili různé koncentrace Cd (0; 0,01; 0,1; 1; 10; 100 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ Cd. Nejvíce ovlivněny byly koncentrace glutamové kyseliny, glycinu, asparaginu, obdobně jako v případě našeho experimentu, dále také hydroxylysinu, cysteinu a prolinu. Kyselina glutamová a glycin vykazovali nárůst při koncentracích Cd do 1 $\mu\text{mol.l}^{-1}$, avšak vyšší koncentrace toxického kovu způsobily výrazný pokles koncentrace těchto aminokyselin. Pokles obsahu těchto volných aminokyselin byl zaznamenán i v našem experimentu, kdy byla použita koncentrace kadmia v živném roztoku 10 $\mu\text{mol.l}^{-1}$. U aminokyselin hydroxylysinu, prolinu a asparaginu tyto autoři zjistili pozitivní korelaci obsahu volné AMK v rostlině a koncentrací kadmia v živném roztoku. Co se celkového obsahu proteinů v kořenech a nadzemních částech týče, byl v obou případech zaznamenán pokles s rostoucí koncentrací kadmia.

V důsledku přítomnosti kadmia v živném prostředí (v koncentraci 10 $\mu\text{mol.l}^{-1}$) byl zjištěn významný pokles obsahu železa v prvním (nejstarším) listu o 47,0 % a v kořeni o 41,0 %. Ke snížení došlo i v případě ostatních částí rostliny ječmene, avšak tento již nebyl tak výrazný. V druhém listu o 28,0 %, ve třetím listu o 23,2 % a bázi stonku o 12,9 % v porovnání s kontrolní variantou. Vlivem kadmia na obsah některých základních minerálních prvků v rostlinné biomase se zabývali i Zhang et al. (2002), Shukla et al. (2003), Wang et al. (2007), Eker et al. (2008), López-Millán et al. (2009), Kotíková a kol. (2013). Eker et al. (2008) zaznamenali při pokusu s pšenicí setou (*Triticum aestivum*, var. Seri-82) a pšenicí tvrdou (*Triticum durum*, var. Balcali-85) výrazné snížení tvorby biomasy kořenů i nadzemní části (nižší produkci biomasy pozorovali i ostatní výše zmínění autoři) a změnu v obsahu makro- i mikroprvků. Kadmium mělo za následek snížení obsahu všech sledovaných prvků (N, P, K, Ca, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn) u pšenice tvrdé.

Kotíková a kol. (2013) v pokusu s ječmenem jarním (*Hordeum sativum* L. cv. Sebastian), jenž byl hydroponicky pěstován v živném roztoku s obsahem kadmia 10 $\mu\text{mol.l}^{-1}$, také zaznamenali významné snížení obsahu železa v kořenech (o 32,5 %), prvních a druhých listech ječmene jarního (o 44,3 % a 38,3 %). López-Millán et al. (2009) při pokusech s rostlinami rajčete (*Lycopersicon esculentum*) pěstovanými v živném roztoku s přídavkem kadmia (0; 10 a 100 $\mu\text{mol.l}^{-1}$) zaznamenali naopak dvojnásobný nárůst obsahu železa v kořenech a stoncích při koncentraci kadmia 100 $\mu\text{mol.l}^{-1}$, zatímco v listech nedošlo k prokazatelné změně. Wang et al. (2007) sledovali vliv kadmia na příjem železa, zinku, mědi a manganu na sazenicích kukuřice (*Zea mays* L.) odrůdy Nongda No. 108. Po patnáctidenní kultivaci rostlin v živném roztoku s obsahem kadmia 10 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ zjistili nárůst obsahu železa

v kořenech o 84,6 %, avšak v nadzemních částech zaznamenali pokles o 36,5 % v porovnání s kontrolní variantou. Shukla et al. (2003) provedli pokus s rostlinkami pšenice seté (*Triticum aestivum* L.). Ty byly pěstovány v živném mediu, které obsahovalo různé koncentrace kadmia (kontrola; 0,25; 0,50; 1,0; 2,5 a 5 mg.l⁻¹ resp. 0; 2,23; 4,45; 8,90; 22,25 a 44,50 μmol.l⁻¹). V nadzemní části (stonky + listy) došlo po 21 dnech kultivace při koncentraci Cd²⁺ 2,5 mg.l⁻¹ k poklesu množství Fe²⁺ o 46 %. Snížení obsahu železa ve výhoncích je jedním z nejvýznamnějších aspektů toxického účinku kadmia, neboť dochází k výrazné inhibici procesů fotosyntézy (Piršelová a Kuna, 2014). Vlivem přítomnosti kadmia dochází ke snížení aktivity reduktáz nacházejících se v membránách kořenových buněk, jejichž úkolem je redukovat Fe³⁺ na rostlinám přístupnou formu Fe²⁺ (Kotíková a kol., 2013; Piršelová a Kuna, 2014).

