

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra genetiky a šlechtění



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Hodnocení citlivosti odrůd bramboru ke kontaminaci
kadmíem a kobaltem *in vitro***

Diplomová práce

Kubásková Adéla

Biotechnologie a šlechtění rostlin

Ing. Petr Sedlák, Ph.D.

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Hodnocení citlivosti odrůd bramboru ke kontaminaci kadmíem a kobaltem *in vitro*" 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 11.04.2023

Poděkování

Dovoluji si touto cestou poděkovat svému vedoucímu diplomové práce panu Ing. Petru Sedlákoví, Ph.D. za cenné rady, pozitivní přístup, ochotu, pomoc, a především trpělivost při vedení a zpracovávání mé diplomové práce. Nadále bych chtěla poděkovat paní Ing. Vladimíře Sedlákové, Ph.D. za cenné rady při zpracování statistické části a celé Katedře genetiky a šlechtění za umožnění provedení praktické části této diplomové práce v prostorách laboratoře. Moje další velké díky patří Výzkumnému ústavu bramborářskému v Havlíčkově Brodě, s.r.o. a jejich oddělení genetických zdrojů za poskytnutí biologického materiálu. V neposlední řadě bych ráda věnovala velké díky mé rodině a blízkým, kteří mi byli podporou po celou dobu studia.

Hodnocení citlivosti odrůd bramboru ke kontaminaci kadmíem a kobaltem *in vitro*

Souhrn

Kadmium je jedním z těžkých kovů, jehož výskyt a obsah se v posledních letech zvyšuje nejen na zemědělských půdách. Jeho toxicita se odvíjí od druhu a odrůdy pěstovaných plodin a jako samotný prvek nemá žádné přínosné biologické účinky v tělech rostlin. Naproti tomu kobalt je také těžký kov, ale zároveň je jedním z esenciálních mikroprvků pro rostliny, který dokáže ovlivnit řadu biologických funkcí v těle rostlin a účastní se několika životně důležitých procesů. I přesto, že je pro rostliny důležitý a jeho přítomnost v půdě dokáže výrazně zvýšit fungování rostlinného těla, ve vyšších koncentracích může působit stejně jako kadmium toxicky a může mít jeho nadbytek v půdách fatální účinky. Jeho výskyt je každým rokem vyšší, a to především vlivem antropogenní činnosti a rozvoji průmyslu. Vliv obou prvků lze sledovat nejen v polních podmínkách a pokusech, ale také i v laboratorních podmínkách, které umožňují experimentální podmínky pro růst a homogenní prostředí.

Tato práce se specializovala na vlivy různých koncentrací kadmia a kobaltu, jakožto dvou těžkých kovů na růst několika odrůd rostlin bramboru. Byl zkoumán vliv koncentrace daného prvku na růst a vývoj rostlin, jejich jednotlivých částí a následné tvorby sušiny. Tento pokus byl proveden v kulturách *in vitro* a všechny testované odrůdy byly vystaveny stupňujícím se koncentracím kadmia a kobaltu v médiích. Pokus byl založen na 6 odrůdách *Solanum tuberosum* L. a celkově bylo zkoumáno 240 rostlin, které byly pěstovány z axiálních pupenů. Bylo použito celkem 8 druhů médií, na nichž se stupňovala koncentrace sledovaných prvků. 4 média byla použita na pokus s kadmíem a další 4 média byla použita na pokus s kobaltem. Koncentrace prvků v médiích byly 0, 1, 10 a 50 ppm. Každý týden po dobu jednoho měsíce byl hodnocen přírůstek nadzemního stonku, počet kořenů a průměrná délka jednoho kořene. Po jednom měsíci byly rostliny hodnoceny z hlediska hmotnosti čerstvé biomasy, suché biomasy a sušiny. Získaná data byla vyhodnocena pomocí vícefaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) v programu Statistica.

Zhodnocením pokusu bylo dokázáno, že jednotlivé odrůdy různě reagovaly na stupeň toxicity daného prvku a existovaly v jejich růstu a tvorbě sušiny statisticky významné rozdíly. Další statisticky významné rozdíly pocházely zejména z míry kontaminace médií jednotlivými těžkými kovy. Již u médií s 1 ppm Cd, oproti médiím s 0 ppm Cd, byly pozorovány velké negativní změny v růstu jednotlivých rostlin. Naopak ve srovnání médií 0 a 1 ppm Co nebyly pozorovatelné významné statistické rozdíly. V médiích s koncentrací 10 ppm Cd/Co už existovaly u obou pokusů velmi významné negativní statistické rozdíly v růstu rostlin a tvorbě sušiny. Rostliny měly znatelně inhibovaný růst, ale ve výsledku bylo zjištěno, že i tyto rostliny tvořily značnou část sušiny. V médiích s 50 ppm Cd/Co žádné rostliny už nerostly a tvorba biomasy byla tedy nulová. Výsledky z tohoto pokusu lze použít k budoucím poznatkům pro šlechtitele rostlin, kteří by řešili odolnost jednotlivých druhů a odrůd vhodných na kontaminovaná místa těžkými kovy.

Klíčová slova: odrůdy brambor, těžké kovy, kadmium, kobalt, kontaminace půd

Evaluation of susceptibility of potato varieties to cadmium and cobalt *in vitro*

Summary

Cadmium is one of the heavy metals that has been increasing in recent years not only in agricultural soils. Cadmium toxicity depends on the type and variety of crops grown and as an element itself, it has no beneficial biological effects in plants. Cobalt is also a heavy metal, but it is an essential microelement for plants, which may influence several biological functions in the plant body and is involved in several important processes. Although cobalt is important for plants and can significantly increase the functioning, yet in higher concentrations-it can be toxic like cadmium. Cobalt may have fatal effects in higher concentration. Cobalt presence is higher every year, mainly due to anthropogenic activities and industrial development. The effects of both elements can be observed not only in natural conditions and experiments but also in laboratory conditions that allow experimental conditions for growth and homogeneous conditions.

This thesis is focused on the effects of different concentration of cadmium and cobalt on the growth of several potato plant varieties. The effect of elements' concentration was analyzed on the growth and development of plants, their parts, and subsequent dry matter production. This experiment was performed on *in vitro* cultures and all the tested varieties were exposed to increasing concentration of cadmium and cobalt in the media. The experiment was based on 6 varieties of *Solanum tuberosum* L. and a total of 240 plants were tested and grown from axial buds. 8 types of media were used on which the concentration of the elements of interest was graded on. 4 media were used for the cadmium experiment and another 4 media were used for the cobalt experiment. The concentration of the elements in the media were 0, 1, 10, and 50 ppm. Each week for one month, the growth of the stem, the number of roots, and the average length of one root were evaluated. After one month, plants were ranked for fresh biomass, dry biomass, and dry weight. The collected data was analyzed using multivariate analysis of variance (ANOVA) in Statistica software.

The results of this experiment shows, that the different varieties reacted differently to the different levels of toxicity of the element. There were statistically significant differences in their growth and dry matter production. Other statistically significant differences were found in the level of contamination media by the individual heavy metals. For media with 1 ppm Cd, compared to media with 0 ppm Cd were observed large negative changes in the growth of individual plants. In contrast, no significant statistical differences were observed in the comparison of 0 and 1 ppm Co in media. In media with concentration 10 ppm Cd/Co, there were already high negative significant statistical differences in plant growth and dry matter production. The plants had noticeably inhibited growth, but as a result, it was found that these plants also formed a significant amount of dry matter. In media with 50 ppm Cd/Co no plants grew anymore, and biomass formation was therefore zero. The results from this experiment may be used to provide future insights for plant breeders dealing with the resistance of species and varieties suitable for heavy metal-contaminated sites.

Keywords: potato varieties, heavy metals, cadmium, cobalt, soil contamination

Obsah

1	Úvod	8
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3	Literární rešerše.....	10
3.1	Význam, historie a vývoj plodiny	10
3.1.1	Současný stav pěstování brambor v ČR	10
3.2	Čeleď Solanaceae	11
3.2.1	Anatomie a morfologie <i>Solanum tuberosum</i>	11
3.3	Šlechtění bramboru.....	12
3.4	Škodliví činitelé bramboru.....	12
3.5	Použité rostlinné zdroje a jejich charakteristika	14
3.5.1	Apta.....	14
3.5.2	Bintje.....	15
3.5.3	Desiree	15
3.5.4	Orlík.....	16
3.5.5	Sarpo Mira	17
3.5.6	Tasso.....	18
3.6	Výživa brambor.....	19
3.6.1	Hnojení brambor.....	19
3.7	Těžké kovy	19
3.7.1	Těžké kovy a křemík	21
3.7.2	Hyperakumulátory	21
3.7.3	Fytoremediace.....	22
3.8	Kadmium	22
3.9	Kobalt.....	24
4	Metodika.....	26
4.1	Cíl pokusu	26
4.2	Rostlinný materiál.....	26
4.3	Použitá média a jejich příprava.....	26
4.3.1	Příprava média	27
4.4	Kultivace <i>in vitro</i>	27
4.4.1	Postup založení pokusu.....	27
4.4.2	Podmínky kultivace a hodnocení pokusu	28
4.5	Statistické hodnocení	28
5	Výsledky.....	29
5.1	Pokus s kadmíem.....	29
5.1.1	Vliv odrůdy na délku stonku.....	29

5.1.2	Vliv média na délku stonku	31
5.1.3	Vliv odrůdy na průměrnou délku kořenů.....	31
5.1.4	Vliv média na průměrnou délku kořenů	33
5.1.5	Vliv odrůdy na počet kořenů	33
5.1.6	Vliv média na počet kořenů	34
5.1.7	Vliv odrůdy a média na hmotnost čerstvé biomasy	36
5.1.8	Vliv odrůdy na hmotnost čerstvé biomasy	37
5.1.9	Vliv média na hmotnost čerstvé biomasy	37
5.1.10	Vliv odrůdy a média na hmotnost suché biomasy	38
5.1.11	Vliv odrůdy na hmotnost suché biomasy.....	39
5.1.12	Vliv média na hmotnost suché biomasy	39
5.1.13	Vliv odrůdy a média na sušinu	40
5.1.14	Vliv odrůdy na sušinu	40
5.1.15	Vliv média na sušinu	41
5.2	Pokus s kobaltem.....	42
5.2.1	Vliv odrůdy na délku stonku.....	42
5.2.2	Vliv média na délku stonku	43
5.2.3	Vliv odrůdy na průměrnou délku kořenů.....	45
5.2.4	Vliv média na průměrnou délku kořenů	47
5.2.5	Vliv odrůdy na počet kořenů	47
5.2.6	Vliv média na počet kořenů	48
5.2.7	Vliv odrůdy a média na hmotnost čerstvé biomasy	50
5.2.8	Vliv odrůdy na hmotnost čerstvé biomasy	51
5.2.9	Vliv média na hmotnost čerstvé biomasy	51
5.2.10	Vliv odrůdy a média na hmotnost suché biomasy	52
5.2.11	Vliv odrůdy na hmotnost suché biomasy.....	53
5.2.12	Vliv média na hmotnost suché biomasy	53
5.2.13	Vliv odrůdy a média na sušinu	54
5.2.14	Vliv odrůdy na sušinu	55
5.2.15	Vliv média na sušinu	55
6	Diskuze	57
7	Závěr.....	61
8	Literatura.....	62
9	Seznam použitých zkratk a symbolů	68

1 Úvod

Lilek brambor (*Solanum tuberosum* L.) je čtvrtou nejpěstovanější polní plodinou na světě, která zajišťuje obživu pro člověka, hned po rýži, pšenici a kukuřici. Je to dvouděložná rostlina z čeledi lilkovitých (*Solanaceae*), hospodářsky je řazena mezi okopaniny. Do evropských zemí byla tato rostlina dovezena již v 16. století jako nová plodina z amerického kontinentu a dnes se brambory pěstují ve více než 150 zemích světa. Pěstují se také jako krmná plodina pro hospodářská zvířata, nebo na výrobu škrobu a pro lihovarský průmysl. Z výživového hlediska jsou brambory velice vyváženou plodinou a celkově jsou oblíbenou potravinou. Právě například šlechtěním se mohou výživové hodnoty zvýšit a různé odrůdy mají své specifické znaky, díky kterým jsou po sklizni vhodné pro různé účely. Důležitý je obsah škrobu, cukrů, glykoalkaloidů, vitaminů a minerálních látek.

Brambory jsou pěstovány zejména pro hlízy, proto je důležité, aby rostliny na poli měly dostupné všechny důležité makroživiny i mikroživiny, které hrají významnou roli v životně důležitých procesech, jako je například fotosyntéza. Celkově pak dokonce i mikroživiny mohou ovlivňovat výnos, kvalitu sklizně a příjem makroživin. Ve všeobecném kontextu je nejzásadnější vhodný poměr všech prvků dohromady.

Problémem posledních desítek let je hromadění těžkých kovů v půdách. S rozvojem průmyslu, zemědělství a dopravy začalo docházet k akumulaci těžkých kovů v půdách a tomuto faktoru nepřispívá ani aplikace hnojiv a pesticidů, díky kterým se dostává do půd velké množství těchto prvků. Nadále tomu také nepřispívají ani další antropogenní aktivity, jako je například těžba, vypouštění průmyslových a domácích odpadních vod a kalů, anebo například znečištění ovzduší. Tolerance kovů v půdách může záviset na evoluci daného rostlinného druhu. Akumulace těžkých kovů v půdách znamená větší příjem těchto prvků rostlinami a následné hromadění v jejich těle může představovat zdravotní riziko pro konzumenty, tedy nejen pro lidi, ale také i pro zvířata. Příjem těchto prvků ovlivňuje například pH a jiné chemicko-fyzikální vlastnosti půdy, ale také způsoby obdělávání půdy a střídání plodin na daném území. U brambor hraje velkou roli vliv odrůdy, a zda rostlina akumuluje tyto prvky v nadzemních částech, anebo v hlízách, které se konzumují.

Celosvětovým přáním je zvýšit zemědělskou produkci a zároveň nezvýšit znečištění životního prostředí nejen těžkými kovy. Z dnešních studií je jasné, že není potřeba se konzumace brambor kvůli obsahu těžkých kovů obávat, je ale potřeba do budoucna kontrolovat obsah všech těžkých kovů a je doporučeno kontrolovat i kvalitu závlahové.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem této diplomové práce bylo ověření následujících vědeckých hypotéz:

- Existují meziodrůdové rozdíly v růstu jednotlivých částí rostlin vzhledem ke koncentraci kadmia/kobaltu přidaného do kultivačního média
- Existují meziodrůdové rozdíly ve tvorbě sušiny vzhledem ke koncentraci kadmia/kobaltu přidaného do kultivačního média
- Pěstování rostlin v *in vitro* prostředí je homogenní a simulace změn a koncentrace kadmia/kobaltu má vliv na vývoj rostlin

Hlavním cílem této diplomové práce bylo navrhnout *in vitro* metodu k testování reakce odrůd bramboru na kontaminaci kadmiem a kobaltem pro případné praktické šlechtitelské využití. Dílčím cílem práce bylo zhodnotit a statisticky porovnat morfologické vlastnosti nadzemních částí rostlin a kořenů u jednotlivých odrůd a vliv koncentrace jednotlivých prvků v médiích na hmotnost čerstvé biomasy versus suché biomasy a celkové sušiny.

3 Literární rešerše

3.1 Význam, historie a vývoj plodiny

Brambory, jakožto zemědělská plodina, se z dlouhodobého hlediska řadí mezi čtyři celosvětově nejvýznamnější pěstované plodiny. Uplatňují se nejen jako potravina samotná, ale také jako významná surovina v potravinovém průmyslu. Jejich význam se každým rokem zvyšuje; zejména ve státech s nižší životní úrovní, ale i ve státech s vyspělou ekonomikou hrají stále významnou roli. Čím vyšší životní úroveň, tím méně je poptávky po konzumaci brambor ve slupce, ale roste poptávka po polotovarech a výrobcích z brambor. Dále se brambory využívají na výrobu škrobu nebo lihu, ale každým rokem klesá spotřeba brambor jakožto krmné plodiny. Brambory, ve smyslu potraviny, jsou pro člověka významné zejména po nutriční stránce, protože obsahují škrob, sacharidy, vlákninu, ale také tuky, bílkoviny, vitaminy a minerální látky. Hlízy ale mohou obsahovat i glykolakaloidy, které jsou pro člověka škodlivé (Vokál 2013).

Brambory se vyvinuly jako plodina mírného pásma a později byly rozšířeny do celého světa. Brambor byl do Evropy dovezen v druhé polovině 16. století z Jižní Ameriky, kde využívalo domorodé indiánské obyvatelstvo tuto plodinu již nejméně dva tisíce let. Během introdukce do Evropy trvalo 200 let, než se tato plodina adaptovala na změnu klimatických podmínek a začala být výnosná a člověku užitečná (Horáčková & Domkařová 1998).

Brambory se pěstují zejména v mírném pásmu, neboť pro růst potřebují průměrnou teplotu 17-21 °C, ale pro tvorbu hlíz potřebují nižší teplotu, a to 15-18 °C (Oort et al. 2012).

3.1.1 Současný stav pěstování brambor v ČR

V České republice má pěstování brambor dlouholetou tradici a je to plodina, která je i u nás v určitých lokalitách řazena do osevních postupů, jakožto plodina, která má kladný vliv na půdu. Jde především o způsob agrotechniky a hnojení statkovými hnojivými, což přispívá ke zlepšování půdní struktury (Houba et al. 2007). Před třiceti lety došlo v pěstování brambor u nás k významným změnám. Přišly nové odrůdy, celkově nový způsob pěstování a došlo i ke změnám v oblasti prodeje (Čepl et al. 2012). Velkou výhodou dnešní doby je sázení do odkameněných půd, kdy pak při sklizni nedochází k mechanickému narušení hlíz a tato metoda snižuje sklizňové ztráty, které byly způsobeny oděry a nárazy kamenů. Vysoké záhony a široké řádky jsou ideální pro polní techniku, ale také pro růst rostlin a zejména hlíz (Houba et al. 2007).

V ČR se brambory podle Žižky (2019) pěstovaly v roce 2019 na 28 834 ha, kdy se do této sumy počítají i plochy menší než 1 ha. Pěstební plochy, které jsou menší než jeden hektar, zastupují totiž v průměru roční sumy až jednu pětinu. Průměrný výnos v roce 2019 byl o 3 t.ha⁻¹ vyšší, než v roce 2018. Domácí produkce pokrývá dlouhodobě zhruba 75 % spotřeby. Dovoz brambor je kolem 166 000 t a vývoz je o dosti menší, jen 37 000 t. Uvádí se, že roční spotřeba jednoho Čecha je 68 kg brambor.

3.2 Čeleď Solanaceae

Brambory se řadí mezi vyšší dvouděložné rostliny do čeledi lilkovitých (*Solanaceae*). Rod lilek (*Solanum*) zahrnuje přes 2 000 druhů a jen 100 druhů z nich dokáže tvořit hlízy. Do tohoto rodu patří také další významné potraviny pro člověka, jako je například rajče (*Solanum lycopersicum* L.) a lilek (*Solanum melongena* L.) (Horáčková & Domkářová 1998).

Taxonomie brambor se s použitím molekulárních metod stále vyvíjí. Podle Bradshaw & Bonierbale (2010) je taxonomie planých hlízotvorných druhů rostlin rodu *Solanum* velice složitá a neustále se mění na základě pokroku vědy, zejména tedy pokroku molekulární biologie. Podle Spooner et al. (2007) je kulturní brambor reprezentován 4 botanickými druhy. Jde o základní kulturní druh *Solanum tuberosum* a dále tři hybridní druhy, které vznikly křížením domestikovaných a planých příbuzných druhů, což je *Solanum × ajanhuiri* který je diploidní, dále *Solanum × juzepczukii*, který je triploidní a *Solanum × curtilobum*, který je pentaploidní (Spooner et al. 2007).

Nejznámější a nejpoužívanější je ale starší rozdělení podle Hawkes (1990), který skupinu planých hlízotvorných druhů rozdělil na 219 skupin v 19 podsekcích. Podle novějších poznatků Spooner & Salas (2006) ale existuje 188 druhů planých druhů rodu *Solanum*, které se dělí na čtyři vývojové větve podle plastidové DNA.

3.2.1 Anatomie a morfologie *Solanum tuberosum*

Brambor je u nás pěstován jako rostlina jednoletá. Mateřské hlízy se po jednom roce vyčerpají a odumírají a spolu s nimi i skoro celá biomasa. Do druhého roku přežívají jen dceřiné hlízy s živými spícími pupeny a semena (Horáčková & Domkářová 1998).

Rostlina má nadzemní a podzemní část, nadzemním vegetativním orgánem je prýt, který je tvořen lodyhou s listy. Rozdílným genotypovým znakem může být typ a tvar prýtu, nebo také počet, výška, postavení a větvení lodyhy. Dále je důležitý počet a velikost listů, lístků, ale i barva, velikost a počet květů. Všechny z těchto znaků vycházejí z určitého genotypu (Vokál 2013). List rostliny je přetrhovaně lichozpeřený a může mít různé odstíny zelené až hnědé barvy. Středem listu prochází ztenčující se vřeteno. Některé odrůdy mají specifické úžlabní mezilístky, které se vyskytují na řapících lístků (Jůzl et al. 2000). Na vrcholu stonku jsou postaveny květy, jejichž zbarvení může být různé, i zde se jedná o odrůdový znak. Plodem této rostliny je pak dvoupouzdrá žlutozelená bobule. Bobule obsahuje kolem 100 semen, která jsou velmi malá a mohou se používat pro šlechtitelské účely (Diviš et al. 2010).

Do podzemní části rostliny se počítá bazální část stonků, které vyrůstají z mateční hlízy a dále také kořeny a stolony. Tvorba hlíz začíná tloušťnutím vrcholového internodia stolonů (Vokál 2013). Vzniku a tvorbě hlíz se říká tuberizace, je to morfogenetický proces, kdy se přeměňuje stonek v zásobní hlízu. K tomu, aby rostlina začala tvořit hlízy je potřeba anatomických, hormonálních a biochemických změn v těle rostliny. Tvorba hlízy vzniká tak, že se iniciuje tvorba stolonu z axiálního pupenu a tento stolon nadále roste a větví se, následně svůj růst zastavuje a začínají se tvořit hlízy. Stolon je podzemní výhonek lilku bramboru a roste vodorovně nebo šikmo. Jejich tvorba začíná ještě dříve, než je možné pozorovat zelenou nadzemní část (Fernie & Willmitzer 2001). Po morfologické stránce má hlíza oválný nebo

kulatý tvar, bílou dužinu a světle hnědou slupku. Tvar hlízy, barva dužiny i barva slupky jsou jedny z hlavních rozpoznávacích odrůdových znaků (Singh & Kaur 2009).

3.3 Šlechtění bramboru

Brambory je možné rozmnožovat vegetativně i generativně, problém ale nastává u kulturních odrůd, které jsou tetrasomické, jejich dědičné znaky jsou proměnlivé, a tak jsou tyto kulturní odrůdy množeny pouze vegetativně z hlíz, čímž si zachovávají požadované znaky z mateřské rostliny. Generativní způsob množení je ale důležitý pro novošlechtění nových odrůd brambor. Proto existují genové banky, které uchovávají genetickou diverzitu, nejen ve formě kulturních vyšlechtěných genotypů, ale také planých a botanických druhů. Následně se provádí hybridizace a selekce, a takto právě může vzniknout nová odrůda podle potřeb šlechtitele. V genových bankách jsou druhy uloženy v kulturách *in vitro*, což zajišťuje časově prakticky neomezenou sbírku dostupných druhů. Pro převod daného druhu brambory do aseptického prostředí *in vitro* se využívají především stonky skleníkových rostlin, nebo klíčky hlíz, popřípadě lze převod do kultury *in vitro* provést přes samotná semena (Horáčková & Domkařová 1998). Podle Jansky & Spooner (2018) může být dalším krokem do budoucího šlechtění brambor návrat na diploidní úroveň nebo zavedení metod, které jsou založené na inbredních liniích, což by mohlo být užitečné, protože se šlechtitelé nemusí soustředit na velké množství genů, ale jen na určité požadované vlastnosti pomocí hybridizace. Brambory po celém světě jsou převážně tetraploidní klony. Právě polyploidie brání šlechtitelům při eliminaci škodlivých alel a v sestavování alel, kterých je potřeba velké množství, aby vznikl vhodný kultivar.

