

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv aplikace selenu na akumulaci rostlinami pšenice jarní a
kvalitu zrna**

Diplomová práce

Bc. Vít Halák

Rostlinná produkce

Vedoucí práce: prof. Ing. Pavel Tlustoš, CSc., dr. h. c.

Konzultant práce: Ing. Tomáš Mrština

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv aplikace selenu na akumulaci rostlinami pšenice jarní a kvalitu zrna" jsem vypracoval 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 autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13.4. 2022

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval prof. Ing. Pavlu Tlustošovi, CSc., dr. h. c. za vedení diplomové práce a odborné rady. Dále pak Ing. Tomášovi Mrštinovi za konzultace a pomoc při vedení experimentu.

Vliv aplikace selenu na jeho akumulaci rostlinami pšenice jarní a kvalitu zrna

Souhrn

Selen patří k nepostradatelným prvkům ve výživě zvířat i člověka a v našich půdách se zpravidla vyskytuje v deficitním množství. Použití Se v biologii a zemědělství přidávaného do minerálních hnojiv, krmiv, veterinárních přípravků a jako doplňku lidské stravy představuje pouze asi 5 % z celkové potřeby, ale s rostoucími poznatky o jeho nezbytnosti ve výživě zvířat a člověka lze očekávat, že se bude jeho spotřeba výrazně zvyšovat.

V této diplomové práci se literární rešerše zaměřila na obecné poznatky o selenu. Tato část začíná kapitolou o charakteristice selenu, na kterou navazuje význam selenu pro člověka a zvířata. Další kapitola pokračuje výskytem a chováním selenu v půdě a rostlině. Důležitá kapitola je o biofortifikaci rostlin Se, která zahrnuje možnosti hnojení rostlin a také informace o významu nanoselenu. Závěrem jsou shrnuty základní informace o pěstování pšenice a její možnosti hnojení selenem a následným využitím.

Nádobový vegetační experiment byl založen v roce 2021 na České zemědělské univerzitě v Praze. Rostliny pšenice byly založeny do 48 identických plastových nádob s 5 kg zeminy z Doudleb nad Orlicí v každé nádobě a poté v nich byla vyseta pšenice jarní. Pro hnojení Se byl použit selenan sodný a nanoselen. Aplikovalo se vždy 100 μg /nádobu Se ve formě roztoku, ale v různě dělených dávkách a v různých fenologických fázích: 1x 100 μg /nádobu – BBCH 30 (varianta 1x), 2x 50 μg /nádobu – BBCH 30/41 (varianta 2x), 3x 33 μg /nádobu – BBCH 30/41/51 (varianta 3x), 4x 25 μg /nádobu – BBCH 30/41/51/61 (varianta 4x). Při sklizni rostlin byly jednotlivé části rostlin zváženy a odebrány vzorky kořenů, slámy a zrna, které byly později analyzovány na obsah Se, a jeho odběr jednotlivými částmi rostlin.

Nejvíce selenu bylo obsaženo v zrnu, a to u variant hnojených selenanem sodným, konkrétně varianty hnojené dávkou 1x 100 μg /nádobu (2476 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Se) a 2x 50 μg /nádobu (2509 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Se). Ve slámě byl největší obsah Se naměřen ve variantě hnojené selenanem sodným v dávce 1 x 100 μg /nádobu (1174 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Mezi variantami hnojenými nanoselenem a kontrolními selenem nehnojenými, neexistoval statisticky významný rozdíl v obsahu Se v biomase. Nejvíce selenu po aplikaci nanoselenu se nacházelo v kořenech, a to ve variantě hnojené dávkou 4x 25 μg /nádobu (637 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Se). Statistické rozdíly jsme nezaznamenali ani

u výnosů mezi variantami hnojenými Se a nehnojenými kontrolami. Nejvyššího výnosu zrna dosáhla varianta hnojená selenanem sodným dávkou 1x 100 µg/nádoba (10,7 g/nádoba). Největší výnos slámy jsme zaznamenali u varianty hnojené nanoselenem v dávce 4x 25 µg/nádoba (14,35 g/nádoba) a u nehnojené kontroly 1 (14,35 g/nádoba). Z kořenů dosáhla největšího výnosu varianta hnojená selenanem sodným dávkou 4 x 25 µg/nádoba (5,98 g/nádoba).

Z výsledků je patrné, že námi aplikovaný nanoselen není vhodný pro biofortifikaci pšenice selenem, naopak selenan sodný je vhodná forma Se pro jeho akumulaci v zrnu pšenice, která se tak jeví jako vhodná plodina pro doplnění nedostatku Se v populaci.

Klíčová slova: Obsah Se, odběr Se, selenan sodný, nanoselen, foliární aplikace, pšenice jarní, zrno, sláma, kořen

The Effect of Selenium Application on the Se Accumulation in Spring Wheat Plants and the Seed Quality.

Summary

Selenium is an essential element in animal and human nutrition and it is usually found in deficient amounts in our soils. The use of Se in biology and agriculture, in mineral fertilisers, animal feeds, veterinary preparations and as a supplement to the human diet, represents only about 5 % of the total requirement, but with increasing knowledge of its essentiality in animal and human nutrition, its consumption can be expected to increase significantly.

In this thesis, the literature review focused on the general knowledge of selenium. This section begins with a chapter on the characteristics of selenium, followed by the importance of selenium for humans and animals. The next chapter continues with the occurrence and behaviour of selenium in soil and plant. An important chapter is on Se biofortification of plants, which includes options for fertilizing plants as well as information on the importance of nanoselenium. Finally, basic information about wheat cultivation and its selenium fertilization options and subsequent uses are summarized.

The pot vegetation experiment was established in 2021 at the Czech University of Life Sciences in Prague. Wheat plants were established in 48 identical plastic containers with 5 kg of soil from Doudlebská nad Orlicí in each container and then spring wheat was sown in them. Sodium selenate and selenium nanoparticles were used for Se fertilization. 100 µg/pot of Se was applied in the form of a solution into each pot, but in different divided doses and at different phenological phases: 1x 100 µg/pot - BBCH 30 (treatment 1x), 2x 50 µg/pot - BBCH 30/41 (treatment 2x), 3x 33 µg/pot - BBCH 30/41/51 (treatment 3x), 4x 25 µg/pot - BBCH 30/41/51/61 (treatment 4x). At the time of plant harvesting, individual plant parts were weighed and root, straw and grain samples were collected and later analysed for Se content.

The most selenium was contained in the grain, namely in the treatments fertilized with sodium selenate, specifically the treatments fertilized with 1x 100 µg/day (2476 µg/kg Se) and 2x 50 µg/day (2509 µg/kg Se). In straw, the highest Se content was measured in the treatment fertilised with sodium selenate at 1 x 100 µg/pot (1174 µg/kg). There was no statistically significant difference in biomass Se content between the selenium nanoparticles

fertilized and the non-selenium fertilized control treatments. The highest amount of selenium after nanoselenium application was found in the roots, in the treatment fertilized with 4x 25 µg/pot (637 µg/kg Se). We did not observe statistical differences in yields between Se fertilized treatments and unfertilized controls. The highest grain yield was achieved by the treatment fertilized with sodium selenate at 1x 100 µg/pot (10.7 g/pot). The highest straw yield was recorded in the treatment fertilized with nanoselenium at 4x 25 µg/pot (14.35 g/pot) and in the unfertilized control 1 (14.35 g/pot). The highest yield was obtained from roots in the treatment fertilised with sodium selenate at 4 x 25 µg/pot (5.98 g/pot).

The results show that the selenium nanoparticles applied by us are not useful for biofortification of wheat with selenium, whereas sodium selenate is a suitable form of Se for its accumulation in wheat grain, which thus appears to be a suitable crop for supplementing the lack of Se in the population.

Keywords: Selenium content, selenium uptake, sodium selenate, selenium nanoparticles, foliar application, spring wheat, grain, straw, roots

Obsah

1	Úvod.....	10
2	Literární rešerše.....	11
2.1	Charakteristika selenu	11
2.2	Význam selenu.....	12
2.2.1	Význam Se pro člověka	12
2.2.2	Význam Se pro zvířata	15
2.3	Selen v půdě	16
2.3.1	Formy Se v půdě	16
2.3.2	Obsah Se v půdě	17
2.4	Selen v rostlině	18
2.4.1	Význam Se pro rostlinu	18
2.4.2	Metabolismus Se v rostlině.....	18
2.4.3	Akumulace Se v rostlině.....	20
2.5	Biofortifikace Se.....	22
2.5.1	Hnojení Selenem.....	23
2.5.2	Půdní aplikace.....	24
2.5.3	Foliární aplikace	25
2.5.4	Nanoselen	26
2.6	Pšenice	29
3	Vědecká hypotéza a cíle práce.....	31
4	Metodika.....	32
4.1	Nádobový pokus	32
4.1.1	Pokusný materiál	32
4.1.1.1	Charakteristika zeminy	32
4.1.1.2	Odrůda jarní pšenice.....	32
4.1.2	Založení experimentu	32
4.1.3	Ošetřování během vegetace.....	33
4.1.4	Aplikace selenu	33
4.1.5	Zpracování vzorků a analýzy	34
4.1.6	Statistické vyhodnocení.....	35
5	Výsledky.....	36
5.1	Výnos biomasy.....	36
5.1.1	Výnos zrna.....	36
5.1.2	Výnos slámy	37
5.1.3	Výnos kořenů	38

5.2	Obsah Se v biomase.....	39
5.2.1	Obsah Se v znu.....	39
5.2.2	Obsah Se v slámě	40
5.2.3	Obsah Se v kořenech.....	41
5.3	Odběr Se rostlinami pšenice	42
5.4	Korelace obsahů a odběrů Se a výnosů jednotlivých částí rostlin pšenice ...	44
5.4.1	Korelace obsahů Se a výnosů všech variant a částí rostliny	44
5.4.2	Korelace odběrů Se a výnosů všech variant a částí rostliny	45
6	Diskuze	46
7	Závěr	50
8	Literatura.....	52
9	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	60
10	Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Selen je nezbytný stopový prvek pro člověka a všechna zvířata a je také potřebný v mnoha různých oblastech průmyslu. Použití Se v biologii a zemědělství přidávaného do chemických hnojiv, krmiv, veterinárních přípravků a jako doplňku lidské stravy představuje pouze asi 5 % celkové poptávky, ale lze očekávat, že se bude výrazně zvyšovat. Průmyslová poptávka po Se představuje většinu produkce. Díky svým jedinečným elektrickým vlastnostem má selen širokou škálu průmyslového využití, jako je elektrotechnický, pigmentový, sklářský a metalurgický průmysl (Haug et al. 2007). Selen je chemicky příbuzný s ostatními členy chalkogenové skupiny, která zahrnuje kyslík, síru, telur a polonium. Proto je klasifikován jako polokov nebo metaloid (Reilly 1996). Je snaha zvýšit příjem selenu na doporučenou denní dávku, jelikož je v některých částech světa deficit v příjmu tohoto prvku. Má vysokou antioxidační schopnost, a tudíž je velmi prospěšný v prevenci závažných onemocněních.

Obohacováním rostlin o selen je jednou z důležitých strategií, jak tento deficitní prvek zvýšit ve stravě populace a tím zlepšit zdravotní stav u lidí. Jednou z těchto rostlin je pšenice setá (*Triticum aestivum* L.), která patří k jedné z nejpěstovanějších plodin na světě. Jejím biofortifikováním by se snadno hladina selenu v lidské stravě zvýšila na požadovanou mez.

Neočekává se, že biofortifikace selenem odstraní nedostatky Se nebo nemoci související se Se, ale poskytne praktický a nákladově efektivní způsob, jak zvýšit příjem Se pro zranitelné osoby. Je třeba pokračovat ve výzkumných programech se zaměřením na nejúčinnější metody aplikace Se s anorganickými a organickými zdroji Se pro zvýšení i akumulace Se v potravinářských produktech (Bañuelos et al. 2017). Bouis et al. (2003) uvedli, že spotřebitelé v rozvinutých i rozvojových zemích přijmou potraviny z biofortifikovaných plodin za předpokladu, že nebudou znatelně dražší než alternativy a že strategie biofortifikace nezmění kvalitu potravin.

2 Literární rešerše

2.1 Charakteristika selenu

Stopový prvek selen (Se) byl objeven v roce 1817 švédským lékařem a chemikem Berzelieusem, avšak jeho význam pro savce je znám až od 50. let 20. století (Ceko et al. 2016). Je to vzácný prvek na naší planetě, protože jeho průměrná koncentrace v magmatickém podloží je pouze 0,05 mg/kg, což je nejméně ze všech anorganických prvků. Zdroj Se je omezený, protože neexistují žádné rudy, ze kterých by se dal těžit jako primární produkt (Haug et al. 2007). Většina Se ve světě se vyrábí v USA, Japonsku a Kanadě. Menší množství se vyrábí v Číně, Austrálii a dalších zemích, kde se také těží měď, která má vyšší zastoupení selenu v těžené rudě. Produkce ve světě značně vzrostla od doby, kdy se prvek začal komerčně používat na začátku 20. století. Celosvětová produkce tehdy byla kolem 5000 kg a zvýšila se na odhadovaných 2300 t ročně (Oldfield 1999).

Vybrané chemické a fyzikální vlastnosti Se můžete vidět v tabulce č. 1. Alotropie selenu není tak rozsáhlá jako u síry a alotropy nebyly tak důkladně studovány. Pouze dvě krystalické odrůdy selenu jsou složeny z cyklických molekul Se⁸. Značí se α a β , obě existují jako červené monoklinické krystaly. Šedý allotrop s kovovými vlastnostmi vzniká při 200–220 °C. Amorfni (nekystalická), červená, práškovitá forma selenu vznikne, když se roztok kyseliny seleničité nebo některé z jejích solí zpracuje oxidem siřičitým. Pokud jsou roztoky velmi zředěné, extrémně jemné částice této odrůdy poskytují průhlednou červenou koloidní suspenzi. Číré červené sklo je výsledkem podobného procesu, ke kterému dochází, když je roztavené sklo, obsahující seleničitany, ošetřeno uhlíkem. Rychlým ochlazením jiných modifikací z teplot nad 200 °C vzniká skelná, téměř černá odrůda selenu. Konverze této sklovité formy na červené, krystalické alotropy nastává při jejím zahřátí nad 90 °C nebo při jejím udržování v kontaktu s organickými rozpouštědly, jako je chloroform, ethanol nebo benzen (Brasted 2019).

Tabulka č. 1 Chemické a fyzikální vlastnosti selenu (Kieliszek 2019)

Vlastnost	Selen
Atomové číslo	34
Atomová hmotnost	78,96
Hustota (g/cm ³)	4,808
Teplota tání (°C)	220
Teplota varu (°C)	685
Oxidační čísla	-II, 0, IV, VI

2.2 Význam selenu

2.2.1 Význam Se pro člověka

Lidé potřebují více než 22 základních prvků a jejich sloučenin, které lze všechny dodat vhodnou stravou. Nedostatky těchto prvků ve stravě jsou ale velice rozšířené (Broadley et al. 2010). Selen je nezbytný pro lidské zdraví, kde hraje klíčovou roli při tvorbě řady enzymů, jako jsou například glutathion peroxidáza, thioredoxin reduktáza, superoxid dismutáza (snižují množství volných kyslíkových radikálů v těle). Nicméně v mnoha oblastech celého světa je průměrný příjem selenu ve stravě nižší, než je doporučená hodnota 40 µg/den stanovená Světovou zdravotnickou organizací (Luo et al. 2021). V tabulce č. 2 můžeme vidět maximální a optimální hodnoty příjmu selenu člověkem podle průzkumu Chen et al. (2020) a tabulka č. 3 ukazuje doporučený denní příjem Se podle věku člověka. Odhaduje se, že nedostatečný příjem selenu postihuje až 1 miliardu lidí po celém světě (Jones et al. 2017).

Tabulka č. 2 Maximální, tolerovaný a doporučený příjem selenu člověkem za den (Chen et al. 2020)

Stát	Bez negativních účinků (µg/den)	Nejvyšší tolerovaný příjem (µg/den)	Doporučená dávka (µg/den)
Austrálie	800	400	60-70
Kanada	800	400	55
Čína	819	400	15-78
Nový Zéland	800	400	60-70
Velká Británie	800	400	55-70
USA	724	400	20-55

Tabulka č. 3 Doporučený příjem Se podle věku člověka (Kieliszek 2019)

Věk (roky)	Příjem selenu (µg/den)
1–3	15–20
4–13	30–40
14–50	55–70
51+	70–100

Nedostatečný příjem selenu může způsobit závažné zdravotní problémy. Jedná se například o poruchy související s oxidačním stresem, sníženou plodností, sníženou imunitou, nebo také zvýšeným rizikem rakoviny (Luo et al. 2021).

Luo et al (2021) v in vitro podmínkách zjistili, že arašídový protein podzemnice olejné obohacený o Se inhiboval růst rakovinných buněk. Přesné mechanismy prevence rakoviny ale nejsou ještě známy a je třeba provést další studie.

