

**Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních
zdrojů
Katedra genetiky a šlechtění**



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv kontaminace půdy mědí na růst vybraných odrůd
bramboru *in vitro***

Diplomová práce

Bc. Anežka Kantová, DiS.

Biotechnologie a šlechtění rostlin

Ing. Petr Sedlák, Ph.D.

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci Vliv kontaminace půdy mědí na růst vybraných odrůd bramboru *in vitro* jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu mé diplomové práce Ing. Petru Sedlákovi, Ph.D. a Ing. Vladimíře Sedlákové, Ph.D. za jejich cenné rady, pozitivní přístup, ochotu, poznatky, pomoc a trpělivost při vedení a zpracovávání mé diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat Stanislavě Mynaříkové za korekturu diplomové práce a mé rodině za podporu při studiu.

Vliv kontaminace půdy mědi na růst vybraných odrůd bramboru *in vitro*

Souhrn

Měď je jedním z esenciálních mikroprvků, které ovlivňují řadu biologických procesů v rostlinách. Ačkoliv je prvek pro rostliny důležitý, ve vyšších koncentracích působí fytotoxicky – může negativně ovlivnit obsah chlorofylu, fotosyntézu, a růst i vývoj rostlin. Tyto jevy lze objektivně studovat s využitím kultur *in vitro*, neboť umožňují přesné nastavení experimentálních podmínek.

Tato práce je zaměřena na vlivy koncentrace mědi v půdě na růst a vývoj rostlin, dále i na citlivost vybraných odrůd bramboru. Toxicita byla studována v *in vitro* podmínkách pomocí médií s různou koncentrací mědi. Pokus byl založen s 6 odrůdami a 2 somatickými hybridy *Solanum tuberosum* + *Solanum bulbocastanum*. Celkem bylo použito 160 rostlin, které byly kultivovány na 4 typech médií, která se lišila pouze koncentrací mědi – 0,06 ppm (kontrola), 0,6 ppm, 6 ppm a 60 ppm. Pokus byl proveden ve 2 technických nezávislých opakováních. Týdně byly vyhodnocovány znaky: délka a počet kořenů, délka stonků a celkový stav rostlin. Na závěr pokusu byla zjištěna hmotnost jednotlivých částí rostliny a obsah sušiny. Získaná data byla vyhodnocena analýzou rozptylu (ANOVA) v programu Statistica.

Význam hodnocení spočíval v potvrzení vlivu toxicity mědi na rostliny bramboru. Statisticky bylo prokázáno, že zvyšující se koncentrace mědi měla vliv na růst, vývoj i biomasu rostlin. Na médiích s koncentracemi mědi 0,06 ppm a 0,6 ppm nebyly pozorovány významné rozdíly v růstu. Při koncentraci 6 ppm již byly pozorovány statisticky významné rozdíly v růstu u všech odrůd – rostliny tvořily méně kořenů, kořeny a stonky byly kratší, a i hmotnost biomasy byla výrazně nižší než u kontroly. Na médiu s koncentrací 60 ppm došlo k inhibici růstu stonků i kořenů u všech odrůd. Výsledky pokusu ukázaly i odlišné reakce jednotlivých odrůd na různé koncentrace mědi v médiích. Nejvyšší toleranci k vyšší koncentraci mědi v půdě vykazaly odrůdy Apta a Bintje, což se projevilo malou retardací kořenů a stonků.

Klíčová slova: *Solanum tuberosum*; testování *in vitro*; kontaminace půdy mědi; toxicita mědi pro rostliny

Influence of contamination of soil by copper on the growth of selected potato varieties *in vitro*

Summary

Copper is one of the essential microelements that affect many biological processes in plants. Although copper is important for plants, in higher concentrations can be phytotoxic - it can negatively affect chlorophyll content, photosynthesis, and plant growth and development. These phenomena can be objectively studied using *in vitro* culture, to ensure accurate setting of experimental conditions.

This work is focused on the effect of copper concentration in the soil on the growth and development of plants, as well as on the sensitivity of selected potato varieties. Toxicity was studied *in vitro* using media with different copper concentrations. The experiment was established with 6 varieties and 2 somatic hybrids *Solanum tuberosum* + *Solanum bulbocastanum*. A total of 160 plants were used, which were cultured on 4 types of media, which differed only in copper concentrations - 0.06 ppm (control), 0.6 ppm, 6 ppm and 60 ppm. The experiment was performed in 2 replicates and evaluated by analysis of variance (ANOVA). The traits were evaluated weekly: length and number of roots, length of stems and overall condition of the plants. At the end of the experiment, the weight of the individual parts of the plant and the dry matter content were determined.

The importance of the evaluation was to confirm the effect of copper toxicity on potato plants. It has been statistically proven that increasing copper concentrations have an effect on plant growth, development and biomass. No significant differences in growth were observed on media with copper concentrations of 0.06 ppm and 0.6 ppm. At a concentration of 6 ppm, significant differences in growth were already observed in all varieties - the plants had fewer roots, the roots and stems were shorter, and the biomass weight was significantly lower than the control. Stem and root growth was inhibited in all varieties on 60 ppm medium. The results of the experiment also showed different reactions of individual varieties to different concentrations of copper in the media. The Apta and Bintje varieties showed the highest tolerance for higher copper concentrations in the soil, which was reflected in a low retardation of roots and stems.

Keywords: *Solanum tuberosum*; *in vitro* testing; contamination of soil by copper; toxicity of copper on plants

Obsah

1	Úvod	9
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	10
3	Literární rešerše	11
3.1	Lilkovité (<i>Solanaceae</i>)	11
3.2	Lilek brambor (<i>Solanum tuberosum</i> sp.)	11
3.2.1	Původ brambor, morfologie, anatomie	12
3.2.1.1	Anatomie a morfologie bramboru	12
3.2.1.2	Obsahové látky	13
3.2.2	Pěstební podmínky	13
3.3	Šlechtění bramboru	14
3.3.1	Novošlechtění a udržovací šlechtění	14
3.3.1.1	Novošlechtění	14
3.3.1.2	Udržovací šlechtění	14
3.3.2	Metody používané ve šlechtění brambor	16
3.3.2.1	Haploidizace	16
3.3.2.2	Polyploidizace	16
3.3.2.3	Mutační šlechtění	17
3.3.2.4	Genové manipulace	17
3.4	Charakteristika použitých odrůd	17
3.5	Těžké kovy	19
3.5.1	Těžké kovy v půdě	20
3.5.2	Toxicita těžkých kovů	21
3.5.2.1	Zmírnění důsledků toxicity těžkých kovů pomocí křemíku	22

3.6	Měď	22
3.6.1	Význam a použití mědi.....	22
3.6.1.1	Využití mědi v ochraně rostlin před chorobami.....	23
3.6.2	Měď v půdě.....	24
3.6.3	Hranice příjmu mědi.....	25
3.6.4	Toxicita mědi.....	26
3.6.4.1	Nanočástice mědi.....	28
3.6.5	Příjem a transport mědi v rostlinách.....	28
4	Metodika	31
4.1	Rostlinný materiál	31
4.1.1	Odrůdy.....	31
4.2	Médium	31
4.2.1	Příprava média a sterilizace.....	31
4.2.1.1	Sterilizace.....	32
4.3	Kultivace <i>in vitro</i>	33
4.3.1	Postup založení pokusu.....	33
4.3.2	Podmínky kultivace.....	33
4.3.3	Hodnocení pokusu.....	33
4.3.4	Statistické hodnocení.....	33
5	Výsledky	34
5.1	Vliv faktorů na délku stonku	34
5.2	Vliv faktorů na délku kořene	40
5.3	Vliv faktorů na hmotnost čerstvé biomasy	45
5.3.1	Stonk.....	45
5.3.2	Kořen.....	47

5.4	Vliv faktorů na hmotnost sušiny	51
5.4.1	Stonek.....	51
5.4.2	Kořen.....	52
6	Diskuze.....	55
7	Závěr.....	60
8	Literatura	61
9	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	69
10	Seznam použitých obrázků	70

1 Úvod

Brambory (*Solanum tuberosum* L.) jsou velmi oblíbenou potravinou, která je intenzivně pěstována ve více než 150 zemích světa. Jsou dobrým zdrojem energie, škrobu, vitaminů C, B, E a K, organických kyselin a minerálních látek. Mají ovšem vysoké nároky na obsah živin v půdě, protože během své vegetace vytváří velké množství hlíz. V tomto období je proto třeba zlepšit dostupnost živin pro podporu růstu a výnosu. Nejdůležitějšími makroživinami pro růst a vývoj brambor jsou dusík, draslík, fosfor, vápník, hořčík a síra (Westermann 2005).

Pro rostliny jsou také důležité mikroživiny, které hrají významnou roli v životně důležitých procesech. Jsou to klíčové prvky stimulující příjem primárních i sekundárních živin. Zvyšují obsah chlorofylu v listech, i účinnost fotosyntézy, která má vliv na zvýšení asimilační schopnosti celé rostliny (Tripathi et al. 2015). Singh a Kathayat ve svém výzkumu z roku 2018 dokázali, že aplikace roztoku s mikroživinami (s obsahem boru, mědi, manganu, zinku a molybdenu) na listy brambor zlepšuje příjem makroprvků (N, P, K). Zvyšuje též obsah chlorofylu v listech, což mělo pozitivní dopad na kvalitu a výnos brambor (Singh & Kathayat, 2018; Singh P. & Singh K. 2019). Hospodaření s živinami je tedy velmi důležité pro dosažení optimálního výnosu a kvality hlíz brambor. Na vysoký výnos brambor má vliv především aplikace optimálních dávek živin ve vyváženém poměru (Poljak et al. 2007; Manjunath et al. 2018).

Těžké kovy se kvůli své imobilitě mohou akumulovat v půdě. K průniku těchto prvků do půdy začalo docházet s rozvojem hutnictví a těžebního průmyslu. Dalším významným vlivem je vstup těžkých kovů do zemědělských půd prostřednictvím hnojiv. Hromadění těžkých kovů včetně mědi je ovlivněno především lidskou činností, která může jejich obsah snížit (např. správnou a pravidelnou sklizní), nebo naopak zvýšit (např. doprava a imise) (Sobhanardakani 2016). Příjem těžkých kovů z půdy je ovlivňován změnou pH půdy, obsahem organických látek, a celkově fyzikálně-chemickými vlastnostmi půdy. Jelikož jsou brambory podstatnou složkou lidské výživy, akumulace mědi a jiných těžkých kovů v nich představuje výrazné zdravotní riziko. To je důvodem, proč bychom neměli podceňovat snahy o minimalizaci průniku mědi a ostatních těžkých kovů do půdy, a následně do zemědělských plodin (Sinha et al. 2005).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem diplomové práce bylo ověřit následující vědecké hypotézy:

- Kultury *in vitro* poskytují homogenní a robustní prostředí pro simulaci změn v půdním roztoku a ověřování vlivů kontaminace půdy na vývoj rostlin.
- Rostliny bramboru citlivě reagují na kontaminaci půdy mědí změnou růstu orgánů.
- Existují meziodrůdové rozdíly v této reakci.

Hlavním cílem práce bylo navrhnout a optimalizovat *in vitro* metodu testování reakce odrůd na změny půdního roztoku pro praktické šlechtitelské využití. Dílčím cílem bylo ověření citlivosti vybraných odrůd bramboru na různé úrovně nadměrné kontaminace půdy mědí.

3 Literární rešerše

3.1 Lilkovité (*Solanaceae*)

Čeď lilkovité (*Solanaceae*) je velice rozmanitá skupina, která zahrnuje 96 rodů a 2500 druhů rostlin. Patří do ní i velké množství druhů, které jsou hospodářsky významné. Původem jsou *Solanaceae* z tropických a subtropických pásem, ale jelikož se mezi nimi nachází i kulturní plodiny, můžeme je nalézt i v mírných pásmech. V této čeledi se nacházejí jednoleté, víceleté, i vytrvalé byliny, dále také polokeře, keře a v některých tropických oblastech i stromy. Rostliny, nacházející se v této čeledi, jsou využívány ve farmacii a v lékařství, dále jako okrasné rostliny, a například i v tabákovém průmyslu. Ovšem nejvýznamnější je jejich využití v potravinářství (Novák & Skalický 2009).

3.2 Lilek brambor (*Solanum tuberosum* sp.)

Rod *Solanum* je největším rodem z čeledi lilkovité. Druhy rostlin rodu *Solanum* jsou klasifikovány na základě morfologických znaků, především pomocí tvaru plodů, tvaru listů, tvaru trsu či vzhledu prašníků a blizen. Jedním z významných druhů rodu *Solanum* je lilek brambor (*Solanum tuberosum* L.) (Linné 1753), řadící se do říše *Plantae* – podříše *Tracheobionta* – oddělení *Magnoliophyta* – řádu *Solanales* – čeledi *Solanaceae* – rodu *Solanum* – podsekcce *Potatoe* a série *Tuberosa* (Novák & Skalický 2009). Řadí se mezi nejpěstovanější plodiny světa. Je vytrvalou jednoletou bylinou, která kvete od června do srpna, a patří mezi hlíznaté dvouděložné rostliny. Vyskytuje se v tetraploidní formě. Mateřská rostlina bramboru je tvořena z hlízy, která během vegetace vyčerpá zásobní látky a odumírá. Kromě semen a nově vytvořených hlíz, odumírá na konci vegetace i celá nadzemní část rostliny (Hawkes 1994).

V posledních letech, díky rozvoji molekulárně biologických metod, došlo k popisu evolučních vztahů jednotlivých druhů rodu *Solanum* (Spooner et al. 2014). Většina z nich je nekulturní a divoce rostoucí. Právě druhy divoce rostoucí (plané) mají velký genetický potenciál pro šlechtění. Kromě šlechtění je velká pozornost u brambor věnována i agrotechnice a celkové ochraně rostlin (Tomšovic 2000).

3.2.1 Původ brambor, morfologie, anatomie

Brambory jsou jednou z velmi důležitých plodin na světě, mají vysoké výnosy, a jsou nutričně velmi hodnotné. Jsou původem ze Střední a Jižní Ameriky – úplně první zmínky o výskytu, pěstování a konzumaci brambor pocházejí z Chile z dob nástupu moderního zemědělství (Hawkes 1994).

3.2.1.1 Anatomie a morfologie bramboru

Z hlediska morfologie nejsou znaky brambor stabilní. Mohou být ovlivněny vnějšími vlivy, např. chorobami, změnami počasí, stářím rostliny, hustotou porostu a stanovištěm. Rostliny bramboru se dají charakterizovat na základě natě – podle té jsou buď stonkové nebo listové (Tomšovic 2000). Stonkový typ se rozezná podle drobných listů, stonk u těchto odrůd dobře vyniká. Na rozdíl od typu listového, který má velké listy a stonk zakrytý. Dále lze rozeznávat rostliny brambor i dle výšky trsu – vysoký, střední nebo nízký (Zadina & Jermoljev 1976).

3.2.1.1.1 Nadzemní část

Lilek brambor je vytrvalá rostlina, která se v našich podmínkách pěstuje jako jednoletá. Její nadzemní část se skládá ze stonků s listy, které mají zelenou stopku. Výška rostliny se pohybuje od 30 do 100 cm a může dosahovat až 2 metry do šířky. Lodyha je přímá až poléhavá. Tvary stonku se liší u každého kultivaru a jsou pro něj typické. Listy bramboru jsou lichozpeřené, s třemi až pěti páry okrouhlých lístků. Na stoncích se během vegetačního období tvoří květenství s pětičetnými květy. Květy se skládají z kalichu, pěti kališních lístků, pěti korunních lístků a mají 5 tyčinek a pestík. Tvoří mnohočetné vijany, které se skládají ve vrcholíky. Barva květů se může lišit intenzitou i odstínem, většinou je však bílá, modrá, růžová nebo fialová, a je to hlavní odlišovací znak odrůd (Kocián 2006). Plodem brambor jsou zelené až žlutozelené kulaté bobule, 20 až 40 mm velké, obsahující bílá ledvinovitá semena. Brambory jsou samosprašné, ale v některých případech mohou být i hmyzosnubné (Jašková 2008).

3.2.1.1.2 Podzemní část

Brambory vytváří svazčité kořeny a podzemní hlízy, což jsou zdužnatělé konce stonku, tvořící se na stolonech (oddenkových výběžcích). Hlízy nesou pupeny, které klíčí a následně vyrostou v rostlinu. K jejich tvorbě dochází na začátku kvetení a s počátkem tvorby plodů

nastává ukončení jejich vývoje. Kromě morfologických znaků, se odrůdy bramboru dají rozlišit i podle tvaru a barvy klíčků. Každý klíček má ztloustlou čáru, krček i horní část, která se nazývá vegetační vrchol. Spodní část klíčku tvoří základy kořenů a stolonů, střední část se shoduje s nadzemní částí stonku, a vrchní část je růstový vrchol zakrytý mladými listy. Klíčky rozeznáváme silné, střední a slabé (Zadina & Jermoljev 1976).

3.2.1.2 Obsahové látky

Čeď lilkovitá je významná i z hlediska obsahových látek. Nejvíce zastoupené jsou alkaloidy, které jsou jedovaté, dále i fenoly, taniny, kumariny, flavonoidy, silice, saponiny, steroidní laktony a triterpeny (Slavík 2000). V hlízách brambor můžeme nalézt sacharidy, především škrob, bílkoviny a vitamíny skupiny B a C. Kromě toho i velké množství vody (sušina dosahuje 24 %), solanin, dusíkaté látky, vlákninu a pektiny (Novák & Skalický 2009).

3.2.2 Pěstební podmínky

Pro správný růst a vývoj brambor jsou nejvhodnější lehké hlinitopísčité až hlinité půdy s pH 5,5 až 6,5. Optimální teplota pro růst brambor se pohybuje v rozmezí 18-20 °C, zatímco teplota pro klíčení je nižší - v rozmezí 6-9 °C. Pokud jsou teploty vyšší než 35 °C, dojde k inhibici růstu. Z hlediska kvetení patří brambory k dlouhodobým rostlinám, ale z hlediska hlíz patří ke krátkodobým, což znamená, že se při pozdějších sklizňových termínech snižuje úroda i výnos. Brambory se řadí mezi vlhkomilné rostliny, proto by srážky v místě pěstování měly být 350 až 450 mm v průběhu celé vegetace. Pro správný růst brambor by měl obsah vody v půdě být kolem 70 % (Sýkorová et al. 2008).

Dalším důležitým aspektem pro zajištění správného růstu je výběr osevního postupu a agrotechnika. Agrotechnika je pro pěstování brambor velmi důležitá, včetně hnojení a správně provedené sklizně. Brambory se sází v jarních agrotechnických termínech. Při výběru ideálního termínu sadby záleží na ranosti odrůdy a na nadmořské výšce. Kromě teploty a vlhkosti jsou brambory velmi náročné na stav půdy, která musí být zrypřená a strukturní. Agrotechnika musí být přizpůsobena i tomu za jakým účelem se brambory pěstují. Nejčastěji se dělí na sadbové, krmné, konzumní a průmyslové (Petr & Louda 1998).

3.3 Šlechtění bramboru

Odrůda je nejnižší systematickou jednotkou. Každá nově vyšlechtěná odrůda by měla být stabilní, uniformní a odlišitelná od dosavadních. Z genetického hlediska jsou odrůdy brambor klony, které jsou v Evropě pěstovány jako tetraploidní ($2n=48$) (Millam & Davie 2001). Šlechtění nových odrůd brambor využívá kulturní i nekulturní druhy z rodu *Solanum*, ale lze využít i jiné botanické druhy jako donory rezistence (Tomšovic 2000).

Hlavním důvodem šlechtění nejen brambor je získání charakteristických znaků a vlastností. Mezi tyto vlastnosti patří: dostatečný výnos hlíz, odolnost proti mechanickému poškození, odolnost proti chorobám a škůdcům, vhodnost ke skladování a vhodnost k průmyslovému zpracování. Ideální odrůda by měla být rezistentní vůči plísní bramboru, háďátku bramborovému i rakovině brambor. Nově vyšlechtěné odrůdy by měly mít spíše co nejméně negativních vlastností, než co nejvíce pozitivních (Chloupek 2000).

3.3.1 Novošlechtění a udržovací šlechtění

3.3.1.1 Novošlechtění

Novošlechtění bramboru využívá meziodrůdové i mezidruhové křížení. Účelem křížení při novošlechtění bramboru je přenesení vhodných vlastností rodičovských komponent do další generace. Jako rodičovské komponenty se využívají odrůdy, které dobře kvetou. Tyto odrůdy mají většinou klíčivý pyl a jsou dobře využitelné jako otcovské či mateřské komponenty. Výsledek šlechtění brambor závisí především na správném výběru rodičovských komponent a správné selekci v potomstvu z křížení (Zadina & Jermoljev 1976). Nejpoužívanějšími technikami ve šlechtění bramboru jsou haploidizace, polyploidizace, genové manipulace, mutační šlechtění a tkáňové kultury. Jednou z těchto metodou je i rekurentní fenotypová selekce, která v jednotlivých cyklech využívá individuální fenotypovou selekci (Chloupek 2000). V současné době se novošlechtěním bramboru v ČR zabývají: SATIVA Keřkov, a. s. (SATIVA), SELEKTA Pacov, a. s. (SELEKTA), VESA Velhartice, a. s. (VESA) a Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s. r. o. (VÚB).

3.3.1.2 Udržovací šlechtění

Udržovací šlechtění u bramboru má za cíl udržovat odrůdy ve stejné výnosnosti, stabilitě, v dobrém zdravotním stavu a kvalitě. Zdravotní stav a odrůdové znaky se udržují pomocí

opakovaného individuálního výběru. Dále dochází i k odstranění příměsí cizích rostlin pomocí negativní selekce. V současné době je největším problémem udržovacího šlechtění náchylnost bramboru k virovým onemocněním, která jsou přenášena hlízami do dalších generací. U brambor tedy ustupuje genetické hledisko do pozadí a do popředí se dostává hledisko fytopatologické (Zadina & Jermoljev 1976).

V udržovacím šlechtění lze vycházet z polní pozitivní selekce klonů, kterou provádí šlechtitel s ohledem na odrůdové vlastnosti a zdravotní stav rostlin. Dalším možným přístupem je množení šlechtitelského materiálu pomocí explantátů. Tato technika využívá podmínky *in vitro*, ve kterých probíhá rozmnožování ozdravených meristémových klonů. Hlavním přínosem explantátového množení je, že meristémové klony jsou zbaveny patogenů a jejich zdravotní stav je prověřený. Pro kontrolu zdravotního stavu u obou způsobů šlechtění se používá metoda ELISA. *In vitro* explantáty mají vysoký rozmnožovací koeficient, který umožňuje zkrácení cyklu polního množení předstupňů až o 3 roky. To podstatně snižuje riziko infekce virózami u náchylných odrůd (Vokál et al. 2003).