Jedním z hlavních cílů šlechtění je získat odrůdu, která bude mít vysoký výnos. Hlavní požadavek je zde cílen převážně na vysoký podíl sušiny, dále na stolní hodnotu hlíz a další možné průmyslové zpracování, které závisí především na množství obsaženého škrobu a redukujících cukrů. Dále je důležitý obsah glykoalkaloidů, zejména alfa-solaninu a alfa-chaconinu. Mezi další faktory, které hrají významnou roli u šlechtění brambor je dobrá skladovatelnost (Chloupek 2000).

Somatická hybridizace neboli fúze protoplastů může být jednou z metod, jak překonat bariéry při šlechtění. Na tuto metodu se používají buňky z listů, které se enzymaticky zbaví buněčných stěn a takto vzniklý protoplast je připraven na fúzi pomocí elektrického proudu. Fúzované protoplasty se pak dále kultivují a přechází do stádia kalusu, kde dosáhnou organogeneze. Z kalusu pak po proběhlé organogenezi rostou prýty, z těch už pak jsou regenerovány celistvé rostliny. Pomocí průtokové cytometrie a dalších molekulárních metod se dá ověřit hybridnost odrůdy (Domkařová et al. 2013).

3.4 Škodliví činitelé bramboru

Řada různých chorob a škůdců může napadat brambory a tím zejména nejen snížit výnosy, ale také poškozovat kvalitu hlíz. Virové, bakteriální ale i houbové choroby jsou většinou přenášeny sadbou. Naopak abionózy jsou fyziologické vady a poruchy, které jsou sadbou nepřenositelné. Škůdci mohou být jak specializovaní, tak i polyfágní. Všem těmto

škodlivým činitelům se dá předcházet různými způsoby. Jedním z hlavních způsobů v dnešní době je opatření genetické a šlechtitelské, kdy se pěstují odolné odrůdy na daných lokalitách. Dalším opatřením může být například správná agrotechnika, zejména správně zvolený osevní postup a příprava sadby, vhodně zvolené datum výsadby, výživa, meziřádková vzdálenost a vzdálenost rostlin v řádku, nebo například výsadba do odkameněných půd. Dalším důležitým způsobem ochrany je přímé fytopatologické řešení problémů v porostu pesticidy nebo mořením sadby (Rasocho et al. 2008).

Zemědělci by měli řešit předpovědi a predikce k ochraně rostlin pro potřeby praxe a tím minimalizovat množství reziduí pro následující pěstební sezónu. Nadále je potřeba používat vhodné a moderní technologie a optimalizovat vstupy na pole a pěstební plány, či jít cestou precizního zemědělství a aplikovat chemické látky pouze tam, kde jsou opravdu potřeba. Integrovaná ochrana může být vhodným řešením, aby se množství škůdců udrželo na ekonomické úrovni. Je vhodné využívat praktické poznatky z praxe o dříve použitých pesticidech a ty, které se osvědčily, používat i nadále v následujících sezónách (Mayer et al. 2012).

Působením nevhodných faktorů prostředí na nadzemní a podzemní části rostliny se říká abionózy. Projevují se na nati nebo až při sklizni na hlízách, případně se mohou projevit až při skladování nebo při zpracování. Dalším problémem může být nejen v České republice dobré podnebí pro virové choroby. Viry mohou být přenosné sadbou, mechanickou cestou, nebo živočišnými vektory. Největší problém ale představuje přenos virů sadbou, proto je nejvíce doporučováno používat certifikovanou sadbu. Projev virových chorob může být pozorovatelný jak na nadzemní části rostliny, tak i na hlízách. Přítomnost viru může způsobit ztráty o 10-80 % na celkovém výnosu. Dalším problémem mohou být viroidy a fytoplasmy. Jsou to vnitrobuněční parazité, problém s nimi je větší v teplejších oblastech. Mohou je přenášet například křísi, anebo mohou být přenášeni mechanicky pomocí nářadí, či pylem a semeny. Mezi další významné škodlivé činitele bramboru lze zařadit bakteriální choroby. Jsou způsobené velice závažnými prokaryotními organismy, mohou snížit výnos a ohrožují kvalitu hlíz. Proti těmto organismům nelze bojovat, jen preventivně předcházet, a to zejména technologickou stránkou pěstování brambor. Nadále jsou problematické houbové choroby, poškozují nejen podzemní, ale také i nadzemní části rostliny. Je to početná skupina organismů, která způsobuje specifické příznaky. Do rostliny se mohou dostat přímo, nebo mohou využít nějaké mechanické poškození a vstoupit sekundárně. Houbové choroby a jejich průběh i výskyt je hodně spojen s počasím a také s půdním typem. Jako zásadní ochrana se například používá prognóza, prevence a signalizace v kombinaci s vhodnou odrůdou na danou lokalitu. Škůdci jsou poslední velkou skupinou, která může způsobovat problémy u růstu rostlin bramboru a mít podíl na ztrátách u sklizně. Napadají nadzemní i podzemní části rostliny, mohou škodit sáním či požerem, anebo působit jako vektor pro převážně virové choroby. Též se může stát, že škůdci jako takoví nejsou závažným problémem, ale mohou vytvořit cestu pro bakteriální či houbové infekce. (Rasocho et al. 2008).

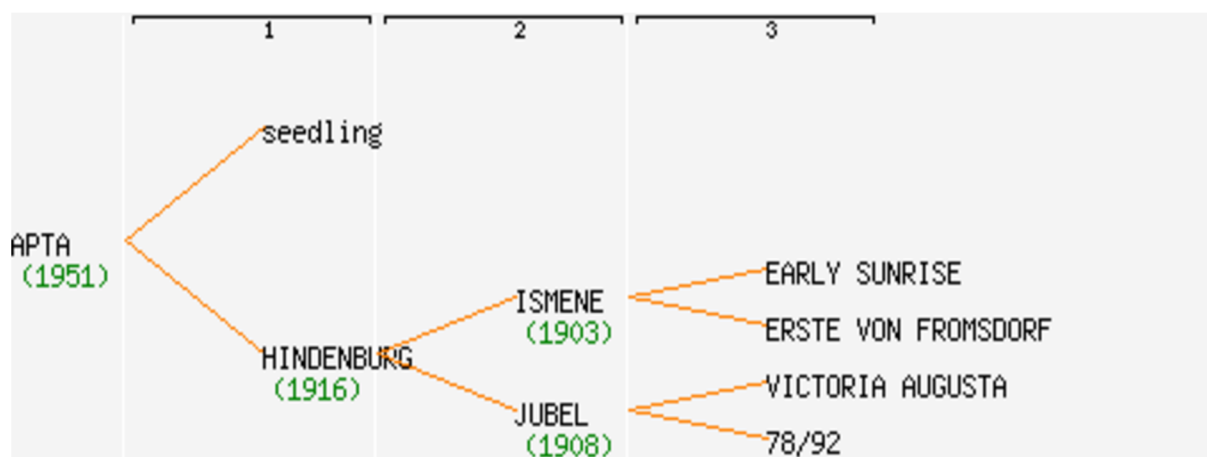
3.5 Použité rostlinné zdroje a jejich charakteristika

Metodická část diplomové práce je založena na výzkumu šesti odrůd rostlin *Solanum tuberosum* L. Použité odrůdy jsou důkladněji popsány v této kapitole.

3.5.1 Apta

Solanum tuberosum cv. Apta je tetraploidní odrůda z Německa, která byla vyšlechtěna v roce 1951. Vznikla z mezidruhového hybridu a odrůdy jménem Hinderburg (Interspec. Hybrid × Hindenburg) viz Obrázek 1. Barva květu je modrá a barva hlízy je bíložlutá se světle žlutou dužinou uvnitř. Odrůda je to pozdní až velmi pozdní. Hlízy jsou kulovitě oválné, středně velké až velké. V tvorbě výnosu se řadí mezi středně až vysoce plodící odrůdy. Má střední obsah sušiny a škrobu.

U této odrůdy může být problém s plísní bramborovou (*Phytophthora infestans*), bakteriální měkkou hnilobou (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*) i s háďátkem bramborovým (*Globodera rostochiensis*). Je středně až vysoce odolná proti bramborové strupovitosti (*Streptomyces scabies*). V odolnosti proti plísním na hlízách se řadí do středu, s odolností listů proti plísni je to na střední až vysoké škále odolnosti. Má vysokou odolnost proti vložkovitosti hlíz bramboru (*Rhizoctonia solani*), práškové strupovitosti (*Spongospora subterranea*), černé hnilobě (*Pectobacterium atrosepticum*) a virové svinutce bramboru (Potato leafroll virus, PLRV). Na poli je imunní vůči rakovině bramboru (*Sychytrium endobioticum*). Má vysokou odolnost vůči viru brambor A a M. Vůči viru brambor Y dosahuje středních až vysokých hodnot, ale vůči viru brambor X je její odolnost nízká (The European Cultivated Potato Database).

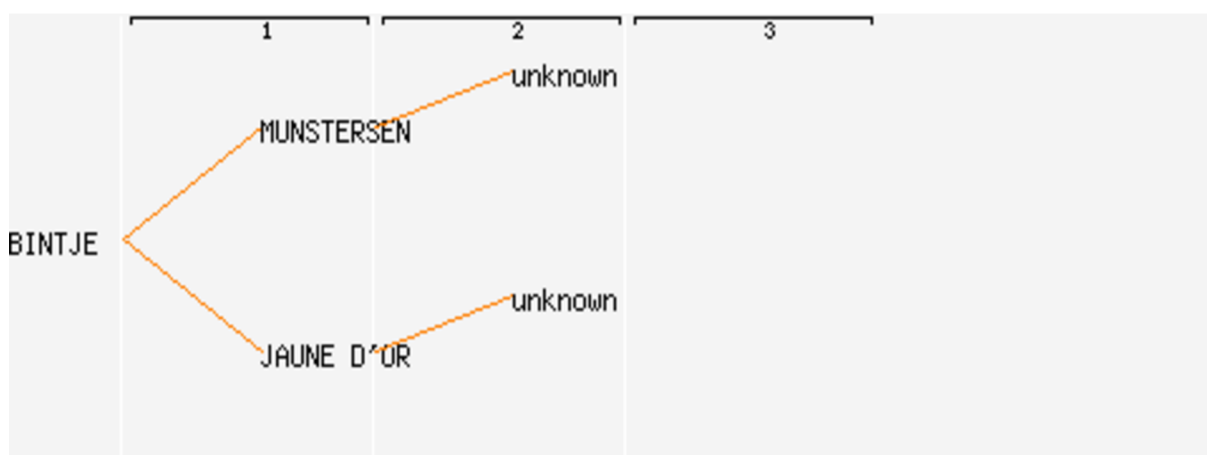


Obrázek 1: Pedigree pro odrůdu 'APTA' (The European Cultivated Potato Database).

3.5.2 Bintje

Solanum tuberosum cv. Bintje je holandská tetraploidní odrůda vyšlechtěná z Munstersen × Fransen viz Obrázek 2. Má velké široce oválné listy a dorůstá střední výšky. Květy jsou bílé barvy. Řadí se mezi středně rané odrůdy a výnosově se řadí mezi odrůdy s vyšším až vysokým výnosem. Uniformní hlízy jsou středně velké, ledvinovitě dlouhé se žlutohnědou slupkou a nažloutlou dužinou. Hlízy mají nízký obsah škrobu a střední až vysoký podíl sušiny.

Odrůda Bintje je málo odolná strupovitosti bramboru (*Streptomyces scabies*), rakovině bramboru (*Synchytrium endobioticum*), fusáriovému vadnutí (*Fusarium oxysporum*), vločkovitosti hlíz bramboru (*Rhizoctonia solani*), fomové hnilobě bramboru (*Phoma foveata*), a plísni bramborové (*Phytophthora infestans*). Střední odolnost vykazuje vůči prašné strupovitosti bramboru (*Spongospora subterranea*). Odolnost vůči viru A a Y je vysoká, vůči viru M, S, YN a X je střední, a je vysoce odolná vůči virové svinutce bramboru (Potato leafroll virus, PLRV). Mrazuvzdornost této odrůdy je nízká, ale je velice odolná proti suchu (The European Cultivated Potato Database).

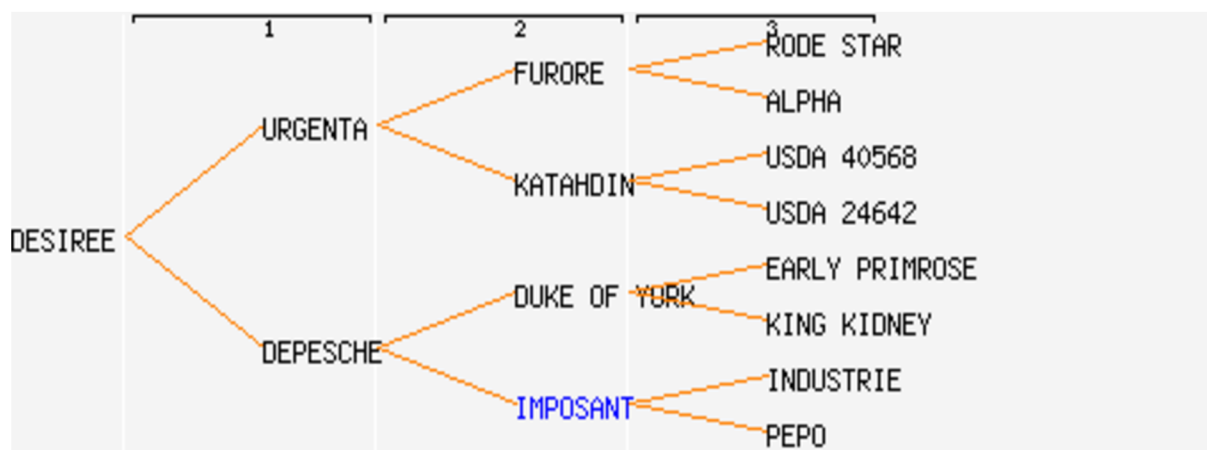


Obrázek 2: Pedigree pro odrůdu 'BINTJE' (The European Cultivated Potato Database).

3.5.3 Desiree

Solanum tuberosum cv Desiree je holandská tetraploidní odrůda. Byla vyšlechtěna z Urgenta × Depesche viz Obrázek 3. Má velké tmavě zelené, dlouze oválné listy, světle červenofialové květy a středně velké, uniformní, dlouze oválné hlízy s červenou slupkou a žlutavou dužinou. Řadí se mezi polorané odrůdy s vysokou výnosností a dobrou skladovatelností. Odrůda je velice odolná proti suchu. Má malý obsah škrobu.

U odrůdy Desiree může být problém se strupovitostí (*Streptomyces scabies*), virem svinutky bramboru (Potato leafroll virus, PLRV), prašnou strupovitostí bramboru (*Spongospora subterranea*). Je středně odolná plísním na hlízách i na listech, vložkovitostí hlíz bramboru (*Rhizoctonia solani*), plísní bramborové (*Phytophthora infestans*) a fomové hnilobě bramboru (*Phoma foveata*). Ve středních až vysokých hodnotách se pohybuje rezistence na viry A, M, X, Y a YN. Vysoce odolná je rakovině bramboru (*Synchytrium endobioticum*), fusariové hnilobě bramboru (*Fusarium coeruleum*, *Fusarium* spp.) a černé hnilobě (*Pectobacterium atrosepticum*) (The European Cultivated Potato Database).

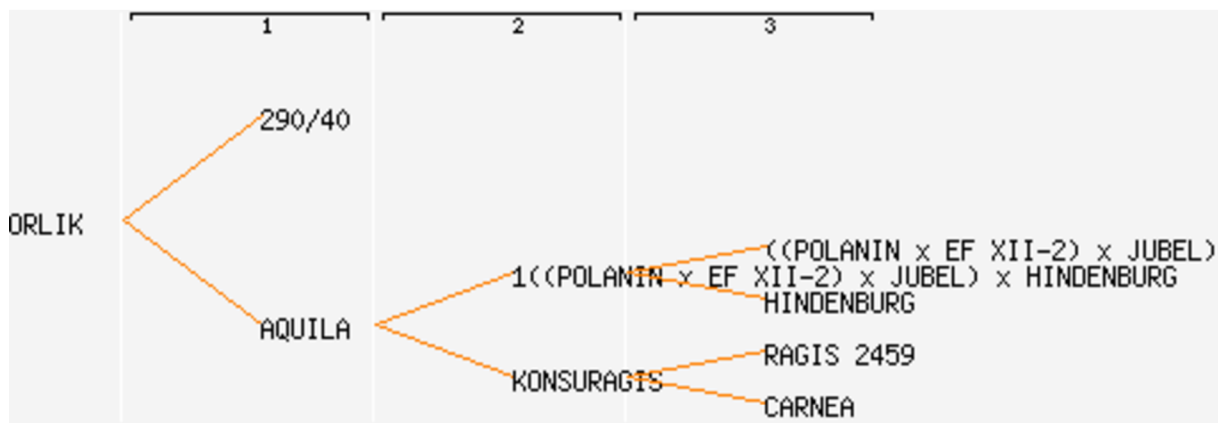


Obrázek 3: Pedigree pro odrůdu 'DESIREE' (The European Cultivated Potato Database).

3.5.4 Orlík

Solanum tuberosum cv. Orlík je tetraploidní odrůda bramboru původem z Československa. Tato odrůda byla vyšlechtěna v roce 1962 z 290/40 × Aquila viz Obrázek 4. Má velké široce oválné listy a celkově rostlina dorůstá výšky až 55 cm, tím se tedy řadí mezi vysoce vzrůstné odrůdy. Hlízy jsou malé, oválné až kulaté s nažloutlou dužinou. Výnos této odrůdy je nadprůměrný.

Je vysoce odolná rakovině bramboru (*Synchytrium endobioticum*), má střední odolnost vůči virům a plísní bramborové (*Phytophthora infestans*), dále velice dobře odolává plísním na hlízách i listech. Má vysoký obsah škrobu a sušiny (The European Cultivated Potato Database).

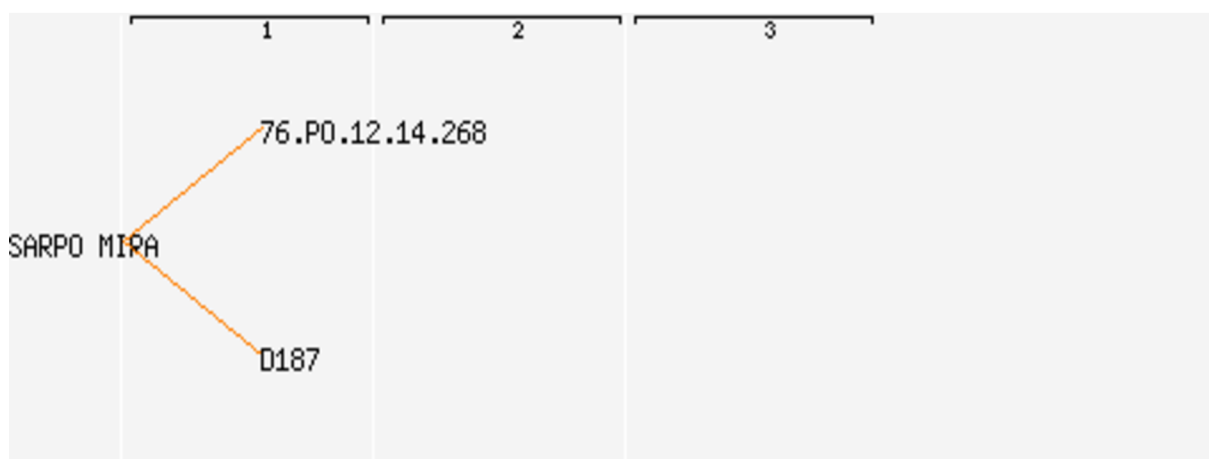


Obrázek 4: Pedigree pro odrůdu 'ORLIK' (The European Cultivated Potato Database).

3.5.5 Sarpo Mira

Solanum tuberosum L. cv. Sarpo Mira je řazena mezi nejvíce rezistentní odrůdy konzumních brambor, pochází původem z Maďarska a je tetraploidní. Byla vyšlechtěna z 76 PO 12 14 268 × D187 viz Obrázek 5. Barva květu je bílá, od středu červenofialová a barva slupky hlízy je hladce červená s bílou dužinou uvnitř. Odrůda je to velmi pozdní a její hlízy jsou dlouhé a oválné.

U této odrůdy může být problém s rakovinou bramboru (*Sychytrium endobioticum*), strupovitostí (*Streptomyces scabies*), fomovou hnilobu bramboru (*Phoma foveata*) a háďátkem bramborovým (*Globodera rostochiensis*). Odolnost proti práškové strupovitosti (*Spongospora subterranea*) je střední, proti plísním na hlízách a listech je odolnost vysoká. Dále velice dobře odolává černé hnilobě (*Pectobacterium atrosepticum*), Y viru brambor a je středně citlivá na virus svinutky bramboru (Potato leafroll virus, PLRV) (The European Cultivated Potato Database).



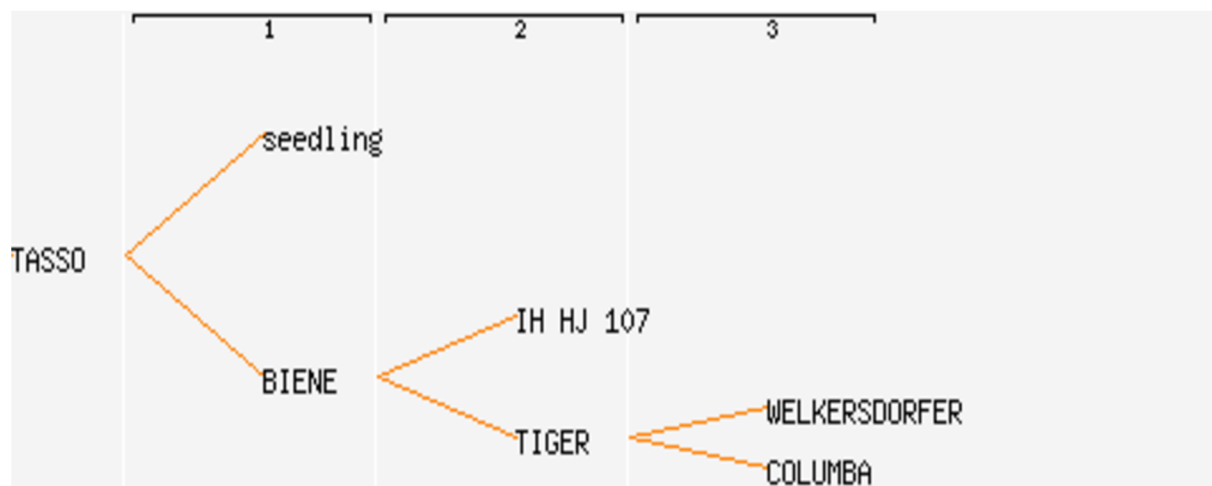
Obrázek 5: Pedigree pro odrůdu 'SARPO MIRA' (The European Cultivated Potato Database).

Podle laboratorních, ale i polních, testů odolá i velkému infekčnímu tlaku plísní bramborové (*Phytophthora infestans*). Podle studie Rietman et al. (2012) má tato odrůda vysoce komplexní genetický základ pro rezistenci složený z nejméně pěti různých R genů. Čtyři geny jsou kvalitativní a jeden kvantitativní. Kvalitativní gen *R3a*, *R3b*, *R4*, *Rpi-Smira1* a kvantitativní gen *Rpi-Smira2*. Podle Haverkator et al. (2009) způsobuje *Phytophthora infestans* ročně až 16% ztráty z celosvětové produkce brambor. Je to onemocnění způsobené oomycetou a je známé především podle hladomoru, který tato plíseň způsobila v Irsku v 19. století. Jako nejúčinnější ochranou proti této plísni je šlechtění kultivarů na rezistenci. Tato plíseň má ale pozoruhodnou schopnost odolávat rezistentním odrůdám a adaptovat se. Sarpo Mira je jednou z mála odrůd, která odolává této plísni na poli až několik let, a to je podle Rietman et al. (2012) způsobené převážně kvantitativním genem *Rpi-Smira2*, který je těžce detekovatelný v laboratorních podmínkách, ale v polních podmínkách je zásadní. V laboratorních podmínkách tento gen potlačují jiné R geny se silnějším účinkem.

3.5.6 Tasso

Solanum tuberosum L. cv. Tasso je tetraploidní odrůda z Německa. Vznikla z mezidruhového hybridu a odrůdy Biene (Interspec. hybrid × Biene) viz Obrázek 6. Má malé listy a bílé květy, hlízy jsou velké, dlouze oválné se žlutohnědou slupkou a žlutou dužinou. Řadí se mezi středně vzrůstné a velmi pozdní odrůdy s vysokou výnosností. Konzumní kvalita těchto brambor je vysoká, má vysoký obsah škrobu a vysoký podíl sušiny.