Obsah Se v potravinách závisí na obsahu Se v půdě, ve které jsou pěstovány rostliny. Se se v největším množství nachází ve vnitřnostech zvířat, jako jsou játra a ledviny. Z rostlinných potravin patří mezi hlavní zdroje Se obiloviny, luštěniny a brukvovitá zelenina (Ceko et al. 2016). Selen rovněž obsahují para ořechy, které jsou hyperakumulátorem selenu. To ale platí za předpokladu, že vyrostly na půdě s přiměřeným obsahem selenu. Většina ovoce a zeleniny neposkytuje významné množství selenu (Passwater 1999). Mléčné výrobky a vejce neobsahují velké množství Se, ale v zemích, kde se tyto potraviny hodně konzumují (Nový Zéland), mohou zahrnovat velkou část příjmu Se pro populaci (Combs 2001). Velmi vysoký obsah Se je v mořských rybách. Nicméně ne vždy je zde Se dostupný pro člověka, kvůli kontaminaci těžkými kovy ze znečištěných vod a také kvůli jeho obsahu v méně stravitelných sloučeninách, ve kterých se Se v rybím mase vyskytuje (Kvíčala 2018). Obsah selenu v rybách může souviset i s druhem. Například u masožravých ryb dochází ke kolísání selenu od 0,15 $\mu\text{g/g}$ do 1,6 $\mu\text{g/g}$. U býložravých ryb je to od 0,21 $\mu\text{g/g}$ do 1,4 $\mu\text{g/g}$ selenu v těle (Chen et al. 2020). Významným zdrojem selenu by mohly být i některé druhy hub, které jsou akumulátory selenu a byl v nich nalezen selenomethionin (Kvíčala 2018).

Je žádoucí zajistit přiměřený obsah v rostlinných produktech (jako mezní hodnota obsahu v obilkách je považována 0,1 ppm Se) a současně zamezit jeho nadbytečnému přísunu, který může působit na živočichy negativně (Vaněk et al. 2016). Vzhledem k tomu, že anorganický Se nemá žádnou chuť, vůni ani barvu, tak vždy existuje riziko předávkování živinou při jejím přidávání do potravinářských výrobků. Mísící postupy se proto musí přísně kontrolovat, aby se tomuto problému zabránilo. Jako preventivní opatření lze použít netoxické barvivo, které se smíchá s používanou sloučeninou Se (Haug et al. 2007). Toxicita Se u lidí je mnohem méně rozšířena než jeho nedostatek. Mezi příznaky toxicity Se u lidí patří vypadávání vlasů, křehké a zesílené nehty a také kožní onemocnění (Whanger et al. 1996). Otrava selenem může vést k cirhóze jater, plicním onemocněním a cukrovce (Radawiec et al. 2021). Fordyce (2013) uvádí, že toxicita Se může způsobit také poškození nervového

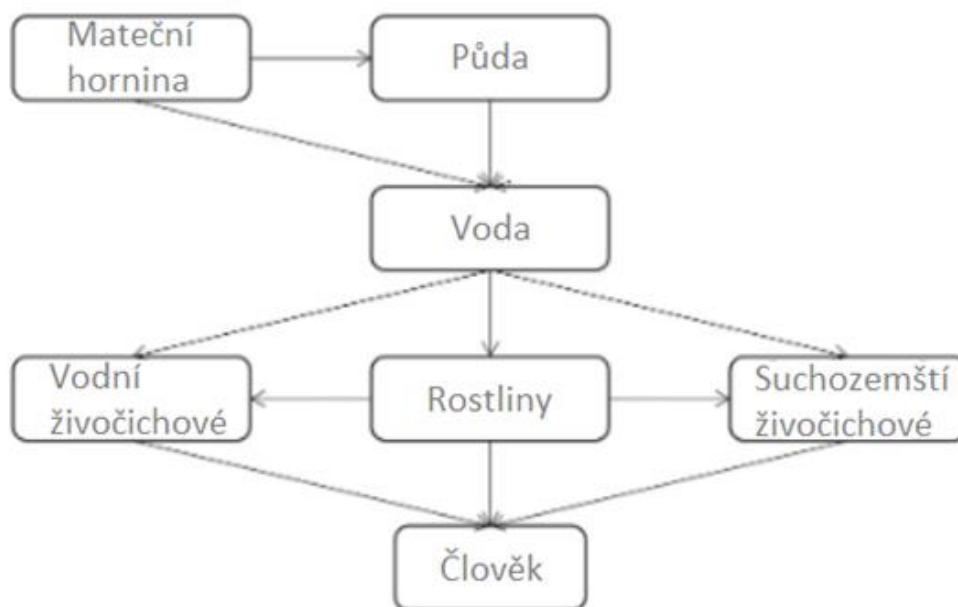
systému, paralýzy a v některých případech i smrt. Vysoké hladiny Se v populaci byly pozorovány na několika místech ve světě. Patří sem část USA, Venezuely, Kolumbie a Číny. Tyto státy mají v některých částech země seleniferní půdy (půdy s vysokým obsahem selenu) (Rayman 2008).

V mnoha evropských zemích byl v dřívějších letech zaznamenán klesající trend v příjmu Se. Příčina tohoto stavu není zcela objasněna, ale za hlavní důvod je všeobecně považováno nahrazování importované severoamerické pšenice pěstované na půdách s vysokým obsahem Se pšenicí z Evropy pěstovanou na půdách s nízkou koncentrací Se, nebo s mnohem horší biologickou dostupností Se pro příjem rostlinami (ve srovnání s oblastmi s vysokým obsahem Se v Severní Americe) (Rayman 1997). Na základě výsledků mnohaletého sledování stavu a příjmu selenu u obyvatel Čech a Moravy, a to zejména seniorů, je možné, že dokumentovaný nízký příjem selenu a z toho vyplývající nízký stav selenu v organismu obyvatel ČR může vést ke zhoršení zdravotního stavu a neuropsychických projevů obyvatel v důsledku snížení antioxidační kapacity, změn v celotělové regulaci hormonů štítné žlázy, snížení imunity a mnoha dalších projevů deficitu selenu. Dokud nebude překročeno v naší zemědělské a potravinářské produkci ke zvýšení obsahu Se na dostatečnou hladinu, může být doporučena vyšší spotřeba mořských ryb jako bohatého zdroje Se a větší zařazení rostlinných selenoakumulátorů do diet (paraorechy) (Kvíčala 2018).

Technologie hnojení selenem pro část světové produkční plochy chudé na Se by byly účinným způsobem, jak zvýšit obsah Se v potravinách pro lidi a ve výživě zvířat. Nicméně množství Se, které by bylo každoročně celosvětově zapotřebí by bylo příliš velké. Například při aplikaci 20 g Se/ha na třetinu produkční plochy orné půdy by ročně činilo asi 1000 t Se, což je více než třetina současné roční produkce (Haug et al. 2007).

Na obrázku č. 1 můžeme vidět cesty selenu v ekosystému, které musí překonat, než se dostane k člověku.

Obrázek č. 1 Cesta Se k člověku (Chen et al. 2020)



2.2.2 Význam Se pro zvířata

Selen je esenciální stopový prvek důležitý pro řadu fyziologických procesů zvířat, zejména pro funkci imunitního a reprodukčního systému, metabolismu hormonů a štítné žlázy. Vykazuje antioxidantní aktivitu, je protizánětlivý, antimutagenní, antikarcinogenní a má antibakteriální, antivirové, protiplísňové a antiparazitické účinky. Nedostatek selenu se obvykle projevuje zvýšeným výskytem retence placenty, metritid, mastitid, potratů, snížení plodnosti a zvýšené náchylnosti k infekcím. U telat, jehňat a kůzlat se nedostatek selenu projevuje ZHN (nemoc bílého svalstva), u hříbat a oslů je spojen s výskytem ZHN a onemocněním žlutého tuku a u prasat způsobuje VESD (nedostatek vitamínu E/selenu) syndrom. Prevenci těchto zdravotních poruch lze dosáhnout adekvátním doplňováním selenu do stravy (Hosnedlova et al. 2017). V těle zvířat se nenachází příliš mnoho selenu, přičemž nejvyšší množství se nachází ve svalech. Množství selenu v organismu zvířat se pohybuje od 15 až do 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ živé hmotnosti. Nejvíce ho najdeme v ledvinách, játrech, relativně vysoká koncentrace je v kosterní svalovině a myokardu. Nejnižší koncentrace selenu u zvířat se nachází v tuku (Jelínek & Koudela 2003).

Stav selenu v organismu lze hodnotit přímo na základě stanovení obsahu selenu, nebo neřímo metodou – na základě aktivity selen-dependetní glutathionperoxidázy. Denní doporučená dávka selenu pro zvířata je uvedena v tabulce č. 4 (Hosnedlova et al. 2017). Při stanovení dávky je třeba vzít v úvahu přítomnost některých dalších složek potravy, které

antagonizují selen, např. síra. Vyšší příjem síry v potravě snižuje plazmatickou koncentraci selenu a jeho biologickou dostupnost v organismu (Ivancic & Weiss 2001). Existují i další antagonistické vztahy mezi selenem a dalšími esenciálními nebo toxickými prvky, které popsal Schrauzer (2009). Jedná se o prvky As, Cu, Ni, Co, Cr, Mn, Zn, Cd, Sn, Pb, Hg, Bi, Mo, Ag, Au.

Tabulka č. 4 Denní doporučená dávka Se pro hospodářská zvířata (Hosnedlova et al. 2017)

Druh zvířete	Doporučený příjem (mg/kg)
Prase	0,15-0,30
Masný skot	0,1
Dojný skot	0,3
Tele	0,1
Ovce	0,1-0,2
Koza	0,1
Kůň	0,1-0,3

Taylor et al. (2008) zkoumali výživu skotu pomocí pšenice nadměrně obohacené o Se a zjistili, že po konzumaci pšenice obsahovala hovězí svalovina 3,8krát více Se než u jiných krmiv bohatých na selen. Při zkrmování pšenice obohacené o selen u skotu se zvýšil obsah selenomethioninu na úkor methioninu v organismu skotu. Dále se zabývali bezpečností této metody a podle jejich závěru je výživa tímto vysocenuutričním krmivem bezpečná jak pro zvířata, tak i následně pro člověka.

2.3 Selen v půdě

2.3.1 Formy Se v půdě

Většina Se se jakémkoli potravinovém systému nachází v půdě, a to především díky zvětrávání hornin obsahujících Se. Dalšími zdroji Se pro půdu jsou hnojiva obsahující Se, vulkanická činnost, prach a některé vody (Combs 2001). Selen je nerovnoměrně rozložen na povrchu Země a pohybuje se téměř od nuly po 1250 mg/kg. Nachází se téměř výhradně v sulfidových minerálech, a to včetně železa, niklu, mědi, zinku a sulfidů olova. Sedimentární horniny však mohou obsahovat oxidované formy Se, jako je selenan a seleničitan, které jsou

po organických sloučeninách nejčastějšími formami Se v půdách. Průměrná koncentrace Se je mnohem vyšší u sedimentárních hornin (zejména u břidlic a uhlí) než u vyvřelých hornin. To lze vysvětlit jako důsledek těkání Se do atmosféry a hydrosféry během vulkanických procesů (Haug et al. 2007). Selen v půdě existuje buď ve výše zmíněných anorganických formách jako jsou selenan (SeO_4^{2-}) a seleničitan (SeO_3^{2-}) a elementární Se (Se^0), nebo v selenidové organické formě (Se^{2-}), z které se dále vytváří SeCyst a SeMet. Kořeny rostlin mohou přijímat Se ve všech těchto formách v závislosti na druhu rostliny, její vývojové fázi a půdních podmínkách (pH, redoxní potenciál, organická hmota). Selenan je nejrozšířenějším typem biologicky dostupného Se pro kulturní plodiny. Jedním z důvodů je, že je oproti seleničitanu lépe rozpustný a je více přístupný pro rostliny (Sors et al. 2005). Anaerobní podmínky a kyselé prostředí podporují tvorbu sloučenin selenu v nižších oxidačních stavech. Naproti tomu za aerobních podmínek a při alkalickém pH jsou dominantní vyšší oxidační stavy tohoto prvku (Kieliszek 2019).

2.3.2 Obsah Se v půdě

Většina půd obsahuje 0,1 – 2 mg/kg Se. Některé části světa (Dánsko, části Ruska a Číny) se vyznačují velmi nízkým obsahem Se v půdách, a tedy i v jejich potravinových systémech. Naproti tomu jiné oblasti (části Číny, Irska, Venezuely a Kolumbie) jsou na Se bohaté (Combs 2001). Jones et al. (2017) pomocí scénářů mírné klimatické změny pro období 2080-2099 předpověděli, že změny klimatu a obsahu organického uhlíku v půdě povedou k celkovému snížení koncentrací Se v půdě, zejména v zemědělských oblastech. Kromě půd je selen přítomen ve všech ostatních složkách životního prostředí (litosféře, hydrosféře, biosféře a atmosféře), které hrají roli v globálním biogeochemickém cyklu a distribuci selenu.

Nedostatek selenu nastává, když jsou hladiny selenu v půdě nižší než 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$, nebo když je snížena jeho dostupnost pro rostliny vlivem nevhodných půdních podmínek (Ros et al. 2016). Mobilizaci Se z půd ovlivňuje mimo jiné pH půdy. Při alkalických podmínkách dochází k přeměně Se na selenan (SeO_4^{2-}), který není v půdě fixován, zatímco v kyselých podmínkách je více seleničitanu (SeO_3^{2-}), který se adsorbuje na jíly a je silně poután hydroxidy železa. Dostupnost Se pro rostliny je také ovlivněna vlhkostí půdy. Prvek je více dostupný při nižší vlhkosti, a tak lze jeho příjem rostlinami ovlivnit agrotechnickými zásahy jako zavlažování a provzdušňování (Combs 2001). V aridních oblastech se ojediněle vyskytují stanoviště s vyšším obsahem Se v půdách, kde je nebezpečí i většího příjmu a zvýšení obsahu

Se v nadzemních částech rostlin, které může vést až ke zdravotním poruchám pasoucích se zvířat. Pro omezení případného nadměrného příjmu Se v oblastech s jeho vysokým obsahem v půdě je vhodná aplikace síranů, například síranu vápenatého, který omezí jeho příjem a současně, zvláště na zasolených půdách, působí příznivě vytěsněním Na^+ ze sorpčního komplexu a následným vyplavením Na_2SO_4 z půdního profilu (Vaněk et al. 2016).

Existuje mnoho studií na reziduální účinky selenu. Nicméně se prokázalo, že rezidua selenu jsou v následujícím roce velmi malá. Na Novém Zélandu, kde se hnojení Se praktikuje již více než 30 let nedošlo k žádnému výraznějšímu hromadění selenu v půdě (Lyons et al. 2004).

2.4 Selen v rostlině

2.4.1 Význam Se pro rostlinu

Rostliny obsahují směsi různých složek Se, které jsou metabolizovány jedinečným způsobem, a proto mohou ovlivňovat více pochodů v rostlině (Finley 2005). Význam Se v rostlině ukazuje skutečnost, že stimuluje rostliny k boji proti biotickým (patogen, škůdce) i abiotickým (oxidační stres) faktorům. Tvoří také nedílnou součást přibližně 30 selenoenzymů a hraje zásadní roli v prevenci poškození buněk. Selen udržuje hladinu vody v buňkách a chrání buněčné membrány před nepříznivými účinky reaktivních forem kyslíku. Po listovém postřiku selenanu sodného byla zaznamenána lepší produkce chlorofylu, který zlepšuje vztahy mezi rostlinou a vodou a zvyšuje účinnost antioxidantů (Raina et al. 2020). Selen také udržuje stabilitu fotosystému uvolňováním dodatečné světelné energie v podmínkách tepelného stresu (Huang et al. 2017). Luksic & Germ (2017) zjistili, že Se snižuje biosyntézu ethylenu, fytohormonu odpovědného za stárnutí rostlin a dozrávání plodů. Tato skutečnost potvrzuje jeho možný vliv na zlepšení trvanlivosti různého ovoce a zeleniny.

Naproti tomu nadměrná akumulace Se je toxická pro většinu krytosemenných rostlin. Může se to stát při nesprávném zabudování SeCys a SeMet do proteinů, což horšuje jejich funkci (White 2018). Nadbytek Se může také způsobit oxidační a nitrosativní stresy, které narušují metabolismus a mohou poškodit buněčnou strukturu (Kolbert et al. 2016).