Ve všech částech rostlin ječmene kromě prvních listů (pokles o 21,1 %) byl v pokusné variantě zaznamenán nárůst obsahu zinku. Tento nárůst v kořenech dosáhl pouhých 4 %, avšak podstatně vyšší nárůst byl zaznamenán v bázích stonků (o 70,2 %) a třetích (nejmladších) listech (o 77,2 %). López-Millán et al. (2009) zjistili výraznější (téměř dvojnásobný) nárůst obsahu zinku v kořenech rostlin při koncentraci kadmia 100 μmol.l⁻¹, naproti tomu ve stoncích a listech nebyla zaznamenána prokazatelná změna při 10 μmol.l⁻¹ Cd ani 100 μmol.l⁻¹ Cd. Wang et al. (2007) uvádí pokles obsahu zinku v kořenech o 54,8 %, v nadzemních částech naopak nárůst o 48,1 %. Shukla et al. (2003) zaznamenali pokles obsahu zinku o 30 % v nadzemních částech pšenice rostlin pokusné varianty (Cd²⁺ 2,5 mg.l⁻¹) v porovnání s variantou kontrolní. Wang et al. (2007) zaznamenali v kořenech mírný pokles obsahu zinku o 12,5 %, v nadzemních částech pak činil pokles pouze 3 %.

V kořenech, bázích stonků a třetích listech pokusných rostlin byl zaznamenán nárůst obsahu mědi. V kořenech tento nárůst dosáhl 112,1 %, v bázích stonků došlo ke zvýšení obsahu mědi o 42,4 % a pouze k nepatrné změně (navýšení o 4,3 %) v obsahu mědi došlo ve třetích listech. Naopak k výraznému snížení obsahu mědi došlo v prvních a druhých listech (o 44,4 % a 40,9 %). Kotíková a kol. (2013) uvádí, že aplikace kadmia způsobila navýšení obsahu mědi zejména v kořenech (o 141 % v porovnání s kontrolní variantou) a dále bázích stonků (o 63,8 %), zatímco v prvních a druhých listech došlo v důsledku přítomnosti kadmia k poklesu obsahu mědi, což potvrzuje naše výsledky. López-Millán et al. (2009) zjistili v kořenech taktéž zvýšení obsahu mědi (o 50 %) v pokusné variantě 100 μmol.l⁻¹ Cd, avšak

v nadzemních částech, při téže koncentraci kadmia, došlo k poklesu obsahu mědi o 40 % ve stoncích a o 50 % v listech.

V případě obsahu manganu byl, kromě prvních listů (nárůst o 10,2 %) zaznamenán pokles. V kořenech došlo ke snížení o 10,2 %, v bázích stonků o 21,4 % a k poměrně výraznějšímu poklesu došlo v druhých a třetích listech (o 51,8 % a 79,0 %). Kotíková a kol. (2013) rovněž zjistili výrazný pokles obsahu manganu v druhých listech a třetích listech (o 41,7 % a 45,4 %). López-Millán et al. (2009) taktéž pozorovali výrazné snížení obsahu manganu v kořenech v případě obou použitých koncentrací kadmia (10 i 100 $\mu\text{mol.l}^{-1}$), zatímco ve stoncích a listech nedošlo k prokazatelné změně. Wang et al. (2007) uvádí výrazné snížení obsahu manganu v kořenech i nadzemních částech (o 95,9 % a 77,1 %), pokles obsahu manganu v těchto rostlinných částech, při pokusech s pšenicí setou, potvrzují i Zhang et al. (2002).

