

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra botaniky a fyziologie rostlin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv rizikových látek na klíčení a vzcházení vybraných druhů
zelenin**

Bakalářská práce

Sabina Jelínková

Zahradnictví – HORTIB

Doc. Ing. František Hnilička, Ph.D.

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv rizikových látek na klíčení a vzházení vybraných druhů zelenin" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské 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 bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 23.4.2022

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Františkovi Hniličkovi, Ph.D. za čas, který věnoval mé bakalářské práci a za jeho pomoc během její tvorby. Touto cestou bych také chtěla poděkovat svým blízkým, kteří mě podporovali během celého studia.

Vliv rizikových látek na klíčení a vzcházení vybraných druhů zelenin

Souhrn

V této práci byl řešen vliv toxických látek jako jsou farmaceutika, pesticidy a jejich rezidua a toxické kovy na rostliny. V řízených podmínkách byl sledován vliv farmaka (diklofenak) na klíčení a vzcházení vybraných zástupců listových zelenin. Do pokusu byly zařazeny tyto druhy: *Spinacia oleracea* L., *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) Kuntze, *Valerianella locusta* (L.) Laterr., *Portulaca oleracea* L., *Lactuca sativa* L. a *Eruca sativa* (L.) Mill.

Vliv diklofenaku na klíčení semen byl sledován u těchto koncentrací 0,5 mg/l, 1,5 mg/l, 2,5 mg/l, 3,5 mg/l a 5,0 mg/l. Jako kontrola byla použita destilovaná voda. Celkem bylo použito 5 Petriho misek pro každou plodinu a variantu. Do každé Petriho misky bylo vyseto 20 semen, Měření se uskutečnilo v následujících termínech: 48, 72 a 96 hodin od výsevu. Měřenými parametry byla velikost kořenů a hypokotylů vyklíčených rostlin. Dalšími parametry byly: Klíčivosti semen (SG), Gf počet vyklíčených semen na konci kultivace, energie klíčení (GE), energie klíčení, rychlost klíčení (GR), index klíčivosti (GI), střední čas klíčení (MGT), koeficient rychlosti klíčení (CVG), koeficient variace času klíčení (CVt), nejistota (U) a synchronicita (Z).

Ze získaných výsledků vyplývají následující závěry: Byl potvrzen mezidruhový rozdíl v reakci semen na koncentraci diklofenak. *Valerianella locusta* (L.) Laterr. nevyklíčila za daný čas u všech koncentrací a u kontroly. U *Spinacia oleracea* L. a *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) bylo potřeba více času na vyklíčení. Uvedené koncentrace diklofenaku neměly vliv na klíčení. Byl potvrzen vliv diklofenaku na délku kořínků u sledovaných druhů zelenin. Diklofenak u většiny druhů kromě *Portulaca oleracea* L. podporoval růst kořenů. Pozitivní vliv diklofenaku na délku kořínku vykazovaly rostliny *Spinacia oleracea* L., *Tetragonia tetragonoides* (Pall.), *Lactuca sativa* L., *Eruca sativa* (L.) Mill. Diklofenak negativně ovlivňoval růst nadzemních částí rostlin i v nižších koncentracích. Nejcitlivěji na koncentraci diklofenaku délkou hypokotylu reagoval druh *Portulaca oleracea* L. U tohoto druhu se délka hypokotylu pohybovala po 96 hodinách u kontroly 12,54 mm a u nejvyšší koncentrace diklofenaku (5 mg/l) 5,21 mm. U *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) Kuntze byl nejvyšší nárůst nadzemních částí u koncentrace 1,5 mg/l.

Klíčová slova: diklofenak, ISTA, hypokotyl, farmaceutika, růst

Effect of hazardous substances on germination and emergence of selected vegetables

Summary

In this work, the effect of toxic substances such as pharmaceuticals, pesticides and their residues and toxic metals on plants was addressed. The effect of pharmaceutical (diclofenac) on germination and emergence of selected representatives of leafy vegetables was studied under controlled conditions. The species included in the experiment were *Spinacia oleracea* L., *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) Kuntze, *Valerianella locusta* (L.) Laterr., *Portulaca oleracea* L., *Lactuca sativa* L. and *Eruca sativa* (L.) Mill.

The effect of diclofenac on seed germination was monitored at the following concentrations 0.5 mg/l, 1.5 mg/l, 2.5 mg/l, 3.5 mg/l and 5.0 mg/l. Distilled water was used as control. A total of 5 petri dishes were used for each crop and variant. 20 seeds were sown in each petri dish, Measurements were taken at the following times: 48, 72 and 96 hours after sowing. The parameters measured were root size and hypocotyls of the germinated plants. The other parameters were: seed germination rate (SG), Gf number of seeds germinated at the end of cultivation, germination energy (GE), germination energy, germination rate (GR), germination index (GI), mean germination time (MGT), coefficient of variation of germination rate (CVG), coefficient of variation of germination time (CVt), uncertainty (U) and synchronicity (Z).

From the results obtained, the following conclusions were drawn: Interspecific difference in seed response to diclofenac concentration was confirmed. *Valerianella locusta* (L.) Laterr. did not germinate in a given time for all concentrations and for the control. In *Spinacia oleracea* L. and *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) more time was needed for germination. The concentrations of diclofenac given had no effect on germination. The effect of diclofenac on root length was confirmed in the vegetable species studied. Diclofenac promoted root growth in *Spinacia oleracea* L., *Tetragonia tetragonoides* (Pall.), *Lactuca sativa* L., *Eruca sativa* (L.) Mill. Diclofenac negatively affected the growth of aerial parts of plants even at lower concentrations. The species *Portulaca oleracea* L. responded most sensitively to diclofenac concentration by hypocotyl length.

Keywords: diclofenac, ISTA, hypocotyl, pharmaceuticals, growth

Obsah

1 Úvod.....	8
2 Cíl práce.....	9
3 Literární rešerše.....	10
3.1 Vývoj produkce zeleniny v ČR a ve světě.....	10
3.2 Obecná definice stresu	11
3.4 Příjem a transport toxických látek v rostlinách	13
3.5 Léčiva v půdě	14
3.5.1 Diklofenak.....	16
3.5.2 Paracetamol.....	16
3.5.3 Ibuprofen.....	17
3.5.4 Antibiotika.....	18
3.5.5 Karbamazepin.....	19
3.5.6 Estrogeny.....	19
3.6 Pesticidy a jejich rezidua.....	20
3.7 Toxické kovy.....	23
3.7.1 Kadmium	24
3.7.2 Olovo	25
4 Metodika.....	28
4.1 Rostlinný materiál.....	28
4.2 Založení pokusu	28
4.3 Měřené parametry klíčnicích rostlin	29
5 Výsledky.....	30
5.1 <i>Portulaca oleracea</i> L.....	30
5.1.1 Velikost kořenů	31
5.1.2 Velikost hypokotylu	31
5.2 <i>Lactuca sativa</i> L.....	32
5.2.1 Velikost kořenů	33
5.2.2 Velikost hypokotylu	33
5.3 <i>Eruca sativa</i> (L.) Mill.....	34
5.3.1 Velikost kořenů	35
5.3.2 Velikost hypokotylu	35
5.4 <i>Spinacia oleracea</i> L.....	36
5.4.1 Velikost kořenů	37
5.4.2 Velikost hypokotylu	37

5.5	<i>Tetragonia tetragonoides</i> (Pall.) Kuntze	38
5.5.1	Velikost kořenů	39
5.5.2	Velikost hypokotylu	39
5.6	<i>Valerianella locusta</i> (L.) Laterr.	39
6	Diskuze	40
6.1	Klíčivost semen	40
6.2	Délka kořene	41
6.3	Délka hypokotylu	41
7	Závěr	42
8	Literatura.....	43

1 Úvod

Pěstování zeleniny je ovlivňováno mnoha faktory a jedním z nich jsou toxické látky, mezi něž řadíme kovy, pesticidy nebo také farmaceutika. Používání pesticidů je stále vysoké vzhledem k plochám monokultur.

Rezidua pesticidů, rizikové prvky ovlivňují rostliny od klíčení až po tvorbu reprodukčních orgánů. Pokud je krátký rozestup od předplodiny, kdy byly použity herbicidy, tak mohou být následné rostliny významně poškozeny. Ovšem některá rezidua mohou být v půdě až dva roky, proto je důležité se věnovat těmto látkám (Jursík & Soukup, 2022).

Relativně vyšší zastoupení rizikových látek v prostředí je ve vodních zdrojích, neboť čističky odpadních vod v řadě případů nejsou schopny některé rizikové látky zcela odstranit. Jedná se především o xenobiotika, kam řadíme například léčiva.

Není však tolik studií, které by se přímo zaměřovaly na vliv léčiv na rostliny, narozdíl od jiných látek. Zkoumání těchto látek je však do budoucna potřebné vzhledem k nárůstu obyvatel světa a velké spotřebě farmaceutik.

Tato bakalářská práce se zaměřuje na vliv diklofenaku na klíčení rostlin a vzházení vybraných druhů listové zeleniny.

2 Cíl práce

- Rizikové látky jako jsou xenobiotika, chemická rezidua a další rizikové prvky se dostávají do prostředí přirozenou cestou i antropogenními vlivy. Mohou ovlivňovat klíčení, vzcházení i metabolismus rostlin.
- Byly navrženy následující cíle práce:
 1. Stanovení vlivu rizikových látek na rychlost klíčení,
 2. Studium vlivu rizikových látek na vzcházení vybraných druhů zelenin.
- Hypotézy práce jsou:
 1. Existuje negativní vliv rizikových látek na klíčení a vzcházení rostlin,
 2. existují mezidruhové rozdíly v reakci na rizikové látky v prostředí.
- Byla vybrána léčiva, která se do prostředí dostávají v odpadních vodách nebo při nevhodné likvidaci odpadů. Odstraňování těchto látek v čistírnách odpadních vod je neúplné, proto se dostávají do prostředí a mohou tak představovat potenciální nebezpečí. Listová zelenina byla vybrána vzhledem ke kratší vegetační době.

3 Literární rešerše

3.1 Vývoj produkce zeleniny v ČR a ve světě

Většina definic zelenin není botanicky založená. Spíše než z morfologie rostlin, vycházejí z použití a jsou poměrně svévolné. Meloun je považován za zeleninu, ale je konzumován jako dezert. Některé zeleniny jsou po botanické stránce definovány jako ovoce, ale zařazujeme je mezi zeleninu vzhledem k jejich využití. Mezi takové zeleniny lze zařadit například rajče a papriku (Welbaum, 2015).

Z produkčního hlediska lze zeleninu podle autora Welbaum (2015) definovat jako vysoce hodnotnou plodinu, kterou je nutné intenzivně obhospodařovat a po sklizni vyžaduje zvláštní péči. Mnoho zelenin se sklízí v nezralém stavu, takže je nutné věnovat pozornost k zachování jejich kvality.

Produkce zeleniny se během let mnohokrát zvýšila. Od roku 1970 do roku 2009 se její produkce zvýšila až skoro čtyřnásobně. Tento nárůst byl možný vzhledem k technologickému pokroku. S ohledem na nové techniky šlechtění ve 30. letech 20. století došlo k vývoji produktivnějších odrůd. Nejvýznamnější pokrok byl vývoj kultivarů F-1, které zvýšily produktivitu o 30 % a více (Welbaum, 2015). V USA začala komerční hybridizace ve 20. letech 20. století u kukuřice cukrové, po které následovala cibule ve 40. letech 20. století (Dyas & Ryder, 2011).

Po druhé světové válce byly snadno dostupné syntetické pesticidy, které se začaly ve zvýšené míře používat. Nejednalo se pouze o přípravky na ochranu rostlin, ale také o průmyslová hnojiva (Welbaum, 2015).

Aplikace pesticidů je v současné době stále vysoká a je nepostradatelnou součástí zemědělského hospodaření. Pesticidy představují jeden z největších záměrných vstupů potencionálně nebezpečných látek do životního prostředí. To vede k potencionálnímu riziku pro lidskou populaci (Vašíčková et al., 2019). V EU dle směrnice 2009/128/ES je zakázán letecký postřik pesticidů až na zvláštní případy, kdy jsou splněny určité podmínky. Dle směrnice mají státy zajišťovat opatření na ochranu vodního prostředí před vlivem pesticidů. Dalším bodem směrnice je omezení či zákaz používání pesticidů v určitých oblastech a dále podpora ochrany rostlin s nízkými vstupy pesticidů (Eur-lex, 2009).

V 70. a 80. letech 20. století se lidé začali zajímat o udržitelnější produkci zeleniny s nízkými vstupy s ohledem na nutriční kvalitu. Od roku 2004, po vstupu do Evropské unie se české zemědělství přizpůsobilo nařízením a pravidlům Evropské unie. Došlo k poklesu osevních ploch a nahrazení tradičních plodin jako jsou brambory a cukrová řepa dotovanými, jako je řepka a částečně kukuřice (Věžník et al., 2013). Na tab.1 je zobrazen vývoj osevních ploch v ha v České republice.

Tab.1: Osevní plochy v ČR (ha) (Buchtová, 2020)

Zelenina	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Celer	306	294	335	342	330	431	375
Cibule	1 730	1 581	1 545	1 704	1 705	1 854	1 853
Červená řepa	-	-	-	-	158	204	213
Česnek	232	236	233	329	353	372	536
Hrách dřeňový	1 103	923	1 113	1 311	1 457	1 246	1 474
Kapusta	109	107	108	95	117	100	104
Kedlubny	154	173	199	194	174	208	188
Květák a brokolice	279	303	248	256	324	326	336
Mrkev	691	721	805	827	728	795	832
Okurky nakládačky	263	339	411	299	315	339	351
Okurky salátové	90	34	45	39	52	31	20
Paprika	-	-	-	-	293	282	277
Petržel	271	247	368	267	257	268	255
Pór	12	6	4	6	14	8	14
Rajčata	282	196	339	244	331	135	293
Ředkvičky	252	204	287	289	262	224	350
Saláty	176	142	152	589	506	452	451
Špenát	-	-	-	-	372	324	366
Zelí hlávkové*	1 139	1 130	1 214	1 093	935	977	1 090
Ostatní zelenina	2 122	2 556	2 795	2 354	1 770	2 091	2 094
Zelenina celkem	9 211	9 192	10 202	10 237	10 451	10 667	11 475

V roce 2012 se dle Českého statistického úřadu dovezla do České republiky zelenina za více než 10 miliard korun a pětina pocházela ze Španělska. Zhruba dvě třetiny zkonsumované zeleniny v České republice pochází ze zahraničí (Lapáčková, 2013). V roce 2019 bylo dovezeno do České republiky 587,8 tis. t zeleniny. Celkový objem dovozu čerstvé zeleniny ze zemí EU byl 89 %, kdy nejvíce zeleniny bylo dovezeno ze Španělska (132,0 tis. t), Nizozemska (108,5 tis. t) a Německa (82,3 tis. t). Dalšími zeměmi dovážející do ČR bylo Polsko (55,0 tis. t), Itálie (46,5 tis. t), mezi třetími zeměmi dováželo Maroko, Turecko, Albánie, Egypt, Brazílie a Čína. V roce 2020 od ledna do srpna bylo dovezeno celkem 429,4 tis. t čerstvé zeleniny a z EU pocházelo 388,6 tis. t. Největšími dovozci bylo Nizozemsko, Španělsko, Německo, Itálie a Polsko (Buchtová, 2020).