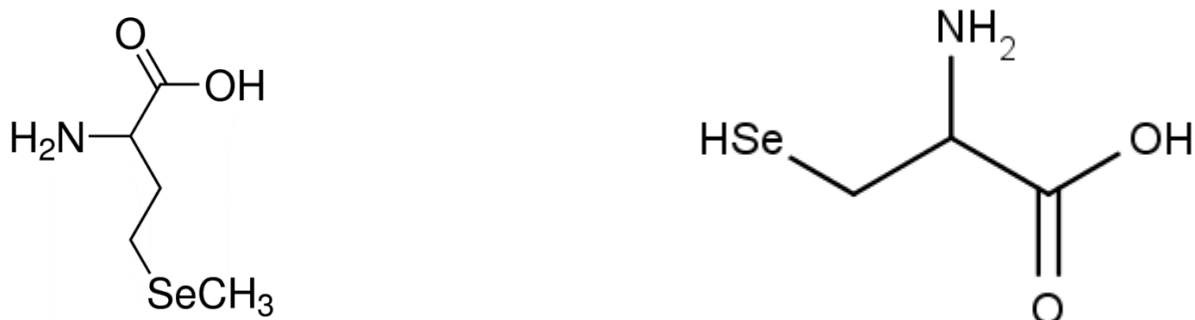
2.4.2 Metabolismus Se v rostlině

Příjem Se rostlinou (obrázek č. 2) je složitý proces, který zahrnuje jeho příjem, translokaci a distribuci. Pasivní difuze je považována za primární mechanismus příjmu Se. Nicméně byl

také prokázán aktivní transport Se do rostliny. Příjem selenanu a seleničitanu se řídí podobnými mechanismy odpovědnými za příjem síry (selenan) a fosforu (seleničitan) (Raina et al. 2020). Selen je přijímán do kořenů rostlin z půdního roztoku převážně jako selenan, ale seleničitan a organické sloučeniny jsou také poměrně snadno přijímány. Rychlost a forma absorpce Se závisí na koncentraci a chemické formě Se v půdním roztoku a také v půdních podmínkách, jako je pH a přítomnost síranů a fosfátů, které konkurují příjmu Se. Bylo pozorováno, že mezi síranem a selenanem dochází ke konkurenčnímu vztahu o absorpci kořeny, což naznačuje, že transport obou aniontů je zprostředkován síranovým transportérem. Selenan i síran jsou transportovány přes plazmatickou membránu proti jejich elektrochemickým gradientům (Sors et al. 2005). Seleničitan je zase přijímán kořeny pomocí fosfátového transportéru (White 2018). Mezi příjmem selenanu, seleničitanu a organických sloučenin, jako je SeMet jsou značné rozdíly. Absorpce selenanu i organického selenu rostlinami z půdního roztoku jsou aktivní procesy, zatímco seleničitan se akumuluje pasivní difuzí a může být inhibován fosfátem. K translokaci selenanu z kořenů do nadzemní biomasy dochází snadněji než u seleničitanu nebo organických sloučenin selenu (Sors et al. 2005).

Prvním krokem v asimilaci Se je přeměna selenanu na seleničitan. Vyžaduje sekvenční působení dvou enzymů známých jako adenosintrifosfát sulfuryláza (APS) a APS reduktáza (APR). APS sulfuryláza katalyzuje hydrolýzu ATP za vzniku adenosinofosfoselenanu, který je dále redukován na seleničitan pomocí APS reduktázy (Gupta & Gupta 2017). Seleničitan je dále přeměněn enzymem sulfitreduktázou na selenid. U rostlin lze tento krok nahradit i glutathionem nebo glutaredoxinem. Selenid se potom přemění na SeCys spojením s *O*-acetyl serinem v přítomnosti enzymu cystein-syntázy. V závislosti na rostlinných druzích a podmínkách prostředí může být SeCys přeměněn na elementární Se v přítomnosti enzymu SeCys-lyázy nebo může být methylován na methyl-SeCys (Me-SeCys) selenocystein methyltransferázou, nebo se také může přeměnit na selenomethionin (SeMet) pomocí série různých enzymů. Nesprávné začlenění SeCys nebo SeMet do proteinů vede k narušení struktury a funkce proteinu a způsobuje toxicitu Se v rostlinách. SeMet může být použit k vytvoření selenoproteinů nebo methylován za vzniku methyl-SeMet (Me-SeMet). Me-SeMet může být dále volatilizován do atmosféry jako netoxický dimethylselenid (DMSe) nebo Me-SeCys jako dimethyldiselenid (DMDSe) v hyperakumulátorech (Pilon-Smits & Quinn 2010).

Obrázek č. 3 Strukturální vzorce selenomethioninu (vlevo) a selenocysteinu (vpravo)
(Kotyk 2004)



Rostliny můžeme rozdělit podle schopnosti přijímání selenu na hyperakumulátory, sekundární akumulátory a nekakumulátory (Galeas et al. 2007). Hyperakumulátory jsou schopny nahromadit několik set až tisíc miligramů Se/kg sušiny a detoxikovat je. Vysoký obsah Se zřejmě chrání hyperakumulační rostliny před poškozením hmyzem a okusem zvířat (Vaněk et al. 2016). Hyperakumulátory obsahují methylované formy SeCys a SeMet, které dávají těmto rostlinám toleranci k nadbytku Se a přebytky Se mohou být dále volatilizovány. Hyperakumulátorů není mnoho, ale patří k nim například kozinec, neptunie nebo xylorhiza (Gupta & Gupta 2017). Mezi rostliny nekumulující, tedy citlivé na vyšší obsah Se patří většina rostlin, zvláště travin. Obsah Se v pletivech těchto rostlin se pohybuje v rozsahu několika desetin ppm v sušině. Při vyšším obsahu Se v půdě omezuje většina rostlin transport Se do nadzemních částí, a proto také traviny mají nejvyšší obsah Se v kořenech (Vaněk et al. 2016). Obsah selenu v běžných plodinách po biofortifikaci selenem můžeme vidět v tabulce č. 5.

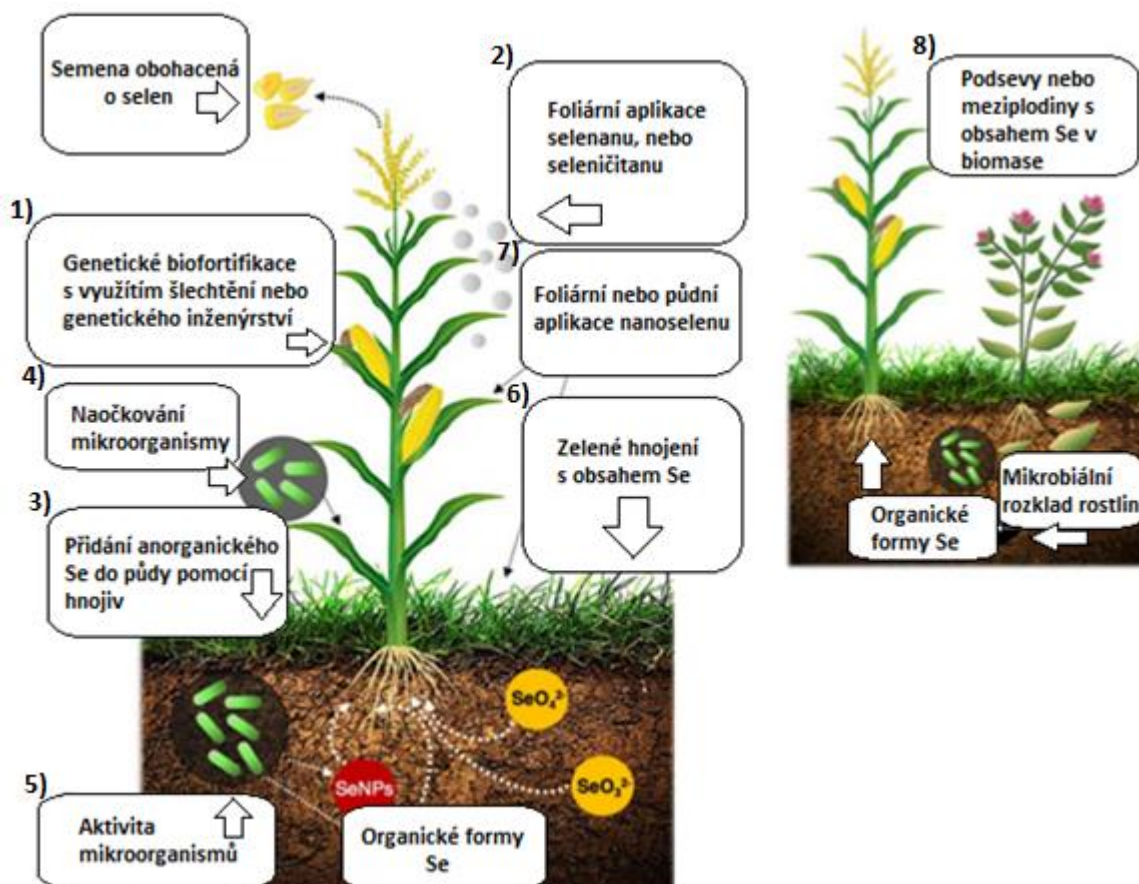
Tabulka č. 5 Plodiny hnojené selenem po fortifikaci (Gupta & Gupta 2017)

Plodina	Množství aplikovaného selenu (mg/kg a mg/l)	Naakumulovaný selen (mg/kg)
Rýže	2850 mg/kg	1,3-3,3
Cizrna	50 mg/l	1,134
Čirok	75 mg/l	2,1
Sója	130 mg/kg	75
Ječmen	0,2 mg/kg	0,047
Kapusta	60 mg/l	155
Brokolice	60 mg/l	467

2.5 Biofortifikace Se

Biofortifikace (obrázek č. 4) je definována jako proces zvyšování biologicky dostupného obsahu prvků nezbytných pro organismus v jedlých částech plodin, mimo jiné prostřednictvím specializovaných agrotechnických technologií. Biofortifikace na základě mnohaletého výzkumu v posledních letech je považována za jednu z nejlevnějších, nejrychlejších a nejpřirozenějších metod, které přispívají k udržení kvalitních potravin. Biofortifikace byla uznána jako vynikající metoda výroby tzv. funkčních potravin, jejichž úkolem je zajistit potřebné množství mikroživin. To má globální význam v boji proti latentnímu hladovění (příliš málo živin) (Radowiec et al. 2021). V zásadě existují dvě skupiny fortifikačních strategií pro zvýšení příjmu selenu u lidí. První strategie zahrnuje přímé zvýšení přes potravu hospodářských zvířat, přímou potravinovou fortifikaci nebo doplňováním tabletami s obsahem organického nebo minerálního selenu. Ve druhé strategii se využívají agronomické technologie, jako je šlechtění rostlin a hnojení, ke zvýšení hladin Se v základních potravinách. Která strategie funguje nejlépe, závisí na přírodních, společenských a ekonomických vlastnostech místních agro-eko a potravinářských systémů (Ros et al. 2016).

Obrázek č. 4 Možnosti biofortifikace rostlin (Schiavon et al. 2020)



Obrázek č. 4 znázorňuje přehled možností biofortifikace, které lze využít k obohacení plodin o selen. Biofortifikace lze dosáhnout pomocí genetického inženýrství (1), foliární aplikací pomocí selenanu nebo seleničitanu (2), nebo přidáním hnojiv obsahující Se do půdy (3). Agronomické zásahy mohou být podpořeny použitím mikroorganismů buďto na rostlinu (4), nebo aktivitou mikroorganismů v půdě (5). Alternativně je možné použít zelené hnojení, kdy do půdy zapravíme rostlinný materiál hnojený selenem, nebo rostlinný materiál pěstovaný na půdách bohatých na Se (6). Dále můžeme aplikovat nanoselen, ať už na listy nebo do půdy (7). Je možné používat i postupy podsevů, nebo meziplodin, které využívají hyperakumulátory Se k obohacení půdy o organické sloučeniny Se, které jsou okamžitě dostupné pro okolní, nebo následné plodiny (8).

2.5.1 Hnojení Selenem

Problém optimalizace koncentrace selenu v půdě se vědci snaží vyřešit již více než půl století. Jako hnojiva se používají organické (aminokyseliny obsahující selen, cheláty atd.) a anorganické (oxidy, soli a minerály selenu) sloučeniny selenu. Zvláštností obou skupin hnojiv je, že selen aplikovaný do půdy zůstává v horní úrodné vrstvě pouze do první sklizně, v lepším případě do několika dalších sklizní. Poté jsou anorganické sloučeniny selenu vyplavovány spolu s deštěm do spodních půdních neúrodných horizontů. Organické sloučeniny selenu nejsou aktivně vyluhovány, ale po aplikaci poměrně rychle degradují (Gudkov et al. 2020). Účinnost hnojení Se závisí na druhu Se, dávce hnojiva, aplikační technice, načasování a půdních vlastnostech. Účinnost příjmu se může pohybovat od méně než 1 % do více než 50 %. Běžné zemědělské postupy jako vápnění, zavlažování, hnojení dusíkem, fosforem a sírou také ovlivňují příjem selenu v důsledku zvýšeného zadržování nebo ředění selenu zvýšeným výnosovým potenciálem (Ros et al. 2016).

Agronomické postupy vedoucí ke zvýšení mikroživin mohou být velice účinné, což platí zejména pro selen. Ačkoli není Se považován za základní živinu pro vyšší rostliny a většina předchozích studií neprokázala žádný příznivý účinek Se na výnos plodiny, tak zvýšení koncentrace Se v pšeničném zrně by mohlo vést ke zvýšení příjmu Se v populaci. Toto zvýšení by pravděpodobně vedlo ke zlepšení veřejného zdraví (Lyons et al. 2004). Zemědělské plodiny mohou mít nedostatek Se buď kvůli nízké koncentraci Se v půdě, nebo kvůli špatné dostupnosti půdního Se pro absorpci do kořenů rostlin. V zemích s deficitem selenu by zvýšení jeho obsahu v potravinách rostlinného původu zavedením vhodných

metod zavádění selenu mohlo zvýšit denní příjem potravin bohatých na selen, a tím zmírnit negativní dopady deficitu prvku (Radowiec et al. 2021). Přidávání Se do hnojiv ke zvýšení množství Se v půdě se praktikuje například ve Finsku, kde se přidává do hnojiva NPK v dávce 10 mg/kg selenanu sodného (Lyons et al. 2004). Jednalo se o první celorepublikový případ biofortifikace doplněním hnojiv o deficitní prvek, který účinně a bezpečně zvýšil spotřebu selenu u celé populace (Radowiec et al. 2021).

Efektivitu Se hnojiv pro strategii biofortifikace lze zvýšit použitím organických kyselin, organických forem Se, nebo mikrobiálních organismů, kteří zvyšují šance na dostupnost Se pro rostliny (Gupta & Gupta 2017).

Dalšího zlepšení jde dosáhnout pomocí genetického inženýrství, které se obecně zaměřuje na manipulaci s enzymy souvisejícími se selenem pro příjem, asimilaci a těkání (Gupta & Gupta 2017). Rostliny brukve sítinovité nadměrně exprimované genem *Astragalus bisulcatus* SMT (selenocystein methyltransferáza) a genem ATP sulfurylázy *Arabidopsis thaliana* vykazovaly významně zlepšenou akumulaci a toleranci selenu než rostliny klasického typu (LeDuc et al. 2006).

2.5.2 Půdní aplikace

Lyons et al. (2004) zkoumali biofortifikaci selenu rostlinami a zjistili, že materiální náklady na biofortifikaci jsou nízké a aplikační metody jednoduché. Obecně může aplikace selenanu 10 g/ha do půdy zvýšit obsah Se v obilninách z 30–100 µg/kg na 300–500 µg/kg.

Radowiec et al. (2021) zkoumali hnojení selenem u pšenice jarní a potvrdili, že účinnou metodou zvýšení obsahu selenu v zrně jarní pšenice může být zavedení tohoto prvku prostřednictvím půdní aplikace v kombinaci s foliární aplikací ve fázi prodlužování stonku (BBCH 30–39) v celkové dávce 10 g/ha Se. Navíc hnojení selenem obecně neovlivnilo výnos pšeničného zrna. Biofortifikaci selenem v mírných dávkách lze tedy provádět bez rizika negativního vlivu na výnos analyzovaných plodin. Selenová hnojiva se obecně používají v malých množstvích (10–20 g Se/ha), a proto se pro usnadnění jejich aplikace přimíchávají do jiných komerčních hnojiv, jako je například močovina nebo dusičnan vápenatý. Přidáním organických kyselin k Se hnojivům můžeme podpořit chelaci selenu s organickými sloučeninami, což zapříčiní zvýšení příjmu selenu rostlinami a účinnost selenových hnojiv (Schiavon et al. 2020). Odhaduje se, že rostliny v průměru přijímají pouze 12 % Se hnojiv aplikovaných do půdy, protože většina selenu je fixována a zadržována v půdě, a tudíž se

jeho přístupnost pro rostliny významně snižuje. Pro následné plodiny je pak k dispozici zanedbatelné množství Se, a proto je nutné hnojiva Se aplikovat do půdy pro každé vegetační období (Broadley et al. 2010).

Selenan sodný je forma Se, která se obecně používá k hnojení plodin a pastvin. Je slabě adsorbován na půdních koloidech a může způsobit rychlé zvýšení hladiny Se v rostlině (Grupta & Watkinson 1985). Důvodem, proč se hnojí spíše selenanem, než seleničitanem je jeho lepší příjem rostlinami. Selenan je přijímán rostlinami z půdy až desetkrát účinněji než seleničitan. Bylo totiž zjištěno, že seleničitan se přeměňuje na formy, které jsou pro rostliny špatně přístupné (Stadobler et al. 2001). Kromě toho má seleničitan omezenou translokaci rostlinami a má tendenci se hromadit v kořenech ve srovnání se selenanem, který je v xylému vysoce mobilní. Převaha jednotlivých druhů v půdě zase závisí na jiných faktorech. Předpokládá se, že za podmínek vysokého pH a dobrého provzdušnění půd bude selenan dominantním anorganickým druhem, zatímco seleničitan bude převládat v kyslejších, dobře odvodněných půdách nebo anaerobních podmínkách (Ramkissoon et al. 2019).