Dražić et al. (2004) zaznamenali při pokusu s rostlinami sóji (koncentrace kadmia 10, 100 a 200 $\mu\text{mol.l}^{-1}$) pokles množství mědi, zinku a manganu pouze v kořenech. Důvodem je dle těchto autorů porucha v příjmu daných prvků z živného roztoku, vyplavení z buněk v důsledku narušení struktury a funkce buněčné membrány nebo jejich redistribuce do listů, kde Cu a Zn, jako součást antioxidantního enzymu superoxidodismutasy, chrání listy před oxidačním stresem. Skrebsky et al. (2008) při pokusech na brazilském ženšenu (*Pfaffia glomerata* (Spreng.)) pozorovali výrazné snížení obsahu manganu a železa v kořenech vlivem přítomnosti kadmia (použité koncentrace 0, 20, 40, 60 a 80 $\mu\text{mol.l}^{-1}$), zatímco množství zinku a mědi v pletivech nebylo kadmíem ovlivněno.

Důvodem změn obsahu některých mikroelementů je změna v jejich příjmu v důsledku změn permeability membrán v přítomnosti kadmia (Dong et al., 2006).

Příčinou rozporu v datech o interakci kadmia s jednotlivými esenciálními prvky jsou dle Donga et al. (2006) rozdíly v metodách kultivace, druzích a odrůdách použitých pokusných rostlin a jejich růstových fázích, stejně tak jako v podmínkách prostředí včetně koncentrací kadmia a mikroelementů v živném mediu či teplotách. Například na významné rozdíly v obsahu minerálních živin (Fe, Zn, Cu, Mn) mezi různými genotypy pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) v důsledku přítomnosti kadmia upozornili Zhang et al. (2002).

11 Závěr

V teoretické části této diplomové práce byl v prvních kapitolách popsán význam ječmene z pohledu výživy člověka. Dále byly charakterizovány nejčastěji se vyskytující stresové faktory, jenž působí na rostliny v průběhu růstu a mnohdy výrazně ovlivňují kvalitu výsledného produktu. Pozornost je věnována abiotickým stresorům, zvláště pak vlivu kadmia, ale i ostatním faktorům, jakými jsou teplota, dostupnost vody či sluneční záření. V další kapitole je podrobněji rozebrán vliv kadmia na obsah proteinů, volných aminokyselin a vybraných, pro člověka esenciálních, minerálních látek. Poslední kapitola teoretické části se týká průniku kadmia prostřednictvím potravin rostlinného původu do potravního řetězce.

Z výsledků experimentu provedeného v rámci praktické části je patrné, že přítomnost kadmia v živném prostředí ječmene jarního má významný vliv na obsah ve vodě rozpustných proteinů, některých volných aminokyselin i sledovaných minerálních látek, kterými byly železo, zinek, měď a mangan. Statisticky průkazný nárůst obsahu ve vodě rozpustných proteinů byl zaznamenán v kořenech, bázích stonků a třetích, tedy nejmladších, listech rostlin pokusné varianty, jimž bylo do živného roztoku přidáno kadmium v koncentraci 10^{-5} mol.l⁻¹. Přítomnost kadmia měla dále vliv i na obsah volných aminokyselin. V kořenech a bázích stonků rostlin pokusné varianty došlo k výraznému poklesu obsahu všech sledovaných volných aminokyselin, ve druhých, výrazněji pak ve třetích listech došlo naopak k nárůstu obsahu většiny sledovaných aminokyselin v porovnání s odpovídajícími rostlinnými částmi rostlin kontrolní varianty. Z analýzy obsahu kovových prvků je patrný klesající obsah kadmia v pořadí kořeny > báze stonků > první (nejstarší) list > druhý list > třetí (nejmladší) list, což je ve shodě s údaji z literatury. Kadmium mělo za následek pokles obsahu: železa ve všech sledovaných rostlinných částech, mědi v prvním a druhém listu, manganu ve druhém a třetím listu. Naopak významný nárůst byl zaznamenán u zinku ve třetím listu a u mědi v kořenech.

V důsledku intenzivního polního zemědělského hospodaření a průmyslové výroby, dochází k neustálému znečišťování orné půdy. Mezi nejčastěji se vyskytující toxické prvky v životním prostředí patří kadmium, jehož zvýšený obsah v půdě, je jednou z hlavních příčin snižování výnosů kulturních plodin. Kadmium jako neesenciální prvek patřící mezi těžké kovy je velmi toxický pro mnohé rostlinné druhy a jeho toxicita se projevuje už v mikromolárních koncentracích. Negativní účinky kadmia se projevují na všech úrovních rostlinného organismu, od buňky až po rostlinu jako celek. Toxicita kadmia se projevuje inhibicí dělení a prodlužovacího růstu buněk, narušením integrity membrán (peroxidací lipidů), redukcí příjmu vody a živin, poškozením fotosyntetického aparátu, inhibicí aktivity

některých enzymů a podílí se na indukci oxidativního stresu, což vede k vážnému ohrožení normálního průběhu fyziologických procesů.

