

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra biologie

**Příjem, translokace a vliv selenu na
obsahové látky léčivých rostlin**

Diplomová práce

Autor: Bc. Adéla Štarmanová
Studijní program: N1501 Biologie
Studijní obor: Systematická biologie a ekologie
Vedoucí práce: Doc. Ing. Jiří Tůma, CSc.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedla všechny prameny, z kterých jsem vycházela.

V Hradci Králové dne:

Jméno a příjmení:

Anotace

ŠTARMANOVÁ, A. *Příjem, translokace a vliv selenu na obsahové látky léčivých rostlin*. Hradec Králové 2016. Diplomová práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí diplomové práce Jiří Tůma. 67 s.

V přesném nádobovém pokusu s pohankou (*Fagopyrum esculentum*) ve venkovních podmínkách, byl zkoumán vliv stupňovaných dávek selenu do půdy na obsah selenu v jednotlivých částech rostliny. Byla sledována toxicita selenu i jeho vliv na obsah rutinu. Vyhodnocena byla rovněž závislost mezi příjmem a translokací selenu a draslíku. Stupňované dávky selenu do půdy se významně promítly ve zvýšeném obsahu selenu ve všech částech rostliny. Vyšší dávky selenu se projevily ve zvýšené translokaci selenu z kořenů do listů i ve vyšším obsahu rutinu v listech i měly příznivý účinek na růst rostlin.

Klíčová slova:

Fagopyrum esculentum, selen, rutin

Annotation

ŠTARMANOVÁ, A. *Uptake, translocation and influence of selenium on secondary metabolites content in medicinal plants*. Diploma Thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové. Thesis Supervisor Jiří Tůma. 67 p.

The effects of graded doses of selenium into soil were investigated in outdoor exact pot experiment with buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). The influence on selenium content in various parts of plants, toxicity of selenium and its impact on rutin content in the parts of buckwheat was investigated. The relationship between selenium uptake and translocation of selenium and potassium was evaluated. The graded doses of selenium into the soil were reflected in higher content of selenium in every part of plants. The higher doses of selenium manifested in increased translocation of selenium from roots into leaves and also in higher content of rutin in leaves. The higher doses of selenium positively influenced the growth of plants.

Key words:

Fagopyrum esculentum, selenium, rutin

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat především panu doc. Ing. Jiřímu Tůmovi, CSc., vedoucímu diplomové práce. Děkuji mu za jeho čas a ochotu ke konzultacím, za jeho nevyčerpatelnou trpělivost a vstřícnost. Dále bych ráda poděkovala Ing. Jiřímu Pirnerovi za podporu při pěstování rostlin a za pomoc při sušení v Botanické zahradě léčivých rostlin v Hradci Králové. Můj dík také patří doc. PharmDr. Lence Tůmové, CSc. a PharmDr. Janu Martinovi, PhD. za laboratorní analýzy a odbornou podporu. V neposlední řadě bych ráda poděkovala Mgr. Michaele Kracíkové za podporu a pomoc při přípravě vzorků na analýzy.

Obsah

Úvod	7
1 Literární rešerše.....	8
1.1 Těžké kovy/rizikové prvky	8
1.2 Selen.....	10
1.2.1 Chemické a fyzikální vlastnosti selenu	10
1.2.2 Výskyt selenu v přírodě.....	12
1.2.3 Příjem a translokace selenu v rostlinách.....	15
1.2.4 Účinky selenu u rostlin	18
1.2.5 Význam selenu pro člověka a hospodářská zvířata.....	20
1.3 Pohanka.....	23
1.3.1 Popis rostliny.....	23
1.4 Význam flavonoidů	25
1.4.1 Antioxidační aktivita fenolických složek v rostlinách	26
1.4.2 Rutin a jeho význam.....	27
1.5 Význam draslíku v rostlinách.....	28
2 Metodika	29
3 Výsledky	34
3.1 Výška rostlin	34
3.2 Obsah rutinu	35
3.2.1 Obsah rutinu ve stoncích.....	35
3.2.2 Obsah rutinu v listech.....	35
3.3 Obsah selenu.....	36
3.3.1 Obsah selenu v kořenech	36
3.3.2 Obsah selenu ve stoncích	37
3.3.3 Obsah selenu v listech	38
3.3.4 Obsah selenu v květech.....	39
3.3.5 Porovnání obsahu selenu v jednotlivých částech rostlin	40
3.4 Obsah draslíku	41
3.4.1 Obsah draslíku v kořenech.....	41
3.4.2 Obsah draslíku ve stoncích.....	42
3.4.3 Obsah draslíku v listech.....	43
3.4.4 Obsah draslíku v květech.....	44

3.5 Regresní analýza	45
4 Diskuze	46
Závěr.....	47
Seznam obrázků.....	48
Seznam použité literatury.....	49
Fotografická příloha.....	60

Úvod

Selen je esenciální prvek pro člověka, zvířata a některé druhy mikroorganismů (Tan 2002). V životním prostředí je takřka všudypřítomný- ve stopových množstvích je obsažen v organických i v anorganických formách, v mořských i ve sladkých vodách, v půdě, v biomase a také v atmosféře (Winkel *et al.* 2015). Biologická funkce selenu vykazuje dvojí charakter. Rozpětí mezi toxickým a nedostačujícím obsahem selenu se ukazuje jako velmi úzké (Tan 2002). Nízký obsah selenu v některých suchozemských ekosystémech vyústil v nedostatek selenu u člověka, zatímco zvýšený obsah selenu ve vodách a v půdě může být toxický a zapříčinit smrt vodních organismů a dalších zvířat. Lidský příjem závisí na úrovni koncentrace selenu v rostlinách, která je kontrolována kořenovým příjmem selenu a také obsahem selenu v půdě, jeho speciací a biodostupností. Rostliny a mikroorganismy mohou methylovat selen a volatizací způsobovat únik selenu do atmosféry. Mobilizace selenu v systému půda, rostlina, atmosféra je tedy klíčově důležitá pro status selenu v lidském organismu (Winkel *et al.* 2015). Výsledky několika živočišných a epidemiologických studií naznačují, že selen by mohl mít ochrannou funkci proti několika degenerativním chorobám jako cirhóza, rakovina, cukrovka nebo kardiovaskulární patologie (Navarro- Alarcón *et al.* 2000).

Pokusnou plodinou pro náš experiment byla vybrána pohanka obecná (*Fagopyrum esculentum* Moench) z důvodu návaznosti na naše dřívější experimenty s touto plodinou (viz Moravcová *et al.* 2016)

Pohanka obecná je jednoletá bylina, jejíž výška dosahuje okolo 1 m (Campbell 1997). Pohanka obsahuje dva flavonoidy s významným účinkem na zdraví člověka- rutin a kvercetin. Flavonoidy podporují antioxidační aktivitu vitamínu C a pozitivně působí na krevní oběh, chrání před zvýšenou srážlivostí krve a chrání lipoproteiny před oxidací na škodlivý cholesterol způsobenou volnými radikály. Je velmi dobrým zdrojem hořčíku a obsahuje také mangan, fosfor, kyselinu pantotenovou a vlákninu. Protein v pohance je vysoce kvalitní- obsahuje všech 8 esenciálních aminokyselin (Murray *et al.* 2005).

Rutin, dříve též vitamín P, je jednou z nejžádanějších flavonoidních sloučenin. Má silné antioxidační, protikarcinogenní a protizánětlivé účinky a má pozitivní vliv na pružnost a permeabilitu krevních kapilár. Je součástí řady léčiv a potravních doplňků (Šimánek *et al.* 2012). Rutin je přírodním flavonem (Ikeda *et al.* 2015). Zdrojem rutinu je pohanka obecná (Tůmová *et al.* 2007) i pohanka tatarská (Cho *et al.* 2014).

Cílem diplomové práce bylo založit nádobový pokus, jehož hlavním záměrem bylo zjistit, jak ovlivní aplikace selenu do půdy jeho obsah v různých částech rostlin pohanky obecné (*Fagopyrum esculentum*) a jak selen ovlivňuje produkci

sekundárních metabolitů, především rutinu. Byly zkoumány interakce mezi draslíkem a selenem a mezi rutinem a selenem. Předmětem zájmu byl také způsob, jak obsah selenu ovlivňuje anatomicko- morfologické parametry rostliny.

1 Literární rešerše

1.1 Těžké kovy/rizikové prvky

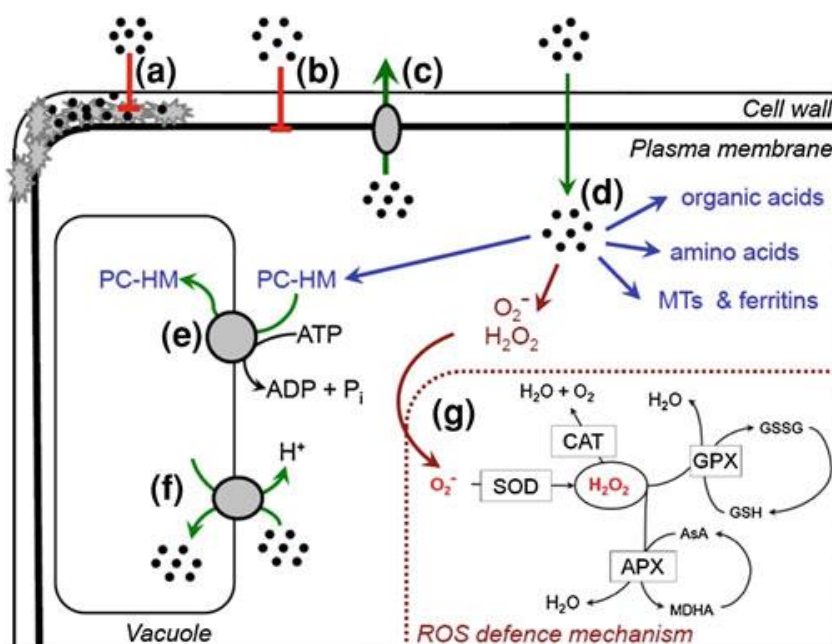
Těžké kovy jsou přirozenou součástí zemské kůry. Některé lidské aktivity ale ovlivnily jejich geochemické cykly a biochemickou rovnováhu v přírodě. Toto vyústilo v hromadění kovů v těch částech rostlin, kde se ukládají sekundární metabolity zodpovědné za určité farmakologické účinky. Dlouhodobá expozice kovům jako kadmium, měď, olovo, nikl a zinek, může mít zhoubné následky na lidské zdraví (Singh *et al.* 2011).

Ke kovům se řadí asi osmdesát prvků periodické soustavy, z nichž přibližně třicet je označováno jako kovy toxické, případně těžké. Termíny stopové kovy (trace metals), těžké kovy (heavy metals) a toxické kovy (toxic metals) jsou často navzájem zaměňovány (Harte *et al.* 1991). Tyto termíny se používají pro skupinu kovových prvků, které představují určité riziko pro živé organismy. Termín stopové kovy se vztahuje na kovy, které jsou přítomné v organismu nebo v životním prostředí ve velmi nízkých koncentracích odpovídajících několika částicím v milionu částic okolního prostředí, řádově tedy v jednotkách ppm (v lidském organismu např. zinek, chrom a železo). Jako těžké kovy jsou označovány kovy, jejichž specifická hmotnost je vyšší než 5 g.cm^{-3} (např. kadmium, rtuť, olovo). Toxické kovy jsou takové kovy, které při určitých koncentracích působí škodlivě na člověka a na další biotické složky ekosystému. Ekotoxikologická terminologie upřednostňuje v případě kovů nebezpečných pro biotiku termín těžké kovy a do této skupiny zahrnuje především měď, zinek, kadmium, rtuť, olovo, chrom, nikl, mangan a železo, k nimž navíc přiřazuje polokovy selen a arsen. V přírodě se kovy vyskytují jako ryzí nebo ve formě solí. V určitých nízkých koncentracích jsou přirozenou součástí zemské kůry (Kafka *et al.* 2002).

Vysoká množství těžkých kovů nahromaděných v pletivech způsobují oxidativní stres. Ten vede ke ztrátě buněčné homeostázy a negativně ovlivňuje růst a vývoj rostliny (Bhaduri *et Fulekar* 2012). Účinky těžkých kovů na rostlinu způsobují inhibici růstu, poškození vnitřních struktur rostliny, pokles fyziologických a biochemických procesů jako jsou respirace, fotosyntéza, vodní provoz, metabolismus dusíku a minerální výživa. Biodostupnost kovu je určována mnoha faktory. Roli zde hrají podmínky prostředí, půdní druh, pH, dostupné prvky a organické substance v půdě, hnojení a v neposlední řadě také druh rostliny. Rostliny také disponují rezistenčními systémy, které chrání před toxickými efekty těžkých kovů. Sem patří například mechanismus kombinace těžkého kovu

s proteinem, vytvoření detoxikačního enzymu apod. (Cheng 2003, Zornoza *et al.* 2002).

Aby rostliny mohly čelit oxidativnímu stresu z těžkých kovů, využívají ochranné mechanismy za účelem zbavení se reaktivních forem kyslíku. Produkují enzymatické antioxidanty, jako jsou superoxiddismutáza, kataláza, askorbát peroxidáza a neenzymatické antioxidanty jako askorbát, glutathion a alfatokoferol (Sinha *et al.* 2010). Rostlina překonává stres synchronizací funkce antioxidantních enzymů, což pomáhá zmírnit poškození buněk reaktivními formami kyslíku (ROS). ROS mechanismus je zachycen na obrázku č. 1. Takovéto druhy kyslíku nevyhnutelně vznikají také jako vedlejší produkty při esenciálním metabolismu. Jejich množství je však pod subletální hranicí a jsou potřebné pro normální růst rostliny (Bhaduri *et Fulekar* 2012). Základní mechanismus detoxikace těžkých kovů z rostliny a z dalších organismů je chelace kovu na ligand a v některých případech i následná kompartmentalizace komplexu kov-ligand, kde vakuolární sekvestrace těžkých kovů chrání před volnou cirkulací iontů v cytosolu a oddělí je do určitých míst (Ellis *et Salt* 2003). Při procesu chelace vznikají takzvané fytochelatiny. Jsou to malé polypeptidy strukturně příbuzné tripeptidu glutathionu. Vznikají spojením dvou až osmi molekul kyseliny γ -glutamové a cysteinu s jednou molekulou glycinu. Syntéza fytochelatinů neprobíhá na ribozomech, ale přímou biochemickou cestou a je indukována přítomností kovu v cytosolu. Komplexně vázané toxické ionty jsou transportovány do vakuoly, kde jsou i po uvolnění z fytochelatinu inaktivovány vysokou koncentrací organických kyselin (Procházka 1998). Při detoxikaci těžkých kovů rostliny také vytvářejí metalothioneiny a proteinové a neproteinové thioly (Cobbett *et Goldsbrough* 2002). Některé odolné druhy rostlin (např. trávy) mohou značně znesnadňovat vstup toxických iontů do cytosolu, a to vylučováním organických kyselin do rhizosféry, sorpcí na pektinové látky v buněčných stěnách a konečně i větší selektivitou transportních proteinů v plazmatické membráně (Procházka 1998). Jako transportéry toku kovů z cytoplasmy byly popsány tzv. MTP (kovům tolerantní proteiny). Transportují hlavně Zn^{2+} , ale i Mn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} a Ni^{2+} . Substrátová specifita je zřejmě uchována ve fylogeneticky příbuzných proteinech. Tyto proteiny obecně hrají roli v rostlinách v homeostáze Zn, při nadbytku manganu a také jako odpověď na nedostatek železa (Ricachenevsky *et al.* 2013). Možnou odpovědí na mnohonásobný oxidativní stres u rostlin se také jeví zavedení fenolického metabolismu. Fenoly, a to hlavně flavonoidy a fenylypropanoidy, jsou oxidovány peroxidázami a hrají roli v systému fenol/ askorbová kyselina/ peroxidáza, který odbourává H_2O_2 . Jejich antioxidantní aktivita spočívá hlavně v jejich chemické struktuře (Michalak 2006).



Obrázek 1: Odpověď vyšších rostlin na toxicitu těžkých kovů (Manara 2012)

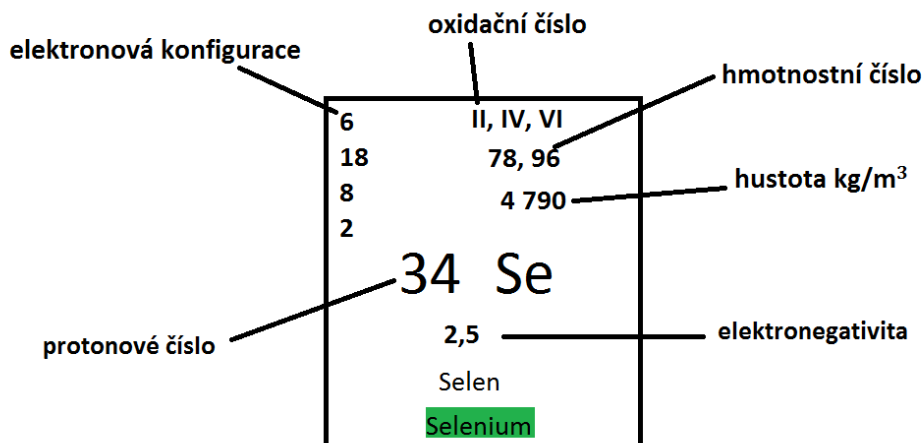
Na obrázku č. 1 je zachycena odpověď vyšších rostlin na toxické působení těžkých kovů. Možnost a) zobrazuje navázání iontu těžkého kovu k buněčné stěně a následnou exudaci kořenovým systémem. Možnost b) ilustruje zabránění transportu kovu napříč plazmatickou membránou. Možnost c) zobrazuje membránu a aktivní transport kovu do apoplastu. V možnosti d) dochází k chelaci kovů na ligand jako jsou fytochelatiny, metalothioneiny, organické kyseliny a aminokyseliny. Za e) popisuje transport komplexů s navázaným kovem přes tonoplast a jejich akumulaci ve vakuole. Část za f) ukazuje oddělení kovu (sekvestraci) do vakuoly za pomoci tonoplastových transportérů. Za g) je vyobrazena indukce ROS a obranných mechanismů proti oxidativnímu stresu. Černé tečky symbolizují ionty kovu.

1.2 Selen

1.2.1 Chemické a fyzikální vlastnosti selenu

V periodické tabulce prvků se selen nachází ve VI. A skupině. Patří do skupiny chalkogenů (Liu *et al.* 2015). Latinský název selenu je *Selenium* a od něho je odvozena značka Se. Selen se vyskytuje v oxidačních číslech II, IV a VI. Z obrázku číslo 2 je možné odečíst další údaje z periodické tabulky prvků. Na Mohsově stupnici tvrdosti dosahuje selen čísla 2. Má tedy stejnou tvrdost jako například sůl kamenná (Mikulčák *et al.* 1989). Selen je středně reaktivní látka, zahřátím na vzduchu shoří na SeO_2 . Slučuje se přímo s halogeny a s četnými kovy a nekovy. Na selen nepůsobí neoxidující kyseliny. Za horka na selen působí kyselina sírová a dusičná. Selen spolu se sírou reagují s mnoha organickými molekulami. Dehydrogenují například nasycené uhlovodíky (Cotton *et al.* 1973).

Selen byl pojmenován podle měsíce (řeky Séléné) pro svou stříbřitou barvu (Atkins 2005).



Obrázek 2: Selen v periodické tabulce prvků

Je známo nejméně šest různých alotropických modifikací selenu: tři červené monoklinické polyformní formy (alfa, beta a gama), které jsou složeny z kruhů Se₈ liší se pouze intermolekulárním stěsnáním kruhů v krystalech. Modifikace alfa a beta jsou dobře rozpustné v sirouhlíku na červené roztoky. Šedá, „kovová“ hexagonální krystalická forma selenu, která je tvořena spirálovými polymerními řetězci, je termodynamicky nejstálější formou tohoto prvku. Vzniká při zahřátí kterékoli jiné modifikace nebo pomalým ochlazením rozžhaveného selenu, případně kondenzací par při teplotě těsně pod teplotou tání (220,5 °C). Šedý selen má světlo-vodivé vlastnosti a jako jediná modifikace selenu vede elektrický proud. Má větší hustotu než všechny ostatní modifikace. Další formou je červený amorfní selen složený ze spirálových, poněkud deformovaných řetězců. Poslední formou je sklovitý černý selen (obrázek č. 3), který je nejběžnější komerčně dostupnou modifikací selenu. Má extrémně složitou a nepravidelnou strukturu složenou z velkých polymerních kruhů obsahujících až 1000 atomů selenu v jednom kruhu (Greenwood *et Earnshaw* 1993).



Obrázek 3: Vzorek selenu (Internetová citace)

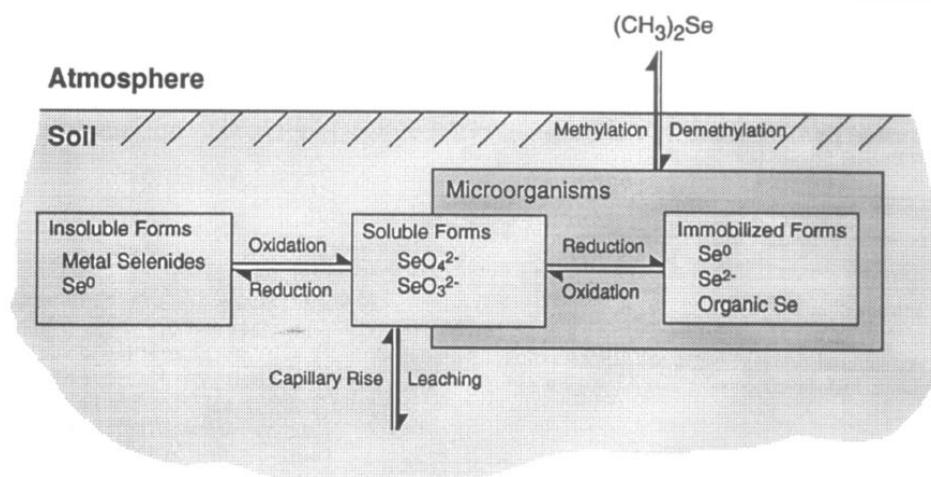
1.2.2 Výskyt selenu v přírodě

Selen se vyskytuje v půdním prostředí přirozeně (Girling 1984). Z hlediska koncentrace v zemské kůře zabírá selen 60. místo s koncentrací 50- 200 $\mu\text{g Se. kg}^{-1}$ půdy (Stuckler *et al.* 2008). Normální půda obsahuje něco mezi 0,1- 2,0 $\mu\text{g Se. g}^{-1}$. V tzv. selenózních oblastech, kde je obsah selenu v půdě vysoký, se množství selenu rovná 30- 324 $\mu\text{g Se. g}^{-1}$ a může to být i více (Girling 1984). V oblastech se selenózními půdami se projevuje toxicita selenu (Yasin *et al.* 2014). Vykazovaná toxicita je zde nebezpečná především pro hospodářská zvířata, protože píče na takovýchto půdách absorbuje množství selenu vyšší než maximum povoleného limitu pro konzumaci živočichy (Dhillon *et Dhillon* 2003).