Podle Stadobler et al. (2001) je také možné zvýšit hladinu selenu v plodinách používáním organických hnojiv s vysokým obsahem selenu, jako jsou například čistirenské kaly nebo hnůj hospodářských zvířat, které dostávají potravu obohacenou o Se. Eich-Greatorex et al. (2007) zjistili, že při pH půdy méně než 6 byl příjem Se z přidaného hnojiva vyšší v půdních typech s vysokým obsahem organické hmoty než v půdách hlinitých. K opačné situaci došlo při pH půdy větším než 6, kde byl příjem Se vyšší v hlinitých půdách.

2.5.3 Foliární aplikace

Další možností přihnojení rostlin selenem je foliární aplikace. Hnojivo aplikované na list může do listu proniknout skrz kutikulu nebo stomatální cestou a následně je Se transportován do dalších částí rostliny. Účinky hnojení nejsou závislé pouze na dávce hnojiva, ale souvisí také s chemickou formou prvku (Luo et al. 2021).

Luo et al. (2021) dále zkoumali metodu hnojení a koncentraci Se v hnojivu v dávce 50, 75 a 100 g/ha seleničitanu sodného u podzemnice olejné. Zjistili, že zvyšováním obsahu Se v hnojivu se zvýšil i obsah organického i anorganického Se v rostlině a také, že listová aplikace je účinnější než kořenová z pohledu biotransformace anorganického Se na organický Se. Ros et al. (2016) zjistili, že foliární aplikace selenanem je nejúčinnější strategií pro zvýšení příjmu Se rostlinami. Lepší účinnost foliární aplikace potvrdila i Schiavon et al. (2020), která

uvádí, že foliární aplikace je až 8krát účinnější než suplementace Se v půdě. Je to pravděpodobně kvůli rychlejšímu příjmu a asimilačním procesům selenu. Není potřeba translokace selenu z kořenů do dalších částí rostlin a také to předchází ztrátám selenu v důsledku imobilizace sloučenin v půdě. Difúze iontů Se do epidermálních buněk listů se při aplikaci na list zvyšuje, ale vysoké koncentrace Se mohou vést k toxicitě a způsobit poškození povrchu listů (Nawaz et al. 2015).

Nawaz et al. (2015) dále dělali pokusy s foliární aplikací a zjistili, že listová aplikace významně zlepšila příjem některých živin (Se, Fe, Na). Zvýšil se výnos pšenice prostřednictvím lepšího udržení turgoru buněk a také se zvýšil obsah selenu v rostlinách i u rostlin stresovaných nedostatkem vody. Ducsay & Ložek (2006) založili pokus na foliární aplikaci selenu přimícháním seleničitanu do dusíkatého hnojiva DAM 390 (30 kg/ha). Průměrný obsah Se po aplikaci (tabulka č. 6) byl na nehojené kontrole 0,045 mg/kg Se v pšeničném zrnu. Aplikovaná dávka selenu 0,5 g/ha nezpůsobila statisticky významné zvýšení obsahu Se v zrnu. Další foliární aplikace selenu dávkou 1 g/ha, 10 g/ha a 20 g/ha už zaznamenaly statisticky významné rozdíly v porovnání s neošetřenou kontrolou. Obsah Se v zrnu byl 0,061 mg/kg (1 g), 0,088 mg/kg (10 g) a 0,145 mg/kg (20 g).

Tabulka č. 6 Vliv hnojení dusíkem a odstupňovaných dávek Se na obsah Se v zrnu ozimé pšenice (Ducsay & Ložek 2006)

Varianta*	Obsah Se v zrnu v jednotlivých letech (mg/kg)				%
	1999	2000	2001	Průměr	
1	0,05	0,055	0,03	0,045	100
2	0,041	0,07	0,027	0,046	102,2
3	0,077	0,059	0,048	0,061	135,6
4	0,095	0,101	0,069	0,088	195,6
5	0,167	0,13	0,137	0,145	322,2

*Varianta 1 (kontrola), varianta 2 (0,5 g/ha Se), varianta 3 (1 g/ha Se), varianta 4 (10 g/ha Se), varianta 5 (20 g/ha Se)

2.5.4 Nanoselen

Po celá léta se studují biologické účinky organické formy selenu, ale v poslední době si získávají pozornost také nanočástice jako možný zdroj pro další používání (Zhang et al. 2001).

Různé techniky nanotechnologie jsou schopny syntetizovat materiály v nanoměřítku se specifickými fyzikálními a chemickými vlastnostmi. Pro syntézu nanočástic byly navrženy různé fyzikální a chemické metody, ale různé problémy spojené s těmito metodami vedly výzkumníky k hledání alternativních metod. Použití těchto metod syntézy vyžaduje silná i slabá chemická redukční činidla a ochranná činidla (El-Ramady et al. 2015). Přestože selen a jeho nanočástice sdílejí některé společné a obecné vlastnosti, jsou zde rozdíly založené na jejich jedinečných chemických, fyzikálních a biologických vlastnostech (El-Ramady et al. 2020). Například elementární Se není rozpustný ve vodě, ale nanočástice Se jsou částečně rozpustné ve vodě. Chování a biologické vlastnosti Se a nanočástic Se ve výživě vyšších rostlin a lidí se mohou lišit. U nanoselenu je nutné v dalších studiích prověřit jeho biologické účinky, doporučený denní příjem a hladinu toxicity/nedostatku v lidské výživě (Roman et al. 2014). Garza-García et al. (2021) konstatují, že nanočástice selenu vyvolávají zájem v mnoha oblastech vědy kvůli jejich vysoké biologické dostupnosti a nižší toxicitě než anorganické (Se^{2-} , SeO_4^{2-} a SeO_3^{2-}) a organické (SeMet a SeCys) formy.

Biofortifikace pěstovaných plodin pomocí nanoselenu může být důležitou strategií, která by mohla být přizpůsobena tak, aby minimalizovala dopad na životní prostředí, zejména problémem vyplývajícím z nadměrného používání minerálních hnojiv (Golubkina et al. 2017). To platí zejména proto, že selen je v zemské kůře vzácný. Biologicky obohacené plodiny nanoselenem a Se stále potřebují další výzkum z různých hledisek, jako jsou environmentální, ekonomické, lidské zdraví a zdraví zvířat (Germ et al. 2019).

Standartní aplikace hnojiv se selenem je hodnocena jako méně účinná ve srovnání s nanočásticemi Se, nicméně předpis dávkování vyžaduje opatrnost, protože nadměrné dávky nanočástic jsou toxické pro rostliny a půdu. Dávky nanočástic na list se liší oproti dávkám do půdy kvůli schopnosti půdní sorpce. Doporučená dávka nanočástic Se je asi 0,1-0,4 g/ha, ale tuto dávku není možné podávat pomocí běžné zemědělské techniky. Aplikace nanočástic Se na polní plodiny je tedy nyní možná pouze na malých experimentálních pozemcích (Gudkov et al. 2020). Například u podzemnice olejné zlepšily nízké dávky nanoselenu výnos biomasy a oleje ze semen, ale zároveň narušili tvorbu bílkovin a mastných kyselin. Přesto je nanoselen pro rostliny méně toxický než selenan a seleničitan (Schiavon et al. 2020).

Nanočástice selenu mají antifungální vlastnosti a zvyšují schopnost rostlin bránit se různým chorobám. Nerozpouštějí se ve vodě a vodných roztocích a nejsou pomalu

vyluhovány z půdy. (Gudkov et al. 2020). Při aplikaci nanočástic selenu dochází k menším ztrátám v agroekosystémech, ke kterým může dojít, když se používají hnojiva obsahující selenan a soli seleničitanu. Nanoselen může také zlepšit kvalitativní znaky ovoce a zeleniny. Například u rajčete a jahodníku byly jejich plody po aplikaci nanoselenu obohaceny o organické kyseliny (kyselina jablečná, citrónová, jantarová) a cukry (Schiavon et al. 2020).

Nanoselen se z velké části používá ve farmacii ke zvýšení biologické dostupnosti léků a cílení terapeutických činidel na konkrétní orgány. Také je považován za bezpečnou přísadu nové generace pro doplňky stravy, které mohou postupně uvolňovat selen a lépe řídit cílené mechanismy účinku s pouze několika málo vedlejšími účinky (Constantinescu-Aruxandei et al. 2018). Na druhou stranu se nanočástice selenu v některých oblastech ve světě stávají nově vznikajícími kontaminanty kvůli jejich intenzivnímu používání v elektronice a výrobě dalších materiálů. Proto by se měly další studie zabývat hodnocením a řízením rizika nanoselenu pro zemědělské účely, aby se předešlo potencionálnímu zdravotnímu riziku způsobenému větším výskytem nanočástic Se v životním prostředí (Schiavon et al. 2020).

Nanočástice selenu lze syntetizovat z prekurzorů solí selenu, hlavně seleničitanu a selenanu v přítomnosti redukčních činidel (proteiny, fenoly, alkoholy a aminy) produkovaných bakteriemi, houbami a rostlinnými extrakty (Nayantara & Kaur 2018). Gerrard et al. (1974) tvrdí, že bakteriální buňky mají schopnost redukovat seleničitan sodný přítomný v kultivačním médiu na elementární Se. Existují také dvě studie, které zkoumaly syntézu nanoselenu pomocí aktinomycet (Ahmad et al. 2015; Forootanfara et al. 2014). Visha et al. (2015) využily *Lactobacillus acidophilus* k syntéze selenových nanočástic o rozměru 15–50 nm. Extracelulární produkce monodispergovaných sférických nanočástic selenu byla nalezena u *Aspergillus terreus* izolovaného z půdy a *Alternaria sp.* izolované ze skvrnitosti (Sarkar et al. 2011; Vetchinkina et al. 2013). *Fusarium sp.* a *Trichoderma reesei* vykazovaly potenciál ve tvorbě nanočástic selenu při pěstování na agaru obohaceného o selenan sodný (Gharieb et al. 1995).

Prasad et al. (2013) syntetizovaly sférické nanočástice Se pomocí extraktu z listů citronovníku (*Citrus limon*) a dospěly k nanočásticím selenu o velikosti 60 až 80 nm. Li et al. (2010) připravily nanoselen ze seleničitanu sodného, který zredukovaly pomocí L-cystenu v poměru 1:4.

2.6 Pšenice

Pšenice setá (*Triticum aestivum* L.) je nejrozšířenější plodinou v České republice i ve světě (Zimolka et al. 2005). Výměry pšenice ve světě se pohybují okolo 220 miliónů hektarů. Pěstuje se pro krmné a potravinářské účely, z toho přibližně 60 % zaujímá pšenice krmná. Druhá skupina je pěstována s cílem dosažení potravinářské kvality, která se dá prodat za lepší cenu (Prugar et al. 2008). Potravinářská pšenice se liší vyšším obsahem bílkovin a vyšším obsahem esenciálních aminokyselin (Zimolka et al. 2005). Osevní plochy ozimé pšenice v České republice zaujímaly v roce 2021 709642 ha, což bylo o téměř 65 tisíc ha méně než v roce 2020. Příčinnou tohoto poklesu bylo velké množství srážek na podzim 2020 a s tím spojené náročné podmínky pro zasetí pšenice ozimé (Český statistický úřad 2021). Odhadovaný průměrný výnos pšenice ozimé v České republice pro tento rok je podle ČSÚ (2021) 6,09 tun, to by znamenalo, že se letos sklídilo přes 4 miliony tun zrna.

V potravinách rostlinného původu jsou obiloviny primárním zdrojem selenu ve většině zemí na celém světě. Pšenice vedle rýže dominuje celosvětovou produkci obilovin a je základním zdrojem selenu v lidské stravě ve většině zemí světa. Z těchto důvodů je to nejlepší rostlina pro použití v procesu biofortifikace (Radawiec et al. 2021). Pšenice je také nejlepším akumulátorem Se v rámci kulturních obilovin (pšenice > rýže > kukuřice > ječmen > oves) (Gupta & Gupta 2017). Obiloviny a cereální produkty přispívají přibližně z 70 % k celkovému příjmu Se u obyvatel Číny a z 50 % u obyvatel Indie. Celkový průzkum výživy ve Velké Británii v roce 1995 odhadl, že cereálie a obilné produkty vytváří téměř 25 % celkového příjmu Se (Hawkesford & Zhao 2007). Pšenice je tedy zřejmou cílovou plodinou pro agronomickou biofortifikaci, aby se docílilo zvýšeného příjmu Se v potravě a tím vyššího obsahu Se v lidské populaci (Gupta & Gupta 2017). Průměrný obsah selenu v pšenici se pohybuje kolem 0,045 mg/kg v zrna. Některé další zdroje uvádějí 0,027 mg/kg Se v Srbsku a 0,034 mg/kg Se v Maďarsku (Ducsay & Ložek 2006).

V minulosti už bylo zjištěno, že při mletí pšenice na bílou mouku se ve zbytcích z mletí odstraní značné množství živin. Existují důkazy, že zpracování na průmyslové i domácí úrovni ovlivňuje hladiny Se v potravinách. Několik studií uvádí snížení koncentrace selenu v bílé mouce ve srovnání s nemletým obilím nebo celozrnnou moukou v rozmezí od 4 % do 47 %. Tyto výsledky naznačují, že na rozdíl od jiných nutričních prvků je selen, stejně jako síra, rovnoměrněji distribuován v celém zrna pšenice, s vyšším podílem uloženým v endospermu.

Je to z toho důvodu, že Se i S jsou většinou vázány na proteiny. Selenomethionin je hlavní formou Se v zrnech pšenice a tvoří 45–81 % celkového obsahu Se v zrnu (Lyons et al. 2005).

3 Vědecká hypotéza a cíle práce

Před zpracováním této diplomové práce byly stanoveny následující hypotézy:

- 1) Předpokládáme, že různé formy aplikovaného selenu ovlivní jeho příjem a akumulaci rostlinou.
- 2) Předpokládáme, že dělení aplikované dávky ovlivní příjem selenu rostlinami a jeho obsah v rostlinách.
- 3) Předpokládáme, že selen se bude v rostlinách nerovnoměrně distribuovat.

Na základě jednotlivých hypotéz byly stanoveny následující cíle práce:

Prvním cílem řešení diplomového úkolu bude ověřit foliární aplikaci dvou forem selenu, a to selenanu sodného a nanoselenu, za účelem zjištění ovlivnění příjmu a akumulace různých forem Se v pšenici jarní. Dalším cílem bude ověřit aplikaci odlišného počtu dělených dávek na jeho finální obsah v kořenech, slámě a zrnu pšenice jarní. Jako poslední cíl jsme si stanovili zjistit, jak se selen ukládá v biomase pšenice jarní.

4 Metodika

4.1 Nádobový pokus

4.1.1 Pokusný materiál

4.1.1.1 Charakteristika zeminy

Z lokality v Doudlebách nad Orlicí (DNO) bylo odebráno přibližně 350 kg zeminy z půdního profilu do 20 cm, která byla proseta a naložena do plastových pytlů. Zemina se odvezla do areálu České zemědělské univerzity do prostor katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin. Následně se zemina rozprostřela na plachtu, aby proschnul materiál. Po důkladném usušení následovalo prosátí zeminy na síť o zrnitosti 5 mm. Do každé nádoby bylo naváženo 5 kg suché zhomogenizované zeminy.

Jako zemina byla použita černice modální z řepařské výrobní oblasti, pH 5,74 (mírně kyselá půda). Obsah přístupných živin, stanovených metodou Mehlich III: N_{min} (4,39 mg/kg), P (21 mg/kg > nízký obsah) a K (184 mg/kg > dobrý obsah).

4.1.1.2 Odrůda jarní pšenice

Odrůda jarní pšenice, která byla použita v experimentu, nesla název Scirocco od firmy KWS. Je to poloraná odrůda elitní (E) jakosti se středně vysokým až nízkým výnosem zrna v ošetřené i neošetřené variantě pěstování. Rostliny jsou středně vysoké až vysoké, středně odnožující, zrno velké až velmi velké. Má vyšší zastoupení dusíkatých látek v zrnu. Mezi pěstitelská rizika u této odrůdy patří menší odolnost proti napadení rzí pšeničnou a padlím travním a dále nízká stabilita čísla poklesu.

4.1.2 Založení experimentu

Rostliny pšenice byly založeny do 48 identických plastových nádob s 5 kg zeminy z DNO v každé nádobě. Zemina se vyhnojila roztokem NPK pro správný růst rostlin. Před založením experimentu bylo v laboratořích Katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin připraven roztok NPK o následujících hmotnostních koncentracích: 100 g N/l 19,4 g P/l a 86,1 g K/l. Roztok byl připraven z dusičnanu draselného (KNO₃), dihydrogenfosforečnanu amonného NH₄H₂PO₄ a dusičnanu amonného NH₄NO₃. Každá nádoba se vyhnojila 10 ml tohoto roztoku, který dodal 1 g N, 0,194 g P a 0,861 g K.