Z experimentů publikovaných v literatuře vyplývá, že toxicita Cd v rostlinách je ovlivněna řadou faktorů především volbou experimentálních podmínek růstu a kultivace rostlin a v neposlední řadě výběru odrůdy sledované obilniny.

Porozumění toxickému účinku těžkých kovů na plodiny a výběr odrůd odolných vůči stresu těžkými kovy tak nabývá na důležitosti v důsledku stále se zvyšující kontaminace zemědělsky obhospodařované půdy.

12 Seznam bibliografie:

Abdel-Latif, A. 2008. Cadmium Induced Changes in Pigment Content, Ion Uptake, Proline Content and Phosphoenolpyruvate Carboxylase Activity in *Triticum Aestivum* Seedlings. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 2 (1). 57-62.

Akhter, F., McGarvey, B., Macfie, S. 2012. Reduced translocation of cadmium from roots is associated with increased production of phytochelatins and their precursors. *Journal of Plant Physiology*. 169 (18). 1821-1829.

Baik, B.-K., Ullrich, S. E. 2008. Barley for food: Characteristics, improvement, and renewed interest. *Journal of Cereal Science*. 48 (2). 233-242.

Bavi, K., Kholdebarin, B., Moradshahi, A. 2011. Effect of cadmium on growth, protein content and peroxidase activity in pea plants. *Pakistan Journal of Botany*. 43 (3). 1467-1470.

Benavides, M. P., Gallego, S. M., Tomaro, M. L. 2005. Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 17 (1). 21-34.

Bláha, L., Kadlec, P., Skulinová, M., Hnilička, F. 2002. Vliv abiotických stresorů na chemické složení obilí pšenice. In: Hnilička, F. (ed.). Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2002. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. s. 23-26. ISBN: 80-213-0949-0.

Bláha, L., Sychrová, E. 2003. Vliv abiotických stresorů na chemické složení obilí pšenice. *Úroda*. 51 (9). 24-25.

Borg, S., Brinch-Pedersen, H., Tauris, B., Holm, P. B. 2009. Iron transport, deposition and bioavailability in the wheat and barley grain. *Plant and Soil*. 325 (1-2). 15-24.

Bush, D. R. 1999. Amino Acid Transport. In: Singh, B. K. (ed.). *Plant Amino Acid*. Marcel Dekker. New York. 487-507. ISBN: 0-8247-0204-2.

Cibulka, J., Domažlická, E., Kozák, J., Kubižňáková, J., Mader, P., Machálek, E., Maňkovská, B., Musil, J., Pařízek, J., Píša, J., Pohouňková, H., Reisnerová, H., Svobodová, Z. 1991. Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře. Academia. Praha. 432 s. ISBN: 80-200-0401-7.

Costa, G., Spitz, E. 1997. Influence of cadmium on soluble carbohydrates, free amino acids, protein content of in vitro cultured *Lupinus albus*. Plant Science. 128 (2). 131-140.

Cottenie, A., Dhaese, A., Camerlynck, R. 1976. Plant quality response to uptake of polluting elements. Qualitas Plantarum. 26 (1-3). 293-319.

Cvjetko, P., Zovko, M., Balen, B. 2014. Proteomics of heavy metal toxicity in plants. Arhiv za higijenu rada i toksikologiju. 65 (1). 1-18.

Dinakar, N., Nagajyothi, P. C., Suresh, S., Udaykiran, Y., Damodharam, T. 2008. Phytotoxicity of cadmium on protein, proline and antioxidant enzyme activities in growing *Arachis hypogaea* L. seedlings. Journal of Environmental Sciences. 20 (2). 199-206.

Dong, J., Wu, F., Zhang, G. 2006. Influence of cadmium on antioxidant capacity and four microelement concentrations in tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum*). Chemosphere. 64 (10). 1659–1666.

Dražić, G., Mihailović, N., Stojanović, Z. 2004. Cadmium Toxicity: The effect on Macro- and Micro-Nutrient Contents in Soybean Seedlings. Biologia Plantarum. 48 (4). 605-607.

