

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra botaniky a fyziologie rostlin**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv acetaminofenu na klíčení a růst *Pisum sativum***

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Kristýna Janušková**

**Obor studia: Zahradnictví (HORTIM)**

**Vedoucí práce: Ing. Helena Hniličková, Ph.D.**

© 2022 ČZU v Praze

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv acetaminofenu na klíčení a růst *Pisum sativum*" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13. dubna 2022

---

## **Poděkování**

Mé poděkování patří paní Ing. Heleně Hniličkové, Ph.D. za vstřícnost, cenné rady, věcné připomínky a čas, který mi věnovala svým odborným vedením při zpracování této práce. Děkuji také členům Katedry botaniky a fyziologie rostlin za možnost zde zpracovávat svou praktickou část diplomové práce. Především děkuji panu PharmDr. Janu Kubešovi, Ph.D. za ochotu a častou pomoc během experimentů. V neposlední řadě patří velké díky mé rodině za jejich trpělivost a stálou podporu v průběhu psaní diplomové práce a při mém vysokoškolském studiu.

# Vliv acetaminofenu na klíčení a růst *Pisum sativum*

## Souhrn

Cílem diplomové práce bylo vyhodnotit vliv stresů (antropogenní zátěže a sucha) na klíčení a růst hrachu setého (*Pisum sativum*). Záměrem bylo objasnit hypotézu o jejich negativním působení na klíčení a fyziologický stav rostlin. Dále se měla vysvětlit hypotéza o zintenzivnění negativního vlivu při kombinaci těchto dvou stresorů. Základním předpokladem bylo, že semena klíčící v nepříznivých enviromentálních podmínkách budou mít nižší klíčivost, pomalejší klíčení a nižší hodnoty sledovaných vlastností.

Experimentální část probíhala v laboratořích na České zemědělské univerzitě v Praze. Antropogenní znečištění bylo v podobě acetaminofenu (paracetamolu) v koncentracích 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 a 1 g/l. Vodního deficitu bylo dosaženo pomocí polyethylene glycolu (PEG 6000) v koncentracích 7,5; 15; 22,5; 30; 37,5 a 45 mM. Pro kontrolu sloužila varianta s H<sub>2</sub>O. Klíčení probíhalo v Petriho miskách vyložených filtračním papírem při optimálních podmínkách (konstantní teplota 25 °C a vlhkost 60 %). Pracovalo se s 17 variantami: H<sub>2</sub>O; 0,2 g/l APAP; 0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP. V pokusu byla sledována klíčivost, energie klíčení, rychlost klíčení a růstové parametry klíčících semen.

Z výzkumu vyplývá, že acetaminofen i PEG negativně ovlivňovaly klíčení semen a inhibovaly růst sazenic. Se zvyšující se koncentrací se umocňovalo působení stresů a zhoršovali se sledované parametry. Základní předpoklad i obě hypotézy byly potvrzeny.

Znečištění a stresy jsou celosvětovým problémem, které vedou ke značným problémům s pěstováním plodin. Je proto nutné se jimi zabývat a hledat způsoby ke snížení dopadů nepříznivého prostředí.

**Klíčová slova:** acetaminofen, paracetamol, antropogenní stres, léčiva, klíčení, růst, hrách

# Effect of acetaminophen on germination and growth *Pisum sativum*

## Summary

The diploma thesis aimed to evaluate the effect of stressors (anthropogenic stress and drought) on the germination and growth of peas (*Pisum sativum*). The intention was to clarify the hypothesis of their negative effect on germination and the physiological condition of the plants. Furthermore had to be explained the hypothesis of intensifying the negative effect of the combination of those two stressors. The basic premise was that seeds germinating in unfavorable environmental conditions will have lower germination, slower germination, and lower values of the observed properties.

The experimental part took place in laboratories at the Czech University of Life Sciences in Prague. Anthropogenic pollution was in the form of acetaminophen (paracetamol) at concentrations of 0.2; 0.4; 0.6; 0.8 and 1 g/l. The water deficit was achieved with polyethylene glycol (PEG 6000) at concentrations of 7.5; 15; 22.5; 30; 37.5 and 45 mM. There was H<sub>2</sub>O variant was used for control. Germination took place in Petri dishes lined with filter paper and under optimal conditions (constant temperature 25 °C and humidity 60 %). There were 17 variants: H<sub>2</sub>O; 0,2 g/l APAP; 0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP. Germination, germination energy, germination rate and growth parameters of germinating seeds were monitored in the experiment.

Research shows that both acetaminophen and PEG negatively affected seed germination and inhibited seedling growth. The monitored parameters deteriorated with increasing concentration and the effect of stress intensified. The basic premise and both hypotheses were confirmed.

Pollution and stressors are global problems that lead to significant crop cultivation problems. Therefore it is necessary to be concerned about them and look for the ways to reduce the impact of adverse environment.

**Keywords:** acetaminophen, paracetamol, anthropogenic stressors, pharmaceuticals, germination, growth, peas

# Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>8</b>
<b>2 Vědecká hypotéza a cíle práce .....</b>	<b>9</b>
<b>3 Literární rešerše.....</b>	<b>10</b>
<b>3.1 <i>Pisum sativum</i> .....</b>	<b>10</b>
3.1.1 Zařazení .....	10
3.1.2 Popis rostliny a semen .....	11
3.1.3 Původ .....	13
3.1.4 Pěstování.....	13
3.1.5 Význam a využití.....	14
3.1.6 Nutriční složení.....	15
<b>3.2 Semena .....</b>	<b>16</b>
<b>3.3 Dormance.....</b>	<b>17</b>
<b>3.4 Klíčení .....</b>	<b>18</b>
3.4.1 Typy klíčení .....	18
3.4.2 Faktory ovlivňující klíčení.....	19
<b>3.5 Stres.....</b>	<b>20</b>
3.5.1 Charakteristika nejdůležitějších abiotických faktorů.....	21
3.5.1.1 Vodní deficit.....	22
3.5.1.2 Anoxie .....	22
3.5.1.3 Extrémní teploty .....	23
3.5.1.4 Zasolení .....	23
3.5.1.5 Xenobiotika .....	24
<b>3.6 Antropogenní znečištění .....</b>	<b>25</b>
3.6.1 Druhy znečištění .....	25
3.6.1.1 Znečištění ovzduší.....	26
3.6.1.2 Znečištění vody .....	27
3.6.1.3 Kontaminace půdy.....	28
3.6.2 Léčiva v půdě a ve vodě .....	28
<b>3.7 Acetaminofen.....</b>	<b>30</b>
<b>4 Metodika .....</b>	<b>32</b>
<b>4.1 Materiály, roztoky a pomůcky .....</b>	<b>33</b>
4.1.1 Materiály.....	33
4.1.2 Roztoky.....	33
4.1.3 Pomůcky .....	34

<b>4.2</b>	<b>Postup experimentu .....</b>	<b>35</b>
4.2.1	Dezinfekce .....	35
4.2.2	Příprava roztoků.....	35
4.2.3	Příprava experimentu .....	35
4.2.4	Měření, vážení a sušení.....	36
<b>4.3</b>	<b>Testy klíčivosti .....</b>	<b>37</b>
4.3.1	Klíčivost.....	37
4.3.2	Energie klíčení .....	37
4.3.3	Rychlost klíčení .....	37
<b>4.4</b>	<b>Statistické vyhodnocení .....</b>	<b>38</b>
<b>5</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>39</b>
5.1	Parametry klíčivosti.....	39
5.2	Délka radikuly a hypokotylu.....	41
5.3	Hmotnost radikuly a hypokotylu.....	45
<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>51</b>
6.1	Zatížení a stresy.....	51
6.1.1	Antropogenní znečištění .....	52
6.1.2	Vodní deficit .....	53
6.2	Shrnutí.....	54
<b>7</b>	<b>Závěr.....</b>	<b>56</b>
<b>8</b>	<b>Literatura.....</b>	<b>57</b>
<b>9</b>	<b>Seznam použitých obrázků a tabulek.....</b>	<b>62</b>
9.1	Obrázky.....	62
9.2	Tabulky .....	62
<b>10</b>	<b>Samostatné přílohy.....</b>	<b>I</b>

# 1 Úvod

Rostliny se vyskytují na všech místech, které jsou přinejmenším parciálně teplotně, světelně a vlhkostně příznivé. Extrémní životní podmínky, jako jsou nadměrně vysoké či nízké teploty, radikální sucho a absolutní deficit světla, znemožňují rostlinám žít (Novák 1981). Aroca et al. (2012) uvádějí, že kvůli svému přisedlému růstu jsou rostliny v těsném spojení se svým prostředím, a proto musí umět reagovat na různé fyzikální, chemické a mechanické vlivy životního prostředí a přizpůsobovat se mu růstem a vývojem.

Semena slouží jako nástroj ke generativnímu (pohlavnímu) rozmnožování, vyhýbání se stresu a jako zdroj výživy lidí i zvířat. Jedná se o mnohobuněčné orgány s rozmanitým vzhledem a obsahem látek. Složená jsou z osemení, perispermu, endospermu a embrya. Embryo (zárodek) se skládá z radikuly, hypokotylu, vzrostného vrcholu a jedné či více děloh. Ocitne-li se semeno v prostředí s vhodnými podmínkami, může začít klíčit. U rostlin rozlišujeme dva hlavní typy klíčení semen: epigeické (nadzemní) a hypogeické (podzemní). Podle Hodge (2014) se musí pro zahájení procesu klíčení naplnit tři primární podmínky: životaschopnost zárodku, ustání dormance a panování optimálních podmínek prostředí. Mezi hlavní činitele ovlivňující klíčení patří faktory vnitřní (fytohormony) a vnější (voda, teplota, světlo či tma a kyslík).

Rostliny mohou být v průběhu klíčení semen negativně ovlivňovány rozličnými stresovými vlivy. Stres je nepříznivý stav způsobený faktory prostředí, které výrazně nedosahují optimálních podmínek a v krajním případě mohou zapříčinit úhyn rostliny. To, jaký bude mít stresová reakce průběh a konečný výsledek ovlivňuje její intenzita, délka působení, rychlost příchodu stresu, genetické předpoklady rostliny a orgánu tomuto stresu vystavenému (Procházka et al. 1998). Stresové faktory se dělí na biotické (vlivy živé přírody) a abiotické (vlivy neživé přírody). Z abiotických faktorů je nejpodstatnější sucho, zasolení, extrémní teploty, oxidativní stres a xenobiotika. Dalším stresujícím faktorem může být i antropogenní znečištění, způsobované činností člověka. Mezi nejvýznamnější antropogenní zdroje patří: spalování paliv, doprava, průmysl (léčiva), těžba, elektrárny a skládky (Peštová 2019).

Stresy a znečištění jsou globální problémy a je proto nutné studovat, jakým způsobem působí na rostliny, a snažit se najít možnosti pozitivního ovlivnění jejich odolnosti. Sucho je v současné době hlavním abiotickým faktorem, ovlivňujícím výnos zemědělských plodin nejen v České republice, ale po celém světě. Antropogenní znečištění životního prostředí je celosvětový problém, který ovlivňuje hydrosféru, atmosféru, biosféru i pedosféru (Bradford 2018). Činností člověka se může ve formě léčiv dostávat jak do vody, tak do půdy. Se zvyšujícím se užíváním lidských a veterinárních farmaceutik se toto téma stává velmi aktuálním. Z toho důvodu se léčivy a vodním stresem tato diplomová práce zabývá. Jako modelová rostlina byl pro experimentální činnost zvolen hrách setý (*Pisum sativum*) z čeledi *Fabaceae*. Na této jednoleté hypogeicky klíčící rostlině se zkoumaly účinky acetaminofenu (paracetamolu) a deficitu vody navozeného prostřednictvím PEG 6000. U semen byla testována klíčivost (SG), energie klíčení (GE), rychlost klíčení (GS) a další měřená kritéria související s délkou a hmotností radikuly či hypokotylu.



## 2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem této diplomové práce bylo zjistit, jak ovlivní působení antropogenního znečištění klíčení semen hrachu setého (*Pisum sativum*). Sledován a vyhodnocován byl vliv léčiv, konkrétně acetaminofenu, a abiotický stres sucha, kterého bylo docíleno pomocí PEG 6000. Hypotézou experimentu bylo, že antropogenní zátěž i vodní deficit negativně ovlivní klíčení a fyziologický stav rostlin. Zkoumán byl i vliv na klíčení semen, pokud byla vystavena suchu i léčivu najednou. Zde byla hypotéza stanovena, že spojení antropogenní zátěže s deficitem vody bude mít větší negativní vliv na klíčení a fyziologický stav rostlin. Základní předpoklad byl, že semena klíčící v nepříznivých enviromentálních podmínkách budou mít oslabenou klíčivost, pomalejší klíčení a nižší hodnoty sledovaných parametrů.

Měřenými kritérii byly klíčivost semen (SG), energie klíčení (GE), rychlost klíčení (GS), délka radikuly a hypokotylu, hmotnost čerstvé hmoty (FW) radikuly a hypokotylu, hmotnost sušiny (DW) radikuly a hypokotylu, poměr hmotnosti čerstvé hmoty radikuly a hypokotylu, poměr hmotnosti sušiny radikuly a hypokotylu.

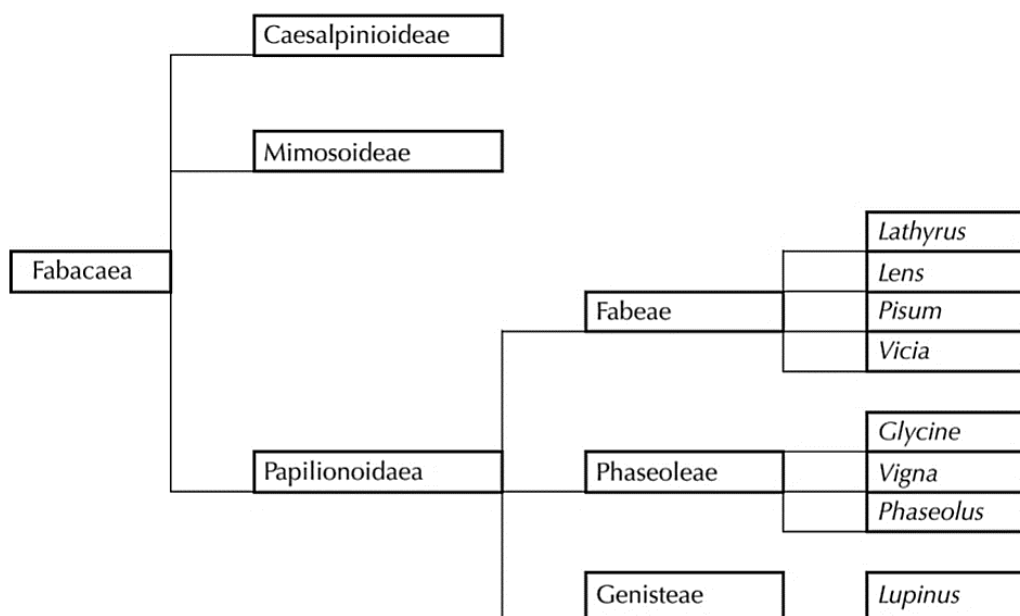
### 3 Literární rešerše

#### 3.1 *Pisum sativum*

Hrách setý (*Pisum sativum*) je letnička pěstovaná v mírném podnebním pásu. Její semena mohou být sklizena v nezralém stavu jako celé lusky nebo jako nezralý hrášek bez lusků (konzum v čerstvém stavu, mražený nebo konzervovaný), či pak sklízena v suchém stavu jako hrách (skladování či jako osivo). Celé rostliny lze použít jako píce nebo silážované ke krmení zvířat (Biddle 2017).

##### 3.1.1 Zařazení

*Pisum sativum* je jednoletá luskovina z čeledi bobovité (*Fabaceae*), která je třetí největší čeledí kvetoucích rostlin, zahrnující rostliny od vysokých stromů, lián až po byliny přiléhající k půdě. *Fabaceae* rozčleňujeme na tři hlavní podčeledi: *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* a *Papilionoideae*. Podčeleď *Papilionoideae* (též *Faboideae*) je největší skupina, která obsahuje více než 650 rodů a téměř 19 000 druhů. Z Obr. 1 je patrné, že ji dělíme na tři linie (*Phascoleae*, *Genisteae* a *Fabeae*), které se člení na několik skupin obsahující pěstované plodiny. *Phascoleae* zahrnuje sójové boby (*Glycine max*), fazol (*Phaseolus*) a vignonu čínskou (*Vigna unguiculata*). Do *Genisteae* řadíme pouze lupinu (*Lupinus*). *Fabeae* obsahuje takzvané luskoviny, které zahrnují hrách (*Pisum sativum*) a fazole faba (*Vicia faba*), čočku (*Lens spp.*) a hrachor sladký (*Lathyrus spp.*) (Biddle 2017). Všechny jmenované rody se dále rozlišují na řadu druhů, poddruhů, odrůd, pěstitelských forem a variet s různým použitím a uplatněním. Botanický druh *Pisum sativum* L. zahrnuje minimálně 42 kombinací poddruhů (subspecie) a variet (Houba et al. 2009). Rod *Pisum* obsahuje divoký druh *P. fulvum*, kulturní druh *P. abyssinicum* a velký agregát divokých a užitkových forem druhu *P. sativum* (Smýkal et al. 2012).



Obr. 1: Klasifikace čeledi *Fabaceae* (upraveno podle: Biddle 2017)

*Pisum fulvum* se vyskytuje jen jako planá forma, která se hospodářsky moc nevyužívá, ale je podstatná při šlechtění jako zdroj rezistence k houbovým chorobám (Houba et al. 2009).

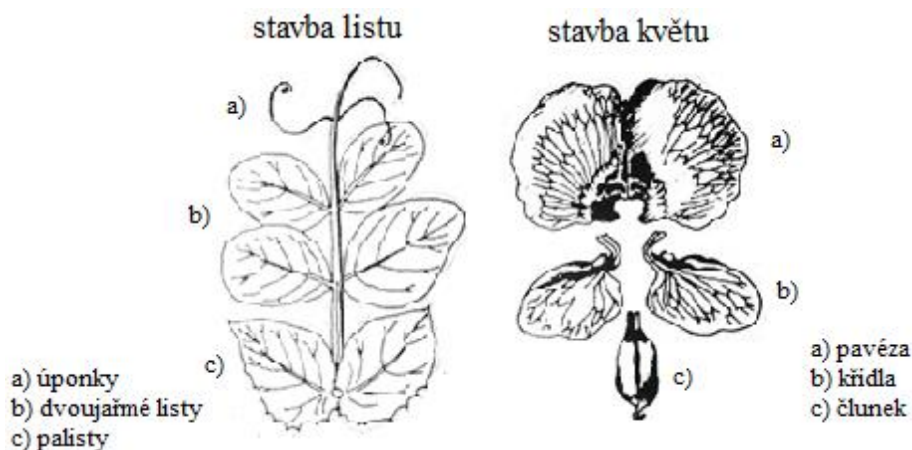
*Pisum sativum* L. lze dále členit na poddruhy *Pisum sativum* subsp. *sativum* (hrách setý – polní) a *Pisum sativum* subsp. *arvense* syn. *P. arvense* (hrách rolní – peluška). Subspecie *sativum* zahrnuje 3 variety: *sativum* (hrách setý polní), *madullare* (hrách dřevňový) a *sacchratum* (hrách cukrový). Pro *Pisum sativum* var. *madullare* se může najít v některé literatuře i synonymum *Pisum sativum* subsp. *hortense* (hrách setý zahradní) (Houba et al. 2009).

### 3.1.2 Popis rostliny a semen

Hrách má délku vegetační doby 105–115 dnů (Hosnedl & Hochman 1994). Jedná se o dlouhodobnou rostlinu, která vzchází hypogeicky (dělohy zůstávají v půdě a na povrch vyrůstá hákovitě zahnutý epikotyl a první pravé listy) (Petr et al. 1974). Kořen má slabší kulový, silně větvený, který proniká středně hluboko (Lahola et al. 1990). Lodyha může být vystoupavá, na bázi poléhající s generativními částmi rostliny vzpřímenými (intermediální odrůdy hrachu) nebo dlouhá, málo pevná a poléhavá (peluška) (Houba et al. 2009). Většinou má tato bylina poléhavý habitus s lodyhou vysokou do 1–1,5 m (Jelínková 2021). Délkou lodyhy se ale některé odrůdy mohou lišit, zakrslé formy mohou mít jen 200 mm, zato ty nejvyšší formy dosahují i více než 2 000 mm. Lodyha je zpravidla lysá, dělená uzlinami (nody) a články (internodia) a na průřezu je nezřetelně hranatá (Obr. 2). Větvená je slabě až středně (Lahola et al. 1990). Na Obr. 3 je znázorněna stavba listu, který je složený sudozpeřený (až 3 páry lístků) se zpeřenou žilnatinou a zahrnující úponky a velké palisty (Jelínková 2021). Listy jsou tvarem vejčité, oválné, celokrajné, pilovité, nepravidelně zubaté, s tupým, ostrým nebo uťatým zakončením. Palisty se nacházejí v úžlabí listového řapíku a mají polosrdčitý, srdčitý nebo čárkovitý tvar (Lahola et al. 1990). Již se vyšlechtil typ hrachu semi-leafless, zvaný též úponkový či bezlistý hrách, u kterého mají rostliny redukovanou listovou plochu (Houba et al. 2009).



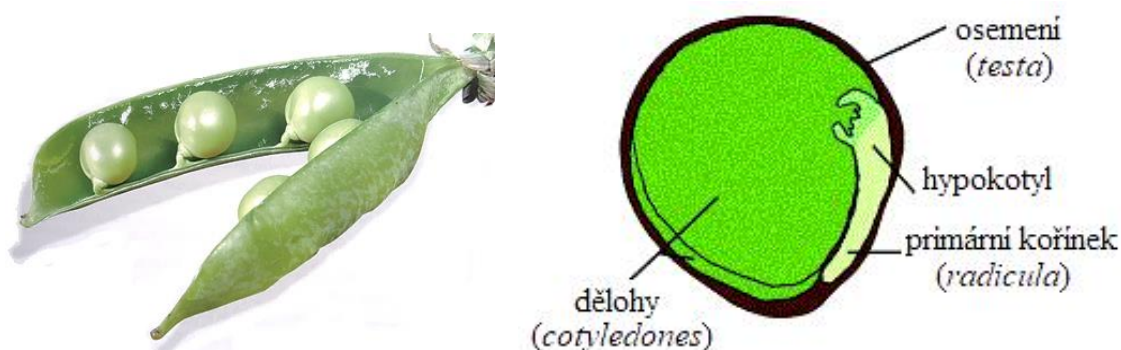
Obr. 2: Rostlina hrachu setého (upraveno podle: Biddle & Cattlin 2007)



Obr. 3: Stavba listu a květu hrachu setého (upraveno podle: Lahola et al. 1990)

Hrách je samosprašný a kvete postupně odspodu nahoru. Květ má souměrný pětičetný složený z pěticípého kalichu a velké koruny s 10 tyčinkami (Lahola et al. 1990). Jedná se o typický motýlovitý květ, složený z pavézy, dvou křídel a dvou spodních plátků částečně srostlý v člunek (Obr. 3). Kvete bílými či fialovými květy od května do září (Jelínková 2021). Většina variet hrachu kvete bíle, výjimkou je var. *saccharatum*, která má květy barevné (Houba et al. 2009).

Plod je lusk se dvěma chloupěmi, ke kterým jsou přisedlá semena – hrášky (Tyrolová 2012). Lusk je 40–90 mm dlouhý a 11–18 mm široký. Tvar je rovný nebo prohnutý s tupým či ostrým zakončením. Z Obr. 4 je patrné, že jsou hrášky ve dvou řadách přirostlá poutkem (*funiculus*) a jejich počet se pohybuje od 3 do 11 semen (Lahola et al. 1990). Celkový počet semen na rostlině se odvíjí od počtu vyvinutých plodů a počtu semen v lusku (Petr et al. 1974). Semena mohou mít zbarvení olivově zelené, žluté, béžové či bílé (Jablonský 2005). Jejich barva je dána barvou osemení, barvou děloh a přítomností či nepřítomností vzduchové mezivrstvy mezi osemením a dělohami (Petr et al. 1974). U pěstitelů převládají odrůdy žlutosemenné. Povrch suchých semen může být hladký (*Pisum sativum* var. *sativum*) či svařštělý (*Pisum sativum* var. *madullare*) (Houba et al. 2009). Semena bývají kulovitá či oválná, na povrchu hladká či s dolíčky (Lahola et al. 1990).



Obr. 4: Semena hrachu setého v lusku (upraveno podle: Houba et al. 2009)

Obr. 5: Morfologie semene hrachu setého (upraveno podle: Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006)

Z Obr. 5 je patrné, že zralé semeno hrachu obsahuje osemení (*testa*), dělohy (*cotyledones*), primární kořen (*radicula*) a podděložní stonkový článek (*hypokotyl*) (Černohorský 1967). U hrachu připadá 90–93 % sušiny semene dělohám, 6–8,4 % osemení a pouhých 0,9–1,3 % na klíček (Houba et al. 2009). Yalçın et al. (2007) uvádějí, že semena hrachu mají při obsahu vlhkosti 10,06 % hmotnost tisíce semen 177,7 g, průměrnou délku 7,80 mm, průměrnou šířku 6,41 mm a průměrnou tloušťku 5,55 mm. Hmotnost tisíce semen (HTS) hrachu se pohybuje od 200 do 220 g (Jablonský 2005). Hosnedl a Hochman (1994) uvádějí dokonce rozmezí od 200 do 320 g, neboť se velikost semen u odrůd značně liší a může se lišit i v rámci jedné odrůdy dle podmínek dozrávání.