Je málo odolná virovým chorobám, plísní bramborové (*Phytophthora infestans*). Středně odolná je vložkovitosti hlíz bramboru (*Rhizoctonia solani*), práškové strupovitosti (*Spongospora subterranea*) a černé hnilobě (*Pectobacterium atrosepticum*). Vysoce odolná je rakovině bramboru (*Synchytrium endobioticum*), plísním na hlízách i listech, strupovitosti (*Streptomyces scabies*), a také je vysoce rezistentní na viry typu A a Y a proti virové svinitce bramboru (Potato leafroll virus, PLRV) (The European Cultivated Potato Database).



Obrázek 6: Pedigree pro odrůdu 'TASSO' (The European Cultivated Potato Database).

3.6 Výživa brambor

Živiny v bramborách jsou velmi důležité pro dosažení optimálního výnosu a kvality hlíz. Brambor je rostlina s vysokými nároky na ně, protože tvoří bohatou vegetativní hmotu a velké množství hlíz na jednotku plochy. Vyžaduje velké množství dusíku, fosforu, draslíku, hořčíku, vápníku a také mikroživin. Vysokých výnosů brambor lze dosáhnout pouze aplikací optimálních dávek živin ve vyvážených poměrech (Poljak et al. 2007).

Pro základní metabolismus krytosemenných rostlin se uvádí 19 chemických prvků, které se řadí do tří skupin. Makroživiny, mikroživiny a prospěšný prvek křemík. Křemík se řadí do prospěšných prvků, protože je nezbytný pro údržbu rostlinných struktur.

Mikroživiny jsou pro brambory velmi důležité, neboť je na nich závislý obsah chlorofylu v listech, intenzita fotosyntézy, a tím i asimilační aktivita celých rostlin (Marschner 1995). Podle Meng et al. (2004) postřik roztokem mikroprvků (B, Cu, Mn, Zn, Mo) na listy brambor zvýšil příjem N, P, K. Také se po aplikaci postřiku zvýšil obsah chlorofylu, zlepšila se fotosyntéza, podpořila se expanze hlíz a zvýšily se výnosy brambor. Mikroživiny jsou tedy důležitými klíčovými prvky, které stimulují příjem dalších primárních a sekundárních živin, pokud jsou aplikovány v optimální koncentraci. Může zde pak totiž hrát roli interakční účinek, kdy například příjem zinku je spojený s příjmem fosforu, příjem železa je spojen s příjmem mědi, a příjem mědi je dále spojen s příjmem zinku a hořčíku. Preferovaná může být právě listová aplikace mikroživin, které jsou pak snadněji dostupné rostlinám (Manjunath 2018).

3.6.1 Hnojení brambor

Podle výzkumu Mayer et al. (2009) se na polích můžeme setkat s tím, že brambory mají nízkou úroveň využití minerálních hnojiv, které jsou aplikovány a přijímají z nich pouze jen 30-50 %. Minerální živiny se rozptylují do většího a hlubšího půdního profilu, protože se před sadbou půda odkameňuje a tím dochází ke kypření hlubších vrstev, hnojiva se tedy dostanou i mimo místo růstu kořenů a tím pádem jsou v mnohem menších koncentracích tam, kde jsou nejvíce využitelné. Tento problém je ještě umocněn tím, že se brambory pěstují na lehkých a promyvných půdách, kdy převážně dusičnany z hnojiv znečišťují povrchové i podzemní vody. Jedním z řešení tohoto problému může být například lokální aplikace hnojiv, což umožní zvýšené využití živin a při snížené aplikaci dávky hnojiva. Podle výzkumů z Anglie a Skotska toto lokální hnojení dokáže snížit dávku hnojiva až o 30 % při zvýšení využití živin o 30-50 %. Tímto opatřením se může výnos zvýšit až o 10 %, a též se může zvýšit i kvalita sklizně.

3.7 Těžké kovy

Z chemického hlediska jsou těžké kovy prvky se specifickou hmotností větší než $5,0 \text{ g.cm}^{-3}$. Na Zemi se vyskytuje kolem 90 prvků, z toho je 21 nekovů, 16 lehkých kovů, a ty zbylé jsou řazeny mezi těžké kovy. Pouze některé těžké kovy jsou za určitých fyziologických podmínek rozpustné, čímž se stávají dostupnějšími pro živé organismy. Některé těžké kovy jsou považovány za nezbytné pro život, jako je například Fe, Co, Mo, Mn, Zn, V, Ni, Cr, Cu a W. Můžeme je rozřadit mezi mikroživiny, stopové prvky, kofaktory biochemických reakcí,

nebo toxické prvky. Dále se mezi těžké kovy řadí Cd, Hg, Ag, Pb, U, ale tyto prvky nemají žádnou známou biologickou funkci a jsou toxické i ve stopovém množství (Furini 2012).

Tolerance kovů v půdách může záviset na evoluci rostlinného druhu. Podle Ernst (2006) existuje podobnost v zapojení jednoho či více genů, které kontrolují toleranci kovu ve fyziologických mechanismech. Právě tyto geny zapříčiňují kompartmentaci kovů do fyziologicky méně aktivních buněk a tkání. Vybrané tolerantní druhy pak mohou sloužit jako indikátory půd s vyšším obsahem těžkých kovů.

Nadměrná kontaminace půdy kovy v souvislosti se zemědělskou a průmyslovou činností ovlivňuje růst a vývoj rostlin a výslednou kvalitu zemědělských produktů. Celosvětovou snahou je zvýšit zemědělskou produkci a zároveň nezvýšit znečišťování životního prostředí. Každým rokem se vyvíjí zemědělství i zdravotnictví, přesto je na světě stále mnoho rozvojových zemí, kde se lidé setkávají s nedostatkem potravin a nedostatečnou zdravotnickou péčí (Husen & Siddiqi 2014). Antropogenní aktivity, jako je těžba, průmyslové a domácí odpadní vody a kaly, aplikace hnojiv a pesticidů a v neposlední řadě znečištění ovzduší, jsou hlavními zdroji kontaminace rostlin kovy (Wuana & Okieimen 2011). Těžké kovy jsou nerozložitelné, což může mít nepříznivé biologické účinky (Wagesho & Chandravanshi 2015). Už při nízkých koncentracích jsou prvky jako Ni, Cd, Cr a Pb škodlivé nejen pro rostliny, ale i pro člověka (Parsafar & Marofi 2014).

Kořenové exsudáty a mikroorganismy v okolí rhizosféry ovlivňují mobilitu kovů v půdě. Na stěny kořenových buněk se vážou mobilizované kovy a přes transportní systémy a cytoplazmatickou membránu se dostávají do těla rostlin. Pokud jsou neesenciální i esenciální těžké kovy v těle rostliny v nadbytečném množství, může rostlina vykazovat známky fytotoxicity a inhibovat růst. Přebytek těchto prvků vyvolává oxidační stres, esenciální ionty se vytěsňují z proteinů či jiných molekul a vážou se na skupiny kyslíku, dusíku, nebo síry, čímž se inaktivují enzymy (Furini 2012). Podle Shah et al. (2009) může nadměrná koncentrace těžkých kovů v rostlinách způsobit oxidační stres a snížit funkčnost průduchů. Podle Monni et al. (2001) se může také ovlivnit fotosyntéza a procesy spojené s tvorbou chlorofylu. Z konkrétních prvků pak měď může omezovat funkci fotosyntézy, olovo je spojené s množstvím vyprodukovaného chlorofylu, a pokud je v přebytku Zn nebo Sn, může rostlina omezit růst nebo ho kompletně zastavit (Ayari et al. 2010). Části rostlin reagují různě na dlouhodobou expozici těžkých kovů. Kořeny mohou začít slizovatět, hnědnout a může dojít i ke změně v jejich morfogenezi, například k inhibici tvorby bočních kořenů. U listů může dojít ke změnám ultrastruktury chloroplastů. Celkově listy mají omezenou činnost fotosyntézy, obsahují menší množství chlorofylu a mohou se na nich vyskytovat chlorózy (Rascio et al. 2008).

Podle výzkumu Ashraf et al. (2011) je místem s největší pravděpodobností kontaminace rostlin těžkými kovy hlšina. Těžké kovy se z ní snadno vyluhují, jelikož má nízké pH, z více jak padesáti procent se skládá z písku, a tak nezadržuje vodu, postrádá strukturu a má také nízkou výměnnou kapacitu iontů. Hodnota pH půdy ovlivňuje rozpustnost kovů a schopnost rostlin přežít. Problém může nastat tehdy, pokud se vyplavuje půdní profil a kontaminuje se užitková voda v místě těžebního povodí. Existují však ale některé rostlinné druhy, kterým tyto podmínky pro život nevadí a daří se jim i na těchto místech. Pěstováním rostlin na těchto

místech je prospěšné pro okolí, protože nedochází k tak rozsáhlé erozi a lépe se zadržuje voda v krajině a půda má lepší strukturu. Rostlinná těla také kumulují část těžkých kovů z půdy, čímž se do budoucna může přispět k čištění životního prostředí. Největší podíl těžkých kovů se v průměru nachází v kořenech, dále pak v listech, výhoncích a květech.

3.7.1 Těžké kovy a křemík

Podle Bhat et al. (2019) je křemík prvkem pro lepší budoucnost v souvislosti se zvýšeným množstvím těžkých kovů v půdách. Si je druhým nejrozšířenějším prvkem (po kyslíku) v zemské kůře (Deshmukh et al. 2017). Přes jeho zastoupení ale není všechen Si v dostupné formě pro rostliny, většinou rostliny přijímají Si ve formě kyseliny křemičité (H_4SiO_4) (Hodson et al. 2005). Suplementace zemědělských půd tímto prvkem může plodinám pomoci zmírnit biotický i abiotický stres a zvýšit výnos. Křemík pomáhá rostlinám být více tolerantní k množství těžkých kovů, které se nachází v půdě. Díky křemíku mohou rostliny koprecipitovat nahromaděné těžké kovy, anebo spustit genovou regulaci související s transportem kovů. Dalším obranným mechanismem může být také kompartmentace kovových iontů, anebo celkové strukturální změny v rostlinném těle. Tento mechanismus ale platí lépe na rostliny, které mají větší kapacitu akumulace křemíku. Proto by mohl být dalším šlechtitelským krokem v boji s těžkými kovy právě křemík a snaha vyšlechtit rostliny, které budou více akumulovat Si a tím zmírňovat nepříznivé účinky těžkých kovů (Bhat et al. 2019).

3.7.2 Hyperakumulátory

Současné technologie spoléhají na procesy extrakce nebo imobilizace těžkých kovů z půd, které jsou ale drahé a během dekontaminace odstraňují veškerou biologickou aktivitu, a tím pádem mohou být vhodné pouze pro malé oblasti. Oproti tomu například sanace využívá rostliny, kterým se říká hyperakumulátory, protože jsou schopny kumulovat kovy jako je například zinek a nikl. V těchto rostlinách pak narůstá koncentrace nad 2 % daných kovů v celkové sušině nadzemních částí. Pěstování takových rostlin v intenzivních podmínkách a následná sklizeň sušiny je navržena jako možný způsob odstraňování kovů a čištění kontaminovaných zemědělských půd až na hodnoty koncentrace kovů pod zákonnými limity. Nejen že je zachována biologická aktivita a fyzikální struktura půdy, ale technika je potenciálně levná a vizuálně nenápadná (Baker et al. 1994).

Podle výzkumu Rascio & Navari-Izzo (2011) mohou hyperakumulátory na znečištěných půdách hromadit těžké kovy v listech v koncentracích, které jsou až stokrát vyšší než u jiných rostlin. Hyperakumulace je podle nich způsobena fyziologickými, molekulárními a adaptivními mechanismy. Je to ale velmi složitý a komplexní problém, který je ještě potřeba podrobit výzkumu, protože nebyly ještě pochopeny všechny aspekty tohoto jevu. Druhy rostlin, jež umí akumulovat velké množství těžkých kovů v listech, nemusí být příbuzné, což dokazuje, že evolučně se tento mechanismus vyvinul opakovaně a zcela nezávisle.

3.7.3 Fytoremediace

Fytoremediace půd, které jsou nadměrně kontaminované kovy, nabízí nízkonákladovou metodu sanace půdy (Chaney et al. 1997). Touto metodou je možné ošetřit velké plochy polí. Při výběru rostlin, které jsou vhodné pro fytoremediační účely, je nutné brát nejen ohled na schopnost kumulace kovů vysazované rostliny, ale také i schopnost odolávat jiným stresovým podmínkám na daném stanovišti. Existuje několik parametrů, díky kterým se dá určit hodnota stresu rostlin, je to například produkce biomasy, inhibice růstu, změny ve fotosyntéze, inhibice klíčení, nebo produkce antioxidantních enzymů. Doba, za kterou se očistí daná plocha, závisí na druhu kontaminace; jakým těžkým kovem a jak moc je půda kontaminovaná (Lewandowski et al. 2006).

Nejen fytoextrakce kovů, ale také i fytovolatilizace Se nebo Hg rostlinami jsou velkým příslibem pro komerční rozvoj této metody. Fenotyp je u těchto rostlin mnohem důležitějším prvkem nežli vysoká výnosnost. Hypertolerance kovů je klíčovou rostlinnou charakteristikou potřebnou pro hyperakumulaci. Podle výzkumů se zdá, že zdrojem hypertolerance kovů je vakuolární kompartmentalizace (Chaney et al. 1997).

Podle výzkumu Lewandowski et al. (2006) má fytoremediace pozitivní ekonomickou hodnotu pro farmáře a jejich využívání půd, protože například produkty vyrobené poté, co je půda očištěná, se mohou prodávat za vyšší cenu.

3.8 Kadmium

Kadmium je kovový prvek, který se nachází v periodické soustavě prvků spolu se zinkem a rtuťí ve 2. vedlejší skupině (Webb 1979). Hlavními zdroji Cd v prostředí je těžba, metalurgie, spalování fosilních paliv a odpadů, použití fosfátových hnojiv a další. V životním prostředí člověka je podstatným zdrojem kadmia cigaretový kouř. Kompletní vyloučení kadmia ze životního prostředí není zcela možné, protože je i za normálních podmínek vylučováno z hornin (Nazar et al. 2012). Je to toxický prvek, který představuje hrozbu pro lidské zdraví, protože se může v lidském těle hromadit. Hovmand et al. (1983) v Dánsku studovali atmosférické vstupy obsahující kadmium a jeho škodlivý vliv při ulpívání na povrchu těl rostlin. Zjistili, že atmosférické kadmium je z povrchu těla absorbováno a transportováno v celém objemu rostliny. Vzdušné kadmium je tak významným příspěvkem k obsahu kadmia v plodinách a tím pádem přispívá i k příjmu tohoto toxického kovu potravou. S pokrokem vědy a nárůstem výzkumů se zjistilo, že jeho koncentrace představuje celosvětový environmentální problém (Clemens et al. 2013).

Podle Kubier et al. (2019) je medián obsahu kadmia v zemské kůře 0,2 mg/kg. V půdách se podle nich Cd vyskytuje v koncentracích 0,01 až 1 mg/kg s celosvětovým průměrem 0,36 mg/kg. Například nadměrné hnojení dusíkem snižuje pH půdy, což je spojeno se zvýšenou iontovou silou a zvýšenou mobilitou Cd. Podle Krantev et al. (2008) dochází po dlouhodobé expozici rostlin kadmiiem ke slizovitosti, hnědnutí a rozkladu kořenů, také může dojít ke snížení prodloužení výhonů a kořenů, svinování listů, a může se objevit chloróza. Taktéž zjistili, že Cd inhibuje laterální tvorbu bočních kořenů, zatímco hlavní kořen hnědne a je tuhý a zkroutený.

Ne všechna rostlinná pletiva Cd kumulují, proto je zejména u brambor důležité, aby se Cd nekumulovalo v jedlých částech, tedy ve hlízách (Yixin et al. 2020). McLaughlin et al. (1994) zkoumali obsah kadmia v hlízách brambor v Austrálii a na různých lokalitách testovali kumulaci kadmia u jednotlivých odrůd. Zjistili, že koncentrace kadmia v hlízách se dosti významně lišila u jednotlivých odrůd a hladina kadmia závisela na dané lokalitě, kde byly brambory pěstované. Také tvrdí, že pokročilé šlechtitelské linie vykazovaly potenciál ke snížení akumulace Cd. Průměrné koncentrace Cd v hlízách zprůměrované na všech lokalitách, se pohybovaly v rozmezí 30 až 50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ čerstvé hmotnosti, což je pod maximální povolenou koncentrací. Na některých stanovištích však některé odrůdy překročily maximální povolenou koncentraci, v průměru celku ale nikoli. Půda a další faktory stanoviště, jako je například kvalita vody pro zavlažování, či klima, hrají dominantní roli při akumulaci Cd.

Podle Yixin et al. (2020) tedy závisí kumulace kadmia převážně na odrůdě. Různé obsahy Cd v rostlinách závisí na genotypu a také na koncentraci prvku v půdě. Nadměrná akumulace Cd v různých kultivarech ovlivňuje příjem a distribuci některých živin (Nazar et al. 2012). Cibulka (1986) říká, že rostliny jsou různě rezistentní vůči kadmii. Rostliny ze skupiny listové zeleniny, jako je například špenát, akumulují kadmium v listech, což může být pro konzumenta nebezpečné. Naopak vůči Cd jsou odolné například rajčata a právě brambory, protože neakumulují velké množství Cd v místech, které se konzumují. Podle výzkumu Sánka et al. (2003) se u brambor kumuluje kadmium více v nadzemních částech, a to podle jejich výzkumu přesně 10x více než právě ve hlízách. V Tabulce 1 jsou uvedeny hodnoty a hygienické limity obsahu Cd v potravinách. Podle studie Selahvarzi & Sobhan Ardakani (2020) není potřeba se konzumace brambor, ve vztahu k obsahu kadmia, obávat, je ale potřeba do budoucna kontrolovat nejen obsah kadmia, ale také olova a je doporučeno kontrolovat i kvalitu závlahové vody. Protože je Cd přirozeně se vyskytující složkou ve všech půdách, budou všechny potraviny obsahovat určité množství Cd, a tudíž jsou všichni lidé vystaveni přirozenému obsahu Cd. Způsoby obdělávání půdy a střídání plodin mají velký vliv na obsah kadmia v půdách (Mench et al. 1998).

Tabulka 1: Hygienické limity obsahu Cd v potravinách podle vyhl. č. 53/2002. Převzaty jsou hodnoty nejvyššího přípustného množství pro danou potravinu, popř. pro potraviny obecně (Sáňka et al. 2003).

Potravina	mg.kg ⁻¹ Cd
Brambory (hlízy)	0,1
Pšenice (zrno)	0,2
Kukuřice (zrno)	0,1
Hrách(semeno)	0,3
Mrkev (kořen)	0,1
Zelenina	0,05
Ovoce	0,05
Zelenina plodová, cibulová	0,1
Zelenina kořenová	0,1
Celer	0,2
Zelenina listová	0,2
Maso	0,1

3.9 Kobalt

Kobalt byl poprvé izolován a rozpoznán jako prvek švédským chemikem Brandtem v roce 1735. Celkově tvoří asi 0,001 % zemské kůry. Je to stříbřitě bílý kov připomínající svým vzhledem čisté železo a nikl (Nicholls 1975). Celkový obsah kobaltu v půdách po celém světě se značně liší a může být od množství 0,05 ppm až po 200 ppm. Množství se odvíjí v závislosti na obsahu kobaltu v horninách, z nichž půdy pocházejí a v závislosti na typech půd (Barceloux 1999). Je nezbytným stopovým prvkem nejen pro lidi, ale i pro zvířata. Jeho hlavním účelem je konstituce vitamínu B12 (kobalamin), který má důležitou roli při regeneraci erytrocytů. Kobalaminy jsou organokovové sloučeniny s vazbami kobalt-uhlík (Hapke & Hilt 2019). Podle Hu et al. (2021) je kobaltu v půdě průměrně 25 mg.kg⁻¹. Kobalt je řazen mezi rostlinné mikroživiny. Pro nižší, ale i pro vyšší rostliny je nezbytným prvkem. Například u rostlin z čeledi *Fabaceae* je Co spojen s půdní fixací dusíku, čímž se tato čeleď vyznačuje. Rostliny mohou vykazovat nedostatek Co, ale je to spíše nepravděpodobné. Ve většině případů se spíše projeví nadbytek tohoto prvku, protože ve větších koncentracích je pro rostliny toxický. Nadbytek se může projevit světlejší barvou listů, bílou žilnatinou a popřípadě padáním listů. Toxicita kobaltu je podobná toxicitě Zn, Cu a Ni. Projevem toxicity může být cytotoxicita. Podle Palit et al. (1994) je kobalt považován za přechodný prvek a je nezbytnou součástí několika enzymů. Bylo prokázáno, že ovlivňuje růst a metabolismus rostlin v několika různých oblastech. Distribuce kobaltu v rostlinách je zcela závislá na daném

rostlinném druhu. Nadbytek kobaltu v půdě může způsobovat změny v obsahu chlorofylu a inhibuje tvorbu škrobu. Toxický účinek kobaltu na morfologii rostlin zahrnuje opad listů, inhibuje fotosyntézu, způsobuje odbarvování žilek a má dopad na snížení hmotnosti výhonků.

Podle Gad & Fekry Ali (2020) je kobalt považován za jeden z nejslibnějších prvků na nově rekultivovaných územích, protože se jeho obsah v půdě dá využít za účelem snížení škodlivých účinků klimatických změn, jako mohou být například vysoké teploty, sucho a nadbytek půdních solí. Kobaltu v půdě má za následek rychlejší vegetativní růst, jen ale pokud jeho množství není pro rostliny toxické. Podle této studie se rostlinám po přidání 10 ppm Co vedlo lépe, vykazovaly větší nárůst zelené hmoty a měly lepší produkci hlíz. Když rostlinám ale bylo přidáno více jak 10 ppm Co, tak se pozitivní výsledek snížil. Podle studie Chao-Zhou et al. (2005) se přidavek kobaltu může podílet na snížení osmotického stresu listů rostliny bramboru již do 24 hodin od podání PEG (polyethylenglykol) s přídavkem Co o různých koncentracích. Snížení stresu se projevuje inhibicí produkce ethylenu, poklesem obsahu polyaminů a zvýšením aktivity antioxidantních enzymů, čímž se zmírňuje nárůst hladiny reaktivních forem kyslíku a poškození membrán. Nadále zmínili, že kobalt pomáhá odolávat dehydrataci listů a také pomáhá snižovat míru vadnutí rostlin brambor. Gad & Abdel-Moez (2011) u jejich pokusu zjistili, že přidavek kobaltu významně zvýšil růst brokolice, jejich výnos hlávek a celkovou kvalitu v porovnání s kontrolním pokusem, kde nebylo přidáno kadmium. Ošetření rostlin kobaltem v koncentraci 6 ppm mělo maximální hodnoty vegetativního růstu brokolice, výnosu hlávek, minerálního složení i chemických složek. Gad & Hassan (2013) uvádí, že všechny dávky kobaltu v jejich pokusu (2,5; 5,0; 7,5 a 10,0 ppm) významně zvýšily růst a výnosové parametry sladké papriky ve srovnání s neošetřenými rostlinami, ke kterým nebyl přidán kobalt. Dávka kobaltu v koncentraci 5 ppm vedla nejvíce ke zvýšení vegetativního růstu, výnosu a kvalitativních ukazatelů. Holah et al. (2019) zjistili, že všechny dávky kobaltu (od 2,50 do 20 ppm) významně zvýšily růst rostlin rajčat, nutriční stav výnosu a obsah chemických látek jednotlivých rostlin. Největší hodnotu rostlinám v tomto pokusu poskytla dávka kobaltu 7,5 ppm, pak už se se zvyšujícím obsahem kobaltu v rostlinném médiu propagační účinek snižoval. Jayakumar et al. (2009) provedli polní pokus na rostlinách sóji (*Glycine max* L.) a zkoumali vliv různých koncentrací kobaltu na růst rostlin. Délka kořenů a výhonů sóji se celkově snižovala se zvyšující se hladinou kobaltu v půdě. Také tvrdí, že kobalt ve vysokých koncentracích může inhibovat růst kořenů přímo omezeným buněčným dělením nebo neprodlužováním buněk, nebo i kombinací těchto obou mechanismů dohromady. To vede k omezenému využívání půdního objemu pro příjem a translokaci živin i vody. Nedostatečný příjem vyvolává celkový nedostatek minerálních látek. Též tvrdí, že toxicita kobaltu navíc narušuje vodní poměry a propustnost membrán, což způsobuje zhoršení fotosyntézy a vede ke snížení růstu rostlin vystavených kobaltovému stresu. Boureto & Kagawa (2001) uvádějí, že aplikace kobaltu v dávce 2,3 kg na ha zvýšila růst cukrové řepy, kořenů a výnos cukru. Lisnik & Toma (2003) uvedli, že kobalt má příznivý vliv na hmotnost sušiny, počet listů, listovou plochu i výnos plodů rajčat i okurek.