V porovnání s ostatními zemědělskými plodinami je udržovací šlechtění bramboru odlišné, kvůli tomu, že brambor je množen i udržován vegetativně. Výhodou šlechtění vegetativně množných rostlin je jejich snadná udržitelnost a stabilita. Nevýhodami jsou: snadný přenos chorob do dalších generací, objemnost množícího materiálu a schopnost snadno podléhat zkáze. Vyšlechtění požadovaných odrůd brambor není lehké, především kvůli vysoké heterozygotnosti, autoinkompatibilitě, samčí sterilitě u mnoha druhů a tetrasomické dědičnosti (Ancora & Sonnino 1987). Další překážkou je i značně omezená genetická variabilita způsobená vegetativním množením. I přes všechny zmíněné překážky vzniklo mnoho inovativních a biotechnologických metod, včetně editace genomu. Tyto metody vedly k vytvoření a udržení nové genetické variability, a k tvorbě rezistentních genotypů (Cardi 2001). Díky šlechtění dnes existuje mnoho kultivarů brambor, které se dále dělí dle ranosti a dle použití (Tomšovic 2000).

3.3.2 Metody používané ve šlechtění brambor

3.3.2.1 Haploidizace

Haploidní odrůdy bramboru mají vzhledem k tetraploidním odrůdám ($2n=48$) poloviční počet chromozomů ($2n=24$) a jsou nazývány dihaploidy. Hlavním důvodem k produkci haploidů bramboru je překonání nekřížitelnosti mezi druhy, především mezi diploidními druhy. Cílem je dosáhnout jejich převedení na nově vyšlechtěné odrůdy. K dosažení výchozího šlechtitelského materiálu, který bude mít vysokou homozygotnost znaků a vlastností, se využívá selekce na diploidní úrovni. Výhodou této metody je možnost získat požadované vlastnosti na menším množství materiálu a v kratší době než u tetraploidů. Haploidy se získávají opylením odrůd *S. tuberosum* pylem některých diploidních druhů – *S. phureja*, *S. boyacense* atd. (Zadina & Jermoljev 1976).

Existuje i další technika získání haploidních rostlin, a to opylením odrůd *S. tuberosum* ozářeným pylem téhož druhu. Následně vybíráme haploidy z dvojčatových rostlin. Haploidní rostliny mohou vznikat buď haploidní partenogenezí – vývoj embrya z neoplozené gamety, nebo apogametií – embryo se vytváří z jiné buňky než ze samičí gamety. Schopnost produkce haploidů je založena dědičně a dá se zvýšit křížením na odříznutých stoncích, opožděným opylením, ozářením i dvojnásobným opylením. Geny, které podmiňují vznik haploidů, se přenášejí pylem samčí rostliny a zabraňují splynutí gamet (Zadina & Jermoljev 1976).

3.3.2.2 Polyploidizace

Cílem polyploidizace je převedení materiálu z nižšího stupně ploidie na vyšší stupeň. Tato metoda se týká diploidních druhů bramboru, které jsou šlechtěny na tetraploidní. Využívání polyploidie směřuje k umožnění křížitelnosti planých druhů bramboru s odrůdami *S. tuberosum*. Polyploidizace umožnila využívat vzdálené druhy rodu *Solanum*, které nesou geny rezistence vůči chorobám a škůdcům bramboru. Výchozí šlechtitelský materiál s vysokou homozygotností lze získat i polyploidizací haploidů bramboru, které jsou šlechtěny na diploidní bázi. Výhodou polyploidizace je překonání sterility mezidruhových hybridů. Jedná se o amfidiploidizaci, při které dochází ke zdvojení počtu chromozomů sterilního hybridu. Tato metoda má za následek dosažení normální plodnosti (Zadina & Jermoljev 1976).

3.3.2.3 Mutační šlechtění

Mutační šlechtění záměrně využívá mutageny k indukci mutací s cílem rozšířit genetickou variabilitu výchozí generace. Nejčastěji používanými mutageny jsou fyzikální (záření) a chemické (alkaloidy, formaldehyd, močovina atd.). Mutacím mohou být vystaveny různé části rostliny - semena, pyl, meristémy, kalusy či protoplasty. Výhodou mutačního šlechtění je tvorba nových alel, kontrola nad procesem a zacílení na místo potřeby. Naopak nevýhodou je dlouhé trvání, nevíme, kdy k mutaci dojde a nemáme kontrolu nad výsledkem, tudíž nevíme, jestli pro nás výsledná alela bude vhodná. Mutageneze je nejrizikovější metodou získávání nových odrůd (Drobník 2006).

3.3.2.4 Genové manipulace

Genové manipulace slouží k ovlivnění jednoho nebo několika málo znaků, přičemž dochází k zachování všech ostatních vlastností. Při využití genových manipulací je větší předpoklad cíleného umístění genu u příjemce. I když je tato metoda hojně využívána, nese s sebou i nevýhody a rizika. Při přenosu i aktivaci genů může být překážkou tetraploidie brambor. Další nevýhodou je i velká variabilita projevu určitých znaků. Výsledkem může být nízká exprese přenesených genů u transgenních rostlin, což může mít za následek zhoršený fenotypový projev v polních podmínkách. Proto se musí provádět výrazná selekce i zpětná hybridizace transgenních rostlin. Regenerace těchto rostlin je považována za velice obtížnou. V některých případech není kultivace transgenní rostliny mimo *in vitro* prostředí vůbec možná (Celis et al. 2004).

3.4 Charakteristika použitých odrůd

V praktické část byly použity odrůdy bramboru vedené jako genetické zdroje v rámci Národního programu konzervace genetických zdrojů v Genové bance České republiky. Jejich charakteristika je zpracována na základě dat uvedených v databázi GRIN Czech (GRIN 2022).

Bintje

Bintje je odrůda bramboru původem z Nizozemí. Má nízkou rezistenci proti virovým, houbovým i bakteriálním chorobám. Co se týče chemického složení, tak vyniká zejména

obsahem bílkovin v hlízách. Dorůstá výšky 41-45 cm. Listy mají oválný tvar, jsou velké a mají tmavě zelenou barvu. Hlízy mají ledvinovitý tvar, jsou středně velké, žluté, a barva slupky je žlutohnědá. Vegetační doba je 81 až 90 dní, čímž se řadí mezi rané odrůdy. Výnos a kvalita hlíz dosahují vysokých hodnot.

Hindenburg

Původ odrůdy Hindenburg je v Německu. Je to odrůda se střední až vysokou rezistencí vůči chorobám bramboru, je náchylná pouze k plísni bramboru. Má vysoký obsah bílkovin v hlízách. Řadí se mezi vysoké rostliny, její výška dosahuje 51-55 cm. Listy jsou středně velké, jejich tvar je oválný a barva zelená. Hlízy mají tvar oválný, jsou velké a žluté, barva slupky je žlutohnědá. Chuť hlíz je dobrá. Vegetační doba této odrůdy se pohybuje mezi 110 až 120 dny, což odpovídá polopozdní charakteristice. Kvalita i výnos hlíz jsou středně vysoké.

Rita

Rita je odrůda pocházející z Československa a udržovatelem je firma SATIVA Keřkov a.s.. Je to odrůda s vysokou rezistencí vůči chorobám bramboru, je však náchylnější k plísni. Co se týče chemického složení, tak obsah proteinů v hlízách není tak vysoký jako u předchozích odrůd. Její výška se pohybuje mezi 31-35 cm. Listy má oválné, malé, a mají tmavě zelenou barvu. Tvar hlíz je oválný a barva vnitřku je žlutá. Vegetační doba této odrůdy je 71-80 dní, což ji řadí mezi rané odrůdy. Kvalita a výnos hlíz jsou vysoké.

Apta

Apta je odrůda pocházející z Německa. Je velmi odolná vůči rakovině bramboru a virózám, ale náchylná na plíseň bramboru. V chemickém složení nijak nevyniká, obsah proteinů v hlízách je nižší. Rostlina je středního vzrůstu, dosahuje výšky 41-45 cm. Listy mají oválný tvar, jsou středně velké, a jejich barva je zelená. Hlízy jsou oválné, jsou středně velké, a mají žlutou barvu. Chuť hlíz je na uspokojivé úrovni. Vegetační období je dlouhé - 110-120 dní. Proto se Apta řadí mezi polopozdní odrůdy. Kvalita a výnos hlíz jsou uspokojivé.

Sárpo Mira

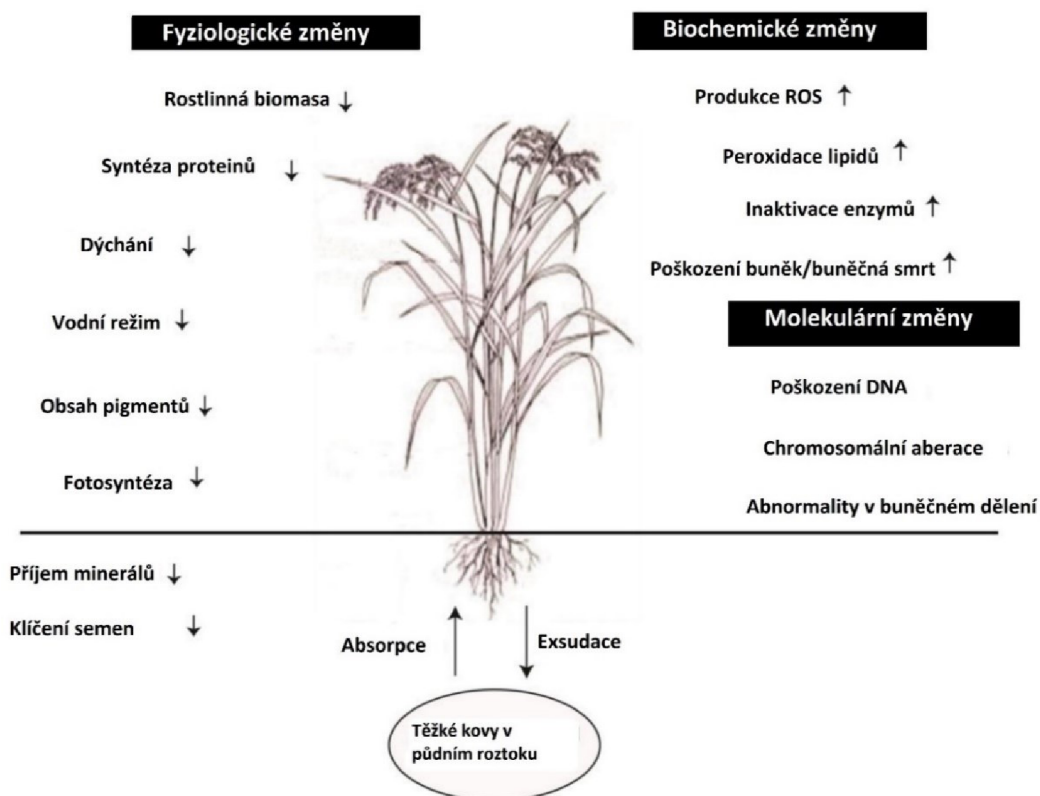
Sárpo Mira je odrůda brambor pocházející ze Spojeného království ze Sárvári Research Trust, a z Maďarska. Hlavní výhodou této odrůdy je vysoká rezistence vůči plísni bramboru a několika virovým chorobám.

Desiree

Odrůda Desiree pochází také Nizozemí. Má velmi nízkou odolnost vůči virovým i bakteriálním chorobám, ale má vysokou odolnost vůči plísni a rakovině bramboru. Z chemického hlediska není nijak výrazná, až na poměrně vysoký obsah proteinů v hlízách. Řadí se mezi vysoké rostliny, její výška dosahuje 51-55 cm. Listy mají podlouhlý oválný tvar, jsou poměrně velké, a jejich barva je tmavě zelená. Hlízy jsou oválné až podlouhlé, slupka je červená. Barva dužniny hlíz je žlutá. Vegetační období trvá 111-120 dní, což ji řadí mezi polopozdní odrůdy. Kvalita hlíz a chuťové vlastnosti jsou na velmi nízké úrovni, ačkoliv výnos hlíz je vysoký.

3.5 Těžké kovy

Příjem těžkých kovů rostlinami může ovlivňovat různé metabolické procesy v rostlinách, a vést ke změnám na úrovni biochemické, fyziologické či molekulární. V rámci těchto změn můžeme rozlišovat přímý a nepřímý vliv těžkých kovů, a také jestli zvyšují či snižují úroveň metabolických procesů (Obrázek 1). Těžké kovy ovlivňují především biologickou půdní aktivitu, fertilitu a biodiverzitu, a také zdraví rostlin, živočichů i lidí.



Obrázek 1: Příjem těžkých kovů kořeny rostlin a také jejich možné přímé a nepřímé negativní účinky na produktivitu plodin. Znaménko ↓ značí pokles a znaménko ↑ nárůst (upraveno dle Bhat et al. 2019).

3.5.1 Těžké kovy v půdě

V mnoha částech světa je půda pro rostlinnou produkci kontaminována těžkými kovy. Těžké kovy jsou nerozložitelné a imobilní, což znamená, že se mohou akumulovat v živých organismech. Přítomnost i stopového množství v životním prostředí může způsobit zdravotní rizika. Proto tyto prvky byly dlouhou dobu označovány za hlavní zdroj kontaminace půdy a rostlin (Giri et al. 2017).

Kontaminace zemědělských půd těžkými kovy je významným problémem především kvůli ekologickým účinkům. U rostlinných druhů bylo prokázáno, že jejich genetické vlastnosti mohou mít vliv na akumulaci mědi a její toxicitu. Kovy se totiž v rostlinách nehromadí rovnoměrně. U většiny byla nejvyšší hodnota těžkých kovů naměřena v kořenech, poté ve stoncích a listech, nejnižší hodnoty byly naměřeny v generativních orgánech a plodech (Rajkovic et al. 2002).

Hlavní příčiny kontaminace půdy těžkými kovy jsou antropogenní činnosti, převážně spojené s aktivitami v dolech. Zejména průmyslová činnost, jako je těžba kovových rud,

zpracování kovů, spalování fosilních paliv, produkce odpadních vod a agrotechnická činnost (pesticidy, fungicidy, hnojení, zavlažování), vedou k akumulaci těžkých kovů v prostředí. Další příčinou zvyšování koncentrací těžkých kovů v půdách jsou přírodní vlivy: meteorologické, biogenní a sopečné procesy, a dále eroze a vítr. Tyto faktory určují množství těžkých kovů absorbovaných v půdě. Nadměrná kontaminace půdy kovy v souvislosti se zemědělskou a průmyslovou činností ovlivňuje růst, vývoj a výslednou kvalitu zemědělských produktů (Kaasalainen & Yli Halla 2001; Gupta et al. 2019).

3.5.2 Toxicita těžkých kovů

Těžké kovy se v přírodě dělí na neesenciální potenciálně toxické (Cd, Pd, Hg, Cr, As a Ag), a na základní mikroživiny (Cu, Zn, Fe, Mn, Mo, Ni a Co), které jsou důležité pro správný růst a vývoj rostlin. Esenciální těžké kovy jsou ty, které mají na rostlinu pozitivní a ovlivňují metabolické procesy. Podílejí se na celé řadě procesů a jsou součástí enzymů. Růst rostliny je normální, pokud příjem dané živiny odpovídá jejím přesným požadavkům. Nedostatek živin může vést k různým symptomům a v extrémních případech i k úmrtí rostliny. Nadbytek neesenciálních, ale i esenciálních těžkých kovů vede ke zpomalení růstu, což je způsobeno změnami v metabolických procesech. Zvýšená koncentrace těžkých kovů neovlivňuje jen růst rostlin, ale mění pro ně i příjem, akumulaci a translokaci ostatních základních prvků. Mezi nejčastější účinky vysokých koncentrací těžkých kovů patří: inhibice růstu a fotosyntézy, chloróza, změněná asimilace živin a vodní bilance, a urychlené stárnutí, které v konečném důsledku vede ke smrti rostliny (Ali et al. 2011; Sobhanardakani et al. 2011; Kalaivanan & Ganeshamurthy 2016). U mnoha živých organismů mohou kovové nanočástice a nanomateriály na bázi oxidů kovů způsobit poškození nukleových kyselin (Atha et al. 2012).

Těžké kovy, kromě jiného, brání i vstřebávání a příjmu živin. To dokládá příklad, kdy zvýšení hladiny Cu vede k poklesu množství přijatého fosforu a draslíku. Ovlivněn může být i příjem dusíku, vápníku a hořčíku. Nedostatek živin je indikátorem vystavení rostlin vysokým koncentracím mědi, která negativně ovlivňuje propustnost membrány a aktivitu přenašečů (Ambrosini et al. 2018).

3.5.2.1 Zmírnění důsledků toxicity těžkých kovů pomocí křemíku

Bylo provedeno několik studií, které pomohly pochopit toxicitu těžkých kovů a její dopad na plodiny (Bhatti et al. 2013; Lamhamdi 2013; Li et al. 2014). V těchto studiích bylo zdůrazněno několik přímých i nepřímých fytotoxických účinků u vybraných hospodářských plodin. Ke zmírnění stresu v rostlinách přispělo několik přístupů. Mnoho studií zmiňuje prospěšnou roli křemíku (Si) při zmírňování stresu způsobeného biotickým i abiotickým stresem, včetně stresu, který způsobují těžké kovy (Liu et al. 2013; Lukačová et al. 2013; Song et al. 2009).

Základními mechanismy působení křemíku jsou - redukce kovových iontů v půdě, vylučování toxických kovů srážením a genová regulace související s přenosem kovů v rostlině. Dále stimulace antioxidantů, kompartmentace kovových iontů a strukturální změny v rostlinách. Bylo dokázáno, že exogenní aplikace křemíku zvýšila toleranci mnoha druhů rostlin k těžkým kovům (Bhat et al. 2019).

3.6 Měď

3.6.1 Význam a použití mědi

Měď je biogenním prvkem, který se u člověka uplatňuje hlavně při tvorbě krve. Je-li člověk dlouhodobě vysokým koncentracím Cu, tak u něj může dojít k anémii, artritidě, akné, autismu, hyperaktivitě, cukrovce, k dysfunkci ledvin, k problémům v oběhové soustavě, či k rakovině. Naopak deficit mědi způsobuje problémy s krvetvorbou, poruchy syntézy fosfatidů, s čímž se pojí i snížená aktivita cytochrom oxidázy v organismu (Ghafari & Sobhanardakani 2017; Čupr et al. 2003). V potravinách je doporučená hodnota mědi 30 mg/kg (Sharma et al. 2018).

Měď jako prvek je velice používána v mnoha odvětvích, např. v elektrotechnice nebo při tvorbě dekorativních výrobků, kdy se používají slitiny mědi (mosaz a bronz). S měďnatými sloučeninami se setkáváme také při výrobě plastů, přípravků na ochranu rostlin, při výrobě hnojiv, barev, ale také ve farmaceutickém průmyslu. Je jednou z látek, které jsou základní pro fungování rostlin, ale i jiných organismů. Řadí se mezi základní mikroživiny, tvoří základ mnoha proteinů a enzymů, a hraje velkou roli ve výživě rostlin (Chandra et al. 2014). Kromě jiného hraje měď klíčovou roli i u rostlin, převážně při asimilaci CO₂ a při tvorbě ATP. Je hlavní složkou různých proteinů – např. cytochrom oxidázy a aminoroxidázy, fotosyntetického systému a elektronového transportního řetězce (Sharma et al. 2018).

Maithreyee & Gowda (2015) provedly výzkum na semenech kukuřice, který potvrdil pozitivní vliv mědi. Semena kukuřice – po aplikaci oxidu měďnatého – vykazovala vyšší klíčivost, a docházelo u nich k prodloužení kořenů a výhonků. I u ostatních plodin měly nízké koncentrace mědi pozitivní vliv na růst a vývoj. Např. u pšenice měla aplikace kovových nanočástic mědi v koncentracích 0,2-1 ppm v MS médiu, vliv na zvýšení agronomických parametrů. Avšak koncentrace nad 2 ppm v MS médiu již ovlivňovaly rostliny negativně. Na druhou stranu nanočástice aplikované přímo do půdy v květináčích, v koncentracích 10-30 ppm výrazně zvýšily růst a výnos pšenice (Hafeez et al. 2015).

3.6.1.1 Využití mědi v ochraně rostlin před chorobami

Jedinými účinnými fungicidy, které jsou povoleny na používání pro ochranu brambor před plísní v ekologickém zemědělství, jsou produkty na bázi mědi (hydroxid měďnatý, oxid měďnatý a oxychlorid měďnatý). Tyto prostředky mají vliv na životní prostředí, úrodnost půdy, a v neposlední řadě také na vodní ekosystémy (Mizubuti et al. 2007). Opakované a neadekvátní používání chemických prostředků na ochranu rostlin má také vliv na kontaminaci půdy. Fungicidy s obsahem mědi spadají do skupiny kontaktních fungicidů, což znamená, že po aplikaci zůstávají na povrchu rostliny, kde tvoří ochranný film. Tyto přípravky jsou používány především ve vinařství, ale v dnešní době – s rozkvětem ekologického zemědělství – jsou používány i k jiným plodinám. Ve vinařství se tyto fungicidy využívaly dlouhou dobu, což vedlo k akumulaci mědi v půdě ve vinařských oblastech ve Francii, Brazílii, Chorvatsku i Španělsku (Zolnowski et al. 2013).

V zemědělství je mnoho houbových a bakteriálních patogenů, které způsobují závažná poškození rostlin, což vede ke ztrátám výnosu. Nanočástice mědi mají antimikrobiální aktivitu proti různým druhům patogenů rostlin. Oxichlorid mědi inhibuje klíčení spor houbových patogenů, kterými jsou např. *Fusarium oxysporum*, *Phoma destructiva* či *Alternaria alternata*. I jiné fungicidy na bázi mědi se používají při prevenci a léčbě chorob u mnoha druhů rostlin (Kanhed et al. 2014).