### 3.1.3 Původ

Hrách je znám již od starověku a je jednou z nejstarších kulturních plodin. Pochází pravděpodobně z Etiopie a Afghánistánu, odkud se rozšířil do dalších částí Evropy a Asie (Cousin 1997). Historie jeho pěstování prokázane sahá do období tisíce let před našim letopočtem. V Egyptě byl nalezen hrách z roku 4800 až 4400 př. n. l. a v Gruzii z 5. století př. n. l. (Tyrolová 2012). Hrách znali jak Řekové, tak Římané a vůbec poprvé byla o něm dochovaná zmínka v Anglii po ovládnutí Anglie Normany (1066 n. l.) (Biddle & Cattlin 2007; Biddle 2017). Hrách byl po mnoho staletí pěstován jako lidské jídlo a důležitý zdroj krmiva pro zvířata. Byl kultivován po tisíciletí, pravděpodobně kvůli nízkým hladinám toxinů v semeni a relativně vysokému obsahu bílkovin (25 %) (Maxted & Ambrose 2001).

### 3.1.4 Pěstování

Hrách setý pochází ze Středomoří. Pěstuje se především v mírných pásmech, kde se jeho průměrný hektarový výnos pohybuje kolem 1 700 kg (Smýkal et al. 2012). Území jeho pěstování zabírá celý mírný pás, ze severu je ohraničeno 67 rovnoběžkou severní šířky, z jihu pak není omezován (Lahola et al. 1990). Z velikosti světové obhospodařované půdy luskovin je hrách na čtvrtém místě. Na prvních třech příčkách se pohybuje sója, fazol a cizrna. FAO statistiky pro rok 2006 zveřejnili, že hrách určený pro suchá semena měla sklizňovou plochu 6,73 milionů ha, hlavními pěstovatelskými oblastmi byla Asie (2,2 mil. ha), Evropa (1,8 mil. ha) a Severní Amerika (1,7 mil. ha). Největšími pěstovateli jsou Indie, Čína a Brazílie, kteří dohromady činí 70 % světové produkce. Dalšími producenti jsou USA, Austrálie, Rusko, Ukrajina a Kanada, která je v současnosti i hlavní exportní zemí (Houba et al. 2009). Dále FAOSTAT (Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database = Statistická databáze Organizace pro výživu a zemědělství) uvádí, že v období od roku 2000 do 2010 se pěstoval v 94 zemí a jeho pěstební plocha byla v rozmezí od 6 do 6,5 milionu ha (Smýkal et al. 2012). V naší republice má jako plodina dlouhou tradici pěstování. Český statistický úřad uvádí, že v roce 2010 se v České republice pěstoval na 24 400 ha. (Tyrolová 2012).

Hrách je poměrně nenáročný na půdní poměry, má ale nízkou toleranci k zasoleným půdám (Tyrolová 2012). Ideální jsou pro něj nesléhávě středně těžké písčitohlinité až hlinitopísčité půdy s dobrou strukturou. Vhodné jsou půdy mírně kyselé až neutrální s dobrou zásobou vápníku a fosforu. Za nevhodné se považují půdy extrémně těžké nebo naopak velmi lehké, zamokřené či kyselé (Petr et al. 1974; Lahola et al. 1990; Hosnedl & Hochman 1994; Houba et al. 2009). K nízkému pH půdy je hrách rezistentní (Bláha et al. 2003). Na vysoce

zásaditých půdách může trpět nedostatkem manganu (Biddle & Cattlin 2007). Hrách se pěstuje buď jako monokultura nebo ve směskách, kde slouží jako zlepšující plodina. Na stanoviště, kde se pěstoval, se může vrátit po čtyřech letech. Seje se do hloubky 5–7 cm v době, kdy je teplota půdy 4–5 °C (Tyrolová 2012). Šíře řádků bývá obvykle 12,5 cm (100–200 mm) a počet jedinců na 1 ha činí 1,0–1,1 mil. klíčivých semen (Houba et al. 2009). Optimum rostlin na 1 m<sup>2</sup> bývá v sušších oblastech 85–80, ve vlhčích pak 75–80 rostlin (Hosnedl & Hochman 1994). Vysévá se přibližně 220–300 kg/ha. Zařazuje se do třetí trati po organicky hnojené plodině. Vhodný je pro oblasti řepařské, obilnářské a bramborářské. Vyhovují mu rovnoměrné srážky a nižší teploty v době vegetace. Minimální teplota pro klíčení je +3 °C a po vzejití snáší i -5 °C. Kardinální teploty hrachu setého pro klíčení semene jsou: 1–2 °C jako minimum, 30 °C jako optimum a 35 °C jako maximum (Houba & Hosnedl 2002). U hrachu setého se uvádí doba klíčivosti 4–5 let, a to díky tvrdosemennosti (Lhotská & Kropáček 1985). Jeho tvrdosemennost se pro klíčení úspěšně přerušuje máčením ve vodě (Kvapil 2016). Množství vody, které hrách setý potřebuje ke klíčení, je 106–144 % (Jablonský 2005). Procházka et al. (1998) uvádějí, že jeden kilogram suchých semen hrachu pro nabobtnání vstřebá až 2 850 ml vody.

Hrách je typický svou poléhavostí, dále nerovnoměrným dozráváním, sklonem k pukání lusků, púlení semen a výdrolu, proto je určení optimální doby sklizně obtížné (Petr et al. 1974; Houba et al. 2009). Zelenosemenné hrachy se sklízí při poklesu průměrné vlhkosti všech semen na 55–50 %, žlutosemenné o něco později, přibližně až klesne průměrná vlhkost na 30–25 % (Petr et al. 1974).

V případě využití hrachu jen pro klíčky a výhonky je vhodné ho klíčit metodami v keramické misce, sklenici nebo v misce s látkou. Je optimální ho 12–14 hodin předmáčet. Semena klíčí 1,5–3 dnů a k vývinu výhonků je zapotřebí 10–14 dnů. Žlutá semena klíčí pomaleji, ale mají pak naopak výraznější chuť (Jablonský 2005).

Mezi škodlivé organismy, které negativně působí na růst a výnosy hrachu setého, patří plevel, choroby i škůdci. Hlavní zástupci plevelů jsou ježatka kuří noha, pýr plazivý, oves hluchý, mléč rolní, pcháč oset, lilek černý, peníze rolní, kokoška pastuší tobolka, violka rolní, svízel přitula, hořčice rolní, lebeda rozkladitá, laskavec ohnutý, merlíky, heřmánkovec přímořský a výdrol řepky. Z chorob kořenová hniloba a usychání hrachu, hnědá skvrnitost hrachu, sklerotiniová hniloba hrachu, padlí hrachu, plíseň hrachu, rzivost hrachu a šedá plísňovitost. Škůdci napadající porosty hrachu či skladovaná semena jsou listopas čárkovaný a zdobený, kyjatka hrachová, trásněnka hrachová, plodomorka hrachová, zrnokaz hrachový a obaleč hrachový (Petr et al. 1974; Lahola et al. 1990; Hosnedl & Hochman 1994; Houba et al. 2009).

### 3.1.5 Význam a využití

Ekonomicky představují luštěniny druhou nejvýznamnější skupinu a představují přibližně 27 % světové rostlinné produkce. Hrách je v současné době na druhém místě za fazolem obecným (*Phaseolus vulgaris*) jako nejrozšířenější luštěniny na světě. V roce 2009 činila jeho celosvětová produkce 10,4 mil. tun, která byla primárně produkována v mírném podnebném pásu (Smýkal et al. 2012). Hrášek je široce pěstován v Evropě, a to jak jako čerstvá zelenina, tak jako sušená plodina (Biddle & Cattlin 2007). Díky mnoha odrůdám a formám je umožněno hrách pěstovat pro různá využití, a to pro suchá semena, zelená semena, zelené lusky,

zelenou hmotu, jako potravinu v přímé výživě lidí i jako krmivo hospodářských zvířat (Hosnedl & Hochman 1994). Pěstován je především jako zrnina pro krmiva a ve formě zelené hmoty, jako siláž v čisté kultuře nebo ve směskách s obilninami. Pro rok 2007 byla průměrná spotřeba hrachu 1,1 kg na osobu za rok (Houba et al. 2009). V ČR v roce 1992 činila produkce hrachu 179 366 t a z toho bylo 56,4 % určené na export, 12,9 % pro osivo, 5,9 % pro výživu lidí a 24,8 % ke krmení zvířat (Hosnedl & Hochman 1994).

*Pisum sativum* L. se přirozeně vyskytuje v Evropě, severozápadní Asii a rozšiřuje se na jih do východní Afriky. Hrách zahradní (*P. sativum* var. *sativum*) nebo hrách polní (*P. sativum* var. *arvense*) se pak pěstuje po celém světě v mírném podnebí (Maxted & Ambrose 2001). Po celém světě existuje několik tisíc odrůd, které lze rozdělit na kategorie: polní hrášek (krmivo pro hospodářská zvířata a jako zelené hnojení), tržní hrášek (sklizeň lusků jako čerstvé zeleniny pro lidskou konzumaci), vinný hrášek (ke konzervování nebo zmrazování) a sušený hrášek (pro krmení zvířat a částečně pro lidskou spotřebu) (Cousin 1997). Hrách setý polní (*Pisum sativum* var. *sativum*) se využívá jako potravina, pochutina či krmivo, jako průmyslová surovina pro produkci škrobu, jako zelená rostlina pro silážování nebo pro krmné účely ve směskách s obilninami. U hrachu dřevnatého (*Pisum sativum* var. *madullare* Alef.) se nezralá semena buď konzumují jako zelenina, nebo se konzervují a mrazí, vyzrálá semena se pak využívají pro produkci škrobu s vysokým podílem amylozy. Z hrachu cukrového (*Pisum sativum* var. *sacchratum* Ser.) se konzumují celé lusky v zelené zralosti jako plodová zelenina, díky tomu, že se u nich netvoří pergamenová vrstva (Houba et al. 2009). Některé odrůdy hrachu, takzvaný krmný hrášek, se používají pro účely zelené produkce pícnin, produkce suchých pícnin a produkce zeleného hnojení (Togay et al. 2008).

Hlavními přednostmi hrachu jsou: předplodinová hodnota díky fixaci vzdušného dusíku, fyto-sanitární účinky, meliorační schopností zlepšovat fyzikální stav půdy, vázání makro- a mikroprvků, pozitivní vliv na úrodnost půdy, vyvážení osevních sledů, udržovatel půdní mikroflóry, utlumuje šíření škodlivých organismů, přerušuje jednostranné čerpání živin, a obecně pozitivně ovlivňuje životní prostředí (Houba et al. 2009). Hrách má důležitou ekologickou výhodu, neboť je schopný symbioticky fixovat atmosférický dusík, což zdůrazňuje jejich význam jako zdroje dusíku v přírodních i zemědělských ekosystémech (Smýkal et al. 2012). Jejich symbiotický vztah s půdními bakteriemi *Rhizobium*, jim umožňuje vytvářet vlastní zásobu dusíkové výživy, čímž se rozšiřuje jejich pěstování i na půdách, které mají přirozeně nízký obsah přírodních živin (Biddle 2017). V důsledku infekce kořenů rhizobii, konkrétně se jedná o bakterie druhu *Bacterium radiciola*, se na nich vytvářejí charakteristické hlízky (exogenní tumory), které vznikají v místě narušení (Petr et al. 1974). K tvorbě hlízek dochází do 3 týdnů po vzejití (Houba et al. 2009).

### 3.1.6 Nutriční složení

Hrášek je důležitou rostlinou ve výživě lidí a zvířat kvůli jeho vysoké hladině bílkovin (23–33 %) (Togay et al. 2008). Tento obsah bílkovin je asi 2krát větší než u obilovin (Houba et al. 2009). Zralá semena hrachu jsou bohatá i na dusíkaté látky (22–28 %), pomalu stravitelný škrob (46–56 %), rozpustné cukry (5 %), vlákninu (5–7 %), tuk (3 %), enzymy, minerální látky a vitamíny (Tab. 1) (Petr et al. 1974; Lahola et al. 1990; Hosnedl & Hochman 1994; Smýkal et al. 2012). Z minerálních látek obsahují vápník, fosfor, hořčík, železo, mangan, měď, zinek,

síru a sodík. Mezi hlavní vitamíny, která obsahují patří vitamín A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> a C. Dále obsahují hormony, enzymy a 8 esenciálních aminokyselin (Jablonský 2005). Dle Houby et al. (2009) se v sušině semen hrachu vyskytuje 22–28 % N-látek, 46–56 % škrobu, 5–7 % vlákniny a 3 % tuku. Celkový obsah živin je ovlivňován obsahem živin v půdě (Tyrolová 2012).

Tab. 1: Obsah živin v semenech hrachu setého (v %) (upraveno podle: Lahola et al. 1990)

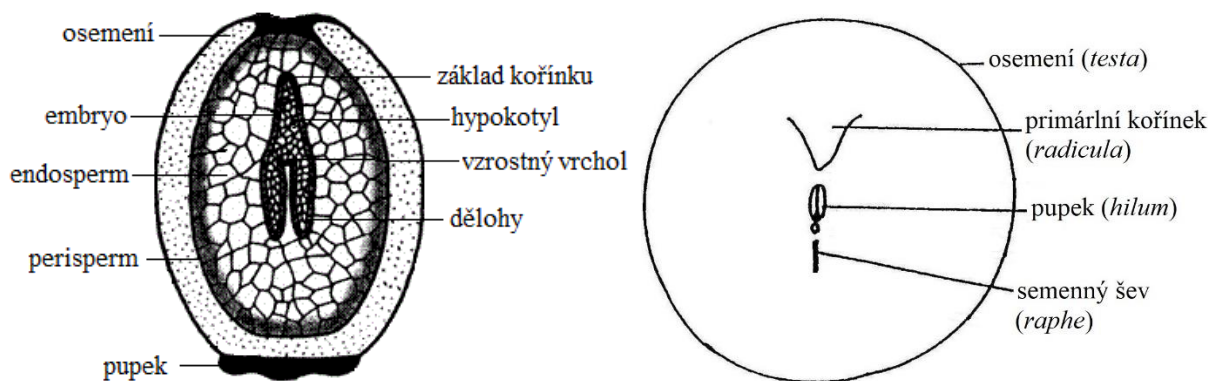
parametr	hrách
sušina	86,8
organická hmota	83,8
N-látky	22,7
tuk	1,9
vláknina	6,0
bezdušíkaté látky výtažkové	53,5
popel	36,0

### 3.2 Semena

Semeno je mnohobuněčný orgán vyšších rostlin, který se většinou tvoří v plodech a sloužící k rozmnožování generativní (pohlavní) formou. Toto, v přírodě velmi rozšířené množení, je založeno na kvetení, opylení a tvorbě semen (Novák 1981; Lhotská & Kropáček 1985; Houba & Hosnedl 2002; Hodge 2014). Fenner (1985) uvádí, že se semena hodí jako prostředek k množení, propagaci a vyhýbání se stresu.

Semena mají dle druhů rostlin rozmanitý tvar, velikost, barvu a liší se i množstvím, kolik jich rostlina vyprodukuje (Jursík et al. 2018). Ponejvíce rostliny, které vytvářející semena malá, jich vyprodukuje značné množství (Hodge 2014). Tvar semen je variabilní, vyskytují se v kulovitých, vejčitých, čočkovitých, ledvinovitých, válcovitých, elipsoidních, či vřetenovitých formách. Barva se pohybuje od jednobarevné (černé, bílé, šedé, zelené, hnědé, žluté) po pestře zbarvené tečkování, mramorování a jiné kresby. Rozmanitá je i struktura povrchu semen, která se vyskytuje jak hladká, síťnatá, dolíčkovaná, rýhovaná, žebernatá až ostnitá (Lhotská & Kropáček 1985; Novák & Skalický 2012). Povrch může mít podobu tenkou a papírovou (burské oříšky), nebo i tvrdou a tuhou (kokosový ořech) (Hodge 2014). Rozdílná je i jejich strukturální i anatomická složitost (Gallagher 2014). Základní morfologii semen však mají všechna semena společnou (Bewley et al. 2013). Plně rozvinuté semeno obsahuje osemení (*testa*), živné pletivo pod osemením (*perisperm*), živné pletivo vnitřní (*endosperm*) a zárodek (embryo) (Obr. 6). Zárodek se skládá z vzrostného vrcholu (*plumula*), primárního kořínku (*radicula*), podděložního stonkového článku (*hypocotyl*) a jedné nebo více děloh (*cotyledones*) (Černohorský 1967; Jablonský 2005; Novák & Skalický 2012). Perisperm a endosperm chrání semena (především embryo) před poškozením a současně mají významnou funkci při příjmu vody či výměně plynů (Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006). Na semeni může být viditelné *hilum* (jizva, pupek), což je pozůstatek spojení poutka s osemením a třeba i semenný šev (*raphe*), vzniklý jako otisk vaječné šňůry (Obr. 7) (Lhotská & Kropáček 1985).





Obr. 6: Vnitřní popis semene (upraveno podle: Krejčí & Slabý 2022)

Obr. 7: Morfologie semene (upraveno podle: Krejčí & Slabý 2022)

### 3.3 Dormance

Procházka et al. (1998) popisuje dormanci, jako vnitřně zafixovaný dočasný útlum vývojových procesů rostlinných orgánů (semen, pupenů, hlíz či cibulí), jenž může přetrvávat dny, měsíce i roky. Dormanci, též klíčným klidem, můžeme nazvat období, kdy živé zralé semeno neklíčí, a to ani v podmínkách běžně vhodných pro klíčení. Způsobují to fyziologické nebo fyzikální podmínky inhibující klíčení životaschopných semen. Nastanou-li příznivé podmínky pro vývoj, semeno začne klíčit a postupně se z něj vytvoří celá rostlina. Hlavními faktory ovlivňujícími tento proces je voda, teplo, vzduch a někdy i světlo (Houba & Hosnedl 2002; Houba et al. 2009).

Dormance je pro většinu druhů nutnou etapou, která se vyvinula jako výsledek adaptace k panujícím nepříznivým podmínkám prostředí (extrémní teploty, sucha). Díky různým mechanismům dormance je zabráněno semenům vyklíčit v nevhodnou dobu (Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006). Rozecňáváme fyziologickou, morfologickou, fyzikální, mechanickou a chemickou dormanci. U semen se leckdy můžeme setkat s kombinací těchto faktorů (Hodge 2014). Klíčící odpočinek bývá zapříčiněn třemi hlavními důvody: nepropustností semenných obalů pro vodu (tvrdosemnenost) nebo plyny (pro  $O_2$  a  $CO_2$ ), přítomností látek inhibičního charakteru a morfologickým stavem embrya (nedovyvinutý zárodek) (Lhotská & Kropáček 1985).

Dormanci (klíčící klid či odpočinek) rozlišujeme primární (vrozenou) a sekundární (navozenou vnějším prostředím). Primární dormance je stanovená geneticky vlastností semen (Taiz & Zeiger 2006; Jursík et al. 2018). U primární dormance rozlišujeme příčiny exogenní (vnější) a endogenní (vnitřní). Nejčastější vnější příčinou bývají nepropustné semenné obaly pro vodu a plyny. Odstranit se může přirozeně (činností mikroorganismů, fyzikálními vlastnostmi a změnami půdy) či asistovaně – mechanickou úpravou semen (skarifikací) nebo chemicky (slabým roztokem kyseliny sírové, chloridu sodného, peroxidu vodíku). Běžnější bývá primární dormance vnitřní, způsobována vrozenými vlastnostmi semen, především inhibitory klíčení (kyselina abscisová, kumarin, kyselina ferulová a další fenolové kyseliny). K výstupu z vnitřní dormance se může využít odstranění osemení nebo skarifikace, vyluhování látek způsobující dormanci, teplotní ošetření (stratifikace, jarovizace, požáry) nebo fytohormony (gibereliny). V případě sekundární dormance se jedná o reakce semen na nepříznivé fyzikální podmínky (anoxie, vodní stres, vysoké nebo nízké teploty), chemické nebo

světelné (nevhodné světelné spektrum) (Procházka et al. 1998; Houba & Hosnedl 2002; Kvapil 2016). Teplota (nízká a střídavá) a světlo jsou hlavní faktory prostředí, které jsou odpovědné za porušení dormance. Oba tyto faktory jsou v přírodě ovlivněné ročním obdobím (Black et al. 2000).

### 3.4 Klíčení

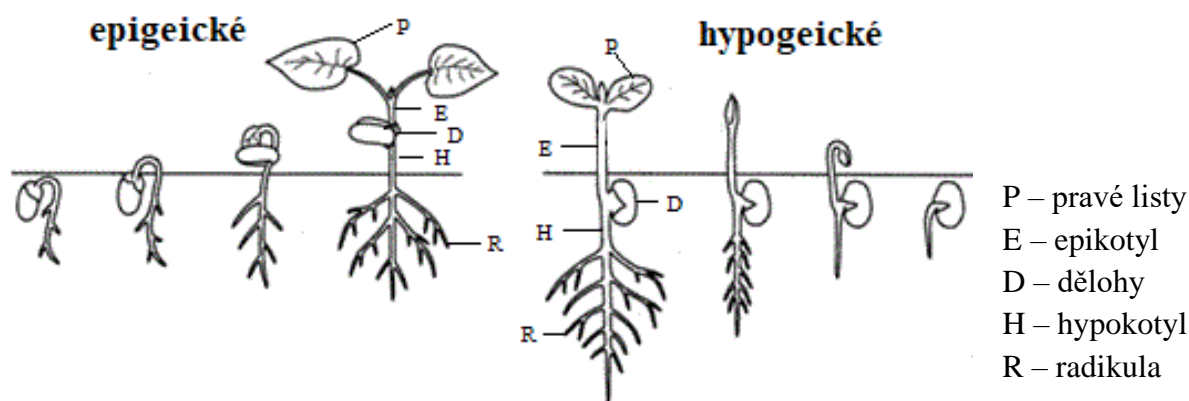
Klíčení je vývojový proces zahrnující biochemické, fyzikální a biologické procesy (Copeland & McDonald 2001). Jedná se o vývoj semene od okamžiku, kdy se spustí růst jeho zárodku (obvykle po klidovém období) až po vytvoření prvních listů (Hodge 2014). Při klíčení započne v embryu semene prodlužování buněk radikuly a hypokotylu (Novák & Skalický 2012). Jakmile vzrostlý vrchol (*plumula*) proroste o semením, stane se z klíčícího semene klíčící rostlina (Procházka et al. 1998). Klíčení začíná absorpcí vody suchými semeny – vstřebáváním, při kterém se například u hrachu zvýší obsah vody z 12–15 % až na 114 % (Jablonský 2005). Pro zdárné vyklíčení se musí splnit 3 základní podmínky: životaschopnost zárodku, ukončená dormance a vhodné podmínky prostředí (Hodge 2014).

Klíčení semen je složitým fyziologickým procesem, při kterém je zapotřebí dostatečné množství vody, tepla, kyslíku a u některých druhů i dostatek světla a jiných faktorů (Lhotské & Kropáčka 1985). Ovlivňováno je několika přírodními růstovými látkami – fytohormony (Bewley 2013). Podle účinku těchto chemických sloučenin na rostlinný vývoj je rozdělujeme na stimulatory růstu (auxiny, gibbereliny, cytokininy) a na inhibitory (kyselinu abscisovou) (Houba & Hosnedl 2002). Mnoho druhů rostlin má jen určité období roku, kdy jsou schopné vyklíčit, např.: pouze na jaře, na podzim, nebo ve vlhké sezoně. Existují ale i druhy, které mohou klíčit dlouhou dobu, např.: během celého vegetačního období (Baskin & Baskin 2001).

Klíčivostí se denotuje schopnost semene vyklíčit (započít svůj růst). Ovlivňuje ji druh, odrůda, kvalita a výživa semene, teplota a fotoperioda, vlhkost půdy, ošetření, mechanické poškození, nesprávné sušení a posklizňové uskladnění. Odůvodnění pro neschopnost semene vyklíčit může být několik. Spojené to může být s dormancí zárodku, chemickou inhibicí nebo nepropustností povrchové vrstvy (pro vodu, světlo a výměnu plynů) (Chloupek 2008). Časový úsek, po který jsou semena schopná vyklíčit je různá, průměrně se však pohybuje kolem 3–15 let. Pro hrách setý (*Pisum sativum*) je uváděna doba klíčivosti 4–5 let (Lhotská & Kropáček 1985). Způsobené je to především tvrdosemenností, která se vyskytuje u luskovin a jetelovin. Zapříčiňuje zamezení příjmu vody a výměny plynů, což má za následek absenci klíčení do doby, než dojde k porušení obalů (Houba et Hosnedl 2002).

#### 3.4.1 Typy klíčení

U jednoděložných i dvouděložných rostlin rozeznáváme dva základní typy klíčení semen: epigeické (nadmenní) a hypogeické (podzemní) (Obr. 8) (Lhotská & Kropáček, 1985).



Obr. 8: Epigeické a hypogeické klíčení (upraveno podle: Krejčí & Slabý 2022)

V případě epigeického klíčení, ze semene nejdříve roste směrem dolů radikula, která v optimálních podmínkách prostoupí do půdy. Semeno se dostává se vzrostným vrcholem, stonkem a dělohami (děložními lístky) na povrch půdy. To se děje díky narovnávání a intenzivnímu prodlužování hypokotylu (podděložního článku) (Obr. 8). Dělohy (*cotyledones*) jsou první listy semenáčku a v první fázi klíčení se podílejí na asimilaci. Dělohy většinou po určité době odpadávají, nacházejí se ale i případy, kdy setrvávají na lodyze jednoleté rostliny po celý její život v podobě zelených listových orgánů. Někdy se na nich mohou nacházet i zbytky obalu semene. Toto klíčení je typické pro: fazol, vignonu, lupinu, sóju, okurku, dýni, len, slunečnici, skočec, buk, habr, lípu a javor (Procházka et al. 1998; Houba et al. 2009; Novák & Skalický 2012).