Selen se do půdního prostředí dostává i díky procesu povrchového a mělce podpovrchového chemického zvětrávání. Primární faktory, které zde ovlivňují obsah a distribuci selenu do půdy jsou mikrotopografické poměry lokality a loužení. Tyto procesy (změny topografie, vyluhovací a erozní procesy) hrají důležitou roli v selenózních půdách v různých částech světa. Pokud při nich dochází k vymývání selenu, může se selen hromadit v odtokových vodách. Tak dochází ke zvyšování koncentrace i v půdách na selen chudých, jako jsou například písčité nebo křídové půdy (Arvy 1992).

Množství selenu vázaného v půdách a v sedimentech je závislé na pH půdy a na jejím redoxním potenciálu, který hraje důležitou roli při mobilizaci selenu ve vodních systémech (Dhillon *et Dhillon* 2003, Jayaweera *et al.* 1996). Důležitou roli zde hraje chemická forma, kompetice aniontů, obsah oxidů železa v půdě a typ vyskytujících se jílových minerálů (Dhillon *et Dhillon* 2003). V kontaminovaných půdách a vodách se selen vyskytuje ve formě selenidů (Se^{2-}), selenátů (SeO_4^{2-} , Se^{6+}), které jsou v půdě vysoce mobilní a toxické, a ve formě selenitů (SeO_3^{2-} , Se^{4+}) (Dhillon *et Dhillon* 2003, Marschner 1995). Ve vlhkých zásaditých půdách se selen vyskytuje ve formě dobře rostlinou využitelných selenanů. To někdy vede až k toxickému hromadění selenu v rostlině. Naopak v kyselých a suchých půdách je

častější výskyt špatně rozpustného selenitu železa. Selen v této formě vykazuje vysokou stabilitu a rostlina ho prakticky není schopná využít (Stuckler *et al.* 2008). Měřitelnou ztrátu zásob selenu v selenózních půdách by mohla zapříčinit mikrobiální metylace selenu do těkavé formy $(\text{CH}_3)_2\text{Se}$ (Flury *et al.* 1997). Koloběh selenu v půdě je zachycen na obrázku č. 4.



Obrázek 4: Schematický cyklus selenu v půdě (Flury *et al.* 1997)

V horninách obecně se selen ve větším množství nevyskytuje. Nalézt ho můžeme především v sulfidických horninách jako příměs (Schnitzer *et Khan* 1977). Přírodní selen může být podle vzniku rozdělen do tří kategorií. První kategorie zahrnuje primární přírodní selen vyskytující se ve vápenato- křemičitých horninách a maličké krystaly selenu zformované v horninových trhlinách během tektonické aktivity. Do druhé skupiny patří mikrokrystaly selenu vzniklé během zvětrávání hornin obsahujících selen. Třetí kategorie obsahuje větší krystaly selenu pocházející z přirozeného hoření kamenného uhlí pod povrchem opuštěných hlušin po těžbě kamenného uhlí (Zhu *et al.* 2004). Selen se v horninách často vyskytuje ve spojení se sírou. Procesy ovlivňující poměr síry a selenu v horninách mohou být rozděleny do dvou hlavních tříd- magmatické procesy a pozdní magmatické procesy zahrnující i postmagmatické procesy. Vysoké poměry obsahu síry k obsahu selenu se vyskytují v sedimentech bohatých na síru, jsou to např. sulfidická ložiska (pyrit a pyrhotin) černých břidlic, nebo pararuly (Queffurus *et Barnes* 2015). Vysoké množství selenu obsahují též dosti huminózní půdy vyskytující se na svorech a na mořských jílech. Vysoké koncentrace selenu se též mohou vyskytovat v určitých rašelinách (Schnitzer *et Khan* 1977).

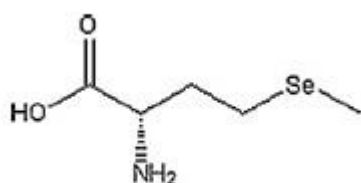
Na světě se blízko sebe vyskytují oblasti, ve kterých může být obsah selenu v půdě toxický, dostačující nebo deficitní. Půdy s vysokým obsahem selenu se vyskytují v mnoha zemích světa včetně Austrálie, Číny, Indie, Irska a USA (Dhillon *et Dhillon* 2003). Wang *et al.* (2001) uvádí, že v Číně jsou půdy s nízkým obsahem selenu klasifikovány do 4 tříd. Biodostupnost selenu v půdě ovlivňuje obsah organické hmoty v půdě. V čínské nížině Huabei je koncentrace půdního selenu velmi silně

ovlivněna vymýváním a hydrologickými transportními procesy. Regiony s nedostatkem selenu jsou situovány hlavně na svazích kopců, kde dochází k jeho vymývání (loužení). Na plošině Loessial se nachází půda s nízkým obsahem selenu a dochází zde k velmi pomalému toku iontů selenu mezi půdou a rostlinami. Půdy s nízkým obsahem selenu se vyvinuly v regionech, kde se nachází zvětralá mateřská hornina s nízkým obsahem selenu (Wang *et al.* 2001). Ve Finsku docházelo k systematickému obohacování půdy o selen. Byly zde zkoumány dopady obohacování na jezerní ekosystémy. Z výsledků vyplynulo, že průměrná koncentrace selenu v jezerech obklopených poli byla výrazně vyšší než koncentrace selenu v lesních jezerech v pozdním létě, ne však na jaře. Vertikální distribuce selenu v jezeře souvisela s růstem vodních řas. Akumulace selenu v okounech a koncentrace selenu v sedimentech silně souvisela s trofickým stavem vody v jezeře. Nebyl však nalezen žádný jasný důkaz o tom, že by hnojení půdy selenem významně zvyšovalo ukládání selenu v jezerech (Dacheng *et al.* 1995).

Distribuci selenu do životního prostředí zapříčiňuje sopečná aktivita, zvětrávání hornin, rozpad minerálů a spalování fosilních paliv. Antropogenní aktivity jako jsou odstraňování polévatého popílku, využívání podzemních vod k zavlažování plodin a důlní těžba též značně přispívají k redistribuci a oběhu selenu v přírodě (Dhillon *et al.* 2003). Nejdůležitějšími zdroji kontaminace životního prostředí selenem je zpracování rud, komunální odpady, spalování fosilních paliv, povrchové úpravy kovů, polovodiče (Kafka *et al.* 2002). Proto bylo během posledního desetiletí navrženo množství technologií odstraňujících nadměrný obsah selenu z kontaminovaného prostředí. Tyto technologie jsou založeny buď na imobilizaci selenu do forem biologicky nedostupných nebo na úplném odstranění selenu za pomoci fytoextrakce a biomethylace. Koncentrace mobilního selenu v půdě, obvykle ve formě selenátu, určuje potřebu specifické technologie. Měřítkem úspěchu je rozsah změny v mobilní koncentraci selenu (Dhillon *et al.* 2003). Další metodou jako snížit toxické působení selenu by mohla být aplikace lisovaného bahna a drůbežího hnoje, která vykazuje užitek při vylepšování evaporace a zpomalování přenosu selenu z půdy do rostliny na selenózních půdách (Dhillon *et al.* 2010). Velkou roli hraje i využití tzv. hyperakumulátorů selenu pro fytoremediaci. Zde se dají využít především druhy rodu *Brassica*, protože potřebují akumulovat velké množství selenu, aby byly kompetičně úspěšné (Banuelos *et al.* 1996). Pro stanovení nízkých koncentrací selenu v biologických materiálech se poté používá více metod. Jsou to metody spektrometrické (ETA-AAS, HG-AAS, fluorescenční spektrometrie, ICP-MS), elektrochemické (pulzní polarografie, katodická rozpouštěcí voltampérometrie), radiochemické (neutronová aktivizační analýza, rentgenofluorescenční analýza) a separační (plynová chromatografie, kapalinová chromatografie). Nyní se pro stanovení selenu v rostlinných a živočišných materiálech nejvíce používá metoda AAS- atomová absorpční spektrofotometrie (Ursínyová *et al.* 1998, Zheng *et al.* 2000)

1.2.3 Příjem a translokace selenu v rostlinách

Rostlina přijímá selen z půdy v podobě selenitů a selenátů. Tyto anorganické formy přijaté z půdy jsou v rostlinných pletivech převedeny na formy organické, mezi něž patří selenomethionin (na obrázku č. 5), selenocystein, γ -glutamylselenomethylselenocystein, selenomethylselenocystein, selenocystathion, selenohomocystein a selenomethylselenomethionin (Thiry *et al.* 2012). Příjem selenu a jeho distribuce v životním prostředí je zachycena na obrázku č. 6. Zejména selenomethionin je rostlinám vysoce dostupný a tudíž je hlavní sloučeninou, ve které se selen vyskytuje (Dumont *et al.* 2006, Rayman *et al.* 2008). Formy přijímaného selenu a jejich následná přeměna je zachycena na obrázku č. 7. Selen jako sesterský prvek síry využívá pro vstup do rostliny sirné přenašeče a pro svůj metabolismus podobné biochemické cesty, což vede k jeho začlenění do různých biomolekul (Handa *et al.* 2016). Selen je v rostlině schopen nahradit síru v S-aminokyselinách, což vyústí v produkci Se-aminokyselin a k následnému vzniku již zmiňovaného selenocysteinu a selenomethioninu. Jejich následné včlenění do enzymatických proteinů může ovlivnit katalytickou aktivitu (Ellis *et al.* 2003). Pokud pro rostlinu nastane období zvýšené potřeby selenu nebo jsou zásoby selenu v pletivech vyčerpány, může se selenomethionin nespecificky včlenit do těla proteinu a sloužit jako zásoba selenomethioninu (Dumont *et al.* 2006). Chemický vzorec selenomethioninu je zobrazen na obrázku č. 5. Role selenoproteinů v rostlinných pletivech jsou však doposud méně prozkoumané (Mounicou *et al.* 2006).

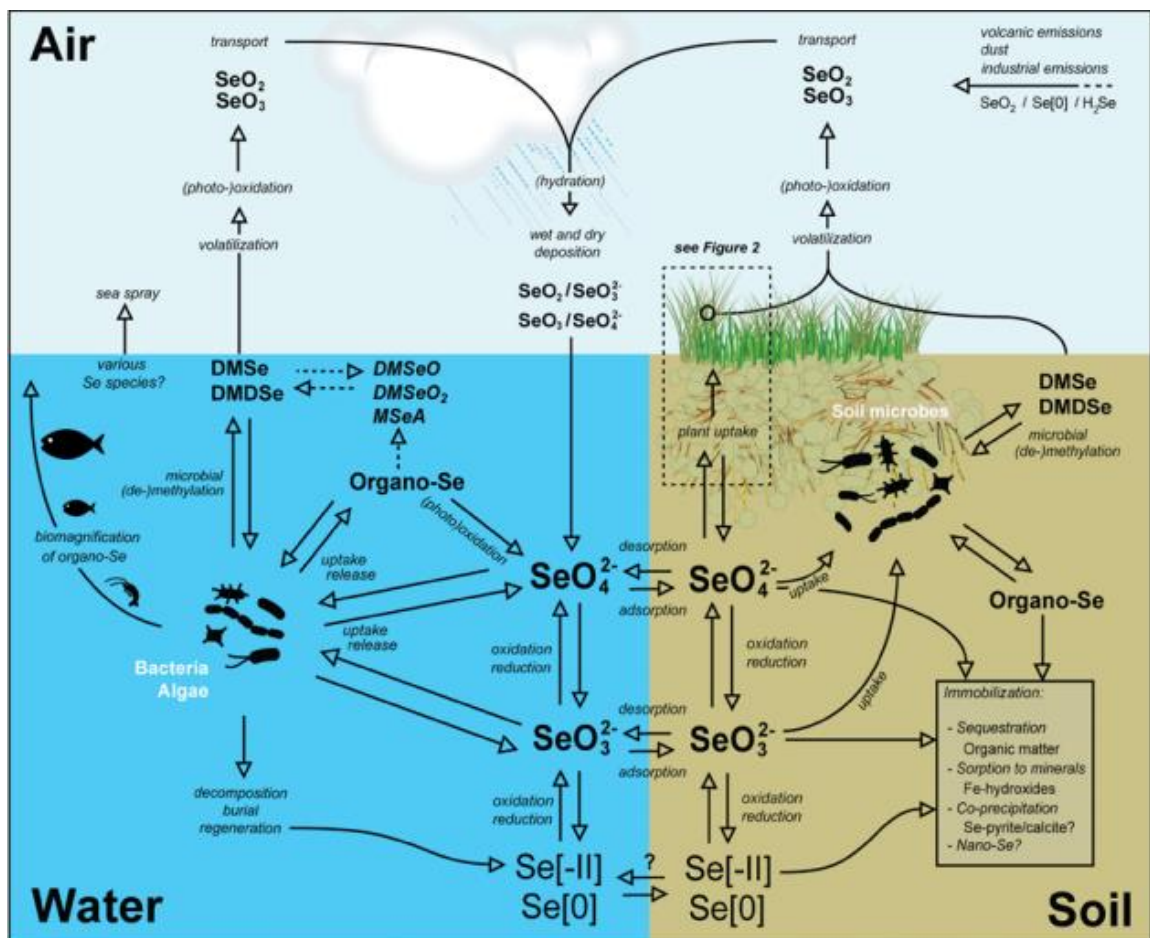


Obrázek 5: Chemický vzorec selenomethioninu (Gionfriddo *et al.* 2012)

Dostupnost selenu pro rostliny závisí na jeho chemické formě. Obecně jsou organické sloučeniny selenu více biodostupné než sloučeniny anorganické (Thomson 2004). Příjem selenu do rostliny je ovlivněn fyzikálními podmínkami prostředí- stoupá se zvyšujícím se pH půdy. Pro transport selenu rostlinou jsou též důležité obecné klimatické podmínky jako teplota, vlhkost vzduchu a vlhkost půdy (De Temmerman *et al.* 2014). Rozdíly mezi množstvím selenu v rostlinách jsou také ovlivňovány rozdílností textury půd, ve kterých jsou rostliny pěstovány (Arvy 1992).

Druhy rostlin se ve schopnosti akumulovat selen a další prvky liší (Arvy 1992). Většina rostlin rostoucích na běžně se vyskytujících půdách selen neakumuluje a obsahuje malé množství selenu (méně než 1 $\mu\text{g Se. g}^{-1}$) (Girling 1984). Na vyšší obsah selenu v půdě je citlivá (Terry *et al.* 2000). Další skupina rostlin roste také

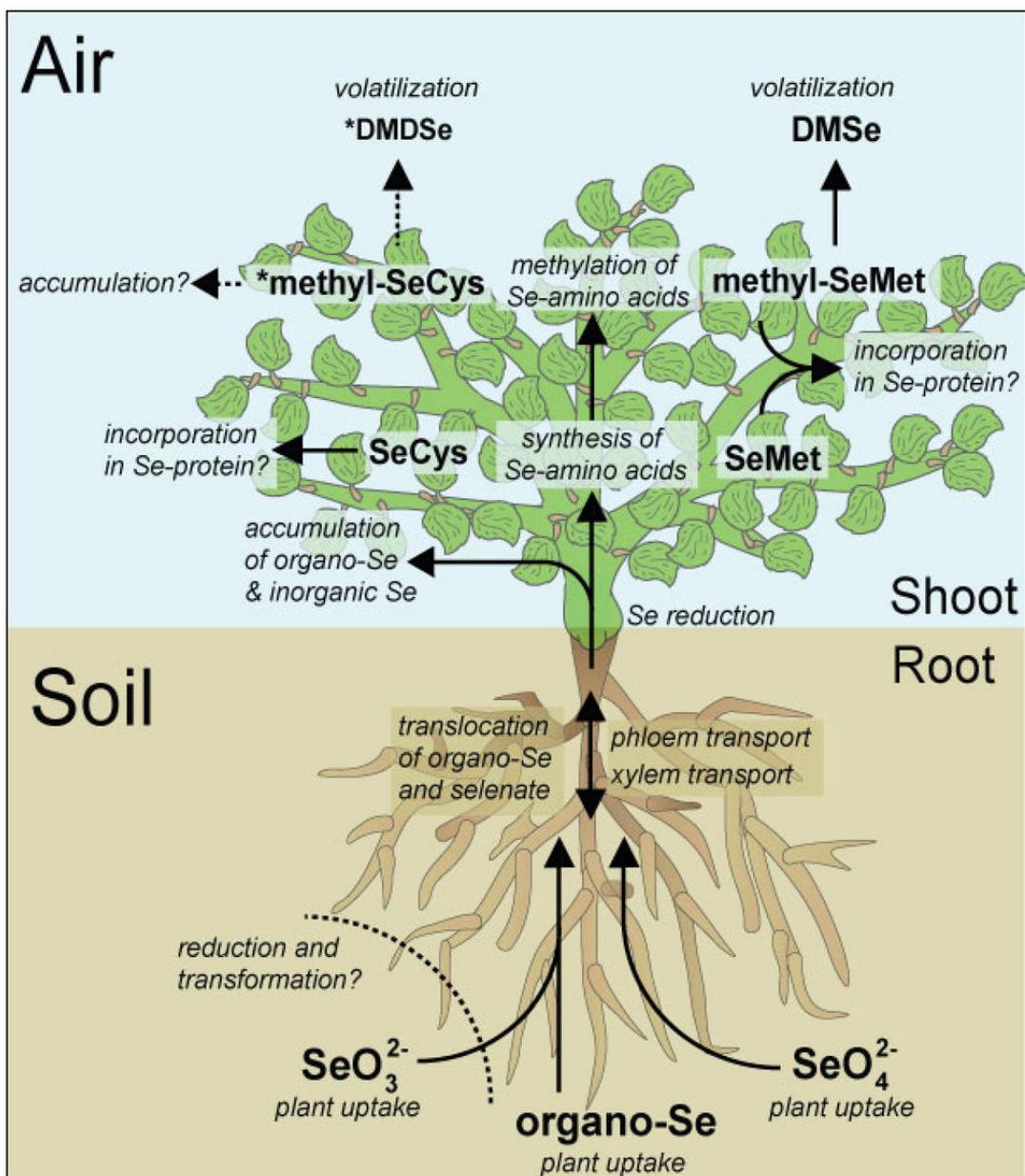
na normálních půdách, ale obsahuje velké množství síry a vyšší množství selenu (Girling 1984). Vyskytují se však i specifické druhy rostlin, které rostou na selenózních půdách a k přijímanému vyššímu množství selenu vykazují toleranci. Akumulují velmi vysoké koncentrace selenu a jsou nazývány hyperakumulátory selenu (Terry *et al.* 2000). Hyperakumulátory jsou schopny zdravě růst na vysoce selenózních půdách. Obsah selenu v pletivech takovýchto druhů se pohybuje v tisících $\mu\text{g Se} \cdot \text{g}^{-1}$ (Girling 1984). Extrémní případy nahromadí až 1% selenu na jednotku váhy sušiny (Freeman *et al.* 2006). Zvýšené množství případů otrav selenem se spíše objevuje v regionech, ve kterých je obsah selenu nízký, ale je zde lehce akumulován (Zhu *et al.* 2001).



Obrázek 6: Přehled sloučenin selenu, reakčních drah a transformace v půdě, ve vodě a v atmosféře a v jejich styčných plochách (Winkel *et al.* 2015)

Shrift zkoumal biosyntézu organických sloučenin selenu v rostlinách druhu *Stanleya pinnata*, *Oonopsis condensata* a na šesti druzích kozince (*Astragalus*). Tyto druhy rostlin jsou známé tím, že akumulují selen. Rostlinám byly dodány anionty SeO_4^{2-} , SeO_3^{2-} nebo SO_4^{2-} . Experiment provedený na listech ukázal, že selenity byly do rostliny zabudovávány více než selenáty. Většinu z rozpustných organických forem selenu tvořil v rostlinách Se- methylselenocystein. *Stanleya pinnata* též syntetizovala znatelné množství selenocystathioninu. Malá množství sloučeniny předběžně identifikované jako Se- methylselenomethionin a peptidů obsahujících

selen byla nalezena v několika rostlinách akumulujících selen. Rostliny, kterým byl dodán SO_4^{2-} obsahovaly přibližně stejné množství S- methylcysteinu a glutathionu. Byla zaznamenána absence selenogluthionu v některých rostlinách, které ho běžně biosyntetizují. Toto zjištění naznačuje, že síra a selen nemusí vždy plně využívat stejné metabolické dráhy v těchto konkrétních rostlinách (Shrift 1965). Zajímavostí je rod *Astragalus* (kozinec), který reprezentuje neobvyklý biochemický rozpor vyvinutý u vyšších rostlin; zahrnuje druhy, které jsou schopné akumulovat selen, druhy selen neakumulující a druhy, pro něž je selen jedovatý (Shrift 1963). Koncentrace selenu v rostlinách může být obecně použita jako indikátor stavu selenu v půdě (Girling 1984).