4 Metodika

4.1 Cíl pokusu

Cílem pokusů bylo charakterizovat změny růstu testovaných odrůd bramboru *Solanum tuberosum* L. v závislosti na koncentraci kadmia a kobaltu. Každý prvek byl testován ve 4 různých koncentracích (0, 1, 10, 50 ppm) a rostliny byly pravidelně hodnoceny v týdenním intervalu po dobu jednoho měsíce.

4.2 Rostlinný materiál

Vliv koncentrace kadmia a kobaltu byl zkoumán na šesti náhodně vybraných odrůdách bramboru *in vitro* získaných ve spolupráci s Výzkumným ústavem bramborářským v Havlíčkově Brodě. Šlo o odrůdy Apta (ID: 07S0100052), Bintje (ID: 07S0100128), Desiree (ID: 07S0100243), Sárpo Mira (ID: 07S0102213), Orlik (ID: 07S0100735), Tasso (ID: 07S0101010), jejichž základní charakteristika je zpracována v rešeršní části s využitím databází The European Cultivated Potato Database a GrinCzech.

4.3 Použitá média a jejich příprava

In vitro kultivace hodnocených rostlin probíhala v médiích, jejichž obsah a koncentrace jsou uvedeny v Tabulce 2 a 3. Pro kadmium a kobalt probíhaly pokusy zvlášť a každý pokus měl své kontrolní médium.

Tabulka 2: Složení jednotlivých médií o objemu 1 l a použitých na pokus s kadmíem.

Kadmium	Médium 1	Médium 2	Médium 3	Médium 4
Agar (g)	6,4	6,4	6,4	6,4
Sacharóza (g)	29	29	29	29
MS médium (g)	4,405	4,405	4,405	4,405
pH	5,7	5,7	5,7	5,7
CdSO ₄ · 8 H ₂ O (mg. l ⁻¹)	0	6,875	68,75	343,75
Cd (ppm)	0	1	10	50

Tabulka 3: Složení jednotlivých médií o objemu 1 l a použitých na pokus s kobaltem.

Kobalt	Médium 1a	Médium 2a	Médium 3a	Médium 4a
Agar (g)	6,4	6,4	6,4	6,4
Sacharóza (g)	29	29	29	29
MS médium (g)	4,405	4,405	4,405	4,405
pH	5,7	5,7	5,7	5,7
CoCl ₂ · 6 H ₂ O (mg. l ⁻¹)	0	4,04	40,4	202
Co (ppm)	0	1	10	50

4.3.1 Příprava média

Po smíchání jednotlivých komponent bylo upraveno pH média na hodnotu 5,7 pomocí 1 M roztoku KOH. Po úpravě pH byly dva litry takto připraveného média rozděleny do osmi nádob o objemu 250 ml. Do třech z nich byl přidán kobalt a do dalších tři kadmium v koncentracích odpovídajících Tabulce 2 a 3. Dvě zbylé nádoby sloužily jako neošetřené kontroly. Následovala sterilizace v autoklávu Valueclave Tuttnauer 2340M Manual, který pracoval při 121 °C a tlaku 20 kPa po dobu 25 minut.

Média byla sterilně rozlita ve flowboxu do čtvercových 12x12 Petriho misek. Do každé misky bylo nalito 35 ml média. Bylo připraveno 6 misek pro každou variantu média, celkem tedy 48 misek. Misky byly umístěny na vodorovnou plochu uvnitř flowboxu pro vytvoření rovnoměrné vrstvy média a ponechány v klidu přes noc. Druhý den následovalo založení pokusu.

4.4 Kultivace *in vitro*

4.4.1 Postup založení pokusu

V laminárním boxu Gelaire TC48 Flow laboratories bylo z jednotlivých *in vitro* kultur odrůd bramboru odebráno 40 rovnoměrně vyvinutých axilárních pupenů, které byly následně po 5 umístěny do 8 Petriho misek (6 ošetřených a 2 kontrolní) systémem dokumentovaným na Obrázku 7. Misky byly pečlivě uzavřeny parafilmem, a umístěny v šikmé poloze do klimatizovaného boxu (MLR 351-H Sanyo).



Obrázek 7: Schéma umístění axilárních pupenů rostlin do Petriho misek.

4.4.2 Podmínky kultivace a hodnocení pokusu

Rostliny rostly kultivovány ve vlhčeném kultivačním boxu MLR 351-H (Sanyo). 16 hodin měly rostliny světlo při teplotě 25 °C a 8 hodin tmu při teplotě 18 °C. Vlhkost v kultivačním boxu byla 50 %.

Pokus byl hodnocen v týdenním intervalu po dobu jednoho měsíce. Byly zjišťovány charakteristiky: délka stonku, počet kořenů a jejich průměrná délka. Zjištěné hodnoty sledovaných znaků byly zapisovány do tabulky a jednotlivé varianty byly fotograficky dokumentovány. Po 4 týdnech byly jednotlivé rostliny vyjmuty z misek, očištěny od média, zváženy a jednotlivě vysušeny v lyofilizátoru Christ Alpha 1-4. Z hodnot navážek byla získána čistá sušina a přepočtem na čerstvou hmotu také procento sušiny.

4.5 Statistické hodnocení

Data v tabulkách byla vyhodnocena pomocí statistického programu Statistica 12 (StatSoft). Pro ověření vlivů jednotlivých variant na sledovanou vlastnost byla k vyhodnocení použita vícefaktorová ANOVA, kde byla testována průkaznost rozdílů Tukeyho HSD testem na hladině významnosti 0,05.

5 Výsledky

5.1 Pokus s kadmiiem

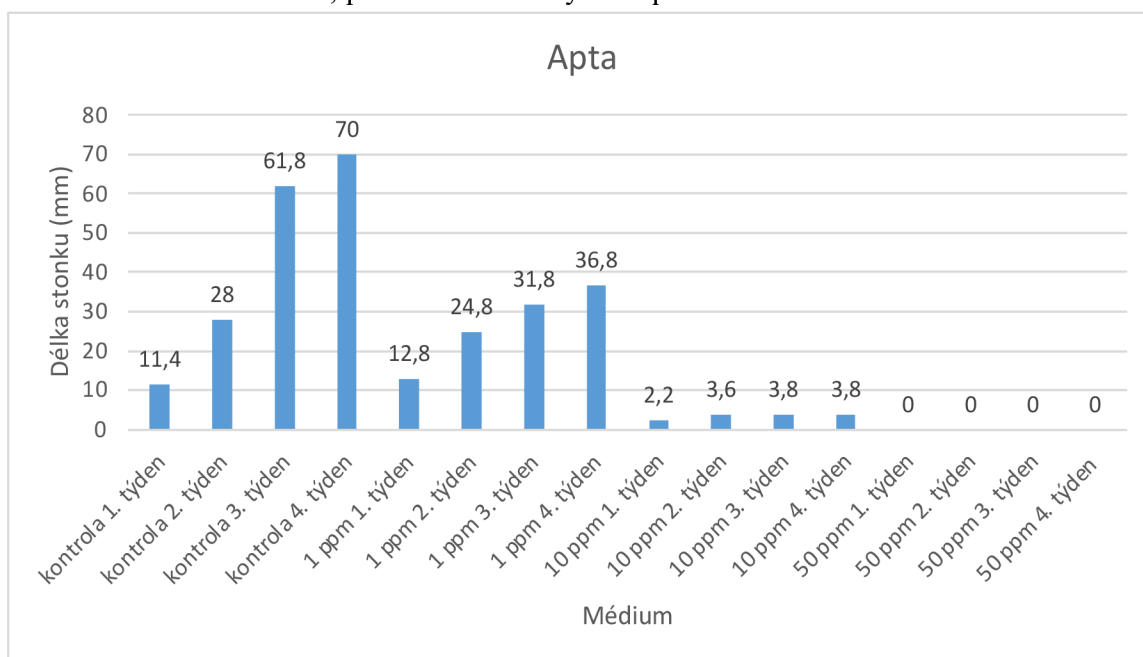
5.1.1 Vliv odrůdy na délku stonku

Proměnlivost délky stonků v milimetrech u různých odrůd lze pozorovat v Tabulce 4. Z této tabulky lze vyčíst, že nejhůře si u celkového pokusu s kadmiiem vedla odrůda Tasso, Sarpo Mira a Desiree. Nejvíce rostla odrůda Apta, Bintje a Orlík. Odrůda Apta a její růst je podrobně znázorněn v Grafu 1.

Tabulka 4: Podrobnější vyhodnocení meziodrůdových rozdílů v délce stonků po 4 týdnech růstu ve všech médiích dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Délka stonku (mm) Homogenní skupiny, alfa = 0,05 Chyba: meziskup. PČ = 138,21, sv = 111,00				
	Odrůda	Délka stonku (mm) Průměr	1	2	3
6	Tasso	10,35000		****	
5	Sarpo Mira	15,40000	****	****	
3	Desiree	16,20000	****	****	
4	Orlík	22,70000	****		****
2	Bintje	23,20000	****		****
1	Apta	27,65000			****

Graf 1: Trend změny délky stonků u odrůdy Apta po dobu jednoho měsíce ve čtyřech druzích médií s koncentrací kadmia, průměrné hodnoty z 5 opakování.



Na Obrázku 8 je zobrazen růst u odrůdy Apta po 4 týdnech pokusu v médiu s koncentrací 10 ppm Cd. Na tomto obrázku lze pozorovat nárůst kolem 3-6 mm v délce stonků. Největší nárůst takto přirostlých stonků ale udělaly rostliny během prvních dvou týdnů, po následující dva týdny se růst zastavil. U rostlin byl též pouhým okem dobře pozorovatelný úbytek chlorofylu.



Obrázek 8: Mírné přírůstky u odrůdy Apta po 4 týdnech pokusu na médiu s 10 ppm Cd.

Z Grafu 1 je patrné, že v médiu s 50 ppm kadmia rostliny odrůdy Apta vůbec nerostly. Podobný příklad byl pozorován i u odrůdy Bintje viz Obrázek 9 a 10, kde je patrné, že rostliny po prvním týdnu v tomto médiu uhynuly. Nevykazovaly žádné známky růstu a byla pozorovatelná ztráta chlorofylu.



Obrázek 9: Axiální pupeny u odrůdy Bintje v den založení pokusu, médium s 50 ppm Cd.



Obrázek 10: Axiální pupeny u odrůdy Bintje po jednom týdnu od založení pokusu, médium s 50 ppm Cd.

5.1.2 Vliv média na délku stonku

Průměrné délky stonků obecně se stupňující se koncentrací kadmia se zkracovaly. V Tabulce 5 je zobrazeno podrobnější vyhodnocení pomocí Tukeyho HSD testu. Z tohoto testování vyplývá, že pokus lze rozdělit na tři homogenní skupiny. V jedné homogenní skupině jsou dvě média s koncentrací 50 a 10 ppm Cd, kde rostliny nerostly nebo rostly velice málo. Do samostatné skupiny pak patří pěstování brambor v médiu s 1 ppm Cd a zvláště nejlépe si vedly rostliny pěstované bez kadmia, jejichž růst je nesrovnatelný s růstem v médiu, které obsahovalo i pouze 1 ppm Cd.

Tabulka 5: Podrobnější vyhodnocení vlivu růstového média na délku stonků po 4 týdnech růstu u všech odrůd dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Délka stonku (mm) Homogenní skupiny, alfa = 0,05 Chyba: meziskup. PČ = 138,21, sv = 111,00				
	Medium	Délka stonku (mm) Průměr	1	2	3
4	50 ppm	0,00000	****		
3	10 ppm	5,53333	****		
2	1 ppm	29,90000		****	
1	Kontrola	41,56667			****

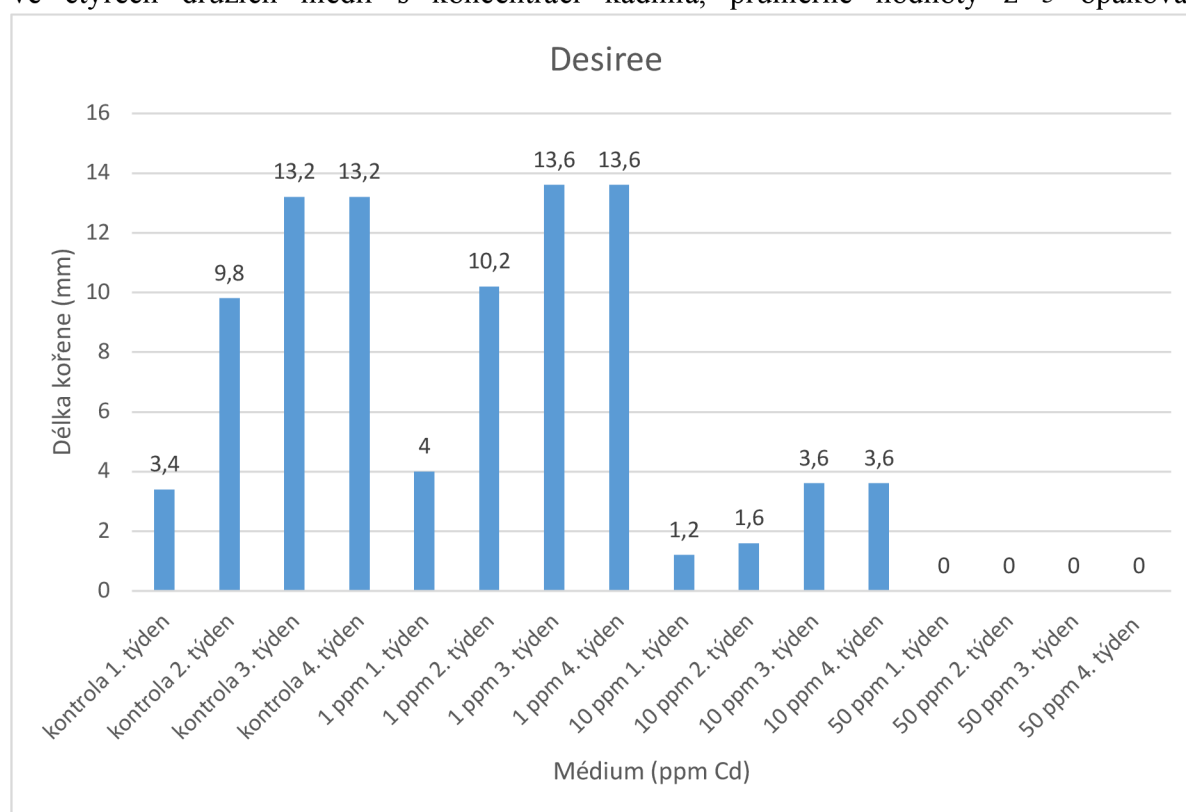
5.1.3 Vliv odrůdy na průměrnou délku kořenů

Tabulka 6 znázorňuje vliv odrůdy po měsíci růstu v *in vitro* podmínkách na průměrnou délku kořenů, kde tento pokus byl rozdělen do tří homogenních skupin, dle nichž je vidět, že růst odrůd a jejich jednotlivých rostlin nebyl tak rozdílný. Z tabulky je patrné, že nejdelší kořeny tvořila odrůda Desiree, jejíž růst je znázorněn samostatně v Grafu 2. Naopak průměrně nejkratší kořeny měla odrůda Tasso.

Tabulka 6: Podrobnější vyhodnocení meziodrůdových rozdílů v průměrné délce jednoho kořene po 4 týdnech růstu ve všech médiích dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Délka kořenu (mm) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 112,66, sv = 111,00				
	Odrůda	Délka kořenu (mm) Průměr	1	2	3
6	Tasso	18,35000	****		
4	Orlík	20,70000	****	****	
1	Apta	23,20000	****	****	****
5	Sarpo Mira	24,75000	****	****	****
2	Bintje	28,25000		****	****
3	Desiree	32,75000			****

Graf 2: Trend změny růstu průměrné délky kořenů u odrůdy Desiree po dobu jednoho měsíce ve čtyřech druzích médií s koncentrací kadmia, průměrné hodnoty z 5 opakování.



5.1.4 Vliv média na průměrnou délku kořenů

Tabulka 7 znázorňuje vliv média, ve kterém rostliny rostly, na průměrnou délku kořenů. Z tabulky je patrné, že byl pokus rozdělen na dvě homogenní skupiny a že nejdelší kořeny tvořily rostliny v médiu, kde nebylo přidáno žádné kadmium, ale i v médiu s 1 ppm kadmia rostliny tvořily kořeny, jak ukazuje právě jedna homogenní skupina.

Tabulka 7: Podrobnější vyhodnocení vlivu růstového média na průměrnou délku kořenů po 4 týdnech růstu u všech odrůd dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Délka kořenu (mm) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 112,66, sv = 111,00			
	Medium	Délka kořenu (mm) Průměr	1	2
4	50 ppm	0,00000	****	
3	10 ppm	6,56667	****	
2	1 ppm	44,53333		****
1	Kontrola	47,56667		****

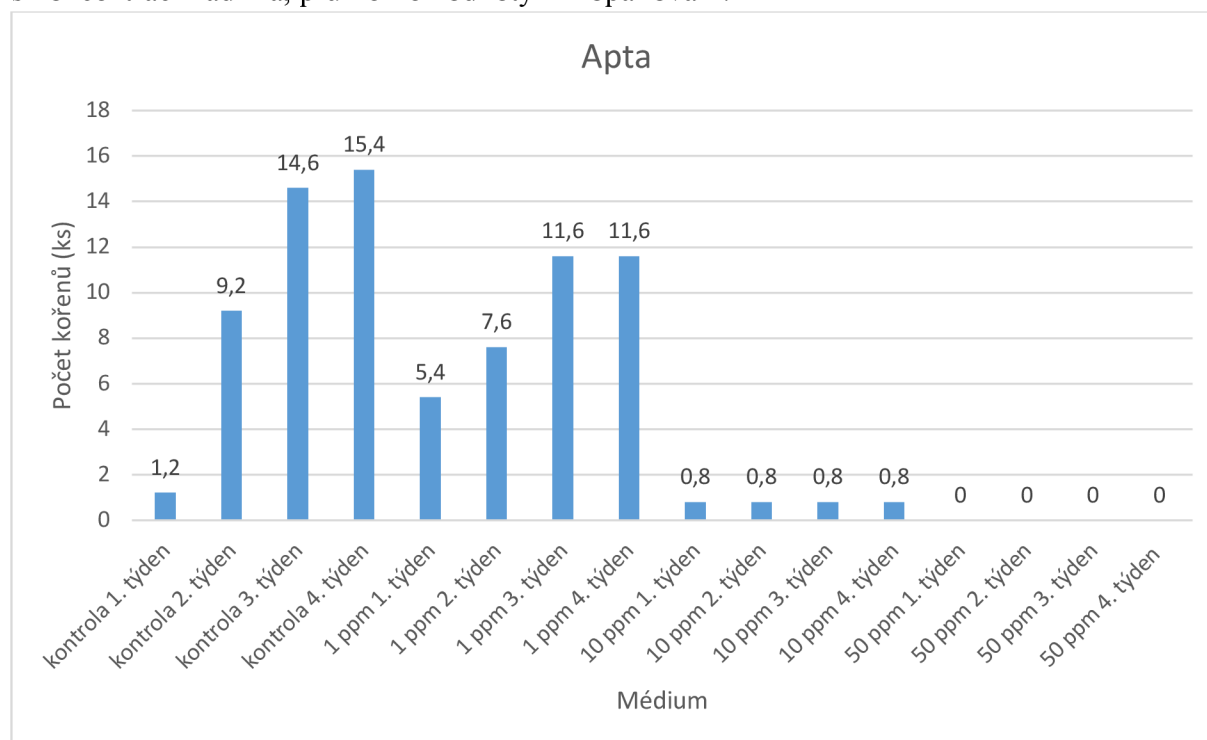
5.1.5 Vliv odrůdy na počet kořenů

Vliv odrůdy po měsíci růstu v *in vitro* podmínkách na počet kořenů je patrný z Tabulky 8 ukazující dvě homogenní skupiny. Nejvíce kořenů tvořila odrůda Apta, jejíž samostatný růst je znázorněn v Grafu 3, nejméně kořenů tvořily odrůdy Tasso a Sarpo Mira.

Tabulka 8: Podrobnější vyhodnocení meziodrůdových rozdílů ve tvorbě počtu kořenů po 4 týdnech růstu ve všech médiích dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Počet kořenů (ks) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 5,3667, sv = 96,000			
	Odrůda	Počet kořenů (ks) Průměr	1	2
5	Sarpo Mira	3,650000	****	
6	Tasso	3,650000	****	
3	Desiree	4,350000	****	
2	Bintje	5,000000	****	****
4	Orlík	5,100000	****	****
1	Apta	6,950000		****

Graf 3: Trend vývoje počtu kořenů u odrůdy Apta po dobu jednoho měsíce ve čtyřech médiích s koncentrací kadmia, průměrné hodnoty z 5 opakování.



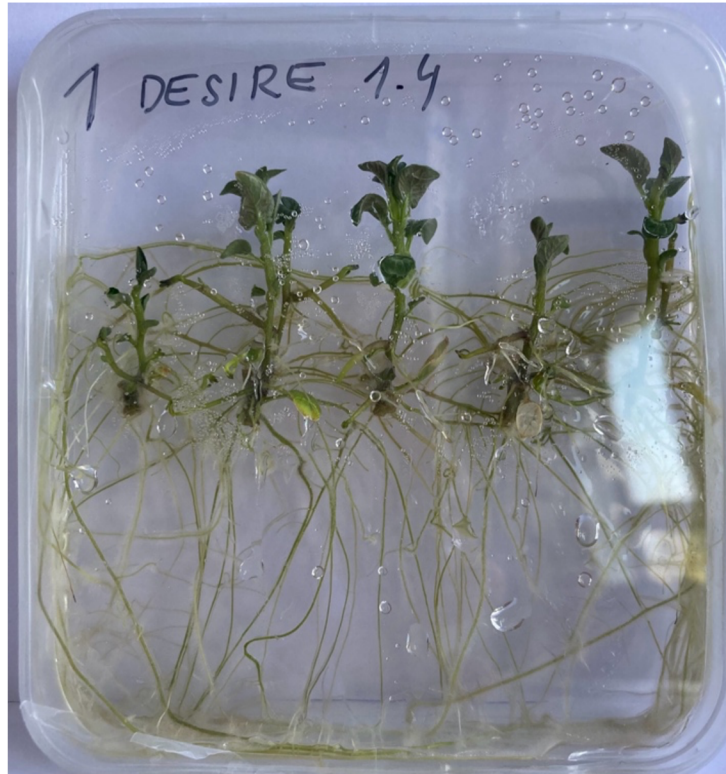
5.1.6 Vliv média na počet kořenů

Tabulka 9 znázorňuje vliv média, na počet kořenů jednotlivých rostlin. Tento pokus z tohoto hlediska byl rozdělen do dvou homogenních skupin. Z tabulky je patrné, že nejvíce kořenů tvořily rostliny v médiu, kde nebylo přidáno žádné kadmium, ale i v médiu s 1 ppm kadmia rostliny ještě tvořily kořeny, proto patří tyto dvě média do jedné homogenní skupiny. Při koncentraci 10 ppm a 50 ppm už kořeny skoro nerostly, proto zaujímají druhou homogenní skupinu.

Tabulka 9: Podrobnější vyhodnocení vlivu růstového média a rozdílů ve tvorbě počtu kořenů po 4 týdnech růstu u všech odrůd dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Počet kořenů (ks) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 5,3667, sv = 96,000			
	Medium	Počet kořenů (ks) Průměr	1	2
4	50 ppm	0,000000	****	
3	10 ppm	1,400000	****	
2	1 ppm	8,300000		****
1	Kontrola	9,433333		****

Obrázek 11 a 12 znázorňuje rozdíl ve vlášení kořenů u odrůdy Desiree. Na Obrázku 11 je vidět odrůda po 4 týdnech pokusu v médiu bez přidaného kadmia. Na Obrázku 12 je vidět odrůda pěstovaná na médiu s 1 ppm Cd. Zde lze dobře pozorovat, že odrůda díky přidání 1 ppm Cd do média tvořila méně kořenů a kořenové vlášení je o dosti méně rozvinuté.