Během hypogeického klíčení roste ze semene směrem dolů *radikula* a směrem nahoru se intenzivně prodlužuje epikotyl (nadděložní článek). Na vrcholu epikotylu vyrostou pravé listy. Tento typ klíčení má dělohy nezelené, setrvávající pod zemí, kde plní funkci rezervních orgánů (obsahují zásobní látky). Současně má velmi krátký hypokotyl a vlastní klíčící lodyžka je článek epikotylu (Obr. 8). Tímto způsobem klíčí: hrách, bob, vikev, kukuřice, dub, ořešák, mandloň a datlovník (Procházka et al. 1998; Houba et al. 2009; Novák & Skalický 2012).

### 3.4.2 Faktory ovlivňující klíčení

Průběh klíčení závisí na druhu semene a jeho kvalitě, ale též na vnitřních a vnějších podmínkách. Mezi vnější faktory ovlivňující klíčení patří: voda, teplota, kyslík ( $O_2$ ) a doplňkově u některých druhů světlo a tma. Pro různé druhy rostlin je potřeba pro úspěšné vyklíčení jejich semen panování různorodých podmínek (Hosnedl 1997). Při klíčení se semena stanou náchylnými ke změnám biologických aktivit, výkyvům obsahu vody, nízkým teplotám a nedostatku  $O_2$  (Houba & Hosnedl 2002; Benech-Arnold & Sánchez 2004). Voda patří k nejvýznamnějším faktorům klíčení, kvůli svému nenahraditelnému vlivu při obnově hydratace vyschlých semen, bobtnání a následné aktivaci biochemických a fyziologických činností (Hosnedl & Honsová 2002). Biologickou aktivitu senem ovlivňuje i teplota. To, zda panující teplota je pro klíčení ideální se liší dle druhů rostlin (Jursík et al. 2018). Pro majoritu semen se optimální teplota pohybuje mezi 15–30 °C, najdou se však i druhy, kterým stačí, když teplota dosáhne několik stupňů nad nulu. Maximální teplotou, při které je většina druhů ještě schopná klíčit je 30–40 °C (Larcher 1988; Copeland & McDonald 2001). Světlo nepatří mezi

nezbytné podmínky pro klíčení u většinu druhů, ale mohou je značně ovlivňovat (zpomalit nebo urychlit klíčení) (Jablonský 2005).

Příčin, proč některá živá semena neklíčí, či klíčí pomalu a obtížně může být několik. Mezi hlavní patří: nepropustnost osemení pro vodu v důsledku vrstvy sklerenchymu v buněčné stěně, nedostatečná propustnost osemení pro kyslík a oxid uhličitý, nadměrná tuhost osemení a v neposlední řadě neukončený proces zrání (Jablonský 2005). Rychlost snižování kvality semen (deteriorace) je ovlivňována druhem a odrůdou rostliny, vitalitou semen a podmínkami prostředí, ve kterých jsou semena uskladněná. Klíčivost se v závislosti na délce uskladnění a ztrátě vitality snižuje (Houba & Hosnedl 2002). Míra stárnutí semen je podmíněna teplotou, vlhkostí a množstvím kyslíku. Důležitou roli mají i faktory genetické, technologické, vývojové a environmentální (Aniszewski et al. 2012).

### 3.5 Stres

Stres je nepříznivý stav vyvolaný jedním nebo několika vnějšími vlivy, při kterém je organismus fyziologicky zatížen. Vzniká, pokud nastane změna prostředí na takové úrovni, na kterou není rostlina geneticky přizpůsobena. Ovlivňuje celou rostlinu, od kořenů, přes nadzemní část až po vyvíjející se semena (Procházka et al. 1998). Kvalitu a vlastnosti budoucího rozmnožovacího materiálu (semen) ovlivňují stresory (stresové faktory) především v období reprodukce. Semena mají různou náchylnost a odlišné dispozice ke stresorům dle druhu a odrůdy rostliny, fáze vývinu, typu stresu a délce jeho působení (Houba & Hosnedl 2002). Nežádoucí stresové podmínky mohou účinkovat jednotlivě nebo v kombinaci, čímž se může prohlubovat jejich dopad na rostlinu. Například účinky deficitu vody na klíčící semena se zvyšují s rostoucí teplotou (Benech-Arnold & Sánchez 2004).

Majorita environmentálních stresů při svém účinku na rostlinu způsobí podobné reakce a aktivaci stejných obranných mechanismů. Většinou nastane zpomalení až zastavení růstu, snížení fotosyntézy, zbrzdění životních funkcí, dehydratace tkání, hormonální změny, akumulace proteinů souvisejících se stresem, oxidační poškození, snížení vitality, poškození jednotlivých orgánů a v krajním případě mohou zapříčinit i úhyn rostliny (Aroca et al. 2012). Může dojít i ke změnám poměru mezi kořeny a nadzemní částí rostlin, k transformaci individuálních znaků kořenů nebo vlastností semen (jiná anatomická a morfologická stavba, odlišné chemické složení, horší klíčivost a vitalita). Ke snížené výnosu (menšího množství kvalitních semen) může dojít nepřímo oslabením rostliny nebo přímo v době kvetení, oplodnění a v době tvorby semen. Tolerance k jednotlivým negativním faktorům je u jednotlivých druhů rostlin individuální (Bláha et al. 2003). Průběh a konečný výsledek stresové reakce závisí na: intenzitě stresu, počáteční rychlosti, délce působení, geneticky vázaných předpokladech (adaptačních schopnostech) a orgánu rostliny (Procházka et al. 1998). Rostliny produkují specializované struktury schopné odolávat silnému stresu. Jedná se především o pyl, semena, spóry, cibule a hlízy (Jenks & Hasegawa 2005).

Z Obr. 9 je patrné členění stresových činitelů rostlin na dvě hlavní kategorie: na biotické faktory (působení živé přírody) a na abiotické faktory (vlivy neživé přírody) (Novák 1981).

### **biotické faktory**

- herbivorní organizmy
- patogenní organizmy
- alelopatie

### **abiotické faktory**

- fyzikální** - extrémní teploty (nízká a vysoká teplota)  
- vysoká a nízká ozáření

- chemické** - sucho  
- oxidativní stres  
- zasolení  
- půdní reakce (pH půdy)  
- nedostatek živin  
- xenobiotika (oxid siřičitý, ozon, toxické kovy)

Obr. 9: Kategorie stresů a jejich členění (upraveno podle: Procházka et al. 1998)

Bláha et al. (2003) označují biotický stres jako stav rostliny vyvolaný nepříznivým působením jiných živých organismů. Vliv těchto stresových faktorů způsobují organismy z botanické i živočišné říše, a to od půdních mikroorganismů, botanických druhů, škodlivého hmyzu, patogenů až po savce (Houba et al. 2009). Jako největšího biotického stresora můžeme označit člověka. Biotické faktory dělíme do 3 skupin: na herbivorní organismy, patogenní mikroorganismy (viry, bakterie, mikroby a houby) a na alelopatii (vzájemné ovlivňování) (Obr. 9) (Procházka et al. 1998).

Abiotické faktory lze definovat jako stav rostliny vyvolaný nepříznivým působením fyzikálních či chemických činitelů (Bláha et al. 2003). Mezi hlavní fyzikální a chemické vlivy prostředí náleží: meteorologické a atmosférické vlivy, počasí, strukturní vlastnosti půd a chemické látky (Houba et al. 2009). Z Obr. 9 je zjevné, že je dělíme podle typu působení na fyzikální (extrémní teploty, vysoká a nízká ozáření) a chemické (sucho, oxidativní stres, zasolení, půdní reakce, nedostatek živin a xenobiotika) (Houba & Hosnedl 2002; Bláha et al. 2003).

#### **3.5.1 Charakteristika nejdůležitějších abiotických faktorů**

V přírodním prostředí jsou rostliny během svého života několikrát vystavené obdobím abiotického stresu, které negativně ovlivňují jejich růst a produktivitu (Procházka et al. 1998). Abiotické faktory mají globální význam pro zemědělství, neboť představují hlavní omezení celosvětové produkce plodin. Usuzuje se, že přibližně 51–82 % ročního potenciálního výnosu plodin je ztraceno působením abiotického stresu (Jenks & Hasegawa 2005). Stresorem v tomto případě může být jak nedostatek, tak i nadbytek faktoru pro rostlinu jinak životně důležitého (kyslík, voda, světlo) (Procházka et al. 1998).

### 3.5.1.1 Vodní deficit

Vodní stres je pro rostliny nejvíce limitující abiotický faktor. Jeho nejčastějšími příčinami jsou klimatické poměry a průběh počasí. Schopnost přijímat vodu je závislá na obsahu půdních živin, na zasolení a na půdní reakci (Bláha et al. 2003). K deficitu vody nedochází v rostlinných tkáních pouze za sucha, ale i při nízkých a vysokých teplotách, při zasolení nebo při povodních. Mnoho podmínek prostředí způsobuje u rostlin jako první reakci dehydratace (Aroca et al. 2012). Tento stresor viditelně omezuje či zastavuje růst rostliny, především inhibuje dlouhivý růst a tvorbu kořenového systému, dále redukuje listové plochy, dochází k vadnutí rostliny a opadu plodů. V rostlině způsobuje snížení syntézy a aktivity všech jejích enzymů, způsobuje změnu metabolických procesů, snižuje produkci proteinů a cytokininů, omezuje transport látek, zpomaluje fotosyntézu, zvyšuje respiraci, způsobuje pokles turgidity, zavírání průduchů, zpomalení buněčného dělení a akumulaci sušiny, energeticky bohatých či toxických látek. Silný a dlouho trvající vodní deficit způsobuje nevratné poškození membrán, organel a může vést až k úhynu rostliny (Procházka et al. 1998; Bláha et al. 2003).

Pro rostliny je podstatné, zda vodní stres nastal v průběhu jejich vegetace, nebo zda již v relativním suchu vyrůstaly. V případě vodního deficitu, který se dostavil až v průběhu růstu, bude jeho vliv na metabolismus rostliny větší. Rostliny rostoucí již od začátku v sušším prostředí se zvládli adaptovat – mají hlouběji zakořeněný kořenový systém, menší listovou plochu, méně průduchů a silnější kutikulu. Rostliny s hlubším kořenovým systémem bývají k suchu odolnější, než ty s mělkými kořeny (Bláha et al. 2003). Voda hraje důležitou roli i při formování a zrání semen, bobtnání a klíčení, při skladování či dormanci. Při vodním deficitu je zabráněno semenům vyklíčit, a naopak při nadbytečné půdní vlhkosti dochází k poškození klíčících semen související i s nedostatkem kyslíku (anoxií) (Houba & Hosnedl 2002).

### 3.5.1.2 Anoxie

Koncentrace kyslíku ( $O_2$ ) ve vzduchu obklopující nadzemní části rostlin se téměř nemění. V rhizosféře je kyslík nepřetržitě odebírán respiračními procesy kořenů a půdní mikroflórou, proto je zde jeho koncentrace trvale nižší než ve volné atmosféře. Oxidativní stres ovlivňuje chemické reakce v půdě a negativně působí na fyziologické procesy rostlin. Anoxií (nedostatkem kyslíku) trpí především rostliny v půdách nadměrně zvlhčených, zaplavených nebo v utužených těžkých jílových půdách (Procházka et al. 1998). K omezenému, či nedostatečnému přístupu kyslíku nejčastěji dochází u klíčících semen, nebo u rostlin, které jsou v průběhu vegetace na zamokřeném pozemku (při záplavách, oblevách a za dlouhotrvajícího deště) a za půdního škraloupu. Povodně mohou způsobit rostlinám vážný stres, který je doprovázen inhibicí aerobního dýchání, sníženou transpirací listů a mnohdy i dehydratací listů (Aroca et al. 2012).

Požadavky rostliny na kyslík se zvyšují s rostoucí teplotou půdy a v případě, že na ně působí světelný či vodní stres (Benech-Arnold & Sánchez 2004). Oxidativní stres může nastat i při laboratorních pokusech, dojde-li k přemokření lůžka. Ke snížení kyslíku jsou semena některých druhů odolnější než jiná. U méně choulostivých druhů nastává inhibice klíčení při poklesu kyslíku v půdní atmosféře pod 1–3 %. Citlivé druhy rostlin ovlivní při klíčení snížení

O<sub>2</sub> ji na 9–10 %. Nižší koncentrace kyslíku můžou negativně ovlivnit klíčivost a rychlost klíčení semen (Houba & Hosnedl 2002).

### 3.5.1.3 Extrémní teploty

Rostliny jsou poškozovány vysokými i nízkými teploty. K teplotám dosahujícím extrémních hodnot jsou citlivější generativní orgány (především poupata a květy). Vegetativní orgány jsou mnohem odolnější, a k tomu i méně poškozovány (Bláha et al. 2003). Extrémní teploty v době zrání semen mohou ovlivnit syntézu inhibičních látek nebo látek stimulačních klíčení (Houba & Hosnedl 2002).

Vystoupá-li teplota nad 40 °C dochází u rostlin k zásadním změnám ve fyzikálních a chemických vlastnostech buněčných membrán i bílkovin. Vysoká teplota má vliv na mnoho životně důležitých funkcí: na aktivitu enzymů, obsah a složení proteinů, stavbu a aktivitu thylakoidních membrán. Při vysoké teplotě je vyvoláno uzavírání průduchů, kterými rostlina usměrňuje výdej vody v podobě vodních par (transpiraci). Při teplotách dosahujících 50–55 °C nastává u většiny rostlinných druhů již při krátkodobém působení k nevratnému poškození orgánů a jejich následnému odumření. K přehřátí jsou odolnější rostliny ve stavu dormance (např.: semena). Ta, v radikálních případech přežijí bez poškození i krátkodobé působení 120 °C (Procházka et al. 1998; Bláha et al. 2003).

V případě nízké teploty rozlišujeme u rostlin 2 typy citlivosti – citlivost na chlad a na mraz. Chladem jsou považovány teploty v rozmezí 0–15 °C (teploty nad bodem mrazu). Klesne-li teplota pod 0 °C (pod bod mrazu) jedná se o mraz a případná mrazová poškození. Na nízké teploty různé druhy rostlin reagují odlišně (dělení na teplomilné, chladuvzdorné a mrazuvzdorné rostliny). Podstatná je i délka vystavení těmto teplotám, fáze rostlinného vývoje a jejich orgán. Prvními příznaky působení nízkých teplot na rostlinu je jejich vadnutí listů, zrychlené dýchání a snížená či zastavená schopnost uzavírat průduchy. Dochází k negativnímu ovlivnění biomembránových struktur, funkcí membrán a ke změnám struktur cytoskeletu. Při teplotách pod bodem mrazu dochází k utlumení metabolismu a veškerých fyziologických procesů, k tvorbě ledu v buňkách nebo mrazové dehydrataci buněk. V boji proti citlivosti k nízkým teplotám může pomoci otužování rostlin, což je proces, při kterém dochází k postupnému zvyšování odolnosti vůči chladu a mrazu (Procházka et al. 1998; Bláha et al. 2003; Taiz & Zeiger 2006; Aroca et al. 2012).

### 3.5.1.4 Zasolení

Zasolenost půd je nejčastější faktor omezující celosvětovou zemědělskou produkci. Negativní účinky salinity jsou nejvýraznější v suchých a polosuchých klimatických oblastech, a v půdách využívaných v intenzivním zemědělství. Pouze samotné zavlažování vodou, obsahující ve většině případů vyšší koncentraci solí, způsobuje nárůst množství solí v obhospodařovaných půdách (Aroca et al. 2012). Půdy s vyšším obsahem solí vznikají v důsledku klimatických nebo půdních podmínek. A na klimatických faktorech (srážkách a teplotě) závisí i koncentrace solí v půdě, která se v průběhu roku mění (Bláha et al. 2003). Zasolené půdy se mohou přirozeně vyskytovat v blízkosti moří či přímořských močálů, v pouštích a polopouštích. K salinitě může docházet záplavami mořskou vodou a jejím následným vstřebáváním do půdy, dlouhodobými závlahami, prosakováním tekoucí vody, která

se dostala do styku s ložisky solí, zimním posypem komunikací solí nebo přehnojováním (Larcher 1988).

Vysoká koncentrací solí v půdě (iontů  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) vede ke zhoršení fyzikálních vlastností půdy a u rostlin negativně ovlivňuje jejich vývoj, růst, působí na ně toxicky a v neposlední řadě u nich vyvolává vodní stres. Většina rostlin k tomuto není adaptovaná, a tudíž začnou v sobě tyto ionty hromadit. V případě, že se jich naakumuluje vysoká koncentrace, dojde ke zhoršení enzymatických funkcí, k poruchám asimilace dusíku, zastavení růstu, snížení biomasy a posléze to může vést až k úhynu rostliny (Procházka et al. 1998). Salinitou ovlivněné rostliny mají poškozený méně vyvinutý kořenový systém, nejčastěji nekrozou, která může způsobit degradaci dané části kořene. K poškození může viditelně dojít i u nadzemních částí (letorosty jsou zakrnělé, pupeny raší se zpožděním, listy jsou malé, žloutnou a usychají). Míra odolnosti rostliny k zasoleným půdám souvisí i s růstovou fází, kde stádium semenáčku a mladé rostliny je výrazně citlivější než vzrostlého jedince (Bláha et al. 2003).

### 3.5.1.5 Xenobiotika

Na rostliny mohou působit xenobiotika (látky organismu cizí), která se v přírodě dříve nevyskytovala, a pro rostlinu bývají nepříznivá. Jedná se o pestrou směs desítek chemických sloučenin, které mohou mít plynnou, kapalnou i pevnou formu. Mnoho z nich má pro rostliny výrazně inhibiční až toxické účinky. Způsobují tvorbu stresových proteinů a enzymů, omezení fotosyntézy, poškození buněčných organel, skvrnitost a žloutnutí listů, zpomalení růstu a v extrémních případech úhyn rostliny (Procházka et al. 1998). Do životního prostředí se tyto látky dostávají především z průmyslové a zemědělské činnosti člověka (spalováním fosilních paliv, z výfukových plynů, kontaminovanou odpadní vodou, používáním umělých hnojiv a pesticidů) (Procházka et al. 1998; Guerreiro et. al 2014). Přirozeně do ovzduší vstupují po požárech lesů či savan, vulkanickou činností sopek a únikem plynů z rašelinišť (Bláha et al. 2003).

Z plynných xenobiotik je nejškodlivější oxid siřičitý ( $\text{SO}_2$ ) a ozon ( $\text{O}_3$ ) (Procházka et al. 1998). Oxid siřičitý přispívá k okyselení, což může mít nepříznivé účinky na vodní ekosystémy v řekách a jezerech, způsobovat poškození lesů a suchozemských ekosystémů, a dokonce i snížit biologickou rozmanitost. Ozon je sekundární znečišťující látka vytvářená v troposféře složitými chemickými reakcemi (Guerreiro et. al 2014).

Nejproblémovějšími látkami kontaminující půdy jsou ionty toxických kovů a různé aromatické organické látky (Procházka et al. 1998). Konkrétně se jedná o arsen (As), kadmium (Cd), olovo (Pb), rtuť (Hg), nikl (Ni), zinek (Zn), kobalt (Co), chrom (Cr), měď (Cu), mangan (Mn), hořčík (Mg) a selen (Se) (Larcher 1988; Guerreiro et. al 2014). Toxické kovy, které jsou emitovány v důsledku různých spalovacích procesů a průmyslových činností způsobují znečištění ovzduší. Dále mohou být usazovány na suchozemských nebo vodních površích a následně se hromadit v půdách nebo sedimentech. Toxické kovy jsou v životním prostředí perzistentní a mohou se bioakumulovat v potravinových řetězcích (Guerreiro et. al 2014).



### 3.6 Antropogenní znečištění

Znečištění je proces, kterým se půda, voda, vzduch nebo jiné části životního prostředí stávají nevhodné k používání či jsou nebezpečné (Bradford 2018). Jedná se o přidání látky (pevné látky, kapaliny nebo plynu) nebo formy energie (teplo, zvuk nebo radioaktivita) do životního prostředí rychleji, než se v něm zvládne rozložit, rozptýlit, zředit, recyklovat nebo se uložit v neškodné formě. Může se to vztahovat jak na umělé i přírodní materiály, které byly vytvořeny, spotřebovány a vyřazeny neudržitelným způsobem (Nathanson 2021).

Vlivy znečištění na klima mohou být velmi různorodé. Na znečišťování se podílí jak antropogenní znečištění (způsobované činností člověka), tak přírodní zdroje (sopečná činnost, lesní požáry, eroze, orkány a vyplavování toxických látek) (Hlaváček & Pepřík 2013; Peštová 2019; Nathanson 2021). Bradford (2018) uvádí, že dle informací neziskové organizace Pure Earth toxické znečištění postihuje více než 200 milionů lidí na celém světě. Dle Nathansona (2021) každoročně způsobí znečištění ovzduší smrt 7 milionů lidí a požití kontaminované vody přibližně 485 000 úmrtí.

Mezi nejvýznamnější antropogenní zdroje patří spalování paliv (benzínu, uhlí, dřeva a plynu), těžba (uhlí, rud a kamene), rafinace ropy, elektrárny, skládky, doprava (motorová vozidla), přístavy, průmysl (čistírny odpadních vod, léky, rozpouštědla), energetika, zemědělství (hnojiva, pesticidy, monokultury) a vypalování lesů (Peštová 2019). Hlavními odvětvími průmyslu, které jsou zdrojem znečištění nebezpečnými látkami jsou: průmysl papírenský, chemický, koželužský, textilní, sklářský, strojírenský, elektrotechnický a elektrárenský (Karberová & Soldán 2011).

Dle Karberové a Soldána (2011) se v případě nebezpečných látek jedná o látky či skupiny látek, které jsou toxické, perzistentní a náchylné k bioakumulaci. Nathanson (2017) doplňuje nebezpečný odpad o další vlastnosti, jako je zápalnost, žíravost, reaktivita, infekčnost a radioaktivita. V základních složkách životního prostředí se vyskytují kontaminanty, které se často dostávají do potravního řetězce a pracovního prostředí člověka (Karberová & Soldán 2011).

#### 3.6.1 Druhy znečištění

Antropogenní znečišťování životního prostředí je globální problém, který ovlivňuje hydrosféru, atmosféru, biosféru i pedosféru. Mezi hlavní druhy je považováno znečištění půdy, vody a ovzduší, další znečištění, které může hrát roli jsou jednoduché věci, jako je světlo, zvuk a teplota, jenž v případě umělého zavedení do přirozeného prostředí mohou být považovány za znečišťující látky (Bradford 2018). V dnešní době se společnost zajímá o konkrétní druhy znečišťujících látek, jako je hluková zátěž, světelné znečištění, znečištění plasty a radioaktivním materiálem. Všechny formy znečištění mohou mít negativní dopad na životní prostředí, volně žijící zvířata, ale i na člověka, kterého mohou ohrožovat na zdraví a ovlivňovat jeho pohodu (Nathanson 2021).

Na základě zdroje znečištění je můžeme dělit podle prostorové povahy na bodové, liniové a plošné. Možné je členění dle mechanismu transportu znečištění do vodního zdroje, zde rozlišujeme zdroje bodové, difuzní a plošné. Bodovým zdrojem jsou místa, kde přímo dochází k znečištění prostředí (vypouštění odpadních průmyslových podniků či kanalizace do vody).

Difuzním zdrojem je soustava více rozptýlených malých znečišťovatelů, především zemědělské provozy (úniky ze siláží, odpady ze živočišné výroby, zemědělské usedlosti v určité oblasti, skládky odpadu a doprava). K plošnému zdroji dochází nejčastěji zemědělskou činností (splachování znečišťujících látek z polí do vody). Mezi největší znečišťovatele patří chemický průmysl, těžba surovin, potravinářství, papírenství, textilní průmysl, zemědělství a komunální odpadní vody (Hlaváček & Pepřík 2013).

### 3.6.1.1 Znečištění ovzduší

Vzduch okolo nás je složen z 99 % dusíkem, kyslíkem, vodními parami a inertními plyny. Ke znečištění ovzduší dochází, pokud se v něm začnou nacházet věci, které se tam obvykle nenacházejí (Bradford 2018). To má pak vážné dopady na veřejné zdraví, způsobuje městské a regionální mlhy a má potenciál významně přispět ke změně klimatu a degradaci ekosystémů (Molina & Molina 2004). Pokud se nebezpečné plyny začnou vyskytovat v atmosféře, může dojít k vytváření kyselých dešťů a smogu (Bradford 2018).

Životní prostředí je vystavováno složitým směsím mnoha látek znečišťujících ovzduší emitovaných z různých zdrojů a podléhající atmosférickým procesům (Guerreiro et. al 2014). Emise látek znečišťující ovzduší pocházejí téměř ze všech ekonomických a společenských aktivit. Jedná se především o silniční dopravu, průmysl, elektrárny, spalování biomasy a tuhých paliv, domácnosti a zemědělské činnosti. Hlavními látkami jsou oxid siřičitý ( $\text{SO}_2$ ), oxid uhelnatý (CO), olovo (Pb) a benzen ( $\text{C}_6\text{H}_6$ ). Největší dopady má špatná kvalita ovzduší na městské oblasti (vede k předčasné úmrtnosti a zvýšené morbiditě) a na ekosystémy (zhoršení růstu vegetace a poškození biologické rozmanitosti) (Guerreiro et. al 2014). Města obsahují vysoké koncentrace prachových částic (PM), ozonu ( $\text{O}_3$ ), oxidu siřičitého ( $\text{SO}_2$ ), oxidů dusíku ( $\text{NO}_x$ ), oxidy uhelnaté (CO), těkavé organické sloučeniny (VOC) a uhlovodíky (HC, podskupina VOC) (Molina & Molina 2004). Velkým problémem je znečištění ovzduší skleníkovými plyny, jako je oxid uhličitý nebo oxid siřičitý, které zahřívají planetu skleníkovým efektem (Bradford 2018). To je obecně způsobováno lidskou činností, která v tomto případě zahrnuje spalování fosilních paliv a hromadné odlesňování (Nathanson 2021). Nejzávažnější je poškození vegetace v důsledku ozonu ( $\text{O}_3$ ) eutrofizace a acidifikace. V důsledku poklesu emisí  $\text{SO}_2$  dochází k nárůstu amoniaku ze zemědělské činnosti a  $\text{NO}_x$  (ze spalovacích procesů – spalování paliva z motorů vozidel, průmyslových zařízení a vytápění domácností). Tyto dvě látky jsou v dnešní době převládající okyselující a eutrofizující látky znečišťujícími ovzduší (Guerreiro et. al 2014).  $\text{NO}_x$  jsou oxidy dusíku, jedná se o součet oxidu dusnatého (NO) a oxidu dusičitého ( $\text{NO}_2$ ) (Molina & Molina 2004).