3.2 Obecná definice stresu

Obecně přijímaná stručná definice stresu neexistuje, aby byla dostatečně široká a zahrnovala mnoho reakcí na stresory bez všech fyziologických změn organismu (Shabala, 2017). Mnohé definice stresu se shodují v tom, že je to jakýkoliv faktor, který nepříznivě ovlivňuje organismus (Gaspar et al., 2002). Tyto definice mají také společně agronomické hledisko, že stres snižuje produkci rostlin a ovlivňuje tak produkci potravin (Shabala, 2017). Růst a vývoj rostlin ovlivňuje každá změna faktoru prostředí, ovšem každá odchylka od jeho optima nemusí představovat stres pro přizpůsobivou rostlinu, která je aklimatizovaná na prostředí (Gaspar et al., 2002).

Mezi abiotické stresory negativně ovlivňující růst a produktivitu rostlin řadíme např. sucho, zasolení, horko, chlad, rizikové kovy a oxidační stres. Tyto stresy mají za důsledek až 70% ztrátu výnosů hlavních základních plodin. Tyto stresory vedou ke změnám reakcí od fáze klíčení semen až po zralost a mohou způsobit ztráty růstu a produktivity rostlin. Abiotické stresory způsobují poškození membránové integrity, narušení enzymové aktivity, fotosyntetické účinnosti, vodních poměrů, příjmu a asimilace živin, osmotické deregulace a hormonální nerovnováhy (Khan, 2021).

Rostliny disponují strategiemi, které zmírňují vlivy stresů, které se projevují v rostlinách změnou genové exprese, modifikací buněčného metabolismu, rychlostí růstu a výnosu (Kacperska, 2004). Indikují mechanismy na molekulární a fyziologické úrovni, aby se přizpůsobily měnícímu se prostředí. Rostliny vyvolávají mechanickou nestabilitu, aby aktivovaly obranné mechanismy ke zmírnění abiotických stresů. Mají mechanismy na detekci stresů a signální přenosové cesty reagující na nepříznivé vlivy prostředí (Khan, 2021). Mezi prvními posly jsou toky iontů přes plazmatickou membránu a výbuch metabolismu kyslíku, při kterém vznikají reaktivní meziproducty kyslíku (superoxid, peroxid vodíku) (McDowell & Dangl, 2000). Signální molekuly, které reagují na stres, je oxid dusnatý, vápník a reaktivní formy kyslíku (ROS), které zprostředkovávají buněčné procesy během stresových podmínkách u rostlin (Khan, 2021).

Oxid dusnatý spouští základní dráhy reagující na stres. Vápník zprostředkovává iontovou homeostázu, aby se zvýšila tolerance rostlin k abiotickým stresům. Reaktivní formy kyslíku se hromadí a indikují produkci transkripčních faktorů reagujících na stres, mitogenem aktivované proteinkinázy a antioxidační enzymy k přežití rostlin v extrémních podmínkách (Khan, 2021).

Transdukční kaskády jsou složité události zahrnující několik vzájemně se ovlivňujících složek, které jsou potřebné pro počáteční rozpoznání signálu, jako jsou hormony a rozpuštěné látky. Kaskádu událostí nazýváme transdukce signálu, která působí prostřednictvím druhých poslů, jakými jsou podle Kaur & Gupta (2005) inositoltrifosfát, nebo to mohou být inositolpolyfosfáty, cyklická ADP ribóza, dinukleotidfosfát kyseliny nikotinové. Signální poslů spouští sled reakcí, které vedou k fyziologické odpovědi, a to často na základě modifikací genové exprese. Signální dráhy mohou fungovat nezávisle na sobě nebo modulovat jiné dráhy. Mohou také sdílet komponenty a druhé posly k dosažení svých cílů. Vzájemná závislost drah se nazývá crosstalk. Mnoho signálů může vzájemně spolupracovat (Kaur & Gupta, 2005).

Produkty genů indukovaných stresem dělíme na ty, které přímo chrání před stresem, což jsou proteiny fungující jako ochrana buněk před dehydratací a na skupiny genových produktů, kam se řadí transkripční faktory, proteinkinázy a proteiny, které se podílejí na syntéze osmoprotektiv a enzymy zapojené do metabolismu fosfoinositidů byly rozděleny do tří hlavních typů jako je signalizace osmotického/oxidačního stresu, ta využívá moduly mitogenem aktivované proteinkinázy, signalizace závislá na Ca^{2+} , která vede k aktivaci genů třídy dehydratačně citlivých prvků nebo na chlad citlivých transkripčních faktorů a signalizace závislá na Ca^{2+} , která vede k iontové homeostáze (Kaur & Gupta, 2005). Osmotické stresy vyvolávají toky vápníku s různou kinetikou a velikostí, což vede k vápníkovým signaturám,

kteře jsou specifické pro konkrétní stres a typ buňky (Boudsocq & Laurière, 2005). Osmotický stres způsobuje výrazné změny vodních potenciálů v prostředí, jeho hlavními příčinami je vysoká salinita a sucho. Osmotický stres narušuje normální buněčné činnosti a může způsobit až smrt rostlin (Xiong & Zhu, 2002). Oxidační stres je rovnováha mezi oxidační a antioxidační kapacitou a určuje osud rostliny. Antioxidační systém za nestresových podmínek poskytuje ochranu proti aktivnímu kyslíku a volným radikálům (Arora et al., 2002).

3.4 Příjem a transport toxických látek v rostlinách

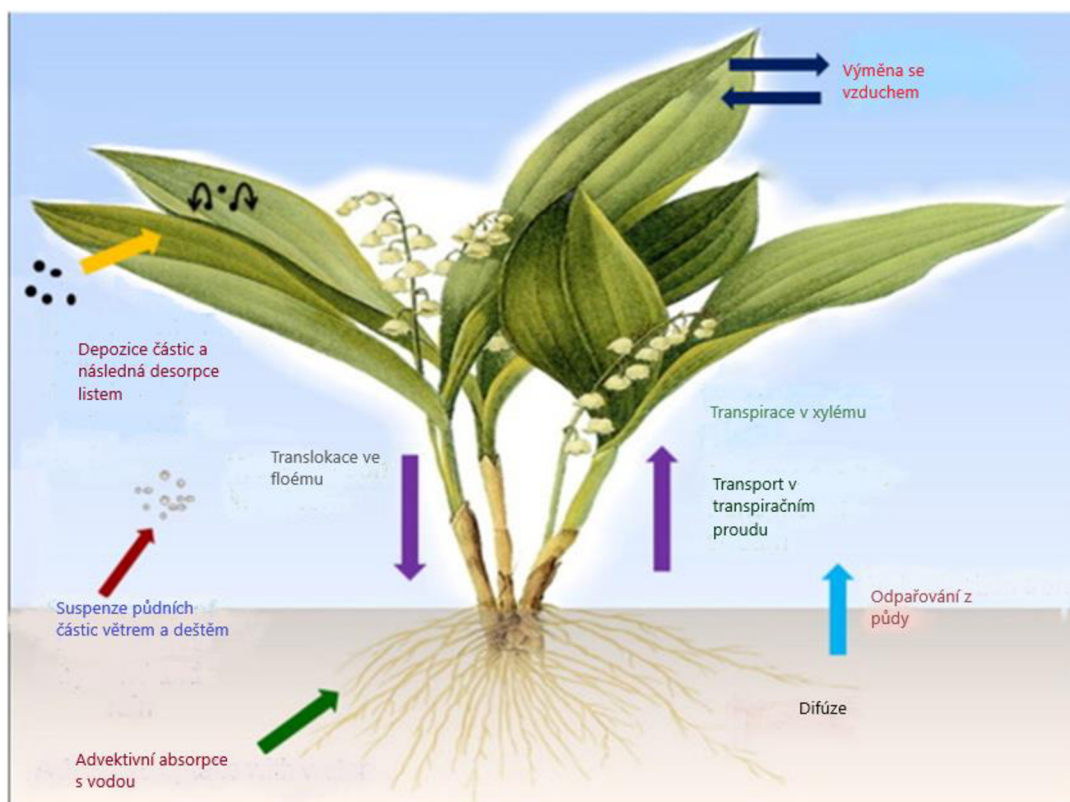
Rostliny přijímají toxické látky prostřednictvím membránových pump a přenašečů, kterými se přijímají také živiny kontaminantů (Adeel et al., 2017). Příjem antropogenních organických chemických látek kořeny je pasivní, ovšem příjem nějakých látek podobných hormonům (herbicidy s obsahem fenoxykyselin) může být aktivní prostřednictvím kořenového systému (Collins et al., 2006). Neiontové organické látky mají potenciál snadno procházet buněčnými membránami, a proto mohou být snadněji přijímány kořeny. Prouděním vody mají tyto látky tendenci být transportovány a mohou se tak hromadit v listech. Hydrofobní kontaminanty mají vyšší potenciál se rozdělovat do kořenových lipidů než hydrofilní (Adeel et al., 2017).

Příjem kontaminantů může ovlivnit pK_a kontaminantu (Adeel et al., 2017), což je negativní base-logaritmus disociační konstanty kyseliny roztoku (čím nižší hodnota, tím silnější kyselina) (Helmenstine, 2019), pH, iontová síla, biodegradace a sorpce. Příjem kontaminantů z půdy je také ovlivněn koncentrací v látek v půdních kapilárách, která může být ovlivněna pH půdy, organickým uhlíkem a REDOX potenciálem v kapilární vodě, to může ovlivnit pasivní příjem. Kontaminanty mohou být vázány na jíly, oxidy železa a na další látky. Na obr. 1 je zobrazeno schéma příjmu a transportu chemických látek z půdy. Vyplývá z něj, že kontaminanty mají tendenci být z kořenů transportovány do listů, kde se následně hromadí (Adeel et al., 2017).

Voda s rozpuštěnými látkami se v rostlině přesouvají z kořene xylémem vzhůru do ostatních částí rostliny hmotnostním tokem díky tlakovému gradientu, který se vytváří během transpirace. Kontaminanty se do xylému dostávají přes epidermis, kůru, endodermis a pericykl, kdy v endodermis musí látky projít buněčnou membránou. Jejich rozpustnost ve vodě a v buněčné membráně ovlivňuje jejich potencionální pohyb do kořenů a pozdější transport do dalších částí rostliny. Roztok v xylému může difundovat laterálně do okolních vrstev. V důsledku vyrovnání vodné fáze a rozdělování do lipofilních pevných látek může být koncentrace kontaminantů ve výhonicích rostlin vysoká. Jejich koncentraci ovlivňuje také rychlost příjmu kořeny, koncentrace lipofilních pevných látek a transpirační proud (Adeel et al., 2017).

Kontaminanty přijímané listy musí nejdříve projít stomaty nebo epidermis. Stomaty se dostávají do rostlin jak plyny, tak kapaliny. Většina toxických látek se dostává do listů ve formě roztoků jako jsou např. pesticidy a kapalné aerosoly. Kapaliny s napětím menším než 30 dyne/cm mají konstantní kontaktní úhel s povrchem listu a okamžitě pronikají do průduchu

rostliny a kapaliny s vyšším napětím než 30 dyne/cm pronikají do průduchů bez zvlhčení listu. Voda má napětí 72,5 dyne/cm, narozdíl od ethanolu, který má napětí 22 dyne/cm (Kvesitadze et al., 2009).



Obr.1: Příjem a transport chemických látek z půdy, upraveno dle Adeel et al. (2017)

3.5 Léčiva v půdě

Vzhledem k rostoucí světové populaci a vyšší průměrné délce života se léčiva neustále uvolňují do životního prostředí. Do prostředí se mohou léčiva dostávat z odpadních vod nebo při nevhodné likvidaci odpadů (Rede et al., 2019). Množství reziduí léčiv v odpadních vodách se pohybuje v ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$ (Zhou et al., 2009). Nejčastěji detekovanými léčivy jsou antibiotika a analgetika, ale množství léčiv v odpadních vodách je závislé na zemi (Patel et al., 2019). Odstraňování těchto látek v čistírnách odpadních vod je neúplné, takže se dostávají do vodního prostředí, čímž se mohou dostat i do pitné vody. Také se mohou dostat do půdy statkovými hnojivy nebo deštěm, kdy voda odtéká a může se tak dostat do pozemních a podzemních vod (Rede et al., 2019). Rozsah účinnosti odstranění např. acetaminofenu se pohybuje mezi 96–100 %, u ibuprofenu 65–100 %, u kyseliny salicylové 82–99 %. Odchytky účinností odstranění farmaceutik nejsou zcela objasněny, ale bylo zjištěno, že jejich odstraňování během biologického čištění ovlivňují fyzikálně-chemické vlastnosti společně s faktory provozních parametrů zařízení jako je teplota, rychlost rozkladu sloučenin, redoxní podmínky, doba zdržení kalu a hydraulický retenční čas (Gros et al., 2010).

Karbamazepin, atenolol, metoprolol a trimetoprim jsou pouze částečně odstraněny v odpadních vodách, u většiny z nich je to méně než 10 %. Jiná léčiva (např. ibuprofen) se mohou uvolňovat v modifikované formě jako hydrolyzovaná nebo konjugovaná (Hernando et al., 2006).

Analgetika, nesteroidní protizánětlivé léky a antibiotika jsou nejčastěji předepisované či volně prodejné léky (např. paracetamol, ibuprofen a amoxicilin). Léčiva mohou mít potencionálně toxické účinky na necílové organismy (Rede et al., 2019). Léčiva mohou mít vliv na výnos a kvalitu plodin (Svobodníková et al., 2019). Farmaceutika související s nervovým systémem mohou mít vliv např. na vodní organismy, kdy mohou měnit jejich reprodukční vzorce. Tetracyklické antidepresivum, mianserin, mělo u zebřiček estrogenní aktivitu a způsobovalo endokrinní poruchy. Fyziologické systémy mohou taková léčiva ovlivňovat již v nízkých procentech (Calisto & Esteves, 2009). Léčiva nemají akutní toxické účinky na vodní organismy vzhledem k jejich nízkým koncentracím, ovšem vzhledem k jejich neustálému dodávání do prostředí působí jako pseudopersistentní polutanty, takže mohou vykazovat menší účinky. Vzhledem k těmto vlastnostem léčiv zůstává jejich ekotoxikologický potenciál téměř neznámý (Vymazal et al., 2017).

V půdě farmaceutika podléhají sorpci, biotickým a abiotickým procesům, což může ovlivnit koncentrační hladiny léčiv dostupných pro kořeny. V hlubších částech půdy vzhledem k nedostatku slunečního záření prakticky neprobíhá fotolýza, která tak nehraje roli v rozkladu léčiv. Podléhají tak hydrolýze a oxidačním procesům, díky kterým vznikají nevyměnitelné nebo vázané zbytky léčiv, které jsou biologicky méně dostupné (Wieczerek et al., 2018).

Farmaceutická frakce dostupná rostlinám se může lišit v závislosti na mikrobiálním složení (Wieczerek et al., 2018). Enzymy fáze II mají důležitou roli při biotransformaci endogenních sloučenin a xenobiotik na snadněji vylučitelné formy během metabolické inaktivace farmakologicky účinných látek, účelem biotransformace jsou konjugační reakce (Jancova et al., 2010). Léčiva ve formě metabolitů druhé fáze mohou být působením mikroorganismů dekonjugovaná, čímž se zvyšuje množství léčiv v půdě. Rostliny přijímají léčiva kořeny v důsledku difuze nebo hmotnostních toků (Wieczerek et al., 2018). Neutrální léčiva (pH neutrální) např. karbamazepin a orlistat (Carter et al., 2016) mohou pronikat přes membrány kořenových buněk. Kombinací difuzních procesů a elektrostatických interakcí pronikají do rostlinných pletiv ionizovatelné sloučeniny (Wieczerek et al., 2018).