Obrázek 7: Hlavní dráhy selenu v rostlině (Winkel *et al.* 2015)

1.2.4 Účinky selenu u rostlin

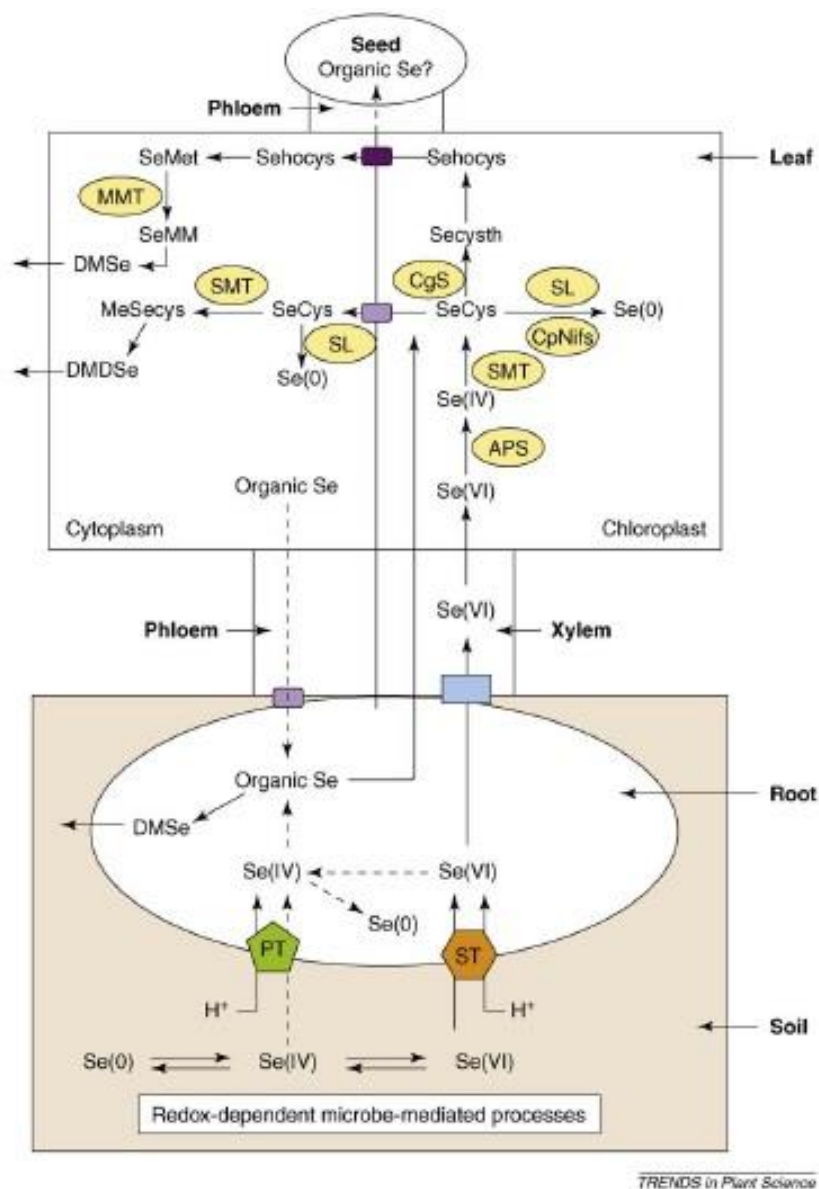
Selen má širokou škálu pozitivních účinků. Jeho aktivita spočívá v přímém ovlivnění antioxidačního obranného systému, a tím pádem i ve zvýšení schopnosti rostlin vypořádat se se stresem (Handa *et al.* 2016). Jedním z nejčastějších zdrojů oxidativního poškození je kovem generovaný hydroxylový radikál. Síra a selen zde poskytují prevenci před oxidativním poškozením DNA způsobeným železnatými a měďnými kationty. Základním mechanismem je navázání antioxidantu selenu a síry k Cu^{1+} a k Fe^{2+} (Zimmerman *et al.* 2015). Selen si je schopen poradit i s toxickými účinky arsenu, rtuti, platiny a stříbra- působí buď preventivně, nebo snižuje jejich toxické působení. A naopak některé z těchto kovů mohou rostlinu chránit před toxicitou selenu, pokud je jeho dávka příliš vysoká (Nordberg *et al.* 2015). Selen snižuje toxické účinky kadmia a to jak u rostlin, tak u člověka (Filek *et al.* 2010). Úroveň disturbance vyvolané nahromaděním kadmia v rostlině se může dodání selenu částečně zlepšovat. To se děje pravděpodobně díky inhibici hromadění kadmia a redukci peroxidace tuků v pletivech kořene. Dochází také ke zlepšení stability buněčné membrány v pletivech listu. Efekt selenu na stres vyvolaný kadmiiem vysoce závisí na proporci těchto dvou prvků ve výživném roztoku (Hawrylak- Nowak *et al.* 2014). Dalším prvkem, který je selen schopen detoxikovat je antimon (Sb). Přidání selenu potlačuje negativní efekt antimonu na lipidy buněčné membrány a na rašící biomasu, bohužel ale zároveň redukuje parametry růstu kořene. To ovšem podporuje hypotézu, že selen ovlivňuje růst kořene kvůli inhibici příjmu antimonu a současně reguluje antioxidační systém, aby zredukoval oxidativní stres (Feng *et al.* 2016). Malik *et al.* (2012) zkoumali antagonistické účinky selenu a arsenu. Jejich pokus s *Phaseolus aureus* proběhl následovně; k hydroponickému roztoku byl přidán As, Se a kombinace As a Se. Zatímco hydroponie jen se selenem byla lehce prospěšná pro růst rostliny, hydroponie s arsenem vážně zpomalila růst při koncentraci 10 μM . Rostliny s arsenem, do jejichž živného roztoku bylo přidáno 5 μM , selenu vykazovaly zlepšený růst, což naznačuje antagonismus působení selenu a arsenu. Selenem pohnojené rostliny vykazovaly menší poškození membrán, chlorofylu a buněk zapříčiněné arsenem. Oxidační poškození arsenem bylo sníženo aplikací selenu, což mohlo souviset se zvýšením hladiny enzymatických (superoxiddismutáza, kataláza, askorbát peroxidáza, glutathion reduktáza) a neenzymatických (kyselina askorbová a glutathion) antioxidantů. A navíc detoxikační mechanismy zaznamenané jako nárůst aktivity metalothioneinů, thiolů a glutathion-s-transferázy byly zvýšené u rostlin s dodáním selenu. Z toho vyplývá, že dodání selenu v nižších koncentracích může být příznivé pro zlepšení růstu a schopnosti ochrany před toxicitou arsenu (Malik *et al.* 2012).

Aplikace selenu může zlepšit odolnost olivovníku (*Olea europaea* L.) i stromů obecně proti obdobím sucha. Zvýšením aktivity antioxidačního enzymu askorbát-peroxidázy, katalázy a glutathion peroxidázy ochraňuje buňky před oxidačním poškozením a zároveň redukuje obsah malondialdehydu, který by se jinak při

oxidativním stresu nahromadil. Selen u rostlin také reguluje vodní status (Proietti *et al.* 2013). Selen také může být využíván jako základní ochrana reprodukčních orgánů v pozdějších stádiích vývoje rostliny, a to díky izolaci vysoké koncentrace selenu v květních částech rostliny namísto v listech (Hladun *et al.* 2011). Tento jev hromadění selenu v květech a jeho ubývání v listech potvrzuje i polní studie s rostlinou druhu *Stanleya pinnata*. Ta prokázala nárůst množství selenu v reprodukčních orgánech za současného snížení obsahu selenu v listech (Galeas *et al.* 2007). Zhu (2001) se zabýval koncentrací selenu v jednotlivých částech rostlin kukuřice. Zjistil, že koncentrace selenu se významně liší mezi jednotlivými orgány kukuřičné rostliny a že klesá v následujícím pořadí: květy samčí rostliny > květy samičí rostliny > listy > semena > kořen > stonek > šustí. Koncentrace selenu ve vyšších listech a ve stoncích dosahuje vyšších hodnot než v nižších partiích rostliny. Vnější šustí obsahuje více selenu než vnitřní. Tato zjištěná distribuce selenu indikuje nejen to, že selen je pravděpodobně esenciální prvek pro kukuřici, ale také to, že za podmínek vysokého obsahu selenu v půdě a absence rostliny sloužící jako indikátor akumulující selen, mohou být tyto orgány s relativně vysokou koncentrací selenu užity jako citlivý indikátor úrovně selenu v životním prostředí (Zhu *et al.* 2001). Selen je schopen chránit rostlinu druhu *Stanley pinnata*, hyperakumulátor selenu, před housenkovou herbivorií díky své toxicitě (Freeman *et al.* 2006). Obecně pak nízké koncentrace selenu zlepšují klíčení semen, růst rostliny, fotosyntézu, respirační potenciál i výnos biomasy (Handa *et al.* 2016).

Významnou roli hraje též obohacování půdy za účelem navýšení obsahu selenu v potravinách. Obohacování půdy selenem výrazně zvyšuje koncentraci biodostupných selenoaminokyselin- selenomethioninu a selenomethylselenocysteinu v brambore (Gionfriddo *et al.* 2012). Praktický pokus provedený na lilku bramboru ilustruje, jak selen pozitivně ovlivňuje fyziologické pochody v rostlině. V rostlině lilku brambor zapříčinil selen vyšší respirační potenciál v listech 4 týdny po jeho foliální aplikaci. Dva týdny po aplikaci byla zaznamenána vyšší účinnost konverze energie na PSII vyjádřená vyšší kvantovou výtěžností. Foliálně aplikovaný selen byl dostatečně absorbován listy a poté transportován do hlíz (Germ *et al.* 2007).

Znakem negativního působení selenu na rostliny rostoucí na selenózní půdách, jsou narušená syntéza bílkovin a zpomalený růst (Banuelos *et al.* 1996). Pšenice a hořčice rostoucí na selenózních půdách v Indii (Punjab) může také akumulovat vysoké množství selenu (<390 mg . kg⁻¹sušiny). Takovýchto vysokých hodnot selenu je dosaženo díky značnému množství snadno dostupného selenu v půdě, které je do určité míry každoročně obnovováno splachem. Při stresu zapříčiněném selenem je pšenice schopna syntetizovat podobné sloučeniny, které syntetizují i hyperakumulátory selenu. Selen v pšenici se vyskytuje ve formě, která je vysoce vstřebatelná lidmi i zvířaty (Eiche *et al.* 2015). Přehled metabolismu selenu je zachycen na obrázku č. 8.



Obrázek 8: Přehled metabolismu selenu a jeho rozložení v rostlinách, zkratky-PT (přenašeč s vysokou afinitou k fosfátům), Secysth (Se- cystathion), Sehocys (Se- homocysteine), ST (přenašeč s vysokou afinitou k sulfátům), fialový obdélník- neznámý přenos pro organický selen, modrý obdélník- selenátová výtoková pumpa (Winkel *et al.* 2015)

1.2.5 Význam selenu pro člověka a hospodářská zvířata

Selen je důležitým mikroprvkem pro lidské zdraví. Jeho význam spočívá především v posílení imunitního systému (Durán *et al.* 2015). Je esenciální pro správný průběh procesů nezbytných v lidském těle. Funguje jako konstituent aktivního centra glutathion peroxidázy, která ochraňuje buněčné membrány proti neblahým účinkům H_2O_2 lipidové peroxidázy (Pieczynska *et al.* 2015). Metabolické dráhy selenu v lidském těle jsou odvozeny od pěti různých dietárních zdrojů selenu- od selenátu, selenitu, selenomethioninu (SeMet), methylselenocysteinu (MeSeCys) a od selenizovaných kvasinek (Kokarnig *et al.* 2015). Mnohočetné biologické funkce selenu se v lidském těle manifestují hlavně díky 25 selenoproteinům, které mají ve svém aktivním centru selenocystein (Solovyev 2015).

Dle Německé, Rakouské a Švýcarské společnosti pro výživu je doporučená denní dávka selenu pro muže 70 µg/ den a pro ženu 60 µg/ den. Pro děti a dospívající je dávka určena dle tělesné váhy. Kojenci od 0- 4 měsíců přijímají selen v mateřském mléku a to v množství 10 µg/ den. Od 4 do 12 měsíců potřeba stoupá na 15 µg/ den. Pro kojící ženy je doporučen zvýšený příjem selenu- 75 µg/den (Kipp *et al.* 2015). Pro příjem selenu je důležitá konzumace zeleniny, hladina selenu v zelenině dosahuje hodnot od 0,001 do 0,034 mg.kg⁻¹ čerstvé hmoty. Nejbohatší na selen jsou rajčata (0,034 mg Se. kg⁻¹) a mrkev (0,020 mg Se. kg⁻¹) (Arteel *et al.* 2001).

Epidemiologické průzkumy ukazují, že nedostatek selenu v těle může přispívat ke zvýšenému riziku určitých nemocí, jako jsou karcinom tlustého střeva, žaludku, plic a prostaty. Nedostatek selenu negativně ovlivňuje kardiovaskulární, kostní a nervový systém (Pieczynska *et al.* 2015). Solovyev (2015) uvádí, že selen je nezbytný pro mozek a zdá se, že se účastní na patologii chorob, jako jsou Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, amyotrofická laterální skleróza a epilepsie. Selen je zapojen do rozličných funkcí centrální nervové soustavy, jako jsou motorické funkce, koordinace, paměť a kognitivní schopnosti. Je tedy možné předpokládat možnou roli selenu a selenoproteinů v signálních drahách mozku (Solovyev 2015). Selen navíc hraje významnou roli v dobrém fungování reprodukčního systému. Mnoho studií dokázalo korelaci mezi jeho příjmem, plodností či poruchami rozmnožovacích procesů. Nedostatek selenu může vést k těhotenským komplikacím, k samovolným potratům a k poškození nervového a imunitního systému plodu. Nízká koncentrace selenu v krevním séru v časných stádiích těhotenství je indikátorem nízké porodní váhy novorozeněte. Nedostatek tohoto prvku může též zapříčinit neplodnost u mužů způsobenou zhoršením kvality spermatu a jeho pohyblivosti. Z tohoto důvodu je dodávání selenu v případech jeho nedostatku v rozmnožovacím období muže a ženy nanejvýš důležité (Pieczynska *et al.* 2015). Při dostatečném stavu selenu v organismu je snížena exprese virů a zpomalen vývoj AIDS u pacientů s HIV (Kvíčala 2003).

Množství selenu v půdě se obecně odráží v přítomnosti selenu v potravě a následně v lidské populaci (Navarro- Alarcón 2008). Obsah selenu v potravě je ovlivněn geografickým umístěním, sezonními změnami, obsahem bílkovin a způsobem zpracování potravy, kde její tepelné zpracování výrazně snižuje biodostupnost selenu, selenomethioninu a selenocysteinu (Khanam *et al.* 2016, Navarro- Alarcón 2008). Nedostatkem selenu trpí více než miliarda lidí na světě (Rahman *et al.* 2013). Příznakem nedostatku selenu je makrocytóza, albinismus, roztřepené nehty a myopathie (Stuckler *et al.* 2008). Choroby z nedostatku selenu jsou známy pod jmény onemocnění Keshan, choroba Kashin- Beck a myxedematózní kretenismus (Kvíčala 2003). Selen navíc pomáhá v prevenci otravy arsenem, která je hlavním problémem v jižní Asii (Rahman *et al.* 2013). Obsah selenu v různých potravinách je uveden v tabulce č. 1.

Ke zvýšení pravidelného příjmu selenu lidmi v oblastech, kde jsou přítomny velmi nízké koncentrace selenu v půdě, jsou využívány různé strategie- dochází k zapojení selenem obohacených hnojiv, podávání selenu hospodářským zvířatům a také ke konzumaci potravinových doplňků se selenem (Navarro- Alarcón 2008). Další možností je pěstování saprofytických hub (například rod *Pleurotus*) na substrátech bohatých na selen, což může být efektivním prostředkem, jak produkovat na selen bohatou potravu (Bhatia *et al.* 2013). Jako příklad systematického a plošného obohacování půdy selenem je možné uvést Finsko, kde je od roku 1985 skoro do všech hnojiv přidáván selen kvůli jeho extrémně nízkým dietárním příjmům v 70. letech. Ty činily 0,025 mg za den. Momentálně každé hnojivo obsahuje 15 mg Se. kg⁻¹. Během tohoto programu se koncentrace selenu v jarních obilovinách zvýšila průměrně 15x ve srovnání s množstvím selenu před začátkem. Střední nárůst byl zaznamenán v hovězím maso (6x), vepřovém maso (2x) a v mléku (3x). Průměrný příjem selenu u člověka v potravě stoupl z 0,04 mg selenu na den a na 10MJ na stabilních 0,08 mg selenu na den a na 10MJ. Obsah selenu v lidské krevní plazmě stoupl z 0,89 μmol Se. L⁻¹ na obecnou úroveň 1,4 μmol Se. L⁻¹, která je považována za optimum. Se zvýšeným příjmem selenu se lidské zdraví obecně nezlepšilo, ale zlepšilo se zdraví zvířat. Finsko je zatím stále jedinou zemí, která provedla měření selenu napříč celou zemí (Alfthan *et al.* 2015).

Tabulka 1: Obsah selenu v potravinách v Německu; z hodnot selenu je jasné, že hlavním zdrojem selenu v potravě je maso (Stuckler *et al.* 2008, dostupné z www.bezpecnostpotravin.cz)

Potravina	Obsah selenu (μg/kg)
Hovězí maso	20 – 80
Drůbeží maso	30 – 100
Vepřové maso	50 – 150
Játra	50 – 200
Ledviny	500 – 2000
Ryby a měkkýši	200 – 500
Vejsce	100 – 200
Mléko	5 – 20
Sýry	20 – 2000
Rostlinné oleje	méně než 5
Zelenina (brambory, lusky, celer)	10 - 30
Houby	20 – 100
Ovoce (jablka, banány, pomeranče)	méně než 10
Obiloviny	10 – 500
Ořechy	20 – 200
Para-ořechy, brazilské ořechy	2000 - 5000

Určité koncentrace v půdě mohou být toxické pro spásající dobytek a jiné naopak mohou být výživově nedostačující (Girling 1984). Hall *et al.* (2011) prokázali, že

krátkodobé vystavení hovězího dobytka krmivu obohacenému o selen zvýší obsah selenu v krvi dobytka již za několik týdnů. Takový zásah je poté dostačující pro udržení adekvátních koncentrací po celé období pastvy i za podmínky, že by byl po této aplikaci přístup dobytka k selenu omezen. Toto krátkodobé vystavení vyšším hodnotám anorganického selenu však není ekvivalentem pro neustálé a nepřerušované podávání anorganického selenu v nižších dávkách (Hall *et al.* 2011). Pokud jsou zvířata krmena anorganickou formou selenu, je poté ve většině případů v metabolismu přeměněna na selenocystein. V případě organického selenomethioninu, je SeMe navázán na protein a vznikne nescifická vazba selenomethioninu vyrobeného rostlinou na místo methioninu. Takže selen naakumulovaný ve svalech díky nescifické vazbě na proteiny, se následně stává dostupný díky katabolickému rozkladu bílkovin. Organické i anorganické formy selenu jsou zapracovávány v těle do specifických proteinů, ale selen v těle vstupuje do buněčného metabolismu v závislosti na své chemické formě (Rayman *et al.* 2008).

Selen se vyskytuje také ve vodních ekosystémech. Waska *et al.* (2008) zkoumali hromadění chalkogenů (S, Se, Te a ^{210}Po) v těle kalmára pacifického (*Todarodes pacificus*). Zjistili, že množství selenu v žábrách bylo lehce zvýšené, což může naznačovat, že selen je přijímán do těla povrchem žaber. Nejvyšší koncentrace zkoumaných chalkogenů byla v hepatopankreasu a nejnižší ve svalových tkáních. Systém distribuce selenu a teluru v těle se podobal přenosovým systémům esenciálních stopových prvků, jako jsou zinek a měď. Zatímco ^{210}Po byl distribuován podobnými mechanismy jako toxické těžké kovy (např. kadmium a stříbro) (Waska *et al.* 2008). Penglase *et al.* (2014) uvádí, že zvýšený příjem selenu u ryb sám o sobě nemá vliv na jejich růst nebo přežití. Zvýšený příjem rtuti u ryb po dobu 100 dní zvyšuje pářící a reprodukční úspěch, avšak po 100 dnech vystavení zvýšeným dávkám rtuti dochází k jevu opačnému. Zvýšený příjem selenu snižuje plodnost, přežití embrya a celkově reprodukční úspěch. Kombinace zvýšeného příjmu selenu a rtuti mají synergický negativní efekt na všechny aspekty reprodukce ryb ve srovnání s těmi skupinami, které byly krmeny pouze vyšším množstvím selenu anebo rtuti. Celkově z pokusu vyplývá, že zvýšený dietární příjem selenu může snižovat opačné efekty rtuti na růst a přežití dospělých ryb a může také negativně ovlivnit reprodukční potenciál (Penglase *et al.* 2014).

1.3 Pohanka

1.3.1 Popis rostliny

Pohanka (*Fagopyrum esculentum*), patřící do čeledi *Polygonaceae*, je známá jedlá jednoletá bylina s rozvětveným květenstvím, v němž dozrávají trojboké nažky (Gulpinar *et al.* 2012, Větvička *et al.* 2009). Nadzemní část obsahuje značné množství flavonoidu rutinu (listy až 8%) a celá rostlina je zdrojem lékopisné suroviny- *Fagopyri herba* (Jahodář 2006). Rostliny mají většinou červený, málo

rozvětvený stonek. Listy jsou hrállovité nebo střelovité. Květy mají 3- 4 mm a vyrůstají ve vícekvětných úžlabních květenstvích. Korunní lístky jsou bílé nebo růžové. Divoce roste pohanka na rumišťích, okrajích cest, vyhýbá se vápenatým půdám (Schauer 2008) a je vysoce tolerantní k obsahu hliníku v půdě (Reyna-Lorens *et al.* 2015). Původně pohanka pochází z oblasti střední Asie a dnes je rozšířená téměř po celé Evropě (Schauer 2008). Pohanka je teplomilná rostlina. Má velkou listovou plochu a vysoký transpirační koeficient. Daří se jí na středních a lehčích půdách, snáší i půdy kyselé. Vysévání pohanky probíhá v polovině května; na jeden hektar je vyseto 40- 70 kg nažek pohanky, přičemž na m² je to přibližně 150- 200 semen. Zasévají se do hloubky 3- 5 cm (Moudrý *et al.* 2005).