El-Shintinawy, F., El-Ansary, A. 2000. Differential effect of Cd²⁺ and Ni²⁺ on amino acid metabolism in soybean seedlings. Biologia Plantarum. 43 (1). 79-84.

Galili, G., Larkins, B. A. 1999. Enhancing the Content of the Essential Amino Acids Lysine and Threonine in Plants. In: Singh, B. K. (ed.). Plant Amino Acid. Marcel Dekker. New York. 487-507. ISBN: 0-8247-0204-2.

Garnett, T. P., Graham, R. D. 2005. Distribution and Remobilization of Iron and Copper in Wheat. *Annals of Botany*. 95 (5). 817-826.

Gomes, L. M. C., Gesteira, A. S., Almeida, A. A. F., Castro, A. V., Dias, L. O., Pirovani, C. P., Gomes, F. P. 2012. Changes in protein profile detected in seedlings of *Caesalpinia peltophoroides* (*Fabaceae*) after exposure to high concentration of cadmium. *Genetics and Molecular Research*. 11 (3). 2694-2707.

Greger, M., Löfstedt, M. 2004. Comparison of uptake and distribution of cadmium in different cultivars of bread and durum wheat. *Crop Science*. 44 (2). 501-507.

Halušková, L., Ďurčková, K., Huttová, J., Mistrík, I., Ollé, M., Tamás, L. 2007. Vplyv kadmia na rast koreňov a aktivitu peroxidázy v koreňoch jačmeňa. In: Bláha, L. (ed.). Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2007. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. s. 277-279. ISBN: 978-80-213-1621-8.

Harris, N. S., Taylor, G. J. 2013. Cadmium uptake and partitioning in durum wheat during grain filling. *BMC PLANT BIOLOGY*. 13. Article number 103.

Hsu, Y. T., Kao, C. H. 2003. Changes in protein and amino acid contents in two cultivars of rice seedlings with different apparent tolerance to cadmium. *Plant Growth Regulation* 40 (2). 147–155.

Humphreys, M., Humphreys, M. 2005. Breeding for Stress Resistance: General Principles. In Ashraf, M., Harris, P. J. C. (ed.). *Abiotic Stresses: Plant Resistance Through Breeding and Molecular Approaches*. New York: Food Products Press, p. 19–46. ISBN 1-56022-965-9.

Chen, F., Wu, F., Dong, J., Vincze, E., Zhang, G., Wang, F., Huang, Y., Wei, K. 2007. Cadmium translocation and accumulation in developing barley grains. *Planta*. 227 (1). 223-232.

Chinnusamy, V., Xiong, L., Zhu, J. 2005. Use of Genetic Engineering and Molecular Biology Approaches for Crop Improvement for Stress Environments. In Ashraf, M., Harris, P. (ed.). Abiotic Stresses: Plant Resistance Through Breeding and Molecular Approaches. New York: Food Products Press, p. 47–107. ISBN 1-56022-965-9.

Ireland, R. J., Lea, P. J. 1999. The Enzymes of Glutamine, Glutamate, Asparagine, and Aspartate Metabolism. In: Singh, B. K. (ed.). Plant Amino Acid. Marcel Dekker. New York. 487-507. ISBN: 0-8247-0204-2.

Kosová, K., Vítámvás, P., Vlasáková, E., Prášil, I. T. 2013. Odezva ječmene (*Hordeum vulgare*) var. Amulet a var. Tadmor na zasolení. In: Hnilička, F. (ed.). Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2013. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. s. 99-104. ISBN: 978-80-7427-131-1.

Kotíková, Z., Zámečnicková, B., Miholová, D., Vodičková, H., Száková, J., Lachman, J. 2013. Vliv Cd stresu na obsah Ca, Mn, Zn, Fe a Cu ve vybraných orgánech ječmene (*Hordeum sativum* L.). In Hnilička, F. (ed.). Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2013. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha 264–267. ISBN: 978-80-213-2357-5.

Kryštofová, O., Sochor, J., Adam, V., Zehnálek, J., Havel, L., Kizek, R. 2011. Vliv kademnatých iontů na metabolické markery u explantátové kultury slunečnice roční. In: Bláha, L., Hnilička, F. (eds.). Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2011. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. s. 273-276. ISBN: 978-80-213-2160-1.

Kvasničková, A. 1998. Minerální látky a stopové prvky: esenciální minerální prvky ve výživě. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. 128 s. ISBN: 80-85120-94-1.