Rezidua léčiv dodaná z odpadů se mohou hromadit v půdě a vodě v koncentracích od nanogramů na litr a mikrogramů na litr, kdy mohou být toxické pro rostliny. Ve většině zemí nejsou takovéto polutanty pravidelně monitorovány. Existuje však několik mezinárodních programů, jako je třeba Evropská agentura pro léčivé přípravky, která zkoumá jednotlivá léčiva (Wieczerek et al., 2018).

V České republice mají všechny vodní zdroje dodávající vodu ročně nad 10000 m³ povinná ochranná pásma se zvláštním režimem hospodaření k ochraně kvality vody, i některé menší zdroje mají stanovená ochranná pásma. Čistírný vod v České republice používají koagulaci, pískovou filtraci a chloraci, ale ne všechny používají pokročilý proces prvotní

separace jako je třeba flotace, ozonizaci nebo granulované aktivní uhlí. Tyto procesy úpravy vody mohou snížit koncentrace některých léčiv (Kozisek et al., 2013).

V České republice není mnoho údajů k dispozici o výskytu léčiv v životním prostředí, proto se stěží odhaduje, jak moc je životní prostředí léčivly zasaženo. Lze však usuzovat dle výskytu převážně horních toků řek, že je na tom Česká republika se znečištěním lépe než ostatní státy EU (Kotyza et al., 2009).

3.5.1 Diklofenak

Sodná sůl diklofenaku je účinnou látkou přípravku Voltaren. Má antipyretické, analgetické a protizánětlivé účinky (Scholer et al., 1986). Odhadem se ročně spotřebuje cca 940 t diklofenaku. Jedná se o volně prodejné léčivo (Lonappan et al., 2016). Diklofenak byl zjištěn v mnoha odpadních vodách z čistíren odpadních vod a v biosložkách. Výtěžnost eliminace diklofenaku se u konvenčních metod čištění odpadních vod pohybuje mezi 30 a 70 % (Wieczerzak et al., 2018). Dostává se do půdy čistírenskými kaly nebo z těl, výkalů a moči hospodářských zvířat. Zřejmě má nejvyšší akutní úroveň toxicity mezi nesteroidními antiflogistiky. U rostlin podle např. Sathishkumar et al. (2020) může způsobovat cytotoxicitu i genotoxicitu. Toxicita diklofenaku není dostatečně známá u rostlin. Diklofenak je méně toxický se střední perzistencí. V půdách s vyšším obsahem organických hmot se adsorbuje do půdy, kdy vykazuje odolnost vůči aerobní a anaerobní degradaci. Tím se může dostat do podzemních vod a způsobovat tak kumulované toxické účinky (Lonappan et al., 2016).

Diklofenak má nižší mobilitu v zemědělských půdách s vyšším obsahem organických látek. Vyšší mobilitu má ve vodách, takže se snadno vyplavuje do podzemních vod a dále do pitné vody (Lonappan et al., 2016).

Copolovici et al. (2017) zkoumali vliv diklofenaku na *Phaseolus vulgaris* L. a zjistili, že diklofenak negativně ovlivňuje asimilaci a stomatální vodivost, což naznačuje, že potenciál fotosyntetické aktivity se snižuje. U listů rostlin ošetřených diklofenakem se snižuje koncentrace chlorofylu a a b, ovšem koncentrace pod 1 mg/l nemají vliv na tyto barviva, za to koncentrace nad 0,1 g/l mají. Přítomnost diklofenaku ovlivňuje β -karoteny v listech, které mají normálně důležitou roli ve fotoprotekci fotosyntetického aparátu, ale za přítomnosti diklofenaku se jejich funkce neprojevuje zcela jasně.

3.5.2 Paracetamol

Paracetamol je známý jako 4-acetaminolfenol. Skládá se z jádra benzenového kruhu substituovaného jednou hydroxylovou skupinou a dusíkovým atomem amidové skupiny v para (1,4). Je to volně prodejné a hodně používané analgetikum, například v Anglii se zařazuje mezi tři nejvíce předepisované léky. Používá se při horečce, bolestech hlavy a jiných bolestech (Wu et al., 2012).

Ze 75 % se vylučuje ve formě konjugátů a zbytek v původní látce. Průměrná koncentrace paracetamolu ve vodním prostředí je 246 $\mu\text{g/l}$ (Hájková & Kummerová, 2014). Negativní účinky paracetamolu se mohou objevovat díky neustálému uvádění do životního prostředí, a tak převážit jeho vysokou míru transformace. Při odbourávání paracetamolu v

půdách hrají hlavní roli mikroorganismy. Paracetamol je vysoce rozpustný a hydrofilní, proto se snadno hromadí ve vodním prostředí. Byl tak zjištěn v povrchových vodách, pitné vodě a odpadních vodách. Z velké části je eliminován čistírnami odpadních vod, ale vzhledem k vysokému užívání paracetamolu je nutné věnovat tomuto léku pozornost (Wu et al., 2012). Čistírny odpadních vod odstraňují až 95 % paracetamolu (Hájková & Kummerová, 2014).

V současné době se odpadní vody upravují oxidačními procesy. Ovšem tyto procesy jsou finančně náročné a vznikají jimi nežádoucí sekundární znečišťující látky. Lepší způsobem je tak biodegradace léčiv, která je nízkonákladová a ekologicky přijatelná. Mikroorganismy si vytvořily účinné strategie pro přístup k paracetamolu jako zdroji uhlíku a energie. Tyto mikroorganismy jsou tak schopni rozkládat paracetamol a přeměňovat na snadno metabolizovatelné substráty (Wu et al., 2012).

Podle Kummerové et al. (2016) měl paracetamol vliv na *Lemna minor* takový, že ovlivňoval biochemické procesy v rostlině tvorbou ROS a RNS, což vede k peroxidaci lipidů, ztrátě integrity plazmatické membrány a změnách v antioxidačních systémech. Účinky paracetamolu sledoval i Kudrna et al. (2020), kdy zjistili, že u rostlin salátu má jeho chronické působení vliv na fluorescenci chlorofylu. Vysoké koncentrace (5 mM) měly také vliv na rychlost fotosyntézy.

3.5.3 Ibuprofen

Ibuprofen je nesteroidní protizánětlivý lék. Používá se k léčbě bolesti, horečky, nachlazení, zánětu, migrény a ke snížení proliferace buněk lidského karcinomu prostaty. Celosvětově bylo v roce 2019 spotřebováno okolo 44 347 tun ibuprofenu. Vzhledem k narůstajícímu obyvatelstvu a většímu užívání tohoto léku vede k nárůstu jeho obsahu v odpadních vodách (Wijaya et al., 2020).

Čistírny odpadních vod mohou odstranit až 80 % ibuprofenu, avšak i přes to zůstává v odpadních vodách jeho značné množství. Opakovaným používáním odpadních kalů a regenerované vody dochází ke kumulaci ibuprofenu v zemědělských oblastech (Wijaya et al., 2020).

V nezměněné formě se vylučuje močí a tím se dostává do životního prostředí. Je to jeden z nejčastěji nalézáných léčiv v životním prostředí a objevuje se v nejvyšších koncentracích (González-Naranjo et al., 2013). Ve východní Evropě se pohybuje jeho koncentrace okolo 0,183 µg/l a maximální zjištěná koncentrace je okolo 11,7 µg/l. V západní Evropě se pohybuje v koncentracích okolo 0,097 µg/l s maximem okolo 303,0 µg/l (aus der Beek et al., 2015). Ibuprofen je ve větší míře metabolizován, 15 % vyloučeného ibuprofenu je ve volné nebo konjugované formě (Vulava et al., 2016).

Ibuprofen může podléhat mikrobiálnímu rozkladu v povrchové vrstvě půd, ale vzhledem ke slabé adsorpci a krátké době zdržení se může snadno pohybovat do spodních vrstev půd. Takto může docházet ke znečištění podzemních vod v závislosti na půdních vlastnostech, jako je pH půdy, obsah organické hmoty nebo jílových částic. Transport ibuprofenu je řízen adsorpčně-desorpční rovnováhou (González-Naranjo et al., 2013).

Pomati et al. (2004) uvádí, že ibuprofen inhiboval růst *Lemna minor* ve všech testovaných koncentracích a nejsilnější účinek byl vyzorován při koncentraci 1000 µg/l, což odpovídalo 25 % snížení oproti kontrolním hodnotám. Koncentrace 1 µg/l neměla v prvních pěti dnech testu žádný negativní vliv na růst.

Marsik et al. (2017) zjistili na *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., že buňky vyšších rostlin byly schopné přeměňovat ibuprofen na oxidované a dealkylované metabolity, které jsou poté konjugovány s cukrem, aminokyselinami, methylovými částmi nebo jsou vázány na struktury buněčné stěny.

3.5.4 Antibiotika

Jsou to biologicky aktivní molekuly, které se používají k léčbě nebo kontrole bakteriálních, plísňových a protozoálních infekcí. Používání antibiotik se zvýšilo vlivem léčby infekcí. Nejstaršími chemicky syntetizovanými molekulami antibiotik jsou sulfonamidy, které byly vyvinuty ve třicátých letech dvacátého století. Deriváty sulfonamidů se běžně používají po celém světě a většina se využívá jak v humánní, tak ve veterinární medicíně. Používání antibiotik je přibližně pětkrát větší pro veterinární účely než v humánní medicíně (Minden et al., 2017).

Až 90 % antibiotik se vylučuje výkaly, jelikož se antibiotika ve střevě špatně vstřebávají. Do zemědělské půdy se tak dostávají organickým hnojivem (Cheong et al., 2020). Některá antibiotika jsou v hnoji a půdě vysoce stabilní, takže mohou být zjištěná i rok po aplikaci a některá mohou přetrvávat v půdě i více let (Minden et al., 2017). Tyto kontaminanty poté ovlivňují mikrobiální život v půdě, protože se v ní hromadí a narušují tak struktury společenstev a populace, které jsou závislé na odolnosti proti antibiotikům (Cheong et al., 2020). Antibiotika se z půd mohou dostat do příkopů, potoků, řek a do podzemních vod (Minden et al., 2017).

Nařízení EU č. 2019/6 o veterinárních léčivých přípravcích preventivně zakazuje používání antibiotik u skupin zvířat, používání antimikrobiálních látek v medikovaných krmivech a posiluje zákaz používání antimikrobiálních látek na podporu růstu a zvýšení užitkovosti. Toto nařízení má platnost od 28. ledna 2022 (EUR-Lex, 2019).

Antibiotika mohou narušit růst a vývoj rostlin, není však objasněno, jak antibiotika v půdě působí na rostliny fyziologicky a biologicky. Antibiotika však mohou kontaminovat plodiny a ohrozit tak lidské zdraví (Cheong et al., 2020). Reakce rostlin mohou být závislé na dávce antibiotik, kdy může být zvýšený růst při nižších a při vyšších mohou mít toxické účinky. Antibiotika jsou nejvíce akumulována v kořenech a nejvíce je ovlivňují. Ovlivňují negativně délku, prodlužování kořenů a počet postranních kořenů, což má za následek horší příjem vody rostlinou (Minden et al., 2017).

Antibiotika mohou měnit produkci biomasy, způsob větvení, počet listů, délku výhonů a internodií, poměr nadzemní a podzemní části, čerstvou a suchou hmotnost. Mezi fyziologické znaky, které jsou antibiotiky ovlivněny jsou podle Minden et al. (2017) rychlost

fotosyntézy a transpirace, aktivita chloroplastové syntázy, stomatální vodivost a syntéza kyseliny abscisové.

3.5.5 Karbamazepin

Karbamazepin je antikonvulzivum první generace, které se používá k léčbě parciálních záchvatů, neuralgie trigeminu, maniodepresivních onemocnění a explozivní agrese. Je to jedna z nejčastěji detekovaných sloučenin v životním prostředí. Účinnost odstraňování rozkladnými nebo retenčními procesy v čistírnách odpadních vod je velmi nízká, toto může být ovlivněno odolností vůči biologickému rozkladu. Koncentrace karbamazepinu se v životním prostředí pohybují od 30 ng L⁻¹ v pitné vodě až 6,3 µg/l v odpadních vodách (Arye et al., 2011).

Nezměněný karbamazepin vylučovaný močí nepřesahuje 2 % celého relativního podílu absorbované dávky, vylučuje se však společně s četnými metabolity, kterých je více než 30. Tím se dostává karbamazepin do odpadních vod, které jsou následně vypouštěny do prostředí. Zejména v suchých a polosuchých částech světa jsou odpadní vody používány k zavlažování (Fenet et al., 2012).

Zhang et al. (2021) zkoumali účinky karbamazepinu na *Basella alba* L a zjistili, že při příjmu byly kořeny vystaveny oxidačnímu stresu, který se později objevil i u stonků. Byl zaznamenán určitý stupeň buněčného poškození, zvýšilo se H₂O₂ a MDA (markery fyziologického stresu) v kořenech a stoncích, ale nejednalo se o velké poškození, což naznačuje, že karbamazepin nemusí mít významnou fytotoxicitu.

3.5.6 Estrogeny

Estrogeny jsou biologicky aktivní hormony. Jsou odvozeny od cholesterolu a uvolňovány kůrou nadledvin, vaječníky, placentou a varlaty u lidí a zvířat. Estrogenní látky se nachází i v rostlinách. Jsou to přírodní nebo syntetické hormony (Adeel et al., 2017).

V životním prostředí se steroidní hormony humánního a živočišného původu nachází v nanogramech na litr. Estron a 17β-estradiol fyziologicky ovlivňují ryby a další druhy vodních obratlovců v nízkých koncentracích. Jako hlavní zdroj estrogenů a estrogen-sulfátů na zemědělských půdách ve venkovském prostředí se považuje hnůj. Estrogen-sulfáty negativně ovlivňují endokrinní systém prostřednictvím dekonjugace (Goepfert et al., 2014).

V městských oblastech jsou hlavním zdrojem hormonů v životním prostředí odpadní vody. Čistírenské technologie hormony společně s jejich konjugáty plně neeliminují. Nekonjugované a volné estrogeny jsou málo rozpustné ve vodě. Populace okolo 7 miliard lidí vypouští do životního prostředí přibližně 30 000 kg/rok přirozených steroidních estrogenů a přibližně 700 kg/rok syntetických estrogenů pocházejících z hormonálních antikoncepcí. Uvolňování estrogenů hospodářskými zvířaty může být více než dvakrát vyšší než lidské (Adeel et al., 2017).

Steroidní estrogeny mají krátké poločasy rozpadu. Jsou hydrofobní, takže jejich koncentrace ve vodné fázi klesá. Syntetický estrogen je v systému podzemních vod perzistentnější než přírodní. Oxidační stav prostředí má vliv na poločas rozpadu a degradaci, kdy v anaerobní půdě je degradace pomalejší než v aerobní. Relativní redoxní stav může také

ovlivňovat rychlost degradace estrogenů. *Rhodococcus zopfii* a *Rhodococcus equi* dokážou estrogenní sloučeniny zcela rozložit na neškodné produkty (Adeel et al., 2017). Mikrobiální degradace se zdá jako jeden z nejčastějších mechanismů pro rozklad estrogenů. Jsou převážně odstraňované biologickými procesy (Combalbert & Hernandez-Raquet, 2010). Další faktory v životním prostředí, které mohou ovlivnit degradaci estrogenů je hydrofobní rozdělení, kovalentní vazba, výměna ligandů a migrace do mikrositů na půdních částicích. Degradace může být také ovlivněna koncentrací organických kontaminantů absorbovaných na půdních částicích. Ve vodním prostředí jsou náchylné na rozklad fotokatalýzou a fotolýzou, které závisí na chemické struktuře estrogenu (Adeel et al., 2017).