PM (particulate matter), jsou takzvané suspendované, pevné či prachové částice (Pešková 2019). Vzdušné částice (PM) v atmosféře jsou vysoce variabilní a složitou směsí částic a plynů. Primární částice jsou emitovány přímo ze zdrojů, zatímco sekundární částice se tvoří v atmosféře z plynných emisí. Primární částice i prekurzorové plyny mohou být emitovány z přírodních i antropogenních zdrojů (Davidson et. al 2005). Sekundární částice jsou produkovány v důsledku chemických reakcí tvořící prekurzorové plyny: oxid siřičitý ( $\text{SO}_2$ ), oxidy dusíku ( $\text{NO}_x$ ), amoniak ( $\text{NH}_3$ ) a nemetanové těkavé organické sloučeniny (NMVOC) (Guerreiro et. al 2014). PM se mohou dělit na přírodní (sopečné výbuchy, lesní požáry a moře) a antropogenní zdroje (nedokonalé spalování uhlí, ropy, dřeva, odpadu, těžba a stavební

činnost). Částice antropogenního původu jsou většinou menší a mají větší vliv na lidské zdraví než částice přírodní (Pešková 2019). PM se často uvádí jako hmotnostní koncentrace v úhrnu suspendované částice (TSP), PM<sub>10</sub> a PM<sub>2,5</sub> (částice s aerodynamickými průměry menšími než 40, 10 a 2,5 μm). Hlavní chemické složky PM jsou síran (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>), dusičnan (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), amonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), organický uhlík (OC), elementární uhlík a půda (Molina & Molina 2004).

Znečištění ovzduší má v závislosti na znečišťující látce různé působení na lidské zdraví. V případě vysoce toxické látky mnohdy dochází k rozsáhlým a závažným dopadům. Dráždivé látky (částice menší než 10 μm) mohou způsobovat onemocnění dýchacích cest, kardiovaskulární onemocnění a astma. Mezi nejzávažnější substance patří látky karcinogenní (těžké organické sloučeniny), biologicky aktivní (viry) nebo radioaktivní (radon). Nejzávažnější a nejvíce ohrožovanou populací jsou velmi mladí, staří lidé se zhoršeným imunitním systémem (Bradford 2018).

### 3.6.1.2 Znečištění vody

Ke znečištění vody dochází, když se do ní dostanou chemikálie nebo nebezpečné cizí látky (Bradford 2018). Důsledky lidské činnosti se mohou promítat do povrchových i podzemních vod jak z kvantitativního hlediska (ovlivňování množství vody v ekosystému), tak z kvalitativního hlediska (vliv na kvalitu vody, obsahy látek a znečištění) (Hlaváček & Pepřík 2013). Znečištění vody se projevuje buď změnou jejích fyzikálních vlastností, chemického složení a biodiverzity vodních ekosystémů, anebo změnou její jakosti a snížení možností využití. Známé jsou především případy kontaminace vody pesticidy, léčivy a mikroplasty. Možná je i eutrofizace vody, což je přesycení vody živinami (především dusíkem a fosforem), která souvisí s používáním organických hnojiv a s vypouštěním odpadních vod (Hájková 2019). Ke znečištění dochází v první řadě chemikáliemi, pesticidy a hnojivy ze zemědělských odtoků, odpadními vodami nebo kovy (především olovem a rtuť). Problém mohou způsobovat i bakterie (Bradford 2018).

Chemické znečištění ztělesňuje riziko pro vodní prostředí, dlouhodobé nebezpečí pro vodní organismy, akumulaci v ekosystému, úbytek biologické rozmanitosti a ohrožení lidského zdraví (Karberová & Soldán 2011). Antropogenní tlaky se projevují znečištěním převážně nepolárními extrahovatelnými látkami, chlorovanými alifatickými uhlovodíky, polychlorovanými bifenoly, benzenem, toluenem, xylenem, těžkými kovy, amoniakem, dusičnany, herbicidy, pesticidy a dalšími látkami (Šunka et. al 2011).

Pesticidy se dostávají do povrchové i spodní vody především splavením pesticidů prudkými dešti či jejich zanesením větrem při aplikaci. Takto se dostávají do rybníků, toků potoků, řek a je možný i průnik půdou do podzemních vod (Hájková 2019).

Mikroplasty jsou plastové částice menší než 5 mm. Nejčastěji se jedná o polyethylentereftalát (PET), polypropylen (PP), polyethylen (PE) a dále polyamid, polyester či polyvinylchlorid. Do životního prostředí se mohou dostávat buď přímou cestou jako součást spotřebních výrobků (v kosmetice a čisticích prostředcích), nebo sekundárně rozpadem či rozkladem předmětů (Hájková 2019).

### 3.6.1.3 Kontaminace půdy

Znečištění půdy je celosvětový problém, který je způsobován průmyslem, těžbou, zemědělstvím, dopravou, vojenskou činností a odpady. Problém spjatý s půdami je hlavně v jejich ovlivňování pohyblivosti a biologického dopadu těchto toxinů v případě proniknutí do pitné vody (Sposito 2021).

Půda je biologicky aktivní porézní médium, které vzniklo procesem zvětrávání a nalézá se v nejvyšší vrstvě zemské kůry. Slouží jako zásobárna vody a živin, jako místo koloběhu života mnoha organismů, jako prostředí pro filtraci, rozklad škodlivých odpadů a cyklů mnoha prvků (Sposito 2021). Půda se skládá ze směsi minerálů a horninových úlomků (šterk, písek, bahno a jíly) vytvořených přirozenými procesy zvětrávání a organickou hmotou (Nathanson 2017). Jíly nazýváme částice v průměru menší než 0,002 mm, bahnem částice mezi 0,002 a 0,05 mm a pískem mezi 0,05 a 2 mm. Velikost zrn půdních částic ovlivňuje schopnost půdy transportovat a zadržovat vodu, vzduch a živiny (Sposito 2021). Velmi podstatná je propustnost půdních útvarů pod skládkou, která při vyšší permeabilitě nese větší rizika znečištění půdy. To může vést ke kontaminaci podzemní vody, znečištění okolních potoků a jezer. Půdy tvořené převážně šterkem a pískem jsou velmi porézní a propustné, což umožňuje snadný průnik vody. Bahnité půdy mají malé póry a jsou méně propustné. Jílové půdy jsou ze všech hornin nejbezpečnější, neboť jsou pro vodu téměř nepropustné (Nathanson 2017).

Podstatné záležitosti týkající se půd jsou eroze, degradace půdy, zasolení a znečištění. Velkým problémem je přítomnost cizorodých látek (xenobiotik) v půdě, které nejsou přirozeně produkovány biologickými druhy. Mnoho xenobiotik může být karcinogenních a jejich hromadění v životním prostředí ohrožuje toxickými účinky ekosystém. Mezi hlavní znečišťující látky půdy patří kovy (antimon – Sb, beryllium – Be, kadmium – Cd, chrom – Cr, měď – Cu, olovo – Pb, rtuť – Hg, nikl – Ni, Selen – Se, stříbro – Ag, thallium – Tl, zinek – Zn), průmyslové odpady (chlorovaná rozpouštědla, dioxiny, přísady do maziv, ropné produkty, změkčovadla a polychlorované bifenyly) a pesticidy (především herbicidy, insekticidy a fungicidy). Navýšení množství cizorodých sloučenin nastalo kvůli průmyslovým procesům a urychlené těžbě minerálů a fosilních paliv. Rizikové je i zavlažování kontaminovanou vodou (Sposito 2021).

Zemská pevnina může být znečišťována komunálním a průmyslovým odpadem. Obchodní nebo průmyslový odpad tvoří významnou část pevného odpadu. Odpad můžeme dělit na bezpečný a nebezpečný. Mezi bezpečné odpady řadíme například stavební materiál (dřevo, beton, cihly, sklo) a zdravotnický materiál (obvazy, chirurgické rukavice, chirurgické nástroje, vyřazené jehly). Za nebezpečné pak považujeme jak kapalný, pevný nebo kalový odpad, který obsahuje vlastnosti, které jsou nebezpečné nebo potenciálně škodlivé pro životní prostředí či dokonce lidské zdraví. Z průmyslového odvětví se jedná o odpad z těžby, rafinace ropy, výroby pesticidů a další chemické výroby. Z domácností sem spadají barvy, rozpouštědla, motorové oleje, zářivky, aerosolové plechovky a střelivo (Bradford 2018).

### 3.6.2 Léčiva v půdě a ve vodě

Přítomnost lidských a veterinárních léčivých preparátů v životním prostředí je považováno za potenciální hrozbu (Kodešová et. al 2016). Farmaceutické sloučeniny zahrnují širokou škálu chemikálií, včetně léků na předpis a léků volně prodejných, veterinárních léků,

diagnostických látek a doplňků stravy (Malchi et. al 2014). Užívání léků, a to hlavně antibiotik, u lidí i hospodářských zvířat sebou nese riziko kontaminace půd. Léčiva se odpady dostávají do půdy, odkud eventuálně mohou pronikat do podzemních vod nebo zemědělských plodin, případně se tak stát součástí potravních řetězců (Biologické centrum 2021). Jejich potencionální kontaminace životního prostředí je různá. Některá farmaceutika se mohou zadržovat pouze v půdě, jiná mohou být transportována do povrchových a podzemních vod povrchovým odtokem a infiltrací (Kodešová et. al 2016). Z léčiv, kterých se spotřebovává veliké množství, jsou nejvíce užívaná analgetika, protizánětlivá léčiva, antibiotika, betablokátory, kontraceptiva, neuroaktivní látky a cytostatika (Hájková 2019). Nejčastějšími léčivy, které se vyskytují v odpadních a povrchových vodách České republiky jsou trimethoprim, sulfamethoxazol, klindamycin, klarithromycin, atenolol, metoprolol a karbamazepin (Kodešová et. al 2016). Významnými zdroji, jak se léčiva dostávají do životního prostředí (půdy i vody), jsou díky přečištěné odpadní vodě, čistírenskými kaly a statkovými hnojivy (Kodešová 2018). Rezidua léčiv se do životního prostředí dostávají i třeba přes hnůj zvířat, která byla veterinárně léčena (nemetabolizovaná léčiva) a přes exkrementy domácích mazlíčků (psů, koček, hlodavců a ptáků). Hlavní způsob kontaminace reziduí je přes exkrementy prostřednictvím komunálního kanalizačního systému. V první řadě se jedná o nemocniční odpadní vody, vody z průmyslové výroby, odpadní kaly z čistíren odpadních vod v zemědělství a průsaky skládek (Hájková 2019). Kodešová (2018) uvedla, že složení látek v čistírenských kalech bývá často rozdílné, například ve velkých městech České republiky tvoří podstatnou část psychoaktivní látky, kardiovaskulární léčiva a antibiotika. Rozdíl ve složení farmaceutik a jejich metabolitů je i v aerobně a anaerobně stabilizovaném kalu. Obecně jsou v kalech nejvíce sledovány druhy léčiv z oblastí analgetik, protizánětlivých látek, psychofarmak a antibiotik. Nejpočetněji zastoupeny jsou ale psychoaktivní léky a jejich metabolity, antibiotika, antihypertenziva, antihistaminika, léky na snížení lipidů, analgetika a nesteroidní protizánětlivé látky, léky proti Alzheimerově chorobě, antiparkinsonika, stimulanty a další. Ve vyšších koncentracích se vyskytují sloučeniny jako je ibuprofen, citalopram, ciprofloxacin a norfloxacin (Ivanová et. al 2018).

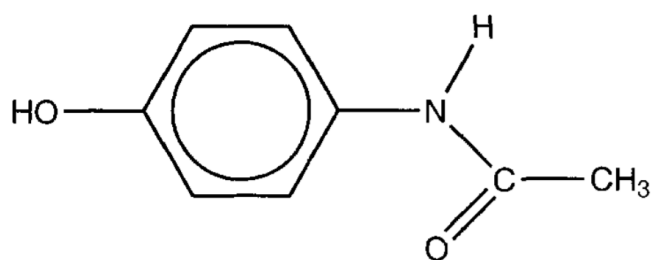
O tom, jak se léky budou chovat v půdě, rozhoduje především jak silně se vážou na půdní částice a do jaké míry jsou rozložitelné živými mikroorganismy (Biologické centrum 2021). Mnoho látek se u léčiv dokáže v půdě disociovat a v závislosti na pH daného půdního prostředí se tak vyskytovat v různých formách (neutrálních, aniontových a kationtových) (Kodešová 2018). Farmaceutické sloučeniny neiontové (karbamazepin, kofein a lamotrigin) se nacházejí v půdě, listech i kořenech významněji ve vyšších koncentracích než iontové (metoprolol, bezafibrát, kyselina klofibrová, diklofenak, gemfibrozil, ibuprofen, ketoprofen, naproxen, sulfamethoxazol a sildenafil) (Malchi et. al 2014). Z různorodých mechanismů transformace léčiv v půdě převažuje degradace mikrobiální, u které je rychlost metabolizovanosti ovlivňována vhodností podmínek pro mikroorganismy. Rychleji dochází k degradaci v černozemích, které jsou biologicky aktivní a kvalitnější než v půdách méně biologicky kvalitních, a tedy s horšími podmínkami pro mikroorganismy, jako jsou například kambizemě (Kodešová et. al 2016). Degradovatelnost léčiv je proto různorodá, ale především závisí na jejich chemickém složení. Kvůli tomu, že některá léčiva nejsou snadno degradovatelná v čistírnách odpadních vod, tak může dojít k následné kontaminaci vody. Velmi nebezpečná jsou cytostatika, která se používají při léčbě onkologických onemocnění (Hájková 2019).

Mnoho látek je k mikrobiální degradaci odolných, a proto se v životním prostředí vyskytují dlouhou dobu. Jejich riziko průniku do rostliny se zvyšuje. To, jak rostliny budou schopné vstřebávat látky, je ovlivňováno fyziologickými vlastnostmi samotné rostliny a vlastnostmi daných látek. Mobilita, příjem, a tedy celková dostupnost látek je podmíněna jejich chováním v půdě (sorpcí na půdní částice a transformací v půdním prostředí). Menší neutrální molekuly s nízkým počtem vodíkových vazeb, které jsou rozpustnější ve vodě než v tučných, rostliny vstřebávají snadněji a jsou v nich dále intenzivněji translokovány (Kodešová 2018). V rostlinách se proto může vyskytovat jak primární léčivo, tak i jeho metabolity, a to v koncentracích mnohdy několikanásobně vyššími, než byla původní látka. Je prokázáno, že pokud dojde ke konzumaci kontaminovaných částí rostlin (plodů, listů nebo kořenů), budou se v lidském organismu akumulovat některé látky. Mnoho látek se současně akumuluje v listech i kořenech (karbamazepin, lamotrigin, kofein, bezafibrát, kyselina klofibrová, sildenafil, sulfapyridin), v listech ale bývá obecně vyšší koncentrace těchto látek. Některé látky se však akumulují pouze v kořenech (sulfamethoxazol), nebo pouze v listech (metoprolol) (Malchi et. al 2014). Dle Kodešové (2018) je jedním z nejvýznamnějších léčiv snadno absorbovatelnými rostlinami karbamazepin. Karbamazepin se využívá při léčbě epilepsie, bolestí trojklanného nervu, diabetické neuropatie a současně působí preventivně proti vzniku depresí a migrén (Kodešová 2018). Metabolity karbamazepinu se dají nalézt jak v půdě, ve vodném extraktu z půdy, tak i v rostlinných orgánech (kořeny, listy) (Malchi et. al 2014).

Ivanová et. al (2018) udávají, že odhadovaná zatíženost půdy léčiv je 256 kg/rok. Z toho tvoří 45,4 % antihistaminika, 21,2 % kardiovaskulární léčiva, 14,5 % psychoaktivní látky, 4,6 % analgetika a nesteroidní protizánětlivé látky, 1,8 % léky na snížení lipidů, 1,6 % antibiotika a zbylá procenta ostatní léčiva a drogy. Rezidua léků v životním prostředí jsou hlavně rizikem pro ekosystémy, což se následně dotkne i lidské populace. K přímému ohrožení lidského zdraví může dojít v případě havárie či masivního úniku do krajiny (Hájková 2019). Léčiva mohou kontaminovat vodu, půdu a následně zemědělské plodiny na nich pěstovaných. Existuje proto pro člověka riziko konzumace léčiv z takto kontaminovaných rostlin (Kodešová 2018). Náchylnější k tomuto nebezpečí by byli hlavně děti, těhotné ženy a starší lidé. U některých látek by stačilo denně zkonzumovat několik kusů kontaminované plodiny, u jiných by museli sníst stovky kilogramů, což je prakticky nemožné. Navíc se množství obsažených látek mnohdy oloupaním slupky rapidně sníží (Malchi et. al 2014).

### 3.7 Acetaminofen

Acetaminophen (APAP), zvaný též paracetamol, je široce používaný lék. Jedná se o N-(4-Hydroxyphenyl) ethanamide. Molekulární vzorec  $C_8H_9NO_2$  (Bertolini et al. 2006; National Center for Biotechnology Information 2021) (Obr. 10). Čistý acetaminofen je bílá krystalická pevná látka. V této formě taje při 169–171 °C, má nízkou rozpustnost ve studené vodě (1,43 g / 100 cm<sup>3</sup>) a velmi dobrou rozpustnost v horké vodě (5 g / 100 cm<sup>3</sup>), či v ethanolu (14 g / 100 cm<sup>3</sup>) (Ellis 2002).



Obr. 10: Vzorec paracetamolu (upraveno podle: Ellis 2002)

Působí proti bolesti (analgetikum), snižuje tělesnou teplotu (antipyretikum), ale jeho protizánětlivé a antirevmatické účinky jsou zanedbatelné (Bertolini et al. 2006). Prodává se k léčbě a úlevě od nachlazení a chřipky. Acetaminofen je relativně bezpečný lék, ale při vysokých dávkách (dávkách vyšších než 10–15 g) působí toxicky. To je způsobeno chemickou strukturou sloučeniny a způsobem, jakým ji naše tělo rozkládá (Ellis 2002; National Center for Biotechnology Information 2021).

Acetaminofen je účinná látka v běžně užívaných lécích proti bolesti a horečce. V současné době existuje více než 90 produktů obsahující acetaminofen, které mají mnoho různých komerčních názvů a jsou vhodné pro děti i dospělé. Jeho obsah je v jednotlivých přípravcích různý. V preparátech bývá buď jedinou účinnou složkou, nebo je součástí vícesložkových léků, které obsahují směs acetaminofenu a dalších účinných látek (např.: kodeinu a kofeinu). Užívá se několika způsoby a existuje v mnoha formách. Především jako tablety, ale i jako šumivé tablety, pediatrické perorální roztoky, perorální suspenze, čípky a tobolky (Ellis 2002; Státní ústav pro kontrolu léčiv 2021).

## 4 Metodika

Experimentální část diplomové práce probíhala na katedře botaniky a fyziologie rostlin Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze. Pokus měl za cíl sledovat a vyhodnotit vliv acetaminofenu na klíčení a růst semen hrachu setého (*Pisum sativum*). Z důvodu klíčení hypogeickým typem, byl u klíčích semen popisován hypokotyl (nadzemní část) a radikula (kořen). Klíčení probíhalo za optimálních podmínek v klimatizovaném boxu za tmy, při konstantní teplotě 25 °C a vlhkosti 60 % (Obr. 11). Za klíčivého jedince bylo považováno semeno s primárním kořenem o minimální délce 2 mm. Klíčení semen bylo hodnoceno v 1denních intervalech. První měření se uskutečnilo 24 hodin od založení pokusu a následná měření následovala ve stejných rozestupech. Poslední den se od děloh odřízla radikula a hypokotyl, které se zvážily. Tyto části se usušily a opětovně zvážily.



Obr. 11: Klíčení v klimatizované komoře Memmert (zdroj: autor práce)

Celá experimentální část lze rozdělit na 3 větší segmenty. V prvním segmentu se pracovalo s různými koncentracemi acetaminofenu, v druhé s různými koncentracemi polyethylenglykol a ve třetí kombinacemi těchto dvou látek. Dohromady se pracovalo s 17 variantami: H<sub>2</sub>O; 0,2 g/l APAP; 0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP. Varianta s destilovanou vodou (H<sub>2</sub>O) sloužila ke kontrole a k porovnání hodnot. Očekávalo se zjištění, jak koncentrace acetaminofenu (APAP) ovlivní klíčení. Zda bude mít nějaký vliv – nastane změna rychlosti klíčení, délky kořínku nebo nadzemní části, či zda některá koncentrace bude fatální. Polyethylenglykol (PEG 6000) v různých koncentracích sloužil jako rozličně silný stres z nedostatku vody, u kterého jsme věděli že negativně ovlivní klíčení. Kombinace různých



koncentrací acetaminofenu a polyethylenglykolu měly přinést zjištění, co se stane, když na klíčení semen bude působit více látek najednou.

Z důvodu většího množství variant byl pokus rozdělen na 5 částí, ve kterých se postupně pracovalo se všemi variantami. Dohromady trvala každá část 6 dní (1 den založení pokusu, 4 dny měření a vážení živých částí klíčícího semene + 1 den vážení sušiny).

## 4.1 Materiály, roztoky a pomůcky

### 4.1.1 Materiály

Pro experiment byl za materiální rostlinu vybrán hrách setý (*Pisum sativum*) v množství 20 semen na jednu Petriho misku. Konkrétně se zvolila peluška odrůdy Arvika.

Peluška neboli hrách rolní (*Pisum sativum* ssp. *arvense*) má semena kulovitá, smáčklá nebo hranatá většinou tmavší barvy od hnědé, šedozelené až po fialovou. Mohou být jednobarevná nebo s případnou kresbou osemení ve tvaru teček, skvrn či mramorování od fialové po hnědou barvu. Květ je barevný ve fialových odstínech, a to od červenofialové po růžovou (Lahola et al. 1990). V úžlabí palistů má červené (antokyanové) zabarvení (Petr et al. 1974). Lodyha je dlouhá, málo pevná a poléhavá. Využití má především jako pícní plodina pro krmné účely ve formě zelené hmoty či jako zelené hnojení. Semena obsahují hořké látky, a proto se nepoužívají pro účely potravinářské či krmivářské, výjimkou je krmení sportovních holubů (Houba et al. 2009). Ke klíčení vyžaduje mnohem méně vláhy než hrách, a to přibližně 70 % vlastní hmotnosti semen. Není tolik citlivá na přísušek, a pěstovat se proto může i na chudších písčitéch půdách, či naopak na vlhčích půdách, než by snášel hrách (Lahola et al. 1990). Není náchylná na přírodní podmínky a snáší i vyšší polohy. Pěstuje se převážně v luskovinoobilných směskách či ve směsích s jinými druhy. Sortiment pelušky obsahuje 10 odrůd, z čehož je většina jarních a pouze jedna je ozimá (Houba et al. 2009). Určujícími kritérii při volbě odrůdy jsou ranost z hlediska včasného a vysokého výnosu zelené hmoty a dle vhodnost podmínek prostředí (Hosnedl & Hochman 1994).

Odrůda Arvika vznikla křížením odrůd Weibulls Parvus a Violetta (Lahola et al. 1990). Její pěstování je povoleno od roku 1972. Jedná se o pozdní až polopozdní plastickou výnosnou odrůdu, která je pěstovaná na píci (Hosnedl & Hochman 1994). Rostlina je vysoká s poléhavým habitem. Kveté červenofialovými květy pravidelně párovitě nasazovanými. Lusk má krátký rovný či mírně prohnutý. Semena má tmavá a velmi drobná o HTS 150 g (Lahola et al. 1990).

### 4.1.2 Roztoky

Byl používán acetaminophen (APAP), polyethylenglykol (PEG) a destilovaná voda (H<sub>2</sub>O).

Acetaminofen je latinky Acetaminophen. Nazývá se též jako paracetamol, APAP, 4-Hydroxyacetanilide, 4-Acetamidophenol, N-(4-Hydroxyphenyl) aceramide, N-Acetyl-4-aminophenol. Jedná se o bílou krystalickou pevnou látku. Pro experiment byl použit v koncentracích 0,2 g/l; 0,4 g/l; 0,6 g/l; 0,8 g/l a 1 g/l.

Pro stres z nedostatku vody byl zvolen polyethylene glycol, též polyethylenglykol (PEG 6000). Ten slouží jako regulátor vodního potenciálu, jinak lze využít i k omezení dostupnosti

kyslíku u klíčících semen. Pro práci byl použit v koncentracích 7,5 mM; 15 mM; 22,5 mM; 30 mM; 37,5 mM a 45 mM.

### 4.1.3 Pomůcky

K používaným pomůckám spadaly Petriho misky s průměrem 10 mm, filtrační papíry o průměru 110 mm, rukavice, pinzeta, odměrný válec, odměrné baňky, kádinky, keramický hmoždír s tloučkem, sítko, skalpel, metr, váženka a papírové pytlíčky.

Z přístrojů se upotřebily třepačka VWR lab dancer (Obr. 12), laboratorní váha OHAUS AX223M (Obr. 13), orbitální klimatizovaná komora Memmert ICP 400 (Obr. 14) a sušárna s ventilátorem Memmert 100-800 (Obr. 15).