Obrázek 11: Odrůda Desiree v médiu s 0 ppm Cd po 4 týdnech pokusu.

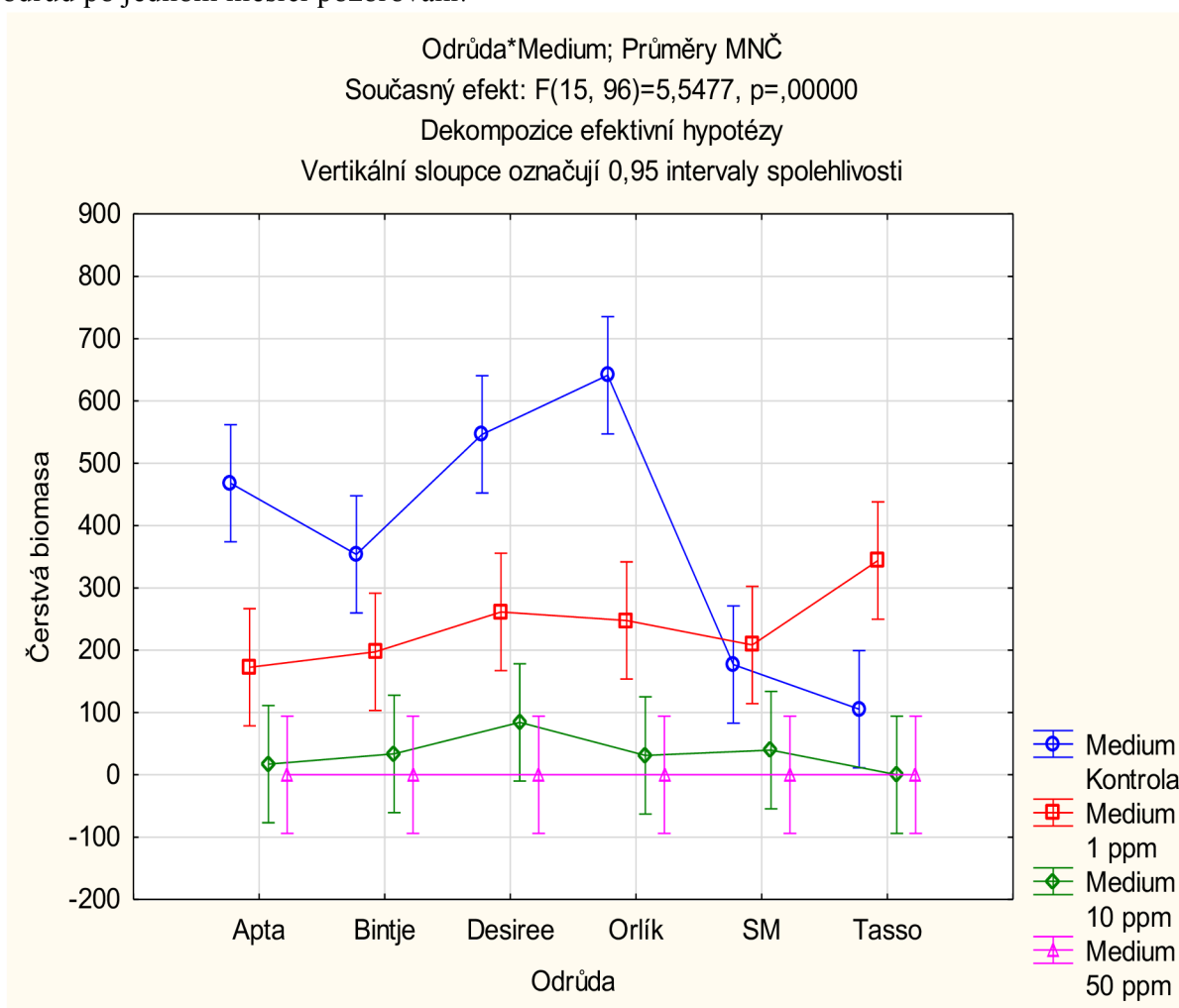


Obrázek 12: Odrůda Desiree v médiu s 1 ppm Cd po 4 týdnech pokusu.

5.1.7 Vliv odrůdy a média na hmotnost čerstvé biomasy

V Grafu 4 je zobrazen vliv jednotlivých odrůd a jednotlivých médií na růst rostlin z pohledu na hmotnost čerstvé biomasy po 4 týdnech růstu rostlin v jednotlivých médiích, testování proběhlo pomocí analýzy rozptylu ($\alpha=0,05$). Z Grafu 4 lze vyčíst, že čím menší množství kadmia v médiu bylo obsaženo, tím větší množství čerstvé biomasy jednotlivé odrůdy tvořily. Výsledky u odrůdy Sarpo Mira a Tasso byly v kontrolním médiu zkreslené, protože Petriho Misky byly špatně utěsněné a po 4 týdnech růstu se v tomto pokusu objevila kontaminace nepříznivými patogeny, která byla nejspíše způsobena špatným zaparafilmováním.

Graf 4: Znázornění průměrné hodnoty čerstvé biomasy v příslušném médiu u jednotlivých odrůd po jednom měsíci pozorování.



5.1.8 Vliv odrůdy na hmotnost čerstvé biomasy

V Tabulce 10 lze pozorovat vliv jednotlivých odrůd na čerstvou biomasu. Tvorba čerstvé biomasy byla rozdělena na dvě homogenní skupiny. Do první homogenní skupiny odrůd, jejichž tvorba biomasy byla podobná, patří odrůdy Sarpo Mira, Tasso, Bintje a Apta. Do druhé homogenní skupiny, ve které rostly odrůdy podobně a také nejvíce, patří odrůdy Bintje, Apta, Desiree a Orlik.

Tabulka 10: Podrobnější vyhodnocení vlivu různých odrůd na tvorbu čerstvé biomasy po 4 týdnech růstu ve všech médiích dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Čerstvá biomasa (mg)			
	Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 11231, sv = 96,000			
	Odrůda	Čerstvá biomasa (mg) Průměr	1	2
5	Sarpo Mira	106,2250	****	
6	Tasso	112,2850	****	
2	Bintje	146,1650	****	****
1	Apta	164,4000	****	****
3	Desiree	222,9400		****
4	Orlik	229,9650		****

5.1.9 Vliv média na hmotnost čerstvé biomasy

Z Tabulky 11 lze zhodnotit vliv médií s přidaným kadmiiem na podíl čerstvé biomasy. Tvorba čerstvé biomasy byla rozdělena na tři homogenní skupiny. Rostliny v kontrolní variantě bez kadmia tvořily největší podíl čerstvé biomasy a proto jsou v samostatné homogenní skupině. Už u 1 ppm Cd se podíl čerstvé biomasy snížil skoro o třetinu, proto i toto médium zastupuje samostatnou homogenní skupinu. U média s 10 ppm Cd a 50 ppm Cd ale už rostliny netvořily skoro žádnou biomasu, tedy společně zastupují poslední homogenní skupinu.

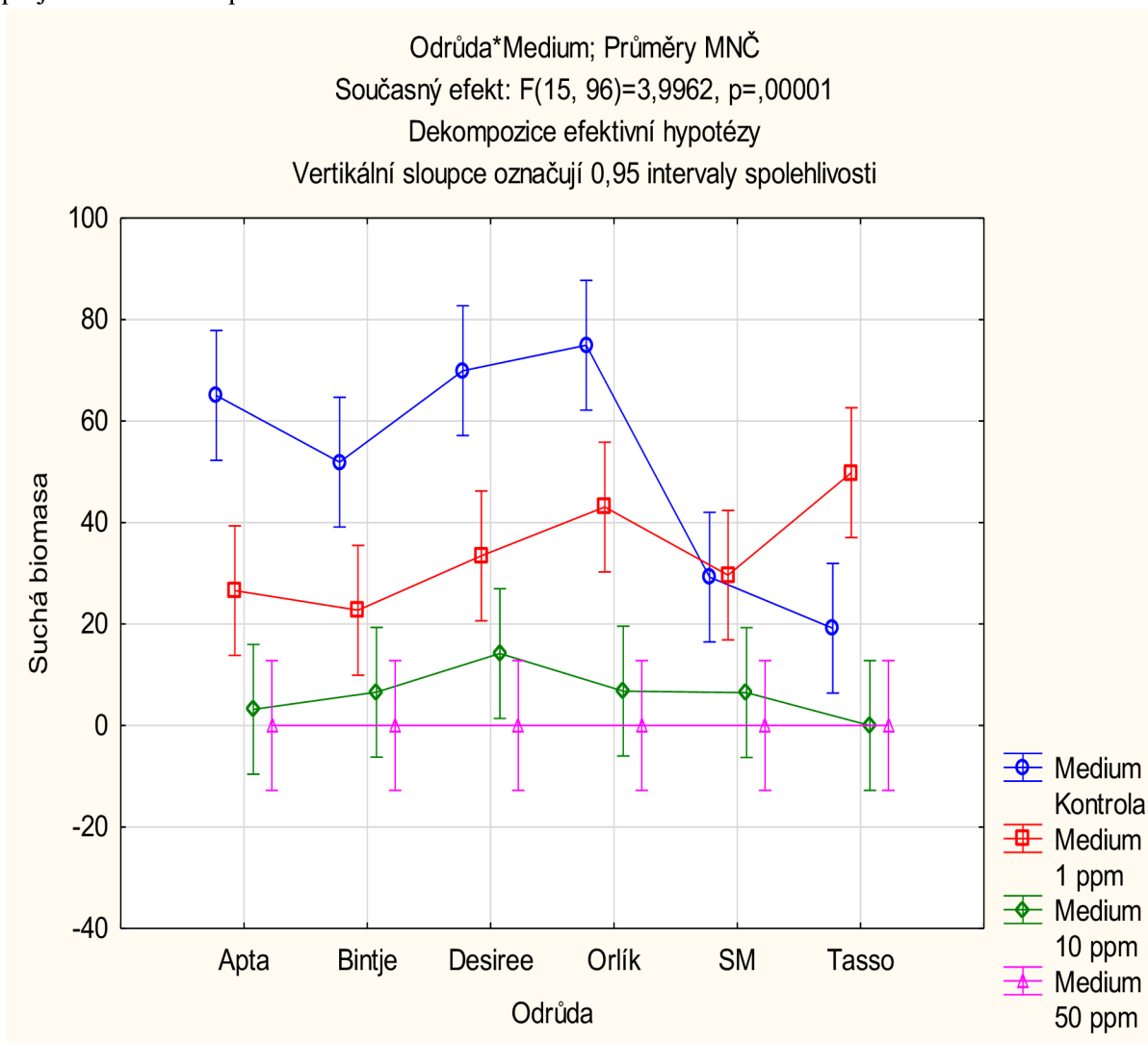
Tabulka 11: Podrobnější vyhodnocení vlivu různých médií na tvorbu čerstvé biomasy po 4 týdnech růstu u všech odrůd dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Čerstvá biomasa (mg)				
	Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 11231, sv = 96,000				
	Medium	Čerstvá biomasa (mg) Průměr	1	2	3
4	50 ppm	0,0000	****		
3	10 ppm	34,2433	****		
2	1 ppm	238,5267		****	
1	Kontrola	381,8833			****

5.1.10 Vliv odrůdy a média na hmotnost suché biomasy

Graf 5 znázorňuje vliv jednotlivých odrůd a jednotlivých médií na růst rostlin z pohledu na hmotnost suché biomasy po 4 týdnech růstu rostlin v jednotlivých médiích, testování proběhlo pomocí analýzy rozptylu ($\alpha=0,05$). Z Grafu 5 lze vyčíst, že čím menší množství kadmia v médiu bylo obsaženo, tím větší množství suché biomasy jednotlivé odrůdy tvořily. Jak již bylo zmíněno v kapitole 5.1.7, odrůdy Sarpo Mira a Tasso byly v kontrolním médiu kontaminovány nepříznivými patogeny a tak jsou výsledky pokusu zkreslené.

Graf 5: Znázornění průměrné hodnoty suché biomasy v příslušném médiu u jednotlivých odrůd po jednom měsíci pozorování.



5.1.11 Vliv odrůdy na hmotnost suché biomasy

Podrobnější vyhodnocení vlivů jednotlivých odrůd na tvorbu hmotnosti suché biomasy po 4 týdnech růstu bylo vyhodnoceno v Tabulce 12 pomocí Tukeyho HSD testu. Tvorba suché biomasy byla rozdělena na dvě homogenní skupiny. Do první homogenní skupiny odrůd, jejichž tvorba suché biomasy byla podobná, patří odrůdy Sarpo Mira, Tasso, Bintje, Apta a Desiree. Do druhé homogenní skupiny, ve které rostliny tvořily podobné množství suché biomasy a také jí vytvořily nejvíce, patří odrůdy Bintje, Apta, Desiree a Orlík.

Tabulka 12: Podrobnější vyhodnocení vlivu různých odrůd na tvorbu suché biomasy po 4 týdnech růstu ve všech médiích dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Suchá biomasa (mg) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 207,36, sv = 96,000			
	Odrůda	Suchá biomasa (mg) Průměr	1	2
5	Sarpo Mira	16,33500	****	
6	Tasso	17,24500	****	
2	Bintje	20,29500	****	****
1	Apta	23,70000	****	****
3	Desiree	29,38500	****	****
4	Orlík	31,19500		****

5.1.12 Vliv média na hmotnost suché biomasy

Z Tabulky 13 lze zhodnotit vliv médií s přidaným kadmíem na podíl suché biomasy. Tvorba suché biomasy byla rozdělena na tři homogenní skupiny. Rostliny v kontrolní variantě bez kadmia tvořily největší podíl suché biomasy, proto zaujímají samostatnou homogenní skupinu. Už u 1 ppm Cd se podíl suché biomasy o dost snížil, proto už patří do jiné homogenní skupiny. U média s 10 ppm Cd a 50 ppm Cd ale už rostliny netvořily skoro žádnou suchou biomasu, proto společně zaujímají poslední, a tedy třetí homogenní skupinu.

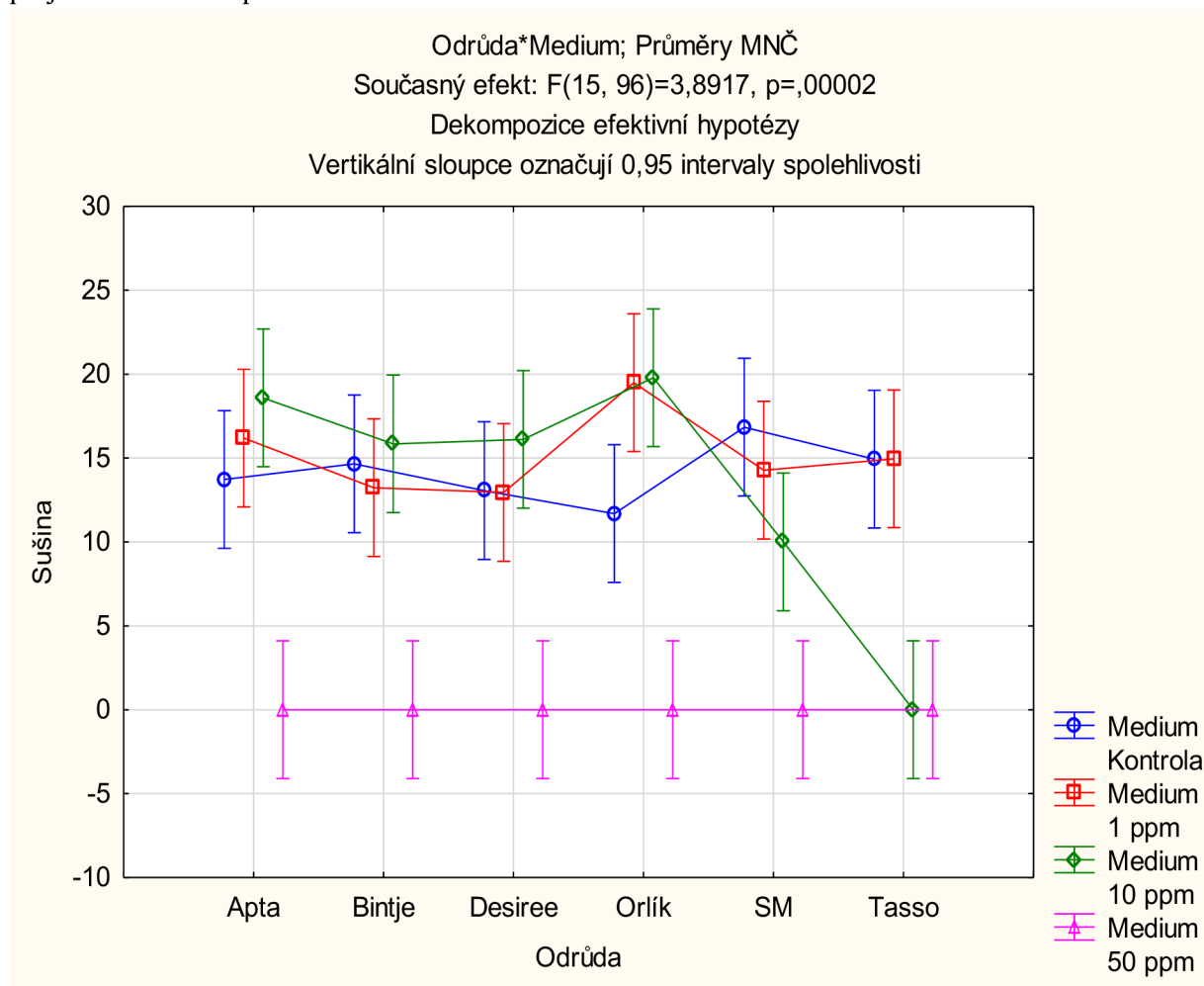
Tabulka 13: Podrobnější vyhodnocení vlivu různých médií na tvorbu suché biomasy po 4 týdnech růstu u všech odrůd dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Suchá biomasa (mg) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 207,36, sv = 96,000				
	Medium	Suchá biomasa (mg) Průměr	1	2	3
4	50 ppm	0,00000	****		
3	10 ppm	6,19667	****		
2	1 ppm	34,20667		****	
1	Kontrola	51,70000			****

5.1.13 Vliv odrůdy a média na sušinu

Graf 6 znázorňuje vliv jednotlivých odrůd a médií na tvorbu sušiny, testování proběhlo pomocí analýzy rozptylu ($\alpha=0,05$). Z Grafu 6 lze vyčíst, že žádnou sušinu netvořily žádné odrůdy v Petriho miskách s 50 ppm Cd. U ostatních pokusů s 0, 1 a 10 ppm Cd byla tvorba sušiny velice podobná.

Graf 6: Znázornění průměrné hodnoty sušiny v příslušném médiu u jednotlivých odrůd po jednom měsíci pozorování.



5.1.14 Vliv odrůdy na sušinu

Podrobnější vyhodnocení vlivů různých odrůd na tvorbu sušiny po 4 týdnech růstu bylo vyhodnoceno v Tabulce 14 pomocí Tukeyho HSD testu. Tvorba sušiny byla rozdělena na dvě homogenní skupiny. Do první homogenní skupiny odrůd, jejichž tvorba sušiny byla podobná, patří odrůdy Sarpo Mira, Desiree, Bintje, Apta a Orlik. Do druhé homogenní skupiny, ve které rostliny tvořily o něco méně sušiny než v první skupině, patří odrůdy Tasso, Sarpo Mira, Desiree a Bintje.

Tabulka 14: Podrobnější vyhodnocení vlivu různých odrůd na tvorbu sušiny po 4 týdnech růstu ve všech médiích dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Sušina (%) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 21,367, sv = 96,000			
	Odrůda	Sušina (%) Průměr	1	2
6	Tasso	7,47245		****
5	Sarpo Mira	10,28143	****	****
3	Desiree	10,53100	****	****
2	Bintje	10,93394	****	****
1	Apta	12,12628	****	
4	Orlík	12,74343	****	

5.1.15 Vliv média na sušinu

Z Tabulky 15 lze usuzovat na vliv médií s přidaným kadmíem na tvorbu sušiny. Tvorba sušiny byla rozdělena na dvě homogenní skupiny. Do první homogenní skupiny variant médií, jejichž tvorba biomasy byla podobná, patří média, která obsahovala 0, 1 a 10 ppm Cd, kde rostliny tvořily největší sušinu. Do druhé homogenní skupiny patří médium s 50 ppm Cd, protože tvorba biomasy v těchto médiích byla nulová.

Tabulka 15: Podrobnější vyhodnocení vlivu různých médií na tvorbu sušiny u všech odrůd dohromady po 4 týdnech růstu.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Sušina (%) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 21,367, sv = 96,000			
	Medium	Sušina (%) Průměr	1	2
4	50 ppm	0,00000		****
3	10 ppm	13,39089	****	
1	Kontrola	14,15075	****	
2	1 ppm	15,18405	****	

5.2 Pokus s kobaltem

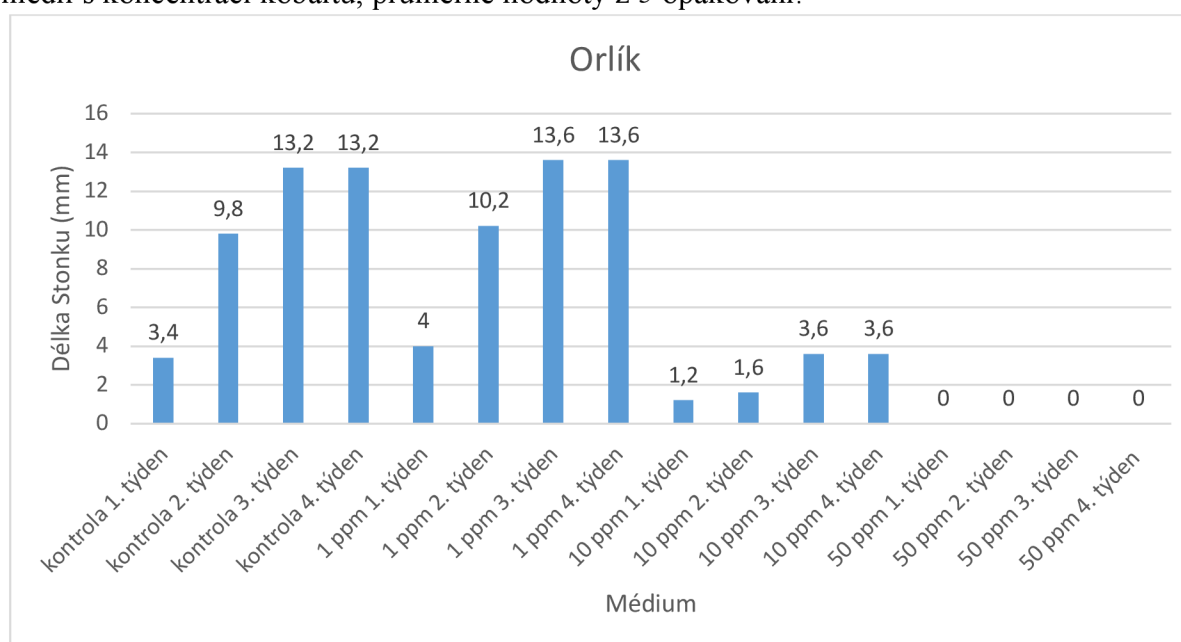
5.2.1 Vliv odrůdy na délku stonku

Proměnlivost délky stonků v milimetrech u různých odrůd lze pozorovat v Tabulce 16, která byla vyhodnocena pomocí Tukeyho HSD testu, kde lze pozorovat rozdělení pokusu a vlivu odrůdy na dvě homogenní skupiny. Do jedné homogenní skupiny spadají všechny odrůdy kromě odrůdy Tasso, protože jejich růst byl vyrovnaný. Do druhé homogenní skupiny se pak tedy řadí odrůda Tasso a Desiree, jejichž růst byl také homogenní. Z této tabulky lze vyčíst, že nejhůře si u pokusu s kobaltem vedla odrůda Tasso, stejně tak ale i u pokusu s kadmii. Nejlépe si ale vedla odrůda Orlík a růst této odrůdy je samostatně znázorněn v Grafu 7.