Dle studie D'Abrosca et al. (2008) neměl ethinyl estradiol vliv na klíčení *Daucus carota*, měl však od koncentrace nad 1 mM stimulační účinek na růst kořenů. Ethinyl estradiol byl fytotoxický pro salát a rajče až do koncentrace 1 mM. Tato látka vykazovala u vybraných volně rostoucích rostlin (*Amaranthus retroflexus* L., *Avena fatua* L., *Chenopodium album* L., *Lolium perenne* L., *Taraxacum officinale* G. H.) ze středomořských ekosystémů malý inhibiční účinek. Ethinyl estradiol měl u těchto rostlin stimulační účinky při nižších koncentracích a byl méně fytotoxický.

3.6 Pesticidy a jejich rezidua

Pesticidy jsou chemické látky na ochranu rostlin. Zahrnují několik skupin sloučenin jako jsou organochlorové, organofosfátové, karbamátové, pyretroidní, růstové regulátory, neonicotinoidy a nyní také biopesticidy. Tyto sloučeniny mají různý toxický vliv a působnost na organismy (Carvalho, 2017). První syntetické pesticidy se používali ve 40. letech 20. století a tím se zvýšila produkce potravin (Van der Werf, 1996).

Pesticidy se v průběhu minulého století staly důležitou součástí světových zemědělských systémů, aby se zvýšil výnos a produkce potravin. Zvýšil se prodej pesticidů, avšak nejvíce u herbicidů, insekticidů a fungicidů. Celosvětová produkce pesticidů se zvýšila přibližně o 11 % ročně od 50. let 20. století z 0,2 milionů tun na více než 5 milionů tun v roce 2000 (Carvalho, 2017).

Organochlorové sloučeniny jsou velmi účinné kontaktní insekticidy a působí na příslušný hormonální receptor. Organofosfáty jsou většinou insekticidy a karbamáty jsou většinou herbicidy a fungicidy, ty působí jako inhibitory acetylcholinesterázy a způsobují narušení přenosu nervového impulzu na synaptické úrovni. Pyretroidy jsou insekticidy a působí na napěťové řízené sodíkové kanály a narušují tak tok Na⁺ iontů. Neonicotinoidy jsou insekticidy, které jsou neurotoxické a působí na nervový systém hmyzu, to vede k paralýze a smrti (Carvalho, 2017). Neonicotinoidy (klothianidin, thiamethoxam, imidaklopid) byly zakázány na venkovní používání Evropskou komisí v roce 2018 z důvodu, že mají negativní vliv na včely a čmeláky. Česká republika požadovala, aby byla udělena výjimka pro cukrovou řepu (Veselý, 2018). V roce 2021 Evropský úřad pro bezpečnost potravin rozhodl, že v 11 členských státech budou udělena mimořádná povolení pro pěstitele cukrové řepy, kde bude možné

použití produktů s neonikotinoidy. Mezi tyto státy určila Belgie, Chorvatsko, Dánsko, Finsko, Francii, Německo, Litvu, Polsko, Rumunsko, Slovensko a Španělsko (KM EFSA, 2021).

Toxické působení pesticidů se neomezuje jen na cílové organismy, ale také na necílové podobné organismy. Toto omezuje biologickou rozmanitost a stabilitu ekosystémů. Organofosfáty jsou obecně toxické pro členovce, ovlivňují nejenom hmyz, ale také krevety, kraby, další korýše, a také obratlovce. Pyrethroidy mají vliv na hmyz i obratlovce. Mnoho sloučenin používaných jako herbicidy mohou účinkovat i na centrální nervový systém a vylučovací soustavu savců (Carvalho, 2017).

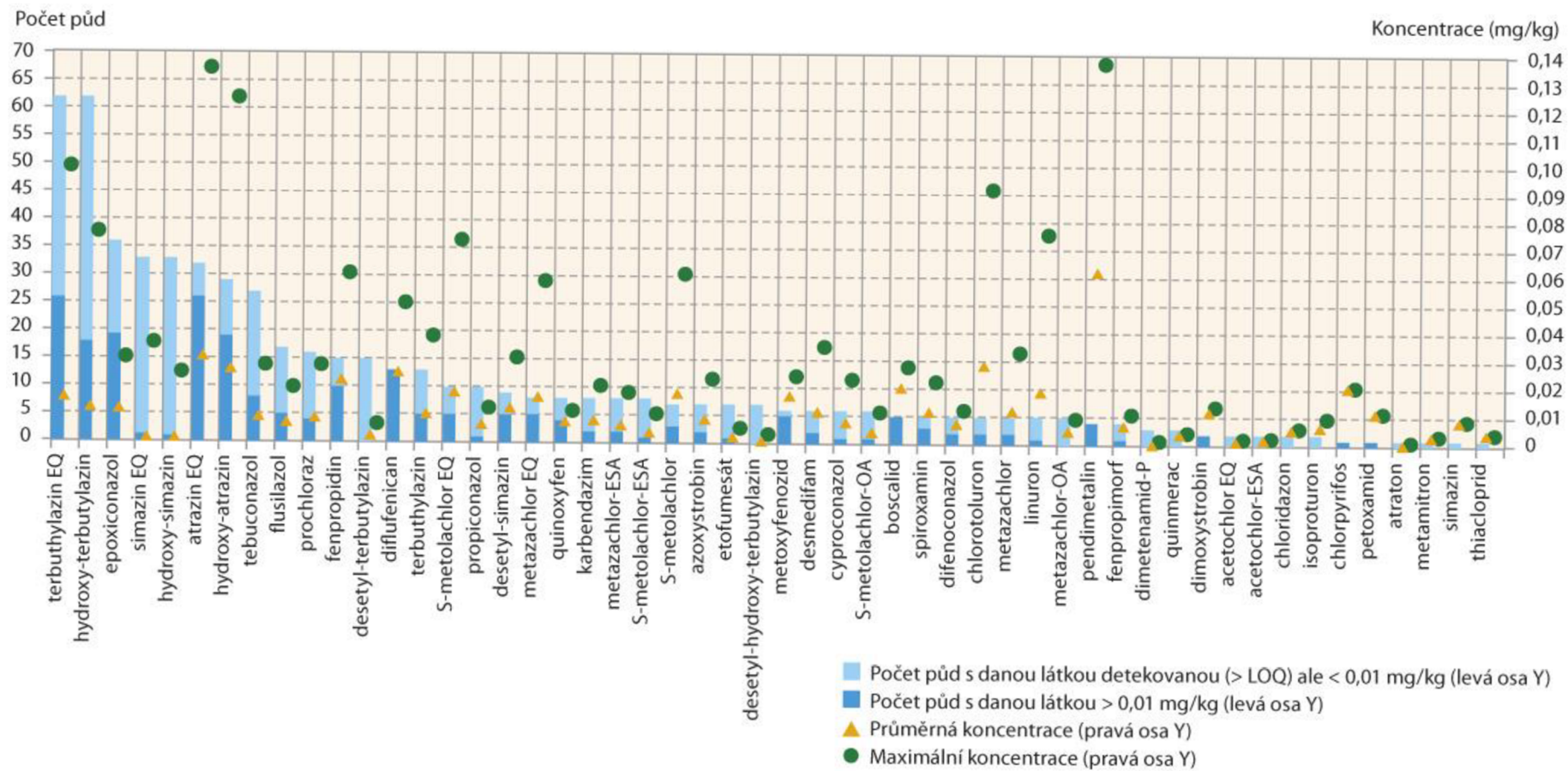
Byly zavedeny termíny volná a vázaná rezidua s tím, že volná rezidua se dají snadno extrahovat z půdy bez změny chemické struktury, zatímco vázaná jsou vůči takovéto extrakci odolná. Rozdíl mezi nimi není vždy jasný, protože rezidua nacházející se v půdě nejsou zcela prostá jakékoliv formy vazby. Extrahovatelná frakce může být v půdě sorbována na pevné fáze půdy a tím se může snížit biologická dostupnost a rozklad. Význam vázaných reziduí závisí na jejich biologické přístupnosti. Biologicky dostupnými se tak rozumí sloučeniny, které jsou v půdě přístupné rostlinám či živočichům (Gevao et al., 2000).

Při dlouhodobějším kontaktu mezi chemickou látkou a půdou se může chemická látka vázat více na půdní složky, tím dochází ke snižování biologické dostupnosti a extrahovatelnosti mírnějšími způsoby. Mohou se také tvořit pevnější vazby s delším setrváním v půdě nebo fyzikálním zachycením v organické hmotě nebo minerální mřížce, přes tvorbu kovalentních vazeb mateřských sloučenin nebo tvorbu jejich degradačních produktů (Gevao et al., 2000).

V současné době se používá velké množství pesticidů s různými fyzikálně-chemickými vlastnostmi a s různým chemickým složením. Fyzikálně-chemické vlastnosti ovlivňují chování pesticidu v půdě a jeho biologickou aktivitu. Mezi klíčové vlastnosti lze zařadit velikost molekul, ionizovatelnost, rozpustnost ve vodě, lipofilitu, polarisabilitu a těkavost. Obecně platí, že jedna nebo dvě vlastnosti mají dominantní vliv (Gevao et al., 2000).

Adsorpce látek je nejdůležitějším způsobem interakce pesticidů s půdou a řídí jejich koncentrace v kapalně fázi půdy. Rozsah adsorpce závisí na vlastnostech půdy a sloučeniny, takovéto vlastnosti jsou velikost, konfigurace, molekulární struktura, chemická funkce, rozpustnost, polarita, polarizovatelnost, rozložení nábojů interagujících druhů a acidobazickou povahu molekuly pesticidu. Adsorpce může být fyzikální nebo chemické povahy. Ke zvýšení perzistence reziduí v půdě a ztrátě chemické identity dochází reakcemi mezi nezměněnými pesticidy a jejich metabolity, z čehož vznikají stabilní chemické vazby. Vazba xenobiotik na humus vede ke snížení biologické dostupnosti, snížení toxicity sloučeniny a imobilizaci sloučeniny, díky čemuž se snižuje její vyplavování a transport (Gevao et al., 2000).

Rezidua mohou negativně ovlivňovat klíčení a růst plodin. Pokud je krátký časový odstup od předplodiny, u které byl herbicid použit, tak mohou být následné plodiny výrazně poškozeny. Na problematických půdách mohou rezidua ovlivňovat plodiny až dva roky po použití (Jursík & Soukup, 2022).



Graf 1: Množství pesticidů v 75 orných půdách (Hofman et al., 2018)

V České republice se uskutečnila analýza orných půd za účelem zjištění výskytu reziduí v půdách. Bylo analyzováno 75 půd na přítomnost 53 používaných pesticidů a 15 transformačních produktů. Mezi nejčastěji nalezenými rezidui byly triazinové herbicidy, které byly v 89 % půd, konazolové fungicidy (73 % půd), pod 50 % procent to byly chloroacetanilidové herbicidy, fenpropidin a diflufenikan. V půdách byl i častý výskyt variabilních směsí reziduí pesticidů (Vašíčková et al., 2019).

3.7 Toxické kovy

Pro rostliny jsou některé přechodné kovy nezbytné, jedná se o vanad, chrom, mangan, železo, kobalt, nikl, měď, zinek a molybden. Při nadbytku se tyto přechodné kovy mohou stát toxickými. Redoxně aktivní ionty se mohou účastnit Haberovy-Weissovy a Fentonovy reakce, a tak vyvolávat tvorbu hydroxylových radikálů. Nekontrolovaná vazba na funkční skupiny v biologických molekulách obsahující dusík, kyslík a síru může způsobit inaktivaci a poškození. Rozmezí mezi toxicitou a nedostatkem přechodných kovů je velice úzké (Clemens, 2006).

K prvkům vyššího řádu, které se nestaly esenciální pro rostliny během evoluce, vzhledem k pravděpodobnému nižšímu množství v zemské kůře, mezi takovéto prvky se zařazuje kadmium, arsen a selen. Tyto kovy se nazývají neesenciální a jsou potencionálně vysoce toxické pro rostliny (Clemens, 2006). Mezi tyto prvky řadíme olovo, kadmium, rtuť, arsen, chrom, měď, selen, nikl, stříbro, zinek (Kushwaha et al., 2018)

Toxické kovy negativně ovlivňují růst rostlin, počet, rozmanitost a aktivitu půdních organismů, inhibují rozklad organické hmoty a mineralizace dusíku. Toxicita těchto kovů vyplývá z jejich chemické formy, přítomnosti dalších chemických látek, které mohou toxicitu kovů zhoršovat nebo zmírňovat. Stav živin a pH v kontaminované půdě ovlivňují reakci rostlin na kovy (Wong, 2003).

Z atmosféry rostliny přijímají kovy v malém množství, proto je významný obsah kovů v půdě a ve vodě. Industrializace ovlivnila množství toxických kovů, jejichž emise enormně vzrostly. Hlavními zdroji emisí v ovzduší je spalování fosilních paliv, těžba a výroba kovů (Clemens, 2006). Ke kontaminaci může docházet i atmosférickou depozicí, korozí kovů, půdní erozí kovových iontů, vyluhováním, odpařováním z vodních zdrojů a resuspenzí sedimentů (Tchounwou et al., 2012).

V půdě jsou zdroji toxických kovů, kromě z kovů z atmosféry, zbytky popela ze spalování uhlí a likvidace komerčních produktů na půdě. Ve vodních ekosystémech pocházejí kovy především z atmosféry, hutí na kovy, spalování uhlí a ukládání kalů z čistíren odpadních vod, proto převyšují emise z přírodních zdrojů. V důsledku mobilizace kovů do biosféry se zvýšil jejich koloběh vodou, půdou a vzduchem (Clemens, 2006).

Specifikace a mobilita kovů závisí na jejich procesech vázání v půdě. To se liší podle složení půdy, půdní reakce a redoxních podmínek. Kovy mohou tvořit různé druhy, jejichž vznik závisí na jejich vazbě s půdními sloučeninami, reaguujícími povrchy nebo na vazebná místa s různou vazebnou energií (Kushwaha, 2018).

3.7.1 Kadmium

Obsah kadmia v neznečištěné půdě se pohybuje od 0,1 - 2 ppm, nejčastěji pod 1 ppm. Kontaminace kadmia pochází z těžby, hutnictví, spalování paliv, čistírenských kalů a fosfátových hnojiv. Pro rostliny je k dispozici zlomek celkového množství kadmia. Rozpuštěné kadmium v půdě je v roztoku je ve volných hydratovaných iontech a komplexech organických nebo anorganických ligandů. Jeho množství se pohybuje od nízkých po vysoké nanomoly. Množství dostupných frakcí kadmia ovlivňuje pH a obsah organické hmoty (Clemens, 2006). V půdě se v přirozených podmínkách pohybuje jeho obsah mezi 0,01 až 1,1 mg.kg⁻¹, v České republice je běžný obsah kadmia 0,2 – 1,5 mg.kg⁻¹. Nejvíce se akumuluje ve vrchních vrstvách půdy od 0 do 5 cm a s hloubkou jeho obsah klesá (Richter, 2004).

Kadmium je vysoce toxické pro živé organismy a člověka. Toxicita kadmia ovlivňuje více orgánů lidského těla, neboť do něj velmi dobře vstupuje. Kumuluje se však nejvíce v ledvinách a v mozku. Způsobuje závažná poškození. V minerálech nahrazuje kadmium vápník vzhledem k tomu, že má stejný náboj a chemické vlastnosti (Haider et al., 2021).