Výsev semen pšenice jarní „KWS Scirocco“ proběhl ručně dne 31.3.2021, kdy se do každé nádoby zaseto 30 semen, následováno zálivkou všech nádob demineralizovanou vodou a umístění na venkovní stanoviště, které se v případě deště zakryje automatickým zastřešením z macrolonu, aby nedošlo k vyplavení živin. Nádoby byly po založení pokusu randomizovány.

4.1.3 Ošetřování během vegetace

Vyjednání rostlin na konečný počet 20 rostlin na nádobu proběhlo 26.4.2021. Dne 8.6.2021 se rostliny přihnojily 0,5 g N ve formě NH_4NO_3 .

Rostliny se v průběhu vegetace udržovaly v optimálních vláhových podmínkách a dne 11.6.2021 byla provedena ochrana vůči chorobám a škůdcům postřikem Atlas + Reldan (1ml/l).

4.1.4 Aplikace selenu

Po založení vegetačního experimentu se do vybraných variant rostlin aplikoval foliárně Se^{VI} (selenan sodný) a nSe pomocí 15ml zmlžovače.

Byl použit selen ve formě selenanu sodného (Na_2SeO_4) (výrobce Sigma-Aldrich, Německo), jedná se o bezvodou bílou krystalickou látku ve formě jemného prášku, který je velmi dobře rozpustný ve vodě. Dále byl použit nanoselen (nSe), což je elementární selen o velikosti do 100 nm (výrobce Sigma-Aldrich, Německo)

Každá varianta, kde byl aplikován selenan nebo nanoselen, měla k sobě kontrolní variantu K1, K2, K3 a K4, na kterou se v příslušné vegetační fázi aplikovala demineralizovaná voda.

Varianta $\text{Se}^{\text{VI}}1\text{x}$ a varianta nSe1x zahrnovaly dávku 100 μg Se/nádoba, která se aplikovala ve fenologické fázi BBCH 30. U varianty $\text{Se}^{\text{VI}}2\text{x}$ a varianty nSe2x se dávka obou forem aplikovala dvakrát v půlené dávce 50 μg Se/nádoba ve fázích BBCH 30 a 41. Ve variantě $\text{Se}^{\text{VI}}3\text{x}$ a variantě nSe3x se dávka aplikovala 3x dělenou dávkou, tudíž 33 μg Se/nádoba ve fázích 30, 41 a 51. Poslední varianty $\text{Se}^{\text{VI}}4\text{x}$ a nSe4x zahrnovaly čtyřikrát dělenou dávkou 25 μg Se/nádoba ve fenologických fázích BBCH 30, 41, 51 a 61. Každá varianta měla 4 opakování. Schéma pokusu je znázorněno na obrázku č. 5.

Fenologické fáze rostlin pšenice:

BBCH 30 - začátek sloupkování: hlavní odnož i vedlejší odnože se zřetelně napřimují a počínají se prodlužovat, klas vzdálen od odnožovacího uzlu min. 1 cm

BBCH 41 - pochva praporcového listu se prodlužuje

BBCH 51 - počátek metání: špička klasu (laty) vystupuje z pochvy nebo ji proráží bočně

BBCH 61 - počátek květu: první prašníky viditelné

Obrázek č. 5 Schéma nádobového pokusu

K1x	K1x		Se ^{VI} 1x	Se ^{VI} 1x		nSe1x	nSe1x
K1x	K1x		Se ^{VI} 1x	Se ^{VI} 1x		nSe1x	nSe1x
K2x	K2x		Se ^{VI} 2x	Se ^{VI} 2x		nSe2x	nSe2x
K2x	K2x		Se ^{VI} 2x	Se ^{VI} 2x		nSe2x	nSe2x
K3x	K3x		Se ^{VI} 3x	Se ^{VI} 3x		nSe3x	nSe3x
K3x	K3x		Se ^{VI} 3x	Se ^{VI} 3x		nSe3x	nSe3x
K4x	K4x		Se ^{VI} 4x	Se ^{VI} 4x		nSe4x	nSe4x
K4x	K4x		Se ^{VI} 4x	Se ^{VI} 4x		nSe4x	nSe4x

4.1.5 Zpracování vzorků a analýzy

Skizeň proběhla v plné zralosti dne 29.7.2021, kdy se sklizené rostliny rozdělily na kořeny, slámu a zrno.

Jednotlivé části rostlin byly usušeny v sušárně při teplotě 35 °C. Následně byly pro vyhodnocení výnosů zváženy a dále namlety na experimentálním mlýnku na velikost 1 mm.

Do teflonových tlakových zkumavek bylo naváženo 0,5 g vzorku a následně zalito 8 ml 65 % HNO₃ a 2 ml 35 % H₂O₂. Po prvotním zreagování se zkumavky vložily do mikrovlnné trouby (Ethos 1, Advance Microwave Digestion System) a při nízkém tlaku se vzorky mineralizovaly mikrovlnnou digescí při 190°C. Stanovení celkového obsahu Se ve vzorcích po mineralizaci bylo provedeno hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (ICP-

MS, Agilent 7700x, Agilent Technologies Inc., USA) provozovanou v režimu kolizní cely (helium).

4.1.6 Statistické vyhodnocení

V rámci statistického vyhodnocení byly vypočítány průměrné hodnoty u výnosů, obsahů celkového selenu a odběrů jednotlivých variant pšenice. Byl proveden test homogenity rozptylů a analýzy rozptylu. K vyhodnocení statistické průkaznosti byl použit Tuckeyův HSD test a korelace byly vyhodnoceny pomocí Pearsonovy korelační analýzy při statistické významnosti $p \leq 0,05$ v programu Statistica 12.

5 Výsledky

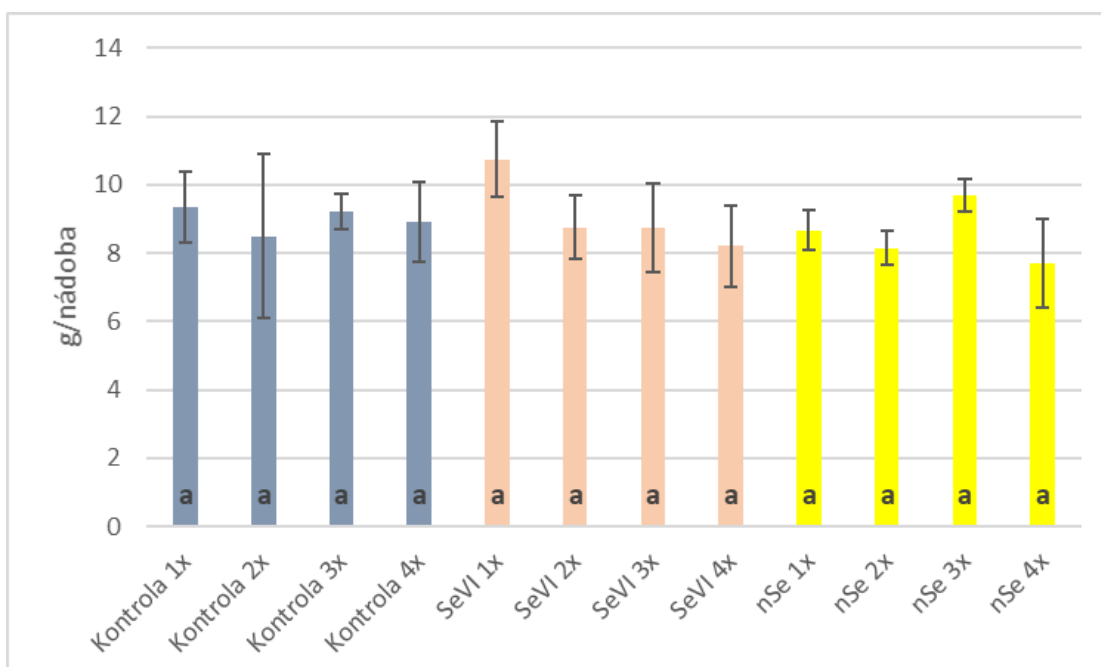
5.1 Výnos biomasy

5.1.1 Výnos zrna

Graf číslo 1 znázorňuje výnosy zrna pšenice jarní u jednotlivých pokusných variant. Nejvyšší hmotnosti dosáhla varianta Se^{VI} 1x (10,73 g/nádoba), která měla o 1,4 g vyšší hmotnost než kontrola. Vyšší hmotnost oproti kontrolám měly i varianty Se^{VI} 2x (8,75 g/nádoba) a nSe 3x (9,7 g/nádoba). Z toho lze vyčíst, že zde není žádný trend ve zvyšování, nebo snižování výnosu po rozdělení dávek hnojiv Se. Nejmenší hmotnost byla naměřena u varianty nSe 4x (7,70 g/nádoba), která byla o 1,2 g nižší oproti identické kontrole. Průměrný výnos zrna byl 8,88 g/nádoba.

V grafu dále můžeme vidět, že aplikace Se neměla statisticky významný vliv na výnosy zrna pšenice jarní, protože mezi pokusnými variantami neexistuje statisticky významný rozdíl. Některé varianty jako třeba Kontrola 1x, Se^{VI} 1x a nSe 3x dosáhly lehce vyšších výnosů, nicméně za tyto odchylky nemůže aplikace selenu.

Graf č. 1 Výnos zrna

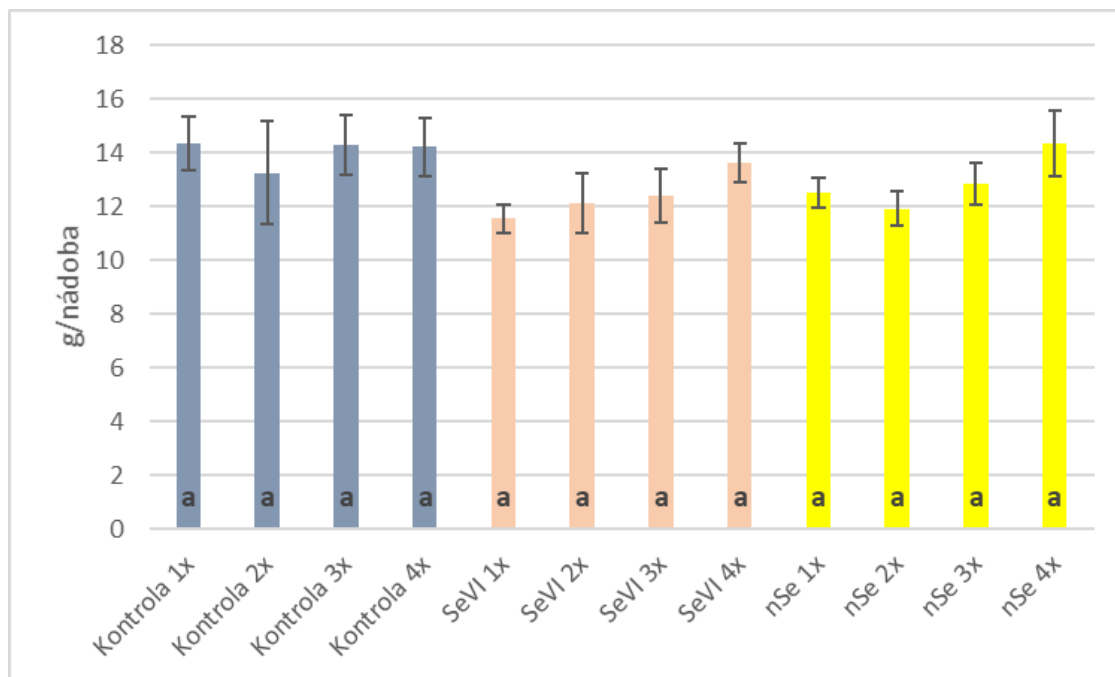


5.1.2 Výnos slámy

Graf číslo 2. znázorňuje výnosy slámy pšenice jarní u jednotlivých pokusných variant. Nejvyšší hmotnost byla naměřena u variant Kontrola 1x a nSe 4x (14,35 g/nádoba), naopak nejmenší hmotnost byla naměřena u varianty Se^{VI} 1x (11,55 g/nádoba). Z grafu je na první pohled vidět, že vyšších výnosů slámy dosáhly kontroly. Aplikace Se se prokázala mírně negativní vliv na výnos slámy pšenice jarní. Graf dále ukazuje stoupající trend u variant Se^{VI} 1x (11,55 g/nádoba), Se^{VI} 2x (12,13 g/nádoba), Se^{VI} 3x (12,43 g/nádoba) a Se^{VI} 4x (13,65 g/nádoba), kde s více rozdělenou dávkou stoupá výnos slámy. Podobná situace nastala i u nanoselenu, kde stoupající trend narušuje pouze varianta nSe 1x (12,53 g/nádoba). U dalších variant nSe 2x (11,93 g/nádoba), nSe 3x (12,88 g/nádoba) a nSe 4x (14,35 g/nádoba) už výnos stoupá s každým rozdělením dávky nanoselenu. Průměrný výnos slámy byl 13,13 g/nádoba.

V grafu dále můžeme vidět, že aplikace Se nemá vliv na výnosy slámy pšenice jarní, protože mezi pokusnými variantami neexistuje statisticky významný rozdíl. U kontrolních variant byly naměřeny mírně vyšší hodnoty, nicméně selen za tyto odchylky pravděpodobně nemůže.

Graf č. 2 Výnos slámy

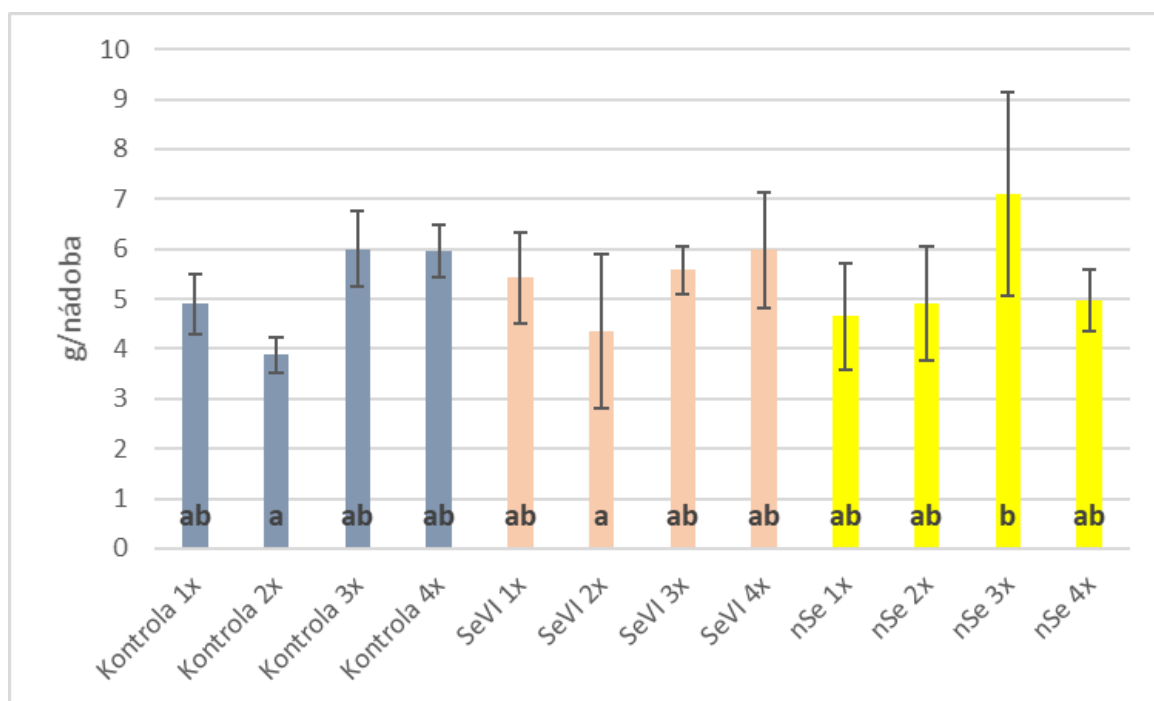


5.1.3 Výnos kořenů

Graf číslo 3. znázorňuje výnosy kořenů pšenice jarní u jednotlivých pokusných variant. Nejvyšší hmotnost byla naměřena u varianty nSe 3x (7,10 g/nádoba), naopak nejmenší hmotnost byla naměřena u varianty Kontrola 2x (3,88 g/nádoba). Nejvyšších výnosů zde dosahovaly varianty s více rozdělenou dávkou Se. Jednalo se o varianty Se^{VI} 3x (5,58 g/nádoba), Se^{VI} 4x (5,98 g/nádoba), nSe 3x (7,10 g/nádoba) a nSe 4x (4,98 g/nádoba), nicméně ve většině případů byly tyto hodnoty podobné nebo menší v porovnání s kontrolami. Průměrný výnos kořenů byl 5,31 g/nádoba.

V grafu můžeme také vidět statistické rozdíly hmotnosti kořenů pšenice jarní. Jedná se o variantu nSe 3x, která se statisticky liší od variant Kontrola 2x a Se^{VI} 3x. Nic nenaznačuje tomu, že by za to mohli dávky selenu. Jednou z příčin této odchylky může být i hůře promytý vzorek kořene u varianty nSe 3x.