Pohanka byla pěstována po staletí a nyní je považována za jednu z nejdůležitějších alternativních plodin. Semena a rostlinná pletiva pohanky obsahují mnoho výživově hodnotných složek, jako jsou proteiny, antioxidační látky, stopové prvky a vláknina. (Krkošková *et* Mrázová 2005). Semena jsou tvořena až z 60 % škrobem (Větvička *et al.* 2009). Proteiny v pohance jsou výživově velmi významné. Mají vysoký a vyvážený poměr aminokyselin, a tudíž mnohem vyšší biologickou hodnotu než proteiny cereální (Ličen *et al.* 2005). Kromě vysoce kvalitních proteinů, obsahují semena pohanky také několik složek působících příznivě na lidský organismus. Jsou to flavonoidy a flavony, fytosteroly, fagopyriny a proteiny vážící thiamin (Krkošková *et* Mrázová 2005) Dále je pohanka zdrojem selenu, vícenasycených mastných kyselin a cholinu. Pohanka obecná je významným zdrojem flavonoidu rutinu (Tůmová *et al.* 2007).

Obsahy a složení flavonoidů se v různých odrůdách pohanky liší a mění se v průběhu růstu. Svou úlohu zde hraje i vliv okolí (Krkošková 2011). Kim *et al.* (2008) zkoumali rozdíly obsahů fenolických složek mezi pohankou obecnou (*Fagopyrum esculentum* Moench) a tatarskou (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.). Oba druhy obsahovaly fenolické složky včetně kyseliny chlorogenové, čtyřech glykosylflavonů (orientin, isorientin, vitexin a isovitexin), rutinu a quercetinu. Zjistili, že obsah fenolických látek se v klíčící pohance v průběhu 6. - 10. dne po setbě zvyšuje (Kim *et al.* 2008). Stoupá obsah rutinu a quercitrinu (quercetin-3-O-rhamnoside). A mírně klesá množství kyseliny chlorogenové (Kim *et al.* 2004). Celkový obsah fenolických složek se v obou druzích významně neliší, avšak obsah rutinu je u pohanky tatarské vyšší (Kim *et al.* 2008). Hlavní mastnou kyselinou pohankových klíčků je kyselina linoleová. Po sedmi dnech od setby stoupne její obsah na 52,1% z celkové hmotnosti výhonku. Maximální obsah kyseliny je pak 83%. Klíčky obsahují také velké množství lysinu, GABA a sirných aminokyselin. Přítomny jsou i vitamíny rozpustné ve vodě, vitamíny B1 + B6 a vitamín C. Přičemž nejvyšší množství vitamínu C je naměřeno 7 dní po vysetí (171,5 mg/ 100g) (Kim *et al.* 2004). Současné výzkumy se zaměřují na fytosteroly, fagopyritoly, fagopyriny a další fenolické látky, které pohanka obsahuje a na jejich fyziologických účincích. (Cai *et al.* 2016)

Ožbolt *et al.*(2008) provedli pokus se semeny pohanky obecné (*Fagopyrum esculentum*). Semena před zasetím máčeli v roztocích selenátu a selenitu sodného. Rostliny poté byly vystaveny UV-B záření. U rostlin, jejichž semena byla máčena v selenátu byl obsah selenu v biomase mnohem vyšší než u rostlin, jejichž semena byla máčena v selenitu. Nejvyšší koncentrace selenu byla nalezena v listech- okolo 45 a 66 $\mu\text{g Se/kg}$. V listech byl také nalezen fagopyrin (44,5-63,6 mg/ 100 g sušiny) a ve stoncích (14,3-26,4 mg/100 g sušiny). Obsah flavonoidů v pohance v listech tvořil 7.8-15,9 % a ve stoncích 1,4-4,1% z celkového obsahu flavonoidů (Ožbolt *et al.* 2008).

Pohanka obsahuje fotosensibilizující látky. Proto při kombinaci konzumace pohankové stravy a následném pobytu na prudkém slunci může dojít k alergickým dermatitidám (Větvička *et al.* 2009). Pohanka má silné, charakteristické aroma (Janeš *et al.* 2009).

1.4 Význam flavonoidů

Flavonoidy jsou přírodní látky patřící do skupiny polyfenolů (Hoench *et al.* 2015). Tvoří obrovskou skupinu čítající více než 4500 doposud známých látek (Croteau *et al.* 2000). Dělí se na anthoxantiny (tj. flavony, flavonoly, flavanony a isoflavony), obdobnou strukturu mají katechiny a anthokyaniny, popř. leukoanthokyaniny. Patří do látek, které jsou ve vodě rozpustné (Hrdina *et al.* 1997). Flavonoidy jsou přítomné ve většině rostlinných pletiv a často ve vakuolách. Vyskytují se ve formě monomerů, dimerů a vyšších oligomerů. Objevují se též jako směsi barevných oligomerních nebo polymerních komponentů ve dřevě a v kůře stromů (Croteau *et al.* 2000). Velká část flavonoidů je glykosylována. Navázaný cukr bývá glukosa, rhamnosa, méně často galaktosa, arabinosa, xylosa, glukuronová kyselina a další cukry. Obvykle je navázána jedna cukerná jednotka, ale mohou být i dvě, tři či více. Cukry mohou být dále substituovány např. malonylovou skupinou (Trna *et al.* s. a.).

Flavonoidy jsou v praxi využívány jako hepatoprotektiva (např. cyanidol, silymarin), nebo jako venofarmaka (hesperidin, hidrosmin, rutin, troxerutin) (Hrdina *et al.* 1997). Jejich působení je připisována široká škála příznivých účinků i u člověka. Fungují jako přirozené inhibitory zánětů díky schopnosti regulace genů zesilujících zánětlivé signální dráhy vedoucí k expresi zánětlivých cytokinů a chemokinů. Mohly by být použity k potlačení chronických zánětů sliznic vnitřností.

Flavonoidy jsou xenobiotika, která jsou metabolizována v těle enzymy cytochromu P-450 na enzymy ochranné. Tyto ochranné enzymy mohou tvořit metabolickou bariéru sliznic vnitřních orgánů, a tak přispívat k prevenci neoplázie (Hoench *et al.* 2015). Zvýšený příjem flavonoidů může být účinný pro limitaci neurodegenerativních onemocnění spojených s množstvím neurologických poškození. Flavonoidy tak fungují jako prevence nebo prostředek ke zvrácení normálních nebo abnormálních poškození kognitivních funkcí. Flavonoidy zprostředkovávají takovéto účinky díky mnoha cestám. Patří mezi ně schopnost

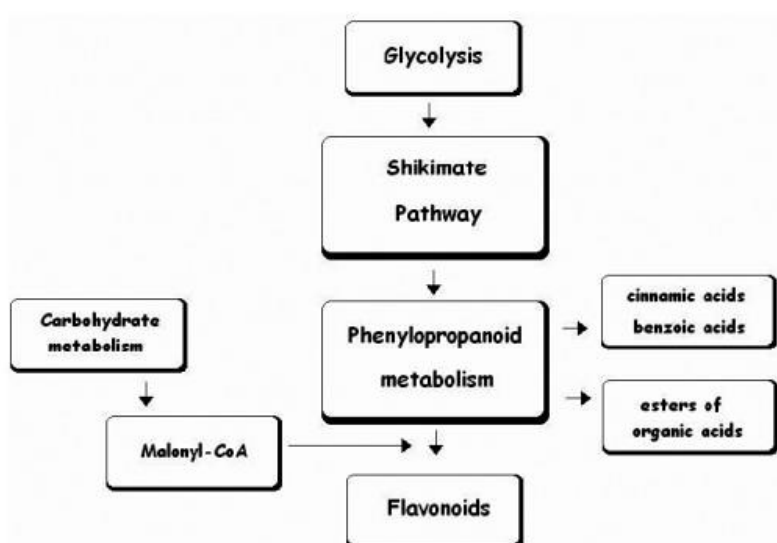
ochránit neurony před poškozením zapříčiněným neurotoxiny, schopnost potlačit záněty a možná schopnost povzbuzení paměti, učení a kognitivních funkcí. Tuto multiplicitu účinků na mozek způsobují zřejmě tři oddělené procesy. První proces spočívá v interakci s důležitými neuronovými a gliovými signálními kaskádami v mozku, které regulují transkripční faktory pro přežití a genovou expresi- nejvíce s dráhami fosfatdilinoinositol-3-kináza/Akt a mitogen-aktivované proteinkinázy. Druhý proces spočívá v schopnosti zlepšit periferní a mozkový oběhový systém a spustit angiogenezi a neurogenezi v hippocampu. Třetí je jejich schopnost přímo reagovat s neurotoxickými druhy a s prozánětlivými částicemi produkovanými mozkiem jako výsledek normálního i abnormálního stárnutí mozku (Spencer 2010).

Odhadovaný příjem flavonoidů ve výživě člověka je v rozmezí několika desítek až stovek gramů za den. Dominantním flavonoidem ve výživě člověka je flavonolkvercetin. Kvercetin se nachází ve vysokých koncentracích v běžně přijímaných potravinách jako cibule (300 mg Se. kg⁻¹ čerstvé váhy), jablka (21-72 mg Se. kg⁻¹), kapusta (100 mg Se. kg⁻¹), červené víno (4-16 mg Se.L⁻¹) a zelený a černý čaj (10-25 mg Se. kg⁻¹) (Trna *et al s. a.*).

1.4.1 Antioxidační aktivita fenolických složek v rostlinách

Poškození rostliny stresem se objevuje tehdy, když množství produkovaných radikálních forem kyslíku převažuje nad antioxidačními procesy a detoxifikačními mechanismy (Sgherri *et al.* 2003). Nejdůležitějšími nízkomolekulárními antioxidanty jsou kyselina askorbová, glutathion, thioly, alfatokoferol a ochranné pigmenty jako jsou karotenoidy. Fenolické sloučeniny jsou jednou z nejvýznamnějších skupin sekundárních metabolitů. Jsou produkovány hlavně z kyseliny skořicové, která vzniká z fenylalaninu za pomoci L-fenylalanin-ammonia-lyázy. Tato lyáza je spojovacím enzymem mezi primárním (šikimátová cesta) a sekundárním metabolismem. Fenoly mají v rostlinách různé funkce. Většina z nich má antimikrobiální aktivitu. Rostliny akumulují UV- absorbující flavonoidy a další fenolické složky hlavně ve vakuolách buněk epidermis, aby zabránily průniku UV záření do hlubších struktur rostliny (Kondo *et Kawashima* 2000, Michalak 2006). Současné studie ukazují, že flavonoidy spolu s fenylpropanoidy a fenolickými kyselinami působí v rostlinách jako efektivní antioxidanty. Během rostlinného stresu způsobeného těžkými kovy mohou tyto fenolické sloučeniny vytvářet chelátové vazby s těžkým kovem a jsou také schopny přímo odstraňovat různé reaktivní formy kyslíku (Michalak 2006). Tato obecná schopnost chelace je spojena s vysokým nukleofilním charakterem aromatických kruhů než s přítomností specifických chelačních skupin v molekule (Morgan *et al.* 1997). Flavonoidy jsou také schopny stabilizovat plazmatickou membránu snížením její fluidity. Tím brání rozptylování volných radikálů a omezují tak peroxidativní reakce (Michalak 2006). Kim *et al.* (2008) uvádí, že celková antioxidační aktivita v rostlině by mohla být ovlivňována kombinací identifikovaných fenolických složek a minoritou neidentifikovaných látek (Kim *et*

al. 2008). Na obrázku č. 10 jsou zobrazeny hlavní dráhy biosyntézy hlavních skupin fenolických složek.



Obrázek 9: Fenolické sloučeniny jsou syntetizovány hlavně z kyseliny skořicové (Michalak 2006)

1.4.2 Rutin a jeho význam

Rutin je rostlinný glykosid patřící do skupiny flavonolů (Paulíčková *et al.*, s. a., Králová 2008). V chemickém názvosloví je to kvercetin-3-O-rutinosid. Někdy je označován též jako vitamin P, nebo jako faktor permeability nebo propustnosti cév (Králová 2008). Rutin má ve své chemické struktuře různá vazebná místa pro vazbu s přechodnými kovy (Ikeda *et al.* 2015). Rutin se vyskytuje často spolu s vitamínem C, se kterým působí synergicky jako antioxidant. Rostliny využívají antioxidantní aktivity flavonoidů při vyrovnávání se se stresem způsobeným těžkými kovy (Paulíčková *et al.*, s. a., Michalak 2006).

Rutin má protizánětlivé, antimutagenní a antikancerogenní vlastnosti, používá se k léčbě alergií, hemoroidů a křečových žil, kdy snižuje lomivost cév, která je spojená s některými hemoragickými onemocněními a s vysokým krevním tlakem (Krkošková 2011, Tůmová *et al.* 2007). Společně s flavonoidy oxerutinem a troxerutinem patří rutin k nejrozšířenějším venofarmakům (Musil 2003). Vykazuje také antioxidantní vlastnosti a příznivě působí při hypercholesterolemii a při dalších kardiovaskulárních onemocněních (Králová 2008). Díky příjmu rutinu, je zřejmě možné předejít poruše prostorové paměti, která je doprovázena ztrátami hippokampálního pyramidálního neuronu (Koda *et al.* 2008). Příznivé účinky na lidské zdraví má také komplex rutin-zinek (II), který nevykazuje cytotoxicitu pro normální buňky, avšak má antioxidantní účinek *in vitro* a působí cytotoxicky na buněčné linie leukémie, mnohočetného myelomu a melanomu. V modelu Ehrlichova nádoru komplex rutin- zinek (II) změnil potenciál mitochondriální membrány a expresi genů spojených s vývojem buněčného cyklu, angiogeneze a apoptózy (Ikeda *et al.* 2015).

Důležitým zdrojem flavonoidu rutinu je pohanka obecná (*Fagopyrum esculentum*) (Tůmová *et al.* 2007). Obsah rutinu se pohybuje v rozmezí od 12,6 mg/ 100 g (v ruských kultivarech) do 25,9 mg ve 100 g sušiny (nepálské kmeny) (Krkošková 2011). K objevení rutinu došlo při výzkumu účinků kyseliny askorbové na léčení lomivosti a propustnosti krevních vlásečnic způsobených různými chorobami (Paulíčková *et al.* s. a.).

1.5 Význam draslíku v rostlinách

Draslík je nejhojněji zastoupeným kationtem v buňkách vyšších rostlin, spolu s fosforem je nezbytný pro zdravý růst rostlin (De Boer 1998, Paola *et al.* 2016). Draslík hraje nezbytnou roli při růstu a vývinu rostliny. Protože jediným zdrojem draslíku pro rostliny je půda, jsou rostlinné kořeny velmi dobře zadaptované na příjem draslíku z půdy a následný transport do listů. Transport do kořenů může být rozdělen do tří částí- příjem do kořenového symplastu, transport symplastem a uvolnění do xylému (De Boer 1998). Draslík je přijímán v podobě K^+ iontů (Campbell 2006). V této formě se vyskytuje po celou dobu plnění svých fyziologických funkcí (Tůma *et al.* 1998). V rostlinách existují samostatné transportéry draselného kationtu, které jsou kódovány množstvím genů. Množství těchto transportérů (z AKT a AtKUP rodiny) funguje jak v nízkých (μM) tak ve vysokých (mM) K^+ koncentracích (De Boer 1998). Průnik K^+ iontů přes plazmalemu se realizuje prostřednictvím nejméně dvou mechanismů v závislosti koncentraci K^+ v živném prostředí. Při nízké koncentraci zprostředkovávají přenos přenašeče a při vysokých se plazmalema stává propustnější a nastává pasivní pohyb s transpiračním proudem. Potřeba draslíku u rostlin je velmi vysoká- jeho příjem se téměř rovná příjmu N (Tůma *et al.* 2004) Draslík je ve srovnání s ostatními kationty přijímán v největším rozsahu a různými mechanismy. Jeho nadbytek v živném prostředí pak působí na příjem ostatních kationtů zvláště silně kompetitivně (Tůma *et al.* Skalický 2001). Synergický vztah při příjmu probíhá především mezi anionty a kationty. Zakládá se na tendenci buňky elektrostaticky vyrovnávat kationty a anionty. Z kationtů se na tomto procesu, jak už bylo uvedeno, podílí hlavně H^+ , K^+ , Na^+ , Ca^{2+} - kationty které jsou snadno transportovatelné do buňky i z buňky a disponují pasivními i aktivními mechanismy (Marschner 2011). Draslík je v rostlině přenášen xylémem i floémem (Tůma *et al.* 1998). Draslík je důležitým kofaktorem v syntéze proteinů a hraje hlavní roli v otevírání a zavírání průduchů (Campbell 2006). Působí na polymeraci sacharidů, aktivizuje transport asimilátů z listů k reprodukčním orgánům, zvyšuje hydrataci protoplazmy, působí příznivě na syntézu vitamínů a je aktivátorem řady enzymů. Funkce draslíku v rostlině je též spojována s regulací vodního provozu (Tůma *et al.* 1998). Draslík patří mezi nejvýznamnější osmotika v rostlinách (Procházka 1998), a to hlavně v rostlinách hromadících škrob jako například pšenice (Ashour *et al.* 1986). Má také význam při dlouhivém růstu buněk (Procházka 1998). Při deficitu K^+ iontů v rostlině se snižuje syntéza bílkovin. Nejdříve tmavnou starší listy od okraje nebo i podél žilek (tzv. káliová mozaika),

nebo se u nich projevuje chloróza. Rostlina je také méně odolná proti nepříznivým klimatickým činitelům (Tůma *et al.* 1998).

Zásoby draslíku v půdě jsou obecně veliké. Většina tohoto draslíku není přímo dostupná pro rostliny. Klíčovou roli v uvolnění nedostupného draslíku z draselných minerálů hrají organické exudáty některých bakterií a kořenů rostlin (Zoerb *et al.* 2013).

2 Metodika

Byl proveden nádobový pokus ve venkovním prostředí zahrady v Úhřeticích (východní Čechy, 237 m n m).

Pokusnou rostlinou byla pohanka obecná (*Fagopyrum esculentum* Moench), odrůda Pyra. Rostliny byly pěstovány v plastových nádobách. Do každé nádoby, do níž bylo předem odváženo 10 kg suché zeminy, byla zasazena jedna rostlina pohanky obecné.

Půdní rozbor

Rozbory vzorků zeminy byly provedeny ve státním podniku Povodí Labe v Hradci Králové, na odboru vodohospodářských laboratoří. Byly zde stanoveny koncentrace základních půdních prvků a také koncentrace těžkých kovů. Zkušební laboratoř Povodí Labe je akreditovaná ČIA č. 1264 dle normy ČSN EN IEC/ISO 17025.

V tabulce č. 2 jsou uvedeny hodnoty jednotlivých základních prvků. Jejich analýza proběhla ve výluhu dle Mehlicha III. V tabulce č. 3 jsou uvedeny hodnoty těžkých kovů obsažených ve zkoumaném vzorku zeminy. Těžké kovy byly analyzovány z výluhu zeminy lučavkou královskou. U všech analýz platí 20 % nejistota, která byla vypočtena na základě koeficientu rozšíření 2, který odpovídá hladině spolehlivosti 95 %. Výsledky analýz těžkých kovů jsou uvedeny ve 100 % sušíně, která tvořila 86,93 % vzorku.

Tabulka 2: Množství prvků v odebraném vzorku půdy (výluh podle Mehlicha III.)

Prvek	hmotnost na jednotku objemu
Hliník (Al)	201 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
Vápník (Ca)	1 985 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Měď (Cu)	1 880 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
Železo (Fe)	71, 5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Draslík (K)	76 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Hořčík (Mg)	20,3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Mangan (Mn)	20,3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Fosfor (P)	23 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

Tabulka 3: Množství prvků v odebraném vzorku půdy (výluh v lučavce královské)

Prvek	obsah v půdě (mg.kg ⁻¹)
Arzén (As)	6
Kadmium (Cd)	0,5
Chrom (Cr)	43
Rtuť (Hg)	0,1
Olovo (Pb)	34
Zinek (Zn)	143

Aplikace solí selenu do půdy

Byly založeny 4 varianty ve třech opakováních: neošetřená kontrola a 3 varianty se vzrůstající dávkou selenu (0,2; 2,0 a 10,0 mg Se. kg⁻¹ půdy). Navážená množství oxidu seleničitého u jednotlivých variant jsou uvedeny v tabulce č. 4. Navážený oxid seleničitý byl zalit 325 ml destilované vody. Dohromady bylo 12 nádob.

Tabulka 4: Navážená množství oxidu seleničitého na 10 kg suché zeminy v jednotlivých variantách

Varianta označení	Dávka oxidu Se na nádobu (10kg suché zeminy)(g)	Dávka čistého selenu na nádobu (10 kg suché zeminy) (g)
Se 0,2	0,0028	0,002
Se 2,0	0,0281	0,02
Se 10,0	0,1405	0,1

Průběh pokusu

V průběhu vegetace byl sledován růst a vývoj jednotlivých pokusných rostlin a zaznamenán a dokumentován i zdravotní stav rostlin. Snímky jednotlivých variant jsou uvedeny ve fotografické příloze. Průměrné teploty v obci Vejvanovice (1 km od místa pokusu) činily v červnu 2013 18,4 °C a v červenci 23,07 °C, v tabulce č. 4 jsou zaneseny hodnoty teplot v červnu a červenci po dekádách (Selgen Vejvanovice). V miskách pod pokusnými nádobami byla pravidelně udržována hladina vody.