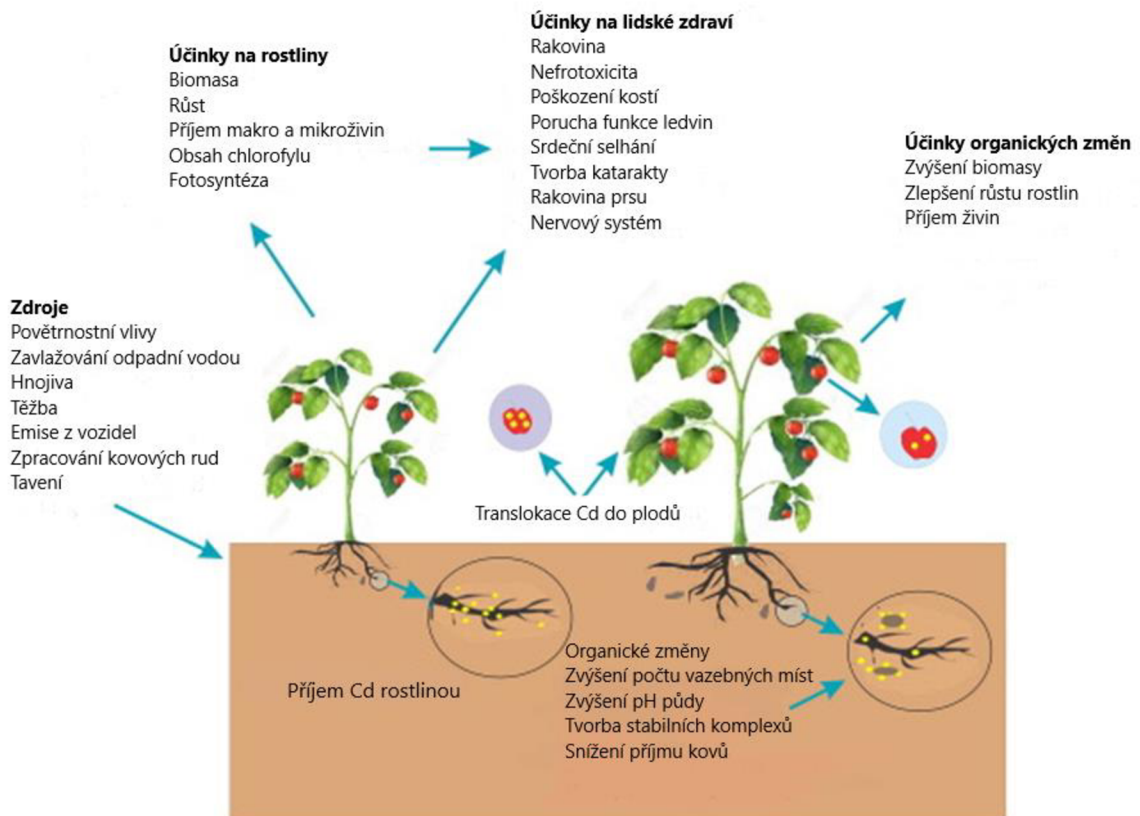
Absorpce kadmia přes plazmatickou membránu buněk kořenů je regulována elektrochemickým rozdílem potenciálů mezi aktivitou kadmia v cytosolu a apoplastu. Když je kadmium v nízkých hodnotách, tak za pomoci energie z membránového potenciálu se pohání jeho příjem. V kořenech může absorpce Cd probíhat ve formě anorganických komplexů nebo organickými formami (Haider et al., 2021).

Kadmium se vyskytuje ve formách Cd²⁺ nebo také v půdním roztoku ve formě chelátů. Biologickou dostupnost kadmia zlepšuje okyselení půdy a kořenové exudáty zlepšují jeho rozpustnost (Haider et al., 2021).

Adsorpční cesty příjmu iontů kadmia a ostatních kovů jsou apoplastická a symplastická. Kadmium postupuje apoplastickou cestou kořenovými buňkami přes buněčnou membránu (Haider et al., 2021).

Kadmium v rostlinách se pozná chlorózou a zakrnělým růstem. Při vyšší koncentraci rostliny odumírají. Kadmium inhibuje fixaci uhlíku v rostlinách a snižuje obsah chlorofylu, čímž se snižuje fotosyntetická aktivita. Vyvolává také osmotický stres rostlin tím, že minimalizuje relativní obsah vody v listech, stomatální vodivost a transpiraci, což vede k poškození rostliny. Poškození rostlinných membrán a destrukci buněčných biomolekul a organel způsobuje nadměrná tvorba reaktivních forem kyslíku. Chloróza rostlin způsobena sníženým příjmem železa a zinku (Haider et al., 2021).

Na obrázku je znázorněna cesta kadmia a jeho vlivy na rostliny a lidi (Khan et al., 2017).



Obr.2: Cesta kadmia v rostlinách, upraveno dle Khan et al. (2017)

3.7.2 Olovo

Elementární olovo je bez zápachu a má stříbřitě modrobílou barvu, je měkké, tvárné a špatně vede elektrický proud. Je to nejtoxičtější kontaminant. Také je jedním z nejrozšířenějších toxických prvků bez biologické funkce. Zdroje kontaminace olovem jsou těžby, tavení rud, odpadní vody, spalování uhlí, výfukové plyny, pokovování, hnojiva, pesticidy a další zdroje (Kushwaha et al., 2018).

Olovo není esenciálním prvkem pro rostliny, ale i přes to je rostliny přijímají, když se nachází v jejich prostředí. Jeho účinek závisí na koncentraci, vlastnostech půdy a na druhu rostliny (Lamhamdi et al., 2011). Olovo se může v půdách vyskytovat jako kovový iont v komplexu s anorganickými složkami, jako organické ligandy nebo může být adsorbováno na povrchu částic. Antropogenní olovo se hromadí především v povrchové vrstvě půdy a s hloubkou klesá. Migrace a distribuce záleží na oxidačních a redukčních reakcích, adsorpci kationtů na výměnný komplex, chelaci organickou hmotou a jinými oxidy kovů (Kushwaha et al., 2018).

Speciální olova ovlivňuje pH půdy, typ půdy, velikost částic, organická hmota, množství olova v půdě, organické koloidy a oxidy železa a kationtová výměnná kapacita. Rozpustnost a biologickou dostupnost olova významně ovlivňuje pH, kdy při alkalickém pH je především ve formě uhličitanů a fosforečnanů a je nerozpustné, při kyselém se vyskytuje ve formě volných iontů. Organická hmota sorbuje olovo a tím dochází k jeho imobilizaci v půdě chelatací huminovými kyselinami nebo fulvokyselinami (Kushwaha et al., 2018).

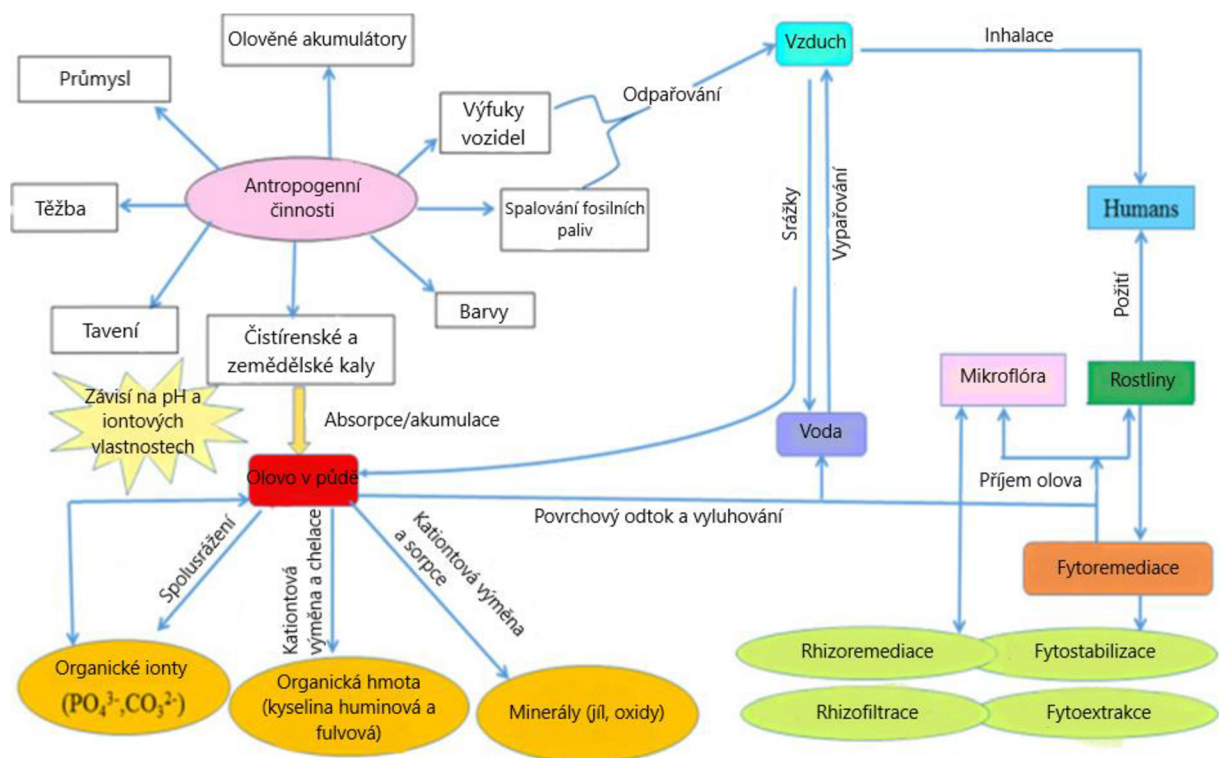
Rostlina přijímá olovo pasivně. Rostliny jsou schopny přijímat olovo ve značném množství z půdního roztoku, v rostlinách je však je nepohyblivé a pevně vázané. Toto je dané ukládáním olova ve formě pyrofosforečnanu v buněčných stěnách (Richter, 2004).

Zvyšující se obsah olova v půdě nepříznivě ovlivňuje mikrobiální diverzitu a růst a metabolismus rostlin. Jeho toxické hladiny ovlivňují rostliny, protože reaguje s funkčními skupinami v makromolekulách, dochází ke změně aktivity několika enzymů (Lamhamdi et al., 2011). U rostlin dochází k oxidačnímu stresu, to vede k poškození buněk a narušení buněčné iontové homeostázy. Olovo negativně působí na růst rostlin, prodlužování kořenů, dělení buněk, klíčení, vývoj semenáčků, transpiraci, produkci chlorofylu, lamelární uspořádání v chloroplastu. Může se ukládat v různých částech rostlin a dostávat se následně do potravního řetězce. Kontaminace olovem je významná kvůli životnímu prostředí a výživě, jelikož ovlivňuje lidské zdraví (Kushwaha et al., 2018). Na kumulaci olova je nejcitlivější listová zelenina. Rostliny obsahují normálně okolo 2-3 mg Pb.kg⁻¹ (Richter, 2004).

Metody sanace půdy kontaminované olovem jsou nákladné a neúčinné a mohou způsobit narušení půdní struktury a úrodnosti. Nejlepší dostupné technologie pro remediaci je imobilizace nebo stabilizace, mobilizace promýváním půdy chelátory kovů a fytoremediační techniky (Kushwaha et al., 2018).

Zemská kůra obsahuje průměrně 15 mg/kg olova. Olovo obsahuje přes 200 známých minerálů, ale většina je velmi vzácná. Horniny obsahující radioaktivní prvky obsahují větší koncentrace olova a sedimentární obsahují poměrně malé množství. Antropogenní zdroje znečištění olovem je například používání barev na bázi olova, olovnatá glazovaná keramika, pájky na bázi olova, těžba olovené rudy, hlušiny, tavení a vzdušné emise. Také nachází v pesticidech, které obsahují olovo. Olovo se zpočátku adsorbuje rychlými reakcemi, poté následují pomalé adsorpční reakce a následně se rozděluje do chemických forem s různou dostupností, mobilitou a toxicitou (Kushwaha et al., 2018).

Na Obr.3 je zobrazeno schéma příjmu olova rostlinami (Kushwaha et al., 2018). Z uvedeného schématu vyplývá, že se olovo dostává do půdy, ovzduší a vody z antropogenních činností a tím se dostává do rostlin a mikroflóry. Lidé ho následně přijímají díky rostlinám.



Obr.3: Schéma cesty olova do půdy a následné účinky na životní prostředí, upraveno dle Kushwaha et al. (2018)

4 Metodika

V řízených podmínkách byl sledován vliv farmaka (diklofenak) na klíčení a vzcházení vybraných zástupců listových zelenin. Do pokusu byly zařazeny tyto druhy: *Spinacia oleracea* L., *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) Kuntze, *Valerianella locusta* (L.) Laterr., *Portulaca oleracea* L., *Lactuca sativa* L. a *Eruca sativa* (L.) Mill.

4.1 Rostlinný materiál

Spinacia oleracea L. náleží do čeledě *Chenopodiaceae* a pochází z přední a střední Asie. Jedná se o jednoletou rostlinu. Pěstuje se pro její listy, které rostou v přízemní růžici. U špenátu byla použita odrůda *Spinacia oleracea* 'Matador', která je vhodná pro velkovýrobu, má tmavé listy a spolehlivě přezimuje (Semo, 1993-2022). *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) Kuntze náleží do čeledě *Aizoaceae*, jedná se o jednoletou rostlinu s plazivou, v květu vzpřímenou lodyhou (Jelínková, 2000-2022).

Valerianella locusta (L.) Laterr náleží do čeledi *Caprifoliaceae*, jedná se o ozimou až jednoletou bylinu, která roste po celé Evropě kromě nejsevernějších částí, také roste v Malé Asii a na Kavkaze, v Kašmíru. Konzumují se jak listy, tak se mohou konzumovat celé rostliny (Pazdera, 2015).

Portulaca oleracea L. náleží do čeledi *Portulacaceae*, je to jednoletá rostlina s většinou poléhavými lodyhami. Pěstuje se jako zelenina i polévkové koření (Rak, 2007).

Lactuca sativa L. náleží do čeledě *Asteraceae* a je to jednoletá až dvouletá rostlina s listy v husté růžici. Je to známá listová zelenina s krátkou vegetační dobou (Hoskovec, 2020). U salátu byla použita odrůda *Lactuca sativa* 'Král Máje 1', která má středně velkou hlávkou se světle zelenými listy, jejichž okraje červenají při nízkých teplotách (Semo, 1993-2022).

Eruca sativa (L.) Mill. náleží do čeledě *Brassicaceae*. Jedná se o jednoletou rostlinu, která je pěstovaná jako zelenina, sklízí se 6-8 týdnů po zasetí (Svobodová, 2010).

4.2 Založení pokusu

U *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) Kuntze bylo nejdříve nutné nechat osivo nabobtnat 2 dny ve vodě, jelikož jsou semena tohoto druhu tvrdá. Poté se postupovalo stejně jako u ostatních druhů. Ostatní druhy nepotřebovaly speciální přípravu před výsevem.

Vliv diklofenaku na klíčení semen byl sledován u těchto koncentrací 0,5 mg/l, 1,5 mg/l, 2,5 mg/l, 3,5 mg/l a 5,0 mg/l. Jako kontrola byla použita destilovaná voda. Celkem bylo použito 5 Petriho misek pro každou plodinu a variantu. Do každé Petriho misky bylo vyseto 20 semen. Měření se uskutečnilo v následujících termínech: 48, 72 a 96 hodin os výsevu. Množství roztoku v Petriho misce bylo mezi 0,5 ml až 10 ml.

Založení pokusu vycházelo z metodik ISTA. Teplota byla nastavena na 20 °C. Světelný režim byl nastaven na 16 hodin světla a 8 hodin tmy s intenzitou světla 250 mikromol/m²/s.