Larcher, W. 2003. Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups. Springer. New York. p. 513. ISBN 35-404-3516-6.

Lea, P. J., Azevedo, R. A. 2007. Nitrogen use efficiency. 2. Amino acid metabolism. *Annals of Applied Biology*. 151 (3). 269-275.

- Lea, P. J., Ireland, R. J. 1999. Nitrogen Metabolism in Higher Plants. In: Singh, B. K. (ed.). *Plant Amino Acid*. Marcel Dekker. New York. 487-507. ISBN: 0-8247-0204-2.
- Leskó, K., Stefanovits-Bányai, É., Simon-Sarkadi, L. 2002. Effect of magnesium on free amino acid and polyamine content in wheat seedling exposed to cadmium stress. *Acta Biologica Szegediensis*. 46 (3-4). 109-111.
- McKevith, B. 2004. Nutritional aspects of cereals. *Nutrition Bulletin*. 29 (2). 111-142.
- Mittler, R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science*. 11 (1). 15-19.
- Mohammad, A. A. 2011. The effects of water and heat stress on wheat. *Agricultura tropica et subtropica*. 44 (1). 44-47.
- Morris, P. C., Bryce, J. H. 2000. Introduction. In Morris, P. C., Bryce, J. H. (eds.) *Cereal biotechnology*. Woodhead Publishing Limited. Abington. p. 1-15. ISBN: 1855734982.
- Newman, R. K., Newman, C. W. 2008. *Barley for food and health: science, technology, and products*. John Wiley & Sons. New Jersey. p. 245. ISBN: 9780470102497.
- Pal, R., Rai, J. P. N. 2010. Phytochelatins: Peptides Involved in Heavy Metal Detoxification. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 160 (3). 945–963.
- Park, H. J., Kim, M., Shim, S. M., Kim, G. H. 2005. Adsorption of Cadmium and Lead by Various Cereals from Korea. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 74 (3). 470-476.
- Parmar, P., Kumari, N., Sharma, V. 2013. Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress. *Botanical Studies*. 54:45.

Piršelová, B., Kuna, R. 2014. Vplyv kadmia na translokáciu železa v pletivách bôbu obyčajného (*Vicia faba* var. Aštar). In: Hnilička, F. (ed.). Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2014. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. s. 259-262. ISBN: 978-80-213-2475-6.

Poletti, S., Gruissem, W., Sautter, C. 2004. The nutritional fortification of cereals. *Current Opinion in Biotechnology*. 15 (2). 162–165.

Procházka, S., Macháčková, I., Krekule, J., Šebánek, J., Gloser, J., Havel, L., Nátr, L., Prášil, I., Sladký, Z., Šantrůček, J., Tesařová, M., Vyskot, B. 1998. *Fyziologie rostlin*. Academia. Praha. 484 s. ISBN: 80-200-0586-2.

Prokeš, J. 2000. Technologický význam dusíkatých látek v ječmeni a sladu. *Kvasný průmysl*. 46 (10). 277-279.

Prugar, J. 2002a. Obilniny v naší výživě. *Výživa a potraviny - Zpravodaj školního stravování*. 57 (3). 46.

Prugar, J. 2002b. Obilniny v naší výživě. *Výživa a potraviny - Zpravodaj školního stravování*. 57 (5). 74–75.

Prugar, J. 2008. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., ve spolupráci s Komisí jakosti rostlinných produktů ČAZV. Praha. 327 s. ISBN: 978-80-86576-28-2.

Příhoda, J., Sluková, M., Krejčířová, L., Honců, I. 2012. Ječmen. In: *Renesance ječmene: publikace České technologické platformy pro potraviny*. Praha: Potravinářská komora České republiky. s. 5-7. ISBN 978-80-905096-0-3.

Rastgoo, L., Alemzadeh, A. 2011. Biochemical responses of Gouan (*Aeluropus littoralis*) to heavy metals stress. *Australian Journal of Crop Science*. 5 (4). 375-384.

Reilly, C. 2004. *The Nutritional Trace Metals*. Blackwell Publishing. Oxford. 238 p. ISBN 14-051-1040-6.