Tabulka 5: Průměrné teploty v červnu a červenci 2013 (zdroj Selgen Vejvanovice)

<u>Červen 2013</u>	Průměrná teplota	<u>Červenec 2013</u>	Průměrná teplota
1. -10. den	15,4 °C	1. -10. den	21,85°C
11. -20. den	23,62 °C	11. -20. den	21,12°C
21. - 31. den	16,22 °C	21. - 31. den	25,95°C

Sklizeň pokusu proběhla dne 16. 7. 2013 ve fázi kvetení rostlin. Ihned po sklizni byla každá rostlina rozčleněna na listy, stonky, květy a kořeny. Kořeny byly

proprány v destilované vodě. Jednotlivé části rostlin byly vloženy do papírových sáčků a přehledně označeny. Následně proběhlo sušení v Botanické zahradě Farmaceutické fakulty v Hradci Králové. Sušení se odehrávalo v nízkotepečné rekuperační sušičce značky BEFI s stopnou spirálou 3,5 kW a zpětným ochlazováním, díky kterému teplota kolísá mezi 39-41 °C. Části biomasy byly po usušení rozemlety na laboratorním mlýnku na prášek. Průběh sušení a úpravy vzorků je zdokumentován na obrázcích číslo 10, 11, 12 a 13. Namletá sušina byla dále skladována v papírových sáčcích při pokojové teplotě.



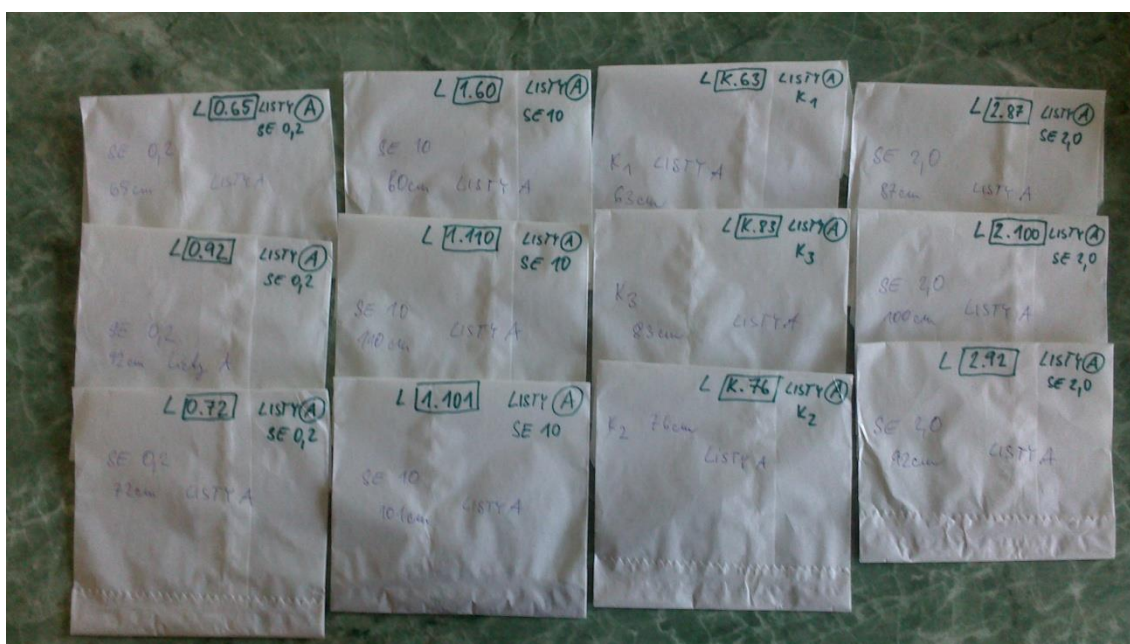
Obrázek 10: Nízkotepečná rekuperační sušička



Obrázek 11: Biomasa v sáčcích připravená k sušení



Obrázek 12: Biomasa připravená k sušení



Obrázek 13: Papírové sáčky s usušenou biomasou

Úprava vzorků pro stanovení rutinu

Pro následné stanovení obsahu rutinu bylo potřeba odstranit chlorofyl ze sušiny. Celý proces odstraňování chlorofylu probíhal v laboratoři na Katedře Biologie Univerzity Hradec Králové.

Na analytických váhách bylo nejdříve odváženo 0,5 g sušiny, pokud bylo biomasy méně než 0,5 g, bylo naváženo největší celkové množství sušiny a poté přepočítáno. K 0,5 g sušiny bylo přidáno 10 ml 99,8% ethanolu. Tato směs byla zahřívána ve varné baňce po dobu 30 minut pod zpětným chladičem při teplotě

60°C. Po 30 minutách byla směs přefiltrována přes vatu, aby se odstranily pevné části usušené biomasy. Filtrát byl přemístěn do dělicí nálevky a bylo přidáno 10 ml petroletheru. Tato směs byla v dělicí nálevce protřepána a ponechána chvíli v klidu. Potom co se obsah dělicí nálevky odležel, ustálily se dvě frakce. Svrchní frakce obsahovala chlorofyl a bylo nutno ji oddělit. Poté byl do zbylé spodní frakce znovu přilít petrolether až do té doby, dokud nebyla čirá- zcela zbavená chlorofylu. Postupné ubývání chlorofylu v horní frakci je zachyceno na obrázku č. 14. Spodní frakce byla poté dána do 25 ml baňky a byla doplněna methanolem po rysku. Z baňky bylo za pomoci injekční stříkačky odsáto 1,7 ml objemu a přes mikrofiltr přefiltrováno do vialky o objemu 1,8 ml. Naplněné a označené vialky byly skladovány v chladničce.



Obrázek 14: Postupné ubývání zeleného barviva (chlorofylu) v horní frakci v dělicí nálevce

Stanovení obsahu rutinu metodou HPLC

Stanovení obsahu rutinu probíhalo metodou HPLC na Farmaceutické fakultě UK v Hradci Králové. HPLC (vysokoúčinná kapalinová chromatografie) je analytická metoda která umožňuje provést identifikaci, kontrolu čistoty a stanovení obsahu několika látek během jedné analýzy. Výhodou této metody je i vysoká rychlost měření, citlivost stanovení (v závislosti na použité detekci), selektivita, možnost automatizace a spotřeba minimálního množství vzorku (Brabcová *et al.* 2011) Analýza byla provedena na sestavě Jasco (s čerpadlem PU-2089, detektorem MD-2015 a autosamplerem AS-2055), do jejíž výbavy patří předkolonový filtr, kolona LiChrospher RP-18 250x4 (5 μ m) a ochranná předkoloňka. Složení mobilní fáze čítalo- eluent A = 5% acetonitril + 0,15% H₃PO₃ ve vodě. Eluent B = 100% acetonitril. Eluce mobilní fáze probíhala prvních 6 minut isokraticky, následně gradientově. Průtok byl 1,0 ml/min a teplota kolony 25°C. Objem, který byl nastřikován, čítal 20 μ l. Detekce byla provedena DAD detektorem v rozsahu vlnových délek 200-450 nm. Obsah rutinu byl vypočten z piků za vlnové délky 250 nm. Obsah obou látek byl kvantifikován matematickou metodou normalizace a porovnáním s kalibrační křivkou vytvořenou pomocí externě měřeného standardu téže látky. Standard rutinu byl značky Sigma- Aldrich. Detenční limit byl 0,001%.

Stanovení obsahu selenu

Pro stanovení nízkých koncentrací selenu v biologických materiálech se používá více metod. Jsou to metody spektrometrické (ETA-AAS, HG-AAS, fluorescenční spektrometrie, ICP-MS), elektrochemické (pulzní polarografie, katodická rozpouštěcí voltampérometrie), radiochemické (neutronová aktivizační analýza, rentgenofluorescenční analýza) a separační (plynová chromatografie, kapalinová chromatografie). Pro stanovení selenu v rostlinných a živočišných materiálech se nyní nejvíce používá metoda AAS -atomová absorpční spektrofotometrie (Ursínyová *et* Hladíková 1998, Zheng *et al.* 2000). Stanovení bylo provedeno v Hradci Králové, ve zkušební laboratoři Zdravotního ústavu se sídlem v Ústí nad Labem. Nejistota stanovení činila 20%. Stanovení obsahu selenu probíhalo metodou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS), kterou se v dnešní době stanovuje většina mikroelementů (Šeda *et al.* 2011)

Stanovení obsahu draslíku

Obsah draslíku v sušině byl stanoven za pomoci metody hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP- MS). Hodnoty byly měřeny v mg/kg. Při stanovení obsahu draslíku činila nejistota 15%. Stanovení bylo provedeno v Hradci Králové, ve zkušební laboratoři Zdravotního ústavu se sídlem v Ústí nad Labem.

Statistika

Pro tvorbu grafů byl použit program STATISTIKA 12. Vypočítána zde byla jednofaktorová analýza rozptylu. Použit byl Tukeyho test.

3 Výsledky

3.1 Výška rostlin

Tabulka 6: Průměrná výška rostlin u jednotlivých variant při sklizni

Varianty	Průměrná výška rostliny (cm)	Směrodatná odchylka
K	74,0 ^a	8, 29
0, 2 Se	76,3 ^a	11, 40
2, 0 Se	93,0 ^b	5, 35
10, 0 Se	106, ^c	4, 50

Tukey test a,b,c - $P \leq 0,05$

Z tabulky č. 6 lze vyčíst průměrné hodnoty výšek rostlin u jednotlivých variant. Z tabulky je patrné, že aplikace selenu významně přispěla k růstu nadzemní části rostlin, což se promítlo ve větší výšce rostlin. Celkový vzhled rostlin je zachycen na fotografické dokumentaci pořízené během pokusu. Obrázky jsou součástí přílohy fotografické přílohy na konci diplomové práce.

Rostliny ošetřené selenem nevykazovaly žádné známky toxického působení selenu, byly zdravé, stejně jako rostliny u kontrolních variant.

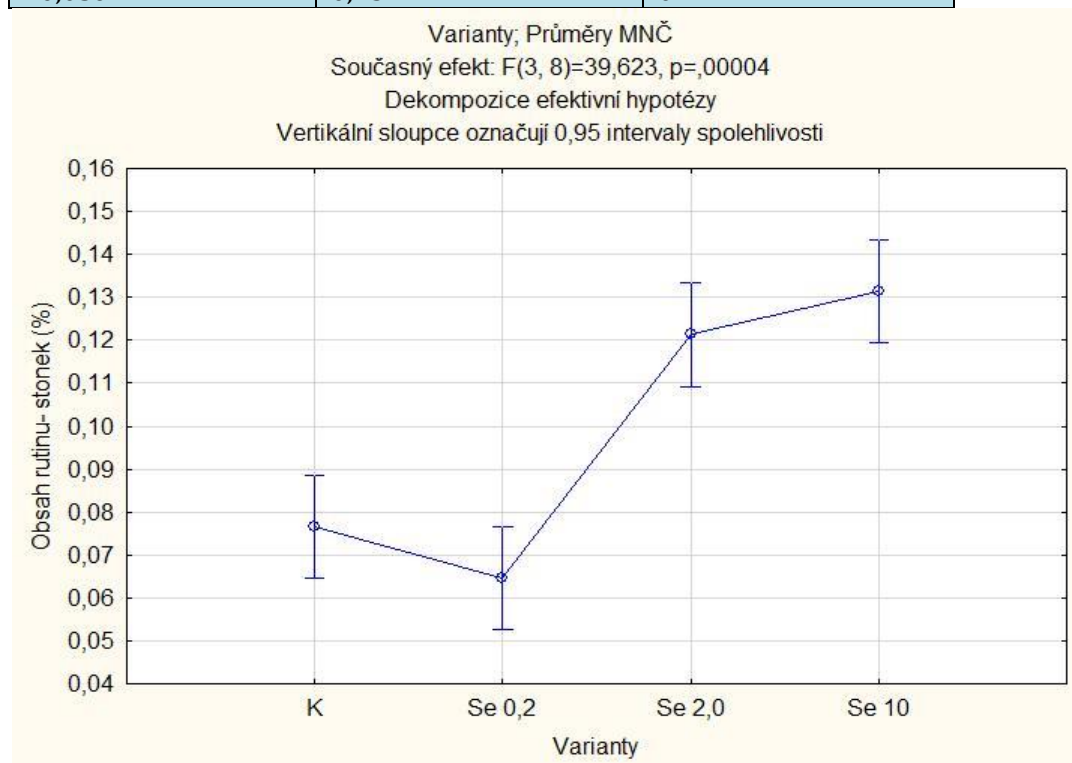
3.2 Obsah rutinu

3.2.1 Obsah rutinu ve stoncích

Z grafu na obrázku č. 15 lze odečíst, že nejvyšší hodnota rutinu ve stoncích byla naměřena u varianty 10,0 Se. Druhá nejvyšší hodnota ve variantě 2,0 Se se číselně blížila hodnotě nejvyšší. K dalšímu porovnání průměrných obsahů rutinu slouží tabulka č. 7. Nejnižší hodnoty rutinu ve stoncích byly stejně jako v listech zaznamenány ve variantě 0,2 Se. Signifikantní rozdíly zde byly stejné jako v případě listů.

Tabulka 7: Obsah rutinu ve stoncích

Varianta	Průměrný obsah rutinu (%)	Směrodatná odchylka
K	0,077	0,01
0,2Se	0,065	0,01
2,0Se	0,121	0,01
10,0Se	0,132	0



Obrázek 15: Obsah rutinu ve stoncích u jednotlivých variant

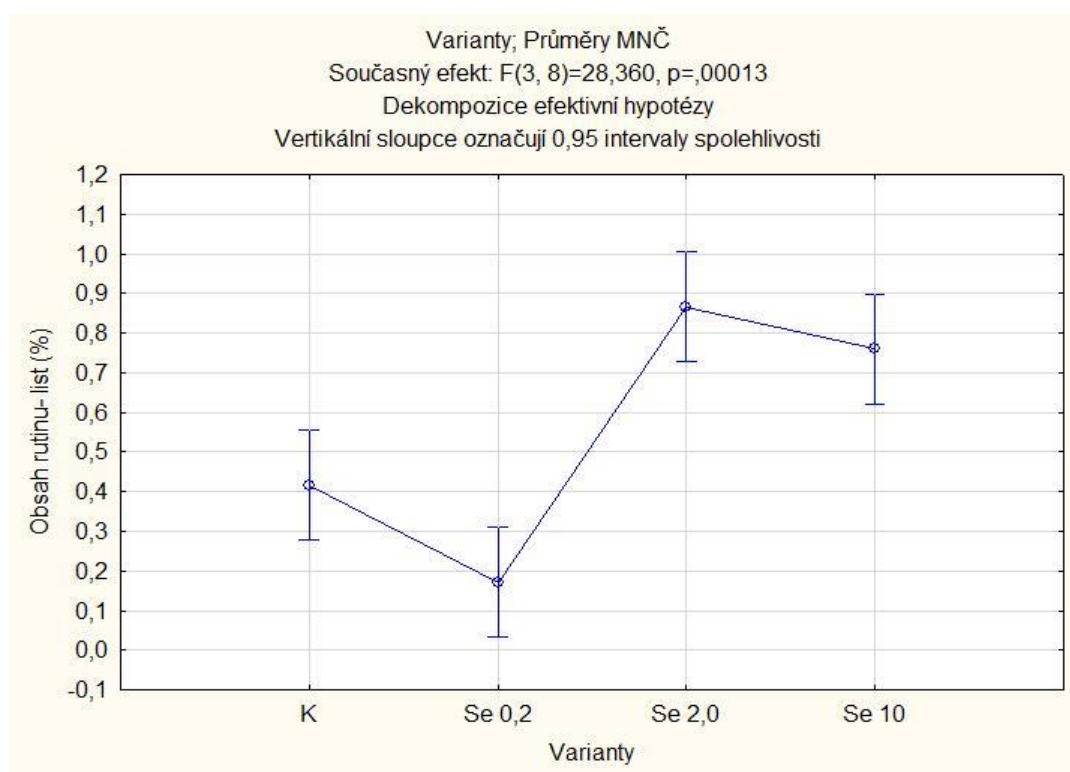
3.2.2 Obsah rutinu v listech

Množství flavonoidu rutinu v listech pohanky obecné (*Fagopyrum esculentum* Moench) bylo zjištěno metodou HPLC. Z grafu na obrázku č. 16 vyplývá, že nejvyšší obsah rutinu v listech byl naměřen ve variantě Se 2,0, a to 0,866 %. Po ní následovala varianta 10,0 Se a dále kontrolní varianta. Nejmenší obsah v sušině byl

zaznamenán u varianty 0,2 Se. V tabulce č. 8 jsou uvedena jednotlivá množství naměřeného obsahu rutinu ve vzorcích a jejich směrodatné odchylky. Statisticky významně se zvýšený obsah rutinu projevil od dávky 2,0 Se a výše.

Tabulka 8: Obsah rutinu v listech

Varianta	Průměrný obsah rutinu (%)	Směrodatná odchylka
K	0,416	0,11
0,2Se	0,171	0,01
2,0Se	0,866	0,04
10,0Se	0,76	0,13



Obrázek 16: Obsah rutinu v listech u jednotlivých variant

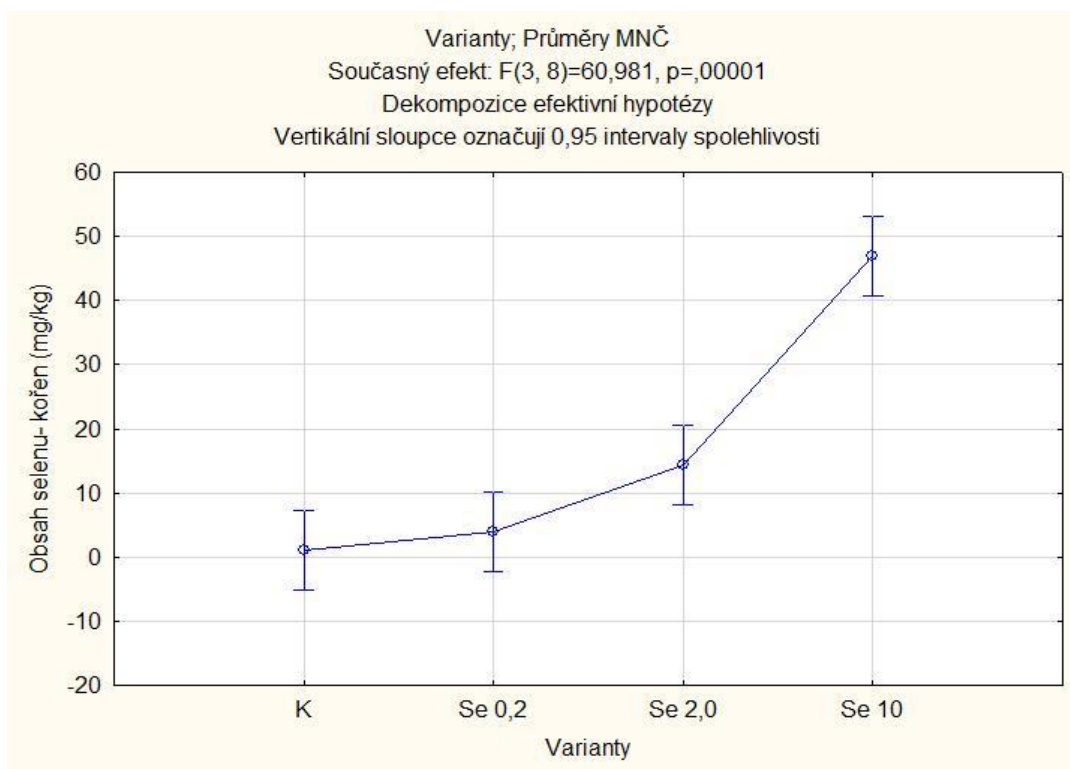
3.3 Obsah selenu

3.3.1 Obsah selenu v kořenech

Z grafu na obrázku č. 17 lze vyvodit závěr, že obsah selenu v kořenech stoupá spolu s koncentracemi Se u daných variant. V tabulce č. 9 jsou uvedeny všechny hodnoty a je vidět, že u variant 2,0 a 10,0 Se došlo k významnému zvýšení obsahu Se v porovnání s kontrolou. Hodnoty obsahu selenu u kontrolní varianty a u varianty 0,2 Se jsou těsně nad hranicí a pod hranicí detenčního limitu, proto jsou tyto hodnoty jednotné, jak ukazuje hodnota směrodatné odchylky.