Tabulka 16: Podrobnější vyhodnocení meziodrůdových rozdílů v délce stonků po 4 týdnech růstu ve všech médiích dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Délka stonku (mm) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 148,63, sv = 111,00			
	Odrůda	Délka stonku (mm) Průměr	1	2
6	Tasso	13,95000		****
3	Desiree	24,80000	****	****
5	Sarpo Mira	25,45000	****	
2	Bintje	29,25000	****	
1	Apta	30,10000	****	
4	Orlík	30,50000	****	

Graf 7: Trend změny délky stonků u odrůdy Orlík po dobu jednoho měsíce ve čtyřech druzích médií s koncentrací kobaltu, průměrné hodnoty z 5 opakování.



5.2.2 Vliv média na délku stonku

Průměrné délky stonků byly velice odlišné v každé variantě, ale oproti kadmiu lze pozorovat u brambor pozitivní účinek v médiích, které obsahovaly 1 ppm Co. U některých odrůd byly stonky silnější a delší. Například u odrůdy Desiree lze tento jev pozorovat na Obrázku 13 a 14, kde na Obrázku 13 je kontrolní varianta média, která neobsahuje Co a na Obrázku 14 jsou vidět rostliny v médiu s 1 ppm Co. Lze si tedy všimnout, že rostliny na Obrázku 14 mají delší nadzemní části, vykazují větší přírůstek, ale zároveň mají zřetelně méně kořenů. Pokus na této fotografii je starý jeden měsíc.

V Tabulce 17 je vyhodnocen pomocí Tukeyho HSD testu podrobnější vliv růstového média u všech odrůd dohromady a tím způsobených rozdílů v délce stonků po 4 týdnech růstu. Růst stonků v médiu byl rozdělen do tří homogenních skupin. Jako první skupina je kontrolní varianta a varianta a médium s 1 ppm Co, kde rostliny rostly nejvíce podobně a do největších rozměrů. U varianty s koncentrací 10 ppm stonky po 4 týdnech dorostly cca 1/5 délky oproti médiu kontrolnímu bez přidaného kobaltu, a proto toto médium zastupuje druhou homogenní skupinu. U varianty média s 50 ppm Co už stonky do délky vůbec nerostly, proto zastupují poslední homogenní skupinu.

Tabulka 17: Podrobnější vyhodnocení vlivu růstového média na délku stonků po 4 týdnech růstu u všech odrůd dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Délka stonku (mm)				
	Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 148,63, sv = 111,00				
	Medium	Délka stonku (mm) Průměr	1	2	3
4	50 ppm	0,00000		****	
3	10 ppm	10,56667			****
1	Kontrola	43,56667	****		
2	1 ppm	48,56667	****		

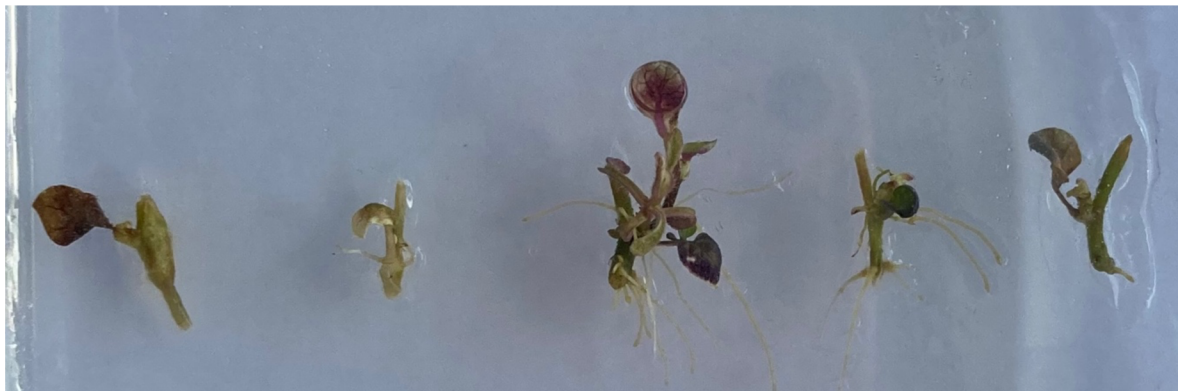


Obrázek 13: Zobrazení růstu odrůdy Desiree v médiu, které neobsahovalo kobalt.



Obrázek 14: Zobrazení růstu odrůdy Desiree v médiu, které obsahovalo 1 ppm kobaltu.

Na Obrázcích 15 a 16 je vidět rozdíl vlivu médií, které obsahovaly 10 ppm Co a 50 ppm Co po jednom měsíci pokusu. U média s nejvyšší koncentrací (Obrázek 16) je dobře pozorovatelná ztráta chlorofylu a není zaznamenán žádný přírůstek biomasy, nejen stonkových zelených částí, ale v tomto médiu odrůda Apta nevytvořila ani žádné kořeny. U koncentrace 10 ppm Co (Obrázek 15) je vidět snaha rostlin tvořit kořeny a u některých pokusných axiálních pupenů je vidět i nárůst stonkové části.



Obrázek 15: Odrůda Apta a médium o koncentraci 10 ppm Co.



Obrázek 16: Odrůda Apta a médium o koncentraci 50 ppm Co.

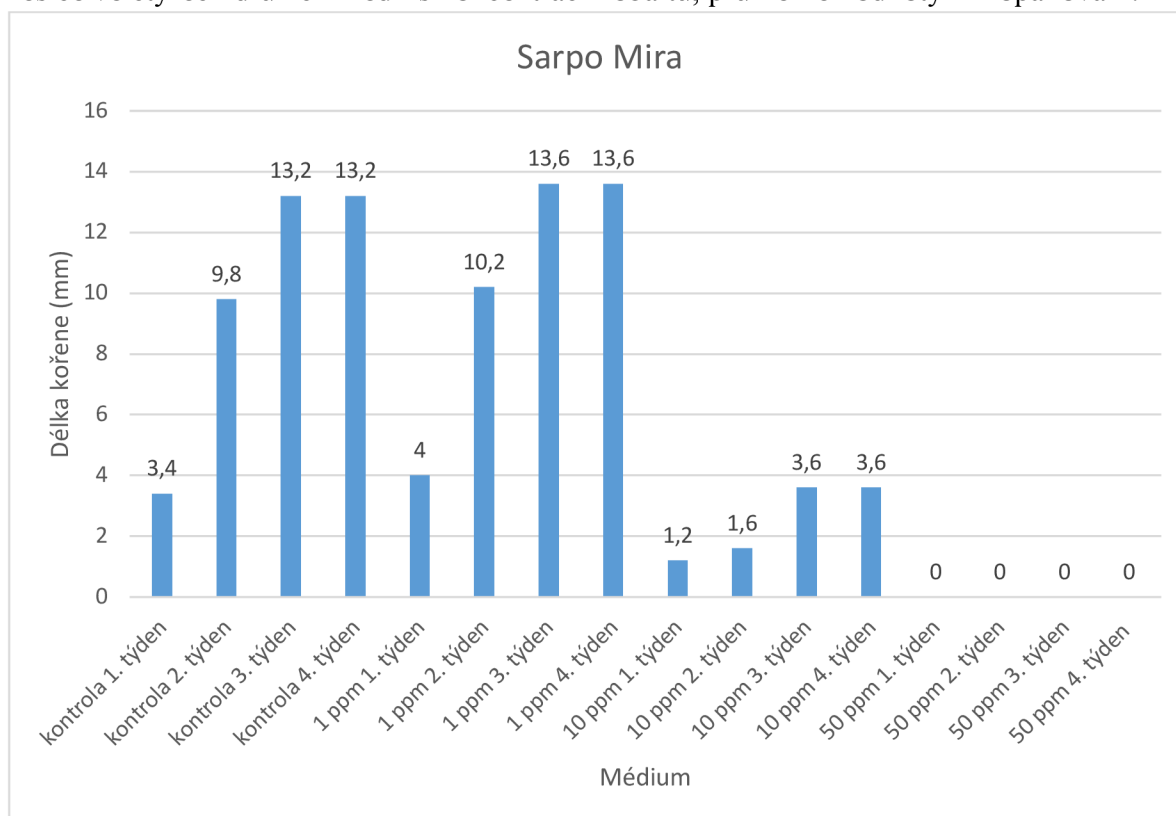
5.2.3 Vliv odrůdy na průměrnou délku kořenů

Tabulka 18 znázorňuje vliv odrůdy po měsíci růstu v *in vitro* podmínkách na průměrnou délku kořenů, kde tento pokus byl rozdělen do tří homogenních skupin, dle nichž je vidět, že růst odrůd nabyt až tak rozdílný. Z tabulky je patrné, že v průměru nejdelší kořeny tvořila odrůda Sarpo Mira, jejíž růst kořenů je znázorněn samostatně v Grafu 8. Naopak průměrně nejkratší kořeny měla odrůda Tasso.

Tabulka 18: Podrobnější vyhodnocení meziodrůdových rozdílů v průměrné délce jednoho kořene po 4 týdnech růstu ve všech médiích dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Délka kořenu (mm) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 46,421, sv = 96,000				
	Odrůda	Délka kořenu (mm) Průměr	1	2	3
6	Tasso	21,90000		****	
2	Bintje	25,35000		****	****
4	Orlík	27,30000	****	****	****
1	Apta	30,10000	****		****
3	Desiree	31,70000	****		
5	Sarpo Mira	32,40000	****		

Graf 8: Trend změny růstu průměrné délky kořenů u odrůdy Sarpo Mira po dobu jednoho měsíce ve čtyřech druzích médií s koncentrací kobaltu, průměrné hodnoty z 5 opakování.



5.2.4 Vliv média na průměrnou délku kořenů

Tabulka 19 znázorňuje vliv média, ve kterém rostliny rostly, na průměrnou délku kořenů. Z tabulky je patrné, že byl pokus rozdělen na 4 homogenní skupiny, protože růst rostlin v jednotlivých médiích byl statisticky dosti významně rozdílný. Nejdelší kořeny tvořily rostliny v médiu, kde nebyl přidán žádný kobalt, ale i v médiu s 1 ppm Co rostliny tvořily dlouhé kořeny. Při koncentraci 10 ppm Co už kořeny rostly opravdu málo a v médiích s 50 ppm Co se nevytvořily vůbec žádné kořeny.

Tabulka 19: Podrobnější vyhodnocení vlivu růstového média na průměrnou délku kořenů po 4 týdnech růstu u všech odrůd dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Délka kořenu (mm) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 46,421, sv = 96,000					
	Medium	Délka kořenu (mm) Průměr	1	2	3	4
4	50 ppm	0,00000	****			
3	10 ppm	6,23333		****		
2	1 ppm	50,26667			****	
1	Kontrola	56,00000				****

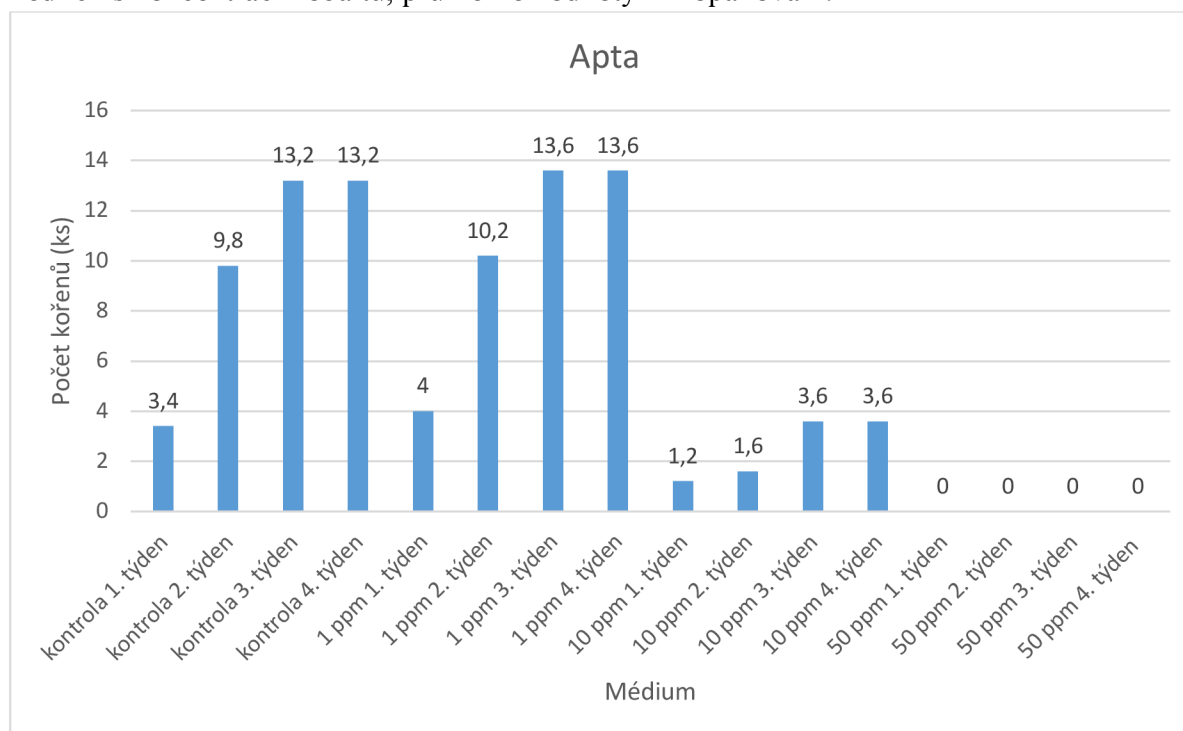
5.2.5 Vliv odrůdy na počet kořenů

Vliv odrůdy po měsíci růstu v *in vitro* podmínkách na počet kořenů je patrný z Tabulky 20 ukazující dvě homogenní skupiny. Nejvíce kořenů tvořila odrůda Apta, jejíž samostatný růst je znázorněn v Grafu 9. Naopak nejméně kořenů tvořila odrůda Tasso.

Tabulka 20: Podrobnější vyhodnocení meziodrůdových rozdílů ve tvorbě počtu kořenů po 4 týdnech růstu ve všech médiích dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Počet kořenů (ks) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 6,5958, sv = 96,000			
	Odrůda	Počet kořenů (ks) Průměr	1	2
6	Tasso	3,100000		****
2	Bintje	5,400000	****	****
3	Desiree	5,650000	****	
5	Sarpo Mira	6,800000	****	
4	Orlík	7,400000	****	
1	Apta	7,600000	****	

Graf 9: Trend vývoje počtu kořenů u odrůdy Apta po dobu jednoho měsíce ve čtyřech médiích s koncentrací kobaltu, průměrné hodnoty z 5 opakování.



5.2.6 Vliv média na počet kořenů

Tabulka 21 znázorňuje vliv média, ve které rostliny rostly, na počet kořenů u jednotlivých rostlin. Tento pokus z tohoto hlediska byl rozdělen do tří homogenních skupin pomocí Tukeyho HSD testu. Z tabulky je patrné, že nejvíce kořenů tvořily rostliny v médiu, kde nebyl přidán žádný kobalt, ale i v médiu s 1 ppm Co rostliny tvořily skoro stejný počet kořenů, proto tyto dvě média patří do stejné homogenní skupiny. Při koncentraci 10 ppm se počet kořenů o více než polovinu snížil a v médiích s 50 ppm už kořeny nerostly vůbec.

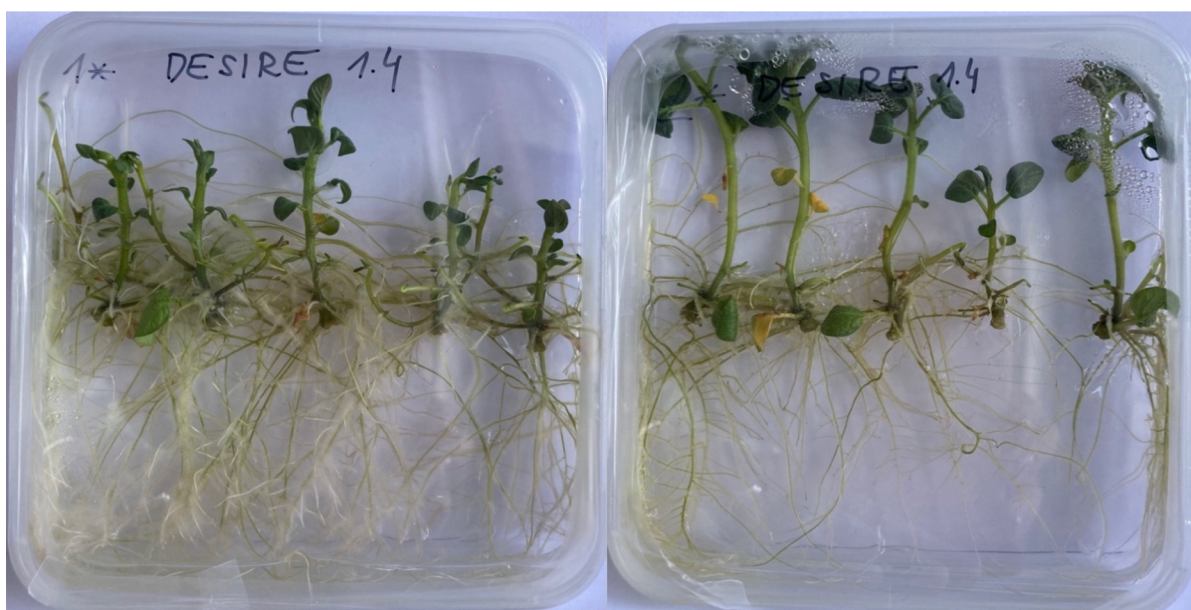
Tabulka 21: Podrobnější vyhodnocení vlivu růstového média a rozdílů ve tvorbě počtu kořenů po 4 týdnech růstu u všech odrůd dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Počet kořenů (ks)				
	Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 6,5958, sv = 96,000				
	Medium	Počet kořenů (ks) Průměr	1	2	3
4	50 ppm	0,00000		****	
3	10 ppm	4,03333			****
2	1 ppm	9,90000	****		
1	Kontrola	10,03333	****		

Obrázek 17 znázorňuje rozdíl ve vlášení kořenů u odrůdy Apta. Na levé straně je vidět odrůda po 4 týdnech pokusu v médiu bez přidaného kobaltu. Na pravé straně je vidět odrůda pěstovaná na médiu s 1 ppm Co. Zde lze dobře pozorovat, že odrůda díky přidání 1 ppm Co do média tvoří více kořenů a kořenové vlášení je více rozvinuté. To samé ale nelze tvrdit například u odrůdy Desiree (Obrázek 18). Varianta bez Co u odrůdy Desiree má po 4 týdnech pokusu mnohem lépe vybudovaný kořenový systém a lepší kořenové vlášení. Naopak zde lze pozorovat markantně větší nárůst nadzemní hmoty díky přidání 1 ppm Co do média oproti médiu, které neobsahuje Co.



Obrázek 17: Odrůda Apta po 4 týdnech. Na levé straně je zobrazen růst odrůdy v médiu s 0 ppm Co a na pravé straně je zobrazen růst odrůdy v médiu s 1 ppm Co.

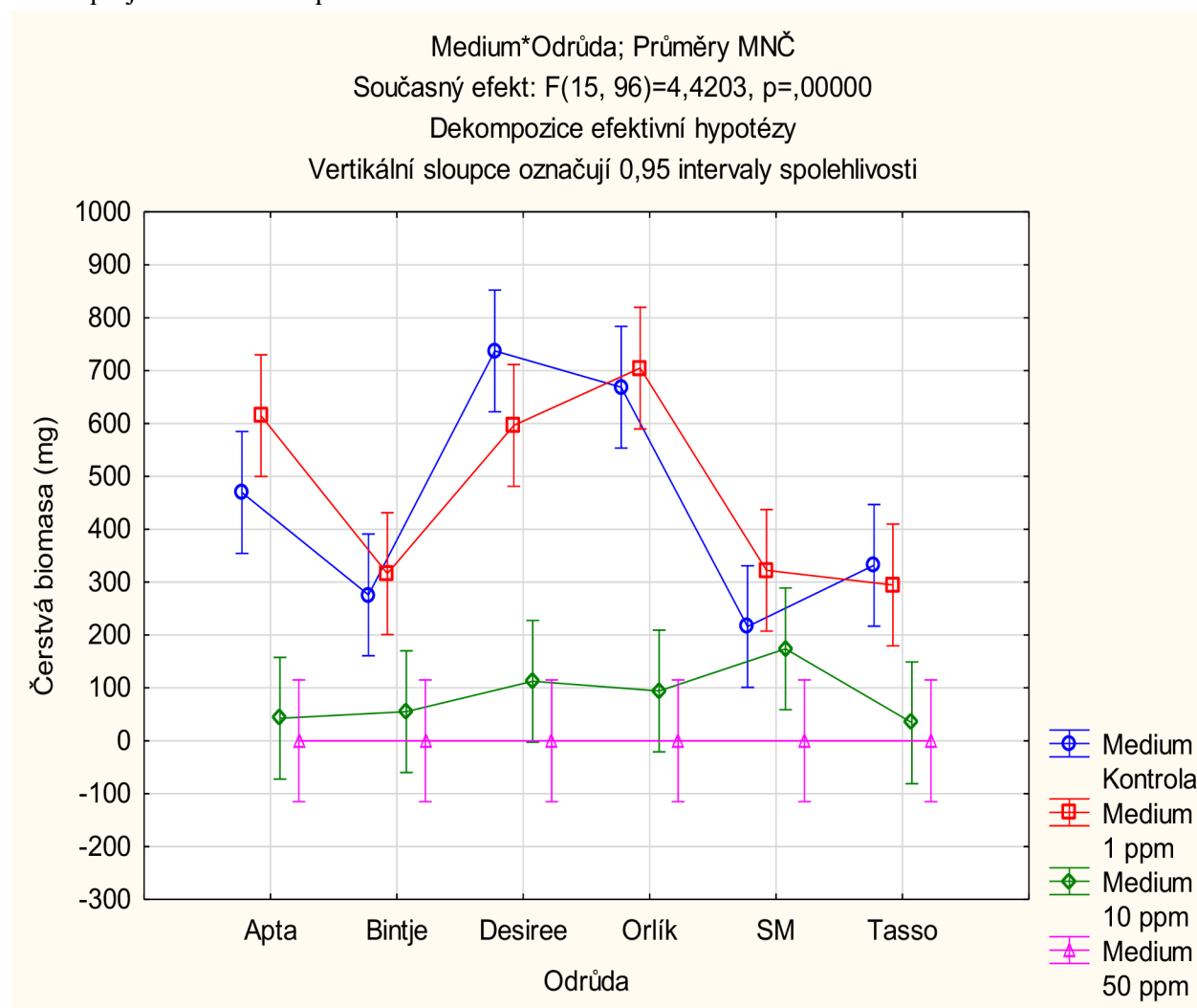


Obrázek 18: Odrůda Desiree po 4 týdnech pokusu. Na levé straně je zobrazen růst odrůdy v médiu s 0 ppm Co a na pravé straně je zobrazen růst odrůdy v médiu s 1 ppm Co.

5.2.7 Vliv odrůdy a média na hmotnost čerstvé biomasy

V Grafu 10 je zobrazen vliv jednotlivých odrůd a jednotlivých médií na růst rostlin z pohledu na hmotnost čerstvé biomasy po 4 týdnech růstu rostlin v jednotlivých médiích, testování proběhlo pomocí analýzy rozptylu ($\alpha=0,05$). Z Grafu 10 je zřejmé, že u médií kontrolních a na médiích s přidaným 1 ppm Co rostliny tvořily nejvíce čerstvé biomasy a zároveň zde je vidět variabilita jednotlivých odrůd. V médiích s 10 ppm Co už nebyla pozorována meziodrůdová velká variabilita a rostliny netvořily velké množství čerstvé biomasy.

Graf 10: Znárodnění průměrné hodnoty čerstvé biomasy v příslušném médiu u jednotlivých odrůd po jednom měsíci pozorování.



5.2.8 Vliv odrůdy na hmotnost čerstvé biomasy

V Tabulce 22 lze pozorovat vliv jednotlivých odrůd na čerstvou biomasu. Tvorba čerstvé biomasy byla rozdělena na tři homogenní skupiny pomocí Tukeyho HSD testu. Do první homogenní skupiny odrůd, jejichž tvorba biomasy byla podobná, patří odrůdy Sarpo Mira, Tasso a Bintje. Do druhé homogenní skupiny, ve které rostly odrůdy podobně, patří odrůdy Sarpo Mira, Tasso a Apta. Do třetí homogenní skupiny, kdy rostliny rostly nejvíce, patří odrůdy Apta, Desiree a Orlik.