Při terénních studiích byly použity tři různé nanočástice mědi – Cu_2O , CuO , $\text{Cu/Cu}_2\text{O}$ – proti *Phytophthora infestans* a *Solanum lycopersicum*. Tyto nanočástice byly účinnější než běžně používané fungicidy na bázi mědi – např. kuprikol. Vyšší účinnost není jediný důvod využívání

nanočástic, bylo také dokázáno, že nanočástice na bázi mědi nezpůsobují trvalé poškození a nemají zhoubný účinek na rostliny (Giannousi et al. 2013). I antifungální aktivita, kterou mají měděné nanočástice, je velmi významná a činí z nich dobře využitelné agens pro management chorob rostlin. I přes to, že má měď přímý pozitivní vliv na inhibici rostlinných patogenů, její dopad na životní prostředí je znepokojující (Longano et al. 2012).

3.6.2 Měď v půdě

Měď je prvek, který se přirozeně vyskytuje v horninách a ve všech složkách prostředí. Největší koncentrace mědi v půdě jsou především okolo míst, kde se těžily kovy, a okolo vinic či jiných zemědělských ploch, které jsou ošetřovány měďnatými fungicidy. Do půdy se měď může dostávat i prostřednictvím odpadních vod a kalů. Spolu s olovem, kadmiem a zinkem se uvolňují hlavně při těžbě. Měď se v půdě může vyskytovat v různých formách sloučenin, nejčastěji však ve formě síranů a uhličitanů. Je vysoce absorbována půdními organickými látkami a jílem. Absorpce mědi nepřímo souvisí i s kyselostí půdy – se zvýšením pH se dostupnost tohoto prvku zvyšuje (Čupr et al. 2003).

V půdním prostředí se měď přirozeně vyskytuje se střední hodnotou 30-50 mg/kg suché půdy. V zemské kůře je průměrná hodnota mědi 60 mg/kg. Půdy, které mají vysoké procento jílu, mají většinou i vyšší prahové koncentrace mědi (Kupiec et al. 2019). Na koncentrace mědi má vliv i materiál a textura půdy, záleží tedy na půdním typu i druhu. Některé půdní typy, např. vertisoly, mají mnohem vyšší obsah mědi než ostatní (Oorts 2012). Vládní verdikt posouzení kontaminace půdy a potřeb sanace 214/2007 nastavuje prahovou hodnotu mědi na 100 mg/kg, což je považováno za znečištění, a orientační hodnotu na 150 mg/kg (MEF 2007). Ideální rozsah v orné půdě se pohybuje mezi 5-30 mg/kg (Tóth et al. 2016). Průměrná koncentrace mědi v zemědělských půdách ve střední a severní Evropě je 31,1 mg/kg sušiny (Heijerick et al. 2006).

Kontaminace půdy mědí je patrná především ve městech a kolem nich. U většiny testovaných vzorků, ve studii z roku 2020, koncentrace mědi přesahovaly limity hodnot pozadí (8 mg/kg) až desetinásobně. V jednom ze vzorků byla dle studie stanovena koncentrace mědi i 1000 mg/kg. V půdách, které se nacházely v blízkosti komunálních a výrobních skladů, byla koncentrace mědi 600-1000 mg/kg, zatímco v obytné zóně byly hodnoty nižší, 80-100 mg/kg. Na veřejných místech, jako jsou parky, byla hodnota mědi 400-600 mg/kg. V půdách, které byly spíše rekreační, byly hodnoty koncentrace mnohem nižší – okolo 30-50 mg/kg. Ve více

než 90 procentech vzorků použitých ve studii, byly hodnoty mědi 30x vyšší, než by měly být. To je typické především pro městské půdy, výrobní a skladové prostory, a pro účelové zóny (Splodytel 2020).

Kontaminace půdy mědí má kromě jiného vliv i na kvalitu zemědělských plodin. U brambor dochází k akumulaci mědi v hlízách. Mansour et al. (2009) zveřejnily koncentrace mědi, obsažené v bramborových hlízách. V odebraných vzorcích se hodnoty mědi pohybovaly od 0,059 do 0,178 mg/kg. Tyto hodnoty nejsou pro konzumaci člověkem nebezpečné (Musilová et al. 2017). V jiném výzkumu, kdy byly zkoumány obsahy Cu a Zn v loupaných hlízách a slupkách brambor, hodnoty odpovídaly evropskému průměru 4,5 a 10 mg/kg (Kabata-Pendias 2001).

Zamoření půdy mědí může trvat mnoho let kvůli nízké mobilitě a rozpustnosti. Velká část anorganické mědi se v půdě vyskytuje ve formě nerozpustných a pro rostliny tak nedostupných oxidů a sulfidů. Zbytek mědi je v půdě přítomen v organických sloučeninách, které jsou pro rostliny dostupné (Mihaljević et al. 2019). Mobilita mědi je dána i vlastnostmi a složením půdy. Vazba mědi na různé složky půdy snižuje její pohyblivost, a proto se hromadí převážně v ornici (Araújo et al. 2019; Ju et al. 2019).

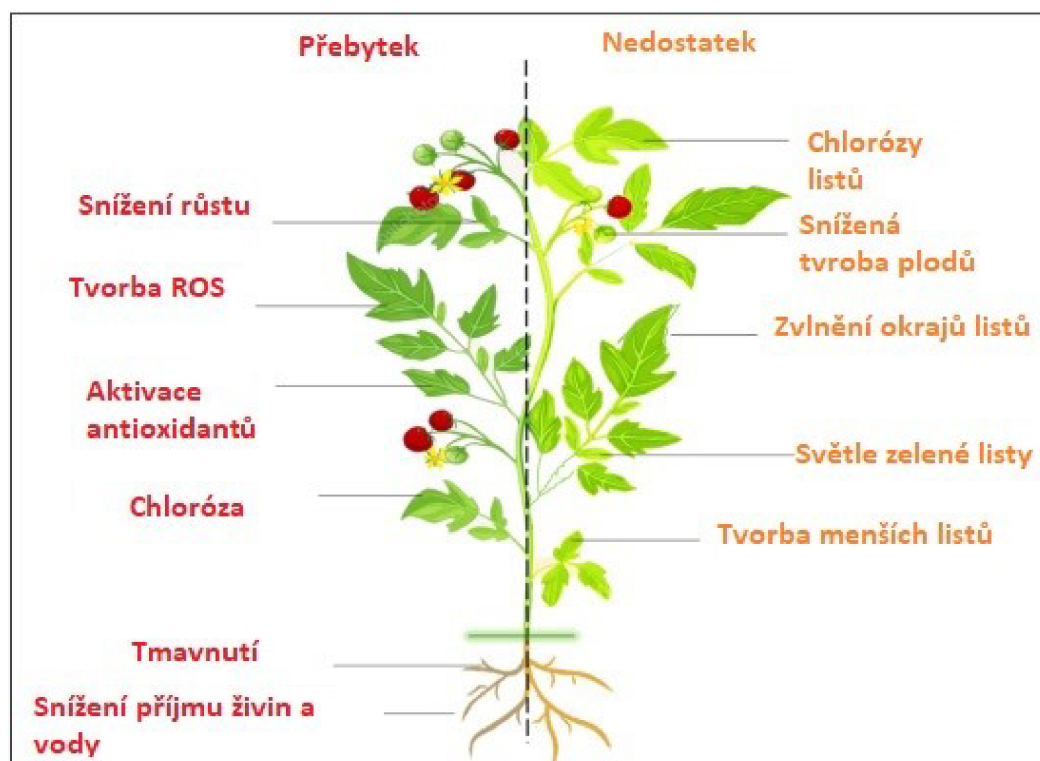
3.6.3 Hranice příjmu mědi

Národní i mezinárodní organizace navrhly minimální (0,9-1 mg/den) i maximální množství mědi (8-10 mg/den) pro příjem potravou u dospělého člověka. Průměrný příjem u mužů v evropských zemích se pohyboval od 1 do 2,3 mg/den, u žen byl příjem nižší a pohyboval se mezi 0,9 až 1,8 mg/den. Naměřené průměrné hodnoty byly mírně vyšší, ale zdaleka nedosahovaly maximálních hodnot (Van Dokkum 1995; Selahvarzi & Sobhanardakani 2020).

Kritická hodnota deficitu mědi u rostlin se pohybuje mezi 1 a 5 mg na kg sušiny. U různých rostlinných druhů se mohou hraniční koncentrace mědi lišit, většinou se hodnoty pohybují kolem 20-30 ppm (Chen et al. 2012; Jung et al. 2015). Optimální obsah Cu v rostlinách je tedy mezi 5 a 30 mg/kg (Kabata-Pendias & Pendias 2011). Normální obsah mědi v listech rostlin se pohybuje mezi 5 a 20 mg/kg, průměrný obsah je 10 mg/kg (Yruela 2009). Některé rostlinné druhy - *Zea mays* L., *Phaseolus vulgaris* L., *Aeolanthus biformifolius* a *Sorghum bicolor* (L.),

které se dají považovat za hyperakumulátory mědi, mohou v pletivech listů absorbovat až 1000 mg/kg (Reeves et al. 2018).

3.6.4 Toxicita mědi



Obrázek 2: Účinek Cu na rostliny. Přebytek mědi i její nedostatek mají negativní vliv na rostlin (upraveno dle Shabbir et al. 2020).

Ionty mědi Cu^{2+} jsou toxické pro všechny rostlinné buňky, protože reagují se sulfhydrylem (-SH) určitých aminokyselin, a to může vést k denaturaci proteinů a enzymů. Více toxické jsou sloučeniny mědi, které jsou organického původu (Čupr et al. 2003).

Měď a její sloučeniny mají významný vliv na fotosyntetickou aktivitu rostlin. Může dojít ke zpomalení či inhibici fotosyntézy či ke snížení obsahu chlorofylu v rostlinách. Dále dochází i k narušení reakčního centra fotosystému II (PSII). Nejběžnější indikací zvýšeného obsahu mědi v rostlinách je pokles výnosu rostlinné biomasy (Agrios 2005). Toxicita mědi, kromě zmíněných následků, ovlivňuje morfologii kořenů, protože se hromadí v kořenové tkáni a může být přenesen do výhonků (Yang et al. 2015). Kořenový systém a jeho plocha jsou většinou spojeny se vstřebáváním živin. Pokles v objemu kořenů při ošetření mědí ukazuje na významné snížení biomasy, což je přímo spojeno s dělením buněk, kromě toho dochází i ke ztlouštění buněčné stěny kořenů (Cai et al. 2014; Bochicchio et al. 2015).

Dalšími morfologickými příznaky toxicity jsou vadnutí listů, nekrózy na špičkách listů (Obrázek 2) a abnormality kořenů, jako jsou narušení kutikuly kořenů, snížení proliferace kořenových chloupků a deformace kořenů. K projevům u kořenů rostlin dochází mnohem dříve, ještě před tím, než dojde k ovlivnění nadzemních částí. Koncentrace mědi v rostlinách, která se pohybuje nad kritickými limity způsobuje chlorózu listů a celkovou cytotoxicitu. Chlorózy vyvolané nadbytkem mědi mohou být výsledkem inhibice akumulace pigmentu, a tím pádem zpomalením integrace chlorofylu do fotosystémů. Navíc nadbytek Cu v rostlinných buňkách podporuje oxidační stres. Vytváří reaktivní formy kyslíku (ROS), a ty jsou pro rostliny škodlivé. ROS jsou v rostlině likvidovány superoxiddismutázou a peroxidázou. Tyto enzymy jsou tedy důležité také pro snižování toxicity mědi (Huang et al. 2020).

Ve studii z roku 2020 bylo dokázáno, že ošetření čočky 3 mmol/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ byl snížen počet kořenů, došlo i k redukci kořenů a výhonků, snížil se růst semenáčků, a došlo ke snížení celkové biomasy (Hossain et al. 2020). V roce 2017 byl proveden výzkum změn koncentrace těžkých kovů včetně mědi v půdě. V obecné rovině lze říci, že se koncentrace těžkých kovů v půdě zvyšovala v jednotlivých vegetačních (kultivačních) obdobích. U mědi a dalších těžkých kovů byla střední koncentrace po 65 letech významně vyšší než u kontrolních bodů, což prokazuje akumulaci těžkých kovů během dlouholeté kultivace plodin (Shahbazi et al. 2017).

Toxicitu mědi u bramboru potvrdil i výzkum, provedený v roce 2019, který se soustředil na nanočástice těžkých kovů a jejich působení na kulturní plodiny. Při měření po dvou a třech týdnech od založení pokusu, kdy byly rostliny bramboru vystaveny nanočásticím mědi v koncentraci 0,05 mol/l, bylo pozorováno zpomalení růstu kořenů a klíčků. Ve srovnání s kontrolní rostlinou bylo zpomalení růstu až o 65 %. Nanočástice použitých kovů přispěly k inhibici či urychlení růstu v závislosti na citlivosti rostliny, ale i na biochemickém složení nanočástic. Ačkoliv byly rostliny vystaveny i vyšším koncentracím mědi, nebyly pozorovány přímé změny v obsahu chlorofylu. Změny byly pozorovány u karotenoidů, kde došlo ke zvýšení jejich obsahu až o 45 % oproti kontrolní rostlině. To svědčí především o tom, že se v rostlině spustila primární reakce na stres, nebo došlo ke zvýšení oxidačních procesů (Mushinskiy & Aminova 2019).

3.6.4.1 Nanočástice mědi

V současné době je pozornost věnována zvyšování výnosu plodin, a to převážně prostřednictvím nanotechnologických zásahů. Zaměřuje se na posílení růstu rostlin, snížení dopadu biotických látek a abiotického stresu (Chandra et al. 2014). Nanočástice těžkých kovů mohou mít na růst rostliny různý dopad. Záleží především na složení, koncentraci, velikosti, fyzikálně-chemických vlastnostech, a také na druhu rostlin (Atha et al. 2012). Nanočástice mědi vynikají především díky rozšířenému použití jako antibakteriální látky při skladování a balení potravin (Chen et al. 2012; Longano et al. 2012).

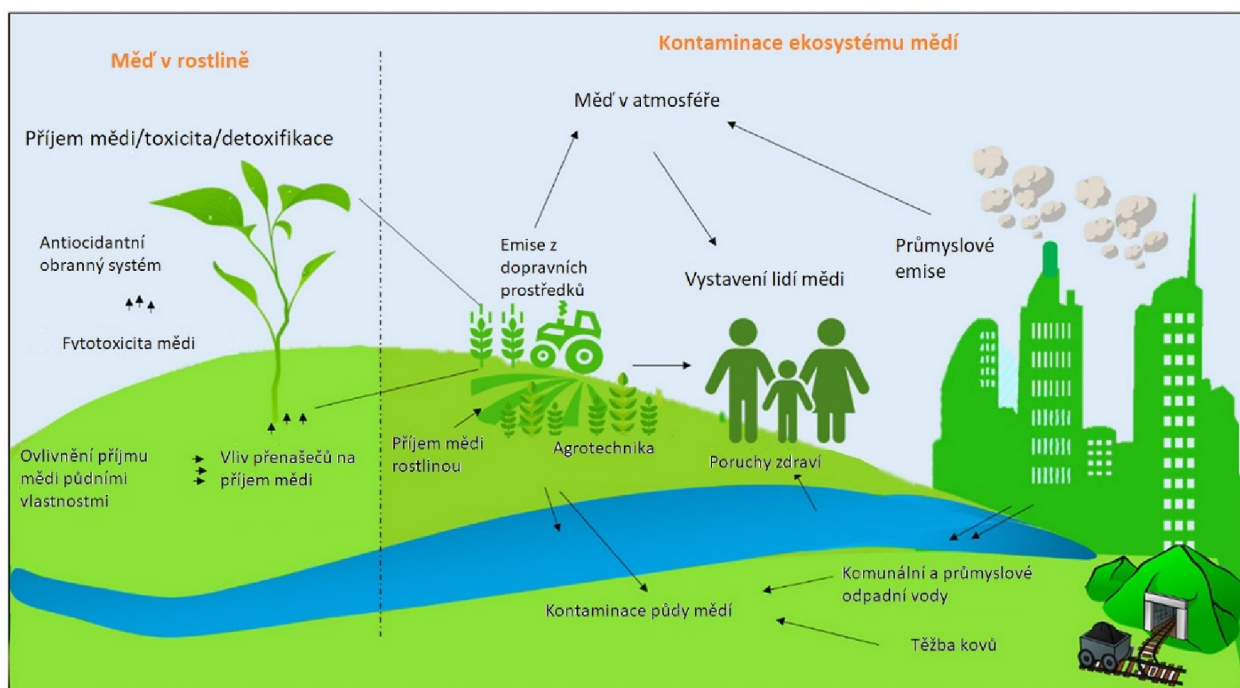
V laboratorních podmínkách, kde je kontrolována teplota, vlhkost i tlak, nanočástice mědi a oxidu měďnatého v různých koncentracích (200-1000 ppm) negativně ovlivnily růst různých druhů plodin (pšenice setá, mungo fazole, ředkev setá) (Lee et al. 2008; Atha et al. 2012). U rostlin sóji došlo k redukci růstu i na Murashige a Skoog médiu po přidání 50-500 ppm nanočástic oxidu měďnatého. Pokusy s nanočásticemi oxidu měďnatého prokázaly i významné snížení biomasy a celkového obsahu chlorofylu v rostlině *Arabidopsis thaliana*. Při koncentracích mědi v 5 ppm došlo ke zvýšení obsahu antokyanů, ke zvýšené peroxidaci lipidů a obsahu aminokyseliny prolinu (Nair & Chung 2014a; Nair & Chung 2014b; Kasana et al. 2017).

Nanočástice mědi ovlivňují kromě růstu nadzemních i podzemních orgánů i buněčné procesy. V rostlinách *Allium cepa* došlo ke zvýšení mitotického indexu v aktivně se dělících buňkách při koncentraci 20 ppm, při postupném zvyšování koncentrace mědi se hodnoty mitotického indexu zase snižovaly (Nagaonkar et al. 2015). Při vystavení klíčících sazenic rýže a cizrny nanočásticím oxidu měďnatého v koncentraci nad 50 ppm došlo k toxické reakci (Nair & Chung 2015). Nanočástice oxidu měďnatého v koncentracích nad 10 ppm inhibovaly růst transgenní i konvenční bavlny. Nicméně při nižších koncentracích oxidu měďnatého (pod 10 ppm) došlo ke zvýšení exprese genu, kódujícího Bt toxin protein v listech a kořenech. Zvýšená exprese daného proteinu v Bt bavlně zlepšila odolnost vůči hmyzu (Van et al. 2016).

3.6.5 Příjem a transport mědi v rostlinách

Biogeochemický cyklus v systému půda-rostlina-člověk je považován za základ koloběhu mědi v živých organismech. Koncentrace mědi v rostlinách je úzce spojena s koncentrací mědi

v půdě. Je proto důležité sledovat koncentrace mědi v půdě a její přenos nejen do rostlin, ale i do lidského organismu.



Obrázek 3: Cyklus mědi v přírodě. Kontaminace půdy, atmosféry, vody a příjem Cu rostlinami i lidmi (upraveno dle Shabbir et al. 2020).

Rostliny absorbují měď z půdy ve formě Cu^{2+} , protože mají vyšší afinitu než ostatní formy mědi. Měď se primárně hromadí v kořenech a poté se přenáší i do nadzemních částí (Obrázek 3). Většina absorbovaných iontů Cu^{2+} se akumuluje poblíž kořenové rhizodermis a v cévních svazcích a pletivech (Ghazaryan et al. 2019). Příjem mědi a její transport závisí především na hladině Cu v půdě a na prostředí, ve kterém rostlina roste a vyvíjí se (Saleem et al. 2020). Rostliny přijímají ionty kovů z půdy přes epidermis kořenových buněk, a poté se přenesou přes parenchym do endodermis, a následně do xylému. Tento způsob příjmu kovů je zprostředkován různými přenašeči a jejich interakcemi. Mechanismus příjmu mědi je podobný tomu, který se podílí na příjmu Fe (Printz et al. 2016).

Získávání mědi rostlinou je ovlivněno ekotypem, druhem i odrůdou dané rostliny. Uvnitř kořenových buněk jsou absorbované ionty mědi přenášeny pomocí Cu-komplexů. Kořenový přenos závisí především na zatížení xylému (Ghazaryan et al. 2019). Měď v rostlině může být přenášena i apoplastickými cestami, kde její vyšší koncentrace může vyvolat toxickou reakci a oxidační poškození rostlin. Prostřednictvím apoplastických drah se může měď vázat na ligandy

buněčné stěny, a tím snižovat její plasticitu. Tato vazba kovů vede ke zmenšení velikosti pórů a narušení aplanostického tok (Kopittke et al. 2011).

Přenos mědi od kořenů k nadzemním částem je zprostředkován pomocí specifických chelátorů a přenašečů. Nikotianamin zprostředkovává v rostlinách minerální homeostázu, a spolu s histidinem mají největší vazebnou kapacitu pro měď. Proto jsou ideálními ligandy pro chelataci Cu v xylému a jejich translokaci do pletiv výhonků. Je možné, že nikotianamin závisí na obsahu mědi, protože se u rostlin objevuje pouze při jejím nadbytku. Nikotianamin je specifický Cu-chelátor ve floému, a v xylému tuto roli zastává deoxymugineová kyselina. (Ogunkunle et al. 2019). Transport mědi z buňky do buňky probíhá pomocí proteinů, které působí jako chaperony pro Cu (Matson Dzebo et al. 2018). Měděné chaperony vážou a přenášejí měď z cytoplazmy do místa, kde je měď využívána proteiny, které jsou na ní závislé. Tímto způsobem řídí metalochaperonové proteiny správný přenos i použití mědi uvnitř rostlin. Zároveň se snaží minimalizovat kontakt mědi s ostatními buňkami (Fukuoka et al. 2017).

Dynamika příjmu a transportu živin, při nadbytku mědi, může být způsobena konkurencí o přenašeče mezi mědí a ostatními živinami. Dále může docházet i ke změnám genové exprese při příjmu živin na transkripční i post-transkripční úrovni (Roy et al. 2017; Zhang et al. 2017). Hromadění těžkých kovů v rostlinách závisí do značné míry na pH půdy, na teplotě, salinitě, ale i na dalších vlastnostech půdy. Snížení pH v půdě pozitivně ovlivňuje dostupnost esenciálních těžkých kovů pro rostliny. Míra vlivu mědi se liší i v závislosti na rostlinném druhu a odrůdě. Bylo také zjištěno, že koncentrace jednoho kovu může ovlivnit či omezit příjem jiných esenciálních kovů rostlinou. Snížená dostupnost kovů v půdě, je způsobena vyšší adsorpcí v alkalických a neutrálních půdách (Furini 2012; Ashraf et al. 2011).