4.3 Měřené parametry klíčících rostlin

Měřenými parametry byla velikost kořenů a hypokotylů vyklíčených rostlin. Dalšími parametry byly:

Klíčivosti semen (SG)

Klíčivost semen (seed germination) vyjadřuje procentuální množství vyklíčených semen daného vzorku za vhodných podmínek v čase vymezeném pro klíčení (tedy v období, kdy je klíčení ukončeno) (Šerá, 2014).

Klíčivost semen (%): $SG = Gf/S \times 100$

Gf počet vyklíčených semen na konci kultivace

S celkový počet testovaných semen

Energie klíčení (GE)

Energie klíčení (germination energy) vyjadřuje procentuální množství vyklíčených semen za časový úsek. Mimo jiné energie klíčení vypovídá o intenzitě a vyrovnanosti klíčení (Bam et al., 2006).

Energie klíčení (%): $SE = Gt/S \times 100$

Gt počet vyklíčených semen ve dne t

S celkový počet testovaných semen

Rychlost klíčení (GR)

Rychlost klíčení (speed of germination) je poměr počtu vyklíčených semen na začátku a na konci stanovené doby, zpravidla bývá vyjádřen v procentech (Kader, 2005; Šerá, 2019).

Rychlost klíčení (%): $GR = Gt/Gf \times 100$

Gt počet vyklíčených semen ve dne t

Gf počet vyklíčených semen na konci kultivace

Index klíčivosti (GI)

Index klíčivosti: $GI = \sum(Gt/Dt)$

Gt počet vyklíčených semen ve dne t

Dt počet dnů (Šerá, 2014)

Dalšími parametry měření klíčivosti byl střední čas klíčení (MGT), koeficient rychlosti klíčení (CVG), koeficient variace času klíčení (CVt), nejistota (U) a synchronicita (Z).

5 Výsledky

5.1 *Portulaca oleracea* L.

Tab.2: Základní parametry klíčení a vzcházení u *Portulaca oleracea*

<i>Portulaca oleracea</i> L	FGP	MGT	CVG	CVt	U	Z	GEi	GE20	SG
kontrola	98	2,05	48,80	8,91	0,17	0,94	96,95	95,00	9,67
0,55 mg	97	2,03	49,28	6,44	0,11	0,96	98,00	95,00	9,62
1,5 mg	99	2,15	46,57	19,23	0,46	0,83	90,84	90,00	9,50
2,5 mg	90	2,01	49,73	2,29	0,06	0,98	98,89	89,00	8,97
3,5 mg	93	2,05	48,71	9,83	0,28	0,90	94,65	88,00	9,13
5,0 mg	97	2,10	47,66	16,64	0,32	0,88	93,95	91,00	9,43

Legenda: FGP – klíčivost semen, MGT – střední čas klíčení, CVG – koeficient rychlosti klíčení, CVt – koeficient variace času klíčení, U – nejistota, Z – synchronicita, GE – Energie klíčení, SG – míra klíčivosti

Z uvedené tabulky (Tab.2) vyplývá, že průměrná klíčivost činila 95,7 %. Nejnižší klíčivost byla zjištěna u koncentrace 2,5 mg/l diklofenaku (90 %). Naopak nejvyšší klíčivost byla u varianty 1,5 mg/l diklofenaku (99 %). V případě kontrolních rostlin byla klíčivost semen ve výši 98 %.

U všech sledovaných variant se střední doba klíčení (MGT) pohybovala mezi 2,01 až 2,1 dny. Nejkratší průměrnou dobu klíčení vykazovaly semena z varianty 2,5 mg/l – 2,01 dne. Naopak nejdelší průměrnou dobu klíčení (2,15 dne) vykazovaly semena nakličovaná v roztoku s 1,5 mg/l.

V případě hodnoty koeficientu rychlosti klíčení byl interval naměřených hodnot 46,57 (1,5 mg/l) až 49,73 (0,55 mg/l). Mezi jednotlivými variantami pokusu nebyly nalezeny rozdíly, neboť tento parametr byl u kontrolních semen 48,80.

Koeficient variace času klíčení byl nejnižší u varianty 2,5 mg/l, kdy jeho hodnota činila 2,29. Nejvyšší hodnota uvedeného koeficientu měly semena z varianty 1,5 mg – 19,23. U semen z kontrolních podmínek činila hodnota koeficientu variace času 8,91. Mezi sledovanými variantami pokusu byly zjištěny rozdíly.

Nejistota (U) vyklíčení se pohybuje v intervalu hodnot od 0,06 (2,5 mg/l) do 0,46 (1,5 mg/l). Synchronicita značí, jak je sjednoceno klíčení jednotlivých semen.

Při klíčení semen lze pozorovat, jak se chovají jednotlivá semena. Energie klíčení (germination energy) vyjadřuje procentuální množství vyklíčených semen daného vzorku v daném čase (v období před ukončení procesu klíčení). Energie klíčení vypovídá o intenzitě a vyrovnanosti klíčení.

5.1.1 Velikost kořenů

Tab.3: Hodnoty (mm) růstu kořenů po 48, 72 a 96 hodinách. Velikost kořenů byla u koncentrací mnohem nižší než u kontroly.

<i>Portulaca oleracea</i> L.	mm		
kořeny	48 h	72 h	96 h
kontrola	19,76	20,78	21,66
0,55 mg	2,73	5,48	6,71
1,5 mg	4,85	7,03	8,13
2,5 mg	2,64	4,06	6,68
3,5 mg	6,04	6,92	7,6
5,0 mg	3,84	6,95	7,85

5.1.2 Velikost hypokotylu

Tab.4: Hodnoty (mm) nadzemní části *Portulaca oleracea* L

<i>Portulaca oleracea</i> L.	mm		
hypokotyl	48 h	72 h	96 h
kontrola	10,52	11,62	12,54
0,55 mg	2,18	4,97	5,72
1,5 mg	4,6	5,2	5,99
2,5 mg	2,03	3,82	5,07
3,5 mg	2,97	3,35	5,58
5,0 mg	2,32	3,65	5,21

5.2 *Lactuca sativa* L.

Tab.5: sledované parametry klíčení *Lactuca sativa* L.

<i>Lactuca sativa</i>	FGP	MGT	CVG	CVt	U	Z	GEi	GE20	SG
kontrola	69	2,28	44,13	19,30	0,78	0,63	73,62	50,00	6,25
0,55 mg	87	2,29	43,92	21,29	0,86	0,62	75,38	65,00	7,90
1,5 mg	98	2,13	46,94	13,38	0,49	0,77	86,53	85,00	9,37
2,5 mg	99	2,00	50,00	0,12	0,95	1,00	100,00	99,00	9,90
3,5 mg	91	2,42	41,72	19,50	0,85	0,60	59,37	54,00	7,85
5,0 mg	94	2,21	45,43	18,83	0,72	0,68	80,53	76,00	8,78

Legenda: FGP – klíčivost semen, MGT – střední čas klíčení, CVG – koeficient rychlosti klíčení, CVt – koeficient variace času klíčení, U – nejistota, Z – synchronicita, GE – Energie klíčení, SG – míra klíčivosti

Z uvedené tabulky (Tab.5) vyplývá, že průměrná klíčivost činila 93,8 %. Nejnižší klíčivost byla zjištěna u koncentrace 0,55 mg/l diklofenaku (87 %). Naopak nejvyšší klíčivost byla u varianty 2,5 mg/l diklofenaku (99 %). V případě kontrolních rostlin byla klíčivost semen ve výši 69 %.

U všech sledovaných variant se střední doba klíčení (MGT) pohybovala mezi 2,00 až 2,42 dny. Nejkratší průměrnou dobu klíčení vykazovaly semena z varianty 2,5 mg/l – 2,01 dne. Naopak nejdelší průměrnou dobu klíčení (2,42 dne) vykazovaly semena naklíčovaná v roztoku s 3,5 mg/l.

V případě hodnoty koeficientu rychlosti klíčení byl interval naměřených hodnot 41,72 (3,5 mg/l) až 50 (2,5 mg/l). Mezi jednotlivými variantami pokusu byly nalezeny rozdíly, neboť tento parametr byl u kontrolních semen 44,13.

Koeficient variace času klíčení byl nejnižší u varianty 2,5 mg/l, kdy jeho hodnota činila 0,12. Nejvyšší hodnota uvedeného koeficientu měly semena z varianty 0,55 mg/l – 21,29. U semen z kontrolních podmínek činila hodnota koeficientu variace času 19,3. Mezi sledovanými variantami pokusu byly zjištěny rozdíly.

Nejistota (U) vyklíčení se pohybuje v intervalu hodnot od 0,49 (1,5 mg/l) do 0,95 (2,5 mg/l). Synchronicita značí, jak je sjednoceno klíčení jednotlivých semen.

Při klíčení semen lze pozorovat, jak se chovají jednotlivá semena. Energie klíčení (germination energy) vyjadřuje procentuální množství vyklíčených semen daného vzorku v daném čase (v období před ukončení procesu klíčení). Energie klíčení vypovídá o intenzitě a vyrovnanosti klíčení.

5.2.1 Velikost kořenů

Tab.6: Výsledky měření kořenů salátu. Hodnoty se od kontroly postupně zvyšovaly.

<i>Lactuca sativa</i> L.	mm		
kořeny	48 h	72 h	96 h
kontrola	1,91	5,76	9,52
0,55 mg	2,18	4,97	5,72
1,5 mg	4,78	9,1	13,73
2,5 mg	12,4	18,61	23,33
3,5 mg	2,46	15,65	26,02
5,0 mg	10,81	10,7	14,24

5.2.2 Velikost hypokotylu

Tab.7: výsledky měření nadzemních částí salátu v mm. Byl zaznamenán inhibiční účinek u všech koncentrací diklofenaku.

<i>Lactuca sativa</i> L.	mm		
hypokotyl	48 h	72 h	96 h
kontrola	0	1,58	3,67
0,55 mg	1,01	2,3	2,92
1,5 mg	1,19	2,31	3,33
2,5 mg	0	1,37	2,26
3,5 mg	0,51	0,77	2,31
5,0 mg	0,74	1,45	2,22

5.3 *Eruca sativa* (L.) Mill.

Tab.8: Sledované parametry klíčení *Eruca sativa* (L.) Mill.

<i>Eruca sativa</i> (L.) Mill.	FGP	MGT	CVG	CVt	U	Z	GEi	GE20	SG
kontrola	99	2,04	49,02	7,35	0,21	0,92	95,95	95,00	9,77
0,55 mg	98	2,10	47,75	8,45	0,34	0,85	90,68	89,00	9,48
1,5 mg	96	2,05	48,78	7,62	0,21	0,92	95,78	92,00	9,45
2,5 mg	99	2,06	48,52	13,09	0,29	0,90	94,95	94,00	9,72
3,5 mg	94	2,05	48,69	9,76	0,22	0,91	95,61	90,00	9,25
5,0 mg	94	2,11	47,76	6,33	0,26	0,87	89,00	86,00	9,13

Legenda: FGP – klíčivost semen, MGT – střední čas klíčení, CVG – koeficient rychlosti klíčení, CVt – koeficient variace času klíčení, U – nejistota, Z – synchronicita, GE – Energie klíčení, SG – míra klíčivosti

Z uvedené tabulky (Tab.8) vyplývá, že průměrná klíčivost činila 96,2 %. Nejnižší klíčivost byla zjištěna u koncentrace 3,5 a 5 mg/l diklofenaku (94 %). Naopak nejvyšší klíčivost byla u varianty 2,5 mg/l diklofenaku (99 %). V případě kontrolních rostlin byla klíčivost semen ve výši 99 %.

U všech sledovaných variant se střední doba klíčení (MGT) pohybovala mezi 2,05 až 2,11 dny. Nejkratší průměrnou dobu klíčení vykazovaly semena z varianty 1,5 a 3,5 mg/l – 2,05 dne. Naopak nejdelší průměrnou dobu klíčení (2,11 dne) vykazovaly semena nakličované v roztoku s 5 mg/l.

V případě hodnoty koeficientu rychlosti klíčení byl interval naměřených hodnot 47,75 (0,55 mg/l) až 48,78 (1,5 mg/l). Mezi jednotlivými variantami pokusu byly nalezeny rozdíly, neboť tento parametr byl u kontrolních semen 49,02.

Koeficient variace času klíčení byl nejnižší u varianty 5 mg/l, kdy jeho hodnota činila 6,33. Nejvyšší hodnota uvedeného koeficientu měly semena z varianty 2,5 mg/l – 13,09. U semen z kontrolních podmínek činila hodnota koeficientu variace času 7,35. Mezi sledovanými variantami pokusu byly zjištěny rozdíly.

Nejistota (U) vyklíčení se pohybuje v intervalu hodnot od 0,21 (1,5 mg/l) do 0,34 (0,55 mg/l). Synchronicita značí, jak je sjednoceno klíčení jednotlivých semen.

Při klíčení semen lze pozorovat, jak se chovají jednotlivá semena. Energie klíčení (germination energy) vyjadřuje procentuální množství vyklíčených semen daného vzorku v daném čase (v období před ukončení procesu klíčení). Energie klíčení vypovídá o intenzitě a vyrovnanosti klíčení.

5.3.1 Velikost kořenů

Tab.9: Průměry naměřených délek kořenů. Nejdelší kořeny byly naměřeny u koncentrace 5 mg/l.

<i>Eruca sativa</i> (L.) Mill.	mm		
kořen	48 h	72 h	96 h
kontrola	9,05	12,8	21,32
0,55 mg	4,93	11,58	14,95
1,5 mg	6,92	13,4	21,89
2,5 mg	14,18	17,43	23,32
3,5 mg	6,47	25,77	34,37
5,0 mg	22,2	25,67	34,22

5.3.2 Velikost hypokotylu

Tab.10: Výsledky měření nadzemních částí *Eruca sativa* (L.) Mill. Nejlépe na tom byla kontrola, od které se velikosti nadzemních částí začaly snižovat.

<i>Eruca sativa</i> (L.) Mill.	mm		
hypokotyl	48 h	72 h	96 h
kontrola	4,38	6,55	8,37
0,55 mg	1,54	2,32	5,42
1,5 mg	2,02	3,12	5,21
2,5 mg	2,1	3,16	5
3,5 mg	1,46	2,76	3,69
5,0 mg	0,66	4,6	5,35

5.4 *Spinacia oleracea* L.

Tab.11: Sledované parametry klíčení špenátu.

<i>Spinacia oleracea</i> L.	FGP	MGT	CVG	CVt	U	Z	GEi	GE20	SG
kontrola	10	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	0,65
0,55 mg	11	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,00	0,72
1,5 mg	9	3,25	31,05	0,00	0,36	0,00	0,00	0,00	0,53
2,5 mg	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07
3,5 mg	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00
5,0 mg	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Legenda: FGP – klíčivost semen, MGT – střední čas klíčení, CVG – koeficient rychlosti klíčení, CVt – koeficient variace času klíčení, U – nejistota, Z – synchronicita, GE – Energie klíčení, SG – míra klíčivosti

Z uvedené tabulky (Tab.11) vyplývá, že průměrná klíčivost činila 4,2 %. Nejnižší klíčivost byla zjištěna u koncentrace 3,5 a 5 mg/l diklofenaku (0 %). Naopak nejvyšší klíčivost byla u varianty 0,55 mg/l diklofenaku (11 %). V případě kontrolních rostlin byla klíčivost semen ve výši 10 %.

U všech sledovaných variant se střední doba klíčení (MGT) pohybovala mezi 0 až 3,25 dny. Jedinou průměrnou dobu klíčení vykazovaly semena z varianty 1,5 mg/l s 3,25 dny. Naopak nejdelší průměrnou dobu klíčení (2,11 dne) vykazovaly semena nakličované v roztoku s 5 mg/l.