Tabulka 9: Obsah selenu v kořenech

Varianta	Průměrný obsah selenu (mg/kg sušiny)	Směrodatná odchylka
K	1	0
0,2Se	4	0
2,0Se	14,3	2,05
10,0Se	47	7,35



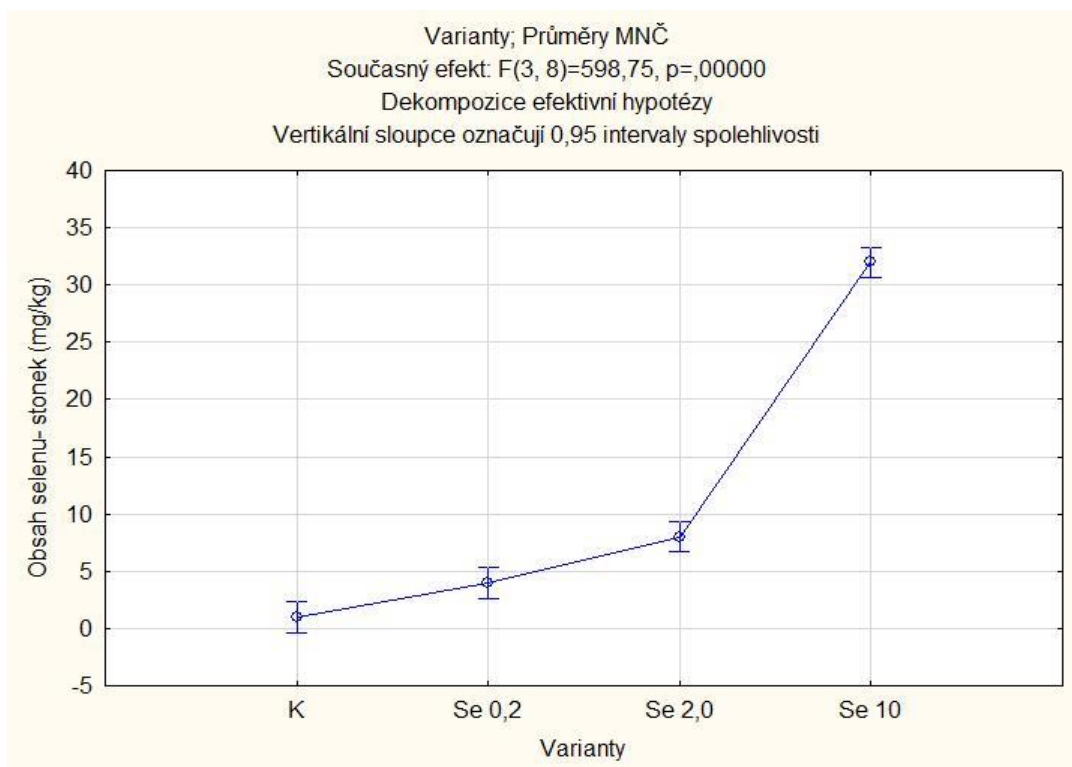
Obrázek 17: Obsah selenu v kořenech u jednotlivých variant

3.3.2 Obsah selenu ve stoncích

Obsah selenu ve stoncích stoupal spolu se zvyšující se koncentrací oxidu seleničitého, jak je uvedeno v grafu na obrázku č. 18 a v tabulce č. 10.

Tabulka 10: Obsah selenu ve stoncích

Varianta	Průměrný obsah selenu (mg/kg)	Směrodatná odchylka
K	1	0
0,2Se	4	0
2,0Se	8	0
10,0Se	32	1,63



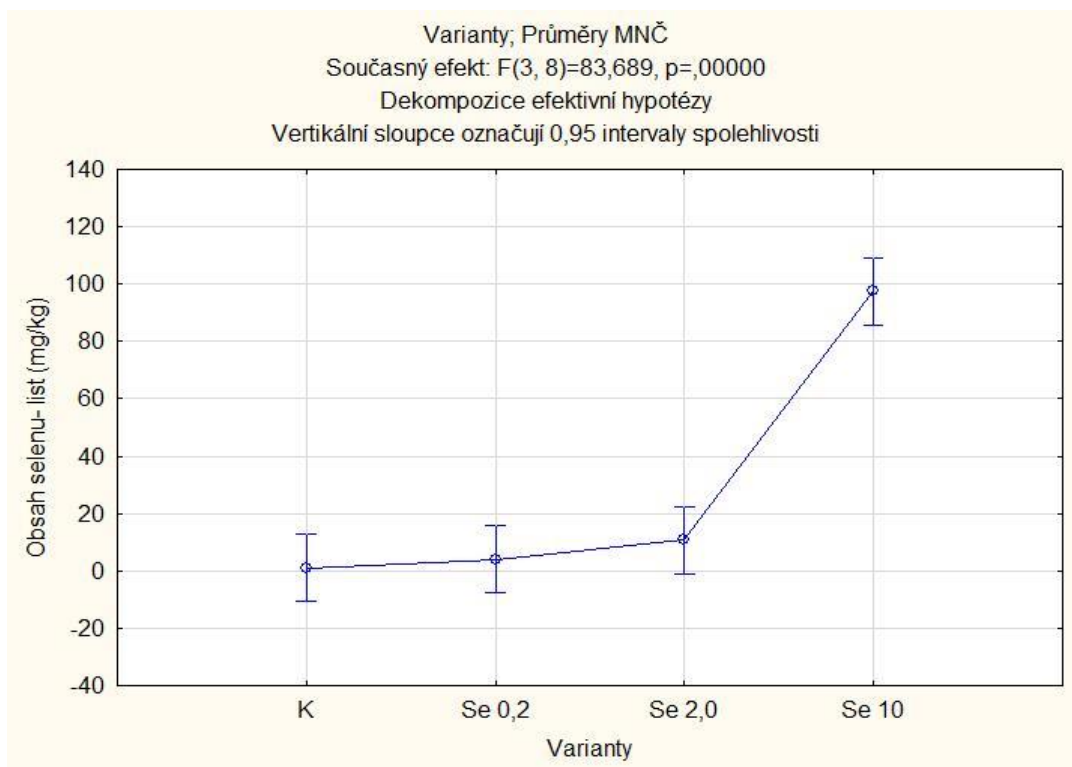
Obrázek 18: Obsah selenu ve stoncích u jednotlivých variant

3.3.3 Obsah selenu v listech

Z grafu na obrázku č. 19 vyplývá, že se obsah selenu v listech pohanky zvyšoval s rostoucí koncentrací roztoku SeO_2 přidaného do půdy. Přesné hodnoty obsahu selenu jsou uvedeny v tabulce č. 11.

Tabulka 11: Obsah selenu v listech

Varianta	Průměrný obsah selenu (mg/kg)	Směrodatná odchylka
K	1	0
0,2Se	4	0
2,0Se	10,67	0,94
10,0Se	97,5	14,29



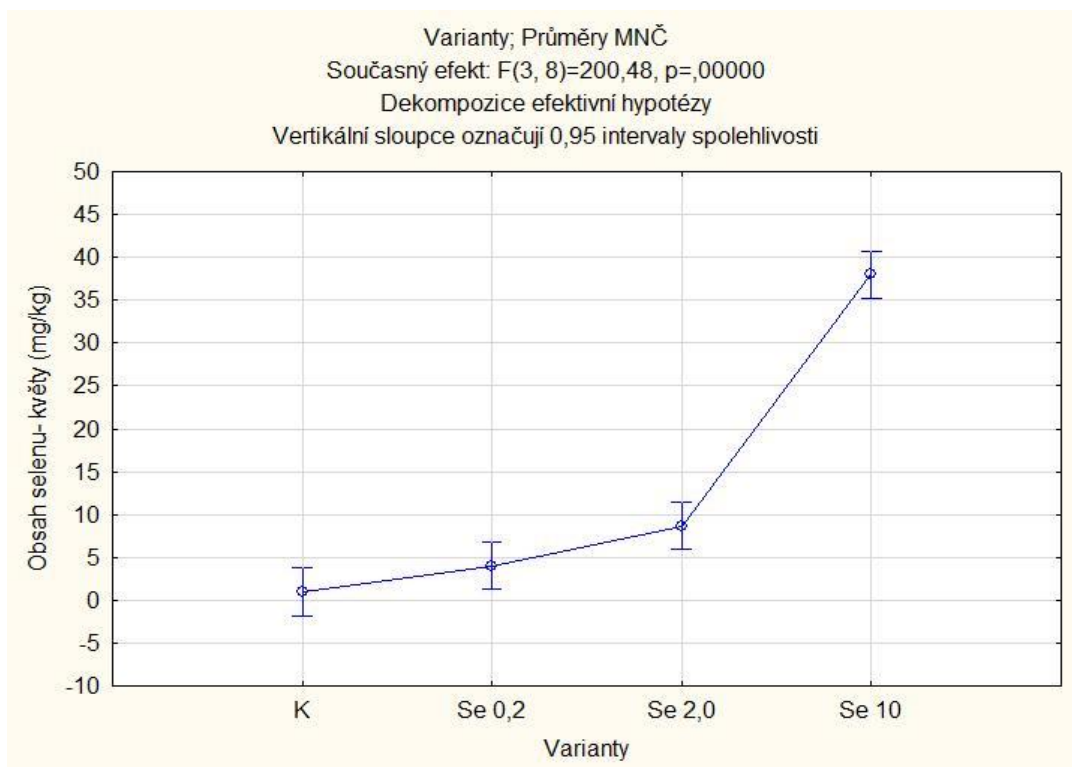
Obrázek 19: Obsah selenu v listech u jednotlivých variant

3.3.4 Obsah selenu v květech

Obsah selenu v květech roste přímo úměrně s koncentrací roztoků Se u jednotlivých variant, jak je možné vidět v tabulce č. 12 a na grafu z obrázku č. 20. Významný nárůst v porovnání s kontrolou se projevil opět u variant 2,0 a 10,0 Se.

Tabulka 12: Obsah selenu v květech

Varianta	Průměrný obsah selenu (mg/kg sušiny)	Směrodatná odchylka
K	1	0
0,2Se	4	0
2,0Se	8,67	0,94
10,0Se	38	3,27



Obrázek 20: Obsah selenu v květech u jednotlivých variant

3.3.5 Porovnání obsahu selenu v jednotlivých částech rostlin

Tabulka 13: Souhrnná tabulka obsahu selenu v rostlinných částech pohanky

Varianta/Obsah selenu v části rostliny	Kořeny (mg Se. kg ⁻¹ sušiny)	Stonky (mg Se. kg ⁻¹ sušiny)	Listy (mg Se. kg ⁻¹ sušiny)	Květy (mg Se. kg ⁻¹ sušiny)
K	1	1	1	1
0,2 Se	4	4	4	4
2,0 Se	14,3	8	10,67	8,67
10,0 Se	47	32	97,5	38

Tabulka 14: Poměry obsahů selenu u jednotlivých variant

Varianta/Poměry v částech rostlin	Poměr obsah Se list/kořen (transferfaktor)	Poměr obsah Se list/ květ
K	1	1
0, 2 Se	1	1
2, 0 Se	0,75 ^a	1,23 ^a
10,0 Se	2,07 ^b	2,57 ^b

Tukey test a,b – $P \leq 0,05$

Ze souhrnné tabulky č. 13 a z obrázků č. 17-20 (kde je znázorněna statistická významnost) jednoznačně vyplývá, že aplikace selenu se promítla v jeho vyšším

obsahu ve všech nadzemních částech rostliny. Nejvyšší obsahy byly zaznamenány v kořenech a listech, zatímco nejnižší ve stonku. Obsah selenu v listech se výrazně zvýšil u varianty 10,0 Se. Tuto skutečnost lépe vystihuje tabulka č. 14, kde jsou uvedeny poměry listy/ kořeny (transferfaktor) a listy/ květy. U kontrolní varianty a varianty 2, 0 Se byly zjištěny velmi nízké hodnoty obsahu Se na hranici detekčního limitu, proto je zde poměr 1. Významná translokace selenu z kořenů do listů se projevila hlavně u varianty 10,0 Se. Při nízkých dávkách Se tak jeho větší podíl zůstává v kořenech. Vyšší dávky Se se projeví i v jeho vyšším obsahu v květech. Většina ale byla zadržena v listech, což naznačují výrazně vyšší hodnoty poměru list/ květ u varianty 10, 0 Se.

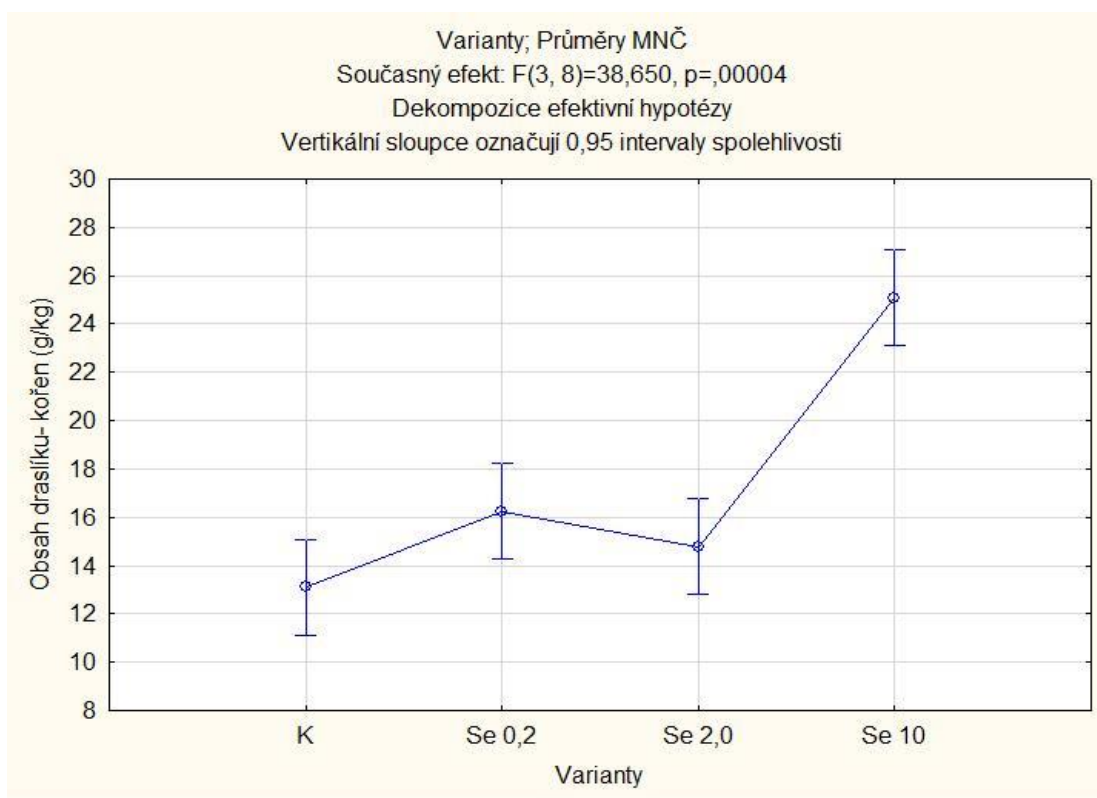
3.4 Obsah draslíku

3.4.1 Obsah draslíku v kořenech

Nejvyšší, významné zvýšení obsahu draslíku v kořenech byla naměřeno u varianty 10, 0 Se. Nejnižší množství draslíku obsahovala kontrolní varianta (viz tabulka č. 15 a graf na obrázku č. 21).

Tabulka 15: Obsah draslíku v kořenech

Varianta	Průměrný obsah draslíku (g/kg)	Směrodatná odchylka
K	13,1	1,79
0,2Se	16,2	1,04
2,0Se	14,8	1,24
10,0Se	25,1	0,49



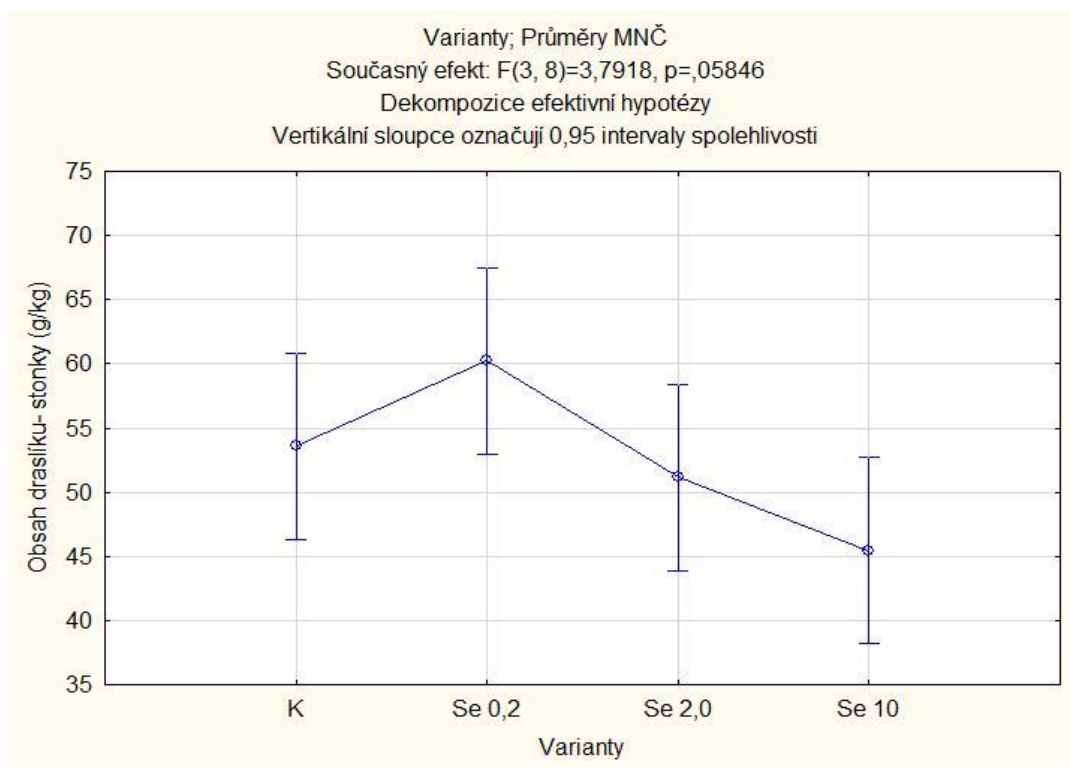
Obrázek 21: Obsah draslíku v kořenech u jednotlivých variant

3.4.2 Obsah draslíku ve stoncích

Obsah draslíku ve stoncích byl nejvyšší ve variantě 0,2Se. Kontrolní varianta obsahovala druhé nejvyšší množství draslíku. Dále obsah draslíku klesal se zvyšující se koncentrací selenu přidaného do půdy. Významné snížení obsahu draslíku bylo zaznamenáno mezi variantami 0,2Se a 10,0 Se (viz tabulka č. 16 a graf na obrázku č. 22)

Tabulka 16: Obsah draslíku ve stoncích

Varianta	Průměrný obsah draslíku (g/kg)	Směrodatná odchylka
K	53,6	8,49
0,2Se	60,3	1,11
2,0Se	51,8	1,27
10,0Se	45,5	2,12



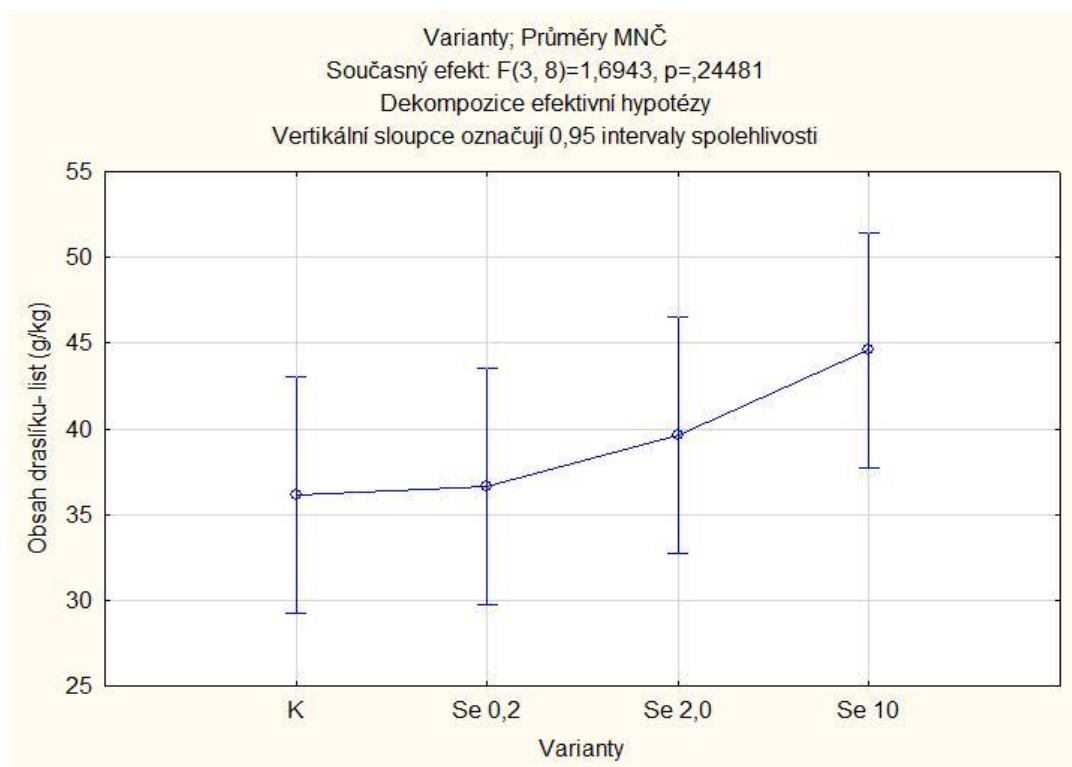
Obrázek 22: Obsah draslíku ve stoncích u jednotlivých variant

3.4.3 Obsah draslíku v listech

Obsah draslíku v listech byl nejvyšší u varianty 10,0 Se a 2,0 Se. V tabulce č. 17 jsou uvedeny hodnoty varianty 0,2 Se a kontrolní varianty. Graficky je obsah draslíku v listech znázorněn na grafu na obrázku č. 23.