4 Metodika

4.1 Rostlinný materiál

Pro testování vlivu mědi na odrůdy bramboru byly použity *in vitro* kultury poskytnuté Genovou bankou *in vitro* při výzkumném ústavu bramborářském Havlíčkův Brod, s.r.o. Pokus byl založen z rostlin, které nevykazovaly deformace a růstové abnormality vlivem *in vitro* kultivace.

4.1.1 Odrůdy

Vliv koncentrace mědi byl zkoumán na šesti různých odrůdách bramboru (*S. tuberosum* sp.). Byly použity odrůdy: Rita (ID: 07S0100869), Bintje (ID: 07S0100128), Desiree (ID: 07S0100243), Hindenburg (ID: 07S0100455), Sárpo Mira a Apta (ID: 07S0100052).

4.2 Médium

Pro *in vitro* kultivaci byly použity čtyři druhy médií, které obsahovaly různé koncentrace mědi. Měď do média byla dodána pomocí pentahydrátu síranu měďnatého. Složení médií je uvedeno v Tabulce 1.

Tabulka 1: Složení jednotlivých médií

	Médium 1 - kontrola	Médium 2	Médium 3	Médium 4
sacharóza	30 g/l	30 g/l	30 g/l	30 g/l
agar	6,5 g/l	6,5 g/l	6,5 g/l	6,5 g/l
MS médium s vitamíny	4405,19 mg/l	4405,19 mg/l	4405,19 mg/l	4405,19 mg/l
pH	5,8	5,8	5,8	5,8
CuSO₄ · 5H₂O	0	2,5 mg/l	25 mg/l	250 mg/l
Cu	0,06 ppm	0,6 ppm	6 ppm	60 ppm

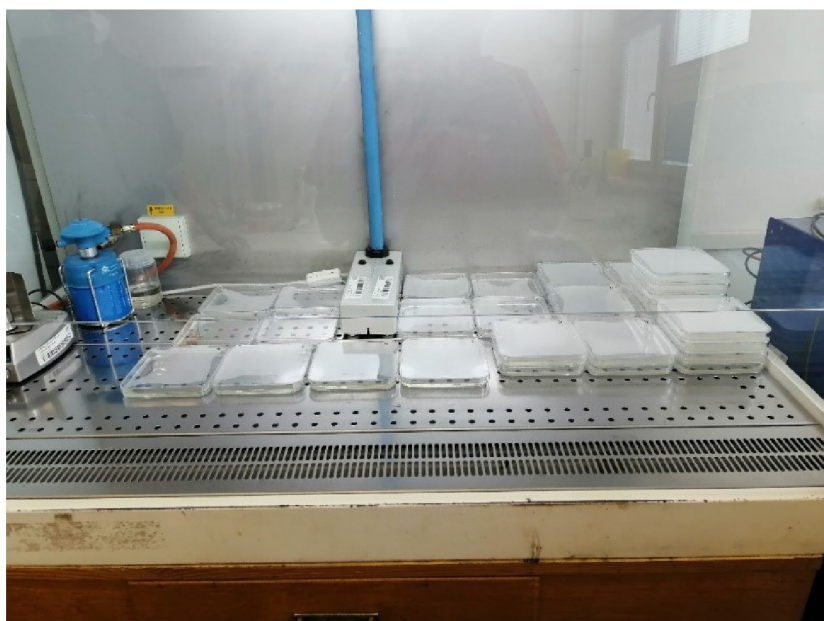
4.2.1 Příprava média a sterilizace

Vybavení použité na přípravu média: mikrovlnná trouba, autokláv, chemikálie, složky médií a analytické váhy.

Médium bylo připravováno v plastové kádince s obsahem 1 litr. Na přípravu 1 l média bylo použito 30 g sacharózy, 6,5 g agaru, 4,40519 g MS media (Murashige/Skoog s vitamíny) a

voda. Agar byl ve 350 ml rozvařen v mikrovlnné troubě a následně přimíchán k roztoku ostatních komponent (650 ml).

1 l média byl rozdělen na 4 porce po 250 ml pro přípravu jednotlivých variant, které byly upraveny podle Tabulky 1. Nejprve bylo rozpuštěno 500 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ve 2 ml destilované vody a následně probíhalo ředění na stanovenou koncentraci. V každém médiu, kromě kontroly, bylo po přidání $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ vyrovnáno pH na 5,8-6 pomocí KOH (1 mol/l). Připravená média byla vysterilizována ve stolním autoklávu (Tutnauer, Německo) po dobu 15 minut.



Obrázek 4: Laminární box (flowbox) – plynový kahan pro sterilizaci, ethanol, Petriho misky.

Ve sterilním prostředí pomocí laminárního boxu (flowboxu) byly všechny varianty média postupně rozlity do čtvercových Petriho misek o rozměru 12x12 cm (Obrázek 4). Do každé misky bylo odměřeno 30 ml média. Celkem bylo připraveno 32 misek, což odpovídalo potřebě pro testování 8 odrůd na 4 variantách média v 5 biologických opakováních. Celý pokus byl proveden ve dvou nezávislých technických opakováních pro ověření opakovatelnosti této metody.

4.2.1.1 Sterilizace

Při *in vitro* kultivaci je důležité zabránit kontaminacím. Z toho důvodu se kultivoval čistý a sterilní rostlinný materiál. Pro sterilizaci pracovních ploch (včetně laminárního boxu), rukou a nástrojů byl použit ethanol.

Sterilizace média probíhala v autoklávu při teplotě 121 °C a po dobu 15 minut. Podobně se sterilizovaly i všechny nástroje (pinzeta, nůžky, skalpel), které byly dílčí manipulací dále udržovány sterilní opálením pomocí plynového kahanu.

4.3 Kultivace *in vitro*

4.3.1 Postup založení pokusu

K pokusu byly použity 1 měsíc staré kultury odrůdy brambor pěstované *in vitro* v kultivačních boxech. Z každé odrůdy byly pomocí nůžek a pinzety odebrány axilární pupeny (list s částmi internodií). Do každé Petriho misky bylo umístěno 5 axilárních pupenů v rovnoměrných rozestupech. Spodní část internodia byla do média vložena tak, aby mohlo dojít k růstu kořenu a stonku, a aby byly rostlinky správně vyživovány. Následně byly Petriho misky uzavřeny a utěsněny parafilmem a vloženy do kultivační skříně.

4.3.2 Podmínky kultivace

Ke kultivaci rostlinek byly použity kultivační skříně Sanyo MLR 351. Kultivační skříně byly nastaveny na cyklus: 16 hodin den při teplotě 24 °C a 8 hodin noc při teplotě 18 °C. Vlhkost byla nastavena na 50 %, světelný výkon byl nastaven na maximální výkon (160 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

4.3.3 Hodnocení pokusu

Celý pokus trval 4 týdny a hodnocení růstu probíhalo v týdenních intervalech. Každý týden byly pozorovány a hodnoceny tyto znaky: počet kořenů, délka kořenů a stonků, zdravotní stav rostliny a případné kontaminace. Ve čtvrtém týdnu pokusu byly rostliny vyjmuty z média, očištěny a změřeny. Následně byly zváženy jednotlivé části – kořeny a natě zvlášť. Po zvážení byly rostlinné části lyofilizovány v lyofilizátoru Christ Alpha 1-4 (Christ, Německo) po dobu 24-48 hodin. Po vyjmutí z lyofilizátoru byly rostlinné části znovu zváženy pro výpočet sušiny.

4.3.4 Statistické hodnocení

Pro statistické vyhodnocení dat byl použit program Statistica 12 od firmy StatSoft. Zhodnocení bylo provedeno analýzou rozptylu (ANOVA) na hladině významnosti 0,05. Dále byly použity Tukeyův HSD test pro podrobnější vyhodnocení.

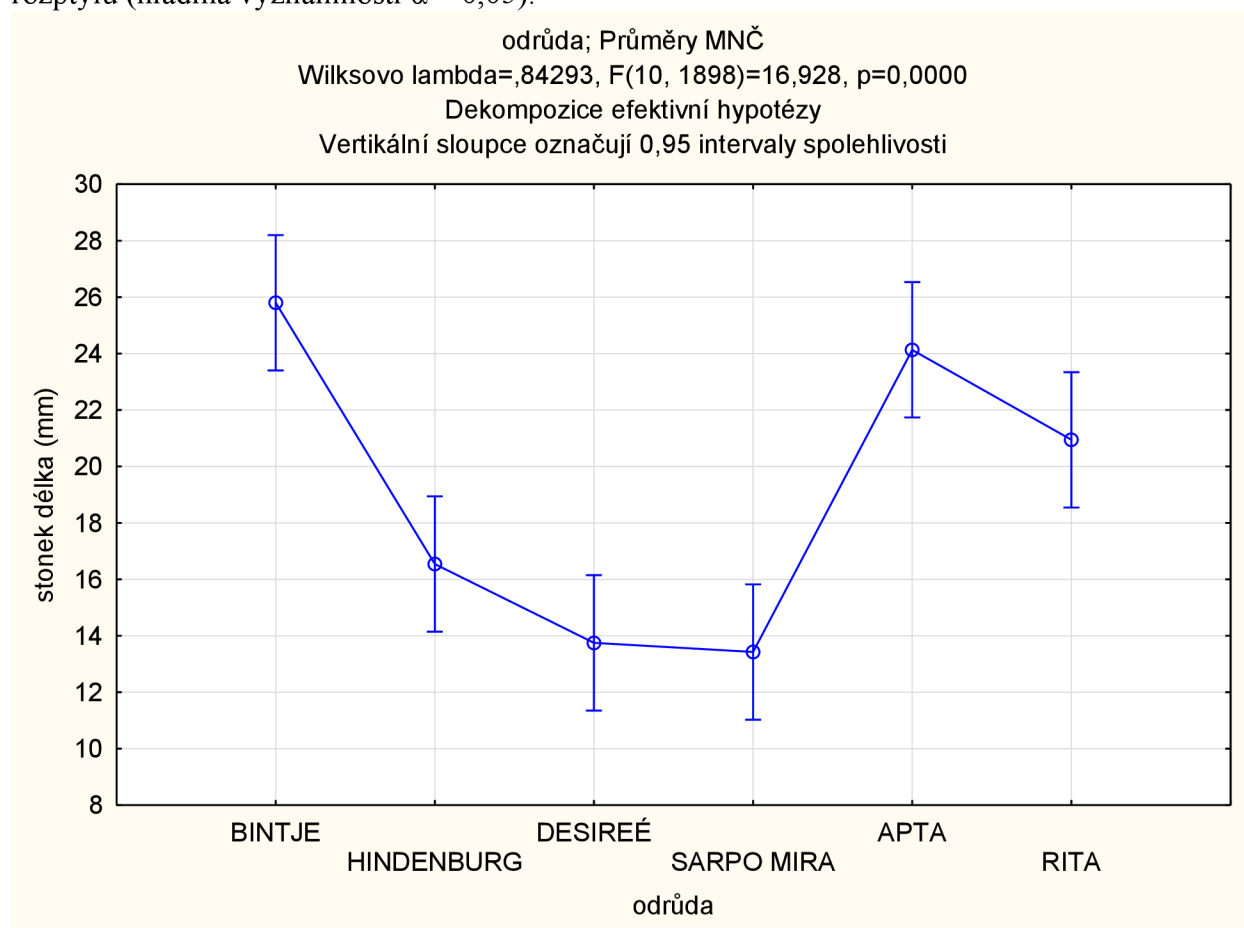
5 Výsledky

Získaná data z týdenního pozorování byla vyhodnocena pomocí programu Statistica. Výsledky byly hodnoceny metodou analýzy rozptylu (ANOVA) a dále byly podrobně vyhodnocovány Tukey HSD testem.

5.1 Vliv faktorů na délku stonku

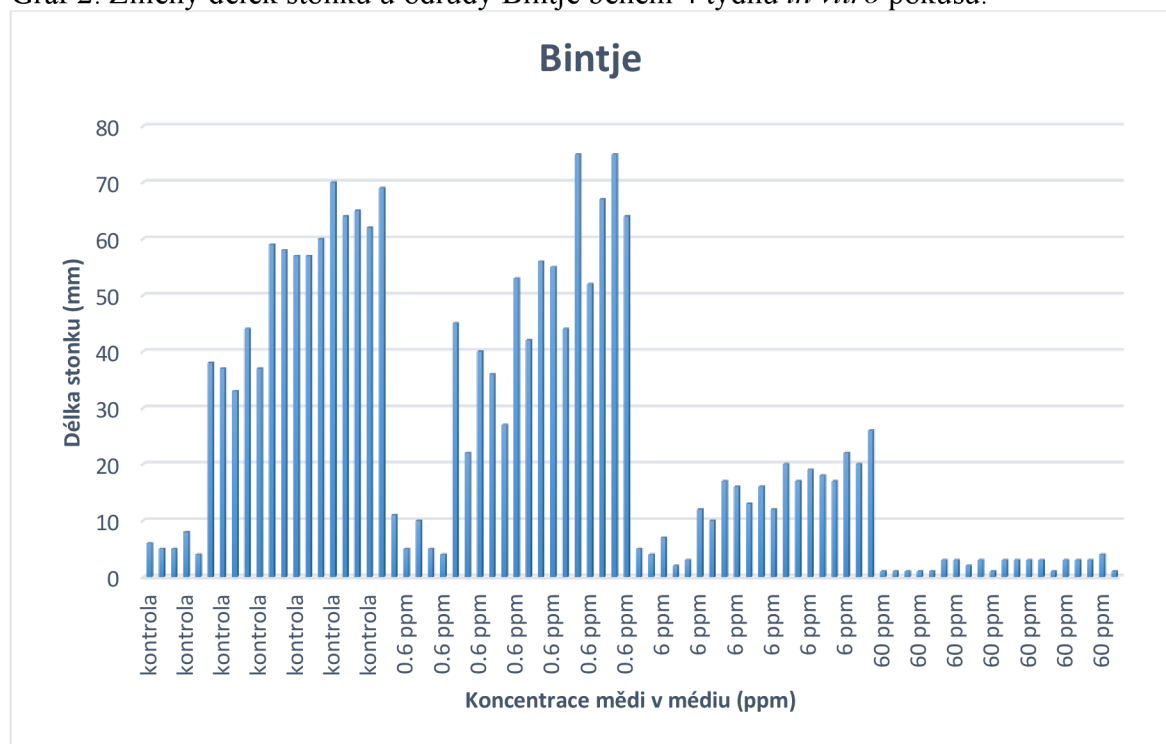
Z grafu 1 lze vyčíst proměnlivé délky stonků (mm) u různých odrůd. Průměrné délky se lišily významně, což mělo souvislost i s použitým médiem, na kterém jednotlivé rostliny byly kultivovány. Z povahy odrůdy většinou vyplývá i délka stonků a celková architektura kořenového systému, což mohlo přispět i ke kratším kořenům v rámci našeho pokusu.

Graf 1: Průměrná délka stonků dle jednotlivých odrůd. Pro testování byla použita analýza rozptylu (hladina významnosti $\alpha = 0,05$).



Graf 2 dokumentuje změny délky stonků během 4 týdnů *in vitro* pokusu. Lze z něj vyčíst, že odrůda Bintje vykazovala mírný nárůst délky stonků při koncentraci mědi 0,6 ppm. Se zvyšující se koncentrací se délky stonků zkracovaly. Na variantě média s 60 ppm mědi tvořila tato odrůda stonky jen minimálně. Odrůdy Apta a Rita reagovaly podobně jako Bintje při zvyšujících se koncentracích. Sárpo Míra, Desiree a Hindenburg vykazovaly výrazné zpomalení růstu stonků už při koncentraci 0,6 ppm.

Graf 2: Změny délek stonků u odrůdy Bintje během 4 týdnů *in vitro* pokusu.



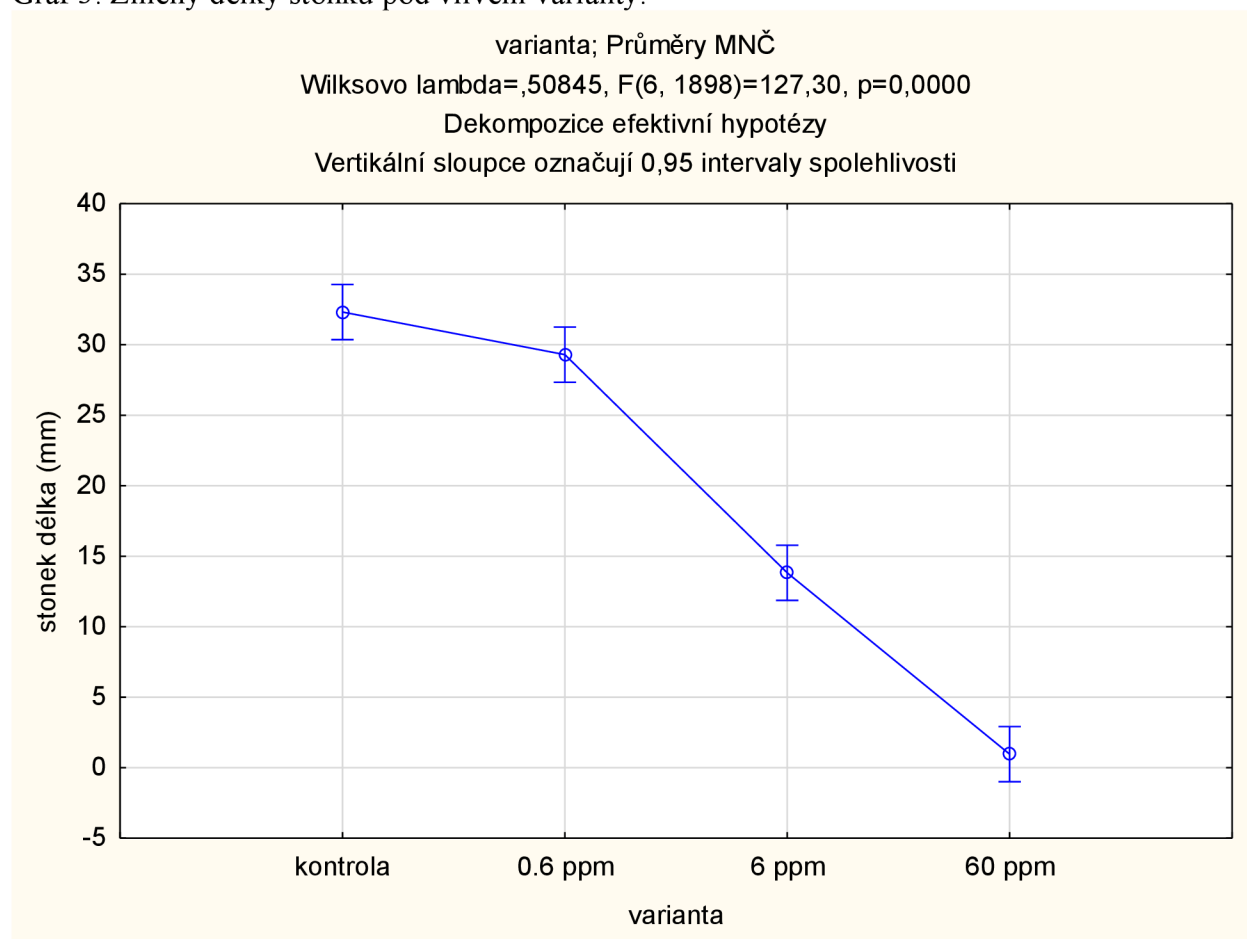
V následující tabulce jsou pomocí ANOVy otestovány vlivy varianty pokusu a odrůdy na délky stonků. Vícerozměrná analýza rozptylu prokázala zanedbatelný vliv pokusu, tedy nebyl prokázán rozdíl mezi nezávislými opakováními. Na druhou stranu, vliv varianty média a vliv odrůdy na délku stonku byly prokázány (Tabulka 2).

Tabulka 2: Vícerozměrná analýza rozptylu ukazuje na průkazné rozdíly mezi odrůdami a pokusnými variantami v délce stonku (hladina významnosti $\alpha = 0,05$).

Efekt	Vícerozměrné testy významnosti. (Data z pokusů) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy					
	Test	Hodnota	F	Efekt SV	Chyba SV	p
Abs. člen	Wilksův	0,378390	779,4983	2	949	0,000000
odrůda	Wilksův	0,842934	16,9281	10	1898	0,000000
varianta	Wilksův	0,508449	127,2971	6	1898	0,000000
pokus	Wilksův	0,996109	1,8535	2	949	0,157249

Graf 3 dokumentuje změny délky stonků pod vlivem varianty média. Lze z něj vyčíst rozdíly v délkách stonků u všech odrůd. Jak je viditelné, stonky se pod vlivem zvyšující se koncentrace mědi zkracovaly.

Graf 3: Změny délky stonků pod vlivem varianty.



V Tabulce 3 jsou pomocí programu Statistica vyhotoveny podrobné výsledky z Tukeyova HSD testu. Z tabulky lze vyčíst, že některé odrůdy jsou si průměrnými délkami stonků blíže než jiné. V našem případě jsou homogenní data odrůd Sárpo Mira, Desiree a Hindenburg, poté

jsou si podobné odrůdy Rita, Apta a Bintje. Jako homogenní skupina se dají počítat i odrůdy Rita a Hindenburg.

Tabulka 3: Podrobnější vyhodnocení meziodrůdových rozdílů v délce stonku ve 4. týdnu hodnocení pomocí Tukeyova HSD testu..

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná stonk délka (mm) (Data z pokusů) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 238,77, sv = 950,00				
	odrůda	stonk délka (mm) Průměr	1	2	3
4	SARPO MIRA	13,42500	****		
3	DESIREE	13,75000	****		
2	HINDENBURG	16,54375	****		****
6	RITA	20,94375		****	****
5	APTA	24,13125		****	
1	BINTJE	25,80000		****	

Vyhodnocením varianty koncentrace mědi v médiích (Tabulka 4), nacházíme homogenní skupinu u varianty média kontrola a koncentrace 0,6 ppm, tyto dvě varianty ovlivňovaly délky stonků podobně. U varianty s koncentrací 6 ppm a 60 ppm už byly hodnoty zcela odlišné. Koncentrace mědi v médiu vyšší než 0,6 ppm tedy negativně ovlivňovala délku stonků.

Tabulka 4: Podrobnější vyhodnocení Tukeyova HSD testu u variant média (koncentrací mědi).

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná stonk délka (mm) (Data z pokusů) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 238,77, sv = 950,00				
	varianta	stonk délka (mm) Průměr	1	2	3
4	60 ppm	0,95833		****	
3	6 ppm	13,82500			****
2	0.6 ppm	29,29583	****		
1	kontrola	32,31667	****		

Rozdíly v růstu stonků při koncentracích mědi 0,06 a 60 ppm u odrůd Rita, Apta a Sarpo Mira, lze doložit i následujícími obrázky pořízenými na konci pokusu (Obrázek 5, 6, 7).