Tabulka 22: Podrobnější vyhodnocení vlivu různých odrůd na tvorbu čerstvé biomasy po 4 týdnech růstu ve všech médiích dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Čerstvá biomasa (mg)				
	Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 16813, sv = 96,000				
	Odrůda	Čerstvá biomasa (mg) Průměr	1	2	3
2	Bintje	161,7550	****		
6	Tasso	165,1250	****	****	
5	Sarpo Mira	178,0800	****	****	
1	Apta	281,7300		****	****
3	Desiree	361,4750			****
4	Orlik	366,8500			****

5.2.9 Vliv média na hmotnost čerstvé biomasy

Z Tabulky 23 lze zhodnotit vliv médií s přidaným kobaltem na podíl čerstvé biomasy. Tvorba čerstvé biomasy byla rozdělena na dvě homogenní skupiny pomocí Tukeyho HSD testu. Do první homogenní skupiny variant médií, jejichž tvorba biomasy byla podobná, patří média, která obsahovala 50 a 10 ppm Co, kde rostliny netvořily skoro žádnou biomasu. Do druhé skupiny patří rostliny pěstované v médiu kontrolním a médiu s 1 ppm Co, protože tvorba biomasy u těchto dvou médií byla podobná.

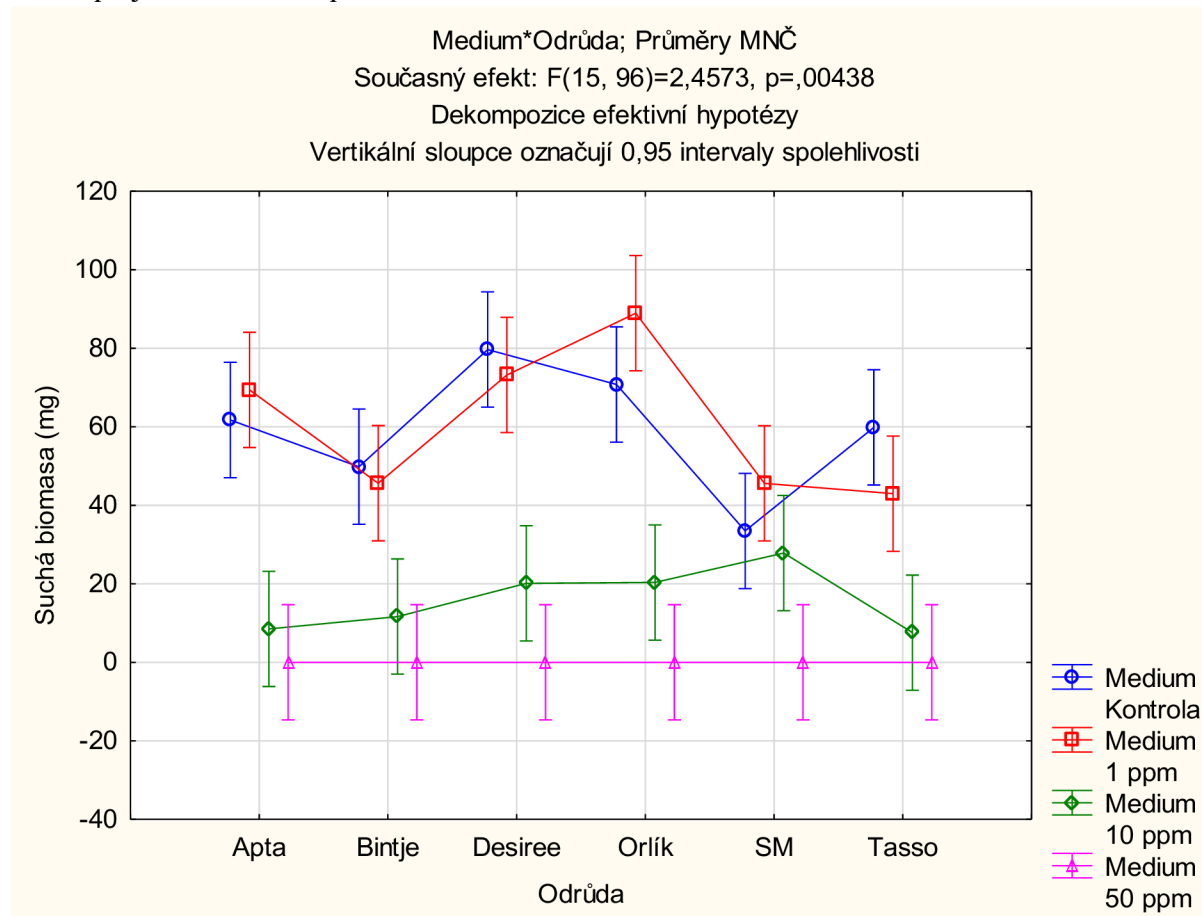
Tabulka 23: Podrobnější vyhodnocení vlivu různých médií na tvorbu čerstvé biomasy po 4 týdnech růstu u všech odrůd dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Čerstvá biomasa (mg)			
	Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 16813, sv = 96,000			
	Medium	Čerstvá biomasa (mg) Průměr	1	2
4	50 ppm	0,0000	****	
3	10 ppm	85,3900	****	
1	Kontrola	449,8200		****
2	1 ppm	474,8000		****

5.2.10 Vliv odrůdy a média na hmotnost suché biomasy

Graf 11 znázorňuje vliv jednotlivých odrůd a jednotlivých médií na růst rostlin z pohledu na hmotnost suché biomasy po 4 týdnech růstu rostlin v jednotlivých médiích, testování proběhlo pomocí analýzy rozptylu ($\alpha=0,05$). Z Grafu 11 je zřejmé, že u médií kontrolních a na médiích s přidaným 1 ppm Co rostliny tvořily nejvíce suché biomasy a zároveň zde je vidět variabilita jednotlivých odrůd. V médiích s 10 ppm Co už nebyla pozorována meziodrůdová velká variabilita a rostliny nevytvořily velké množství suché biomasy.

Graf 11: Znázornění průměrné hodnoty suché biomasy v příslušném médiu u jednotlivých odrůd po jednom měsíci pozorování.



5.2.11 Vliv odrůdy na hmotnost suché biomasy

Podrobnější vyhodnocení vlivů různých odrůd na tvorbu hmotnosti suché biomasy po 4 týdnech růstu bylo vyhodnoceno pomocí Tukeyho HSD testu v Tabulce 24. Tvorba suché biomasy byla rozdělena na dvě homogenní skupiny. Do první homogenní skupiny odrůd, jejichž tvorba suché biomasy byla podobná, patří odrůdy Sarpo Mira, Bintje, Tasso a Apta. Do druhé homogenní skupiny, ve které rostliny tvořily podobné množství suché biomasy a také jí vytvořily nejvíce, patří odrůdy Apta, Desiree a Orlik.

Tabulka 24: Podrobnější vyhodnocení vlivu různých odrůd na tvorbu suché biomasy po 4 týdnech růstu ve všech médiích dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Suchá biomasa (mg) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 273,43, sv = 96,000			
	Odrůda	Suchá biomasa (mg) Průměr	1	2
5	Sarpo Mira	26,72500	****	
2	Bintje	26,77500	****	
6	Tasso	27,59000	****	
1	Apta	34,91500	****	****
3	Desiree	43,25000		****
4	Orlik	45,02000		****

5.2.12 Vliv média na hmotnost suché biomasy

Z Tabulky 25 lze zhodnotit vliv médií s přidáním kobaltem na podíl suché biomasy. Tvorba suché biomasy byla rozdělena na tři homogenní skupiny. Do první homogenní skupiny variant médií, jejichž tvorba biomasy byla podobná, patří média, která obsahovala 0 a 1 ppm Co, kde rostliny tvořily největší suchou biomasu. Do dalších dvou skupin patří médium s 10 ppm a zvláště médium s 50 ppm Co, protože tvorba biomasy u těchto dvou médií není homogenní a je statisticky rozdílná.

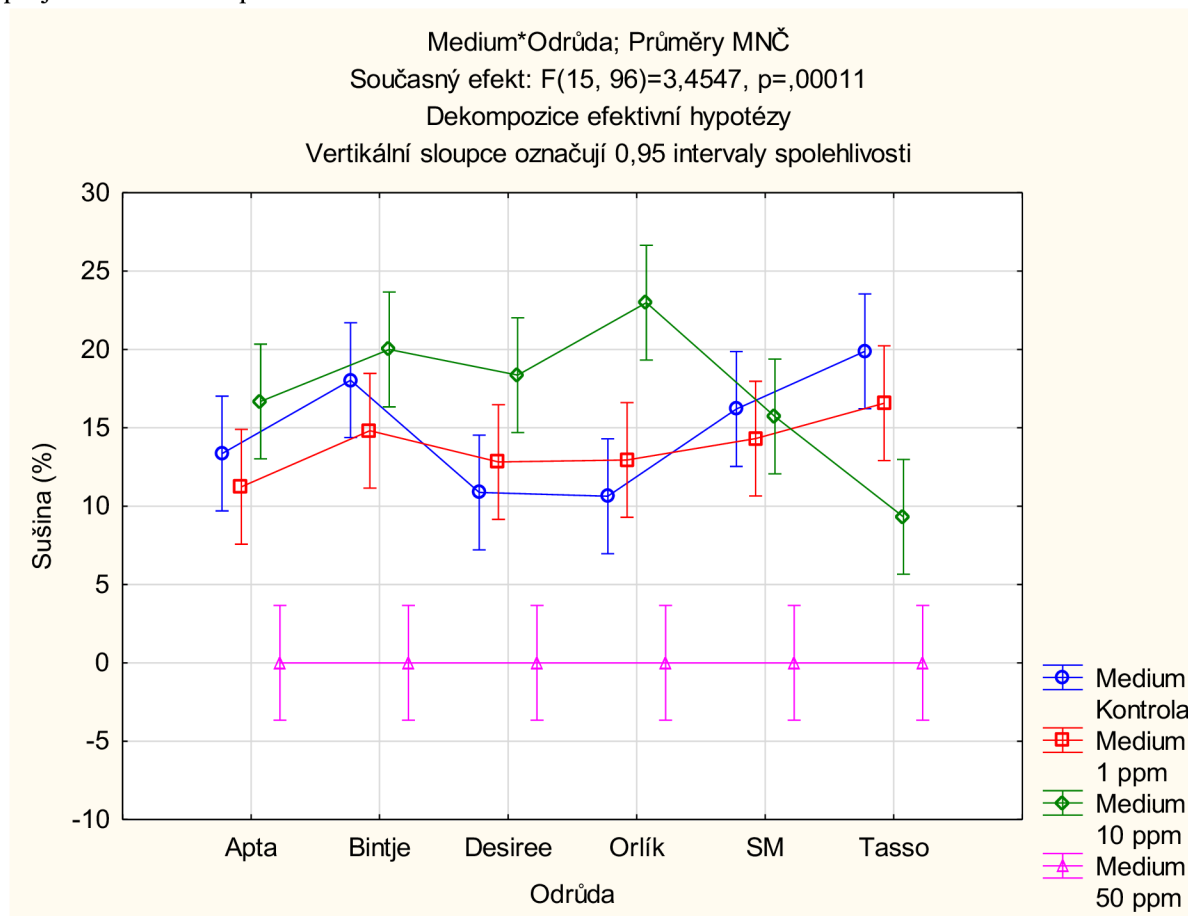
Tabulka 25: Podrobnější vyhodnocení vlivu různých médií na tvorbu suché biomasy po 4 týdnech růstu u všech odrůd dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Suchá biomasa (mg)				
	Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 273,43, sv = 96,000				
	Medium	Suchá biomasa (mg) Průměr	1	2	3
4	50 ppm	0,00000		****	
3	10 ppm	16,01000			****
1	Kontrola	59,22333	****		
2	1 ppm	60,95000	****		

5.2.13 Vliv odrůdy a média na sušinu

Graf 12 znázorňuje vliv jednotlivých odrůd a médií na tvorbu sušiny, testování proběhlo pomocí analýzy rozptylu ($\alpha=0,05$). Z Grafu 12 lze vyčíst, že rostliny v Petriho miskách s 50 ppm Cd žádnou sušinu netvořily. U ostatních pokusů s 0, 1 a 10 ppm Cd byla tvorba sušiny velice podobná. Nejvíce sušiny vytvořila odrůda Orlík v médiu s 10 ppm Co.

Graf 12: Znázornění průměrné hodnoty sušiny v příslušném médiu u jednotlivých odrůd po jednom měsíci pozorování.



5.2.14 Vliv odrůdy na sušinu

Podrobnější vyhodnocení vlivů různých odrůd na tvorbu sušiny po 4 týdnech růstu bylo vyhodnoceno v Tabulce 26 pomocí Tukeyho HSD testu. Analýza tvorby sušiny vytvořila pouze jednu homogenní skupinu, do níž spadají všechny odrůdy. V tomto směru neexistuje statisticky významný rozdíl mezi odrůdami z hlediska tvorby sušiny.

Tabulka 26: Podrobnější vyhodnocení vlivu různých odrůd na tvorbu sušiny po 4 týdnech růstu ve všech médiích dohromady.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Sušina (%) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 17,021, sv = 96,000		
	Odrůda	Sušina (%) Průměr	1
1	Apta	10,31963	****
3	Desiree	10,51402	****
6	Tasso	11,44411	****
5	Sarpo Mira	11,55963	****
4	Orlík	11,64391	****
2	Bintje	13,21474	****

5.2.15 Vliv média na sušinu

Z Tabulky 27 lze zhodnotit vliv médií s přidaným kobaltem na tvorbu sušiny. Tvorba sušiny byla rozdělena na tři homogenní skupiny pomocí Tukeyho HSD testu. Do první homogenní skupiny variant médií, jejichž tvorba sušiny byla podobná, patří média, která obsahovala 1 ppm Co a kontrolní varianta bez Co, kde rostliny tvořily průměrnou sušinu. Do druhé skupiny patří médium s 10 ppm Co a kontrolní varianta a tato homogenní skupina vytvořila nejvíce sušiny po jednom měsíci pokusu. A nakonec do zvláštní homogenní skupiny patří médium s 50 ppm Co, protože zde rostliny nevytvořily žádnou sušinu.

Tabulka 27: Podrobnější vyhodnocení vlivu různých médií na tvorbu sušiny u všech odrůd dohromady po 4 týdnech růstu.

Č. buňky	Tukeyho HSD test; proměnná Sušina (%) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 17,021, sv = 96,000				
	Medium	Sušina (%) Průměr	1	2	3
4	50 ppm	0,00000			****
2	1 ppm	13,78428	****		
1	Kontrola	14,83307	****	****	
3	10 ppm	17,18000		****	

6 Diskuze

Podle celkových statistik z výzkumu této diplomové práce můžeme říci, že přidání kadmia i kobaltu do médií v různých koncentracích mělo významný vliv na růst rostlin, a nejen jejich jednotlivých částí, ale také i na tvorbu sušiny. Pokus byl prováděn pouze v *in vitro* prostředí, takže podmínky byly homogenní a vliv na růst měly všechny rostliny a všechny odrůdy stejné. První morfologické změny v reakci na kontaminaci média lze pozorovat na úrovni růstu nadzemních částí a růstu a větvení kořenů už po prvním týdnu. Celkově lze zhodnotit, že projevy růstu byly ovlivněny mírou toxicity jednotlivých přidaných těžkých kovů a jejich celkový vliv na metabolismus ovlivňoval důležité životní procesy, což způsobovalo zpomalení či zastavení růstu, nebo odumírání celých rostlin s ohledem právě na úroveň toxicity daného prvku a jeho koncentraci v daném médiu. Jak je již známo, neesenciální, ale i esenciální těžké kovy v nadbytečném množství v tělech rostlin totiž mohou rostlinám způsobovat stres a ty pak mohou vykazovat známky toxicity a inhibovat růst (Furini 2012). Z pokusu v této diplomové práci je zřejmé, že je znatelný rozdíl mezi tím, zda je prvek esenciální anebo neesenciální.

Dle statistik z tohoto výzkumu můžeme říci, že kadmium, které je neesenciálním prvkem, už při 1 ppm prvku v médiu mělo statisticky významný, a to především negativní vliv na růst a vývoj rostlin a jejich nadzemních částí, tedy stonků, v porovnání s médiem bez kadmia. Se zvyšující se koncentrací kadmia v médiu se negativní vliv na růst nadzemních částí stupňoval a v médiích s 50 ppm Cd už žádné rostliny netvořily nadzemní hmotu. U pokusu s kadmíem s ohledem na tvorbu délky stonků byl potvrzen vliv jednotlivých odrůd a jejich odlišné reagování na toxicitu. U pokusu s kobaltem, který je esenciálním prvkem, nemělo přidání 1 ppm Co do médií statisticky významný vliv na růst nadzemních částí rostlin oproti médiu s 0 ppm Co. Naopak pouhým okem se jevílo přidání 1 ppm Co do médií u většiny odrůd jako pozitivní, stonky rostlin se zdály silnější, a podle souhrnné statistiky byly stonky v médiích s 1 ppm Co delší o cca 5 mm. U médií s 10 ppm Co rostliny tvořily pouze krátké stonky a u médií s 50 ppm Co nerostly žádné rostliny. U tohoto pokusu s kobaltem nebyl potvrzen žádný významný statistický rozdíl, kde by byl potvrzen vliv odrůdy na délku stonků. Ve statistických tabulkách vybočuje pouze odrůda Tasso, ale to lze zhodnotit tak, že celkově tato odrůda rostla nejméně ve všech ohledech, a to i v kontrolních variantách a její růst lze brát celkově za retardovaný.

Vliv množství přidání kadmia na tvorbu kořenů byl statisticky potvrzen a se stupňující se koncentrací kadmia v médiu rostliny tvořily méně kořenů a zároveň byly kratší. Nebyl však statisticky potvrzen rozdíl mezi médii s 0 a 1 ppm Cd, a to jak u počtu kořenů, které rostliny tvořily, tak ani u délky jednotlivých kořenů. Na médiích s 10 ppm Cd už ale byly kořeny rostlin celkově inhibovány a u médií s 50 ppm žádné kořeny nerostly. Vliv jednotlivých odrůd na tvorbu kořenů byl i v tomto případě potvrzen a jednotlivé odrůdy různě reagovaly na toxicitu kadmia. Vliv množství přidání kobaltu na tvorbu kořenů byl též statisticky potvrzen. Se stupňující se koncentrací kobaltu v médiích tvořily rostliny kratší kořeny a jejich počet klesal. Pouze u médií s 1 ppm Co měly některé odrůdy viditelné zlepšení tvorby kořenů, některým odrůdám ale ani zde toto obohacení kultivačního média neprospělo. V celkových statistikách všech odrůd dohromady v médiu s 1 ppm Co tvořily rostliny stejný počet kořenů,

ale jejich průměrná délka se snížila o 6 mm. Při přidání 10 ppm Co do médií už byl vliv prvku znatelnější a kořenů bylo méně a byly kratší. V médiích s 50 ppm Co už žádné kořeny rostlinám nerostly. U množství jednotlivých kořenů neexistují významné statistické rozdíly mezi odrůdami, ale u průměrné délky kořenů a jednotlivých odrůd existují rozdíly.

Ze všech znaků, které byly v tomto pokusu po jednom měsíci pozorovány, je množství suché biomasy nejreprezentativnějším faktorem, protože množství suché biomasy není ovlivněno tolika možnými proměnnými jako právě například sušina. U výpočtu konečné procentuální sušiny by mohlo dojít ke zkreslení výsledků, protože zde hraje roli lidský faktor, a to je osušení rostlin po vyjmutí z média, kdy médium ulpívalo na kořenech a z nějaké části tak ovlivnilo hmotnost čerstvé biomasy, která byla vážena ihned po vyjmutí rostlin z média a z ní byla následně vypočítána sušina. Dále by v tomto ohledu mohl hrát faktor množství obsahu vody v jednotlivých rostlinách. Stupňující se vliv kadmia na hmotnost čerstvé a suché biomasy byl ale statisticky potvrzen a už přidání 1 ppm Cd do média mělo vliv na snížení čerstvé i suché hmotnosti. Rostliny v médiu s 10 ppm Cd vytvořily velice málo čerstvé a tím pádem i suché biomasy a v médiu s 50 ppm Cd nerostly rostliny vůbec, že zde neexistuje statisticky významný rozdíl. I zde byly potvrzeny meziodrůdové rozdíly, které měly vliv jak na hmotnost čerstvé, tak i suché biomasy. Vliv množství kobaltu v médiu na hmotnost čerstvé a suché biomasy byl též statisticky potvrzen, ale přidání 1 ppm Co do média nemělo vliv na čerstvou ani suchou hmotnost oproti médiu s 0 ppm Co. I zde byly potvrzeny meziodrůdové rozdíly, které měly vliv jak na hmotnost čerstvé, tak i suché biomasy.

I přesto, že ze všech statistik a grafů jednotlivých fází růstu rostlin v pokusu je zřejmé, že rostliny v médiu s 10 ppm Cd rostly velmi omezeně, tak významný statistický rozdíl na tvorbu sušiny u média s 0, 1 a 10 ppm Cd neexistuje. Statisticky významný rozdíl oproti zbylým médiím je vidět až u média s 50 ppm Cd, kde rostliny vůbec nerostly, a tudíž nemohly tvořit ani žádnou sušinu. Z hlediska faktoru a vlivu odrůd na všech médiích dohromady existují pouze dva statisticky významné rozdíly v tvorbě sušiny, a to mezi odrůdami Apta a Tasso a mezi odrůdami Orlik a Tasso, což lze ale opět vysvětlit celkovou retardací růstu odrůdy Tasso. Mezi ostatními odrůdami při růstu na všech médiích s přidaným kadmiem dohromady neexistuje statisticky významný rozdíl. U pokusu s kobaltem je tomu ale podle statistických výsledků jinak. Všechny odrůdy dohromady a jejich vliv na tvorbu sušiny byl statisticky významně ovlivněn jednotlivými pěstebními médii, mezi nimiž existují významné statistické rozdíly, které měly dopad na tvorbu sušiny. Mezi jednotlivými odrůdami neexistuje žádný statisticky významný rozdíl, který by potvrdil vliv odrůdy na tvorbu sušiny u všech médií dohromady.

Celkově lze pokus na médiích s 50 ppm Cd i Co zhodnotit jako zdražený a lehce vyhodnotitelný, protože žádné odrůdy po jednom měsíci pozorování v těchto médiích nerostly, a tedy žádné testované odrůdy nebyly vhodné pro takto vysoké množství přidaného prvku do média. Již po prvním týdnu pokusu byla pozorována ztráta chlorofylu skoro u všech Petriho misek s 50 ppm Cd/Co. Nedostatek chlorofylu značil nedostatečnou fotosyntézu a metabolismus, a tak rostliny neměly dostatek energie k růstu, protože míra kontaminace médií byla pro rostliny až moc toxická. Pouze u odrůdy Bintje byly pozorovány po prvním týdnu milimetrové přírůstky kořenů u obou pokusů s 50 ppm Cd/Co, avšak i této odrůdě nerostly kořeny déle než dva týdny a po dvou týdnech byl na i na těchto pokusech pozorovatelný úbytek

chlorofylu a celkové odumírání původních axiálních pupenů. Dále u odrůdy Orlik v médiu 50 ppm Cd měly rostliny snahu o zakořenění, ale ani zde pokus nebyl úspěšný a rostliny po druhém týdnu začaly odumírat.

Pro porovnání pokusu, kterým se zabývala tato diplomová práce, se můžeme podívat například na výzkum Jayakumar et al. (2009), kteří provedli polní pokus na rostlinách sóji (*Glycine max* L.) a zkoumali vliv různých koncentrací kobaltu na růst rostlin. Délka kořenů a nadzemních výhonů sóji se celkově snižovala se zvyšující se hladinou kobaltu v půdě. S tímto výzkumem na rostlinách sóji lze porovnat i tento pokus na bramborách, kdy můžeme statisticky potvrdit jejich tvrzení, že se se zvyšující koncentrací kobaltu v pěstebním médiu délka kořenů a výhonů taktéž celkově snižovala. Nadále také zkoumali i tvorbu sušiny u rostlin sóji a zjistili, že koncentrace kobaltu má vliv i na tvorbu sušiny. Produkce sušiny u jejich rostlin se lišila podle koncentrace kobaltu v půdě. Nejvyšších hodnot sušina v jejich pokusu dosahovala při 50 ppm Co v půdě, ale s následujícím zvyšováním koncentrace kobaltu už množství sušiny klesalo. S výsledky v této diplomové práci nelze jejich výzkum o sušině potvrdit, protože rostliny bramboru v tomto pokusu v médiích s 50 ppm Co nerostly vůbec a tím pádem nemohly tvořit sušinu. Z výsledků této diplomové práce, kdy přidání do médií 50 ppm Cd i Co bylo fatální můžeme usoudit, že mobilita těchto prvků v *in vitro* prostředí, kde rostliny rostly v kultivačním médiu, může být o dosti větší, než kdyby rostliny rostly v půdě v přirozeném prostředí, kde by díky půdním vlastnostem tyto kovy nemusely mít takovou mobilitu, či by je jiné vlastnosti půdy vázaly a rostliny by nepřijímaly tak velké množství do svého těla jako tomu bylo tak v kultivačním médiu, a proto například u pokusu Jayakumar et al. (2009) nebylo množství 50 ppm Co pro rostliny tak významné a nezpůsobovalo fatální ztráty.