Obr. 12: Orbitální třepačka VWR lab dancer (zdroj: autor práce)

Obr. 13: Laboratorní váha OHAUS AX 223M (zdroj: autor práce)



Obr. 14: Klimatizovaná komora Memmert ICP 400 (zdroj: autor práce)

Obr. 15: Sušárna s ventilátorem Memmert 100-800 (zdroj: autor práce)

## 4.2 Postup experimentu

### 4.2.1 Dezinfekce

Potřebnými materiály byla semena hrachu, chlornan sodný v podobě SAVA Original, destilovaná voda, kádinka, sítko a rukavice.

Nejprve se navážilo dostatečné množství semen hrachu setého pro celý experiment. Vytvořil se roztok pro dezinfekci v podobě 5 ml SAVA důkladně rozmíchaného ve 100 ml kádince s destilovanou vodou. Semena byla následně 5 minut ošetřována 5% roztokem chlornanu sodného. Načež se semena přes sítko scedila a 3krát propláchla destilovanou vodou.

Použito bylo SAVO Original, které obsahuje chlornan sodný (NaClO) a hydroxid sodný (NaOH). Účinnou látkou je chlornan sodný v množství 47 g/kg (4,7 %). Jeho využití je především na dezinfekci vody a povrchů, za účelem likvidace bakterií, virů, řas a mikroskopických hub.

### 4.2.2 Příprava roztoků

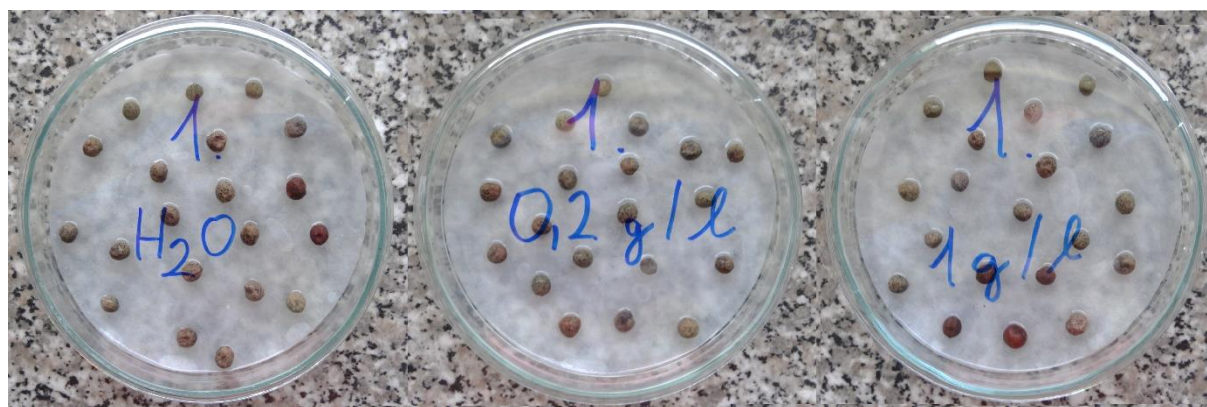
Potřebnými materiály byla váha, orbitální třepačka, váženka, lžička, keramický hmoždír s tloučkem, odměrné baňky, destilovaná voda, acetaminofen a polyethylenglykol.

Na digitální váze se dle varianty navážilo potřebné množství acetaminofenu (APAP) nebo polyethylenglykolu (PEG 6000), který se pak rozmíchal v destilované vodě (H<sub>2</sub>O). PEG bylo pro lepší rozpustnost vhodné nejprve rozmělnit v hmoždíři tloučkem. Například pro variantu 0,2 g/l APAP se navážilo 20 mg acetaminofenu, který se přesypal do baňky a dolil se do 100 ml destilovanou vodou.

### 4.2.3 Příprava experimentu

Nejprve jsme všechny Petriho misky vydezinfikovali ethanolem. Ty pak následně vyložili filtračním papírem a na něj byla pinzetou umístována semena hrachu. Semena, která byla ošetřena chloridem sodným, byla vkládána vždy po 20, nejlépe tak, aby se nedotýkala. Důvod pro rozdělení sta semen jedné varianty do 5 misek bylo předejití eventuálního ohrožení celého experimentu plesnivěním některé z misek. Semena klíčila za tmy v klimatizované komoře Memmert ICP 400, při konstantní teplotě 25 °C a vlhkosti 60 %.

Pracovalo se s 17 variantami: H<sub>2</sub>O; 0,2 g/l APAP; 0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP. Podle varianty se do Petriho misek přidalo 15 ml příslušného roztoku a misky se pečlivě popsaly (Obr. 16).



Obr. 16: Popsaní Petriho misky (zdroj: autor práce)

#### 4.2.4 Měření, vážení a sušení

V průběhu experimentu se každý den pracovalo se stejnou Petriho miskou dané varianty. U všech variant se změřila zcela natažená radikula a hypokotyl (Obr. 17). Výjimkou byl první den, kdy se měřila jen radikula, neboť hypokotyl nebyla doposud viditelný. Poslední den se po jejich naměření obě tyto části skalpelem odřízly, jak je znázorněno na Obr. 18. Ty se samostatně zvažily (FW – fresh weight = hmotnost čerstvé hmoty) laboratorní váhou OHAUS AX223M a vložily se do popsaných sáčků k sušení. Naměřené a navážené hodnoty se zapisovaly pro porovnání a následné výpočty.



Obr. 17: Měření délky radikuly a hypokotylu (zdroj: autor práce)



Obr. 18: Odřezané části semen (zdroj: autor práce)

Nasušená radikula a hypokotyl (Obr. 19) se následně zvažily (DW – dry weight = hmotnost sušiny) laboratorní váhou OHAUS AX223M.



Obr. 19: Nasušená radikula a hypokotyl ve váženkách (zdroj: autor práce)

### 4.3 Testy klíčivosti

#### 4.3.1 Klíčivost

Klíčivost semen (seed germination) je procentický podíl klíčivých semen v testovaném vzorku osiva, stanovených za optimálních podmínek pro daný botanický druh a v čase vymezeném pro klíčení (období kdy je klíčení ukončeno) (Houba & Hosnedl 2002; Šerá 2014).

$$\text{klíčivost semen (\%): } SG = \frac{G_f}{S} * 100$$

Kdy  $G_f$  je počet vyklíčených semen na konci kultivace;  $S$  je celkový počet testovaných semen.

#### 4.3.2 Energie klíčení

Energie klíčení (germination energy) objasňuje intenzitu a vyrovnanost klíčení. Vyjadřuje procentuální množství vyklíčených semen vzorku osiva v daném čase (v období před ukončením procesu klíčení) (Šerá 2014).

$$\text{energie klíčení (\%): } GE = \frac{G_t}{S} * 100$$

Kdy  $G_t$  je počet vyklíčených ve dne  $t$ ;  $S$  je celkový počet testovaných semen.

#### 4.3.3 Rychlost klíčení

Rychlost klíčení (germination speed) vypovídá o celkové vitalitě testovaných semen. Jde o procentuální poměr počtu vyklíčených semen na začátku a na konci stanovené doby (Šerá 2014).

$$\text{rychlost klíčení (\%): } GS = \frac{G_t}{G_f} * 100$$

Kdy  $G_t$  je počet vyklíčených ve dne  $t$ ;  $G_f$  je počet vyklíčených semen na konci kultivace.

#### 4.4 Statistické vyhodnocení

Výsledky byly zaneseny do programu Microsoft Excel a pro následné vyhodnocení byl použit statistický program STATISTICA 12. Zvolenou metodou byla jednofaktorová ANOVA a pro podrobnější vyhodnocení Schefféův test. Stanovenou hladinou významnosti byla  $\alpha = 0,05$ . K výpočtům parametrů klíčivosti byl použit Microsoft Excel.

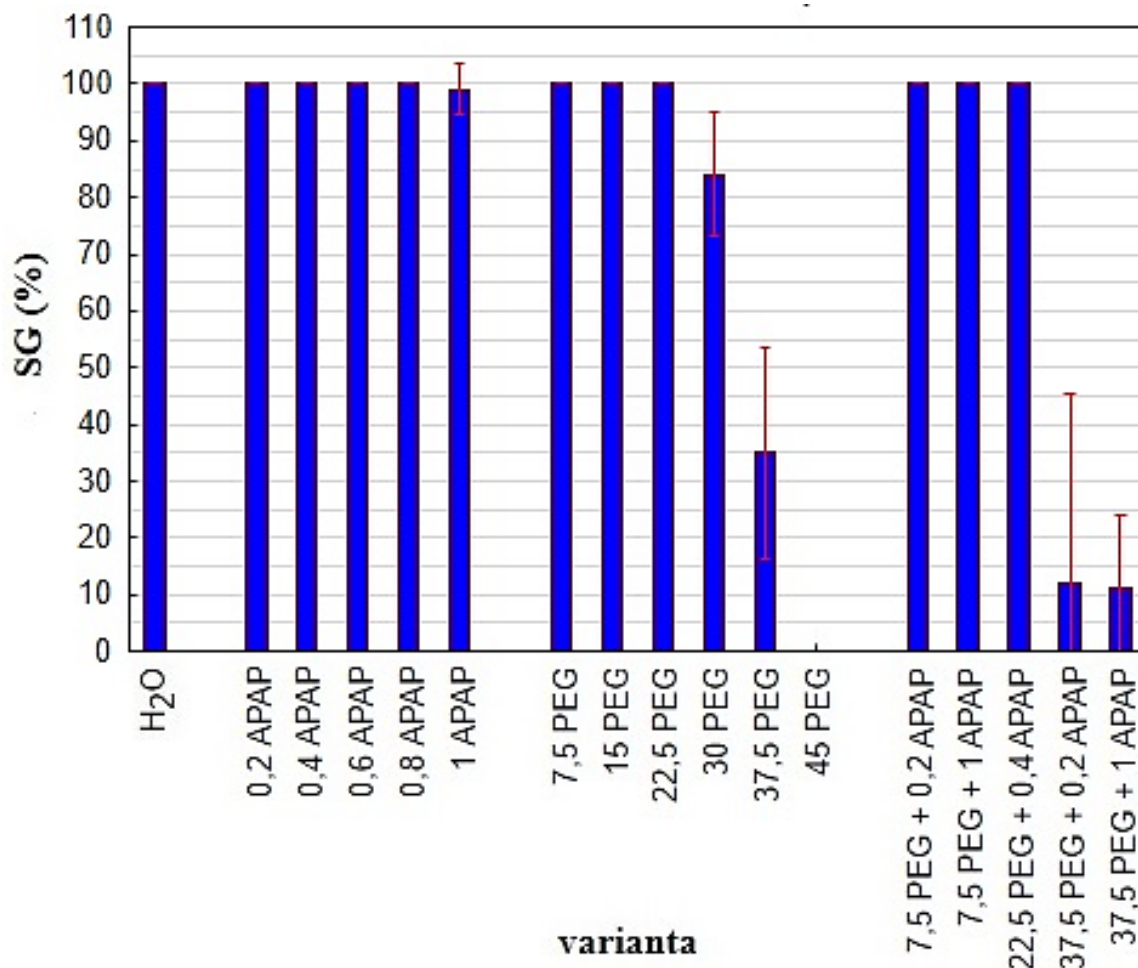
Nulová hypotéza byla stanovena jako:  $H_0 =$  Neexistuje statisticky významný rozdíl mezi variantami testovaných souborů.



## 5 Výsledky

### 5.1 Parametry klíčivosti

Za klíčivého jedince bylo považováno semeno s primárním kořenem o minimální délce 2 mm.



Obr. 20: Průměrná klíčivost (SG) semen hrachu (v %)

Legenda: APAP = acetaminofen, v g/l; PEG = polyethylenglykol, v mM

Na první pohled je patrné, že průměrná klíčivost hrachu setého byla až na výjimky téměř vyrovnaná a u většiny variant stoprocentní. Výraznější rozdíly se nacházely u variant: 30 mM PEG (84 %); 37,5 mM PEG (35 %); 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP (12 %); 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP (11 %); 45 mM PEG (0 %).

Tab. 2: Průměrná energie klíčení (GE) a rychlost klíčení (GS) semen hrachu (v %)

<b>varianta</b>	<b>den klíčení</b>	<b>GE (%)</b>	<b>GS (%)</b>
<b>H<sub>2</sub>O</b>	1.	<b>24,00 ± 12,54</b>	<b>24,00 ± 12,54</b>
	2.	<b>100,00 ± 0,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
	3.	<b>100,00 ± 0,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
<b>0,2 g/l APAP</b>	1.	<b>15,00 ± 5,48</b>	<b>15,00 ± 5,48</b>
	2.	<b>100,00 ± 0,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
	3.	<b>100,00 ± 0,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
<b>0,4 g/l APAP</b>	1.	<b>11,00 ± 5,83</b>	<b>11,00 ± 5,83</b>
	2.	<b>95,00 ± 4,47</b>	<b>95,00 ± 4,47</b>
	3.	<b>100,00 ± 0,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
<b>0,6 g/l APAP</b>	1.	<b>8,00 ± 2,45</b>	<b>8,00 ± 2,45</b>
	2.	<b>98,00 ± 4,00</b>	<b>98,00 ± 4,00</b>
	3.	<b>100,00 ± 0,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
<b>0,8 g/l APAP</b>	1.	<b>9,00 ± 3,74</b>	<b>9,00 ± 3,74</b>
	2.	<b>99,00 ± 2,00</b>	<b>99,00 ± 2,00</b>
	3.	<b>100,00 ± 0,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
<b>1 g/l APAP</b>	1.	<b>23,00 ± 6,78</b>	<b>23,32 ± 7,13</b>
	2.	<b>99,00 ± 2,00</b>	<b>100,05 ± 3,25</b>
	3.	<b>99,00 ± 2,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
<b>7,5 mM PEG</b>	1.	<b>8,00 ± 4,00</b>	<b>8,00 ± 4,00</b>
	2.	<b>100,00 ± 0,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
	3.	<b>100,00 ± 0,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
<b>15 mM PEG</b>	1.	<b>1,00 ± 2,00</b>	<b>1,00 ± 2,00</b>
	2.	<b>97,00 ± 2,45</b>	<b>97,00 ± 2,45</b>
	3.	<b>100,00 ± 0,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
<b>22,5 mM PEG</b>	1.	<b>1,00 ± 2,00</b>	<b>1,00 ± 2,00</b>
	2.	<b>90,00 ± 5,48</b>	<b>90,00 ± 5,48</b>
	3.	<b>99,00 ± 2,00</b>	<b>99,00 ± 2,00</b>
<b>30 mM PEG</b>	1.	<b>0,00 ± 0,00</b>	<b>0,00 ± 0,00</b>
	2.	<b>35,00 ± 15,81</b>	<b>42,22 ± 20,38</b>
	3.	<b>71,00 ± 8,60</b>	<b>84,72 ± 11,14</b>
<b>37,5 mM PEG</b>	1.	<b>0,00 ± 0,00</b>	<b>0,00 ± 0,00</b>
	2.	<b>4,00 ± 3,74</b>	<b>11,11 ± 9,30</b>
	3.	<b>19,00 ± 7,35</b>	<b>53,11 ± 11,30</b>
<b>45 mM PEG</b>	1.	<b>0,00 ± 0,00</b>	<b>0,00 ± 0,00</b>
	2.	<b>0,00 ± 0,00</b>	<b>0,00 ± 0,00</b>
	3.	<b>0,00 ± 0,00</b>	<b>0,00 ± 0,00</b>
<b>7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP</b>	1.	<b>3,00 ± 2,45</b>	<b>3,00 ± 2,45</b>
	2.	<b>100,00 ± 0,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
	3.	<b>100,00 ± 0,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
<b>7,5 mM PEG + 1 g/l APAP</b>	1.	<b>3,00 ± 4,00</b>	<b>3,00 ± 4,00</b>
	2.	<b>100,00 ± 0,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
	3.	<b>100,00 ± 0,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
<b>22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP</b>	1.	<b>0,00 ± 0,00</b>	<b>0,00 ± 0,00</b>
	2.	<b>82,00 ± 4,00</b>	<b>82,00 ± 4,00</b>
	3.	<b>100,00 ± 0,00</b>	<b>100,00 ± 0,00</b>
<b>37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP</b>	1.	<b>0,00 ± 0,00</b>	<b>0,00 ± 0,00</b>
	2.	<b>0,00 ± 0,00</b>	<b>0,00 ± 0,00</b>
	3.	<b>3,00 ± 4,00</b>	<b>11,67 ± 14,53</b>
<b>37,5 mM PEG + 1 g/l APAP</b>	1.	<b>0,00 ± 0,00</b>	<b>0,00 ± 0,00</b>
	2.	<b>0,00 ± 0,00</b>	<b>0,00 ± 0,00</b>
	3.	<b>5,00 ± 2,45</b>	<b>88,33 ± 60,92</b>

Legenda: APAP = acetaminofen, v g/l; PEG = polyethylenglykol, v mM

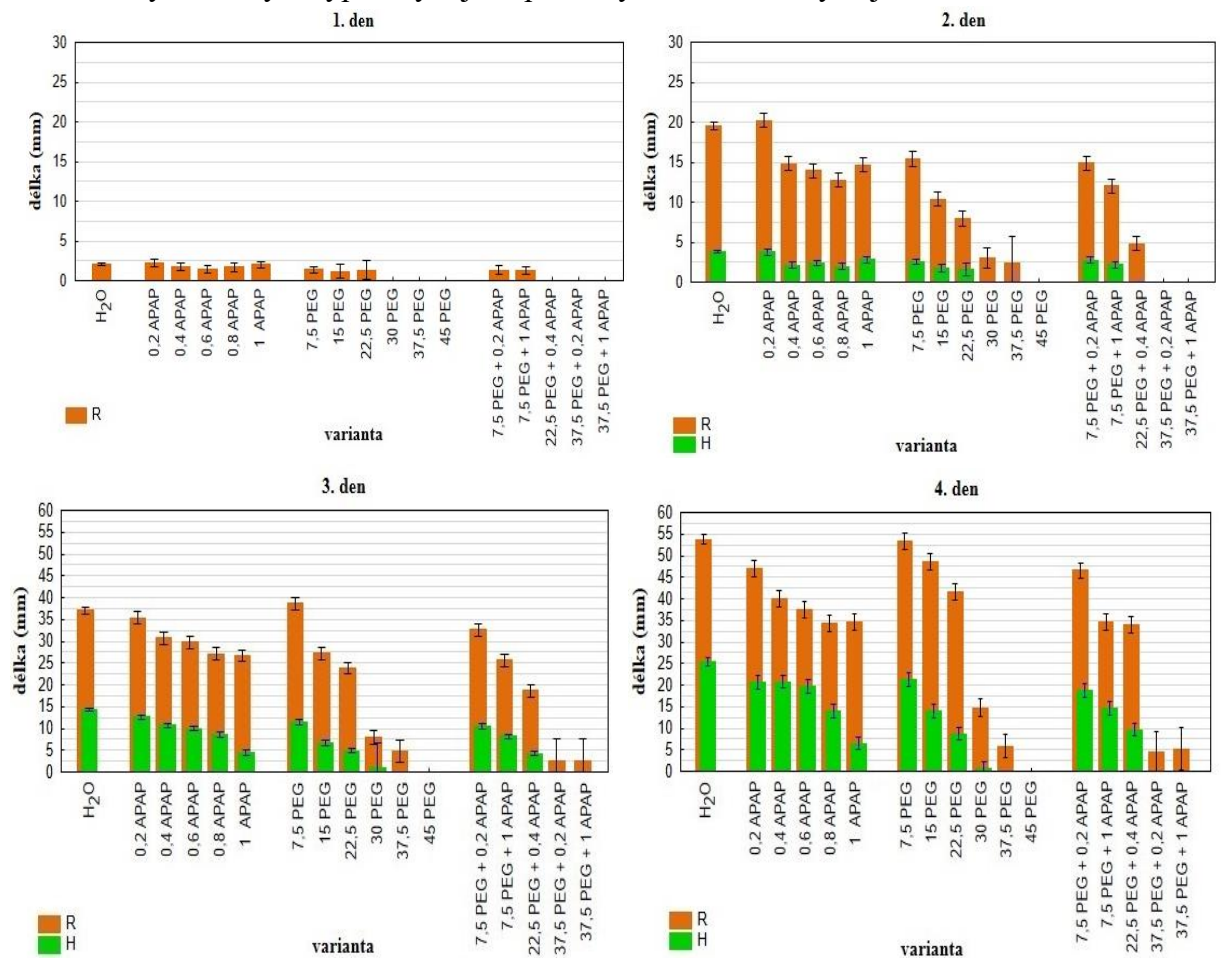


Z Tab. 2 lze vyčíst, že průměrná energie klíčení (GE) semen hrachu byla první den nízká u všech variant. Mnoho variant mělo první den dokonce nulovou energii klíčení (varianty: 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP). Nejvyšší energie klíčení se první den vyskytovala u variant: H<sub>2</sub>O (24 %); 1 g/l APAP (23 %); 0,2 g/l APAP (15 %). Druhý den nastalo u většiny variant k výraznému zvýšení energie klíčení, dokonce sto procentní energie dosahovaly varianty: H<sub>2</sub>O; 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP. Naopak stále nulovou energii měly varianty: 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP. Nárůst energie klíčení proběhl i třetí den, a to u všech variant, kromě těch, které již druhý den dosahovaly 100 %, dále varianty 1 g/l APAP, která si udržela 99 % a varianty 45 mM PEG, která měla stále 0 %.

Tabulka obsahuje i údaje o průměrné rychlosti klíčení (GS) semen hrachu. Tyto údaje jsou často shodné s energií klíčení (GE). Rozdílí se nacházejí u variant: 1 g/l APAP; 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP.

## 5.2 Délka radikuly a hypokotylu

Délky radikuly a hypokotylu jsou počítány u reálně vzešlých jedinců.



Obr. 21: Průměrné délky radikuly a hypokotylu klíčících semen hrachu po dnech (v mm)

Legenda: APAP = acetaminofen, v g/l; PEG = polyethylenglykol, v mM; R = radikula; H = hypokotyl

Je zřejmé, že první den žádná varianta neměla ještě hypokotyl a průměrnou radikulu měly všechny varianty do 2,5 mm. Z důvodu žádného nevyklíčeného semene, měly nulovou délku radikuly varianty: 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP. Prostřednictvím F testu vyšla p hodnota 0,00; byla tedy menší než 0,05; tudíž mezi variantami existovaly statisticky významné rozdíly. Dle Scheffého metody existoval statisticky průkazný rozdíl v průměrné délce radikuly mezi kontrolou (H<sub>2</sub>O) a 7 dalšími variantami (7,5 mM PEG; 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP). Varianta 7,5 mM PEG měla rozdíly dále s 6 variantami (30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP). Dále byl statisticky významný rozdíl v průměrné délce radikuly mezi 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP a 7 variantami (0,2 g/l APAP; 0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP).

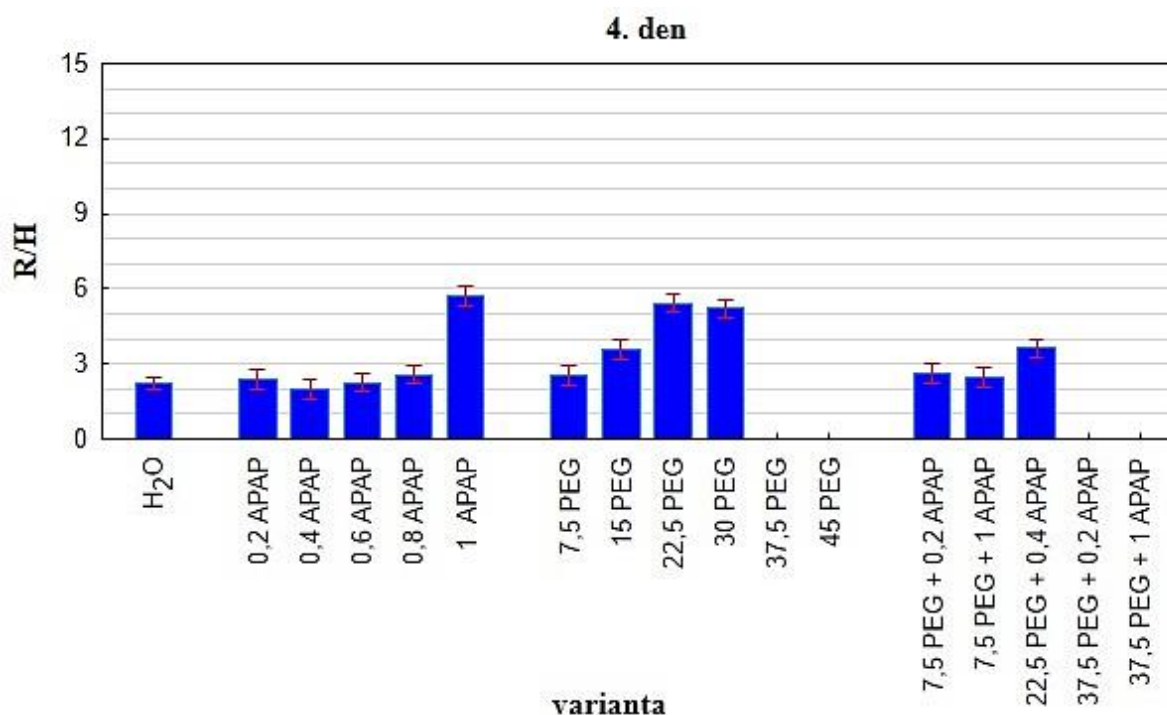
Druhý den došlo u většiny variant k prodloužení radikuly, výjimkou byly přetrvávající nulové hodnoty u 3 variant: 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP. Nejvyšší průměrnou délku radikuly měly varianty: 0,2 g/l APAP (20,20 mm); H<sub>2</sub>O (19,57 mm); 7,5 mM PEG (15,42 mm). Hypokotyl začal růst u většiny variant, výjimkou byly varianty: 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP. Nejvyšší průměrnou délku hypokotyly měly varianty: H<sub>2</sub>O (3,87 mm); 0,2 g/l APAP (3,75 mm); 1 g/l APAP (2,86 mm). Prostřednictvím F testu vyšla jak u průměrné délky radikuly i hypokotyly p hodnota 0,00; byla tedy menší než 0,05; tudíž mezi variantami existovaly statisticky významné rozdíly. Neexistoval statisticky průkazný rozdíl v průměrné délce radikuly mezi kontrolou (H<sub>2</sub>O) a variantou 0,2 APAP, vůči ostatním variantám měly tyto dvě varianty statisticky významné rozdíly. Statisticky průkazný rozdíl v průměrné délce hypokotyly neexistoval mezi variantou 22,5 PEG a 2 variantami (30 mM PEG; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP). U 5 variant (30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP) neexistovali mezi sebou statisticky významné rozdíly. Variantám 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP a 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP neexistovaly statisticky průkazné rozdíly mezi nimi navzájem a ještě mezi 4 variantami (0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP). Navzájem mezi sebou neexistovaly dále u variant 0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 7,5 mM PEG. Variantě 7,5 mM PEG dále neexistoval statisticky významný rozdíl s variantou 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP. Dle Scheffého metody existoval statisticky průkazný rozdíl v průměrné délce hypokotyly mezi kontrolou (H<sub>2</sub>O) a všemi variantami vyjma dvou (0,2 g/l APAP; 1 g/l APAP). To samé platilo i pro variantu 0,2 g/l APAP, která neměla statisticky průkazné rozdíly se 4 variantami (H<sub>2</sub>O; 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP). U 8 variant (0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP) existoval statisticky významný rozdíl v průměrné délce hypokotyly s 6 variantami (30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP).