Obrázek 5: Rozdíly v růstu na médii s koncentracemi mědi 0,06 ppm (vlevo) a 60 ppm (vpravo) u odrůdy Rita po 4 týdnech růstu v kultivačním boxu.



Obrázek 6: Rozdíly v růstu na médii s koncentracemi mědi 0,06 ppm (vlevo) a 60 ppm (vpravo) u odrůdy Apta po 4 týdnech růstu v kultivačním boxu.

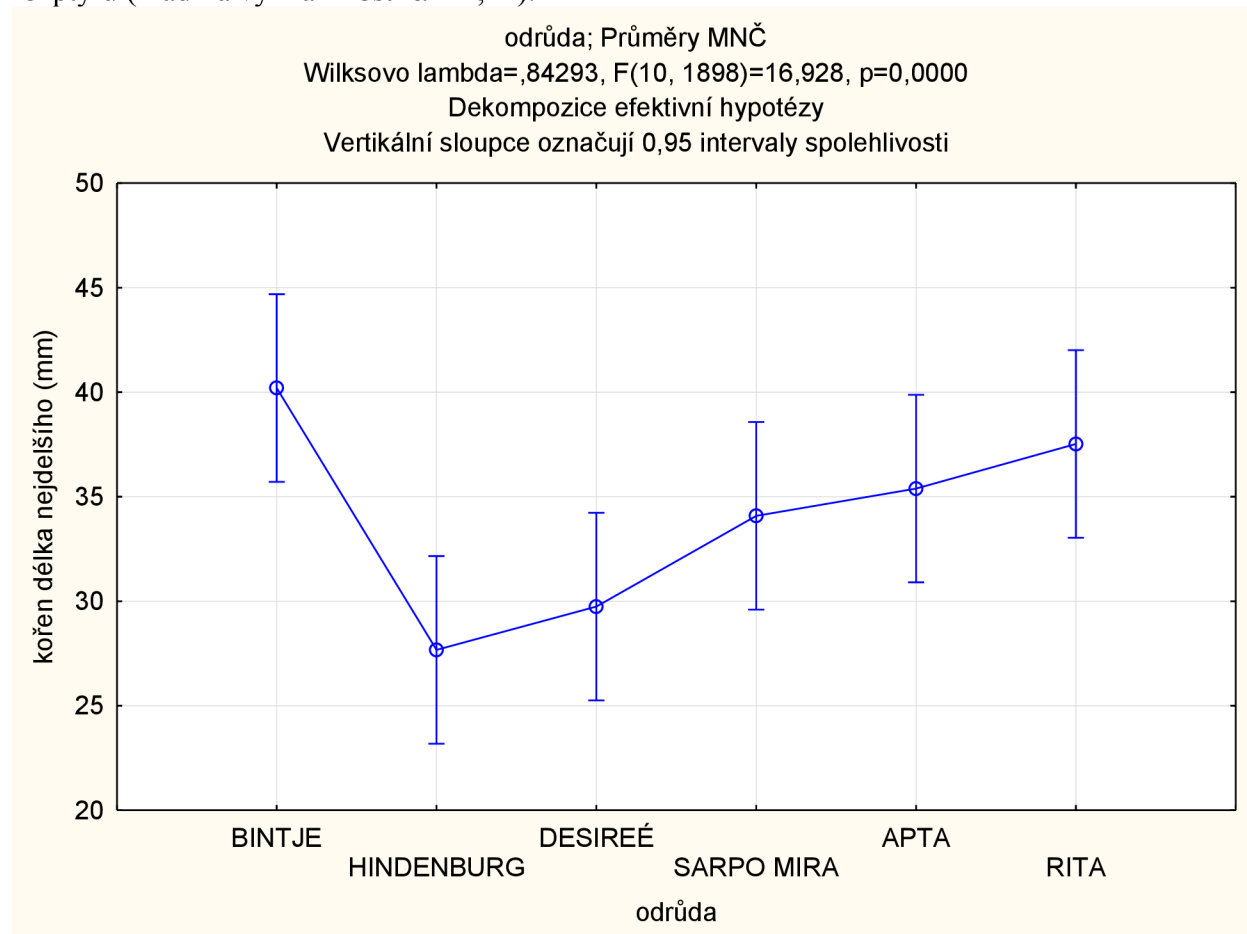


Obrázek 7: Rozdíly v růstu na médii s koncentracemi mědi 0,06 ppm (vlevo) a 60 ppm (vpravo) u odrůdy Sárpo Mira po 4 týdnech růstu v kultivačním boxu.

5.2 Vliv faktorů na délku kořene

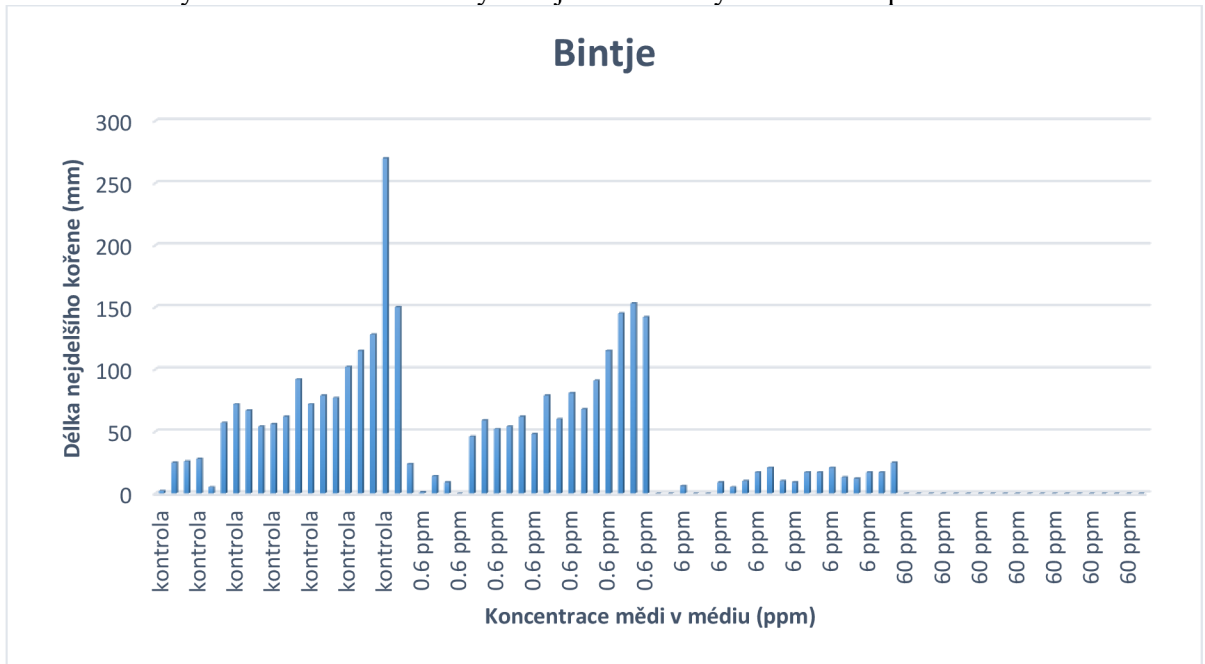
Graf 4 dokumentuje proměnlivé délky kořenů (mm) u použitých odrůd. Mezi průměry délek kořenů byly prokázány statisticky významné rozdíly, což mělo převážně souvislost s koncentrací mědi v médiu, na kterém jednotlivé rostliny byly kultivovány.

Graf 4: Průměrná délka kořenů dle jednotlivých odrůd. Pro testování byla použita analýza rozptylu (hladina významnosti $\alpha = 0,05$).



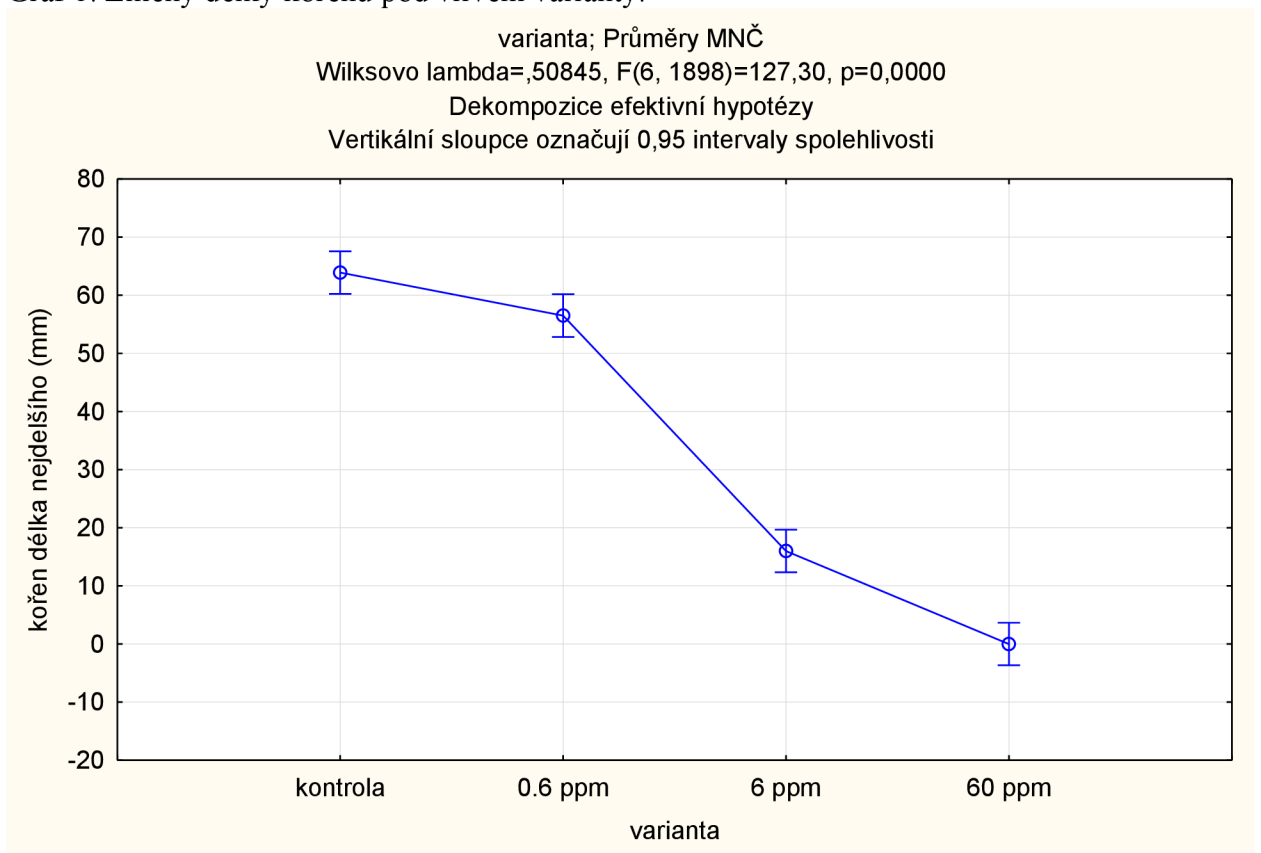
Z grafu 5 lze vyčíst změny délky nejdelšího kořene během celého pokusu. Délka kořenů odrůdy Bintje se snižovala již na médiu s 0,6 ppm mědi. Na médiu s nejvyšší koncentrací mědi (60 ppm) již odrůda vůbec netvořila kořeny

Graf 5: Změny délek kořenů u odrůdy Bintje během 4 týdnů *in vitro* pokusu.



Graf 6 dokumentuje změny délky kořenů pod vlivem varianty média. Jak je viditelné, kořeny se pod vlivem zvyšující se koncentrace mědi zkracovaly.

Graf 6: Změny délky kořenů pod vlivem varianty.



V Tabulce 5 jsou pomocí ANOVy otestovány vlivy pokusné varianty, opakování pokusu a odrůdy na délky kořenů. Byly prokázány rozdíly v délce kořenů pod vlivem odrůdy a pokusné varianty. I zde mělo opakování pokusu zanedbatelný vliv.

Tabulka 5: Vícerozměrná analýza rozptylu ukazuje na průkazné rozdíly mezi odrůdami a pokusnými variantami v délce kořene (hladina významnosti $\alpha = 0,05$).

Efekt	Vícerozměrné testy významnosti. (Data z pokusů) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy					
	Test	Hodnota	F	Efekt SV	Chyba SV	p
Abs. člen	Wilksův	0,378390	779,4983	2	949	0,000000
odrůda	Wilksův	0,842934	16,9281	10	1898	0,000000
varianta	Wilksův	0,508449	127,2971	6	1898	0,000000
pokus	Wilksův	0,996109	1,8535	2	949	0,157249

V Tabulce 6 je podrobnější vyhodnocení ANOVy pomocí Tukeyova HSD testu. Z tabulky lze vyčíst významné meziodrůdové rozdíly. V délce kořenů jsou homogenní data odrůd Hindenburg, Desiree, Sárpo Mira a Apta, dále jsou si podobné odrůdy Desiree, Sárpo Mira, Apta a Rita. Jako homogenní skupina se dají počítat i odrůdy Sárpo Mira, Apta, Rita a Bintje.

Tabulka 6: Podrobnější vyhodnocení Tukeyova HSD testu pro odrůdy a délky kořene ve 4. týdnu pokusů.

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná kořen délka nejdelšího (mm) (Data z pokusů) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PC = 836,56, sv = 950,00				
	odrůda	kořen délka nejdelšího (mm) Průměr	1	2	3
2	HINDENBURG	27,67500	****		
3	DESIREE	29,74375	****	****	
4	SARPO MIRA	34,08750	****	****	****
5	APTA	35,38750	****	****	****
6	RITA	37,52500		****	****
1	BINTJE	40,20000			****

Podrobnější vyhodnocení vlivu koncentrace mědi v médiích neboli varianty se nachází v Tabulce 7. U všech variant (0,06 ppm, 0,6 ppm, 6 ppm a 60 ppm) existují významné rozdíly, které se projevovaly zkracováním kořenů s narůstající koncentrací mědi v médiu.

Tabulka 7: Podrobnější vyhodnocení Tukeyova HSD testu u variant media a jejich vlivu na délku kořene.

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná kořen délka nejdelšího (mm) (Data z pokusů) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 850,75, sv = 955,00					
	varianta	kořen délka nejdelšího (mm) Průměr	1	2	3	4
4	60 ppm	0,00000	****			
3	6 ppm	16,00833		****		
2	0.6 ppm	56,50000			****	
1	kontrola	63,90417				****

Jednotlivé difference v růstu kořenů mezi kontrolou a nejvyšší koncentrací mědi lze dobře vidět i na Obrázcích 8, 9 a 10.



Obrázek 8: Rozdíly v růstu na médii s koncentracemi mědi 0,06 ppm (vlevo) a 60 ppm (vpravo) u odrůdy Bintje po 4 týdnech růstu v kultivačním boxu.



Obrázek 9: Rozdíly v růstu na médii s koncentracemi mědi 0,06 ppm (vlevo) a 60 ppm (vpravo) u odrůdy Desiree po 4 týdnech růstu v kultivačním boxu.



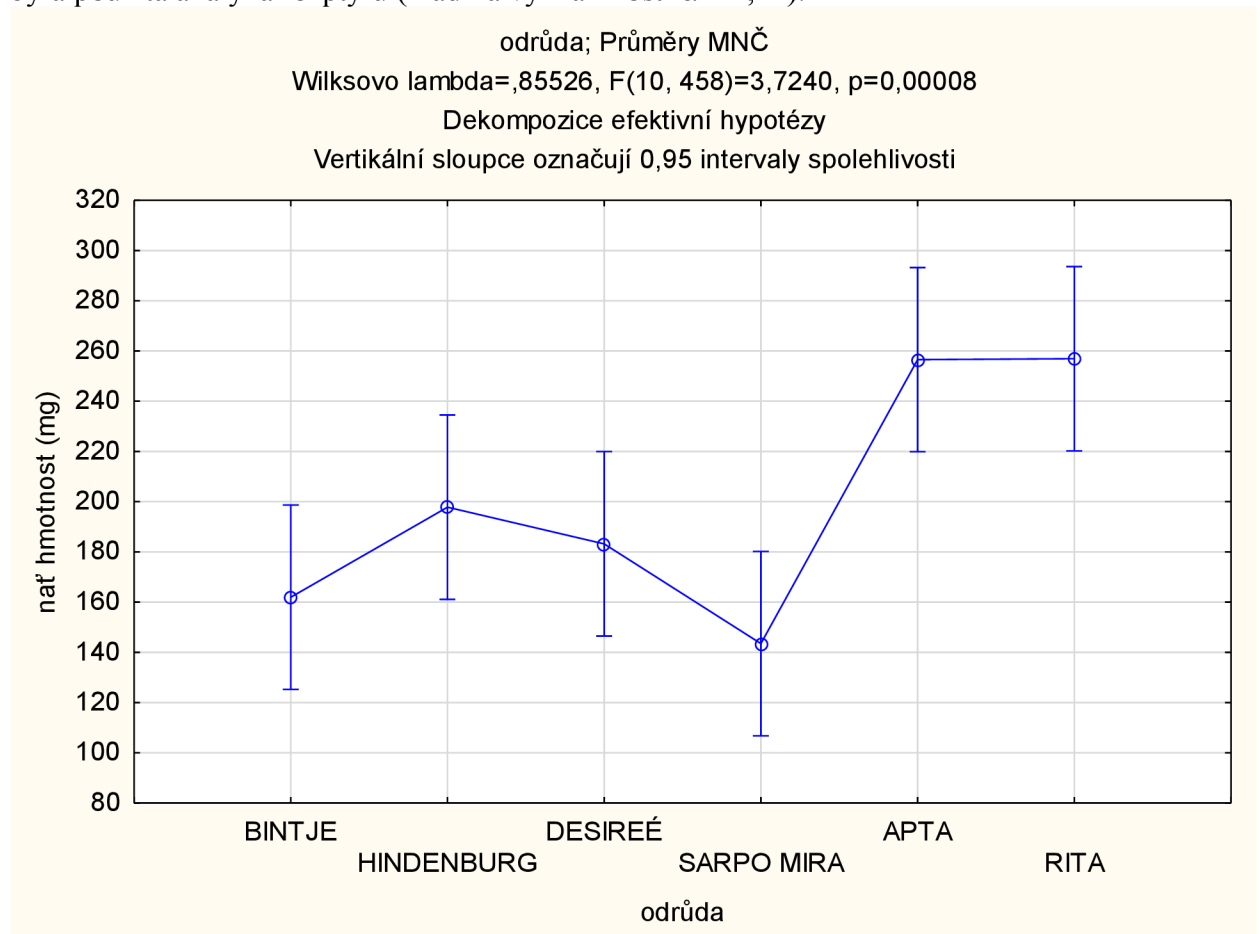
Obrázek 10: Rozdíly v růstu na médii s koncentracemi mědi 0,06 ppm (vlevo) a 60 ppm (vpravo) u odrůdy Hindenburg po 4 týdnech růstu v kultivačním boxu.

5.3 Vliv faktorů na hmotnost čerstvé biomasy

5.3.1 Stonek

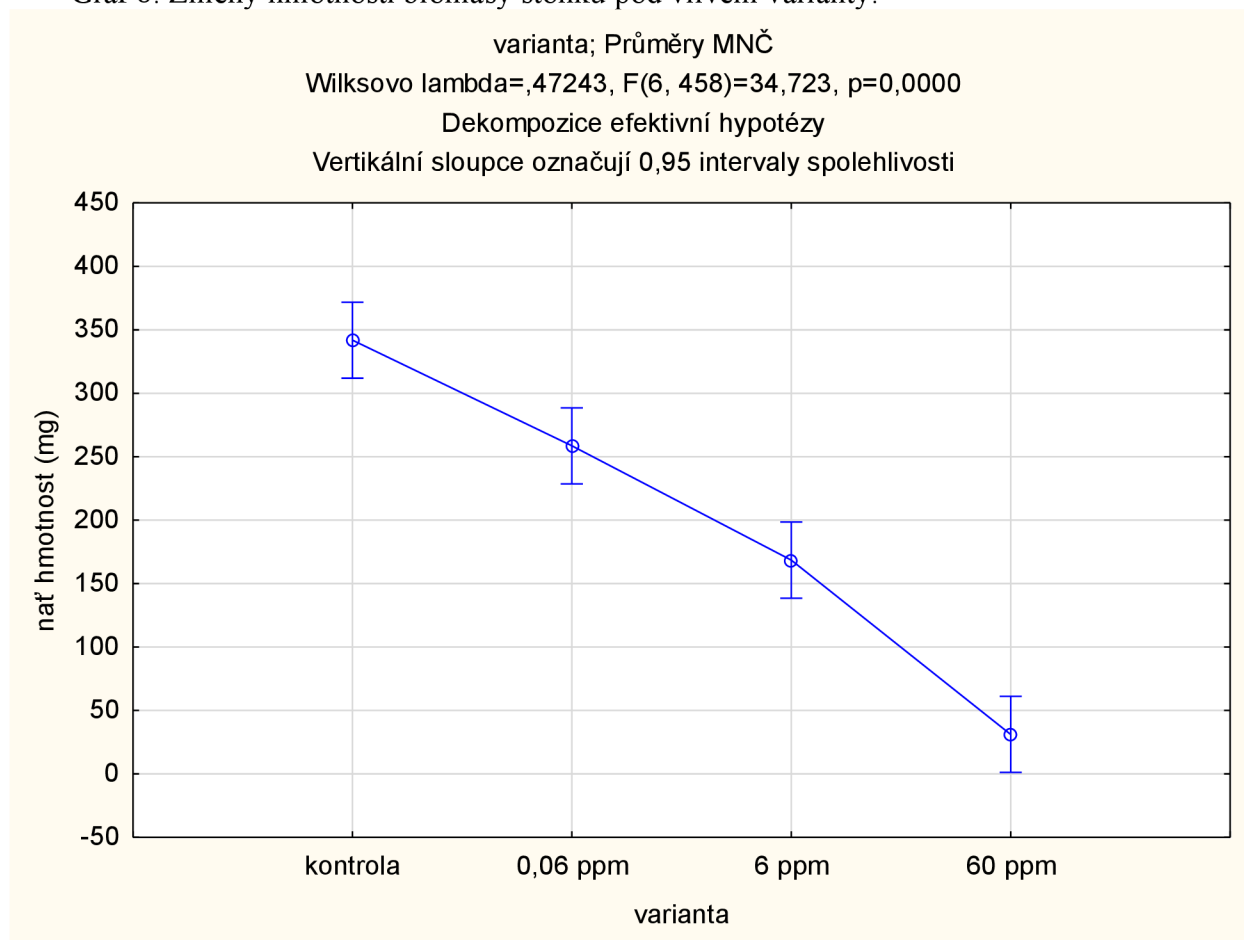
Rozdíly mezi hmotnostmi čerstvé biomasy stonku u použitých odrůd dokumentuje Graf 7. Mezi hmotnostmi biomasy byly pomocí ANOVy prokázány statisticky významné rozdíly.