V případě hodnoty koeficientu rychlosti klíčení byla naměřena hodnota pouze u koncentrace 1,5 mg/l s 31,05.

U koeficientu variace času klíčení nejsou hodnoty.

Nejistota (U) vyklíčení se pohybuje v intervalu hodnot od 0,18 (0,55 mg/l) do 0,36 (1,5 mg/l). Synchronicita značí, jak je sjednoceno klíčení jednotlivých semen.

Při klíčení semen lze pozorovat, jak se chovají jednotlivá semena. Energie klíčení (germination energy) vyjadřuje procentuální množství vyklíčených semen daného vzorku v daném čase (v období před ukončení procesu klíčení). Energie klíčení vypovídá o intenzitě a vyrovnanosti klíčení.

5.4.1 Velikost kořenů

Tab.12: Délky kořenů špenátu v mm. Kořeny u všech koncentrací byly kratší než u kontroly.

<i>Spinacia oleracea</i> L.	mm		
kořen	48 h	72 h	96 h
kontrola	0,03	1,48	2,42
0,55 mg	0	0,53	1,36
1,5 mg	0,01	0,36	0,69
2,5 mg	0	0,04	0,06
3,5 mg	0	0	0
5,0 mg	0	0	0

5.4.2 Velikost hypokotylu

Tab.13: Velikosti nadzemních částí byly největší u kontroly. Další naměřené hodnoty byly pouze u 1,5 mg/l.

<i>Spinacia oleracea</i> L.	mm		
hypokotyl	48 h	72 h	96 h
kontrola	0,46	0,88	1,41
0,55 mg	0	0	0
1,5 mg	0	0,09	0,46
2,5 mg	0	0	0
3,5 mg	0	0	0
5,0 mg	0	0	0

5.5 *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) Kuntze

Tab.14: Sledované hodnoty klíčení čtyřboče

<i>Tetragonia tetragonoides</i>	FGP	MGT	CVG	CVt	U	Z	GEi	GE20	SG
kontrola	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,55 mg	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,5 mg	12	2,40	42,67	0	0,36	0	65,00	9,00	1,08
2,5 mg	1	0	0	0	0	0	0	0	0,07
3,5 mg	1	0	0	0	0	0	0	0	0,05
5,0 mg	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Legenda: FGP – klíčivost semen, MGT – střední čas klíčení, CVG – koeficient rychlosti klíčení, CVt – koeficient variace času klíčení, U – nejistota, Z – synchronicita, GE – Energie klíčení, SG – míra klíčivosti

Z uvedené tabulky (Tab.14) vyplývá, že průměrná klíčivost činila 2,8 %. Nejnížší klíčivost byla zjištěna u koncentrace 0,55 a 5 mg/l diklofenaku (0 %). Naopak nejvyšší klíčivost byla u varianty 1,5 mg/l diklofenaku (12 %). V případě kontrolních rostlin byla klíčivost semen ve výši 0 %.

Střední doba klíčení (MGT) byla naměřena u koncentrace 1,5 a to 2,5 dnů.

V případě hodnoty koeficientu rychlosti klíčení bylo naměřeno pouze u 1,5 mg/l s 42,67. Koeficient variace času klíčení byl u všech koncentrací včetně kontroly 0.

Nejistota (U) vyklíčení byla naměřena pouze u 1,5 mg/l s hodnotou 0,36. Synchronicita značí, jak je sjednoceno klíčení jednotlivých semen.

Při klíčení semen lze pozorovat, jak se chovají jednotlivá semena. Energie klíčení (germination energy) vyjadřuje procentuální množství vyklíčených semen daného vzorku v daném čase (v období před ukončení procesu klíčení). Energie klíčení vypovídá o intenzitě a vyrovnanosti klíčení.

5.5.1 Velikost kořenů

Tab.15: *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) Kuntze vyklíčila pouze u koncentrace 1,5 a 2,5 mg/l

<i>Tetragonia tetragonoides</i> (Pall.) Kuntze	mm		
	48 h	72 h	96 h
kořen			
kontrola	0	0	0
0,55 mg	0	0	0
1,5 mg	1,54	2,32	5,42
2,5 mg	0	0,04	0,07
3,5 mg	0	0	0,1
5,0 mg	0	0	0

5.5.2 Velikost hypokotylu

Tab.16: Nadzemní část vyrostla pouze u koncentrace 1,5 mg/l

<i>Tetragonia tetragonoides</i> (Pall.) Kuntze	mm		
	48 h	72 h	96 h
hypokotyl			
kontrola	0	0	0
0,55 mg	0	0	0
1,5 mg	0,16	0,45	0,78
2,5 mg	0	0	0
3,5 mg	0	0	0
5,0 mg	0	0	0

5.6 *Valerianella locusta* (L.) Laterr.

U *Valerianella locusta* (L.) Laterr. nejsou žádné výsledky k hodnocení, jelikož po dobu 96 hodin osivo nevyklíčilo v žádné koncentraci včetně kontroly.

6 Diskuze

Půdy mohou být kontaminovány značným množstvím látek, které následně ovlivňují růst a vývoj rostlin. Je důležité se takovými látkami věnovat, aby byly známy jejich účinky na plodiny a prostředí okolo nás. Nejenom půdy jsou znečištěny rizikovými látkami, ale také odpadní vody. Rozsah odstranění léčiv z odpadních vod je často rozdílný a může se pohybovat např. u ibuprofenu od 65 do 100 % (Gros et al., 2010). Cílem práce bylo zjistit vliv diklofenaku na klíčení a vzházení vybraných druhů listové zeleniny. Diklofenak byl vybrán proto, že je to volně prodejné léčivo, které je obsaženo v léku Voltaren. Je používán pro jeho antipyretické, analgetické a protizánětlivé účinky. Jeho výtěžnost se různí a pohybuje se mezi 30 a 70 % podle Wiczerzak et al. (2018). Dle Lonappan et al. (2016) má diklofenak nižší mobilitu v půdách s vyšším obsahem organických látek.

6.1 Klíčivost semen

Ze šesti testovaných rostlin nevyklíčila ve všech koncentracích včetně kontroly pouze *Valerianella locusta* (L.) Laterr., která proto nebyla hodnocena. To mohlo být způsobeno krátkou dobou klíčení během pokusu. Obdobně zhoršenou klíčivost vykazovaly druhy *Spinacia oleracea* L. a *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) Kuntze, u kterých vyklíčilo pouze malé procento z 5 testovaných koncentrací společně s kontrolou. Sníženou klíčivost semen některých rostlin ve své práci uvádí např. Roskrige (2011), kdy má *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) v nekomerční produkci proměnlivou dobu dosažení klíčivosti, která je zpravidla pod 20 dní. V případě čtyřboče se může jednat o silnější vrstvu oplodí a osemení, která snižuje příjem vody a následné bobtnání.

Klíčivost semen byla u roztoku 0,55 mg/l zpravidla vyšší než kontrola nebo byla velice podobná. V případě koncentrace 1,5 mg/l bylo potvrzeno vyšší procento vyklíčených semen u druhu *Portulaca oleracea* L., *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) Kuntze. Naopak druh *Spinacia oleracea* L. reagoval na zvyšující se koncentraci léčiva v roztoku mírným snížením klíčivosti. Vyšší stimulační účinek měla koncentrace 2,5 mg/l pouze na semena *Lactuca sativa* L. a *Eruca sativa* (L.) Mill. Sousa et al. (2020) sledovali vliv diklofenaku na klíčivost semen *Solanum lycopersicum* L., kdy zjistili, že koncentrace (0,5 a 5 mg/l) diklofenaku neměly vliv na klíčení rostlin.

Na vysokou koncentraci diklofenaku (5 mg/l) citlivě reagovaly *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) Kuntze a *Spinacia oleracea* L., kdy jejich semena neklíčila. Na základě těchto výsledků je možné konstatovat, že se jedná o citlivé druhy. Ziótkowska et al. (2014) ve své studii zjistili, že se klíčivost *Lupinus luteus* L., *Pisum sativum* L. a *Lens esculenta* L. pohybuje v rozmezí od 97 do 100 % u všech testovaných koncentrací diklofenaku (0,06, 0,125, 0,25, 0,5, 1, 3, 6, 8 a 12 mM) po devíti dnech. Tento závěr byl částečně potvrzen u diklofenaku, kdy byla u *Portulaca oleracea* L. průměrná klíčivost semen 95,7 % a u *Eruca sativa* (L.) Mill. to bylo 96,2 %. Výsledky Sousa et al. (2020) a Ziótkowska et al. (2014) uvádějí, že diklofenak nemá vliv na klíčení semen sledovaných rostlin. Tato tvrzení jsou v souladu s výsledky např. u *Portulaca oleracea* L. a *Eruca sativa* (L.) Mill.

Ze získaných výsledků dále vyplývá vliv druhu rostlin, kdy na koncentrace diklofenaku v roztoku sníženou klíčivostí reagovaly semena *Spinacia oleracea* L. a *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) Kuntze, naopak u druhu *Portulaca oleracea* L. a *Eruca sativa* (L.) Mill. tento efekt potvrzen nebyl. Uvedený závěr, který konstatuje mezidruhové rozdíly potvrzuje práce Zezulky et al. (2019), kdy koncentrace diklofenaku a paracetamolu od 0,1 do 1000 µg/l neovlivňovaly klíčivost u semen cibule, salátu, hrachu a rajčete, ale u jednoděložné kukuřice byla inhibice 23 % u koncentrace 100 µg/l a 33 % u 1000 µg/l koncentrace paracetamolu.

6.2 Délka kořene

Diklofenak měl inhibiční vliv na délku kořenů u *Portulaca oleracea* L. oproti kontrole. U ostatních druhů byl růst kořenů větší či podobný kontrole ve všech koncentracích diklofenaku. Tím pádem z toho lze vyvodit, že pro větší inhibici kořenů by bylo nutné více času a větší koncentrace léku, které se v prostředí normálně nevyskytují. Toto podporuje studie Pawłowska et al. (2021), kdy na délku kořenů jarního ječmene měly negativní vliv koncentrace diklofenaku s naproxenem v koncentracích 1000 mg kg⁻¹, kdy se růst výrazně zmenšil. Ovšem u nižších koncentrací byla pozorována zvýšená délka kořenů.

Ziółkowska et al. (2014) zkoumali vliv koncentrací diklofenaku (0,06, 0,125, 0,25, 0,5, 1, 3, 6, 8 a 12 mM) na klíčení a prodlužování kořenů a výhonů *Lupinus luteus* L., *Pisum sativum* L. a *Lens esculenta* L., kdy bylo provedeno měření po devíti dnech od založení. Zjistili, že se zvyšující se koncentrací diklofenaku byl inhibován růst kořenů. U nejvyšší koncentrace (12 mM) byl růst kořenů inhibován oproti kontrole o 85, 83 a 80 %. Toto naznačuje, že má diklofenak inhibiční vliv na růst kořenů a odpovídalo by to výsledkům měření u *Portulaca oleracea* L.

Dle těchto výsledků se dá usuzovat, že má diklofenak schopnost u některých druhů podporovat růst kořenů v menších koncentracích a ve vyšších koncentracích má schopnost růst inhibovat. Nějaké rostliny se však zdají citlivé i na menší koncentrace diklofenaku, proto je nutné věnovat pozornost nejenom koncentracím tohoto léku, ale také jednotlivým druhům rostlin.

6.3 Délka hypokotylu

Nadzemní části u většiny kromě *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) Kuntze, která měla největší nárůst nadzemních částí v koncentraci 1,5 mg/l, byly zpravidla menší než nadzemní části kontroly. Z těchto výsledků se dá vyvodit, že diklofenak inhiboval růst nadzemních částí a z tohoto důvodu by bylo dobré tyto parametry dále zkoumat. Kummerová et al. (2016) zkoumali účinky diklofenaku na *Lemna minor*, zjistili, že diklofenak inhiboval růst po 10 dnech kultivace u koncentrace 100 µg/l o 86 % hmotnosti sušiny a u plochy listů o 18 %.

Podle Ziółkowska et al. (2014) měl vliv na růst nadzemní části druh rostlin. Nejvyšší inhibiční účinky zaznamenali po devíti dnech u *Lupinus luteus* L. a *Pisum sativum* L., zatímco u *Lens esculenta* L. byla inhibice mnohem menší. Dá se tak předpokládat, že diklofenak ovlivňuje rostliny v závislosti na druhu rostliny a koncentraci diklofenaku.

7 Závěr

Účinek diklofenaku byl studován u šesti druhů listových zelenin (*Valerianella locusta* (L.) Laterr., *Spinacia oleracea* L., *Tetragonia tetragonoides* (Pall.), *Lactuca sativa* L., *Eruca sativa* (L.) Mill. a *Portulaca oleracea* L.). Ze získaných výsledků vyplývající následující závěry:

- Byl potvrzen mezidruhový rozdíl v reakci semen na koncentraci diklofenak.
- *Valerianella locusta* (L.) Laterr. nevyklíčila za daný čas u všech koncentrací a u kontroly
- U *Spinacia oleracea* L. a *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) bylo potřeba více času na vyklíčení.
- Uvedené koncentrace diklofenaku neměly velký vliv na klíčení.
- Byl potvrzen vliv diklofenaku na délku kořínků u sledovaných druhů zelenin, zejména u *Portulaca oleracea* L., kdy měl negativní vliv na jejich délku.
- Diklofenak u většiny druhů kromě *Portulaca oleracea* L. podporoval růst kořenů.
- Pozitivní vliv diklofenaku na délku kořínku vykazují rostliny *Spinacia oleracea* L., *Tetragonia tetragonoides* (Pall.), *Lactuca sativa* L., *Eruca sativa* (L.) Mill.
- Diklofenak negativně ovlivňuje růst nadzemních částí rostlin i v nižších koncentracích.
- Nejcitlivěji na koncentraci diklofenaku délkou hypokotylu reagoval druh *Portulaca oleracea* L. U tohoto druhu se délka hypokotylu pohybovala po 96 hodinách u kontroly 12,54 mm a u nejvyšší koncentrace diklofenaku (5 mg/l) 5,21 mm.
- U *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) Kuntze byl nejvyšší nárůst nadzemních částí u koncentrace 1,5 mg/l.