Třetí den došlo u všech variant k prodloužení radikuly, výjimkou byla pouze varianta 45 mM PEG, která zůstala nulová. Nejvyšší průměrnou délku radikuly měly varianty: 7,5 mM

PEG (38,65 mm); H<sub>2</sub>O (37,09 mm); 0,2 g/l APAP (35,37 mm). Hypokotyl se též začal prodlužovat a začal růst i u dalších variant, než tomu bylo předchozí den (30 mM PEG; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP). Stále nenastal růst u 4 variant: 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP. Nejdelší hypokotyl měly tento den varianty: H<sub>2</sub>O (14,46 mm); 0,2 g/l APAP (12,58 mm); 7,5 mM PEG (11,44 mm). Prostřednictvím F testu vyšla jak u průměrné délky radikuly i hypokotylu p hodnota 0,00; byla tedy menší než 0,05; tudíž mezi variantami existovaly statisticky významné rozdíly. Neexistoval statisticky průkazný rozdíl v průměrné délce radikuly mezi kontrolou (H<sub>2</sub>O), variantou 0,2 APAP a variantou 7,5 PEG, vůči ostatním variantám měly tyto tři varianty statisticky významný rozdíl. Statisticky průkazný rozdíl v průměrné délce hypokotylu neexistoval mezi variantami: 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP. U varianty 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP existovaly statisticky významné rozdíly se všemi variantami až na 22,5 mM PEG. Varianta 22,5 mM PEG neměla statisticky významné rozdíly ještě s variantami: 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 15 mM PEG; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP. Dále neexistoval statisticky průkazný rozdíl napříč 5 variantami: 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 15 mM PEG; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP). Dle Scheffého metody existoval statisticky významný rozdíl v průměrné délce hypokotylu mezi kontrolou (H<sub>2</sub>O) a všemi ostatními variantami. Varianta 30 PEG neměla průkazný statistický rozdíl s žádnou variantou až na H<sub>2</sub>O. Dále varianta 0,2 neměla statisticky významné rozdíly s 0,4 g/l APAP; 7,5 mM PEG. 4 varianty (37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP) neměly mezi sebou navzájem statisticky průkazné rozdíly v průměrech hypokotylu, ale oproti ostatním variantám měly. Statisticky významné rozdíly byly i mezi 0,4 g/l APAP a 6 variantami (0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP). Dále mezi variantou 0,6 g/l APAP a 4 variantami (1 g/l APAP; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP), variantou 0,8 g/l APAP a 4 variantami (1 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 22,5 mM PEG; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP), variantou 1 g/l APAP a 4 variantami (7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP), variantou 7,5 mM PEG a 4 variantami (15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP), variantou 15 mM PEG a 2 variantami (7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP), variantou 22,5 mM PEG a 2 variantami (7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP). Nakonec napříč mezi sebou měly statisticky významné rozdíly v průměrné délce hypokotylu varianty 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP.

Čtvrtý den nastalo u všech variant k výraznému prodloužení radikuly, výjimkou byla pouze varianta 45 mM PEG, která zůstala nulová. Nejvyšší průměrnou délku radikuly měly varianty: H<sub>2</sub>O (53,75 mm); 7,5 mM PEG (53,25 mm); 15 mM PEG (48,46 mm). Hypokotyl se též začal prodlužovat, ale stále nezačal růst u 4 variant: 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP. Nejdelší hypokotyl měly tento den varianty: H<sub>2</sub>O (25,47 mm); 7,5 mM PEG (21,27 mm); 0,4 g/l APAP (20,82 mm). Prostřednictvím F testu vyšla jak u průměrné délky radikuly i hypokotylu p hodnota 0,00; byla tedy menší než 0,05; tudíž mezi variantami existovaly statisticky významné rozdíly. Neexistoval statisticky průkazný rozdíl v průměrné délce radikuly mezi kontrolou (H<sub>2</sub>O), variantou 7,5 mM PEG a variantou 15 mM PEG, vůči ostatním variantám měla H<sub>2</sub>O statisticky významný rozdíl. Mezi

sebou navzájem nemělo statisticky významné rozdíly v průměrné délce radikuly 6 variant (0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP). Varianty 0,6 g/l APAP a 1 g/l APAP neměly rozdíly ještě s variantou 22,5 mM PEG. Varianta 0,2 g/l APAP neměla statisticky významné rozdíly s 5 variantami (0,4 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP), varianta 22,5 mM PEG s 3 variantami (0,4 g/l APAP; 15 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP), varianta 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP s 3 variantami (0,4 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG) a dále varianta 7,5 mM PEG s variantou 15 mM PEG. Mezi sebou nemělo statisticky významné rozdíly v průměrné délce radikuly 5 variant (30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP). Dle Scheffého metody existoval statisticky průkazný rozdíl v průměrné délce hypokotylu mezi kontrolou (H<sub>2</sub>O) a všemi ostatními variantami. Mezi sebou navzájem nemělo statisticky významné rozdíly v průměrné délce hypokotylu 5 variant (30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP). Dále napříč mezi sebou nemělo statisticky významné rozdíly 5 variant (0,2 g/l APAP; 0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP). Varianta 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP neměla statisticky průkazné rozdíly v průměrné délce hypokotylu s 5 variantami (0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 15 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP), varianta 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP se 4 variantami (0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG), napříč mezi sebou 3 varianty (0,8 g/l APAP; 15 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP) a nakonec mezi sebou navzájem varianta 1 g/l APAP a 22,5 mM PEG.

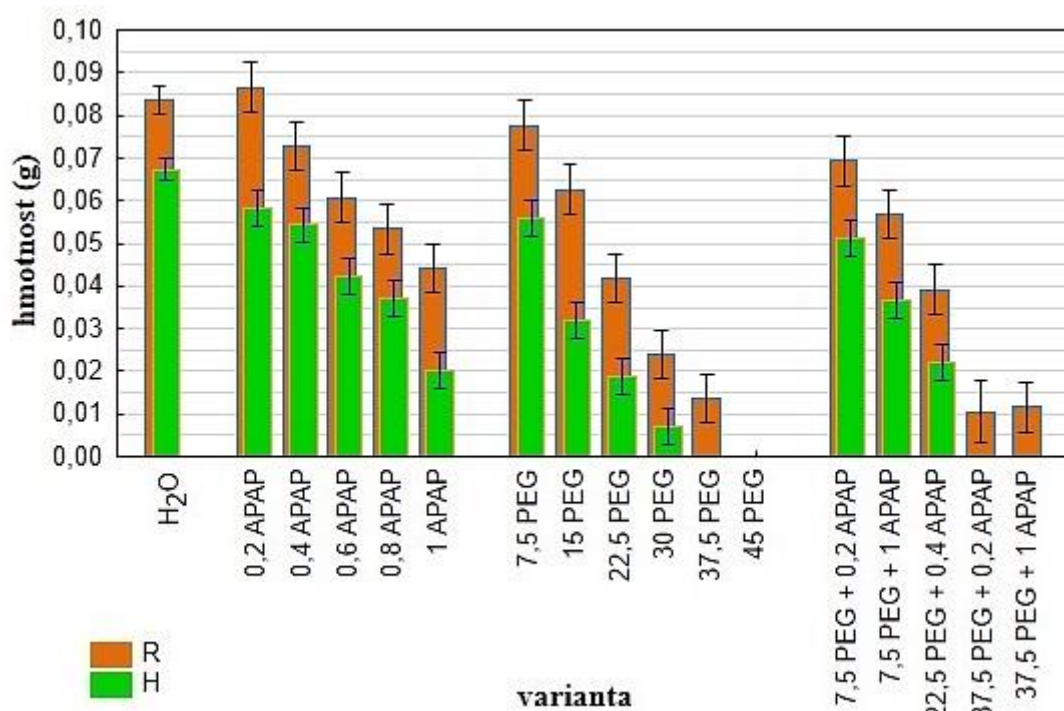


Obr. 22: Poměr délky radikuly a hypokotylu klíčících semen hrachu ke 4. dni

Legenda: APAP = acetaminofen, v g/l; PEG = polyethylenglykol, v mM; R/H = poměr radikuly (R) a hypokotylu (H)

Je evidentní, že největší průměrný poměr délky radikuly a hypokotylu klíčících semen hrachu ve čtvrtý den byla u varianty 1 g/l APAP (5,72), o 0,29 byla menší varianta 22,5 mM PEG (5,43) a o 0,52 varianta 30 mM PEG (5,20). Nulový poměr hmotnosti měly 4 varianty (37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP), neboť jim nenarostl žádný hypokotyl. Prostřednictvím F testu vyšla p hodnota 0,00; byla tedy menší než 0,05; tudíž mezi variantami existovaly statisticky významné rozdíly. Dle Scheffého metody existoval statisticky průkazný rozdíl v průměrném poměru délky radikuly a hypokotylu mezi kontrolou (H<sub>2</sub>O) a 9 dalšími variantami (1 g/l APAP; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP). Varianty 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP měly statisticky významné rozdíly se všemi variantami kromě sebe navzájem a 2 variantami (37,5 mM PEG; 45 mM PEG). Varianty 37,5 mM PEG a 45 mM PEG mezi sebou navzájem taky neměly průkazné rozdíly. Varianty 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG; 30 mM PEG měly statisticky významné rozdíly se všemi variantami kromě sebe navzájem. A nakonec existovaly statisticky průkazné rozdíly v průměrném poměru délky radikuly a hypokotylu mezi variantou 0,4 g/l APAP a 2 variantami (22,5 mM PEG; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP).

### 5.3 Hmotnost radikuly a hypokotylu



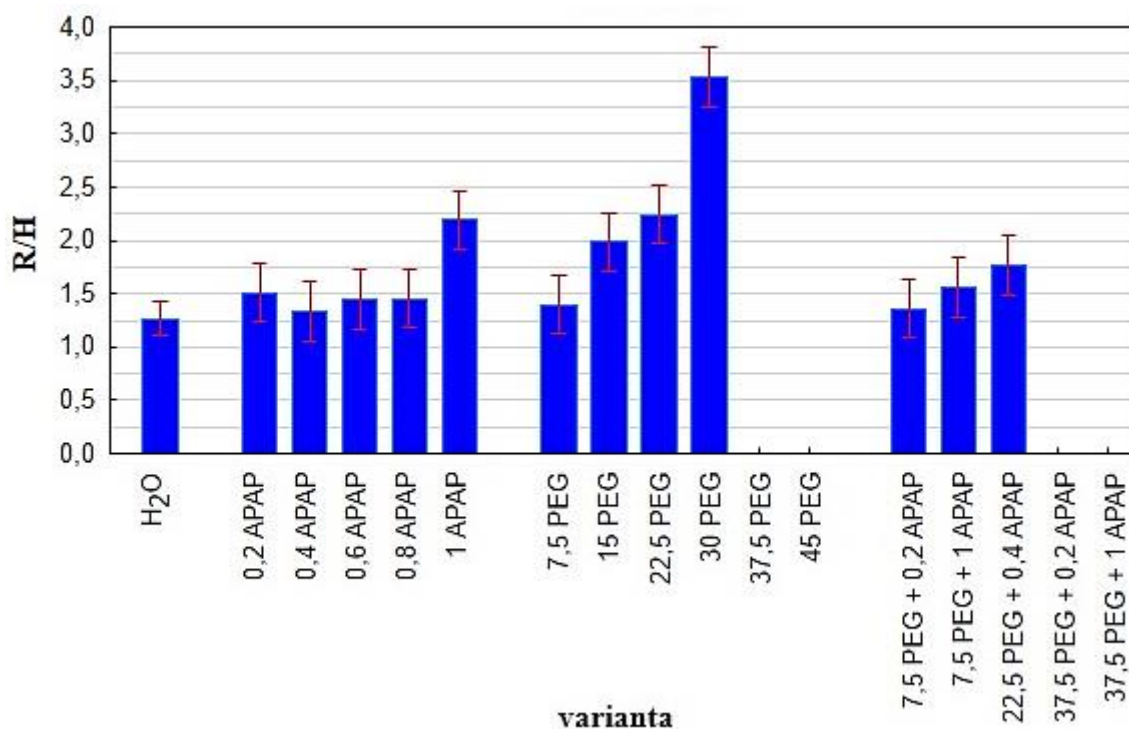
Obr. 23: Průměrná hmotnost čerstvé hmoty radikuly a hypokotylu jednoho klíčícího semena hrachu ve 4. den (v g)

Legenda: APAP = acetaminofen, v g/l; PEG = polyethylenglykol, v mM; R = radikula; H = hypokotyl

Je patrné, že čtvrtý den byla navážena průměrná nejvyšší hmotnost radikuly jednoho klíčícího semena hrachu u varianty 0,2 g/l APAP (0,087 g), o 0,003 g byla lehčí varianta H<sub>2</sub>O (0,084 g) a o 0,009 g varianta 7,5 mM PEG (0,078 g). Nejnížší průměrnou hmotnost kořene

měly varianty 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP (0,012 g); 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP (0,011 g); 45 mM PEG (0,000 g). Průměrnou hmotnost hypokotylu měla nejvyšší varianta H<sub>2</sub>O (0,067 g), o 0,009 g nižší varianta 0,2 g/l APAP (0,058 g) a o 0,011 g varianta 7,5 mM PEG (0,056 g). Z důvodu nevyrostlého hypokotylu měly jeho nulovou hmotnost varianty: 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP. Prostřednictvím F testu vyšla p hodnota 0,00; byla tedy menší než 0,05; tudíž mezi variantami existovaly statisticky významné rozdíly. Dle Scheffého metody existovaly statisticky významné rozdíly v průměrné hmotnosti čerstvé hmoty radikuly jednoho klíčícího semena hrachu ve 4. den mezi kontrolou (H<sub>2</sub>O) a 12 variantami (0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP), se stejnými variantami měla statisticky významné rozdíly i varianta 0,2 g/l APAP. Varianty 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP měly statisticky významné rozdíly s 10 variantami (0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP). Varianta 30 mM PEG měla statisticky významné rozdíly s 8 variantami (0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 45 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP), varianty 1 g/l APAP a 22,5 mM PEG mají s 3 variantami (0,4 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP), varianta 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP s 4 variantami (0,4 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP) a varianta 0,8 g/l APAP s variantou 7,5 mM PEG. Existoval statisticky významný rozdíl v průměrné hmotnosti čerstvé hmoty hypokotylu jednoho klíčícího semena hrachu ve 4. den mezi kontrolou (H<sub>2</sub>O) a 13 variantami (0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP), až na 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP měla se stejnými variantami statisticky průkazné rozdíly i varianta 0,2 g/l APAP. Varianty 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP měly statisticky významné rozdíly v hmotnosti hypokotylu s 10 variantami (0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP), varianty 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG; 30 mM PEG měly s 6 variantami (0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP), varianty 0,4 g/l APAP a 7,5 PEG s 4 variantami (0,8 g/l APAP; 15 mM PEG; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP), varianta 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP s 2 variantami (15 mM PEG; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP) a nakonec varianta 0,6 g/l APAP s variantou 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP.

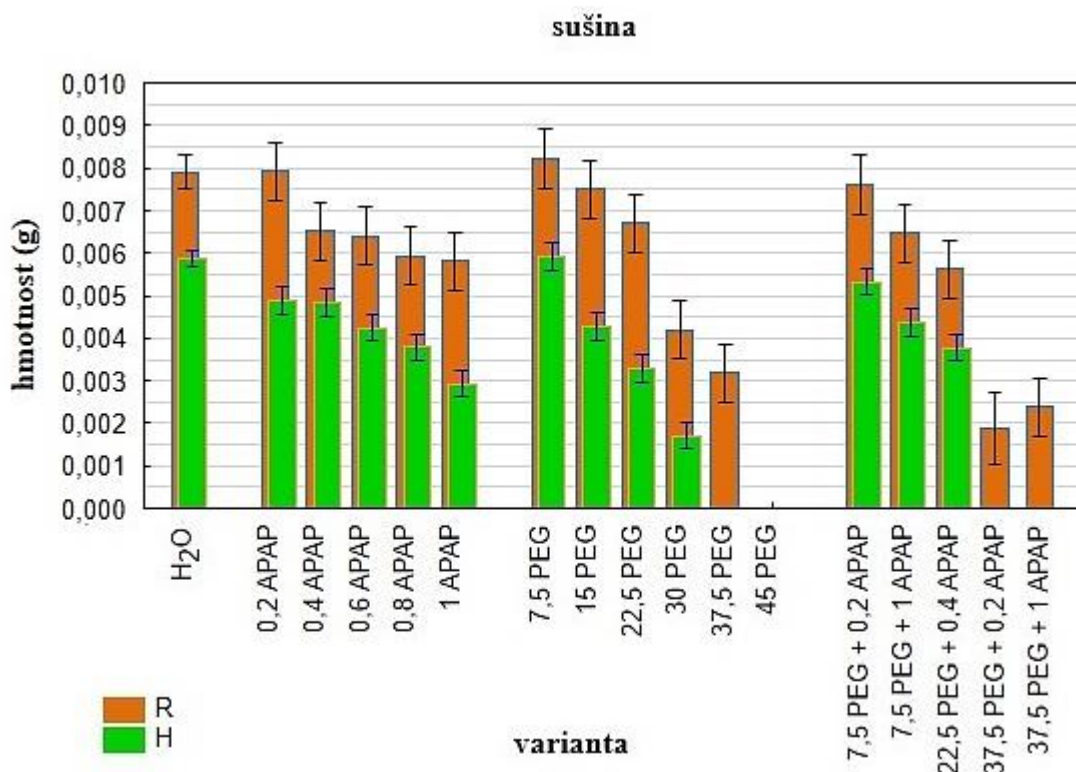




Obr. 24: Poměr hmotnosti čerstvé hmoty radikuly a hypokotylu jednoho klíčícího semena hrachu ke 4. dni

*Legenda: APAP = acetaminofen, v g/l; PEG = polyethylenglykol, v mM; R/H = poměr radikuly (R) a hypokotylu (H)*

Je zřetelné, že největší průměrný poměr hmotnosti čerstvé hmoty radikuly a hypokotylu jednoho klíčícího semena hrachu ve čtvrtý den byla u varianty 30 mM PEG (3,53), o 1,29 byla menší varianta 22,5 mM PEG (2,24 g) a o 1,33 varianta 1 g/l APAP (2,20). Nulový poměr hmotnosti měly 4 varianty (37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP), neboť jim nenarostl žádný hypokotyl. Prostřednictvím F testu vyšla p hodnota 0,00; byla tedy menší než 0,05; tudíž mezi variantami existovaly statisticky významné rozdíly. Dle Scheffého metody existoval statisticky průkazný rozdíl v poměru průměrné hmotnosti čerstvé hmoty radikuly a hypokotylu jednoho klíčícího semena hrachu mezi kontrolou (H<sub>2</sub>O) a 7 variantami (1 g/l APAP; 22,5 mM PEG; 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP). Dále existoval statisticky průkazný rozdíl 5 variant (30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP) s 12 variantami (0,2 g/l APAP; 0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 30 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP), jen mezi variantami 37,5 mM PEG a 45 mM PEG neexistovaly statisticky průkazné rozdíly.



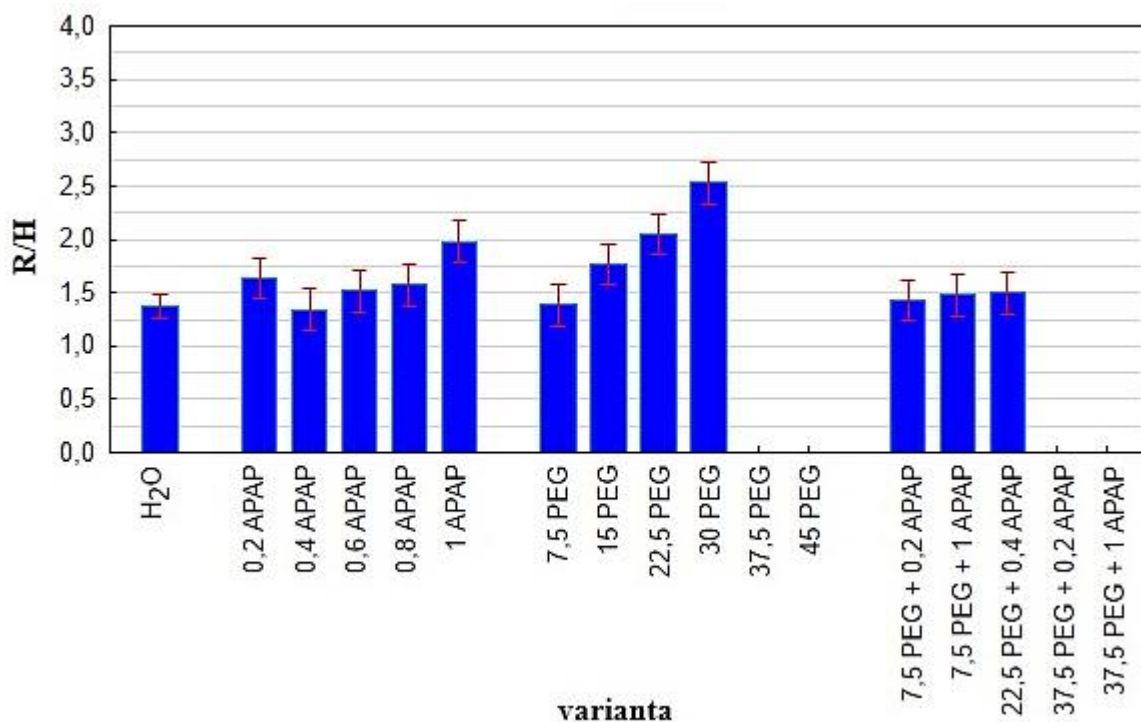
Obr. 25: Průměrná hmotnost sušiny radikuly a hypokotylu jednoho klíčícího semena hrachu ve 4. den (v g)

*Legenda: APAP = acetaminofen, v g/l; PEG = polyethylenglykol, v mM; R = radikula; H = hypokotyl*

Je zřejmé, že nejvyšší průměrná hmotnost sušiny radikuly jednoho klíčícího semena hrachu ve 4. dni byla u varianty 7,5 mM PEG (0,00822 g), druhou nejvyšší hmotnost měla varianta 0,2 g/l APAP (0,00792 g) a třetí H<sub>2</sub>O (0,00791 g). Nejnižší hmotnost sušiny radikuly byla, jako u čerstvé hmoty, a to u variant 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP (0,00238 g); 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP (0,00189 g); 45 mM PEG (0 g). Průměrnou hmotnost sušiny hypokotylu měla nejvyšší varianta 7,5 mM PEG (0,00593 g), druhou nejvyšší varianta H<sub>2</sub>O (0,00587 g) a třetí varianta 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP (0,00533 g). Z důvodu nevyrostlého hypokotylu měly jeho nulovou hmotnost varianty: 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP. Prostřednictvím F testu vyšla p hodnota 0,00; byla tedy menší než 0,05; tudíž mezi variantami existovaly statisticky významné rozdíly. Dle Scheffého metody existoval statisticky významný rozdíl v průměrné hmotnosti sušiny radikuly jednoho klíčícího semena hrachu mezi kontrolou (H<sub>2</sub>O) a 7 variantami (1 g/l APAP; 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP). Varianta 45 mM PEG měla statisticky významné rozdíly se všemi variantami kromě 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP a 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP. Varianty 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP a 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP měly statisticky průkazné rozdíly s 11 variantami (0,2 g/l APAP; 0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP), varianta 37,5 mM PEG s 10 variantami (0,2 g/l APAP; 0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG;



7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP), varianta 30 mM PEG s 5 variantami (0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP) a nakonec varianta 7,5 mM PEG s variantou 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP. Existovaly statisticky průkazné rozdíly v průměrné hmotnosti sušiny hypokotylu jednoho klíčícího semena hrachu ve 4. dni mezi kontrolou (H<sub>2</sub>O) a 13 variantami (0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 1 g/l APAP; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP). Varianty 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP měly statisticky významné rozdíly v hmotnosti hypokotylu se všemi variantami kromě sebe navzájem. Varianta 30 mM PEG měla statisticky průkazné rozdíly s dalšími 10 variantami (0,2 g/l APAP; 0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP), varianta 1 g/l APAP se 7 variantami (0,2 g/l APAP; 0,4 g/l APAP; 0,6 g/l APAP; 7,5 mM PEG; 15 mM PEG; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP), varianta 7,5 mM PEG s 6 variantami (0,6 g/l APAP; 0,8 g/l APAP; 15 mM PEG; 22,5 mM PEG; 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP), varianta 22,5 mM PEG s 3 variantami (0,2 g/l APAP; 0,4 g/l APAP; 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP) a varianta 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP s 2 variantami (0,8 g/l APAP; 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP).