Graf 7: Průměrná hmotnost čerstvé biomasy stonku dle jednotlivých odrůd. Pro testování byla použita analýza rozptylu (hladina významnosti $\alpha = 0,05$).



Graf 8 dokumentuje změny hmotnosti čerstvé biomasy stonků pod vlivem varianty média. Lze z něj vyčíst rozdíly v hmotnosti biomasy stonku u všech odrůd. Se zvyšující se koncentrací se hmotnost biomasy stonku snížila.

Graf 8: Změny hmotnosti biomasy stonku pod vlivem varianty.



Výsledky analýzy rozptylu prokázaly rozdíly v délce stonku pod vlivem odrůdy a pokusné varianty, dále byl prokázán i rozdíl mezi nezávislými technickými opakováními pokusu (Tabulka 8).

Tabulka 8: Vícerozměrná analýza rozptylu ukazuje na průkazné rozdíly mezi odrůdami, pokusnými variantami a pokusy v hmotnosti biomasy natě (hladina významnosti $\alpha = 0,05$).

Efekt	Vícerozměrné testy významnosti. (Data z pokusů)					
	Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy					
	Test	Hodnota	F	Efekt SV	Chyba SV	p
Abs. člen	Wilksův	0,249386	344,6272	2	229	0,000000
odrůda	Wilksův	0,855262	3,7240	10	458	0,000080
pokus	Wilksův	0,939035	7,4337	2	229	0,000745
varianta	Wilksův	0,472433	34,7232	6	458	0,000000

Podrobnější vyhodnocení ANOVy pomocí Tukeyova HSD testu je v Tabulce 9. Z tabulky lze vyčíst, že u některých odrůd byly hmotnosti biomasy stonku podobnější než u jiných.

Hmotnost čerstvé biomasy stonku jsou homogenní u odrůd Sárpo Mira, Bintje, Desiree a Hindenburg. Dále jsou si v hmotnosti biomasy stonku podobné odrůdy Desiree, Hindenburg, Apta a Rita. Jako homogenní skupina se dají počítat i odrůdy Desiree a Hindenburg.

Tabulka 9: Podrobnější vyhodnocení Tukeyova HSD testu pro odrůdy a hmotnosti biomasy stonků.

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná nať hmotnost (mg) (Data z pokusů) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 13875,, sv = 230,00			
	odrůda	nať hmotnost (mg) Průměr	1	2
4	SARPO MIRA	143,4750	****	
1	BINTJE	161,9750	****	
3	DESIREE	183,2250	****	****
2	HINDENBURG	197,8250	****	****
5	APTA	256,5500		****
6	RITA	256,9250		****

Podrobnější vyhodnocení vlivu koncentrace mědi v médiích je v Tabulce 10. U všech variant existují významné rozdíly, tudíž zvyšující koncentrace mědi v médiu snižuje hmotnost čerstvé biomasy stonku.

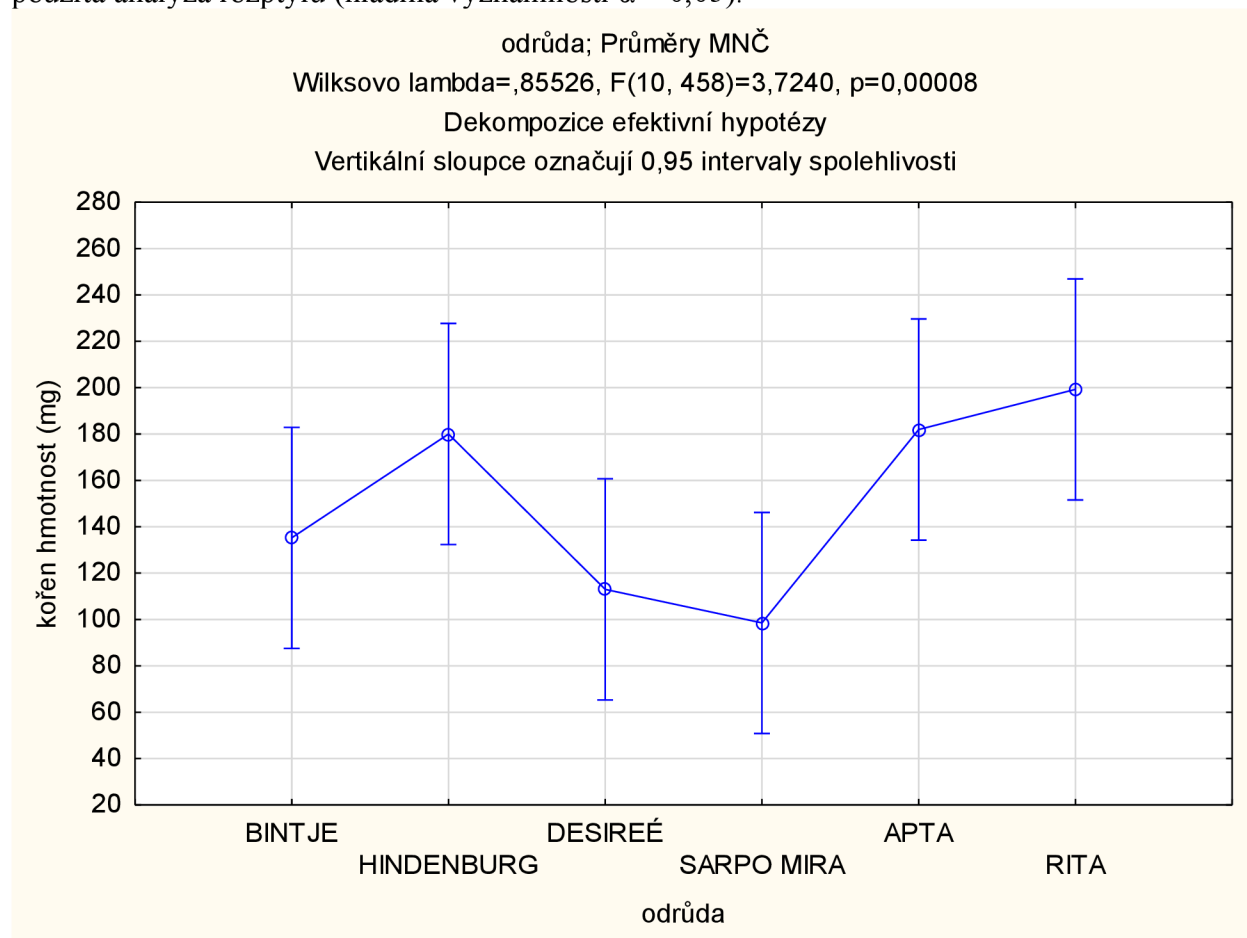
Tabulka 10: Podrobnější vyhodnocení Tukeyova HSD testu u variant media a jejich vlivu na hmotnost biomasy stonků.

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná nať hmotnost (mg) (Data z pokusů) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 13848,, sv = 231,00					
	varianta	nať hmotnost (mg) Průměr	1	2	3	4
4	60 ppm	31,1667	****			
3	6 ppm	168,4833		****		
2	0,06 ppm	258,5500			****	
1	kontrola	341,7833				****

5.3.2 Kořen

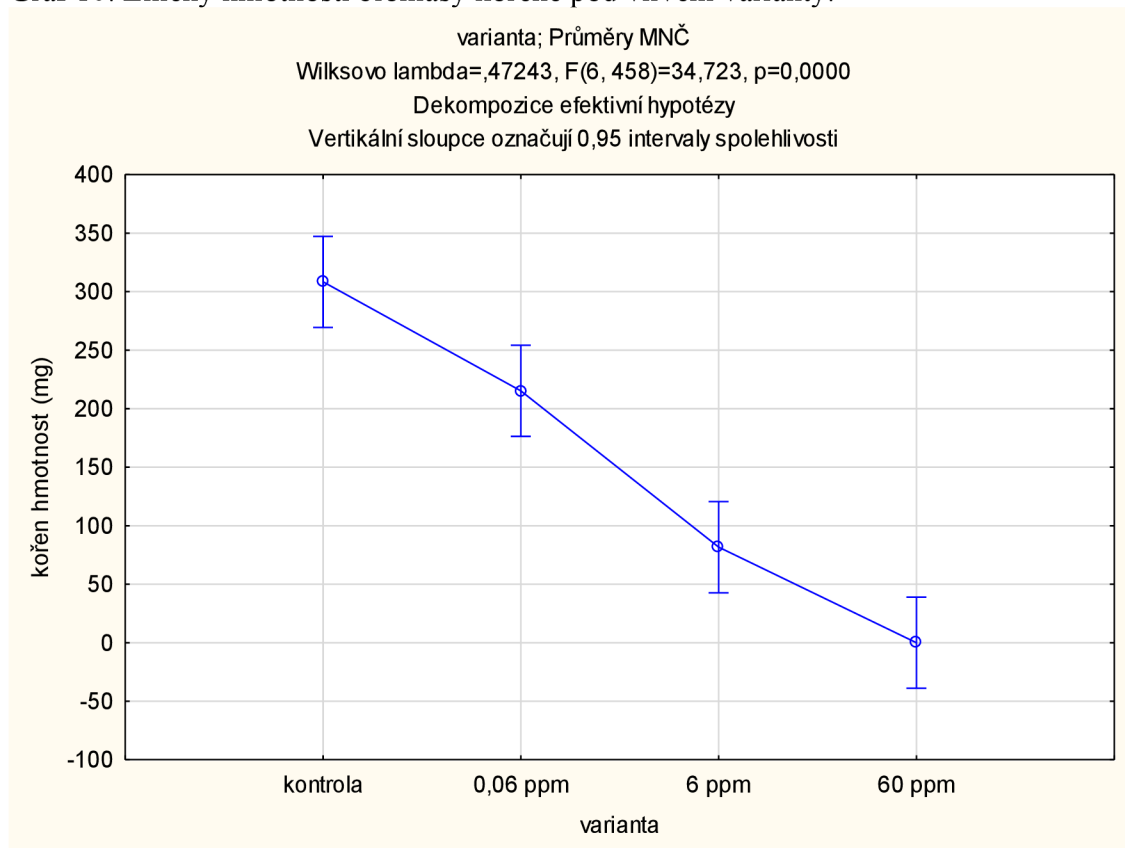
Graf 9 dokumentuje rozdíly mezi hmotnostmi čerstvé biomasy kořene u použitých odrůd. Mezi hmotnostmi biomasy kořene byly pomocí ANOVy prokázány statisticky významné rozdíly.

Graf 9: Průměrná hmotnost čerstvé biomasy kořene dle jednotlivých odrůd. Pro testování byla použita analýza rozptylu (hladina významnosti $\alpha = 0,05$).



Z Grafu 10 lze vyčíst statisticky průkazné rozdíly v hmotnosti čerstvé biomasy kořenů u všech odrůd pod vlivem varianty média, kdy se zvyšující se koncentrací Cu se hmotnost biomasy kořenů snižovala.

Graf 10: Změny hmotnosti biomasy kořene pod vlivem varianty.



Dle výsledků ANOVy v Tabulce 11 byla hmotnost biomasy kořene ovlivněna variantou i opakováním pokusu. Zároveň byly prokázány i odrůdové rozdíly. Odrůdy ovlivněné vyššími koncentracemi mědi (6 a 60 ppm) měly nižší hmotnost čerstvé biomasy (Tabulka 12).

Tabulka 11: Vícerozměrná analýza rozptylu ukazuje na průkazné rozdíly mezi odrůdami, pokusnými variantami a pokusy v hmotnosti biomasy kořene (hladina významnosti $\alpha = 0,05$).

Efekt	Vícerozměrné testy významnosti. (Data z pokusů) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy					
	Test	Hodnota	F	Efekt SV	Chyba SV	p
Abs. člen	Wilksův	0,249386	344,6272	2	229	0,000000
odrůda	Wilksův	0,855262	3,7240	10	458	0,000080
pokus	Wilksův	0,939035	7,4337	2	229	0,000745
varianta	Wilksův	0,472433	34,7232	6	458	0,000000

Podrobnější vyhodnocení pomocí Tukeyova HSD testu v Tabulce 12 ukázalo, že mezi odrůdami Sárpo Mira, Desiree, Bintje, Hindenburg a Apta nebyly statisticky významné rozdíly

v hmotnosti čerstvé biomasy. Rozdíly nebyly prokázány ani u skupiny odrůd Desiree, Bintje, Hindenburg, Apta a Rita.

Tabulka 12: Podrobnější vyhodnocení Tukeyova HSD testu pro odrůdy a hmotnosti biomasy kořene.

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná kořen hmotnost (mg) (Data z pokusů) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 23433,, sv = 230,00			
	odrůda	kořen hmotnost (mg) Průměr	1	2
4	SARPO MIRA	98,5250	****	
3	DESIREE	113,0000	****	****
1	BINTJE	135,2250	****	****
2	HINDENBURG	180,0000	****	****
5	APTA	181,9500	****	****
6	RITA	199,2250		****

V Tabulce 13 je podrobnější vyhodnocení vlivu varianty na hmotnost biomasy kořene. U všech variant existují statisticky významné rozdíly, což potvrzuje, že zvyšující koncentrace mědi snižuje hmotnost i čerstvé biomasy kořene.

Tabulka 13: Podrobnější vyhodnocení Tukeyova HSD testu u variant media a jejich vlivu hmotnost čerstvé biomasy kořene.

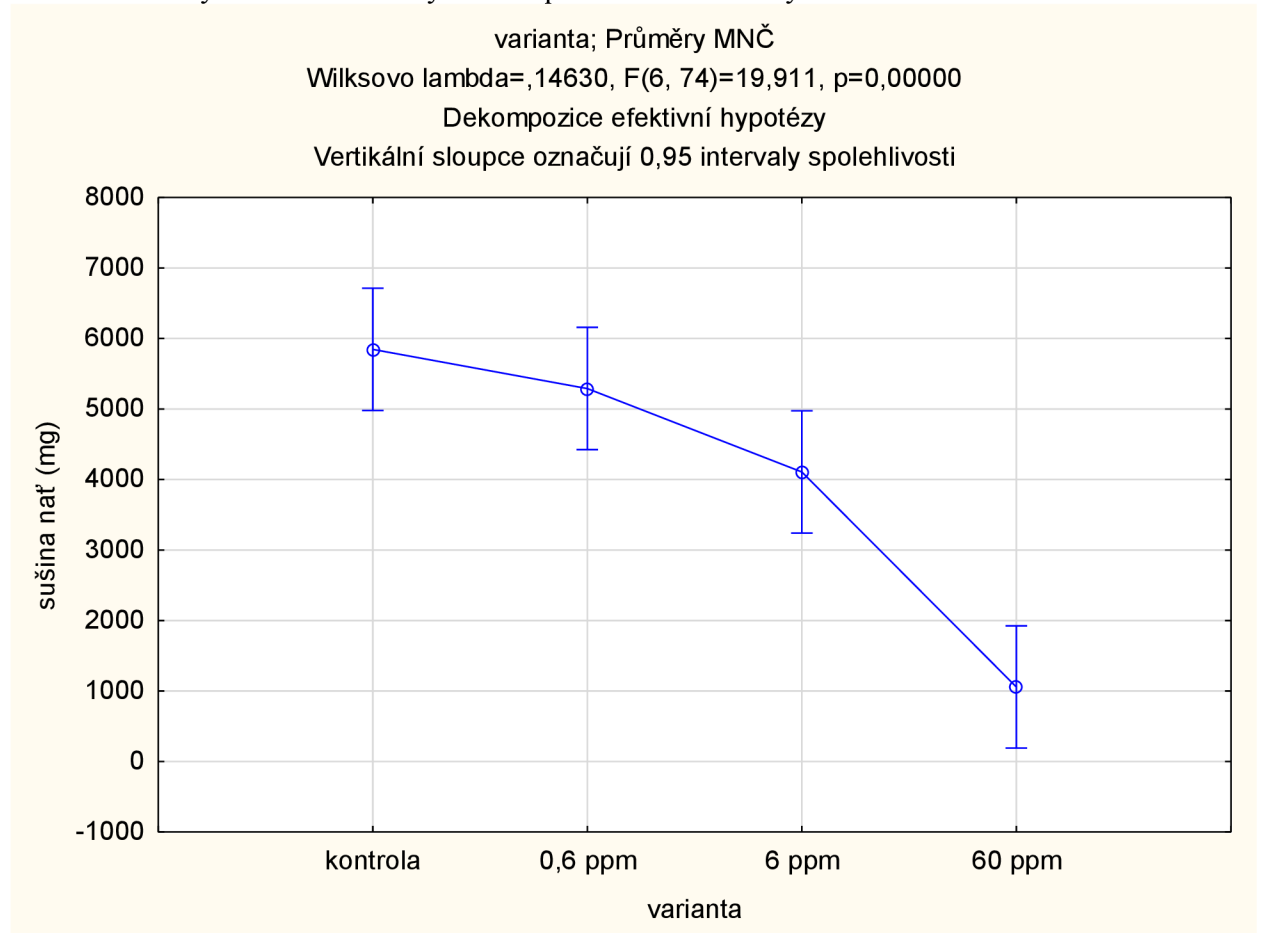
Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná nať hmotnost (mg) (Data z pokusů) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 13848,, sv = 231,00					
	varianta	nať hmotnost (mg) Průměr	1	2	3	4
4	60 ppm	31,1667	****			
3	6 ppm	168,4833		****		
2	0,06 ppm	258,5500			****	
1	kontrola	341,7833				****

5.4 Vliv faktorů na hmotnost sušiny

5.4.1 Stonek

Graf 11 dokumentuje změny hmotnosti sušiny stonků pod vlivem varianty média. Lze z něj vyčíst rozdíly v hmotnosti sušiny stonků u všech odrůd.

Graf 11: Změny hmotnosti sušiny stonku pod vlivem varianty.



Výsledky ANOVy prokázaly, že mezi odrůdami a pokusy nebyly nalezeny významné statistické rozdíly ani u hmotností sušiny stonku. Na druhou stranu byly opět významné rozdíly u variant médií, tedy i na sušinu měl obsah mědi v médiu vliv (Tabulka 14).

Tabulka 14: Analýza rozptylu vlivu varianty, odrůdy a pokusu na hmotnost sušiny natě (hladina významnosti $\alpha = 0,05$).

Efekt	Vícerozměrné testy významnosti. (Data z pokusů) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy					
	Test	Hodnota	F	Efekt SV	Chyba SV	p
Abs. člen	Wilksův	0,081387	208,8102	2	37	0,000000
odrůda	Wilksův	0,756341	1,1089	10	74	0,367134
pokus	Wilksův	0,982440	0,3307	2	37	0,720543
varianta	Wilksův	0,146299	19,9115	6	74	0,000000

V Tabulce 15 se nachází podrobnější vyhodnocení vlivu varianty na hmotnost sušiny stonků. U variant kontroly a 0,6 ppm nebyly prokázány statisticky významné rozdíly. Stejně tak nebyly nalezeny významné rozdíly mezi variantou 0,6 a 6 ppm. Statisticky významný rozdíl byl prokázán u varianty média s nejvyšší koncentrací mědi.

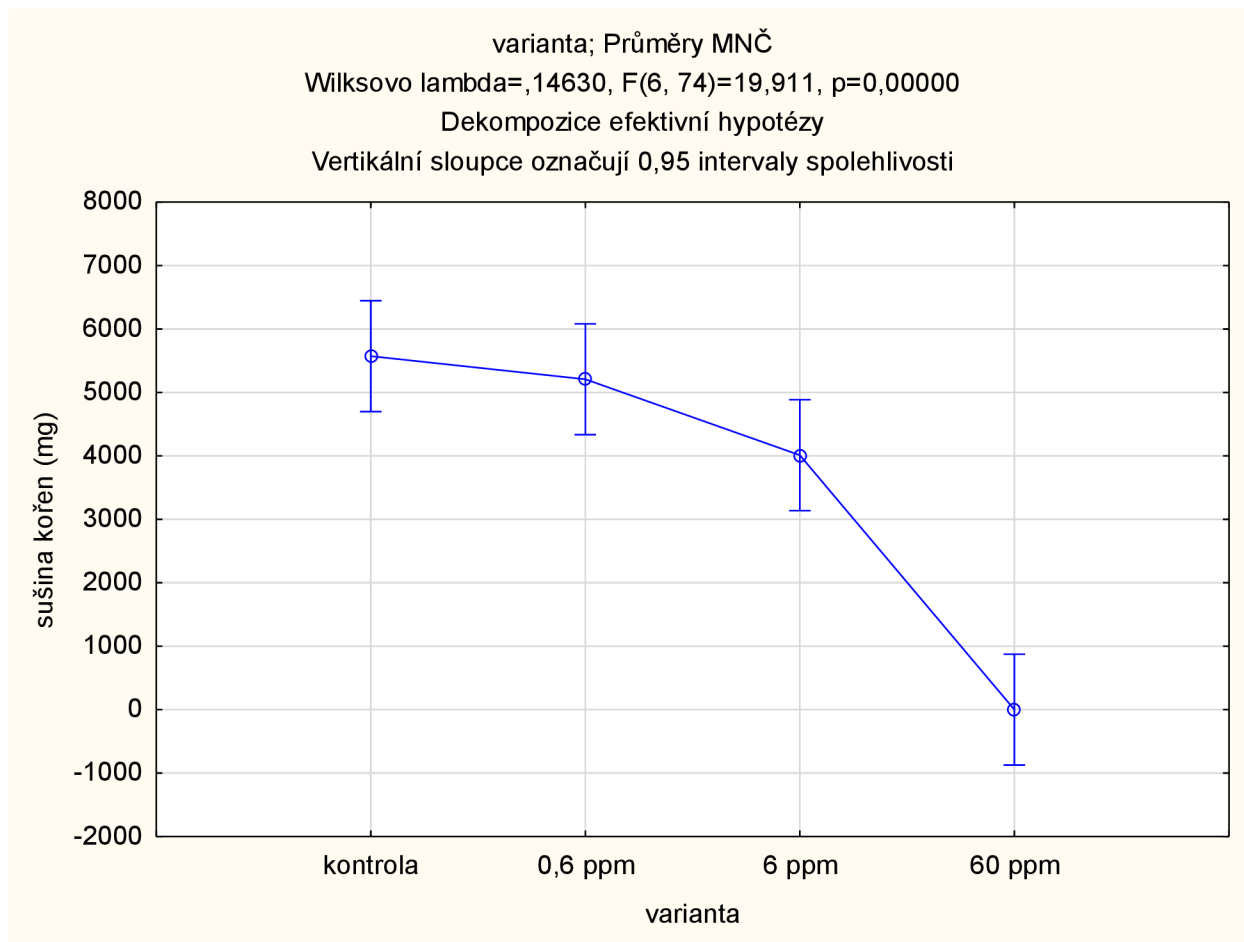
Tabulka 15: Podrobnější vyhodnocení Tukeyova HSD testu u variant media a jejich vlivu na hmotnost sušiny stonků.