Graf č. 3 Výnos kořenů



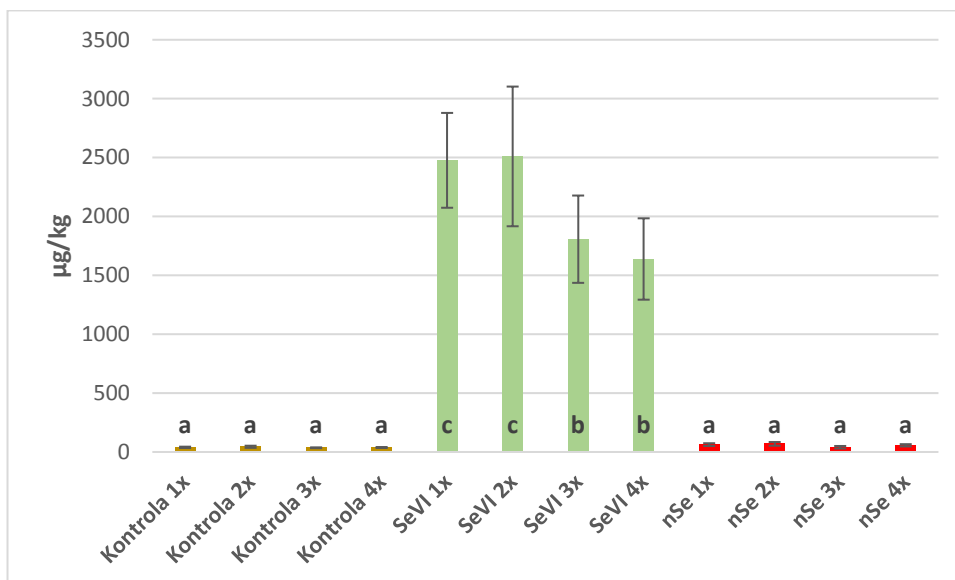
5.2 Obsah Se v biomase

5.2.1 Obsah Se v zrně

Graf číslo 4. znázorňuje obsahy selenu v zrně pšenice jarní u jednotlivých pokusných variant. Nejvyšší obsah selenu byl naměřen u variant Se^{VI} 1x (2476 $\mu\text{g}/\text{kg}$) a Se^{VI} 2x (2509 $\mu\text{g}/\text{kg}$), které byly hnojené 1x plnou a 2x poloviční dávkou selenanu sodného. U těchto variant jsme zaznamenali nárůst o 2437 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Se^{VI} 1x) a 2465 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Se^{VI} 2x) oproti kontrolám. Varianty Se^{VI} 3x (1807 $\mu\text{g}/\text{kg}$) a Se^{VI} 4x (1638 $\mu\text{g}/\text{kg}$) měli vyšší obsah Se v zrně oproti kontrolám o 1771 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Se^{VI} 3x) a 1600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Se^{VI} 4x). U nanoselenu jsme naměřili velmi malé hodnoty obsahu Se v zrně pšenice jarní, které byly jen mírně vyšší než hodnoty naměřené u kontrol. Po aplikaci nanoselenu jsme naměřili hodnoty 62 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (nSe 1x), 69 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (nSe 2x), 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (nSe 3x) a 56 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (nSe 4x).

Mezi variantami Se^{VI} 1x, Se^{VI} 2x a Se^{VI} 3x, Se^{VI} 4x existuje statisticky významný rozdíl. Proto se jeví první dvě varianty hnojené selenanem sodným jako nejlepší varianty pro hnojení pšenice selenem a jeho akumulaci v zrně. Mezi variantami hnojenými nanoselenem a kontrolami neexistuje statisticky významný rozdíl.

Graf č. 4 Obsah Se v zrně

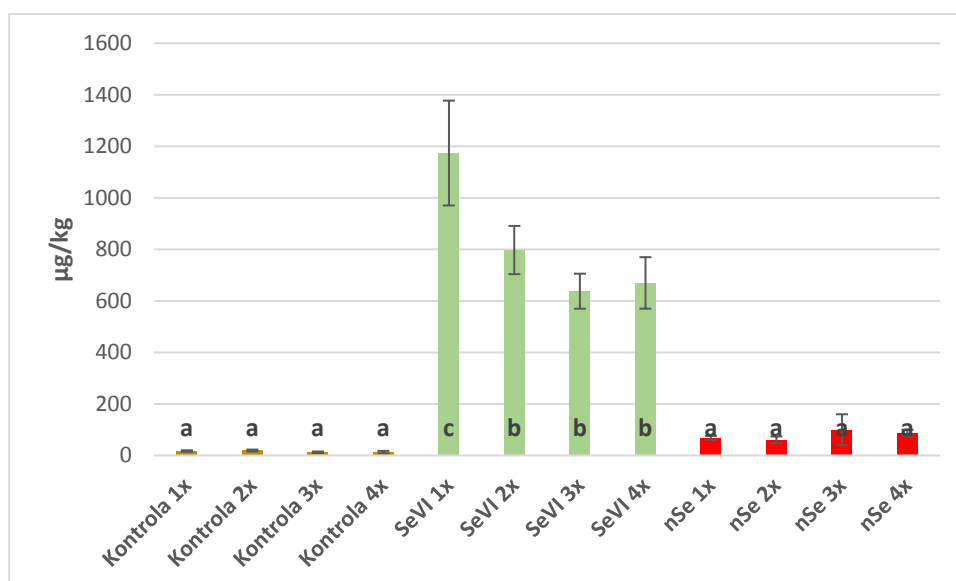


5.2.2 Obsah Se v slámě

Graf číslo 6. znázorňuje obsahy selenu v slámě pšenice jarní u jednotlivých pokusných variant. Nejvyšší obsah selenu byl naměřen u varianty Se^{VI} 1x (1174 µg/kg), který byl o 1157 µg/kg vyšší než u kontroly (17 µg/kg). U variant Se^{VI} 2x (797 µg/kg), Se^{VI} 3x (638 µg/kg) a Se^{VI} (670 µg/kg) byly naměřeny menší hodnoty než u Se^{VI} 1x, nicméně byly pořád výrazně vyšší než hodnoty naměřené u nehnojených kontrol a variant hnojených nanoselenem. V grafu lze vidět klesající trend hodnot obsahu Se ve slámě s rostoucím počtem dávek selenanu sodného. Stejně jako v zrnu, tak i ve slámě byly naměřené nízké obsahy Se u variant hnojených nanoselenem, které byly jen mírně vyšší než hodnoty naměřené u nehnojených kontrol. Byly naměřeny hodnoty 68 µg/kg (nSe 1x), 61 µg/kg (nSe 2x), 99 µg/kg (nSe 3x), 87 (nSe 4x).

Nejvyšší obsah Se^{VI} 1x se statisticky liší od dalších variant hnojených selenanem sodným, a tudíž se jeví jako nejlepší varianta pro hnojení selenem. Mezi kontrolami a variantami hnojenými nanoselenem (nSe 1x – nSe 4x) neexistuje statisticky významný rozdíl.

Graf č. 6 Obsah Se v slámě

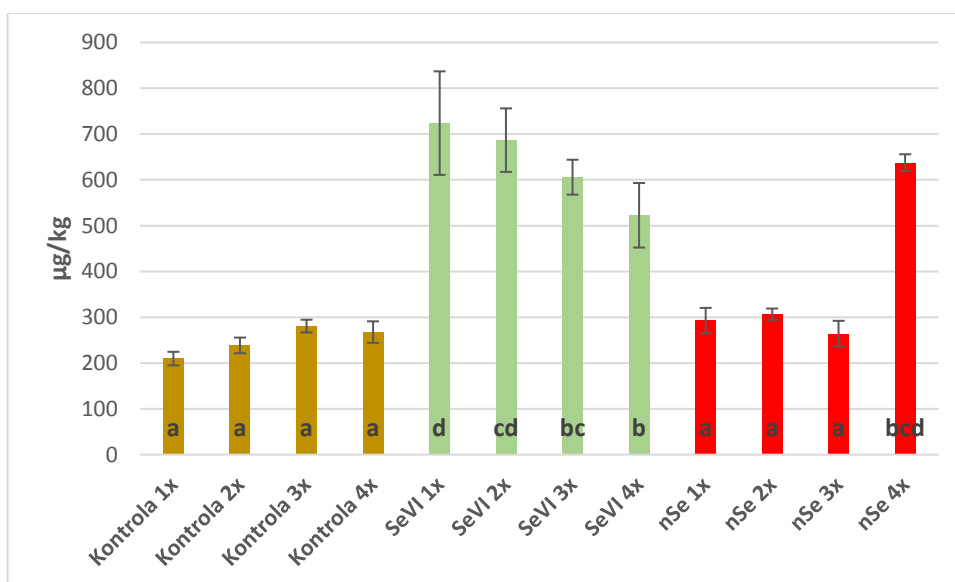


5.2.3 Obsah Se v kořenech

Graf číslo 5. znázorňuje obsahy selenu v kořenech pšenice jarní u jednotlivých pokusných variant. Nejvyšší obsah selenu byl naměřen u varianty Se^{VI} 1x (724 µg/kg), který je o 514 µg/kg vyšší než u nehnojené kontroly (210 µg/kg). U variant Se^{VI} 1x (724 µg/kg), Se^{VI} 2x (687 µg/kg), Se^{VI} 3x (606 µg/kg) a Se^{VI} 4x (523 µg/kg) hnojených selenanem sodným je vidět klesající trend v obsahu Se v kořenech. U nanoselenu můžeme vidět podobné hodnoty jako u kontrol, kromě varianty nSe 4x (637 µg/kg), která se výrazně odlišuje vyšším obsahem Se v kořenech od dalších variant hnojených nanoselenem a má o 369 µg/kg vyšší obsah Se než nehnojená kontrola (268 µg/kg). Nejmenší obsah Se byl naměřen u varianty Kontrola 1x (210 µg/kg).

V grafu také můžeme vidět, že neexistují statisticky významné rozdíly mezi variantami kontrol a variantami hnojenými nanoselenem, kromě varianty nSe 4x, která se vymyká a neexistuje statisticky významný rozdíl mezi touto variantou (nSe 4x) a variantou s nejvyšším obsahem (Se^{VI} 1x). Opět zde můžeme vidět největší hodnoty u variant Se^{VI} 1x a Se^{VI} 2x, které se statisticky liší od Se^{VI} 3x a Se^{VI} 4x.

Graf č. 5 Obsah Se v kořenech



5.3 Odběr Se rostlinami pšenice

Graf číslo 7. znázorňuje odběr Se v nádobě rostlinou a jednotlivými částmi rostliny. Nejvyšší odběr selenu rostliny byl naměřen u varianty Se^{VI} 1x (37 µg/nádoba), naopak nejmenší byl naměřen u varianty Kontrola 1x (1,63 µg/nádoba). Z grafu lze vyčíst, že největší odběr celou rostlinou byl u variant hnojených selenanem sodným. Je zde vidět i klesající trend s větším počtem dělených dávek Se v hnojivu. Naproti tomu hodnoty odběru Se u nanoselenu byly velmi nízké. Varianta nSe 4x s největším odběrem Se (4,85 µg/nádoba) měla jen o 2,74 µg/nádoba vyšší odběr než nehnojená kontrola (2,11 µg/nádoba).

Nejvyšší odběr selenu zrnem byl naměřen u varianty Se^{VI} 2x (21,8 µg/nádoba), který byl o 21,43 µg/nádoba vyšší než nehnojená kontrola (0,37 µg/nádoba). O něco nižších hodnot dosáhla varianta Se^{VI} 1x (19,8 µg/nádoba) a s rozdělenými aplikacemi na 3 (15,47 µg/nádoba) a 4 (13,15 µg/nádoba) dávky hodnota odběru Se dále klesá. Hodnoty naměřené u variant hnojených nanoselenem byly stejně jako u odběru celou rostlinou velmi nízké. Pohybovali se mezi 0,39 – 0,56 µg/nádoba a rozdíly s kontrolami byly minimální (0,33 – 0,37 µg/nádoba).

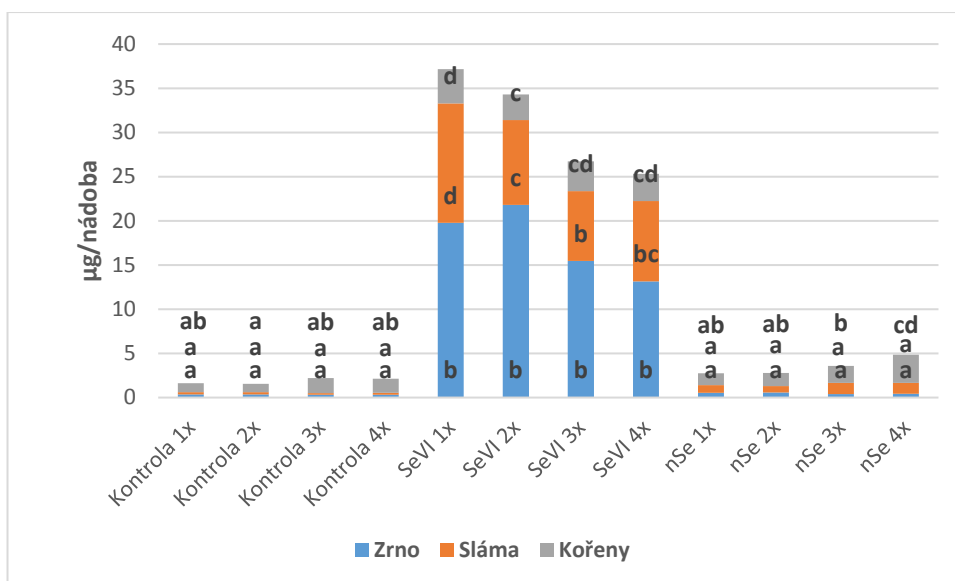
Nejvyšší odběr Se slámou byl naměřen u varianty Se^{VI} 1x (13,5 µg/nádoba), který byl o 13,47 µg/nádoba vyšší než nehnojená kontrola (0,2 µg/nádoba). Hodnoty variant Se^{VI} 2x (9,6 µg/nádoba) a Se^{VI} 4x (9,1 µg/nádoba) byli velmi podobné a nejmenší hodnotu jsme naměřili u varianty Se^{VI} 3x (7,88 µg/nádoba). Není zde tedy vidět žádný trend v odběru Se slámou.

Nejvyšší odběr Se kořeny (3,89 µg/nádoba) byl naměřen u varianty Se^{VI} 1x, který je o 2,87 µg/nádoba vyšší než u nehnojené kontroly (1,02). Oproti nanoselenu se hodnoty naměřené po hnojení selenanem sodným všechny výrazně liší od kontrol. U nanoselenu jsme naměřili vyšší hodnotu pouze u varianty nSe 4x (3,17 µg/nádoba) oproti nehnojené kontrole (1,59 µg/nádoba). Nicméně u odběru Se kořeny není takový rozdíl mezi variantami hojenými selenanem a nanoselenem jako u dalších částí rostlin.

Největší účinnost selenizace rostlin měly varianty hnojené selenanem sodným. Zde se odběr Se rostlinou po odečtení kontrolní varianty pohyboval mezi 23 (Se^{VI} 4x) – 36 (Se^{VI} 1x) %. Naopak u nanoselenu byl odběr velice malý. Nejvyšší selenizace byla u varianty nSe 4x a to 3,2 %. Největší účinnosti selenizace zrna měly opět varianty hnojené selenanem sodným a byly naměřeny hodnoty 11 – 20 %.

U kontrol a variant hnojených nanoselenem (nSe 1x – nSe 4x) ve většině případů nebyl naměřen statisticky významný rozdíl, pouze varianta nSe 4x se vymyká od ostatních a také varianty Kontrola 2x a nSe 3x mezi sebou. Varianty hnojené selenanem sodným (Se^{VI} 1x – Se^{VI} 4x) odebíraly podobné množství selenu zrnem, protože mezi těmito odběry neexistuje statisticky významný rozdíl. Odběry selenu slámou se poměrně lišily, jak můžeme vidět existují statisticky významné rozdíly mezi těmito variantami. To samé platí pro kořeny.

Graf č. 7 Celkový odběr Se rostlinami pšenice



5.4 Korelace obsahů a odběrů Se a výnosů jednotlivých částí rostlin pšenice

5.4.1 Korelace obsahů Se a výnosů všech variant a částí rostliny

Tabulka 7 znázorňuje korelaci mezi obsahem selenu a výnosem jednotlivých částí jarní pšenice u všech variant.

Z tabulky je patrná statisticky významná silná pozitivní korelace 0,6297 ($p = 0,038$) v zrnu u varianty, kde se aplikoval selen pouze v jedné plné dávce. Obsah selenu ovlivnil výnos u této varianty a naopak. Ve variantě dvou aplikací je vyhodnocena slabší korelace 0,2988, která nebyla statisticky významná $p > 0,05$. U varianty 3x aplikovaného selenu nebyla vyhodnocena statistická průkaznost, ale lze spatřit střední negativní korelaci. U této varianty obsah selenu negativně ovlivňoval výnos zrna. Varianta, u které se selen aplikoval ve čtyřech dávkách se zaznamenala korelace pouze -0,0930, která znamená nevýrazné ovlivnění obsahu selenu a výnosu.