Obr. 26: Poměr hmotnosti sušiny radikuly a hypokotylu jednoho klíčícího semena hrachu ke 4. dni

*Legenda: APAP = acetaminofen, v g/l; PEG = polyethylenglykol, v mM; R/H = poměr radikuly (R) a hypokotylu (H)*

Je očividné, že největší průměrný poměr hmotnosti sušiny radikuly a hypokotylu jednoho klíčícího semena hrachu ve čtvrtý den byl jako u živé hmoty u varianty 30 mM PEG (2,53). O 0,48 byl menší poměr u varianty 22,5 mM PEG (2,05) a o 0,55 u varianty 1 g/l APAP (1,98), opět stejné varianty jako u živé hmoty. Nulový poměr hmotnosti měly jako u živé hmoty 4 varianty (37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP), neboť jim nenarostl žádný hypokotyl. Prostřednictvím F testu vyšla p hodnota 0,00; byla tedy menší než 0,05; tudíž mezi variantami existovaly statisticky průkazné rozdíly. Dle Scheffého metody existovaly statisticky významné rozdíly v poměru průměrné hmotnosti sušiny radikuly a hypokotylu jednoho klíčícího semena hrachu ve 4. den mezi kontrolou (H<sub>2</sub>O) a 7 variantami (1 g/l APAP; 22,5 mM PEG; 30 mM PEG; 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP). Dále existoval statisticky průkazný rozdíl variant 37,5 mM PEG; 45 mM PEG; 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP se všemi variantami kromě sebe navzájem. A nakonec varianta 30 mM PEG měla statisticky průkazné rozdíly se všemi variantami kromě 1 g/l APAP a 22,5 mM PEG.

## 6 Diskuze

Po *Poacea* představují luštěniny druhou ekonomicky nejvýznamnější skupinu rostlin, která tvoří přibližně 27 % světové rostlinné produkce (Graham et Vance 2003). Jedná se přibližně o 18 000–19 000 druhů z 670–750 rodů luštěnin. Hrách setý (*Pisum sativum*) je chutná sezonní luštěnina se širokým využitím. Z důvodu vyššího obsahu bílkovin je důležitý jeho výnos, který je značně závislý na klíčivosti semen. Klíčení a raný růst sazenic jsou k abiotickým stresům mnohdy citlivější než dospělé rostliny, ale i u těch mohou vést k poranění a v extrémních případech i ke smrti (Luan et al. 2014). Klíčení semen potřebuje optimální množství kyslíku, vody, tepla a světla. Pokud je některý z těchto faktorů v nadbytku nebo nedostatku, může způsobovat negativní ovlivnění klíčení (Procházka et al. 1998).

### 6.1 Zatížení a stresy

Růst a výnosnost rostlin vystavených abiotickým stresům, jako je vodní deficit nebo znečištění, jsou hlavní problémy, které v současné době znepokojují vědce v oblasti produkce potravin a zdraví rostlin (Khalvati et al. 2010). Jedná se tedy o velmi aktuální témata, neboť tyto faktory mohou u rostlin způsobovat horší zdravotní stav, ztráty na úrodě a zdravotní problémy konzumentů. Khalvati et al. (2010) uvádějí, že vzhledem k intenzifikaci živočišné výroby a s ní spojené zvýšené poptávce po krmivech, došlo k vyššímu užívání chemických hnojiv. Velmi často se jedná o komunální odpad a kaly z odpadních vod, které jsou považovány za možný zdroj živin pro rostliny, ačkoli mohou obsahovat značné množství antropogenních znečišťujících látek (Khalvati et al. 2010). Do toho se mohou měnit i klimatické podmínky a mohou nastávat neočekávané situace. V přírodě na rostliny najednou působí několik faktorů, a proto je důležité zjistit, jak fungují (zda se sčítají, či třeba ruší). Cílem práce je proto pozorovat a vyhodnocovat vliv zátěží a stresů na klíčení semen hrachu setého (*Pisum sativum*).

První část této práce se zabývá působením léčiv. Zvolil se acetaminofen (paracetamol) jako modelové xenobiotikum s významem pro životní prostředí. Antropogenní znečištění bylo navozeno acetaminophenem v koncentracích 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 a 1 g/l. Předpokládal se negativní vliv na klíčení. Druhou částí bylo vyhodnotit účinky nedostatku vody. Vodního deficitu se dosáhlo pomocí polyethylene glycol (PEG 6000) v koncentracích 7,5; 15; 22,5; 30; 37,5 a 45 mM/l. I zde se očekávalo negativní působení na sledované parametry, a to především u vyšších koncentrací. Třetí část je zaměřena na dopad kombinací těchto dvou látek na klíčení. Jednalo se o varianty 7,5 mM/l PEG + 0,2 g/l APAP; 7,5 mM/l PEG + 1 g/l APAP; 22,5 mM/l PEG + 0,4 g/l APAP; 37,5 mM/l PEG + 0,2 g/l APAP; 37,5 mM/l PEG + 1 g/l APAP. Domnívalo se, že kombinace dvou látek, kde se očekávali negativní vlivy na klíčení budou mít spíše ještě horší důsledek na sledované parametry.

Mezi sledované parametry patří: klíčivost semen, energie klíčení, rychlost klíčení, délka i hmotnost čerstvé hmoty (FW – fresh weight) radikuly a hypokotylu, či hmotnost sušiny (DW – dry weight) radikuly a hypokotylu, poměr hmotnosti čerstvé hmoty radikuly a hypokotylu, poměr hmotnosti sušiny radikuly a hypokotylu. Výsledky práce dokumentují vliv navozených zatížení či stresů na klíčení semen *Pisum sativum*. Z výsledků je patrné, že až na absolutní inhibici klíčení semen u varianty 45 mM PEG, kde nevyklíčilo žádné semeno, neovlivňuje antropogenní zatížení léčivy a abiotický stres sucha klíčení semen, tak jak jsme očekávali. Může

se předpokládat, že je hrách ke stresovým podmínkám tolerantnější, jako některé jiné plodiny. Například u čiroku krmného (*Sorghum bicolor* L.) byla prokázána menší náchylnost k salinitě a suchu, než má dochan klasnatý (*Pennisetum americanum* L.). V tomto experimentu se zkoumal vliv hladin slanosti za pomoci rozličných koncentrací NaCl a hladiny vodního deficitu prostřednictvím koncentrací PEG-6000 na rychlost klíčení, délku radikuly a hypokotylu, hmotnost sušiny a vitalitu semen (Khalesrou & Agha Alikhani 2008).

### 6.1.1 Antropogenní znečištění

Antropogenní znečištění vzniká vlivem lidské činnosti a v dnešní době představuje globální problém pro organismy životního prostředí. Täschinā et al. (2017) ve své studii uvádějí, že byla nalezena antidepresiva, antibiotika, antihistaminika a analgetika v půdě a v pitné vodě, a proto narostly obavy z vlivu různých farmaceutických produktů a jejich metabolitů na životní prostředí. Léčiva se dostávají do suchozemského prostředí aplikací vyčištěných odpadních vod, čistírenských kalů a biologických pevných látek do zemědělské půdy. Musí se proto počítat i s případnými kumulativními účinky při dlouhodobé a opakované expozici v zemědělských půdách (Pino 2016). Existuje mnoho dohad a nezodpovězených otázek o chování léčiv v půdě, jako je jejich adsorpce, degradace, poločas rozpadu a jejich účinky na půdní organismy a rostliny (Timmerer et al. 2020).

Acetaminophen (APAP), zvaný též paracetamol, je široce používaná účinná látka především proti bolesti (analgetikum) a snížení tělesné teploty (antipyretikum) (Bertolini et al. 2006). Patří mezi nesteroidní protizánětlivé léky (NSAID) (Pino et al. 2016). Jeho obsah je v jednotlivých přípravcích různý. Je považován za relativně bezpečný lék, dokud není ve vysokých dávkách, kde se stane až toxickým (Ellis 2002).

Vývoj semen 3 odrůd pšenice (*Triticum*) pod účinky paracetamolu v koncentracích 50, 100 a 250 mg zkoumali Türkoğlu a Osma a Elveren (2018) a zjistili, že jeho vlivem dochází ke zpomalení vývoje radikuly a hypokotylu v semence. Soaresa et al. (2016) pozorovali vliv acetaminofenu na ječmen setý (*Hordeum vulgare* L.) a rozpoznali, že tato látka způsobuje oxidační stres (už při 87,8 mg kg<sup>-1</sup>), zhoršení růstu a fyziologické výkonnosti. Na semenech lociky seté (*Lactuca sativa*) prováděli experiment Pino et al. (2016), u kterých zkoumali toxicitu 15 běžných léčiv při klíčení. Jedním z léků byl paracetamol, u kterého zjistili spíše nižší toxicitu. Mezi primární a nejzjevnější účinky toxických sloučenin na rostliny patří inhibice klíčení semen a růstu radikuly, ale většinou dosahují jen malých fytostatických účinků (v případě koncentrace léčiv až 1000 mg L<sup>-1</sup> vede k inhibici klíčení méně než 12 %) (Pino et al. 2016). Ve všech experimentech a studiích docházelo i přes rozdílné rostlinné materiály a jiné koncentrace k podobným výsledkům. S přihlédnutím k tomu, že nejsou zaznamenané předpokládané výraznější rozdíly mezi semeny klíčovými v optimálních podmínkách (H<sub>2</sub>O) a podmínkách vystaveným stresu, lze přisuzovat nižší variabilitu výsledků a neprůkaznost rozdílů nezkušenosti s měřením stanovených parametrů vyklíčených semen. Značnou roli zde může hrát i zvolená odrůda hrachu. Souhrnně z uvedených výzkumů vyplývá, že acetaminophen při vyšších koncentracích snižuje klíčení semen a inhibuje radikulu s hypokotylem.

## 6.1.2 Vodní deficit

Voda je životně důležitá pro růst a vývoj rostlin. Stres z nedostatku vody (trvalý či dočasný) omezuje růst, snižuje šíření přirozené vegetace a výkonnost pěstovaných rostlin více, než jakékoli jiné faktory životního prostředí (Shao et al. 2008). Je proto jedním z nejpodstatnějších environmentálních faktorů. Nejvýznamnější důsledky, které způsobuje, jsou: snižování růstu, zpomalení vývoje a pokles produkce rostlin (Khodarahmpour 2011). Konkrétně hrách je zvláště citlivý na stres z vodního deficitu, a to především v době klíčení semen. Dostupnost vody je jeden z rozhodujících vlivů, které ovlivňují bobtnání semen, aktivaci hormonů a nastartování klíčení. Při nízkém množství vody dochází ke zpomalení nebo k úplnému zastavení klíčení (Okçu & Kaya & Atak 2005).

Polyethylene glycol, též polyethylenglykol (PEG) se v mnoha výzkumech používá jako regulátor vodního potenciálu, může však u klíčících semen omezovat i dostupnost kyslíku. Cílem studie s travními druhy bylo zjistit, zda PEG negativně ovlivňuje klíčivost a rychlost klíčení semen. Z ní vyplynulo, že působení polyethylenglykolu klíčivost semen nesnižuje (Emmerich & Hardegree 1907) nebo jeho vliv v poklesu celkového procenta klíčení není eminentní (Hardegree & Emmerich 1994). To podpořily i výsledky mého experimentu, kde pouze u variant s nižší koncentrací (méně než 30 mM PEG), se projevila propad v těchto sledovaných kritériích. U 7,5; 15 a 22,5 mM PEG je klíčivost (SG), energie klíčení (GE) i rychlost klíčení (GS) téměř totožná s kontrolou (H<sub>2</sub>O). To však již neplatí u variant 37,5 a 45 mM PEG, kde jsou parametry značně sniženy či u varianty 45 mM PEG z důvodu nevyklíčeného žádného semene dokonce nulové. Luan et al. (2014) ve svém experimentu se semeny slunečnice (*Helianthus annuus* L.) zjistili, že koncentrace polyethylene glycolu dosahující vodního potenciálu nad -2,24 MPa způsobuje toxický efekt, který zapříčiňuje pokles klíčivosti na nulu. V experimentu s mungo fazolemi (*Vigna radiata*) se zabývalo vlivem různých úrovní vodního deficitu (pomocí PEG-6000), kde bylo zjištěno, že s rostoucím suchem výrazně klesá klíčivost, růst sazenic (délka radikuly a hypokotylu) i nárůst čerstvé hmoty (De & Kar 1995). Tyto závěry podpořil i pokus s hybridy kukuřice seté (*Zea mays*), kde vodní nedostatek (za pomoci PEG 6000) snížil procento klíčení, rychlost klíčení, délku radikuly, délku hypokotylu a vitalitu semen. Současně se s rostoucí koncentrací zvyšoval poměr délky radikuly a hypokotylu (Khodarahmpour 2011). Liang, Zhou a Yan (2007) doplnili tyto úsudky o studii zabývající se klíčením semen 4 druhů kostřav (*Festuca*) při různorodých koncentracích PEG. Zde vyšší koncentrace polyethylenglykolu (10–15%) významně inhibovala rychlost klíčení, energii klíčení, růst radikuly a hypokotylu, index klíčení a index vitality. Se zvyšující se koncentrací PEG docházelo k zintenzivnění zpomalení všech sledovaných kritérií. Ošetření polyethylenglykolem způsobilo v případě hypokotylu výraznější inhibiční účinek na růst než u radikuly. Obráceně tomu bylo při aplikaci nižší koncentrace (5% PEG), kde podpořila růst radikuly (Liang & Zhou & Yan 2007). To naznačují i výsledky mé práce, kde varianta 7,5 mM PEG dosahuje čtvrtý den pokusu téměř shodných výsledků jako kontrola (H<sub>2</sub>O), a v průměrné hmotnosti sušiny radikuly a hypokotylu ji dokonce předčila. Nedocílilo se pozitivnějších výsledků této varianty pomocí podpoření růstu nižší koncentrací PEG, lze s přihlédnutím k předpokladům, že klíčení při stresových podmínkách má dosahovat horších výsledků, jeví se zde určitá chyba během měření. Můžeme se ale domnívat, že takto nízká koncentrace polyethylenglykolu pouze ještě nedosahovala hranice od kdy působí negativně.

Neopomeneme-li informace výše popsané, můžeme sledovat účinek sucha na zpomalení klíčení semen. Zároveň se potvrdil efekt snižování klíčivosti, energie klíčení a rychlosti klíčení semen se vzestupným vodním nedostatkem. Murillo-Amador et al. (2002) uvedli zajímavé zjištění, a to že nepříznivý účinek polyethylenglykol na klíčení, vzcházení a raný růst semenáčků je způsobován spíše osmotickým účinkem než specifickým iontem. To potvrzuje ve svém experimentu se semeny slunečnice (*Helianthus annuus* L.) Luan et al. (2014).

## 6.2 Shrnutí

Z výsledků je evidentní, že semena hrachu jsou k suchu náchylnější než k léčivům, ale i u nich docházelo se zvyšující se koncentrací k výraznějšímu snížení všech parametrů. Dá se předpokládat, že i u paracetamolu by při určité koncentraci došlo k takovému stresu, že by nevyklíčilo žádné semeno, jako tomu bylo v případě 45 mM PEG. Dle mnoha výzkumů by klíčivost semen měla při nepříznivých podmínkách (stresech) dosazovat nižších hodnot a být pomalejší než v optimálních podmínkách. To se u vyšších koncentrací ratifikovalo. Základní předpoklad o nižší klíčivosti, pomalejším klíčení a nižších hodnotách sledovaných vlastností při klíčení semen v nepříznivých environmentálních podmínkách se ověřil. Stoprocentní klíčivost semen hrachu se předpokládala u kontroly (H<sub>2</sub>O), a tedy i jediné varianty nevystavené žádným stresorům, kde se tato domněnka potvrdila, a proto jde o průkazná data. Můžeme tedy hypotézu o negativním vlivu antropogenní zátěže i sucha na klíčení a fyziologický stav rostlin ratifikovat.

V případě kombinací stresorů (sucha i léčiv) rozhodně došlo ke zhoršení sledovaných parametrů. Jak zvyšující se koncentrace acetaminofenu, tak zvyšující se koncentrace polyethylenglykolu vedla k prohloubení a zhoršení působení stresu. Zdá se, že u většiny měřených parametrů v případě dodání nejnižší koncentrace polyethylenglykolu (7,5 mM PEG) vedlo ke snížení negativního působení acetaminofenu. U vyšších koncentrací došlo ke shodnému působení, ale ve většině případů naopak k výrazněji horšímu. Nejmenší pokles se projevil u varianty kombinované 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP oproti oběma jedno stresovaným variantám (0,2 g/l APAP i 7,5 mM PEG). Nejvíce byl znát důsledek stresu u varianty 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP oproti variantě 7,5 mM PEG u délky radikuly a hypokotylu, hmotnosti čerstvé hmoty radikuly a hypokotylu, hmotnost sušiny radikuly a hypokotylu. A dále u kombinovaných variant 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP a 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP, kde oproti 37,5 mM PEG došlo k výraznému poklesu klíčivosti energie klíčení. Potvrzujeme tedy stanovenou hypotézu o zhoršení vlivu při spojení těchto dvou environmentálních faktorů na klíčení a fyziologický stav rostlin.

Velmi podobná klíčivost byla u většiny variant, a to především u těch s nižšími koncentracemi stresoru. Minimální rozdíly lze přikládat spíše některým nevitálním semenům, která se vyskytovala v pokusu, než že by šlo přímo o reakce semen na různé podmínky variant při klíčení. Okçu a Kaya a Atak (2005) ve svém experimentu zjišťovali účinky stresu ze zasolení a sucha na klíčení a růst sazenic hrachu (*Pisum sativum* L.) u 3 kultivarů hrachu (Bolero, Spring a Utrillo). Zajímavým výsledkem bylo, že genotyp jednotlivých kultivarů významně ovlivňuje toleranci ke stresům a klíčivost semen. To potvrdil i pokus Kafi Falavarjani et al. (2005) s 12 genotypy čočky (*Lens culinaris*), kde genotyp ovlivnil všechny sledované znaky kromě poměru radikuly k plumule a poměru suché hmotnosti radikuly k plumule. Je tedy nutné počítat

s tím, že odrůda pelušky (*Pisum sativum* ssp. *arvense*) Arvika mohla vykazovat lepší či naopak horší toleranci ke stresovým faktorům. Výzkum Murillo-Amador et al. (2002) dokládají na 2 kultivarech vigny čínské (*Vigna unguiculata* L.), že klíčivost a rychlost vzcházení je ovlivňována nejen kultivary, ale i růstovými fázemi. Doplnit to můžeme i teplotu, a zda je teplotní režim při klíčení konstantní či střídavý (Luan et al. 2014).

Souhrnně můžeme shledat vliv stresů (léciv i sucha) na klíčení semen *Pisum sativum* za významný. Z výsledků svého výzkumu Pino et al. (2016) vyvodili, že dlouhodobá přítomnost některých léčiv v půdách umožňuje rostlinám přijímat léčiva s neznámými účinky na potravní síť a lidské zdraví, takže akumulace těchto sloučenin v dlouhodobém horizontu by měla být také lépe analyzována. Žádalo by to, aby se upřednostnila právní úprava týkající se používání a likvidace těchto látek, aby se minimalizovaly dopady na životní prostředí (Türkoğlu et Osma et Elveren 2018). Kromě toho je zřejmá důležitost šlechtění tolerantních rostlin a pokusy o objevení látek, které by měly pozitivní účinky a snižovaly negativní dopady nepříznivého prostředí. Napomoci mohou ekotoxikologické studie a výzkumy zabývající se mykorhizou. Mnoho faktorů má na rostliny negativní vlivy a je podstatné si uvědomovat, že v přírodě nepůsobí jednotlivě ale skoro vždy v kombinacích. A některé mohou v důsledku představovat i zdravotní riziko pro lidi.

## 7 Závěr

Z laboratorního experimentu, při němž byl sledován vliv acetaminofenu na klíčení semen *Pisum sativum*, vyplynuly následující závěry:

- Hypotéza o negativním vlivu antropogenní zátěže i sucha na klíčení a fyziologický stav rostlin byla potvrzena. Základní předpoklad o nižší klíčivosti, pomalejším klíčení a nižších hodnotách sledovaných vlastností při klíčení semen v nepříznivých enviromentálních podmínkách se proto ratifikoval.
- Hypotéza o zhoršení vlivu při současném vlivu léčiv i sucha na klíčení a fyziologický stav rostlin byla podpořena.
- Zvyšující se koncentrace jakéhokoliv stresora (sucha i léčiv) vedla k prohloubení působení stresu a zhoršení sledovaných parametrů. Vůči suchu byla ale semena hrachu výrazně náchylnější.
- U většiny měřených parametrů došlo při dodání nejnižší koncentrace polyethylenglykolu (7,5 mM PEG) ke snížení negativního působení acetaminofenu.
- Nejlepšími variantami, pokud nepočítáme kontrolu (H<sub>2</sub>O) byly napříč sledovanými parametry 7,5 mM PEG a 0,2 g/l APAP.
- Nejhorší variantou byla 45 mM PEG, kde nevyklíčilo žádné semeno, proto všechna sledovaná kritéria dosahovala nulových hodnot.

V budoucnu by se se zhoršující se situací ohledně sucha a léčiv v půdě mohly nastat velké problémy s pěstováním plodin. Pomocť by mohlo šlechtění tolerantnějších rostlin či objevení látek snižující dopady nepříznivého prostředí. Neznáme přesné dopady léčiv na rostliny a následně pro lidi, které je zkonzumují. Proto by se touto problematikou měly i nadále výzkumy zabývat.



## 8 Literatura

- Aniszewski T, Haikonen J, Helwig B, Konert G, Oleksińska Z, Stenman A, Ylinampa T. 2012. Vigor, vitality and seed dormancy of *Avena sativa* cultivars in a long-term experiment. *Journal of Applied Botany and Food Quality* **85**:150–158.
- Aroca R, Porcel R, Ruiz-Lozano JM. 2012. Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. *Journal of Experimental Botany* **63**:43–57.
- Baskin CC, Baskin JM. 2001. *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic press, San Diego.
- Benech-Arnold R, Sánche R. 2004. *Handbook of Seed Physiology: Applications to Agriculture*. CRC Press, USA.
- Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S. 2006. Paracetamol: New vistas of an old drug. *CNS Drug Reviews* **12**(3–4):250–275.
- Bewley JD, Bradford KJ, Hilhorst HWM, Nonogaki H. 2013. *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy*. Springer, New York.
- Biddle AJ. 2017. *Peas and Beans: Crop production science in horticulture*. CABI.
- Biddle AJ, Cattlin N. 2007. *Pests, Diseases and Disorders of Peas and Beans: A Colour Handbook*. CRC Press.
- Biologické centrum. 2021. Co se děje s léky v půdě?..Biologické centrum AV ČR, v.v.i. Available from <https://www.bc.cas.cz/novinky/detail/5746-co-se-deje-s-leky-v-pude/> (accessed June 2021).
- Black M, Bradford KJ, Vázquez-Ramos J. 2000. *Seed Biology: Advances and Applications*. CABI Publishing.
- Bláha L, Bocková R, Hnilička F, Hniličková H, Holubec V, Möllerová J, Štolcová J, Zieglerová J. 2003. *Rostlina a stres*. VÚRV, Praha.
- Bradford A. 2018. *Pollution Facts & Types of Pollution*. Live Science. Available from <https://www.livescience.com/22728-pollution-facts.html> (accessed June 2021).
- Copeland LO, McDonald MB. 2001. *Principles of Seed Science and Technology*. Springer Science + Business Media, LLC, New York.
- Černohorský Z. 1967. *Základy rostlinné morfologie*. Státní pedagogické nakladatelství, Praha.
- Davidson CI, Phalen RF, Solomon PA. 2005. Airborne Particulate Matter and Human Health: A Review. *Aerosol Science and Technology* **39**:737–749.
- De R, Kar RK. 1995. Seed germination and seedling growth of mung bean (*Vigna radiata*) under water stress induced by PEG-6000. *Seed Science and Technology* **23**:301–308.
- Ellis F. 2002. *Paracetamol: a curriculum resource*. Royal Society of Chemistry, London.
- Emmerich WE, Hardegree SP. 1997. Polyethylene Glycol Solution Contact Effects on Seed Germination. *Agronomy Journal* **82**:1103–1107.