Tabulka 17: Obsah draslíku v listech

Varianta	Průměrný obsah draslíku (g/kg)	Směrodatná odchylka
K	36,1	6,36
0,2Se	36,6	3,15
2,0Se	39,6	4,51
10,0Se	44,6	0,69



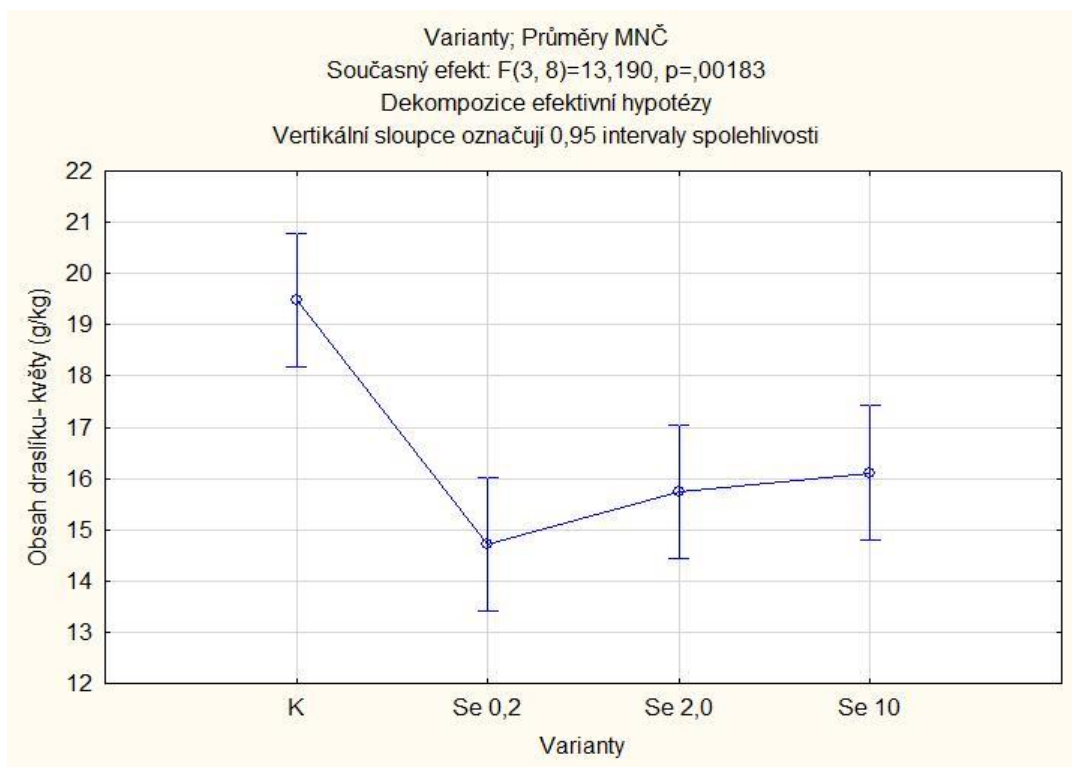
Obrázek 23: Obsah draslíku v listech u jednotlivých variant

3.4.4 Obsah draslíku v květech

Obsah draslíku v květech dosahoval nejvyšších hodnot u kontrolní varianty. Druhý nejvyšší obsah byl zaznamenán ve variantě 10, 0 Se (viz tabulka č. 18 a graf na obrázku č. 24)

Tabulka 18: Obsah draslíku v květech

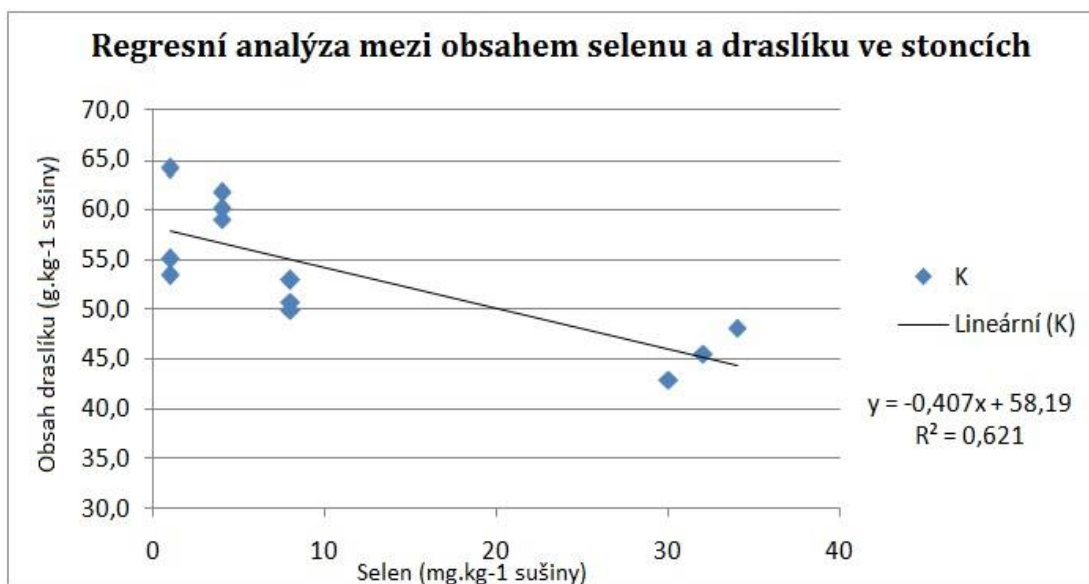
Varianta	Průměrný obsah draslíku (g/kg)	Směrodatná odchylka
K	18,5	0,57
0,2Se	14,7	0,69
2,0Se	15,7	0,88
10,0Se	16,1	1



Obrázek 24: Obsah draslíku v květech u jednotlivých variant

3.5 Regresní analýza

Byla provedena regresní analýza mezi obsahy Se a K a obsahem rutinu i mezi obsahem Se a K v sušině stonků a listů. Signifikantní byla hlavně záporná regresní závislost mezi obsahem Se a K ve stoncích (viz graf na obrázku č. 27), což koresponduje s obrázkem č. 24.



Obrázek 25: Regresní analýza mezi obsahem selenu a draslíku ve stoncích

4 Diskuze

Hlavním cílem našeho pokusu bylo zjistit, jak aplikace selenu do půdy ovlivní obsah rutinu v pohance a jak se promítne ve zvýšeném obsahu Se v jednotlivých částech rostliny pohanky. Rutin, chemicky kvercetin-3-ramnosyl glukosid, je přírodním derivátem flavonu. Tato fenolická sloučenina funguje jako přírodní antioxidant neutralizující volné radikály (Yang *et al.* 2008). V našem pokusu zvýšený obsah selenu v půdě významně ovlivnil obsah rutinu v pletivech pohanky. Projevilo se to především v listech, kde byl pozorován několikanásobně vyšší obsah rutinu v porovnání se stonky. Molan *et al.* (2009) zkoumal rozdíly mezi obyčejným zeleným čajem a zeleným čajem obohaceným o selen. Jeho výsledky nemluví o rutinu, ale dokládají, že zelený čaj obohacený o selen měl podstatně vyšší obsah fenolických sloučenin, což potvrzuje předpoklad, že selen by mohl být schopen v rostlině zapříčinit vyšší produkci sekundárních metabolitů, a to flavonoidů. V pletivech zeleného čaje byla zvýšena redukční aktivita. Další výsledky Molana také naznačují, že selen vykazuje možný potenciál pro katalyzaci růstu prebiotických bakterií. K podobným výsledkům došel též Goicoechea *et al.* (2015), který píše, že aplikace sloučenin selenu může ovlivnit nahromadění antioxidantů v listech salátu a zároveň účinnost mykorhizy, ovšem v závislosti na kultivaru salátu. Chu *et al.* (2010) při pokusu se semenáčky pšenice také zaznamenává příznivý vliv selenu na obsah antioxidantních složek, jako jsou flavonoidy a fenolické složky. Yao *et al.* (2011) uvádí, že selen zmírňuje poškození semenáček pšenice zapříčiněné UV- zářením tak, že do určité míry zvyšuje aktivitu antioxidantních enzymů a obsah antioxidantů (prolin, fenolické sloučeniny a flavonoidy). Ahmad *et al.* (2016) dokládá schopnost selenu znásobit obsah flavonoidů a fenolických sloučenin obecně. Gasecka *et al.* (2015) uvádí, že vyšší obsah selenu v půdě při pokusu s houbami (*Pholiota nameko*, *Pleurotus eryngii* a *Pleurotus ostreatus*) zvyšuje obsah fenolických a flavonoidních složek ve stélce houby.

V našem nádobovém pokusu s pohankou bylo doloženo, že obohacení substrátu o selen se promítlo v jeho zvýšeném příjmu a translokaci do jednotlivých částí rostliny – kořen, stonek, list, květ. Ke stejným výsledkům došel např. Hlušek *et al.* (2005), který se zabýval účinkem obohacení půdy o sloučeniny selenu a jejich vlivem na obsah sloučenin selenu v hlízách brambor. Z výsledků polního pokusu se stupňovanými dávkami selenu aplikovaného do půdy vyplynulo, že se obsah Se v hlízách zvyšoval v přímé závislosti s jeho aplikovanou dávkou. Zatímco mezi dvěma odrůdami brambor nebyly prokázány statistické rozdíly v koncentraci selenu, vliv lokality byl relevantní. Aplikace optimální dávky selenu do půdy je tedy předpokladem jeho požadované koncentrace v rostlinách a tím pozitivního ovlivnění nutriční kvality finálního produktu Schiavon *et al.* (2012) naše výsledky v pokusu na *Ulva sp.* také potvrzuje. Stejně tak Gasecka *et al.* (2015) v pokusu s houbami zaznamenává, že díky obohacení substrátu o selen se zvyšuje obsah selenu v houbě. Hegedus *et al.* (2005) uvádí, že akumulace selenu v různých

částech rostlin liší. Obsah selenu je dvoj- až trojnásobně vyšší v kořenech než ve stoncích a v listech.

Z našeho pokusu vyplývá, že teprve vyšší dávky selenu se promítly v jeho intenzivnější translokaci z kořenů do listů. Listy jsou tedy hlavním místem, kde dochází k hromadění a utilizaci selenu. Translokace do generativních orgánů je pak rovněž limitována zřejmě úložnou kapacitou. Nejmenší obsah selenu byl pozorován ve stoncích, kde dochází pouze k transportu selenu a jeho utilizace je zde omezená.

Vogrincic *et al.* (2009) provedl ve svém pokusu s pohankou na začátku kvetení rostlin foliální postřik vodným roztokem selenu ($10\text{mg Se}^{\text{VI}} \cdot \text{L}^{-1}$). Totální obsah selenu v rostlinných částech nepostříkaných rostlin byl nízký, zatímco rostliny ze skupiny s foliálním postřikem obsahovaly množství přibližně 50- 500 krát vyšší v závislosti na rostlinné části (od 708- 4231 ng. g^{-1} v sušině). V našem pokusu se dosáhlo maximálně 100 x vyššího obsahu selenu při jeho nejvyšších dávkách. Lze tedy usuzovat, že z hlediska efektivity příjmu selenu do nadzemních rostlinných částí, je foliální aplikace účinnější. Záleží zřejmě i na formě aplikovaného selenu. V našem pokusu jsme použili vodný roztok oxidu seleničitého, Kitaguchi *et al.* (2008) uvádí výsledky, kde byl použit selenát a selenit barnatý.

Nejvyšší obsah draslíku byl v pohance zaznamenán ve stoncích, což zřejmě souvisí s fyziologickou úlohou draslíku při transportu látek ve vodivých pletivech (Marschner 2011). Aplikace selenu, ale pouze u varianty 10,0 Se, se významně promítla ve zvýšeném obsahu draslíku pouze v kořenech. To znamená, že zvýšený příjem selenu byl doprovázen i zvýšeným příjmem draslíku. Tento zvýšený příjem se ale již významně nepromítl v ostatních částech rostliny.

Zkoumali jsme také vliv selenu na růstové parametry rostlin. Nejvyšších délek dosahovaly rostliny z varianty ošetřené roztokem s nejvyšším množstvím selenu (10, 0 Se). Se snižující se dávkou selenu průměrná výška rostlin klesala. Nebyl pozorován toxický vliv selenu na růst rostlin. Z těchto výsledků lze usuzovat, že námi zvolená množství selenu se pohybovala v rozpětí příznivém pro růst biomasy.

Závěr

- Z výsledků nádobového pokusu vyplývá, že stupňované dávky selenu do půdy se významně promítly ve zvýšeném obsahu selenu nejen v kořenech, ale i v nadzemních částech rostliny, včetně květů pohanky. Projevilo se to především u vyšších dávek selenu ($2,0$ a $10,0 \text{ mg Se} \cdot \text{kg}^{-1}$).
- vyšší dávky selenu ($10 \text{ mg Se} \cdot \text{kg}^{-1}$) se projevily v jeho intenzivnější translokaci z kořenů do listů, což dokládají nejvyšší hodnoty poměru obsahu selenu list/kořen (transferfaktor) – 2,07.

- U vyšších dávek selenu byl zaznamenán signifikantně zvýšený obsah rutinu v listech i ve stoncích.
- Vyšší dávky selenu se projeví i ve významně vyšším obsahu draslíku v kořenech, naproti tomu v nižším obsahu v květech. Nejvyšší obsah draslíku byl zjištěn ve stonku, což může souviset s jeho fyziologickou úlohou při transportu látek vodivými pletivy.
- Vyšší dávky selenu měly příznivý účinek na růst rostlin, což se promítlo ve větší velikosti rostlin a nebyly zde pozorovány žádné známky toxicity.
- Nejvyšší zvolená dávka selenu 10 mg Se. kg⁻¹ půdy se tedy pozitivně projevila ve zvýšeném obsahu selenu v biomase, ve zvýšeném obsahu rutinu i v mohutnějších rostlinách.

Seznam obrázků

Obrázek 1: Odpověď vyšších rostlin na toxicitu těžkých kovů (Manara 2012).....	10
Obrázek 2: Selen v periodické tabulce prvků.....	11
Obrázek 3: Vzorek selenu (Internetová citace).....	12
Obrázek 4: Schematický cyklus selenu v půdě (Flury <i>et al.</i> 1997).....	13
Obrázek 5: Chemický vzorec selenomethioninu (Gionfriddo <i>et al.</i> 2012).....	15
Obrázek 6: Přehled sloučenin selenu, reakčních drah a transformace v půdě, ve vodě a v atmosféře a v jejich styčných plochách (Winkel <i>et al.</i> 2015)	16
Obrázek 7:Hlavní dráhy selenu v rostlině (Winkel <i>et al.</i> 2015).....	17
Obrázek 8: Přehled metabolismu selenu a jeho rozložení v rostlinách, zkratky-PT (přenašeč s vysokou afinitou k fosfátům), Secysth (Se- cystathion), Sehomocysteine), ST (přenašeč s vysokou afinitou k sulfátům), fialový obdélník- neznámý přenos pro organický selen, modrý obdélník- selenátová výtoková pumpa (Winkel <i>et al.</i> 2015).....	20
Obrázek 9: Fenolické sloučeniny jsou syntetizovány hlavně z kyseliny skořicové (Michalak 2006).....	27
Obrázek 10: Nízkoteplotná rekuperační sušička.....	31
Obrázek 11: Biomasa v sáčcích připravená k sušení.....	31
Obrázek 12: Biomasa připravená k sušení.....	32
Obrázek 13: Papírové sáčky s usušenou biomasou	32
Obrázek 14: Postupné ubývání zeleného barviva (chlorofylu) v horní frakci v dělicí nálevce.....	33
Obrázek 15: Obsah rutinu ve stoncích u jednotlivých variant.....	35
Obrázek 16: Obsah rutinu v listech u jednotlivých variant.....	36
Obrázek 17: Obsah selenu v kořenech u jednotlivých variant	37
Obrázek 18: Obsah selenu ve stoncích u jednotlivých variant	38
Obrázek 19: Obsah selenu v listech u jednotlivých variant.....	39
Obrázek 20: Obsah selenu v květech u jednotlivých variant.....	40
Obrázek 23: Obsah draslíku v kořenech u jednotlivých variant.....	42
Obrázek 24: Obsah draslíku ve stoncích u jednotlivých variant.....	43

Obrázek 25: Obsah draslíku v listech u jednotlivých variant.....	44
Obrázek 26: Obsah draslíku v květech u jednotlivých variant	45
Obrázek 27: Regresní analýza mezi obsahem selenu a draslíku ve stoncích	45
Obrázek 28: Sazenice pohanky (17. 6. 2013), varianta 10,0 Se	60
Obrázek 29: Sazenice pohanky (17. 6. 2013), varianta 2,0 Se	60
Obrázek 30: Sazenice pohanky (17. 6. 2013), varianta 0,2 Se	60
Obrázek 31: Sazenice pohanky (17. 6. 2013), kontrolní varianta bez selenu	60
Obrázek 32: Rostliny pohanky (27. 6. 2013), varianta 10,0 Se	61
Obrázek 33: Rostliny pohanky (27. 6. 2013), varianta 2,0 Se	61
Obrázek 34: Rostliny pohanky (27. 6. 2013), varianta 0,2 Se	61
Obrázek 35: Rostliny pohanky (27. 6. 2013), kontrolní varianta bez selenu	62
Obrázek 36: Rostliny pohanky (7. 7. 2013), varianta 10,0 Se	62
Obrázek 37: Rostliny pohanky (7. 7. 2013), varianta 2,0 Se	63
Obrázek 38: Rostliny pohanky (7. 7. 2013), varianta 0,2 Se	64
Obrázek 39: Rostliny pohanky (7. 7. 2013), kontrolní varianta bez selenu	64

Seznam použité literatury

Ahmad P., Abd Allah E. F., Hashem A., Sarwat M., Gucel S. 2016: Exogenous application of selenium mitigates cadmium toxicity in *Brassica juncea* L. (Czern & Cross) by up-regulating antioxidative system and secondary metabolites. *Journal of Plant Growth Regulation*. 1-15.

Alfthan G., Euroola M., Ekholm P., Venaelaeninen E. R., Root T., Korkalainen K., Hartikainen H., Salminen P., Hietaniemi V., Aspila P., Aro A. 2015: Effects of nationwide addition of selenium to fertilizers on foods, and animal and human health in Finland: From deficiency to optimal selenium status of the population. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 31: 142-147.

Arteel G. E., Sies H. 2001: The biochemistry of selenium and the glutathione cycle. *Environmental Toxicology & Pharmacology*. 10(4): 153-8.

Arvy M. P. 1992: Some aspects of selenium relationships in soils and plants. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*. 23(13-14): 1397-1407.

Ashour N. I., Saad A. O. M., Thalooth A. T., Nour T. A. 1986: Effect of potassium on photosynthetic apparatus a yield components of wheat plant. *Progress in Photosynthesis Research*. 4: 393-393.

Atkins P. 2005: Periodické království- Cesta do země chemických prvků. *Academia*. 52.

- Banuelos G. S., Ajwa H. A., Wu L., Guo X., Akohoue S., Zambrzuski S. 1996: Selenium-induced growth reduction in *Brassica* land races considered for phytoremediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 36: 282-287.
- Bhaduri A. M., Fulekar M. H. 2012: Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress. *Reviews in Environmental Science & Biotechnology*. 11: 55- 69.
- Bhatia P., Aureli F., D'Amato M., Prakash R., Cameotra S. S., Nagaraja T. P., Cubadda F. 2013: Selenium bioaccessibility and speciation in biofortified *Pleurotus* mushrooms grown on selenium- rich agricultural residues. *Food Chemistry*. 140: 225-230.
- Brabcová I., Šatínský D., Solich P. 2011: Laboratorní přístroje a postupy. *Chemické listy*. 105: 864- 868.
- Cai Y. Z., Corke H., Wang D., Li W. D. 2016: Buckwheat. Reference Module in Food Science. Current as of 8 January 2016.
- Campbell C. G. 1997: Buckwheat. *Fagopyrum esculentum* Moench. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. International Plant Genetic Resource Institute. 19: 1-93.
- Campbell N. A., Reece J. B. 2006: *Biologie*. Computer Press, a.s. Brno. 769.
- Cobbett C., Goldsbrough P. 2002: Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annual Revue in Plant Biology*. 53:159–182.
- Cotton F. A., Wilkonson G. 1973: Anorganická chemie- souborné zpracování pro pokročilé. *Academia*. 512-527.
- Croteau R., Kutchan T. M., Lewis N. G. 2000: Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists. (24): 1250- 131.
- Dacheng W., Alfthan G., Antti A., Maekela A., Seppo K., Hammar T. 1995: The impact of selenium supplemented fertilization on selenium in lake ecosystems in Finland. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 54: 137- 148.
- De Boer A. H. 1999: Potassium translocation into the root xylem. *Plant Biology*. 1(1):36-45.
- De Temmerman L., Waegeneers N., Thiry C., Du Laing G., Tack F., Ruttens A. 2014: Selenium content of Belgian cultivated soils and its uptake by field crops and vegetables. *Science of Total Environment*. 468-469: 77-82.

- Dhillon K. S., Dhillon S. K., Dogra R. 2010: Selenium accumulation by forage and grain crops and volatilization from seleniferous soils amended with different organic materials. *Chemosphere*. 78: 548-556.
- Dhillon K. S., Dhillon S. K. 2003: Distribution and management of seleniferous soils. *Advances in Agronomy*. 79: 119-184.
- Dumont E., Vanhaecke F., Cornelis R. 2006: Selenium speciation from food source to metabolites: A critical review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 38: 1304–1323.
- Durán P., Acuna J. J., Gianfreda L., Azcón R., Funes- Collado V., Mmora M. L. 2015: Endophytic selenobacteria as new inocula for selenium biofortification. *Applied Soil Ecology*. 96: 319-326.
- Eiche E., Bardelli F., Nothstein A. K., Charlet L., Goettlicher J., Steininger R., Dhillon K. S., Sadana U. S. 2015: Selenium distribution and speciation in plant parts of wheat (*Triticum aestivum*) and Indian mustard (*Brassica juncea*) from a seleniferous area of Punjab, India. *Science of the Total Environment*. 505: 952-961.
- Ellis D. R., Salt D. E. 2003: Plants, selenium and human health. *Current Opinion in Plant Biology*. 6: 273–279.
- Feng R., Liao G., Guo J., Wang R., Xu Y., Ding Y., Mo L., Fan Z., Li N. 2016: Responses of root growth and antioxidative systems of paddy rice exposed to antimony and selenium. *Environmental and Experimental Botany*. 122: 29-38.
- Filek M., Gzyl-Malcher B., Zembala M., Bednarska E., Laggner P., Kriechbaum M. 2010: Effect of selenium on characteristics of rape chloroplasts modified by cadmium. *Journal of Plant Physiology*. 167: 28-33.
- Flury M., Frankenberger Jr. W. T., Jury W. A. 1997: Long- term depletion of selenium from Kesterson dewatered sediments. *The Science of Total Environment*. 198: 259-270.
- Freeman J. L., Quinn C. F., Marcus M. A., Fakra S., Pilon- Smits E. A. H. 2006: Selenium – tolerant diamondback moth disarms hyperaccumulator plant defense. *Current Biology*. 16: 2181- 2192.
- Galeas M. L., Zhang L. H., Freeman J. L., Wegner M., Pilon- Smits E. A. H. 2007: Seasonal fluctuations of selenium and sulfur accumulation in selenium hyperaccumulators and related nonaccumulators. *New Phytologist*. 173: 517–525.
- Gasecka M., Mleczek M., Siwulski M., Niedzielski P., Kozak L. 2015: The effect of selenium on phenolics and flavonoids in selected edible white rot fungi. *Food Science and Technology*. 63(1): 726-731.