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná sušina nat' (mg) (Data z pokusů) Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 2145E3, sv = 39,000				
	varianta	sušina nat' (mg) Průměr	1	2	3
4	60 ppm	1057,167			****
3	6 ppm	4107,167	****		
2	0,6 ppm	5290,500	****	****	
1	kontrola	5846,333		****	

5.4.2 Kořen

Z grafu 12 lze vyčíst změny hmotnosti sušiny kořenů pod vlivem varianty média. Dokumentuje rozdíly v hmotnosti sušiny kořenů u všech odrůd.

Graf 12: Změny hmotnosti sušiny kořenu pod vlivem varianty.



Stejný výsledek jako u sušiny stonku se projevil i u sušiny kořene (Tabulka 16). Jak lze z následující tabulky vyčíst, opakování pokusu mělo zanedbatelný vliv na sušinu, stejně tak neexistovaly významné statistické rozdíly mezi odrůdami. Opět se projevil vliv varianty média neboli koncentrace mědi v médiu. Což potvrzuje naši hypotézu, která zmiňuje vliv mědi na růst a vývoj vybraných odrůd bramboru.

Tabulka 16: Analýza rozptylu vlivu varianty, odrůdy i pokusu na hmotnost sušiny kořene (hladina významnosti $\alpha = 0,05$).

Efekt	Vícerozměrné testy významnosti. (Data z pokusů) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy					
	Test	Hodnota	F	Efekt SV	Chyba SV	p
Abs. člen	Wilksův	0,081387	208,8102	2	37	0,000000
odrůda	Wilksův	0,756341	1,1089	10	74	0,367134
pokus	Wilksův	0,982440	0,3307	2	37	0,720543
varianta	Wilksův	0,146299	19,9115	6	74	0,000000

Podrobnější vyhodnocení vlivu varianty na hmotnost sušiny kořenů se nachází v Tabulce 17. U variant kontroly, 0,6 ppm a 6 ppm nebyly prokázány statisticky významné rozdíly. Statisticky významný rozdíl byl prokázán u varianty média s koncentrací mědi 60 ppm.

Tabulka 17: Podrobnější vyhodnocení Tukeyova HSD testu u variant média a jejich vlivu na hmotnost sušiny kořenů.

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná sušina kořen (mg) (Data z pokusů) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. $PC = 2178E3$, $sv = 39,000$			
	varianta	sušina kořen (mg) Průměr	1	2
4	60 ppm	0,000		****
3	6 ppm	4009,917	****	
2	0,6 ppm	5209,000	****	
1	kontrola	5570,750	****	

6 Diskuze

V této práci byl hodnocen vliv různých koncentrací mědi na vybrané odrůdy bramboru. Především byly porovnávány a hodnoceny délky stonků a kořenů jednotlivých odrůd. Z výsledků je patrné, že na hmotnost sušiny a celkovou hmotnost biomasy měla vliv pouze varianta média a u jednotlivých odrůd neexistovaly významné rozdíly ve vlivu na jejich hmotnost. Avšak u délky stonku a kořene existovaly významné rozdíly ve vlivu variant médií i mezi jednotlivými odrůdami. Z toho plyne, že na biomasu i růst rostlin má vliv převážně koncentrace mědi. Na růst má vliv také odrůda, a to z hlediska její citlivosti na měď v půdě. U některých odrůd byl prokázán větší vliv varianty na růst stonku a kořene, a u některých naopak byl vliv menší. Důležité je, že kromě toho existovaly i rozdíly v citlivosti jednotlivých odrůd na určité koncentrace mědi.

Použité odrůdy brambor reagovaly odlišně na koncentrace mědi. Některé odrůdy byly citlivější i k nižším koncentracím mědi, zatímco jiné odrůdy prokazovaly vyšší odolnost. Jak je uvedeno ve studii Centra pro životní prostředí a hodnocení krajiny – měď je nejméně závažným kontaminantem v porovnání s ostatními studovanými prvky, přesto bylo 22 % všech zkoumaných vzorků v této studii nad limitní hodnotou 60 ppm, která je dána legislativou. Za legislativně přijatelnou hranici koncentrace mědi v půdě se proto považuje již zmíněná hodnota 60 ppm (Čupr et al. 2003). Náš výzkum používal média s koncentracemi mědi – 0,06 ppm, 0,6 ppm, 6 ppm a 60 ppm. Bylo potvrzeno, že při koncentraci 60 ppm již došlo k úplné inhibici růstu a vývoje u všech zmíněných odrůd brambor.

Při zkoumání jednotlivých interakcí mezi hodnotami a efekty bylo zjištěno, že nebyly prokázány statistické rozdíly mezi technickými opakováními pokusu. Oba pokusy se tedy dají považovat za homogenní. V obou pokusech tak bylo dokázáno, že měď má vliv na růst a vývoj rostlin bramboru. Je zajímavé, že v druhém pokusu, kdy byly použité rostliny starší, se objevovaly častěji kontaminace, a v posledním týdnu už se moc neproměňovaly naměřené hodnoty u stonků a kořenů. Je proto pravděpodobné, že i stáří rostliny a její zdravotní stav hrají velkou roli v příjmu mědi z půdy. Záleží tedy na tom, v jaké fázi vývoje a v jakém zdravotním stavu je rostlina vystavena působení mědi. Což bylo prokázáno i v některých dalších studiích (Mushinskiy & Aminova 2019; Hossain et al. 2020; Huang et al. 2020).

V jednotlivých týdnech pokusu se lišily naměřené délky stonků u jednotlivých odrůd. Na médiích rostla nejlépe odrůda Apta, a to i na médiu s vyšší koncentrací mědi. Tato odrůda měla největší přírůstky nadzemní hmoty, avšak odrůda Bintje měla největší přírůstky kořenů. Obecně tedy lze říci, že nejvíce odolné odrůdy k vyšším koncentracím mědi – 0,6 a 6 ppm - jsou Apta a Bintje. Nejmenší naměřené hodnoty kořenů i stonků měly odrůdy Hindenburg a Desiree. Průměrné přírůstky měly poslední dvě zkoumané odrůdy Rita a Sárpo Mira, ty nebyla ani extra citlivé na měď ani odolné. Tyto poznatky, společně s výsledky jiných studií, by bylo možné použít ve šlechtění odrůd bramboru, které by byly více odolné k vyšším koncentracím mědi v půdě.

Ze studií, provedených na různých druzích plodin vyplývá, že měď má velký vliv na mnoho procesů v rostlinných buňkách. Ani literatura se ale v téhle problematice neshodne, někteří tvrdí, že po ošetření těžkými kovy obsah pigmentů stoupá, jiní tvrdí, že obsah pigmentů klesá. Měď může ovlivňovat obsah i koncentraci rostlinných barviv, především chlorofylů, což může mít za následek snížení rychlosti fotosyntézy či její úplnou inhibici (Agrios 2005; Selahvarzi & Sobhanardakani 2020; Hossain et al. 2020). Nízký obsah chlorofylů může být způsoben redukcí železa a hladiny fosforu ve výhoncích, jejichž koncentrace také klesly po aplikaci mědi. Měď je také považována za esenciální prvek, který je pro rostlinu v nižších koncentracích významný (Chandra et al. 2014). Ačkoliv je význam mědi v procesech rostlin nepopíratelný, ve vyšších koncentracích je měď pro rostliny velmi toxická. Akumulace mědi a její následná fytotoxicita zpomaluje či inhibuje růst kořenů i stonků. V našem pokusu bylo dokázáno, že na médiích s vyšší koncentrací mědi, došlo ke snížení počtu kořenů a k redukcí růstu stonků i kořenů. Ačkoliv se mnoho studií shodlo na toxicitě mědi pro rostliny, pořád se diskutuje o vyšší toxicitě ostatních těžkých kovů. Dle mého názoru však i měď, pokud je přítomna ve vysokých koncentracích, může způsobit problémy jak plodinám, tak i konzumentům.

Reakce na obsah mědi mohou být různé. Z výsledků a ze studií, ze kterých jsem čerpala, lze však usoudit, že první změny u rostlin jsou v morfologii, jak bylo pozorováno i v našem pokusu. Podle Shahbazi et al. (2017), Mushinskiy & Aminova (2019) a Huang et al. (2020) je první reakcí menší vynakládání energie na důležité procesy. Nejprve začne rostlina snižovat rychlost růstu nadzemní části biomasy, poté změní architekturu kořenového systému, kořeny jsou tlustší a větvi se. Tyto změny však nejsou v prvních fázích vývoje vidět, pokud je cíleně

nesledujeme. Autoři těchto studií též uvádějí, že stonky jsou kratší, mají méně listů, a může se u nich objevit i chlorózy a nekrózy.

Růst rostlin *in vitro* se během pokusu měnil. Některé rostliny i na médiu s vyšší koncentrací vytvářely kořeny a snažily se růst. Po prvním týdnu se však růst zastavil. Tento jev se dá vysvětlit tím, že rostlina na médiu s mědí neměla dostatek ostatních živin. Kdyby totiž čerpala ostatní živiny, absorbovala by i měď. Nejprve se snažila vytvářet kořeny, ale na růst stonku a kořene vynakládala spoustu energie, kterou v tomto případě neměla kde získat. Dalším možným důvodem je i to, že měď snižuje obsah chlorofylu, jak bylo dokázáno v níže citovaných studiích. Nedostatek chlorofylu pozastaví fotosyntézu či dojde ke snížení její účinnosti, a rostlina nemá dostatek živin (Agrios 2005; Nair & Chung 2014a; Nair & Chung 2014b; Mushinskiy & Aminova 2019).

Kontaminace média či rostlin byla také jedním z problémů při pokusu v této diplomové práci. Po 3 až 4 týdnech pozorování se u některých odrůd brambor začaly objevovat různé druhy kontaminací – většinou nějaké druhy plísní. Některé rostliny tudíž neměly prostor pro růst. Naštěstí jich nebylo velké množství, takže se při druhém opakování dané množství rostlin otestovalo znova. Kontaminace může mít mnoho zdrojů, ať už práce s nesterilními nástroji, zanesení patogenů z rostlinného materiálu nebo z nedostatečné sterilizace rukou laboranta. I při splnění všech těchto předpokladů však může dojít k zanesení kontaminace. V našem pokusu byla kontaminace s největší pravděpodobností způsobena změnami teplot a vlhkosti a manipulací při měření odrůd. Další nástrahou při zakládání prvního pokusu bylo médium s nejvyšší koncentrací mědi. Při úpravě pH před přidáním síranu i po několika hodinách nebylo médium dostatečně tuhé. Problém byl vyřešen úpravou pH až po přidání síranu do média.

Experiment byl proveden ve dvou nezávislých technických opakováních ke zjištění rozdílů mezi nimi. Pokusná varianta měla statistický významný vliv na hmotnost čerstvé biomasy, ačkoliv u zbytku hodnocených dat nebyl vliv prokázán. U hmotnosti sušiny také nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi pokusnými variantami, a tak se můžeme ptát, čím byly způsobeny rozdíly u čerstvé biomasy. Rozdíly v opakováních pokusů mohly být způsobeny: různým obsahem vody v médiích po ukončení pokusu, nedostatečným omytím a osušením před vážením, nedostatečným uzavřením Petriho misek nebo odlišnou manipulací s rostlinami při vyhodnocování. Další možností ovlivnění hmotnosti čerstvé biomasy je i různé stáří

kultivovaných rostlin, které může souviset se změnami v příjmu vody nebo kontaminace média, která byla zmíněny výše. Jak bylo v našem experimentu prokázáno, hmotnost sušiny je reprezentativnějším údajem, a to proto, že je méně ovlivněna vnějšími faktory. Při realizaci odborných experimentů proto zřejmě nemá význam z hmotnosti čerstvé hmoty vyvozovat závěry, a je třeba ji zjišťovat pouze s ohledem na stanovení sušiny.

Po provedení experimentu *in vitro* vyvstává otázka, zda by v polních pokusech probíhaly změny v růstu nadzemních i podzemních částí rostliny stejnou rychlostí a intenzitou. Je pravdou, že rostliny v experimentu byly v růstu dost omezeny i velikostí použité Petriho misky. Je dost pravděpodobné, že by v přirozených podmínkách rostly na kontrolní půdě více, a změny by tak mohly být markantnější. Dalším problémem, který by nastal při polním pokusu, by bylo nastavení podmínek experimentu. V přirozeném prostředí totiž nedokážeme potlačit vnější vlivy. Jelikož byl náš pokus proveden *in vitro*, nemohu hodnotit, jak by to dopadlo u polního pokusu.

Další otázkou je, jak vyřešit problém ohledně používání vysokých dávek měďnatých přípravků v ekologickém zemědělství. Dříve byly tyto fungicidy používány pouze ve vinařství. V dnešní době se používají i v ovocnářství a bramborářství, nejen u nás, ale i v rozvojových zemích. V našich podmínkách se využívají 2 kg/ha přípravku Kuprikol, a to 5x až 6x za sezónu. Především z preventivních důvodů, aby se předešlo výskytu patogenů. Z výzkumu v této diplomové práci vyplývá, že vysoké koncentrace mědi inhibují růst a vývoj celé rostliny. Z literatury víme, že měď se akumuluje v půdě a v hlízách, čímž se pak může dostat i do lidského těla. Vyvstává tedy otázka, jestli i nadále používat měďnaté fungicidy v ekologickém zemědělství, a pokud ano, tak jakým způsobem, aby bylo zabráněno akumulaci v půdě a následně v rostlinách (Sinha et al. 2005; Zolnowski et al. 2013; Sobhanardakani 2016; Ghafari & Sobhanardakani 2017).

Rostliny využívají různé strategie, jak se vyrovnat se stresem z vysokých koncentrací těžkých kovů. Těžké kovy, jak již bylo zmíněno, mohou být pohlceny kořeny, a poté absorbovány a distribuovány mezi rostlinné orgány. Některé rostliny dokáží omezit translokaci těžkých kovů z kořenů do nadzemních orgánů. Tento princip by mohl být výhodný pro přežití rostlin, hlavně kvůli ochraně fotosyntézy. Což může v důsledku přispět k udržení růstu rostlin i při vyšší koncentraci těžkých kovů v půdě. Mohou se u nich vyvinout i další mechanismy ochrany před těžkými kovy, a to vyloučením těžkých kovů z příjmu ostatních živin. Jejich celková absorpce by tak mohla být snížena či omezena. Těžké kovy jsou známy hlavně tím, že

vyvolávají oxidační stres v rostlinách. Ten vede k narušení metabolismu rostlinných buněk a růstu. Další účinnou strategií by tedy mohla být aktivace antioxidantních enzymů, které mají za úkol potlačit reaktivní formy kyslíku. Ty se tvoří jako následek oxidačního stresu. Antioxidantní enzymy by mohly pomoci rostlině minimalizovat nepříznivé dopady oxidačního stresu na rostlinné buňky. Je tedy zřejmé, že rostliny, které nemohou z nějakého důvodu vyvinout účinný obranný mechanismus, stěží přežijí v kontaminovaných půdách (Ernst 2006). Vystává tedy další otázka, jak účinně šlechtit rostliny na rezistenci k těžkým kovům

Rostliny šlechtěné na rezistenci využívají více mechanismů účinné obrany proti zvýšeným koncentracím těžkých kovů. K čištění půd od těžkých kovů – tzv. fytoremediaci – se dají využít vlastnosti, které zvyšují akumulaci schopnosti v nadzemních orgánech. U šlechtitelů jsou tyto vlastnosti žádané, jelikož by mohly také pomoci rostlinám s obrannými reakcemi. Tato hyperakumulační vlastnost však není žádaná u rostlin určených pro potravinářský průmysl, protože by mohlo dojít ke snížení kvality produktů a ohrožení bezpečnosti lidí. Možností by bylo využití somaklonálních variant rostlin (regenerantů), které by obsahovaly rezistentní geny (Ashrafzadeh & Leung 2015). Rezistentní rostliny vůči těžkým kovům, které budou mít přijatelný výnos, budou žádané v mnoha zemích. A hlavně z toho důvodu, že by tyto rostliny měly být pro širokou veřejnost přijatelnější než transgenní – nedochází u nich totiž k záměrnému zavádění cizí DNA (Van der Ent et al. 2013; Ashrafzadeh & Leung 2015). Poznatky z této práce, ze zmíněných výzkumů a studií by mohly být použity pro šlechtění odolných odrůd vůči mědi i jiným těžkým kovům.

7 Závěr

Tato práce byla zaměřena na kultivaci odrůd *Solanum tuberosum* v *in vitro* podmínkách na médiích s různými koncentracemi mědi. Pokus měl objasnit vliv mědi na růst a vývoj rostlin bramboru a zároveň i existenci meziodrůdových rozdílů. Bylo dosaženo těchto výsledků:

- Byla potvrzena hypotéza, že kultury *in vitro* poskytují homogenní a robustní prostředí. V *in vitro* pokusech se dají simulovat změny v půdním roztoku, v našem případě vliv změny koncentrace mědi. Byl ověřen průkazný vliv kontaminace půdy na vývoj rostlin.
- Byla potvrzena hypotéza, že rostliny bramboru reagují citlivě na kontaminaci půdy mědí. Rostliny na médiích s koncentracemi mědi 0,06 a 0,6 ppm nevykazovaly velké rozdíly. Na obou médiích rostly standardně a týdenní přírůstek byl skoro neměnný. Na médiích s vyšší koncentrací mědi 6 a 60 ppm se projevovaly změny v morfologii rostlin. Došlo ke snížení růstu nadzemních částí, ale i kořenů.
- Kromě vlivu varianty média byl zjištěn i vliv odrůdy. Co se týdních přírůstků a délky stonků a kořenů týče, odrůdy Apta a Bintje byly vůči zvyšující se koncentraci mědi nejvíce odolné, zatímco odrůdy Hindenburg a Desiree byly velmi citlivé.
- Obecně lze říci, že nejvhodnějšími odrůdami pro růst na půdách kontaminovaných mědí jsou Apta, Bintje, a s nižšími přírůstky i Rita a Sárpo Mira.
- Ověřili jsme, že kontaminace půdy mědí a její fytotoxicita mají velký vliv na růst a vývoj rostlin. Takže bylo potvrzeno že hlavními důsledky toxicity jsou změny v morfologii (délky stonků, kořenů, hmotnosti čerstvé biomasy a sušiny).
- Vyhodnocení dat analýzou rozptylu (ANOVA) potvrdilo všechny stanovené hypotézy. Výsledky experimentu lze využít i pro šlechtitelské účely.

Výsledky experimentu dokazují, že vliv mědi na rostliny *Solanum tuberosum* je významný, a že velmi záleží na výběru vhodné odrůdy. S používáním prostředků na ochranu rostlin na bázi mědi v ekologickém zemědělství, a se zvýšenou průmyslovou činností člověka se hodnoty mědi v půdě postupně zvyšují. Je tedy velmi důležité kontrolovat koncentrace mědi v půdě a využít tyto poznatky pro šlechtění odolnějších odrůd hospodářských plodin.

8 Literatura

- Agrios GN. 2005. Plant Pathology. (5th edn). Academic Press, New York, USA.
- Ali S, Bai P, Zeng F, Cai S, Shamsi I.H, Qiu B, Wu F, Zhang G. 2011. The ecotoxicological and interactive effects of chromium and aluminum on growth, oxidative damage and antioxidant enzymes on two barely genotypes differing in Al tolerance. *Environmental and Experimental Botany* **70**:185–191.
- Ambrosini VG, Rosa, DJ, de Melo, GWB, Zalamena, J, Cella C, Simão DG, Brunetto G. 2018. High copper content in vineyard soils promotes modifications in photosynthetic parameters and morphological changes in the root system of ‘Red Niagara’ plantlets. *Plant Physiology and Biochemistry* **128**:89-98.
- Ancora G, Sonnino A. 1987. *In Vitro* Induction of Mutation in Potato. Pages 408-424 in Bajaj YPS, editor. Potato. Biotechnology in Agriculture and Forestry. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Araújo E, Strawn DG, Morra M, Moore A, Ferracciú Alleoni LR. 2019. Association between extracted copper and dissolved organic matter in dairy-manure amended soils. *Environmental Pollution* **246**:1020-1026.
- Ashraf MA, Maah MJ, Yusoff I. 2011. Heavy metals accumulation in plants growing in ex tin mining catchment. *International Journal of Environmental Science & Technology* **8**:401–416.
- Ashrafzadeh S, Leung D. 2015. *In vitro* breeding of heavy metal-resistant plants: A review. *Horticulture, Environment and Biotechnology*. **56**:131-136.
- Atha DH, Wang H, Petersen EJ, Cleveland D, Holbrook RD, Jaruga P, Dizdaroglu M, Xing B, Nelson BC. 2012. Copper oxide nanoparticle mediated DNA damage in terrestrial plant models. *Environmental Science and Technology* **46(3)**:1819–27.
- Bhat JA, Shivaraj SM, Singh P, Navadagi DB, Tripathi DK, Dash PK, Solanke AU, Sonah H, Deshmukh R. 2019. Role of Silicon in Mitigation of Heavy Metal Stresses in Crop Plants. *Plants (Basel)* **8(3)**:71.
- Bhatti K, Anwar S, Nawaz K, Hussain K, Siddiqi E, Sharif R, Talat A, Khalid A. 2013. Effect of Heavy Metal Lead (PB) Stress of Different Concentration on Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Middle-East Journal of Scientific Research* **14(2)**:148–154.
- Bochicchio R, Sofò A, Terzano R, Gattullo CE, Amato M, Scopa A. 2015. Root architecture and morphometric analysis of *Arabidopsis thaliana* grown in Cd/Cu/Zn-gradient agar dishes: a new screening technique for studying plant response to metals. *Plant Physiology and Biochemistry* **91**:20-27.