Podle Palit et al. (1994) je kobalt považován za přechodný prvek a je nezbytnou součástí několika enzymů. V jejich výzkumu bylo prokázáno, že ovlivňuje růst a metabolismus rostlin, což se shoduje i s tímto výzkumem. Kobalt v půdě může způsobovat změny v obsahu chlorofylu a inhibuje tvorbu škrobu. Toxický účinek kobaltu na morfologii rostlin zahrnuje opad listů, inhibuje fotosyntézu, způsobuje odbarvování žilek a má dopad na snížení hmotnosti výhonků. To, že má kobalt vliv na snížení obsahu sušiny je zřejmé i z tohoto pokusu, kdy rostliny tvořily menší množství sušiny s přibývajícím koncentrací kobaltu v médiích. U médií s 10 a 50 ppm Co byl též pozorovatelný úbytek fotosyntézy, čímž lze též potvrdit jejich výzkum. Růst nadzemních částí u obou pokusů a všech odrůd dohromady byl statisticky významně ovlivněn jednotlivými médii.

Gad & Fekry Ali (2020) tvrdí, že ideální obsah kobaltu v půdě má za následek rychlejší vegetativní růst. Podle jejich pokusu se rostlinám bramboru po přidání 10 ppm Co vedlo lépe a vykazovaly větší nárůst zelené hmoty a měly lepší produkci hlíz a celkově u hlíz došlo k větší tvorbě chemických složek jako jsou například minerální látky. Když rostlinám ale bylo přidáno více jak 10 ppm Co, tak se pozitivní výsledek snížil. S tímto výsledkem pokusu lze porovnat i pokus, kterým se zabývala tato diplomová práce. Jen u tohoto pokusu už při 10 ppm Co došlo ke snížení růstu nadzemních částí a byla snížena i tvorba kořenů. Proto lze dále diskutovat, zda je tento rozdíl ve výzkumech ovlivněn tím, že tento pokus byl proveden v *in vitro* prostředí a jejich pokus byl proveden v polních podmínkách.

Chugh & Sawhney (1999) provedli výzkum, kde zkoumali vliv různých koncentrací kadmia na fotosyntézu rostlin hrachu (*Pisum sativum* L. cv. Bonneville). Zjistili, že rozsah snížení fotosyntetické aktivity převýšil rozsah snížení fotosyntézy na dm² listové plochy. To znamená, že kadmium kromě potlačení růstu ovlivňuje i fungování fotosyntetické aktivity v listech a snižuje účinnost fotosyntézy. Chloróza listů je jedním z nejčastěji pozorovaných účinků toxicity kadmia. Jejich výzkum ukazuje například to, že přidání 5 ppm kadmia do substrátu snížilo fotosyntetickou aktivitu o 42 % po 12 dnech od kontaminace, ale obsah chlorofylu se snížil pouze o 15 %. Závěrem z jejich studie je tedy to, že kadmium narušuje různé fáze v mnohostranném procesu fotosyntézy a rostliny vystavené kadmium obsahují méně chlorofylu, což snižuje jejich účinnost celé fotosyntézy. Úbytek chlorofylu šlo pouhým okem pozorovat i u pokusu, kterým se zabývala tato diplomová práce, kde rostliny ztrácely barvu a postupně odumíraly v důsledku toxicity Cd u médií, které obsahovaly 10 či 50 ppm, proto lze jejich závěr z výzkumu potvrdit.

Rascio et al. (1993) provedli pokus na kukuřici (*Zea mays* L.), kde pozorovali vliv kadmia na růst rostlin. K rostlinám přidávali dusičnan kademnatý v různých koncentracích. Pro lepší porovnání s pokusem, kterým se zabývá tato diplomová práce, byl jejich pokus převeden na jednotky ppm, aby šly tyto dva pokusy lépe porovnat. U jejich pokusů s cca 1 ppm Cd nepozorovaly zjevné účinky a změny v růstu rostlin. Při koncentraci cca 10 ppm Cd pozorovali změny a snížení růstu rostlin o 10–15 % a ztrátu chlorofylu v listech až o 25 %. U pokusu s cca 30 ppm Cd pozorovali snížený růst, a to až o 45 % a ztrátu chlorofylu v listech až o 38 %. U rostlin bramboru v pokusu, kterým se zabývala tato diplomová práce, ale byly znatelné změny v růstu rostlin už právě i při 1 ppm Cd, jejich výsledky ale toto množství kadmia neovlivnilo.

Poznatky z tohoto výzkumu a dalších podobných výzkumů, které byly i v příkladech zmíněné, by se daly použít pro budoucí šlechtění odrůd, které by byly odolnější vyšším koncentracím těžkých kovů v půdách. Otázkou ale je, zda by růst rostlin v polních pokusech dosahoval stejných či podobných výsledků u jednotlivých kontaminací kadmium a kobaltem a zda by se rostliny s tímto stresem vyrovnávaly stejně či možná i lépe. V tomto pokusu byly také rostliny omezeny velikostí Petriho misky a též byl problém s kontaminací některých pokusů. Často se totiž objevovaly různé plísně, které byly nejspíše způsobeny častým manipulováním se vzorky, nebo mohla být příčina vzniku plísní způsobená špatnou sterilizací nástrojů při zakládání pokusu. Je tedy podle mého názoru dost pravděpodobné, že pokus, který by byl proveden v polních podmínkách by mohl mít markantnější statistické rozdíly u kontrolních variant a variant s 1 ppm, či 10 ppm daného prvku, jako tomu tak bylo u zmíněných pokusů, které byly provedeny v polních podmínkách. Jelikož byl ale tento pokus proveden pouze v podmínkách *in vitro*, nemohu prakticky potvrdit, jak by se rostliny chovaly v polním pokusu a v přirozeném prostředí. Rostliny v polním pokusu podle jednotlivých výzkumů dokáží lépe regulovat stres jiným způsobem než rostliny v *in vitro* podmínkách, a tak je možné, že by výsledky pokusu dopadly jinak. I přesto, že bylo provedeno několik pokusů podobných tomu, kterým se zabývala tato diplomová práce, je pro budoucí šlechtění rostlin ve vztahu k rezistenci na těžké kovy, nejen kadmia a kobaltu, potřeba provést více výzkumů, které nebudou jen v *in vitro* prostředí, ale budou se provádět také na různých stanovištích jednotlivých polních pokusných stanic.

7 Závěr

Tato práce se zabývala a byla zaměřena na *in vitro* pěstování šesti odrůd rostlin rodu *Solanum tuberosum*. Testování proběhlo za účelem potvrzení hypotéz, že existují jednotlivé meziodrůdové rozdíly a že existují rozdíly v koncentraci kadmia a kobaltu přidaného do kultivačních médií a tyto jednotlivé koncentrace mají vliv na růst rostlin. Celkem bylo použito 8 druhů médií s různými koncentracemi těžkých kovů. Pokus byl proveden za účelem zhodnocení a statistickém vyjádření růstu jednotlivých částí rostlin bramboru, jejich změn v morfologii a následné tvorbě sušiny. Byla pozorována délka stonku, délka a počet kořenů, hmotnost čerstvé a suché biomasy a následně proběhlo vypočítání sušiny.

- Byla potvrzena hypotéza, že existují nejen meziodrůdové rozdíly v růstu jednotlivých částí rostlin bramboru v závislosti na koncentraci kadmia přidaného do kultivačního média, ale že existují i statisticky významné rozdíly mezi testovanými médii. Rostliny reagovaly citlivě na různé koncentrace kadmia. Rostliny reagovaly odlišně a byla pozorována negativní změna už v médiu, které navíc obsahovalo 1 ppm Cd. Týdenní přírůstky byly odlišné jak u nadzemních, tak i u kořenových částí.
- Byla potvrzena hypotéza, že existují nejen meziodrůdové rozdíly v růstu jednotlivých částí rostlin bramboru v závislosti na koncentraci kobaltu přidaného do kultivačního média, ale že existují i statisticky významné rozdíly mezi testovanými médii. Rostliny reagovaly citlivě na stupňující se koncentrace kobaltu. Oproti kadmiu u pokusu s kobaltem nemělo přidání 1 ppm Co do média statisticky významný vliv na růst rostlin, ale už u médií, které navíc obsahovaly 10 ppm Co, rostliny vykazovaly velké a významné statistické rozdíly a týdenní přírůstky byly odlišné. U pozorovaných rostlin došlo ke snížení růstu jak nadzemních, tak i kořenových částí.
- Byla potvrzena hypotéza, že pěstování rostlin v *in vitro* prostředí je homogenní a simulace změn a koncentrace kadmia a kobaltu má vliv na vývoj rostlin. V *in vitro* prostředí se dobře daly simulovat změny v půdním roztoku a byl potvrzen průkazný vliv koncentrace média na růst a vývoj rostlin. U tohoto pokusu existovala snadno pozorovatelná a měřitelná změna nejen morfologických znaků u jednotlivých rostlin.
- Vyhodnocení získaných dat proběhlo pomocí statistiky a analýza rozptylu (ANOVA) potvrdila stanovené hypotézy. Výsledky experimentu lze ale potenciálně využít i pro šlechtitelské účely při hodnocení reakce šlechtitelského materiálu na abiotický stres.

Výsledky tohoto experimentu dokazují, že vliv kadmia a kobaltu na rostliny *Solanum tuberosum* je významný. Se zvýšenou průmyslovou činností člověka a nadměrným hnojením polí se hodnoty těžkých kovů v půdách postupně zvyšují. Je tedy velmi důležité kontrolovat koncentrace nejen kadmia a kobaltu v půdách, ale i jiných těžkých kovů a využít tyto poznatky pro šlechtění odolnějších odrůd nejenom bramboru, ale i jiných hospodářských plodin, které jsou pěstované za účelem konzumace lidmi a zvířaty.

8 Literatura

- Ashraf S. 2011. Land suitability evaluation for irrigated barley in Damghan plain, Iran. *Indian J. Sci. Technol*, **4(9)**: 1182-1187.
- Ayari F, Hamdi H, Jedidi N, Gharbi N, Kossai R. 2010. Heavy metal distribution in soil and plant in municipal solid waste compost amended plots. *Int. J. Environ. Sci. Tech* **7(3)**: 465-472.
- Baker AJM, McGrath SP, Sidoli CMD, Reeves RD. 1994. The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants. *Res Cons Rec* **11**: 41-49.
- Barceloux D. 1999. Cobalt, *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology* **37(2)**: 201-216.
- Bhat JA, Shivaraj SM, Singh P, Navadagi DB, Tripathi DK, Dash PK, Solanke AU, Sonah H, Deshmukh R. 2019. Role of silicon in mitigation of heavy metal stresses in crop plants. *Plants (Basel)* **8(3)**: 71.
- Boureto AE, Kagawa JN. 2001. Effect of cobalt on sugar beet growth and mineral content. *Revista Brasileira-Sementes*. **18**: 63.
- Bradshaw JE, Bonierbale M. 2010. Potatoes. In: Bradshaw JE. *Root and Tuber Crops, Handbook of Plant Breeding 7*, Springer Science.
- Cibulka J. 1986. Pohyb olova, kadmia a rtuti v zemědělské výrobě a biosféře. 2., rozš., v SZN 1. vyd. SZN, Praha.
- Clemens S, Aarts MG, Thomine S, Verbruggen N. 2013. Plant science: the key to preventing slow Cd poisoning. *Trends Plant Sci.* **18**, 92-99.
- Čepl J, Červínová E, Čížek M, Domkářová J, Exnarová J, Greplová M, Hausvater E, Krpálková A, Vokál B, Zášková J. 2012. Máme rádi brambory: Proč jsou brambory zdravé, jak je správně nakupovat i pěstovat, úspěšné projekty PRV a několik osvědčených receptů. Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s. r. o. a Ministerstvo zemědělství ČR.
- Deshmukh RK, Ma JF, Bélanger RR. 2017. Role of silicon in plants. *Front. Plant Sci.* **8**.
- Diviš J. et al. 2010. Pěstování rostlin. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, fakulta zemědělská.
- Domkářová J, Greplová M, Polzerová H. 2013. Praktické výsledky experimentálního šlechtění. Výzkumný ústav bramborářský, Havlíčkův Brod.
- Ernst WHO. 2006. Evolution of metal tolerance in higher plants. *Forest Snow Landscape Research* **80**: 251-274.

- Fernie AR, Willmitzer L. 2001. Molecular and biochemical triggers of potato tuber development. *Plant Physiol.* **127**: 1459–1465.
- Furini A. 2012. *Plants and heavy metals*. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York.
- Gad N, Abdel-Moez MR. 2011. Broccoli growth, yield quantity and quality as affected by cobalt nutrition. *Agriculture and Biological J. of North America*, **2(2)**: 226-231.
- Gad N, Fekry AM. 2020. Influence of cobalt on potato (*Solanum tuberosum*) productivity. Plant Nutrition Dept., National Research Centre, El-Buhouthst. Dokki, Cairo, Egypt. *Plant Archives* Vol. 20, Supplement 1: 1405-1408.
- Gad N, Hassan NM. 2013. Role of cobalt and organic fertilizers amendments on tomato production in the newly reclaimed soil. *World Applied sciences journal*, **22(10)**: 1527-1533.
- GRIN Czech. 2023. GRIN Czech Release 1.10.3. Czech republic. Available from <https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/search.aspx> (accessed February 2023).
- Hapke M, Hilt G. 2019. *Cobalt Catalysis in Organic Synthesis: Methods and Reactions*. Wiley-VCH, Weinheim, Germany.
- Haverktor A, Struik P, Visser R, Jacobsen E. 2009. Applied biotechnology to combat late blight in potato caused by *Phytophthora infestans*. *Potato Res.* **52**: 249-264.
- Hawkes JG. 1990. *The Potato, Evolution, Biodiversity and Genetic Resources*. Belhaven Press, London.
- Hodson M, White P, Mead A, Broadley M. 2005. Phylogenetic variation in the silicon composition of plants. *Ann. Bot.* **96**: 1027–1046.
- Holah S, Zeid STA, Gad N, Abbas MM. 2019. Response of tomato (*Lycopersicon esculentum*) to cobalt supplement. *Plant Archives*, **19(1)**: 1505-1510.
- Horáčková V, Domkářová J. 1998. Konzervace *in vitro*, její uplatnění u kolekce bramboru. In: *Metody konzervace genofondu rostlin a možnosti jejich využití v ČR. Sborník referátů ze semináře konaného 19. listopadu 1998 ve VÚRV Praha – Ruzyně*. Praha: VÚRV, 60–66.
- Houba M, et al. 2007. *Poznejte, pěstujte, používejte brambory: poděkování Albertu Offereinsovi: pocta tradiční rostlině*. Praha.
- Hovmand MF, Tjell JC, Mosbaek H. 1983. Plant uptake of airborne cadmium. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological* **30**: 27–38.
- Hu X, Wei X, Ling J and Chen J. 2021. Cobalt: An Essential Micronutrient for Plant Growth? *Front. Plant Sci* **12**: 768523.

- Husen A, Siddiqi KS. 2014. Phytosynthesis of nanoparticles: Concept, controversy and application. Springer New York LLC. *Nanoscale Research Letters* **9**: 1–24.
- Chaney RL, Malik M, Li YM, Brown SL, Brewer EP, Angle JS, Baker AJM. 1997. Phytoremediation of soil metals. *Curr. Opin. Biotechnol* **8**: 279–284.
- Chao-Zhou L, Wang D, Wang GZ. 2005. The protective effect of cobalt on potato seedling leaves during osmotic stress. *Bot. Bull. Acad. Sin.* **46**: 119-125.
- Chloupek O. 2000. Genetická diverzita, šlechtění a semenářství. Vyd. 2., upr. a rozš. Academia, Praha.
- Chugh LK, Sawhney SK. 1999. Photosynthetic activities of *Pisum sativum* seedlings grown in presence of cadmium. *Plant Physiology and Biochemistry* **37(4)**: 297-303.
- Jansky SH, Spooner DM. 2018. The Evolution of Potato Breeding. In *Plant Breeding Reviews*, I. Goldman (Ed.).
- Jayakumar KA, Jaleel C, Azooz MM, Vijayarangan P, Gomathinayagam M, Panneerselvam R. 2009. Effect of different concentrations of cobalt on morphological parameters and yield components of soybean. *Glob. J. Mol. Sci* **4**: 10–14.
- Jůzl M, et al. 2000. Rostlinná výroba – III (okopaniny). Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. Brno.
- Krantev A, Yordanova R, Janda T, Szalai G, Popova L. 2008. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. *Journal of plant physiology*, **165(9)**: 920-931.
- Kubier A, Wilkin RT, Pichler T. 2019. Cadmium in soils and groundwater: a review. *Appl. Geochem* **108**: 104388.
- Lewandowski I, Schmidt U, Londo M, Faaij A. 2006. The economic value of the phytoremediation function—assessed by the example of cadmium remediation by willow (*Salix* spp.). *Agricultural Systems* **89**: 68-89.
- Lisnik SS, Toma SI. 2003. Regulation of adaptive responses of plant by trace elements. *Akard, Nauk Mold. SSR. Ser. Biol. Khim. Nouk*, **2**: 19.
- Manjunath RP, Prasad PS, Vishnuvardhana AM, Ramegowda GK, Anil S. 2018. Studies on influence of specific micronutrient formulation on grade wise tuber yield and quality in potato (*Solanum tuberosum* L.). *International Journal of Chemical Studies* **5(4)**: 1762-1765.
- Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd Ed. Academic Press, London.

- Mayer V, Růžek P, Kasal P, Vejchar D. 2009. Technologie lokální aplikace minerálních hnojiv a přípravků při pěstování brambor: metodická příručka. Výzkumný ústav zemědělské techniky, Praha.
- Mayer V, Vejchar D, Pastorková E. 2012. Měření a kvantifikace škodlivých činitelů při výrobě brambor. Výzkumný ústav zemědělské techniky, Praha.
- McLaughlin MJ, Williams CMJ, McKay AJKG, Kirkham RJKG, Gunton JJKG, Jackson KJ, Tiller KG. 1994. Effect of cultivar on uptake of cadmium by potato tubers. *Australian Journal of Agricultural Research*, **45(7)**: 1483-1495.
- Meng ML, Yic MF, Jun Y, Lin YZ. 2004. Research Progress on cultivation Physiology of potato in China 5th world Potato Congress, **16**.
- Mench M, Vangronsveld J, Lepp N, Edwards R. 1998. Physicochemical aspects and efficiency of trace element in immobilisation by soil amendments. In: Vangronsveld J & Cunningham S (eds), *In-situ Inactivation and Phytoremediation of Metal Contaminated Soils*, Georgetown TX: Springer-Verlag, Landes Company, 151–182.
- Monni S, Uhlig C, Hansen E, Magel E. 2001. Ecophysiological responses of *Empertrum nigrum* to heavy metal pollution. *Environ. Poll* **112 (2)**: 121-129.
- Nazar R, Iqbal N, Masood A, Khan MIR, Syeed S, Khan NA. 2012. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. *Am J Plant Sci* **3**: 1476–1489.
- Nicholls D. 1975. *The Chemistry of Iron, Cobalt and Nickel*. Pergamon Press.
- Oort PAJV, Timmermans BGH, Meink H, Ittersum MKV. 2012. Key weather extremes affecting potato production in The Netherlands. *Eur J Agron* **37**: 11-22.
- Palit S, Sharma A, Talukder G. 1994. Effects of cobalt on plants. *Bot. Rev* **60**: 149–181.
- Parsafar N, Marofi S. 2014. Heavy metal concentration in potato and in the soil via drainage water irrigated with wastewater. *Irrig Drain* **63**: 682–691.
- Poljak M, Herak-custic M, Horvat T, Coga L, Magic A. 2007. Effects of nitrogen nutrition on potato tuber composition and yield. *Cereal Research. Communications* **35**: 937-940.
- Rascio N, Dalla Vecchia F, La Rocca N, Barbato R, Pagliano C, Raviolo M, Gabbrielli R. 2008. Metal accumulation and damage in rice (cv. Vialone nano) seedlings exposed to cadmium. *Environmental and Experimental Botany*, **62(3)**: 267-278.
- Rascio N, Navari-Izzo F. 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Sci* **180**: 169–181.
- Rascio N, Vecchia FD, Ferretti M. 1993. Some effects of cadmium on maize plants. *Arch. Environ. Contam. Toxicol* **25**: 244–249.

Rasocha V, Hausvater E, Doležal P. 2008. Škodliví činitelé bramboru: abionózy, choroby, škůdci. Harmful agents of potato: abionoses, diseases, pests. Výzkumný ústav bramborářský, Havlíčkův Brod.

Rietman H, Bijsterbosch G, Cano LM, Lee HR, Vossen JH, Jacobsen E, Visser RGF, Kamoun S, Vleeshouwers VGAA. 2012. Qualitative and Quantitative Late Blight Resistance in the Potato Cultivar Sarpo Mira Is Determined by the Perception of Five Distinct RXLR Effectors. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **25(7)**: 910-919.

Sáňka M, Čupr P, Kadlubiec R, Malec J, Skybová M, Škarek M. 2003. Riziková analýza a monitorování složek životního prostředí v Kutné Hoře a okolí. Opava.

Selahvarzi S, Sobhan Ardakani S. 2020. Analysis and health risk assessment of toxic (Cd and Pb) and essential (Cu and Zn) elements through consumption of potato (*Solanum tuberosum*) cultivated in Iran, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*.

Shah BA, Shah AV, Singh RR. 2009. Sorption isotherms and kinetics of chromium uptake from wastewater using natural sorbent material. *Int. J. Environ. Sci. Tech* **6(1)**: 77-90.

Singh J, Kaur L. 2009. *Advances in Potato Chemistry and Technology*. Riddet Institute and Massey Institute of Food Science and Technology, Massey University, Palmerston North, New Zealand.

Spooner DM, Nú J, Trujillo G, del Rosario Herrera M, Guzmá F, Ghislain M. 2007. Extensive simple sequence repeat genotyping of potato landraces supports a major reevaluation of their gene pool structure and classification.

Spooner DM, Salas A. 2006. Chapter 1 Structure, Biosystematics, and Genetic Resources Structure, Biosystematics, and Genetic Resources.

The European Cultivated Potato 2023. ECPD. Velká Británie. Available from <http://www.europotato.org> (accessed February 2023).

Vokál B. 2013. *Brambory: šlechtění, pěstování, užití, ekonomika*. Profi Press, Praha.

Wagesho Y, Chandravanshi BS. 2015. Levels of essential and non-essential metals in ginger (*Zingiber officinale*) cultivated in Ethiopia. *SpringerPlus* **4**: 107.

Webb M. 1979. *The Chemistry, biochemistry, and biology of cadmium*. Elsevier/North Holland Biomedical Press, New York.

Wuana RA, Okieimen FE. 2011. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *ISRN Eco*, **20**.

Yixin Y, Wen D, Yu L, Tony F, Xingyao X, Liang S, Xinxi H. 2020. Cultivar diversity and organ differences of cadmium accumulation in potato (*Solanum tuberosum* L.) allow the

potential for Cd-safe staple food production on contaminated soils, *Science of The Total Environment*, **711**.

Žižka J. 2019. Situační a výhledová zpráva, Brambory. Praha: Ministerstvo zemědělství.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

- Ag – stříbro
- Cd – kadmium
- Co – kobalt
- Cr – chrom
- Cu – měď
- ELISA – enzyme linked immuno sorbent assay – analytická metoda ke stanovení antigenů
- Fe – železo
- Hg – rtuť
- KOH – hydroxid draselný
- Mn – mangan
- Mo – molybden
- MS – Murashige-Skoog médium
- N – dusík
- Ni – nikl
- Pb – olovo
- PEG – polyethylenglykol
- PLRV – potato leafroll virus (virus svinutky bramboru)
- ppm – parts per milion (1/1000000 celku)
- PSTVd – potato spindle tuber viroid
- PVY – Y virus bramboru
- Si – křemík
- V – vanad
- W – wolfram
- Zn – zinek