Velmi silná statisticky významná negativní korelace -0,7170 ($p = 0,009$) byla zaznamenána u slámy ve variantě, u které se aplikoval selen v jedné dávce, a tudíž zde obsah selenu negativně ovlivňoval výnos slámy. Varianta třech aplikací zaznamenala negativní korelaci -0,5645, při velice nízkém $p = 0,056$. U variant 2 a 4 aplikací nebyla nalezena statisticky významná korelace, pouze záporný trend. Celkově lze spatřit negativní ovlivnění obsahu selenu a výnosu u slámy.

U kořenů pšenice se nezaznamenala statistická průkaznost mezi obsahem selenu a výnosem. Nejblíže ke statistické průkaznosti byla varianta 4 aplikací, kde bylo vyhodnoceno $p = 0,076$ a byla zde silná negativní korelace.

Tabulka č. 7 Korelace obsahů Se a výnosů všech variant a částí rostliny

	Zrno	Sláma	Kořeny
	Obsah Se 1x		
Výnos 1x	0,6297	-0,7170	0,2535
	$p = 0,038$	$p = 0,009$	$p = 0,427$
	Obsah Se 2x		
Výnos 2x	0,2988	-0,2409	-0,0934
	$p = 0,372$	$p = 0,451$	$p = 0,773$
	Obsah Se 3x		
Výnos 3x	-0,4135	-0,5645	-0,3613
	$p = 0,206$	$p = 0,056$	$p = 0,249$
	Obsah Se 4x		
Výnos 4x	-0,0930	-0,3562	-0,5299
	$p = 0,786$	$p = 0,256$	$p = 0,076$

5.4.2 Korelace odběrů Se a výnosů všech variant a částí rostliny

Z tabulky 8 je patrná korelace odběrů selenu a výnosů jednotlivých částí rostlin u všech variant.

Statisticky průkazná silná pozitivní korelace byla vyhodnocena u zrna varianty 1x (0,6735; $p = 0,023$). Odběr selenu zrna v této variantě zvýšil výnos této části rostliny. Naopak statisticky neprůkazná, ale střední negativní korelace (-0,3017; $p = 0,367$) byla nalezena u varianty, kde se selen aplikoval ve třech dávkách.

Korelace u slámy ve všech variantách byla negativní. V první variantě byla statisticky významná velmi silná negativní korelace -0,7117 ($p = 0,009$). Z toho lze tvrdit, že odběr selenu negativně ovlivnil výnos slámy. U varianty třech aplikací byla naměřena negativní korelace -0,5260, při velmi nízkém $p = 0,079$.

Všechny varianty u kořenů, viz. Tab. 8, nezaznamenaly statisticky významný rozdíl mezi odběrem selenu a výnosem.

Tabulka č. 8 Korelace odběrů Se a výnosů všech variant a částí rostliny

	Zrno	Sláma	Kořeny
	Odběr Se 1x		
Výnos 1x	0,6735	-0,7117	0,4847
	$p = 0,023$	$p = 0,009$	$p = 0,110$
	Odběr Se 2x		
Výnos 2x	0,3047	-0,1928	0,4577
	$p = 0,362$	$p = 0,548$	$p = 0,135$
	Odběr Se 3x		
Výnos 3x	-0,3017	-0,5260	0,0669
	$p = 0,367$	$p = 0,079$	$p = 0,836$
	Odběr Se 4x		
Výnos 4x	0,0010	-0,3271	-0,0534
	$p = 0,998$	$p = 0,299$	$p = 0,869$

6 Diskuze

Tato práce se zabývá studii selenu a způsoby, jak jím efektivně obohatit pšenici, aby mohl být selen dále distribuován k člověku. Jak je selen důležitý pro člověka uvedl i Finley (2005), který uvádí, že suplementace Se populací s nízkým nebo nedostatečným příjmem Se může zlepšit mnoho zdravotních opatření a doplnění Se k populacím s adekvátním příjmem může snížit riziko rakoviny. Toto je přesvědčivý argument pro zvýšení přísunu Se potravinami, kde rostliny se zvýšeným obsahem Se mohou být nejlepším prostředkem k dosažení tohoto cíle. Nicméně podle Haug et al. (2007) je zdroj Se omezený, protože neexistují žádné rudy, ze kterých by se dal těžit jako primární produkt.

Rostliny akumulují různá množství Se v různých chemických formách a tyto faktory je třeba vzít v úvahu při navrhování diet nebo doplňkových možností. Jak uvádí Finley (2005) obsah Se v rostlinách může být zvýšen genetickými nebo environmentálními manipulacemi, ale je třeba vyhodnotit možné metabolické interakce uvnitř rostliny nebo člověka, který rostlinu konzumuje. Pro tento pokus byla vybrána pšenice, protože je to ve světě velice rozšířená potravina a taky má dobré vlastnosti pro akumulaci selenu. Radawiec et al. (2021) zkoumali vliv selenu na pšenici ozimou a podle nich jsou obiloviny v potravinách primárním zdrojem selenu ve většině zemí na celém světě. Pšenice vedle rýže dominuje celosvětovou produkci obilovin a je základním zdrojem selenu v lidské stravě ve většině zemí světa. Z těchto důvodů je to globálně nejlepší rostlina pro použití v procesu biofortifikace, a tudíž i pro tento pokus. Dvojice Gupta & Gupta (2017) zase uvádí, že pšenice je také nejlepším akumulátorem Se v rámci kulturních obilovin (pšenice > rýže > kukuřice > ječmen > oves).

Pro tento pokus byla využita foliární aplikace selenu, protože je to nejúčinnější strategie pro zvýšení příjmu Se rostlinami, jak uvádí Ros et al. (2016). To potvrzují i studie od Luo et al. (2021), nebo Schiavon et al. (2020), kde je uvedeno, že foliární aplikace je až 8krát účinnější než suplementace Se přes půdu. Je to pravděpodobně kvůli rychlejšímu příjmu a asimilačním procesům selenu. Nicméně se dá využít i půdní aplikace selenu. Například studie Radawiece et al. (2021) prokázala, že účinnou metodou zvýšení obsahu selenu v zrnu jarní pšenice může být aplikace tohoto prvku do půdy před setím (5 g/ha Se) v kombinaci s foliární aplikací (5 g/ha Se) ve fázi prodlužování stonku (BBCH 30–39) v celkové dávce 10 g/ha Se.

Výnosy pšenice v pokusu nepřinesly žádné překvapení. Podle výsledků neměla aplikace selenu statisticky významný vliv na výnosy zrna, slámy ani kořenů. Průměrný výnos zrna byl u kontrolních variant 8,99 g/nádoba, u variant hnojených selenem sodným 9,11 g/nádoba a u variant hnojených nanoselenem 8,56 g/nádoba. To potvrzuje i Radawiec et al. (2021), kteří ve své práci zkoumali hnojení pšenice selenem a uvedli, že aplikace selenu se na výnosu nijak nepromítla. Jejich průměrné výnosy zrna byly 2,11 t/ha u kontrol a 2,32 t/ha u variant hnojených selenem. Biofortifikaci selenem v mírných dávkách lze tedy provádět bez rizika negativního vlivu na výnos analyzovaných plodin. K tomuto závěru došli i Lyons et al. (2004), kteří aplikovali do půdy dávku selenu 150 g/ha a nijak to neovlivnilo výnos zrna nebo celkový výnos sušiny. Na druhou stranu existují studie, ve kterých měla aplikace selenu negativní dopad na výnos biomasy pšenice. Například při experimentu Delaqua et al. (2021) měla aplikace selenu (20 g/ha) negativní dopad na výnos pšenice. Podle autorů může tento výsledek naznačovat možný fytotoxický efekt způsobený akumulací Se v nadzemní části rostliny, projevující se také nízkou translokací Se do zrna z jiných částí rostliny. Také stres způsobený nadbytkem selenanu by mohl ohrozit metabolismus rostlin. Hawrilak-Nowak et al. (2015) ve své studii uvedli zvýšení produkce reaktivních látek s kyslíkem (u okurek), jako je peroxid vodíku, a to v důsledku foliární aplikace Se (20 g/ha).

V našem experimentu jsme nezaznamenali statisticky významné rozdíly u variant hnojených nanoselenem a jeho vlivu na výnos pšenice ozimé. Lyu et al. (2022) zkoumali mimo jiné vliv aplikace nanoselenu na výnosy pšenice ozimé v nádobovém pokusu pomocí aplikace nanoselenu do půdy. V experimentu zaznamenali významný pokles výnosu zrna u varianty, kde půda obsahovala po vyhnojení nanoselenem 25 mg/kg Se. U dalších variant (0, 2, 5 mg/kg Se) nezaznamenali statisticky významný rozdíl, a tudíž neměli vliv na výnos. Wang et al. (2017) prováděli experiment s foliární aplikací nanoselenu a nezaznamenali žádný významný vliv na výnos pšenice ozimé.

Agrotechnická biofortifikace je účinný způsob zvýšení nutriční hodnoty pšenice s ohledem na selen. To je mimořádně důležitý aspekt strategie zvyšování kvality potravin. Co se týče obsahu selenu v rostlině, tak jsme v našem pokusu zjistili, že záleží na druhu hnojiva a také na rozdělení aplikované dávky. Nejvyšší obsah Se v zrna se nacházel u variant hnojených selenem sodným. Jednalo se o varianty Se^{VI} 1x (2476 µg/kg) a Se^{VI} 2x (2509 µg/kg), kde se hnojilo buď jednou plnou dávkou Se (100 µg/nádoba), nebo se dávka rozdělila a aplikovala se na dvakrát (2x 50 µg/nádoba). Aplikaci selenanu sodného zkoumali například i

Lara et al. (2019). Jako nejlepší varianta jim vyšla jednotná aplikace selenu 120 g/ha, kde naměřili až 2860 µg/kg selenu v zrně. V našem pokusu byl pozorován velký nárůst obsahu selenu v zrně po hnojení selenanem sodným, např. z 44 µg/kg (Kontrola 2) na 2476 µg/kg (Se^{VI} 2x). Velký nárůst v experimentu zaznamenali také Delaqua et al. (2021), kteří naměřili až o 150 % vyšší obsah selenu v zrně ve hnojené variantě. Taktéž aplikovali selenan sodný, ale pouze v dávce 20 g/ha selenu. Jejich nejvyšší naměřený obsah selenu dosáhl 450 µg/kg. Téměř identický pokus založili i Ducsay et al. (2016). Také používali selenan sodný s foliárně v dávce selenu 20 g/ha. Ve dvouletém hodnocení naměřili průměrný obsah selenu v zrně 450 µg/kg.

Největší obsah Se ve slámě jsme naměřili u variant hnojených selenanem sodným, konkrétně u varianty Se^{VI} 1x (1174 µg/kg). Ducsay a Ložek (2006) testovali obsahy selenu v listech po aplikaci seleničitanu. Obsahy Se v listech byly 88 µg/kg (10 g/ha Se) a 145 µg/kg (20 g/ha Se). Lara et al. (2019) v experimentu aplikovali podobné množství selenu (12 a 21 g/ha), ale ve formě selenanu sodného. Jejich výsledné obsahy v listech byly vyšší, konkrétně 300 µg/kg Se (12 g/ha) a 400 µg/kg Se (21 g/ha). Vyšší koncentrace Se při aplikaci selenanu oproti seleničitanu je způsobena jeho větší pohyblivostí ve vodivých cévách rostlin ve srovnání se seleničitanem (Renkema et al. 2012). Vyšší koncentraci Se po aplikaci selenanu zaznamenali i Poblaciones et al. (2014), v tomto případě se jednalo o zrno.

Nejvyšší obsah selenu v kořenech byl naměřen u varianty Se^{VI} 1x (724 µg/kg), naopak nejnižší obsah byl naměřen u varianty Kontrola 1x (210 µg/kg). O něco větších hodnot dosáhli v experimentu Li et al. (2008). Ti naměřili hodnotu obsahu selenu v kořenech 1005 µg/kg. Součástí experimentu byl u nich také příjem Se kořeny v půdách ochuzených o síru. V tomto půdním prostředí se obsah Se v kořenech dostal na hodnotu 5461 µg/kg. Tento výsledek potvrzuje vztah mezi sírou a selenem při příjmu Se rostlinami.

Při měření obsahu Se v jednotlivých částech rostliny po hnojení selenanem sodným jsme zjistili, že se selen nejvíce akumuloval v zrně (59 %), poté ve slámě (23 %) a nejméně v kořenech (18 %). Podrobnější distribuci Se zaznamenala studie od Keskinen et al. (2010), kde v experimentu hnojili 0,15 mg/nádoby selenanem sodným (10 rostlin/nádoba). Po skončení experimentu uvedli, že 55 % celkového obsahu Se se nacházelo v zrnech, 10 % v plevách, 15 % ve stoncích, 15 % v listech a 5 % v kořenech.

V našich experimentech byly naměřeny velmi nízké hodnoty obsahu nanoselenu ve všech částech rostliny po aplikaci nanoselenu. Nejvíce selenu se nacházelo v kořenech, a to

konkrétně ve variantě nSe 4x (637 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Toto byla ale anomálie, protože další hodnoty obsahu Se v kořenech se pohybovaly mezi 260 – 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Nicméně jsme nezjistili téměř žádné (kromě zmíněné varianty nSe 4x) statisticky významné rozdíly mezi kontrolami a variantami hnojeným nanoselenem. Naproti tomu Wang et al. (2017) v experimentu s foliární aplikací nanoselenu zjistili, že tato aplikace výrazně zvýšila koncentraci Se v zrnu pšenice. Lyu et al. (2022) v jejich studii testovali hnojení nanoselenem do půdy. Půda při koncentraci nanoselenu 2 mg/kg zlepšila koncentraci Se v zrnu (106 – 499 $\mu\text{g}/\text{kg}$) vypěstované pšenice.

Nejvyšší celkový průměrný hrubý odběr v rostlinách byl 31 % u variant hnojených selenanem sodným. Po odečtení kontrolní varianty jsme naměřili průměrný čistý odběr rostlin, který byl 29 %. Nejvyššího průměrného čistého odběru Se v zrnu/nádoba dosáhly v našem experimentu varianty hnojené selenanem sodným, které měly procentuální odběr 17 %. Účinnost selenizace zrna se u těchto variant pohybovala mezi 13 (Se^{VI} 4x) – 22 (Se^{VI} 2x) %. K podobným výsledkům došli i Ducsay et al. (2016). Ti naměřili účinnost selenizace zrna selenanem sodným u pšenice ozimé 13,24 % (10 g/ha Se) a 15,14 % (20 g/ha Se). I zde akumulace selenu úzce souvisela s aplikační dávkou a formou selenu. Lyons et al. (2010) také prováděli experiment s foliární aplikací selenanu. Jejich průměrná účinnost selenizace se dostala na 14 % při dávce 10 g/ha Se.

7 Závěr

V tomto nádobovém pokusu se hodnotil vliv foliární aplikace selenanu sodného a nanoselenu na obsah selenu v zrně, slámě a kořenech pšenice jarní. Mimo to se vyhodnotily výnosy jednotlivých částí rostliny. Všechny varianty byly provedeny ve čtyřech opakováních.

Z výsledků je patrné, že foliární aplikace selenu neměla žádný vliv na výnos, protože neexistovaly statisticky významné rozdíly mezi naměřenými hodnotami u hnojených variant a kontrolami. Nejvyššího výnosu zrna dosáhla varianta hnojená selenanem sodným dávkou 1x 100 µg Se/nádoba (10,7 g/nádoba). Nejvyšší výnos slámy jsme zaznamenali u variant hnojených nanoselenem v dávce 4x 25 µg/nádoba (14,35 g/nádoba) a u nehnojené kontroly 1 (14,35 g/nádoba). Z kořenů dosáhla největšího výnosu varianta hnojená selenanem sodným dávkou 4 x 25 µg/nádoba (5,98 g/nádoba).

Dále jsme sledovali obsah selenu v biomase pšenice jarní, a to hlavně v zrně, které má největší význam pro člověka i zvířata. Nejvíce selenu v zrně obsahovaly varianty hnojené selenanem sodným, konkrétně varianta hnojená celou dávkou 100 µg Se/nádoba v BBCH 30 (2476 µg/kg) a varianta hnojená nadvakrát rozdělenou dávkou 2x 50 µg Se/nádoba Se v BBCH 30/41 (2509 µg/kg). O něco hůře už dopadly varianty, kde se použila rozdělená dávka selenanu sodného 3x 33 µg/nádoba Se v BBCH 30/41/51 (1806 µg/kg) a dávka 4x 25 µg/nádoba Se v BBCH 30/41/51/61 (1638 µg/kg). Nejvíce selenu v slámě (1174 µg/kg) a kořenech (724 µg/kg) obsahovala varianta hnojená selenanem sodným v dávce 1x 100 µg/nádoba Se v BBCH 30. U variant, kde byla provedena foliární aplikace nanoselenu byly naměřeny zanedbatelné hodnoty Se v zrně. Nejvyšší naměřená hodnota byla u varianty hnojené nanoselenem v dávce 2x 50 µg/nádoba Se v BBCH 30/41 (68,6 µg/kg). Tyto výsledky potvrdili všechny tři hypotézy:

- 1) Různé formy aplikovaného selenu ovlivnily jeho příjem a akumulaci rostlinou. Nanoselen se v tomto případě ukázal, jako nevhodná forma selenu pro foliární aplikaci pšenice jarní. Varianty hnojené selenanem sodným dopadly výrazně lépe.
- 2) Dělení aplikované dávky ovlivnilo příjem selenu rostlinami a jeho obsah v rostlinách. Zde se nejlépe jevíly varianty s jednorázovým (100 µg Se/nádoba, BBCH 30) a na dvakrát děleným (2 x 50 µg/nádoba, BBCH 30/41) hnojením selenanem sodným. Z toho můžeme vyvodit, že je vhodnější spíše včasnější aplikace selenu ve větší dávce.