Cai S, Xiong Z, Li L, Li M, Zhang L, Liu C, Xu Z. 2014. Differential responses of root growth, acid invertase activity and transcript level to copper stress in two contrasting populations of *Elsholtzia haichowensis*. *Ecotoxicology* **23(1)**:76-91.

Cardi T. 2001. Somatic Hybridization Between *Solanum Commersonii* Dun. and *Solanum tuberosum* L. (Potato). Pages 264-274 in Nagata T, Bajaj YPS, editors. Somatic Hybridization in Crop Improvement II. Biotechnology in Agriculture and Forestry **49**. Springer, Berlin, Heidelberg.

Celis C, Scurrah M, Cowgill S, Chumbiauca S, Green J, Franco J, Main G, Kiezebrink D, Visser RG, Atkinson HJ. 2004. Environmental biosafety and transgenic potato in a centre of diversity for this crop. *Nature*. **432(7014)**:222-5.

Čupr P, Kadlubiec R, Malec J, Sářka M, Skybová M, Škarek M. 2003. Riziková analýza a monitorování složek životního prostředí v Kutné Hoře a okolí. Centrum pro životní prostředí a hodnocení krajiny ekotoxa, s.r.o., ÚNS výzkum, s.r.o., Tocoen s.r.o., Ministerstvo životního prostředí. Opava.

Drobník J. 2006. Historie biotechnologického šlechtění. Pages 3-9 in Geneticky modifikované organismy. Ministerstvo zemědělství ČR a Česká zemědělská univerzita v Praze.

Ernst WHO. 2006. Evolution of metal tolerance in higher plants. *Forest Snow Landscape Research* **80**:251-274.

Fukuoka M, Tokuda E, Nakagome K, Wu Z, Nagano I, Furukawa Y. 2017. An essential role of N-terminal domain of copper chaperone in the enzymatic activation of Cu/Zn-superoxide dismutase. *Journal of Inorganic Biochemistry* **175**:208-216.

Furini A. *Plants and Heavy Metals*. 2012. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York.

Ghafari HR, Sobhanardakani S. 2017. Contamination and Health Risks from Heavy Metals (Cd and Pb) and Trace Elements (Cu and Zn) in Dairy Products. *Iranian Journal of Health Sciences* **5(3)**:49-57.

Ghazaryan K, Movsesyan H, Ghazaryan N, Watts BA. 2019. Copper phytoremediation potential of wild plant species growing in the mine polluted areas of Armenia. *Environmental Pollution* **249**:491-501.

Giannousi K, Avramidis I, Dendrinou-Samara C. 2013. Synthesis, characterization and evaluation of copper based nanoparticles as agrochemicals against *Phytophthora infestans*. *RSC Advances* **3**:21743–21752.

Giri S, Singh AK, Mahato MK. 2017. Metal contamination of agricultural soils in the copper mining areas of Singhbhum shear zone in India. *Journal of Earth System Science* **126**:49.

GRIN Czech. 2022. GRIN Czech Release 1.10.3. Czech republic. Available from <https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/search.aspx> (accessed February 2022).

Gupta N, Yadav KK, Kumar V, Kumar S, Chadd RP, Kumar A. 2019. Trace elements in soil-vegetables interface: Translocation, bio-accumulation, toxicity and amelioration - a review. *Science of the Total Environment* **651(2)**:2.

Hafeez A, Razzaq A, Mahmood T, Jhanzab HM. 2015. Potential of copper nanoparticles to increase growth and yield of wheat. *Journal of Nanoscience with Advanced Technology* **1(1)**:6–11.

Hawkes JG. 1994. Origins of cultivated potatoes and species relationships. CAB International, Wallingford.

Heijerick DG, Van Sprang PA, Van Hyfte AD. 2006. Ambient copper concentrations in agricultural and natural European soils: an overview. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* **25(3)**:858-864.

Hossain MS, Abdelrahman M, Tran CD, Nguyen KH, Chu HD, Watanabe Y, Tran LSP. 2020. Insights into acetate-mediated copper homeostasis and antioxidant defense in lentil under excessive copper stress. *Environmental Pollution* **258**:113544.

Huang WL, Wu FL, Huang HY, Huang WT, Deng CL, Yang LT, Chen LS. 2020. Excess copper-induced alterations of protein profiles and related physiological parameters in citrus leaves. *Plants* **9(3)**:291.

Chandra S, Kumar A, Tomar PK. 2014. Synthesis and characterization of copper nanoparticles by reducing agent. *Journal of Saudi Chemical Society* **18(2)**:149-153.

Chen Y, Wang D, Zhu X, Zheng X, Feng L. 2012. Long-term effects of copper nanoparticles on wastewater biological nutrient removal and N₂O generation in the activated sludge process. *Environmental Science and Technology* **46**:12452–12458.

Chloupek O. 2000. Genetická diverzita, šlechtění a semenářství. Academia, Praha.

Jašková V. 2008. *Solanum tuberosum* L. – lilek brambor / řuřok zemákový. Botany.cz. Available from <http://botany.cz/cs/solanum-tuberosum/> (Accessed March 2022).

Ju W, Liu L, Fang L, Cui Y, Duan C, Wu H. 2019. Impact of co-inoculation with plant-growth-promoting rhizobacteria and rhizobium on the biochemical responses of alfalfa-soil system in copper contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **167**:218-226.

Jung Y, Ha M, Lee J, Ahn YG, Kwak JH, Ryu DH, Hwang GS. 2015. Metabolite profiling of the response of burdock roots to copper stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63(4)**:1309-1317.

Kaasalainen M, Yli-Halla M. 2001. Use of sequential extraction to assess metal partitioning in soils. *Environmental Pollution* **126(2)**:225–233.

Kabata-Pendias A, Pendias H. 2011. Trace Elements in Soils and Plants. CRC. Taylor & Francis Group, Boca Raton.

Kabata-Pendias A. 2001. Trace Elements in Soils and Plants. 3rd Edition. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Kalaivanan D, Ganeshamurthy AN. 2016. Mechanisms of heavy metal toxicity in plants. Abiotic Stress Physiology of Horticultural Crops. Springer Berlin, Germany.

Kanhed P, Birla S, Gaikwad S, Gade A, Seabra AB, Rubilar O, Duran N, Rai M. 2014. *In vitro* antifungal efficacy of copper nanoparticles against selected crop pathogenic fungi. Materials Letters **115**:13–17.

Kasana RC, Panwar NR, Kaul RK, Kumar P. 2017. Biosynthesis and effects of copper nanoparticles on plants. Environmental Chemistry Letters **15**:233–240.

Kocián P. 2006. Lilek brambor. Květena ČR. Available from <http://www.kvetenacr.cz/detail.asp?IDdetail=457> (Accessed January 2022).

Kopittke P, Pax C, Blamey F, McKenna B, Wang P, Menzies N. 2011. Toxicity of metals to roots of cowpea in relation to their binding strength. Environmental Toxicology and Chemistry **30**:1827–33.

Kupiec M, Pieńkowski P, Bosiacka B, Gutowska I, Kupnicka P, Prokopowicz A, Chlubek D, Baranowska-Bosiacka I. 2019. Old and new threats trace metals and fluoride contamination in soils at defunct smithy sites. International Journal of Environmental Research and Public Health **16**(5):819.

Lamhamdi M, El Galiou O, Bakrim A, Nóvoa-Muñoz JC, Arias-Estévez M, Aarab A, Lafont R. 2013. Effect of lead stress on mineral content and growth of wheat (*Triticum aestivum*) and spinach (*Spinacia oleracea*) seedlings. Saudi journal of biological sciences **20**:29–36.

Lee WM, An YJ, Yoon H, Kweon HS. 2008. Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mungbean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum aestivum*): plant agar test for water-insoluble nanoparticles. Environmental Toxicology and Chemistry **27**:1915–1921.

Li B, Quan-Wang C, Liu H, Li HX, Yang J, Song WP, Chen L, Zeng M. 2014. Effects of Cd²⁺ ions on root anatomical structure of four rice genotypes. Journal of Environmental biology **35**(4):751–7.

Liu J, Zhang H, Zhang Y, Chai T. 2013. Silicon attenuates cadmium toxicity in *Solanum nigrum* L. by reducing cadmium uptake and oxidative stress. Plant Physiology and Biochemistry **68**:1–7.

Longano D, Ditaranto N, Cioffi N, Di Niso F, Sibillano T, Ancona A, Conte A, Del Nobile MA, Sabbatini L, Torsi L. 2012. Analytical characterization of laser-generated copper nanoparticles for antibacterial composite food packaging. Analytical and Bioanalytical Chemistry **403**(4):1179–86.

Lukačová Z, Švubová R, Kohanová J, Lux A. 2013. Silicon mitigates the Cd toxicity in maize in relation to cadmium translocation, cell distribution, antioxidant enzymes stimulation

and enhanced endodermal apoplastic barrier development. *Plant Growth Regulation* **70**:89–103.

Maithreyee MN, Gowda R. 2015. Influence of nanoparticles in enhancing seed quality of aged seeds. *Mysore Journal of Agricultural Sciences* **49(2)**:310–313.

Manjunath RP, Prasad PS, Vishnuvardhana AM, Ramegowda GK, Anil S. 2018. Studies on influence of specific micronutrient formulation on grade wise tuber yield and quality in potato (*Solanum tuberosum* L.). *International Journal of Chemical Studies* **5(4)**: 1762-1765.

Mansour SA, Belal MH, Abou-Arab AAK, Ashour HM, Gad MF. 2009. Evaluation of some pollutant levels in conventionally and organically farmed potato tubers and their risks to human health. *Food and Chemical Toxicology* **47(3)**:615–624.

Matson Dzebo M, Blockhuys S, Valenzuela S, Celauro E, Esbjorner EK, Wittung-Stafshede P. 2018. Copper chaperone Atox1 interacts with cell cycle proteins. *Computational and Structural Biotechnology Journal* **16**:443-449.

MEF. 2007. Government Decree on the Assessment of Soil Contamination and Remediation Needs 214/2007 (Legally Binding Texts Are Those in Finnish and Swedish Ministry of the Environment). Available from <http://www.finlex.fi/en/laki/kaannokset/2007/en20070214.pdf> (accessed February 2022).

Mihaljević M, Baieta R, Ettler V, Vaněk A, Kříbek B, Penížek V, Drahotka P, Trubač J, Sracek O, Chrástný V, Mapani BS. 2019. Tracing the metal dynamics in semi-arid soils near mine tailings using stable Cu and Pb isotopes. *Chemical Geology* **515**:61-76

Millam S, Davie P. 2001. Somatic Hybridization Between *Solanum tuberosum* L. (Potato) and *Solanum phureja*. Pages 264-274 in Nagata T, Bajaj YPS, editors. *Somatic Hybridization in Crop Improvement II. Biotechnology in Agriculture and Forestry*, **49**. Springer, Berlin, Heidelberg.

Mizubuti ESG, Valdir LJ, Forbes GA. 2007. Management of late blight with alternative products. *Pest Technology* **1(2)**:106-116.

Mushinskiy A, Aminova E. 2019. The effect of nanoparticles of iron, copper and molybdenum on the morphometric parameters of plants *Solanum tuberosum* L. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. **341**.

Musilová J, Bystrická J, Vollmannová A, Janotová B, Orsák M, Harangozo L, Hegedusová A. 2017. Safety of Potato Consumption in Slovak Region Contaminated by Heavy Metals due to Previous Mining Activity. *Journal of Food Quality* **2017**:11.

Nagaonkar D, Shende S, Rai M. 2015. Biosynthesis of copper nanoparticles and its effect on actively dividing cells of mitosis in *Allium cepa*. *Biotechnology Progress* **31(2)**:557–565.

Nair PMG, Chung IM. 2014a. A mechanistic study on the toxic effect of copper oxide nanoparticles in soybean (*Glycine max* L.) root development and lignification of root cells. *Biological Trace Element Research* **162(1–3)**:342–352.

Nair PMG, Chung IM. 2014b. Impact of copper oxide nanoparticles exposure on *Arabidopsis thaliana* growth, root system development, root lignification and molecular level changes. *Environmental Science and Pollution Research* **21**:12709–12722.

Nair PMG, Chung M. 2015. Changes in the growth, redox status and expression of oxidative stress related genes in chickpea (*Cicer arietinum* L.) in response to copper oxide nanoparticle exposure. *Journal of Plant Growth Regulation* **34**:350–361.

Novák J, Skalický M. 2009. *Botanika: cytologie, histologie, organologie a systematika*. Powerprint, Praha.

Ogunkunle CO, Bornmann B, Wagner R, Fatoba PO, Frahm R, Lützenkirchen- Hecht D. 2019. Copper uptake, tissue partitioning and biotransformation evidence by XANES in cowpea (*Vigna unguiculata* L) grown in soil amended with nano-sized copper particles. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management* **12**:100231

Oorts K. 2012. Copper. Pages 367-394 in Alloway B, editor. *Heavy Metals in Soils*. Springer, Dordrecht.

Petr J, Louda, F. 1998. *Produkce potravinářských surovin*. Vydavatelství VŠCHT, Praha.

Poljak M, Herak-custic M, Horvat T, Coga L, Magic A. 2007. Effects of nitrogen nutrition on potato tuber composition and yield. *Cereal Research Communications* **35**:937-940.

Printz B, Lutts S, Hausman JF, Sergeant K. 2016. Copper trafficking in plants and its implication on cell wall dynamics. *Frontiers in Plant Science* **7**:601.

Rajkovic M, Peric L, Kovacevic D. 2002. Quality of potatoes grown in various regions of Serbia as influenced by heavy metal and pesticide residues concentrations. *Journal of Agricultural Sciences, Belgrade* **47**:161-177.

Reeves RD, Baker AJ, Jaffre T, Erskine PD, Echevarria G, van der Ent A. 2018. A global database for plants that hyperaccumulate metal and metalloid trace elements. *New Phytologist* **218**:407-411.

Roy SK, Cho SW, Kwon SJ, Kamal AHM, Lee DG, Sarker K, Woo SH. 2017. Proteome characterization of copper stress responses in the roots of sorghum. *Biometals* **30(5)**:765-785.

Saleem MH, Fahad S, Khan SU, Din M, Ullah A, Sabagh AE, Liu L. 2020. Copper-induced oxidative stress, initiation of antioxidants and phytoremediation potential of flax (*Linum usitatissimum* L.) seedlings grown under the mixing of two different soils of China. *Environmental Science and Pollution Research* **27(5)**:5211-5221.

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

Shabbir Z, Sardar A, Shabbir A, Abbas G, Shamshad S, Khalid S, Natasha Murtaza G, Dumat C, Shahid M. 2020. Copper uptake, essentiality, toxicity, detoxification and risk assessment in soil-plant environment. *Chemosphere* **259**:127436.

Shahbazi A, Soffianian AR, Mirghaffari N. 2017 Impact assessment of agricultural activities on heavy metal accumulation in soil. *AES Bioflux* **9(2)**:99-108.

Sharma S, Nagpal AK, Kaur I. 2018. Heavy metal contamination in soil, food crops and associated health risks for residents of Ropar wetland, Punjab, India and its environs. *Food Chemistry* **255**:15-22.

Singh N, Kathayat K. 2018. Integrated application of micronutrients to improve growth, yield, quality and economic yield in potato - A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* **7(8)**:2930-2935.

Singh P, Singh K. 2019. Role of micronutrients in potato cultivation. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* **8(4S)**: 128-130.

Sinha S, Pandey K, Gupta A. 2005. Accumulation of Metals in Vegetables and Crops Grown in the Area Irrigated with River Water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. **74**:210–218.

Slavík B. 2000. Solanaceae Juss. – lilkovité. Pages 245-247 in Slavík B, editor. *Květena České republiky* 6. Academia, Praha.

Sobhanardakani S, Tayebim L, Farmany A. 2011. Toxic Metal (Pb, Hg and As) Contamination of Muscle, Gill and Liver Tissues of *Otolithes ruber*, *Pampus argenteus*, *Parastromateus niger*, *Scomberomorus commerson* and *Oncorhynchus mykiss*. *World Applied Sciences Journal* **14(10)**:1453.

Sobhanardakani S. 2016. Potential Health Risk Assessment of Cr, Cu, Fe and Zn for Human Population via Consumption of Commercial Spices; a Case Study of Hamedan City, Iran. *International Archives of Health Sciences* **3**.

Sobhanardakani S. 2017. Potential health risk assessment of heavy metals via consumption of caviar of Persian sturgeon. *Marine Pollution Bulletin* **123(1–2)**:34-38.

Song A, Li Z, Zhang J, Xue G, Fan F, Liang Y. 2009. Silicon-enhanced resistance to cadmium toxicity in *Brassica chinensis* L. is attributed to Si-suppressed cadmium uptake and transport and Si-enhanced antioxidant defense capacity. *Journal of Hazardous Materials* **172**:74–83.

Splodytel A. 2020. Patterns of spreading of heavy metals in soils of urbanized landscapes (on the example of Brovary city). *Journal of Geology, Geography and Geoecology* **29(3)**:580-590.

Spooner DM, Ghislain M, Simon R. 2014. Systematics, Diversity, Genetics, and Evolution of Wild and Cultivated Potatoes. *Botanical Review* **80**:283–383.

Sýkorová S, Bradová J, Cuhra P, Lachman J, Novotný F. 2008. Nové směry v analytice rostlinných produktů. Pages 303-314 in Prugar J, editor. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s. ve spolupráci s Komisí jakosti rostlinných produktů ČAZV, Praha.

Tomšovic P. 2000. *Solanum tuberosum* L. – lilek brambor, brambor obecný. Pages 274-275 in Slavík B, editor. Květena české republiky 6. Academia, Praha.

Tóth G, Hermann T, Da Silva MR, Montanarella L. 2016. Heavy metals in agricultural soils of the European Union with implications for food safety. *Environment International* **88**:299-309.

Tripathi DK, Singh S, Mishra S, Chauhan DK, Dubey NK. 2015. Micronutrients and their diverse role in agricultural crops: advances and future prospective. *Acta Physiologiae Plantarum* **37**:139.

Van der Ent A, Baker AM, Reeves R, Pollard AJ, Schat H. 2013. Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction. *Plant Soil* **362**:319-334.

Van Dokkum W. 1995. The intake of selected minerals and trace elements in European countries. *Nutrition Research Reviews* **8(1)**:271-302.

Van NL, Ma C, Shang J, Rui Y, Liu S, Xing B. 2016. Effects of CuO nanoparticles on insecticidal activity and phytotoxicity in conventional and transgenic cotton. *Chemosphere* **144**:661-670.

Vokál B, Čepl J, Hausvater E, Rasocho V. 2003. *Pěstujeme brambory*. Grada, Praha.

Westermann DT. 2005. Nutritional requirements of potatoes. *American Journal of Potato Research* **82**:301-307.

Yang Z, Chen J, Dou R, Gao X, Mao C, Wang L. 2015. Assessment of the phytotoxicity of metal oxide nanoparticles on two crop plants, maize (*Zea mays* L.) and rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Environmental Research and Public Health* **12(12)**:15100-15109.

Yruela I. 2009. Copper in plants: acquisition, transport and interactions. *Functional Plant Biology* **36**:409-430.

Zadina J, Jermoljev E. 1976. *Šlechtění bramboru*. Academia, Praha.

Zhang J, Zeng L, Sun H, Wu H, Chen S. 2017. Adversity stress-related responses at physiological attributes, transcriptional and enzymatic levels after exposure to Cu in *Lycopersicon esculentum* seedlings. *Scientia Horticulturae* **222**:213-220.

Zolnowski AC, Busse MK, Zajac PK. 2013. Response of maize (*Zea mays* L.) to soil contamination with copper depending on applied contamination neutralizing substances. *Journal of Elementology* **18(3)**:507-520.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

Ag – stříbro

As – arsen

ATP – adenosin trifosfát

Cd – kadmium

Co – kobalt

CO₂ – oxid uhličitý

Cr – chrom

Cu – iont mědi

Cu₂O – oxid měďný

CuO – oxid měďnatý

CuSO₄ · 5H₂O – pentahydrát síranu měďnatého

ELISA – enzyme-linked immuno sorbent assay – analytická metoda ke stanovení antigenů

Fe – železo

Hg – rtuť

K – draslík

KOH – hydroxid draselný

Mn – mangan

Mo – molybden

MS – Murashige/Skoog médium

N – dusík

Ni – nikl

P – fosfor

Pd – paladium

ppm – parts per milion (1/1000000 celku)

ROS – reactive oxygen species (reaktivní formy kyslíku)

Si - křemík

Zn – zinek

10 Seznam použitých obrázků

Obrázek 1: Příjem těžkých kovů kořeny rostlin a také jejich možné přímé a nepřímé negativní účinky na produktivitu plodin. Znaménko ↓ značí pokles a znaménko ↑ nárůst	20
Obrázek 2: Účinek Cu na rostliny. Nadbytek i nedostatek Cu mají negativní vliv na rostlin	26
Obrázek 3: Cyklus mědi v přírodě. Kontaminace půdy, atmosféry, vody a příjem Cu rostlinami i lidmi	29
Obrázek 4: Laminární box (flowbox) – plynový kahan pro sterilizaci, ethanol, Petriho misky	32
Obrázek 5: Rozdíly v růstu na médiu s koncentracemi mědi 0,06 ppm (vlevo) a 60 ppm (vpravo) u odrůdy Rita po 4 týdnech růstu v kultivačním boxu	38
Obrázek 6: Rozdíly v růstu na médiu s koncentracemi mědi 0,06 ppm (vlevo) a 60 ppm (vpravo) u odrůdy Apta po 4 týdnech růstu v kultivačním boxu	38
Obrázek 7: Rozdíly v růstu na médiu s koncentracemi mědi 0,06 ppm (vlevo) a 60 ppm (vpravo) u odrůdy Sárpo Mira po 4 týdnech růstu v kultivačním boxu	39
Obrázek 8: Rozdíly v růstu na médiu s koncentracemi mědi 0,06 ppm (vlevo) a 60 ppm (vpravo) u odrůdy Bintje po 4 týdnech růstu v kultivačním boxu	43
Obrázek 9: Rozdíly v růstu na médiu s koncentracemi mědi 0,06 ppm (vlevo) a 60 ppm (vpravo) u odrůdy Desiree po 4 týdnech růstu v kultivačním boxu	44
Obrázek 10: Rozdíly v růstu na médiu s koncentracemi mědi 0,06 ppm (vlevo) a 60 ppm (vpravo) u odrůdy Hindenburg po 4 týdnech růstu v kultivačním boxu	44