8 Literatura

- Adeel M, Song X, Wang Y, Francis D, Yang Y. 2017. Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: A critical review. *Environment International* **99**:107-119.
- Arora A, Sairam RK, Srivastava GC. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current science* **82**:1227-1238.
- Arye G, Dror I, Berkowitz B. 2011. Fate and transport of carbamazepine in soil aquifer treatment (SAT) infiltration basin soils. *Chemosphere* **82**:244-252.
- Aus der Beek T, Weber FA, Bergmann A, Hickmann S, Ebert I, Hein A, Küster A. 2015. Pharmaceuticals in the environment—Global occurrences and perspectives. *Environmental Toxicology and Chemistry* **35**:823-835.
- Bam R, Kumaga FK, Ofori K, Asiedu EA. 2006. Germination, Vigour and Dehydrogenase Activity of Naturally Aged Rice (*Oryza sativa* L.) Seeds Soaked in Potassium and Phosphorus Salts. *Asian Journal of Plant Sciences* **5**:948-955.
- Boudsocq M, Laurière C. 2005. Osmotic Signaling in Plants. Multiple Pathways Mediated by Emerging Kinase Families. *Plant Physiology* **138**:1185-1194.
- Buchtová I. 2020. Situační a výhledová zpráva, zelenina. Ministerstvo zemědělství, Praha.
- Calisto V, Esteves VI. 2009. Psychiatric pharmaceuticals in the environment. *Chemosphere* **77**:1257-1274.
- Carter LJ, Ryan JJ, Boxall ABA. 2016. Effects of soil properties on the uptake of pharmaceuticals into earthworms. *Environmental Pollution* **213**:922-931.
- Carvalho FP. 2017. Pesticides, environment, and food safety. *Food and Energy Security* **6**: 48–60.
- Clemens S. 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* **88**:1707-1719.
- Collins C, Fryer M, Grosso A. 2006. Plant Uptake of Non-Ionic Organic Chemicals. *Environmental Science & Technology* **40**:45-52.
- Combalbert S, Hernandez-Raquet G. 2010. Occurrence, fate, and biodegradation of estrogens in sewage and manure. *Applied Microbiology and Biotechnology* **86**:1671–1692.
- Copolovici L, Timis D, Taschina M, Copolovici D, Cioca G, Bungau S. 2017. Diclofenac Influence on Photosynthetic Parameters and Volatile Organic Compounds Emission from *Phaseolus vulgaris* L. Plants. *Revista de Chimie* **68**:2076-2078.
- D'Abrosca B, Fiorentino A, Izzo A, Cefarelli G, Pascarella MT, Uzzo P, Monaco P. 2008. Phytotoxicity evaluation of five pharmaceutical pollutants detected in surface water on germination and growth of cultivated and spontaneous plants. *Journal of Environmental Science and Health* **43**:285-294.

- Dyas JS, Ryder EJ. 2011. World Vegetable Industry: Production, Breeding, Trends. *Horticultural Reviews* **38**:299-356.
- EUR-Lex. 2009. SMĚRNICE EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY 2009/128/ES. Publications Office of the European Union, Lucembursko. Available from <https://eur-lex.europa.eu/> (accessed April 2022).
- EUR-Lex. 2019. Registrace, dovoz a výroba léčivých přípravků. Publications Office of the European Union, Lucembursko. Available from <https://eur-lex.europa.eu> (accessed March 2022).
- Fenet H, Mathieu O, Mahjoub O, Li Z, Hillaire-Buys D, Casellas C, Gomez E. 2012. Carbamazepine, carbamazepine epoxide and dihydroxycarbamazepine sorption to soil and occurrence in a wastewater reuse site in Tunisia. *Chemosphere* **88**:49-54.
- Gaspar T, Franck T, Bisbis B, Kevers C, Jouve L, Hausman JF, Dommes J. 2002. Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. *Plant Growth Regulation* **37**:263–285.
- Gevao B, Semple KT, Jones KC. 2000. Bound pesticide residues in soils: a review. *Environmental Pollution* **108**:3-14.
- Goeppert N, Dror I, Berkowitz B. 2014. Detection, fate and transport of estrogen family hormones in soil. *Chemosphere* **95**:336-345.
- González-Naranjo V, Boltes K, Biel M. 2013. Mobility of ibuprofen, a persistent active drug, in soils irrigated with reclaimed water. *Plant, Soil and Environment* **59**:68-73.
- Gros M, Petrović M, Ginebreda A, Barceló D. 2010. Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes. *Environment International* **36**:15-26.
- Haider FU, Liqun C, Coulter JA, Cheema SA, Wu J, Zhang R, Wenjun M, Farooq M. 2021. Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety* (e211) DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111887.
- Hájková M, Kummerová M. 2014. Growth response of *Lemna minor* L. to paracetamol. *MendelNet* **2014**:457-462.
- Helmenstine AM. 2019. pKa Definition in Chemistry. ThoughtCo, New York. Available from <https://www.thoughtco.com/> (accessed April 2022).
- Hernando MD, Mezcuca M, Fernández-Alba AR, Barceló D. 2006. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta* **69**:334-342.
- Hofman J, Hvězdová M, Kosubová P, Dinisová P, Šimek Z, Brodský L, Šudoma M, Škulcová L, Sánka M, Svobodová M, Krkošková L, Vašíčková J, Neuwirthová N, Bielská L. 2018. Agromanuál: Rezidua pesticidů v orných půdách České republiky. Kurent, s.r.o, České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/> (accessed April 2022).

- Hoskovec L. 2020. Botany: LACTUCA SATIVA L. – locika salátová / šalát záhradný. Available from <https://botany.cz/> (accessed April 2022).
- Cheong MS, Seo KH, Chohra H, Yoon YE, Choe H, Kantharaj V, Lee YB. 2020. Influence of Sulfonamide Contamination Derived from Veterinary Antibiotics on Plant Growth and Development. *Antibiotics* (e9) DOI: 10.3390/antibiotics9080456.
- Jancova P, Anzenbacher P, Anzenbacherova E. 2010. Phase II drug metabolizing enzymes. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* **154**:103–116.
- Jelínková I. 2000-2022. Atlas květin. Available from <https://www.atlasbotani.eu/> (accessed April 2022).
- Jursík M, Soukup J. 2022. Agromanuál: Rezidua herbicidů v půdě a jejich vliv na následné plodiny. Kurent, s.r.o, České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/> (accessed April 2022).
- Kacperska A. 2004. Sensor types in signal transduction pathways in plant cells responding to abiotic stressors: do they depend on stress intensity? *Physiologia Plantarum* **122**:159-168.
- Kader MA. 2005. A Comparison of Seed Germination Calculation Formulae and the Associated Interpretation of Resulting Data. *Journal & Proceedings of the Royal Society of New South Wales* **138**:65-75.
- Kaur N, Gupta AK. 2005. Signal transduction pathways under abiotic stresses in plants. *Current Science* **88**:1771-1780.
- Khan MA, Khan S, Khan A, Alam M. 2017. Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. *Science of The Total Environment* **601**:1591-1605.
- Khan MIR, Ashfaq F, Chhillar H, Irfan M, Khan NA. 2021. The intricacy of silicon, plant growth regulators and other signaling molecules for abiotic stress tolerance: An entrancing crosstalk between stress alleviators. *Plant Physiology and Biochemistry* **162**:36-47.
- KM EFSA. 2021. Neonikotinoidy: EFSA hodnotil nouzové použití neonikotinoidů u cukrové řepy. Ministerstvo zemědělství, Praha. Available from <https://www.bezpecnostpotravin.cz/> (accessed April 2022).
- Kotyza J, Soudek P, Kafka Z, Vaněk T. 2009. Léčiva – „Nový“ environmentální polutant. *Chemické listy* **103**:540-547.
- Kozisek F, Pomykacova I, Jeligova H, Cadek V, Svobodova V. 2013. Survey of human pharmaceuticals in drinking water in the Czech Republic. *Journal of water and health* **11**:84-97.
- Kudrna J, Hnilička F, Kubeš J, Vachová P, Hniličková H, Kuklová M. 2020. Effect of Acetaminophen (APAP) on Physiological Indicators in *Lactuca sativa*. *Life* (e10) DOI: 10.3390/life10110303.

- Kummerová M, Zezulka Š, Babula P, Tříška J. 2016. Possible ecological risk of two pharmaceuticals diclofenac and paracetamol demonstrated on a model plant *Lemna minor*. *Journal of Hazardous Materials* **302**:351-361.
- Kushwaha A, Hans N, Kumar S, Rani R. 2018. A critical review on speciation, mobilization and toxicity of lead in soil-microbe-plant system and bioremediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **147**:1035-1045.
- Kvesitadze E, Sadunishvili T, Kvesitadze G. 2009. Mechanisms of Organic Contaminants Uptake and Degradation in Plants. *World Academy of Science, Engineering and Technology* **55**:458-468.
- Lamhamdi M, Bakrim A, Aarab A, Lafont R, Sayah F. 2011. Lead phytotoxicity on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination and seedlings growth. *Comptes Rendus Biologies* **334**:118-126.
- Lapáčková J. 2013. Zemědělec – Dovoz zeleniny a ovoce do ČR je vysoký. Profi Press, Praha. Available from <https://zemedelec.cz/dovoz-zeleniny-a-ovoce-do-cr-je-vysoky/> (accessed March 2022).
- Lonappan L, Brar SK, Das RK, Verma M, Surampalli RY. 2016. Diclofenac and its transformation products: Environmental occurrence and toxicity-A review. *Environment International* **96**:127-138.
- Marsik P, Sisa M, Lacina O, Motkova K, Langhansova L, Rezek J, Vanek T. 2017. Metabolism of ibuprofen in higher plants: A model *Arabidopsis thaliana* cell suspension culture system. *Environmental Pollution* **220**:383-392.
- McDowell JM, Dangl JL. 2000. Signal transduction in the plant immune response. *Trends in Biochemical Sciences* **25**:79-82.
- Minden V, Deloy A, Volkert AM, Leonhardt SD, Pufal G. 2017. Antibiotics impact plant traits, even at small concentrations. *AoB PLANTS* (e9) DOI: 10.1093/aobpla/plx010.
- Patel M, Kumar R, Kishor K, Mlsna T, Pittman CU, Mohan D. 2019. Pharmaceuticals of Emerging Concern in Aquatic Systems: Chemistry, Occurrence, Effects, and Removal Methods. *Chemical Reviews* **119**:3510-3673.
- Pawłowska B, Telesiński A, Biczak R. 2021. Effect of diclofenac and naproxen and their mixture on spring barley seedlings and *Heterocypris incongruens*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* (e88) DOI: 10.1016/j.etap.2021.103746.
- Pazdera Z. 2015. Herbář Wendys: *Valerianella locusta* - kozlíček polníček. Available from <https://botanika.wendys.cz/> (accessed April 2022).
- Pomati F, Netting AG, Calamari D, Neilan BA. 2004. Effects of erythromycin, tetracycline and ibuprofen on the growth of *Synechocystis* sp. and *Lemna minor*. *Aquatic Toxicology* **67**:387-396.

- Rak L. 2007. Botany: PORTULACA OLERACEA L. – šruha zelná / portulaka zeleninová. Available from <https://botany.cz/> (accessed April 2022).
- Rede D, Santos L, Ramos S, Oliva-Teles F, Antão C, Sousa SR, Delerue-Matos C. 2019. Individual and mixture toxicity evaluation of three pharmaceuticals to the germination and growth of *Lactuca sativa* seeds. *Science of the Total Environment* **673**:102–109.
- Richter R. 2004. Těžké kovy v půdě. Mendelu. Mendelova univerzita, Brno. Available from <https://web2.mendelu.cz/> (accessed April 2022).
- Roskruge N. 2011. The commercialisation of kōkihi or New Zealand spinach (*Tetragonia tetragonioides*) in New Zealand. *Agronomy New Zealand* **41**:149-156.
- Sathishkumar P, Meena RAA, Palanisami T, Ashokkumar V, Palvannan T, Gu FL. 2020. Occurrence, interactive effects and ecological risk of diclofenac in environmental compartments and biota-a review. *Science of the Total Environment* (e698) DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.134057.
- Semo. 1993-2022. Salát hlávkový Král Máje 1. Semo, Smržice. Available from <https://www.semo.cz/> (accessed April 2022).
- Semo. 1993-2022. Špenát setý Matador. Semo, Smržice. Available from <https://www.semo.cz/> (accessed April 2022).
- Shabala S. 2017. Plant Stress Physiology, 2nd Edition. CABI, Boston.
- Scholer DW, Ku EC, Boettcher I, Schweizer A. 1986. Pharmacology of diclofenac sodium. *The American Journal of Medicine* **80**:34-38.
- Sousa B, Lopes J, Leal A, Martins M, Soares C, Valente IM, Rodrigues JA, Fidalgo F, Teixeira J. 2020. Response of *Solanum lycopersicum* L. to diclofenac – Impacts on the plant's antioxidant mechanisms. *Environmental Pollution* (e258) DOI: 10.1016/j.envpol.2019.113762.
- Svobodníková L, Kummerová M, Zezulka Š, Babula P. 2019. Possible use of a *Nicotiana tabacum* 'Bright Yellow 2' cell suspension as a model to assess phytotoxicity of pharmaceuticals (diclofenac). *Ecotoxicology and Environmental Safety* (e182) DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.109369.
- Svobodová V. 2010. Botany: ERUCA SATIVA (L.) Mill. – rosetka setá / eruka siata. Available from <https://botany.cz/> (accessed April 2022).
- Šerá B. 2014. Klíčivost jako běžný test v botanickém pozorování, šlechtění a experimentech. *Příspěvky k problematice zemědělského pokusnictví* 1:9-17.
- Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. 2012. Heavy Metal Toxicity and the Environment. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology* **101**:133–164.
- Van Der Werf HMG. 1996. Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **60**:81-96.

- Vašíčková J, Hvězdová M, Kosubová P, Hofman J. 2019. Ecological risk assessment of pesticide residues in arable soils of the Czech Republic. *Chemosphere* **216**:479-487.
- Veselý K. 2018. Veterinářství: EU zakázala pesticidy, které škodí včelám. ProfiPress s. r. o., Praha. Available from <https://vetweb.cz/> (accessed April 2022).
- Věžník A, Král M, Svobodová H. 2013. Agriculture of the Czech Republic in the 21st century: From productivism to post-productivism. *Quaestiones Geographicae* (e32) DOI: 10.2478/quageo-2013-0029.
- Vulava VM, Cory WC, Murphey VL, Ulmer CZ. 2016. Sorption, photodegradation, and chemical transformation of naproxen and ibuprofen in soils and water. *Science of The Total Environment* **565**:1063-1070.
- Vymazal J, Dvořáková Březinová T, Koželuh M, Kule L. 2017. Occurrence and removal of pharmaceuticals in four full-scale constructed wetlands in the Czech Republic – the first year of monitoring. *Ecological Engineering* **98**:354-364.
- Welbaum GE. 2015. *Vegetable Production and Practices*. CABI, Boston.
- Wieczerzak M, Kudlak B, Namieśnik J. 2018. Impact of selected drugs and their binary mixtures on the germination of *Sorghum bicolor* (sorgo) seeds. *Environmental Science and Pollution Research* **25**:18717–18727.
- Wijaya L, Alyemeni M, Ahmad P, Alfarhan A, Barcelo D, El-Sheikh MA, Pico Y. 2020. Ecotoxicological Effects of Ibuprofen on Plant Growth of *Vigna unguiculata* L. *Plants* (e9) DOI: 10.3390/plants9111473.
- Wong MH. 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere* **50**:775-780.
- Wu S, Zhang L, Chen J. 2012. Paracetamol in the environment and its degradation by microorganisms. *Applied Microbiology Biotechnology* **96**:875–884.
- Xiong L, Zhu JK. 2002. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. *Plant, Cell and Environment* **25**:131-139.
- Zeulka Š, Kummerová M, Babula P, Hájková M, Oravec M. 2019. Sensitivity of physiological and biochemical endpoints in early ontogenetic stages of crops under diclofenac and paracetamol treatments. *Environmental Science and Pollution Research* **26**:3965–3979.
- Zhang T, Li N, Chen G, Xu J, Ouyang G, Zhu F. 2021. Stress symptoms and plant hormone-modulated defense response induced by the uptake of carbamazepine and ibuprofen in Malabar spinach (*Basella alba* L.). *Science of The Total Environment* (e793) DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.148628.
- Zhou JL, Zhang ZL, Banks E, Grover D, Jiang JQ. 2009. Pharmaceutical residues in wastewater treatment works effluents and their impact on receiving river water. *Journal of Hazardous Materials* **166**:655-661.

Ziółkowska A, Piotrowicz-Cieślak AI, Rydzyński D, Adomas B, Nałęcz-Jawecki G. 2014. Biomarkers of Leguminous Plant Viability in Response to Soil Contamination with Diclofenac. *Polish Journal of Environmental Studies* **23**:263–269.