- Seregin, I. V., Ivanov, V. B. 2001. Physiological Aspects of Cadmium and Lead Toxic Effects on Higher Plants. *Russian Journal of Plant Physiology*. 48 (4). 523–544.
- Sharma, S. S., Dietz, K. J. 2006. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of Experimental Botany*. 57 (4). 711-726.
- Shewry, P. R. 2007. Improving the protein content and composition of cereal grain. *Journal of Cereal Science*. 46 (3). 239-250.
- Shukla, U. C., Singh, J., Joshi, P. C., Kakkar, P. 2003. Effect of bioaccumulation of cadmium on biomass productivity, essential trace elements, chlorophyll biosynthesis, and macromolecules of wheat seedlings. *Biological Trace Element Research*. 92 (3). 257-273.
- Siedlecka, A. 1995. Some aspects of interactions between heavy metals and plant mineral nutrients. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 64 (3). 265-272.
- Skrebsky, E. C, Tabald, L. A, Pereira, B., Rauber, R., Maldaner, J., Cargnelutti, D., Gonçalves, J. F., Castro, G. Y., Shetinger, M. R. C., Nicoloso, F. T. 2008. Effect of cadmium on growth, micronutrient concentration, and δ -aminolevulinic acid dehydratase and acid phosphatase activities in plants of *Pfaffia glomerata*. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 20 (4). 285-294.
- Solanki, R., Dhankhar, R. 2011. Biochemical changes and adaptive strategies of plants under heavy metal stress. *Biologia*. 66 (2). 195-204.
- Staszková, L., Hradecká, D., Dudjak, J., Táborský, J. 2004. Vliv kadmia na biosyntézu prolinu v listech jarního ječmene. In: Hnilička, F. (ed.). Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2004. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. s. 133-135. ISBN: 80-213-1182-7.

Staszková, L., Hradecká, D., Táborský, J. 2002. Vliv abiotického stresu těžkými kovy na metabolismus prolinu. In: Hnilička, F. (ed.). Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2002. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. s. 135-137. ISBN: 80-213-0949-0.

Staszková, L., Táborský, J. 2006. Změny v metabolismu rostlin při stresu kadmíem. In: Hnilička, F. (ed.). Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2006. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. s. 180-183. ISBN: 80-213-1484-2.

Stepansky, A., Leustek, T. 2006. Histidine biosynthesis in plants. *Amino acids*. 30 (2). 127-142.

Stolt, J. P., Sneller, F. E. C., Bryngelsson, T., Lundborg, T., Schat, H. 2003. Phytochelatins and cadmium accumulation in wheat. *Environmental and Experimental Botany*. 49 (1). 21-28.

Sun, S. S. M. 1999. Methionine Enhancement in Plants. In: Singh, B. K. (ed.). *Plant Amino Acid*. Marcel Dekker. New York. 487-507. ISBN: 0-8247-0204-2.

Szabados, L., Savouré, A. 2009. Proline a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*. 15 (2). 89-97.

Šimonová, H., Šafránková, I. 2011. Studium stomatální výměny plynů při vodním stresu u rodu *Triticum*. In: Bláha, L., Hnilička, F. (eds.). Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2011. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. s. 117-121. ISBN: 978-80-213-2160-1.

Teklić, T., Lončarić, Z., Kovačević, V., Singh, B. R. 2013. Metallic trace elements in cereal grain – a review: how much metal do we eat?. *Food and Energy Security*. 2 (2). 81-95.

Vasal, S. K. The role of high lysine cereals in animal and human nutrition in Asia [online]. FAO, 2004 [cit. 2012-11-12]. Dostupné z <<http://www.fao.org/docrep/007/y5019e/y5019e0b.htm>>.