- Fenner M. 1985. *Seeds Ecology*. Chapman and Hall Ltd, USA.
- Finch-Savage W, Leubner-Metzger G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New phytologist* **171**:501–523.
- Gallagher RS. 2014. *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. CABI Publishing, Wallingford.
- Graham PH, Vance CP. 2003. Legumes: Importance and Constraints to Greater Use. *Plant Physiology* **131**:872–877.
- Guerreiro CBB, Foltescu V, de Leeuw F. 2014. Air quality status and trends in Europe. *Atmospheric Environment* **98**:376–384.
- Hájková E. 2019. Voda, její znečištění a co můžeme dělat. Institut funkční medicíny a výživy: Zdraví. Available from <https://ifmv.cz/voda-jeji-znecistení-a-co-muzeme-delat/> (accessed June 2021).
- Hardegree SP, Emmerich WE. 1994. Seed germination response to polyethylene glycol solution depth. *Seed science and technology* **22**:1–7.
- Hlaváček J, Pepřík Š. 2013. *Znečištění vody*. Asociace pro mezinárodní otázky, Praha.
- Hodge G. 2014. *Praktická botanika pro milovníky rostlin*. Grada Publishing, a.s., Praha.
- Hosnedl V. 1997. Osivo a sadba – sborník referátů ČZU: Význam podmínek množení a deteriorace semen pro kvalitu osiva. ČZU, Praha.
- Hosnedl V, Hochman M. 1994. *Základy pěstování hrachu*. Institut výchovy a vzdělávání ministerstva zemědělství v ČR, Praha.
- Hosnedl V, Honsová H. 2002. Barley seed sensitivity to water stress at germination stage. *Rostlinná výroba* **48**:293–297.
- Houba M, Hochman M, Hosnedl V, et al. 2009. *Luskoviny: pěstování a užití*. Kurent, České Budějovice.
- Houba M, Hosnedl V. 2002. *Osivo a sadba: praktické semenářství*. Nakladatelství Ing. Martin Sedláček. Praha.
- Chloupek O. 2008. *Genetická diverzita, šlechtění a semenářství*. Academia, Praha.
- Ivanová L, Mackuľak T, Grabic R, Golovko O, Koba O, Staňová AV, Szabová P, Grenčíková A, Bodík I. 2018. Pharmaceuticals and illicit drugs – A new threat to the application of sewage sludge in agriculture. *Science of The Total Environment* **634**:606–615.
- Jablonský I. 2005. *Pěstujeme klíčící osivo a výhonky*. Grada Publishing, a.s., Praha.
- Jelínková I. 2021. Hrách setý. Atlas květin A-Z. Available from <http://www.atlasbotani.eu/index.php?detail&urlback=P3ZuYXpldiZhbXA7dm5hemV2Y3o9a%20HIIRTFjaCZhbXA7dnlobGVkYXZhbmk9dnlobGVkYXZhbmkmYW1wO25haml0PU5haiV%20FRHQmYW1wO3RyaWQ9Mg&cislo=319> (accessed June 2021).
- Jenks MA, Hasegawa PM. 2005. *Plant Abiotic Stress*. Blackwell Publishing, Oxford.

- Jursík M, Holec J, Hamouz P, Soukup J. 2018. Biologie a regulace plevelů. Kurent s.r.o., České Budějovice.
- Kafi Falavarjani M, Nezami A, Hosseini H., Masoumi A. 2005. Physiological Effects Of Drought Stress By Polyethylene Glycol On Germination Of Lentil (*Lens Culinaris Medik.*) Genotypes. *Iranian Journal of Field Crops Research* **3**:69–80.
- Karberová M, Soldán P. 2011. Identifikace významných antropogenních vlivů z oblastí průmyslové činnosti. *Vodohospodářské technicko-ekonomické informace* **53**:4–8.
- Khalesrou SH, Agra Alikhani M. 2008. Effect of salinity and water deficit stress on seed germination. *Agronomy and horticulture* **20**:153–163.
- Khodarahmpour Z. 2011. Effect of drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) on germination indices in corn (*Zea mays* L.) hybrids. *African Journal of Biotechnology* **10**:18222–18227.
- Khalvati M, Bartha B, Dupigny A, Schröder P. 2010. Arbuscular mycorrhizal association is beneficial for growth and detoxification of xenobiotics of barley under drought stress. *Journal of Soils and Sediments* **10**: 54–64.
- Kodešová R. 2018. Osud léčiv v půdě a jejich potenciál kontaminovat zemědělské produkty. *Úroda* **8**:83–84.
- Kodešová R, Kočárek M, Klement A, Golovko O, Koba O, Fér M, Nikodem A, Vondráčková L, Jakšík O, Grabic R. 2016. An analysis of the dissipation of pharmaceuticals under thirteen different soil conditions. *Science of The Total Environment* **544**:369–381.
- Krejčí P, Slabý K. Morfologie semen. Web 2 Mendelu. Multifunkční učební text. Available from [https://web2.mendelu.cz/af\\_211\\_multitext/obecna\\_botanika/texty-organologie-morfologie\\_semen.html](https://web2.mendelu.cz/af_211_multitext/obecna_botanika/texty-organologie-morfologie_semen.html). (accessed April 2022).
- Kvapil M. 2016. Tři předpoklady úspěšného pěstování rostlin ze semínek. *Bio* **1**:10.
- Lahola J, et al. 1990. Luskoviny: pěstování a využití. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Larcher W. 1988. Fyziologická ekologie rostlin. Academia, Praha.
- Lhotská M, Kropáč Z. 1985. Kapesní atlas: Semen / plodů a klíčnicích rostlin. Státní pedagogické nakladatelství, Praha.
- Liang G, Zhou Q, Yan H. 2007. Effect of polyethylene glycol (PEG) on seed germination characteristics of four species of *Festuca*. *Pratacultural Science* **6**.
- Luan Z, Xiao M, Zhou D, Zhang H, Tian Y, Wu Y, Guan B, Song Y. 2014. Effects of Salinity, Temperature, and Polyethylene Glycol on the Seed Germination of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *The Scientific World Journal* **2014**.
- Malchi T, Maor Y, Tadmor G, Shenker M, Chefetz B. 2014. Irrigation of Root Vegetables with Treated Wastewater: Evaluating Uptake of Pharmaceuticals and the Associated Human Health Risks. *Environmental Science & Technology* **48**:9325–9333.
- Maxted N, Ambrose M. 2001. Peas (*Pisum* L.). *Plant Genetic Resources of Legumes in the Mediterranean. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture* **39**:181–190.

- Molina MJ, Molina LT. 2004. Megacities and Atmospheric Pollution. *Journal of the Air & Waste Management Association* **54**:644–680.
- Murillo-Amador B, López-Aguilar R, Kaya C, Larrinaga-Mayoral J, Flores-Hernández A. 2002. Comparative Effects of NaCl and Polyethylene Glycol on Germination, Emergence and Seedling Growth of Cowpea. *Journal of Agronomy and Crop Science* **188**:235–247.
- Nathanson JA. 2021. Pollution. *Encyclopedia Britannica*. Available from <https://www.britannica.com/science/pollution-environment> (accessed June 2021).
- Nathanson JA. 2017. Land pollution. *Encyclopedia Britannica*. Available from <https://www.britannica.com/science/land-pollution> (accessed June 2021).
- National Center for Biotechnology Information. 2021. PubChem Compound Summary for CID 1983, Acetaminophen. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acetaminophen>. (accessed June 2021).
- Novák FA. 1981. *Velký obrazový atlas rostlin*. Artia, Praha.
- Novák J, Skalický M. 2012. *Botanika: Cytologie, histologie, organologie a systematika*. Powerprint, Praha.
- Okçu G, Kaya MD, Atak M. 2005. Effects of Salt and Drought Stresses on Germination and Seedling Growth of Pea (*Pisum sativum* L.). *Turk J Agric For* **29**:237–242.
- Peřtová Z. 2019. Znečištění ovzduší – co to je a jak vzniká? *Meteopress*. Available from <https://www.meteopress.cz/vysvetleni/zneisteneni-ovzdusi-co-to-je-a-jak-vznika/> (accessed June 2021).
- Petr J, et al. 1974. *Hách a bob*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Pino MR, Muñiz S, Val J, Navarro E. 2016. Phytotoxicity of 15 common pharmaceuticals on the germination of *Lactuca sativa* and photosynthesis of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Science and Pollution Research* volume **23**:22530–22541.
- Procházka S, Macháčková I, Krekule J, Šebánek J, et al. 1998. *Fyziologie rostlin*. Academia, Praha.
- Shao HB, Chu LY, Jaleel CA, Zhao CX. 2008. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *C R Biol*. **331**:215–25.
- Smýkal P, et al. 2012. Pea (*Pisum sativum* L.) in the Genomic Era. *Agronomy* **2**:74–115.
- Smýkal P, Vernoud V, Blair MW, Soukup A, Thompson RD. 2014. The role of the testa during development and in establishment of dormancy of the legume seed. *Frontiers in Plant Science* **5**:351.
- Soares C, Branco-Neves S, de Sousa A, Pereira R, Fidalgo F. 2016. Ecotoxicological relevance of nano-NiO and acetaminophen to *Hordeum vulgare* L.: Combining standardized procedures and physiological endpoints. *Chemosphere* **165**:442–452.
- Sposito G. 2021. Soil. *Encyclopedia Britannica*. Available from <https://www.britannica.com/science/soil> (accessed June 2021).

- Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2021. SÚKL: Státní ústav pro kontrolu léčiv, Praha. Available from [https://www.sukl.cz/modules/medication/search.php?data\[search\\_for\]=paracetamol](https://www.sukl.cz/modules/medication/search.php?data[search_for]=paracetamol) (accessed June 2021).
- Šerá B. 2014. Klíčivost jako běžný test v botanickém pozorování, šlechtění a experimentech. Pages 9-17 in Bláha L, Šerá B, editors. Příspěvky v problematice zemědělského pokusnictví. Publisher: Powerprint, Praha.
- Šunka Z, Štamberová M, Ošlejšková J, Dzuráková M, Novák J, Mikulková D, Oppeltová P, Hlavinková P. 2011. Identifikace antropogenních tlaků na kvalitu vodních zdrojů. Vodohospodářské technicko-ekonomické informace **53**:1–4.
- Taiz L, Zeiger E. 2006. Plant Physiology. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Tășchină M, Copolovici DM, Bungău S, Lupitu AI, Copolovici L, Iovan C. 2017. The influence of residual acetaminophen on *Phaseolus vulgaris* L. Secondary metabolites. Farmacia **5**.
- Timmerer U, Lehmann L, Schnug E, Bloem E. 2020. Toxic Effects of Single Antibiotics and Antibiotics in Combination on Germination and Growth of *Sinapis alba* L. Plants **9**.
- Togay N, Togay Y, Yildirim B, Dogan Y. 2008. Relationships between yield and some yield components in Pea (*Pisum sativum* ssp *arvense* L.) genotypes by using correlation and path analysis. African Journal of Biotechnology **7**:4285–4287.
- Türkoğlu E, Osma E, Elveren M. 2019. Effects of Acetaminophen (Paracetamol) and Gemfibrozil on Seed Development and Antioxidant Enzyme Activities in Different Wheat Varieties. Iranian Journal of Science and Technology, Transaction A: Science **43**:2075–2082.
- Tyrolová Y. 2012. Silážování hrachu: Certifikovaná metodika. Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha Uhřetěves.
- Yalçın İ, Özarıslan C, Akbař T. 2007. Physical properties of pea (*Pisum sativum*) seed. Journal of Food Engineering **79**:731–735.

## 9 Seznam použitých obrázků a tabulek

### 9.1 Obrázky

Obr. 1: Klasifikace čeledi <i>Fabaceae</i> .....	10
Obr. 2: Rostlina hrachu setého .....	11
Obr. 3: Stavba listu a květu hrachu setého .....	12
Obr. 4: Semena hrachu setého v lusku .....	12
Obr. 5: Morfologie semene hrachu setého .....	12
Obr. 6: Vnitřní popis semene .....	17
Obr. 7: Morfologie semene .....	17
Obr. 8: Epigeické a hypogeické klíčení .....	19
Obr. 9: Kategorie stresů a jejich členění .....	21
Obr. 10: Vzorec paracetamolu .....	31
Obr. 11: Klíčení v klimatizované komoře Memmert .....	32
Obr. 12: Orbitální třepačka VWR lab dancer .....	34
Obr. 13: Laboratorní váha OHAUS AX 223M .....	34
Obr. 14: Klimatizovaná komora Memmert ICP 400 .....	34
Obr. 15: Sušárna s ventilátorem Memmert 100-800 .....	34
Obr. 16: Popsání Petriho misek .....	36
Obr. 17: Měření délky radikuly a hypokotylu .....	36
Obr. 18: Odřezané části semen .....	36
Obr. 19: Nasušená radikula a hypokotyl ve váženkách .....	37
Obr. 20: Průměrná klíčivost (SG) semen hrachu (v %) .....	39
Obr. 21: Průměrné délky radikuly a hypokotylu klíčících semen hrachu po dnech (v mm) .....	41
Obr. 22: Poměr délky radikuly a hypokotylu klíčících semen hrachu ke 4. dni .....	44
Obr. 23: Průměrná hmotnost čerstvé hmoty radikuly a hypokotylu jednoho klíčícího semena hrachu ve 4. den (v g) .....	45
Obr. 24: Poměr hmotnosti čerstvé hmoty radikuly a hypokotylu jednoho klíčícího semena hrachu ke 4. dni .....	47
Obr. 25: Průměrná hmotnost sušiny radikuly a hypokotylu jednoho klíčícího semena hrachu ve 4. den (v g) .....	48
Obr. 26: Poměr hmotnosti sušiny radikuly a hypokotylu jednoho klíčícího semena hrachu ke 4. dni .....	49


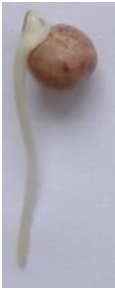










### 9.2 Tabulky

















Tab. 1: Obsah živin v semenech hrachu setého (v %) .....	16
Tab. 2: Průměrná energie klíčení (GE) a rychlost klíčení (GS) semen hrachu (v %) .....	40

## 10 Samostatné přílohy





















Fotografie zobrazují dokumentaci pokusných variant v průběhu experimentu (autorka fotografií: Kristýna Janušková).




















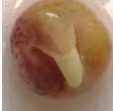
### 10.1 Fotografie klíčících semen hrachu setého

varianta	1. den	2. den	3. den	4. den
<b>H<sub>2</sub>O</b>				
<b>0,2 g/l APAP</b>				
<b>0,4 g/l APAP</b>				

<p><b>0,6 g/l APAP</b></p>				
<p><b>0,8 g/l APAP</b></p>				
<p><b>1 g/l APAP</b></p>				
<p><b>7,5 mM PEG</b></p>				



<p><b>15 mM PEG</b></p>				
<p><b>22,5 mM PEG</b></p>				
<p><b>30 mM PEG</b></p>				
<p><b>37,5 mM PEG</b></p>				
<p><b>45 mM PEG</b></p>				

<p><b>7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP</b></p>				
<p><b>7,5 mM PEG + 1 g/l APAP</b></p>				
<p><b>22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP</b></p>				
<p><b>37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP</b></p>				
<p><b>37,5 mM PEG + 1 g/l APAP</b></p>				

Tab. 3: Klíčení semen pokusných variant fotografovaných po dnech (zdroj: autor práce).

### 10.1.1 Varianta H<sub>2</sub>O (kontrola)

1. den



2. den



3. den



4. den





### 10.1.2 Varianta 0,2 g/l APAP

1. den



2. den



3. den



4. den



### 10.1.3 Varianta 0,4 g/l APAP

1. den



2. den



3. den



4. den





#### 10.1.4 Varianta 0,6 g/l APAP

1. den



2. den



3. den



4. den



### 10.1.5 Varianta 0,8 g/l APAP

1. den



2. den



3. den



4. den





### 10.1.6 Varianta 1 g/l APAP

1. den



2. den



3. den



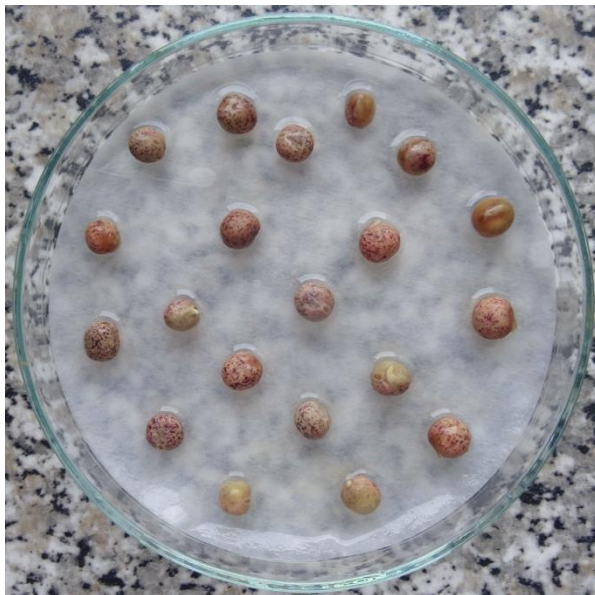
4. den





### 10.1.7 Varianta 7,5 mM PEG

1. den



2. den



3. den



4. den



### 10.1.8 Varianta 15 mM PEG

1. den



2. den



3. den



4. den





### 10.1.9 Varianta 22,5 mM PEG

1. den



2. den



3. den



4. den



### 10.1.10 Varianta 30 mM PEG

1. den



2. den



3. den



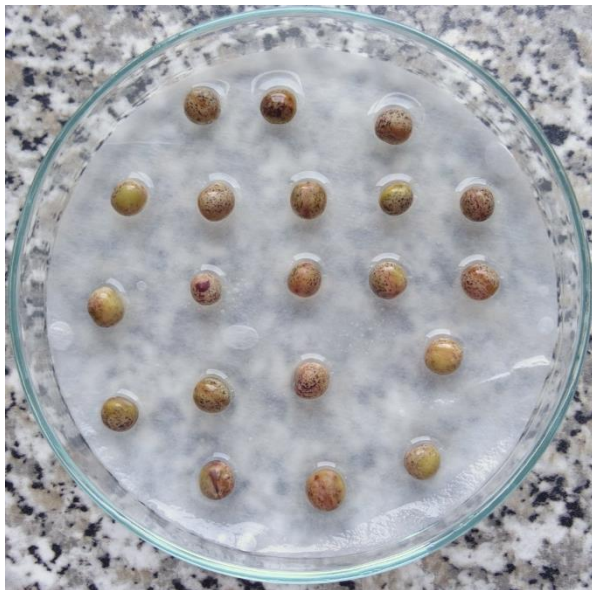
4. den



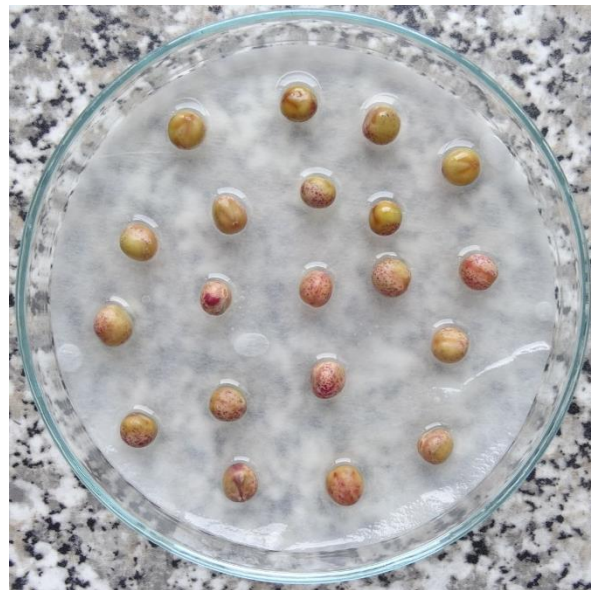


### 10.1.11 Varianta 37,5 mM PEG

1. den



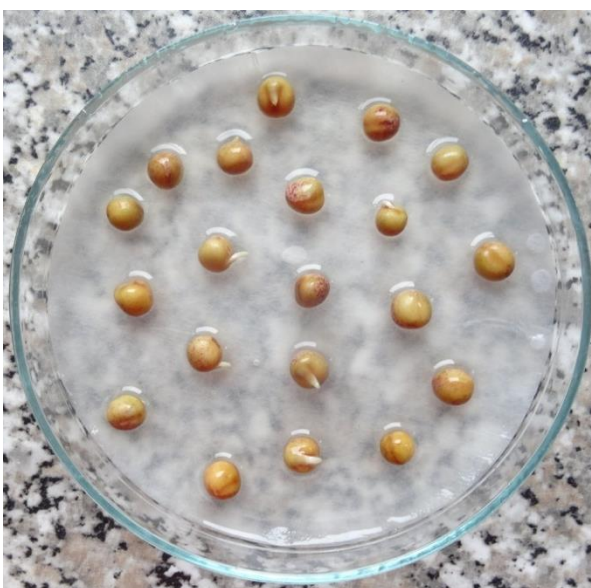
2. den



3. den



4. den

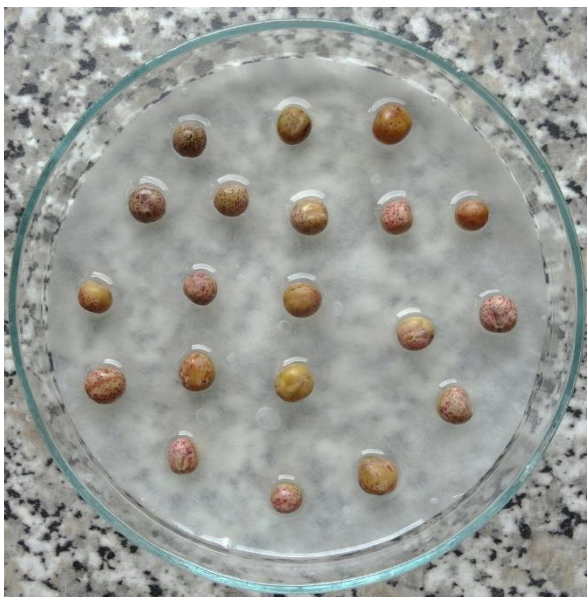


### 10.1.12 Varianta 45 mM PEG

1. den



2. den



3. den



4. den





**10.1.13 Varianta 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP**

1. den



2. den



3. den



4. den



**10.1.14 Varianta 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP**

1. den



2. den



3. den



4. den





**10.1.15 Varianta 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP**

1. den



2. den



3. den



4. den



**10.1.16 Varianta 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP**

1. den



2. den



3. den



4. den



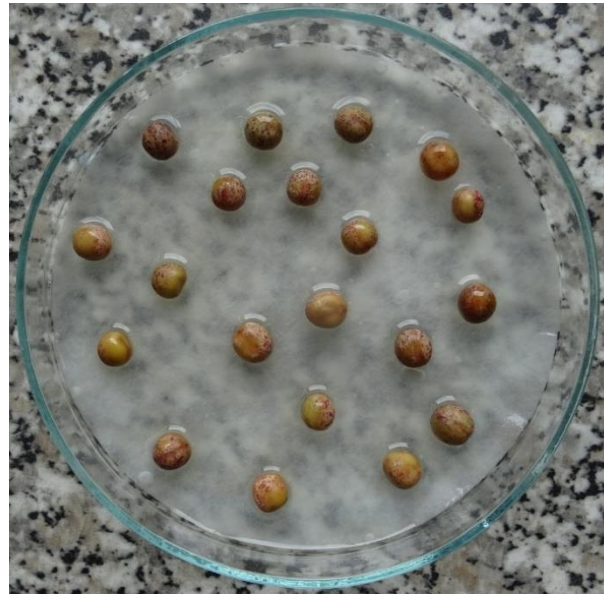


**10.1.17 Varianta 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP**

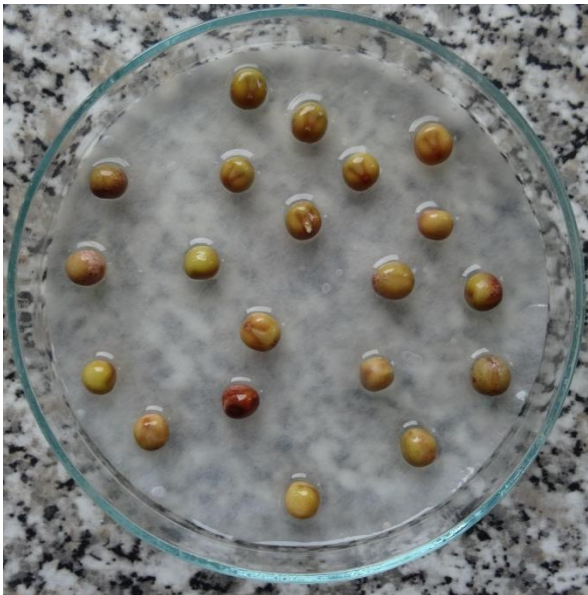
1. den



2. den



3. den



4. den



## 10.2 Fotografie radikul klíčích semen hrachu setého

### 10.2.1 Varianta H<sub>2</sub>O (kontrola)



### 10.2.2 Varianta 0,2 g/l APAP



### 10.2.3 Varianta 0,4 g/l APAP



**10.2.4 Varianta 0,6 g/l APAP**



**10.2.5 Varianta 0,8 g/l APAP**



**10.2.6 Varianta 1 g/l APAP**



**10.2.7 Varianta 7,5 mM PEG**





**10.2.8 Varianta 15 mM PEG**



**10.2.9 Varianta 22,5 mM PEG**



**10.2.10 Varianta 30 mM PEG**



**10.2.11 Varianta 37,5 mM PEG**



**10.2.12 Varianta 45 mM PEG**



**10.2.13 Varianta 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP**



**10.2.14 Varianta 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP**



**10.2.15 Varianta 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP**



**10.2.16 Varianta 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP**



**10.2.17 Varianta 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP**



### 10.3 Fotografie hypokotylů klíčících semen hrachu setého

#### 10.3.1 Varianta H<sub>2</sub>O (kontrola)



#### 10.3.2 Varianta 0,2 g/l APAP



#### 10.3.3 Varianta 0,4 g/l APAP



#### 10.3.4 Varianta 0,6 g/l APAP





**10.3.5 Varianta 0,8 g/l APAP**



**10.3.6 Varianta 1 g/l APAP**



**10.3.7 Varianta 7,5 mM PEG**



**10.3.8 Varianta 15 mM PEG**



**10.3.9 Varianta 22,5 mM PEG**



**10.3.10 Varianta 30 mM PEG**



**10.3.11 Varianta 37,5 mM PEG**



**10.3.12 Varianta 45 mM PEG**



**10.3.13 Varianta 7,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP**



**10.3.14 Varianta 7,5 mM PEG + 1 g/l APAP**



**10.3.15 Varianta 22,5 mM PEG + 0,4 g/l APAP**



**10.3.16 Varianta 37,5 mM PEG + 0,2 g/l APAP**



**10.3.17 Varianta 37,5 mM PEG + 1 g/l APAP**