- Germ M., Kreft I., Stibilj V., Urbanc-Berčič O. 2007: Combined effects of selenium and drought on photosynthesis and mitochondrial respiration in potato. *Plant Physiology and Biochemistry*. 45: 162- 167.
- Giocoechea N., Garmendia I., Fabbrin E. G., Bettoni M. M., Palop J. A., Sanmartín C. 2015: Selenium fertilization and mycorrhizal technology may interfere in enhancing bioactive compounds in edible tissues of lettuces. *Scientia Horticulturae*. 195: 163- 172.
- Gionfriddo E., Naccarato A., Sindona G., Tagarelli A. 2012: A reliable solid phase microextraction-gas chromatography– triple quadrupole mass spectrometry method for the assay of selenomethionine and selenomethylselenocysteine in aqueous extracts: Difference between selenized and not-enriched selenium potatoes. *Analytica Chimica Acta*. 747: 58-66.
- Girling C. A. 1984: Selenium in agriculture and the environment. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 11(1): 37-65.
- Greenwood N. N., Earnshaw A. 1993: *Chemie prvků. Svazek II. Informatorium Praha*. 923- 962.
- Gulpinar A. R., Orhan I. E., Kan A., Senol F. S., Celik S. A., Kartal M. 2012: Estimation of *in vitro* neuroprotective properties and quantification of rutin and fatty acids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) cultivated in Turkey. *Food Research International*. 46(2): 536-543.
- Hall J. A., Marwell A. M., Van Saud R. J., Vorachek W. R., Stewart W. C., Galbraith M. L., Hooper K. J., Hunter J. K., Mosher W.D., Pirelli G. J. 2011: Agronomic biofortification with selenium: Effects on whole blood selenium and humoral immunity in beef cattle. *Animal Feed Science and Technology*. 164: 184-190.
- Handa N., Bhardwaj R., Kaur H., Poonam, Kapoor D., Rattan A., Kaur S., Thukral A., K., Kaur S., Arora S., Kapoor N. 2016: Chapter 7 – Selenium: An antioxidative protectant in plants under stress. *Plant Metal Interaction*. 179-207.
- Harte J., Holdren Ch., Schneider R., Shirley Ch. 1991: *Toxic A to Z*. University of California Press, Berkeley.
- Hawrylak-Nowak B., Dresler S., Wojcik M. 2014: Selenium affects physiological parameters and phytochelatin accumulation in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants grown under cadmium exposure. *Scientia Horticulturae*. 172: 10-18.
- Hegedus O., Hegedusová A., Gašparík J., Ivičičová A. 2005: Hodnotenie metódy stanovenia selénu v zelenine atomovou absorpčnou spektrofotometriou s elektrotermickou atomizáciou a s generovaním hydridov. *Chemické listy*. 99: 518-524.

Hladun K. R., Parker D. R., Trumble J. T. 2011: Selenium accumulation in the floral tissues of two Brassicaceae species and its impact on floral traits and plant performance. *Environmental and Experimental Botany*. 74: 90-97.

Hlušek J, Jůzl M., Čepl J., Lošák T. 2005: Vliv přidávání sloučenin selenu do půdy na obsah sloučenin selenu v hlízách bramboru. *Chemické listy*. 99: 515-517.

Hrdina R., Fendrich Z., Hrdina V., Višňovský P., Vlček J. 1997: *Farmakologický slovník*. Maxdorf Jessenius. 98.

Cheng S. 2003: Effects of heavy metals on plants and resistance mechanisms. *Environmental Science and Pollution Research*. 10(4): 256- 264.

Cho Y. J., Bae I. Y., Inglett G. E., Lee S. 2014: Utilization of tartary buckwheat bran as a source of rutin and its effect on the rheological and antioxidant properties of wheat-based products. *Industrial Crops and Products*. 61: 211-216.

Chu J., Yao X., Zhang Z. 2010: Responses of wheat seedlings to exogenous selenium supply under cold stress. *Biological Trace Element Research*. 136(3): 355-363.

Ikedá N. E. A., Novak E. M., Maria D. A., Velosa A. S., Pereira R. M. S. 2015: Synthesis, characterization and biological evaluation of Rutin- zinc(II) flavonoid -metal complex. *Chemico-Biological Interactions*. 239: 184-191.

Internetová citace: <http://www.periodictable.com/Samples/034.5/s13.JPG>

Jahodář L. 2006: *Farmakobotanika semenné rostliny*. Karolinum. 64.

Janeš D., Kantar D., Kreft S., Prosen H. 2009: Identification of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) aroma compounds with GC- MS. *Food Chemistry*. 112(1): 120-124.

Jayaweera G. R., Biggar J. W. 1996: Role of redox potential in chemical transformations of selenium in soils. *Soil Science Society of America*. 60(4): 1056-1063.

Kafka Z., Punčochářová J. 2002: Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chemické listy*. 96: 611-617.

Khanam A., Platel K. 2016: Bioaccessibility of selenium, selenomethionine and selenocysteine from foods and influence of heat processing on the same. *Food Chemistry*. 194: 1293- 1299.

Kim S. - J., Zaidul J. S. M., Suzuki T., Makasa Y., Hashimoto N., Takigawa S., Noda T., Matsuura- Endo C., Yamauchi H. 2008: Comparison of phenolic compositions between common and tartary buckwheat (*Fagopyrum*) sprouts. *Food Chemistry*. 110(4): 814- 820.

- Kim S. - L., Kim S. - K., Park C. - H. 2004: Introduction and nutritional evaluation of buckwheat sprouts as a new vegetable. *Food Research International*. 37(4): 319-327.
- Kipp A. P., Strohm D., Brigelius- Flohé R., Schomburg L., Bechthold A., Leschik-Bonnet E., Hesecker H., German Nutrition Society 2015: Revised reference values for selenium intake. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 32: 195-199.
- Kitaguchi T., Ogra Y., Iwashita Y., Suzuki K. T. 2008: Speciation of selenium in selenium-enriched seeds, buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) and quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow). *European Food Research and Technology*. 227: 1455- 1460.
- Koda T., Kuroda Y., Imai H. 2008: Protective effect of rutin against spatial memory impairment induced by trimethyltin in rats. *Nutrition Research*. 28(9): 629-634
- Kokarnig S., Tsigotaki A., Wiesenhofer T., Lackner V., Francesconi K. A., Pergantis S. A., Kuehnelt D. 2015: Concurrent quantitative HPLC- mass spectrometry profiling of small selenium species in human serum and urine after ingestion of selenium supplements. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 29: 83-90.
- Králová M. 2008: Vliv genotypu na obsah rutinu v rostlinách rodu *Fagopyrum*. Č. Bud., bakalářská práce (Bc.). Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Zemědělská fakulta.
- Mrkošková B. 2011: Pohanka opět aktuální. Liečivé rastliny. (2)
- Mrkošková B., Mrázová Z. 2005: Prophylactic components of buckwheat. *Food Research International*. 38(5): 561- 568.
- Kvíčala J. 2003: Zvýšení příjmu mikronutrientu selenu- utopie, fikce, prozřetelnost či nutnost? - I. část. *Interní medicína pro praxi*. 6: 295- 300.
- Ličen M., Kreft I. 2005: Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) low molecular weight seed proteins are restricted to the embryo and are not detectable in the endosperm. *Plant Physiology and Biochemistry*. 43(9): 862-865.
- Liu Y., Brenan J. 2015: Partitioning of platinum- group elements (PGE) and chalcogens (Se, Te, As, Sb, Bi) between monosulfide- solid solution (MSS), intermediate solid solution (ISS) and sulfide liquid at controlled f_{O_2} - f_{S_2} . *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 159: 139- 161.
- Malik J. A., Goel S., Kaur N., Scharma S., Singh I., Nayyar H. 2012: Selenium antagonises the toxic effects of arsenic on mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.)

plants by restricting its uptake and enhancing the antioxidative and detoxification mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*. 77: 242-248.

Manara A. 2012: Plant response to heavy metal toxicity. Furini (ed.), *Plants and Heavy Metals*, SpringerBriefs in Biometals. (2) 27-53.

Marchner P. 2011: *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*, 3th edition. Academic Press.

Marschner H. 1995: *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press Limited. London.

Michalak A. 2006: Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*. 4: 523-530.

Mikulčák J., Klimeš B., Široký J., Šůla V., Zemánek F. 1989: *Matematické, fyzikální a chemické tabulky pro střední školy*. Státní pedagogické nakladatelství. 208.

Molan A. L., Flanagan J., Wei W., Moughan P. J. 2009: Selenium- containing green tea has higher antioxidant and prebiotic activities than regular green tea. *Food Chemistry*. 114(3): 829-835.

Moravcová Š., Fiedlerová V., Tůma J., Musil K., Tůmová L. 2013: Effect of selected pyrazine derivatives on the production of phenolics and rutin in *Urtica dioica* and *Fagopyrum esculentum*. *Natural Product Communications*. 11(4): 457- 460.

Morgan J. F., Klucas R. V., Grayer R. J., Abian J., Becana M. 1997: Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissues: prooxidant and antioxidant properties. *Free Radical Biology & Medicine*. 22:861.

Moudrý J., Kalinová J., Jiří P., Michalová A. 2005: *Pohanka a proso*. ÚZPI. Praha. 206.

Mounicou S., Vonderheide A. P., Shann J. R., Caruso J. A. 2006: Comparing a selenium accumulator plant (*Brassica juncea*) to a nonaccumulator plant (*Helianthus annuus*) to investigate selenium-containing proteins. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 386: 1367-1378.

Murray M., Pizzorno J., Pizzorno L. 2005: *The Encyclopedia of Healing Foods*. Atria Books. 345.

Musil D. 2003: Chronická žilní insuficience- současný stav poznání. *Interní medicína pro praxi*. 6: 270-276.

Navarro- Alarcón M. 2008: Selenium in food and in human body: A review. *Science of Total Environment*. 400: 115-141.

- Navarro-Alarcón M., López-Martínez M. C. 2000: Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. *Science of Total Environment*. 249(1-3): 347-371.
- Nordberg G. F., Fowler B. A., Nordberg M. 2015: *Handbook on the Toxicology of Metals (Fourth Edition)*. 2: 1175-1208.
- Ožbolt L., Kreft S., Kreft I., Germ M., Stibilj V. 2008: Distribution of selenium and phenolics in buckwheat plants grown from seeds soaked in Se solution and under different levels of UV-B radiation. *Food Chemistry*. 110: 691-696.
- Paola A., Pierre B., Vincenza C., Vincenzo D. M., Bruce V. 2016: Short term clay mineral release and re-capture of potassium in a *Zea mays* field experiment. *Geoderma*. 264(A): 54-60.
- Paulíčková I., Adámek L. s. a.: Využití pohankové natě jako přírodního zdroje rutinu. Poster. Praha, výzkumný ústav potravinářský Praha.
- Penglase S., Hamre K., Ellingsen S. 2014: Selenium and mercury have a synergistic negative effect on fishreproduction. *Aquatic Toxicology*. 149: 16-24.
- Pieczynska J., Grajeta H. 2015: The role of selenium in human conception and pregnancy. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 29: 31-38.
- Procházka S., Macháčková I., Krekule J., Šebánek J., et kol. 1998: *Fyziologie rostlin*. Academia Praha. 106- 107.
- Proietti P., Nasin L., Del Buono D., D'Amato R., Tedeschini E., Businelli D. 2013: Selenium protects olive (*Olea europaea* L.) from drought stress. *Scientia Horticulturae*. 164: 165-171.
- Queffurus M., Barnes S. - J. 2015: A review to sulfur to selenium ratios in magmatic nickel-copper and platinum-group element deposits. *Ore Geology Reviews*. 69: 301-324.
- Rahman M. M., Erskine W., Zaman M. S., Thavarajah D., Siddique K. H. M. 2013: Selenium biofortification in lentil (*Lens culinaris* Medikus subsp. *culinaris*): Farmers' field survey and genotype × environment effect. *Food Research International*. 54: 1596- 1604.
- Rayman M. P., Infante H. C., Sargent M. 2008: Food-chain selenium and human helath: spotlight on speciation. *British Journal of Nutrition*. 100: 238-253.
- Reyna- Llorens I., Corrales I., Poschenrieder C., Barcelo J., Cruz-Ortega R. 2015: Both aluminium and ABA induce the expression of an ABC- like transporter gene (FeALS3) in the Al- tolerant species *Fagopyrum esculentum*. *Environmental and Experimental Botany*. 111: 74-82.

- Ricachenevsky F. K., Menguer P. K., Sperotto R. A., Williams L. E., Fett J. P. 2013: Roles of plant metal tolerance proteins (MTP) in metal storage and potential use in biofortification strategies. *Frontiers in Plant Science*. 4: 144.
- Sgherri C., Cosi E., Navari- Izzo F. 2003: Phenols and antioxidative status of *Raphanus sativus* grown in copper excess. *Physiologia Plantarum*. 118(1): 21-28.
- Shrift A., Virupasha T. K. 1963: Biosynthesis of Se- methylselenocysteine from selenite in selenium-accumulating plants. *Biochimica et Biophysica Acta*. 71: 483-485.
- Shrift A., Virupaksha T. K. 1965: Seleno- amino acids in selenium- accumulating plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- General Subjects*. 100(1): 65-75.
- Schauer T. 2008: Svět rostlin. Rebo productions CZ. 356.
- Schiavon M., Moro I., Pillon- Smits E. A. H., Matozzo V., Malagoli M., Vecchia F. D 2012: Accumulation of selenium in *Ulva sp.* and effects on morphology, ultrastructure and antioxidant enzymes and metabolites. *Aquatic Toxicology*. 122-123: 222- 231.
- Schnitzer M., Khan S. U. 1977: Trace elements in soils. *Developments in Soil Science*. (7): 69- 71 p.
- Singh Rr., Gautan N., Mishra A., Gupta R. 2011: Heavy metals and living systems: An overview. *Indian Journal of Pharmacology*. 43: 246-253.
- Sinha S., Sinam G., Mishra R. K., Mallick S. 2010: Metal accumulation, growth, antioxidants and oil yield of *Brassica juncea* L. exposed to different metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73: 1352–1361.
- Solovyev N. D. 2015: Importance of selenium and selenoprotein for brain function: From antioxidant protection to neuronal signalling. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 153: 1-2.
- Souza G. A., Hart J. J., Carvalho J. C., Rutzke M. A., Albrecht J. C., Guilherme L. R. G., Kochian L. V., Li L. 2014: Genotypic variation of zinc and selenium concentration in grains of Brazilian wheat lines. *Plant Science*. 224: 27-35.
- Spencer J. P. E. 2010: Beyond antioxidants: the cellular and molecular interactions of flavonoids and how these underpin their actions on the brain. *Proceedings of the Nutrition Society*. 69: 244-260.
- Stückler R., Windisch W., Fuchs K., Strimitzer T., Schmid I., Lindschinger M. 2008: Selenkonzentrationen im Blutplasma gesunder Probanden unterschiedlichen Alters und Geschlechts aus der Steiermark im Zeitraum von 2001 bis 2006. *Nutrition*. 32(9): 364- 378.

- Šeda M., Švehla J., Trávníček J., Kroupová V., Fiala K., Svozilová M. 2011: Optimalizace stanovení stopových koncentrací jodu v povrchových vodách metodou ICP- MS. *Chemické listy*. 105: 538-541.
- Šimánek V., Vostálová J., Holčapek M., Ulrichová J. 2012: Bioaktivní složky potravy v primární a sekundární prevenci některých chronických onemocnění. *Chemické listy*. 106: 568-570.
- Tan J., Zhu W., Wang W., Li R., Hou S., Wang D., Yang L. 2002: Selenium in soil and endemic diseases in China. *The Science of Total Environment*. 284: 227-235.
- Terry N., Zayed A. M., De Souza M. P., Tarun A. S. 2000: Selenium in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 51: 401-432.
- Thiry C., Ruttens A., De Temmerman L., Schneider Y. -J., Pussemier L. 2012: Current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food. *Food Chemistry*. 130(4): 767–784.
- Thomson C.D. 2004: Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. *European Journal of Clinical Nutrition*. 58(3):391–402.
- Trna J., Táborská E. s. a.: Přírodní polyfenolové antioxidanty. (www.med.muni.cz/biochem/seminare/prirantiox.rtf)
- Tůma J., Skalický M. 2001: Magnesium content in individual parts of *Avena sativa* L. plant as related to magnesium nutrition. *Rostlinná Výroba*. 47(10): 440-443.
- Tůma J., Skalický M., Tůmová L., Bláhová P., Rosůlková M. 2004: Potassium, magnesium and calcium content in individual parts of *Phaseolus vulgaris* L. plant as related to potassium and magnesium nutrition. *Plant Soil Environment*. 50(1):18-25.
- Tůma J., Tůmova L. 1998: Fyziologie rostlin. *Gaudeamus*. 177.
- Tůmová L., Píchová M., Dušek J. 2007: *Fagopyrum esculentum in vitro*. Česká a slovenská farmacie. 56(3): 125-128.
- Ursínyová M., Hladíková V. 1998: Stanovenie selénu v sére metódou atómovej absorpčnej spektrometrie s elektrotermickou atomizáciou. *Chemické listy*. 92: 495- 498.
- Větvička V., Václav E. 2009: Mahagon, měsíček a špenát- exotické rostliny v našem životě. *Akcent Třebíč*. 16.
- Vogrincic M., Cuderman P., Kreft I., Stibilij V. 2009: Selenium and its species distribution in above- ground plant parts of selenium enriched buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Analytical Sciences*. 25(11): 1357- 63.

- Wang Z., Gao Y. 2001: Biochemical cycling of selenium in Chinese environment. *Applied Geochemistry*. 16: 1345-1351.
- Waska H., Kim S., Kim G., Kang M. R., Kim G. B. 2008: Distribution patterns of chalcogens (S, Se, Te, and ^{210}Po) in various tissues of a squid, *Todarodes pacificus*. *Science of Total Environment*. 392(2-3): 218-224.
- Winkel L. H. E., Vriens B., Jones G. D., Schneider L. S., Pilon-Smits E., Banuelos G. S. 2015: Selenium cycling across soil-plant-atmosphere interfaces: A critical review. *Nutrients*. 7: 4199-4239.
- Yang J., Guo J., Yuan J. 2008: In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT- Food Sciences and Technology*. 41(6): 1060-1066
- Yao X., Chu J., He X., Ba C. 2011: Protective role of selenium in wheat seedlings subjected to enhanced UV-B radiation. *Russian Journal of Physiology*. 58(2): 283-289.
- Yasin M., El Mehdawi A. F., Jahn C. E., Anwar A., Turner M. F. S., Faisal M., Pilon-Smits E. A. H. 2014: Seleniferous soils as a source for production of selenium-enriched foods and potential of bacteria to enhance plant selenium uptake. *Plant and Soil*. 386: 385-394.
- Zheng J., Ohata M., Furuta N., Kosmus W. 2000: Speciation of selenium compounds with ion-pair reversed-phase liquid chromatography using inductively coupled plasma mass spectrometry as element-specific detection. *Journal of Chromatography A*. 874(1): 55-64.
- Zhu J., Zheng B. 2001: Distribution of selenium in a mini-landscape of Yutangbha Enshi, Hubei Province, China. *Applied Geochemistry*. 16: 1333-1344.
- Zhu J., Zuo W., Liang X., Li S., Zheng B. 2004: Occurrence of native selenium in Yutangbha and its environmental implications. *Applied Geochemistry*. 19(3): 461-467.
- Zimmerman M. T., Bayse C. A., Ramoutar R. R., Brumaghim J. L. 2015: Sulfur and selenium antioxidants: Challenging radical scavenging mechanisms and developing structure-activity relationships based on metal binding. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 145: 30-40.
- Zoerb Ch., Senbayram M., Peiter E. 2013: Potassium in agriculture- Status and perspectives. *Journal of Plant Physiology*. 171(9): 656-669.
- Zornoza P., Vasquez S., Esteban E., Fernandez-Pascual M., Carpena R. 2002: Cadmium-stress in nodulated white lupin: strategies to avoid toxicity. *Plant Physiology & Biochemistry*. 40: 1003.

Fotografická příloha

Sazenice pohanky (17. 6. 2013) -7. den po přesazení do kyblíků a po aplikaci roztoku selenu



Obrázek 26: Sazenice pohanky (17. 6. 2013), varianta 10,0 Se



Obrázek 27: Sazenice pohanky (17. 6. 2013), varianta 2,0 Se



Obrázek 28: Sazenice pohanky (17. 6. 2013), varianta 0,2 Se



Obrázek 29: Sazenice pohanky (17. 6. 2013), kontrolní varianta bez selenu

Rostliny pohanky (27. 6. 2013)



Obrázek 30: Rostliny pohanky (27. 6. 2013), varianta 10,0 Se



Obrázek 31: Rostliny pohanky (27. 6. 2013), varianta 2,0 Se



Obrázek 32: Rostliny pohanky (27. 6. 2013), varianta 0,2 Se



Obrázek 33: Rostliny pohanky (27. 6. 2013), kontrolní varianta bez selenu

Rostliny pohanky (7. 7. 2013)



Obrázek 34: Rostliny pohanky (7. 7. 2013), varianta 10,0 Se



Obrázek 35: Rostliny pohanky (7. 7. 2013), varianta 2,0 Se



Obrázek 36: Rostliny pohanky (7. 7. 2013), varianta 0,2 Se



Obrázek 37: Rostliny pohanky (7. 7. 2013), kontrolní varianta bez selenu