- Vassilev, A., Yordanov, I., Tsonev, T. 1997. Effects of Cd²⁺ on the physiological state and photosynthetic activity of young barley plants. *Photosynthetica*. 34 (2). 293–302.
- Velíšek, J., Cejpek, K. 2006. Biosynthesis of food constituents: Amino acids: 1. The glutamic acid and aspartic acid groups – a review. *Czech Journal of Food Science*. 24 (1). 1-10.
- Velíšek, J., Kubec, R., Cejpek, K. 2006a. Biosynthesis of food constituents: Amino acids: 4. Non-protein amino acids – a review. *Czech Journal of Food Science*. 24 (3). 93–109.
- Velíšek, J., Kubec, R., Cejpek, K. 2006b. Biosynthesis of food constituents: Peptides – a Review. *Czech Journal of Food Science*. 24 (4). 149-155.
- Vlasáková, E., Prášil, I. T., Melišová, L. 2011. Hodnocení obsahu ABA během několika růstových fází rostlin pšenice ozimé v podmínkách dlouhotrvajícího sucha. In: Bláha, L., Hnilička, F. (eds.). *Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2011*. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. s. 113-116. ISBN: 978-80-213-2160-1.
- Wahid, A., Arshad, M., Farooq, M. 2009. Cadmium Phytotoxicity: Responses, Mechanisms and Mitigation Strategies: A Review. In: Lichtfouse, E. (ed.). *Organic Farming, Pest Control and Remediation of Soil Pollutants*. Dordrecht : Springer. p. 371-404. ISBN: 9781402096532.
- Wang, M., Zou, J., Duan, X., Jiang, W., Liu, D. 2007. Cadmium accumulation and its effects on metal uptake in maize (*Zea mays* L.). *Bioresource Technology*. 98 (1). 82–88.
- Wångstrand, H., Eriksson, J., Öborn, I. 2007. Cadmium concentration in winter wheat as affected by nitrogen fertilization. *European Journal of Agronomy*. 29 (3). 209–214.
- White, P. J., Broadley, M. J. 2009. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets – iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytologist*. 182 (1). 49-84.
- White, P. J., Brown, P. H. 2010. Plant nutrition for sustainable development and global health. *Annals of Botany*. 105 (7). 1073-1080.

Wu, F.-B., Chen, F., Wei, K., Zhang, G.-P. 2004. Effect of cadmium on free amino acid, glutathione and ascorbic acid concentrations in two barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.) differing in cadmium tolerance. *Chemosphere*. 57 (6). 447–454.

Yadav, S. K. 2010. Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South African Journal of Botany*. 76 (2). 167–179.

Zehnálek, J., Adam, V., Kizek, R. 2004. Vliv těžkých kovů na produkci obranných sloučenin u zemědělských kulturních rostlin. *Listy cukrovarnické a řepařské*. 120 (7-8). 222–224.

Zemanová, V., Pavlíková, D., Truncová, J., 2011. Vliv kadmia na hladiny volného prolinu v hyperakumulujících rostlinách. In: Bláha, L., Hnilička, F. (eds.). *Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2011*. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. s. 155-158. ISBN: 978-80-213-2160-1.

Zemanová, V., Pavlík, M., Pavlíková, D., Tlustos, P. 2014. The significance of methionine, histidine and tryptophan in plant responses and adaptation to cadmium stress. *Plant Soil and Environment*. 60 (9). 426-432.

Zhang, G., Fukami, M., Sekimoto, H. 2002. Influence of cadmium on mineral concentrations and yield components in wheat genotypes differing in Cd tolerance at seedling stage. *Field Crops Research*. 77 (2-3). 93–98.

Zhao, A. Q., Tian, X. H., Lu, W. H., Gale, W. J., Lu, X. C., Cao, Y. X. 2011. Effect of zinc on cadmium toxicity in winter wheat. *Journal of Plant Nutrition*, 34. 1372-1385.

Zimolka, J., Cerkal, R., Dvořák, J., Edler, S., Ehrenbergerová, J., Hřivna, L., Kamler, J., Klem, K., Milotová, J., Míša, P., Procházková, B., Psota, V., Richter, R., Ryant, P., Tichý, F., Vaculová, K., Váňová, M., Vejražka, K. 2006. *Ječmen – formy a užitkové směry v České republice*. Profi Press. Praha. 200 s. ISBN: 80-86726-18-5.

13 Seznam použitých zkratek

a kol. – citace, daný autor a autorský kolektiv

cv. – kultivar, botanická taxonomická kategorie kulturních rostlin (z angl. *cultivated variety*)

DNA – deoxyribonukleová kyselina

ed. (eds.) – editoval (editovali)

et al. – označení kolektivu autorů cizojazyčného textu

ETA-AAS – atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací

FAA – volná aminokyselina (free amino acid)

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie (high performance liquid chromatography)

ICP-OES – optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plasmatem

obr. - obrázek

tab. – tabulka

UV – (ultraviolet) ultrafialové záření

var. – varieta (botanická taxonomická kategorie planých rostlin)

AMK – aminokyselina

ALA – alanin

ARG – arginin

ASP – asparagová kyselina

GLU – glutamová kyselina

GLY – glycin

HIS – histidin

ILE – izoleucin

LEU – leucin

LYS – lysin

MET – methionin

PHE – fenylalanin

PRO – prolin

SER – serin

THR – threonin

TYR – tyrosin

VAL – valin