3) Selen se v rostlinách nerovnoměrně distribuoval. To je jasně vidět na odlišných hodnotách obsahu selenu naměřených v zrně, slámě a kořenech. Naměřili jsme 1638 – 2476 µg/kg Se v zrně, 638 – 1174 µg/kg Se v slámě, 523 – 724 µg/kg Se v kořenech po aplikaci selenanu sodného, 56 – 69 µg/kg Se v zrně, 61 – 100 µg/kg Se v slámě, 264 – 637 µg/kg Se v kořenech po aplikaci nanoselenu a 36 – 44 µg/kg Se v zrně, 12 – 19 µg/kg Se v slámě, 210 – 281 µg/kg Se v kořenech u nehnojených kontrol. Nejvyšší průměrná hodnota obsahu Se všech variant dohromady byla naměřena v zrně (735 µg/kg Se), poté v kořenech (420 µg/kg Se) a nejmenší průměrnou hodnotu obsahu Se jsme naměřili v slámě (305 µg/kg Se).

8 Literatura

Ahmad MS, Yasser MM, Sholkamy EN, Ali AM, Mehanni MM. 2015. Anticancer activity of biostabilized selenium nanorods synthesized by *Streptomyces bikiniensis* strain Ess_amA-1. *International Journal of Nanomedicine* **10**:3389–3401.

Bañuelos GS, Lin ZQ, Broadley M. 2017. Selenium biofortification 231-256 in Pilon-Smits E, Winkel L, Lin ZQ, editors. *Selenium in plants*. Springer International Publishing, Zurich.

Bouis HE, Chassy BM, Ochanda JO. 2003. Genetically modified food crops and their contribution to human nutrition and food quality. *Trends in Food Science & Technology* **14**:191-209.

Brasted RC. 2019. Selenium. *Encyclopedia Britannica*. Available from <https://www.britannica.com/science/selenium> (accessed March 2022).

Broadley MR, et al. 2010. Selenium biofortification of high-yielding winter wheat (*Triticum aestivum* L.) by liquid or granular Se fertilisation. *Plant and Soil* **332**:5-18.

Ceko MJ, O'Leary S, Harris HH, Hummitzsch K, Rodgers RJ. 2016. Trace elements in Ovaries: Measurement and physiology. *Biology of Reproduction* **94**:1-14.

Combs G. 2001. Selenium in global food systems. *British Journal of Nutrition* **85**:517-547.

Constantinescu-Aruxandei D, Frincu RM, Capra L, Oancea F. 2018. Selenium analysis and speciation in dietary supplements based on next-generation selenium ingredients. *Nutrients* **10**:1466.

Český statistický úřad. 2021. Osevní plochy ozimých plodin pro sklizeň v roce 2021. Český statistický úřad, Praha.

Delaqua D, Carnier R, Berton RS, Corbi FCA, Coscione AR. 2021. Increase of selenium concentration in wheat grains through foliar application of sodium selenate. *Journal of Food Composition and Analysis* **99**:103886.

Ducsay L, Ložek O. 2006. Effect of selenium foliar application on its content in winter wheat grain. *Plant, Soil and Environment* **52**:78-82.

Ducsay L, Ložek O, Marček M, Varényiová M, Hozlár P, Lošák T. 2016. Possibility of selenium biofortification of winter wheat grain. *Plant, Soil and Environment* **62**:379-383.

Eich-Greatorex S, Sogn TA, Falk Ogaard A, Aasen I. 2007. Plant availability of inorganic and organic selenium fertiliser as influenced by soil organic matter content and pH. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* **79**:221-231.

El-Ramady HR, Domokos-Szabolcsy E, Shalaby TA, Joe P, Fári MK. 2015. Selenium in agriculture: Water, air, soil, plants, food, animals and nanoselenium. Pages 153-232 in Lichtfouse E, Schwarzbauer J, Robert D editors. *CO₂ Sequestration, Biofuels and Depollution, Environmental Chemistry for a Sustainable World 5*. Springer International Publishing Switzerland.

El-Ramady HR, Faizy SED, Abdalla N, Taha H, Domokos-Szabolcsy É, Fari M, Elsakhawy T, Omara AEDO, Shalaby T, Bayoumi Y, Shehata S, Geilfus CM, Brevik EC. 2020. Selenium and Nano-Selenium biofortification for human health: Opportunities and Challenges. *Soil System* **4(3)**:57.

Finley JW. 2005. Selenium accumulation in plant foods. *Nutrition Reviews* **63**:196-202.

Fordyce FM. 2013. Selenium deficiency and toxicity in the environment. Pages 375-416 in Selinus O, editor. *Essentials of Medical Geology*. Springer, Dordrecht.

Forootanfara H, Zare B, Fasihi-Bam H, Amirpour-Rostami S, Ameri A, Shakibaie M, Torabi Nami M. 2014. Biosynthesis and characterization of selenium nanoparticles produced by terrestrial actinomycete *Streptomyces microflavus* strain FSHJ31. *Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology* **3(1)**:47-53

Galeas ML, Zhang LH, Freeman JL, Wegner M, Pilon-Smits EAH. 2007. Seasonal fluctuations of selenium and sulfur accumulation in selenium-hyperaccumulators and related non-accumulators. *New Phytologist* **173**:517-525.

Garza-García JJO, Hernández-Díaz JA, Zamudio-Ojeda A, León-Morales JM, Guerrero-Guzmán A, Sánchez-Chiprés DR, López-Velázquez JC, García-Morales S. 2021. The role of selenium nanoparticles in agriculture and food technology. *Biological Trace Element Research*. DOI: 10.1007/s12011-021-02847-3.

Germ M, Stibilj V, Šircelj H, Jerše A, Kroflič A, Golob A, Maršič, NK. 2019. Biofortification of common buckwheat microgreens and seeds with different forms of selenium and iodine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **99**:4353–4362.

Gerrard TL, Telford JN, Williams HH. 1974. Detection of selenium deposits in *Escherichia coli* by electron microscopy. *Journal of Bacteriology* **119**:1057-1060.

Gharieb M, Wilkinson S, Gadd G. 1995. Reduction of selenium oxyanions by unicellular, polymorphic and filamentous fungi: cellular location of reduced selenium and implications for tolerance. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **14**:300–311

Golubkina NA, Koshelev OV, Krivenkova LV, Dobrutskaya HG, Nadezhkin S, Caruso G. 2017. Intersexual differences in plant growth, yield, mineral composition and antioxidants of spinach (*Spinacia oleracea* L.) as affected by selenium form. *Science Horticulturaire* **225**:350-358.

Grupta UC, Watkinson JH. 1985. Agriculture significance of selenium. *Outlook in Agric* **14**:183-189.

Gudkov SV, et al. 2020. Production and use of selenium nanoparticles as fertilizers. *ACS Omega* **5**:17767-17774.

Gupta M, Gupta S. 2017. An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants. *Frontiers in Plant Science* **7**:2074.

Haug A, Graham RD, Christophersen OA, Lyons GH. 2007. How to use the world's scarce selenium resources efficiently to increase the selenium concentration in food. *Microbial Ecology in Health Disease* **19**:209-228.

Hawkesford MJ, Zhao FJ. 2007. Strategies for increasing the selenium content of wheat. *Journal of Cereal Science* **46**:282-292.

Hawrilak-Nowak B, Matraszek R, Pogrzelec M. 2015. The dual effects of two inorganic selenium forms on the growth, selected physiological parameters and macronutrients accumulation in cucumber plants. *Acta Physiologiae Plantarum* **37(2)**:11738.

Hosnedlova B, et al. 2017. A summary of new findings on the biological effects of selenium in selected animal species – A critical review. *International Journal of Molecular Sciences* **18**:2209.

Huang Y, Huang J, Song Y, Liu H. 2017. Use of selenium to alleviate naphthalene induced oxidative stress in *Trifolium repens L.* *Ecotoxicology and Environmental Safety* **143**:1-5.

Chen N, Zhao Ch, Zhang T. 2020. Selenium transformation and selenium-rich foods. *Food Bioscience* **40**:100875.

Ivancic JJ, Weiss WP. 2001. Effect of dietary sulfur and selenium concentrations on selenium balance of lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science* **84**:225-232.

Jelínek P, Koudela K. 2003. *Fyziologie hospodářských zvířat*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno.

Jones GD, Droz B, Greve P, Gottschalk P, Poffet D, McGrath SP, Seneviratne SI, Smith P, Winkel LHE. 2017. Selenium deficiency risk predicted to increase under future climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **114**:2848-2853.

Kieliszek M. 2019. Selenium-fascinating mikroelement, properties and sources in food. *Molecules* **24(7)**:1298.

Kolbert Z, Lehotai N, Molnár A, Feigl G. 2016. The roots of selenium toxicity: A new concept. *Plant Signaling & Behavior* **11(10)**:1241935.

Kotyk A. 2004. Akademon. Available from <https://archiv.akademon.cz/Article/Detail?name=Jeste%20k%2021%20prirozene%20aminokyseliny&source=1004> (accessed March 2022).

Kvíčala JBV. 2018. Selen – nezbytná složka výživy člověka. *Výživa a potraviny* **5**:123-125.

- Lara TS, de Lima Lessa JH, de Souza KRD, Corguinha APB, Martins FAD, Lopes G, Guilherme LRG. 2019. Selenium biofortification of wheat grain via foliar application and its effect on plant metabolism. *Journal of Food Composition and Analysis* **81**:10-18.
- LeDuc DL, AbdelSamie M, M6ntes-Bayon M, Wu CP, Reisinger SJ, Terry N. 2006. Overexpressing both ATP sulfurylase and selenocysteine methyltransferase enhances selenium phytoremediation traits in Indian mustard. *Environmental Pollution* **144**:70-76.
- Li Q, Chen T, Yang F, Liu J, Zheng W. 2010. Facile and controllable onestep fabrication of selenium nanoparticles assisted by L-cysteine. *Materials Letters* **64(5)**:614–617.
- Li H, Steve P, Zhao F. 2008. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytologist* **178**:92-102.
- Luksic L, Germ M. 2017. Selenium in water and terrestrial plants. *Folia Biologica et Geologica* **58**:165-174.
- Luo L, Zhang J, Zhang K, Wen Q, Ming K, Xiong H, Ning F. 2021. Peanut selenium distribution, concentration, speciation, and effects on proteins after exogenous selenium biofortification. *Food Chemistry* **354**:129515.
- Lyons GH. 2010. Selenium in cereals: improving the efficiency of agronomic biofortification in the UK. *Plant and Soil* **332**:1-4.
- Lyons GH, Genc Y, Stangoulis JCR, Palmer LT, Graham RD. 2005. Selenium distribution in wheat grain, and the effect of postharvest processing on wheat selenium content. *Biological Trace Element Research* **103**:155-168.
- Lyons GH, Lewis J, Lorimer MF, Holloway RE, Brace DM, Stangoulis JCR, Graham RD. 2004. High-selenium wheat: agronomic biofortification strategies to improve human nutrition. *Food, Agriculture & Environment* **2**:171-178.
- Lyu L, Wang H, Liu R, Xing W, Li J, Man YB, Wu F. 2022. Size-dependent transformation, uptake, and transformation of SeNPs in wheat-soil system. *Journal of Hazardous Materials* **424**:127323.

- Nawaz F, Ahmad R, Ashraf MY, Waraich EA, Khan SZ. 2015. Effect of selenium foliar spray on physiological and biochemical processes and chemical constituents of wheat under drought stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **113**:191-200.
- Nayantara, Kaur P. 2018. Biosynthesis of nanoparticles using eco-friendly factories and their role in plant pathogenicity: a review. *Biotechnology Research and Innovation* **2**:63-73.
- Oldfield JE. 1999. *Se World atlas*. Se-Tellurium Development Association, Grimbergen.
- Passwater RA. 1999. *O selenu*. PRAGMA, Praha.
- Pickering IJ, Prince RC, Salt DE, George GN. 2000. Quantitative, chemically specific imaging of selenium transformation in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97**:10717-10722.
- Pilon-Smits EAH, Quin CF. 2010. Selenium metabolism in plants. *Cell Biology of Metals and Nutrients* **17**:225-241.
- Poblaciones MJ, Rodrigo S, Santamaría O, Chen Y, McGrath SP. 2014. Agronomic selenium biofortification in *Triticum durum* under mediterranean conditions: from grain to cooked pasta. *Food Chemistry* **146**:378-384.
- Prasad KS, Patel H, Patel T, Patel K, Selvaraj K. 2013. Biosynthesis of Se nanoparticles and its effect on UV-induced DNA damage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **103**:261–266.
- Prugar J, et al. 2008. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský ve spolupráci s Komisí jakosti rostlinných produktů ČZV, Praha.*
- Radawiec A, Szulc W, Rutkowska B. 2021. Selenium biofortification of wheat as a strategy to improve human nutrition. *Agriculture* **11**:144.
- Raina M, Sharma A, Nazir M, Kumari P, Rustagi A, Hami A, Bhau BS, Zargar SM, Kumar D. 2020. Exploring the new dimensions of selenium research to understand the underlying mechanism of its uptake, translocation and accumulation. *Physiologia Plantarum* **171**:882-895.

- Ramkissoon CH, Degryse F, da Silva RC, Baird R, Young SD, Bailey EH, McLaughlin MJ. 2019. Improving the efficacy of selenium fertilizers for wheat biofortification. *Scientific Reports* **9**:19520.
- Rayman MP. 1997. Dietary selenium: time to act. *The British Medical Journal* **314**:387-388.
- Rayman MP. 2008. Food-chain selenium and human health: Emphasis on intake. *British Journal of Nutrition* **100**:254-268.
- Reilly C. 1996. Se in food and health. Blackie Academic&Professional, London.
- Renkema H, Koopmans A, Kersbergen L, Kikkert J, Hale B, Berkelaar E. 2012. The effect of transpiration on selenium uptake and mobility in durum wheat and spring canole. *Plant and Soil* **354**:239-250.
- Roman M, Jitaru P, Barbante C. 2014. Selenium biochemistry and its role for human health. *Metallomics* **6**:25–54.
- Ros GH, van Rotterdam AMD, Bussink DW, Bindraban PS. 2016. Selenium fertilization strategies for bio-fortification of food: an agro-ecosystem approach. *Plant and Soil* **404**:99-112.
- Sarkar J, Dey P, Saha S, Acharya K. 2011. Mycosynthesis of selenium nanoparticles. *Nano-Micro Letters* **6**:599–602.
- Schiavon M, Nardi S, Vecchia FD, Ertani A. 2020. Selenium biofortification in the 21st century: status and challenges for healthy human nutrition. *Plant and Soil* **453**:245-270.
- Schrauzer GN. 2009. Selenium and selenium-antagonistic elements in nutritional cancer prevention. *Critical Reviews in Biotechnology* **29**:10-17.
- Sors TG, Ellis DR, Salt DE. 2005. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynthesis Research* **86**:373-389.
- Stadobler M, Sager M, Irgolic KJ. 2001. Effects of selenate supplemented fertilisation on the selenium level of cereals – identification and quantification of selenium compounds by HPLC-ICP-MS. *Food Chemistry* **73**:357-366.

- Taylor JB, Marchello MJ, Finley JW, Neville TL, Combs GF, Caton JS. 2008. Nutritive value and display-life attributes of selenium-enriched beef-muscle foods. *Journal of Food Composition and Analysis* **21**:183-186.
- Vaněk V, Balík J, Pavlík M, Pavlíková D, Tlustoš P. 2016. *Výživa a hnojení polních plodin*. Profi Press s.r.o., Praha.
- Vetchinkina E, Loshchinina E, Kursky V, Nikitina V. 2013. Reduction of organic and inorganic selenium compounds by the edible medicinal basidiomycete *Lentinula edodes* and the accumulation of elemental selenium nanoparticles in its mycelium. *Journal of Microbiology* **51**:829–835.
- Visha P, Nanjappan K, Jayachandran S, Selvaraj P, Elango A, Kumaresan G. 2015. Biosynthesis and structural characteristics of selenium nanoparticles using *Lactobacillus acidophilus* bacteria by wet sterilization process. *International Journal of Advanced Veterinary Science and Technology*, **4(1)**:178–183.
- Wang Q, Yu Y, Li J, Wan Y, Huang Q, Guo Y, Li H. 2017. Effects of different forms of selenium fertilizers on Se accumulation, distribution, and residual effect in winter wheat-summer maize rotation system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **65**:1116-1123.
- Whanger P, Vendeland S, Park Y, Xia Y. 1996. Metabolism of subtoxic levels of selenium in animals and humans. *Annals of Clinical & Laboratory Science* **26**:99-113.
- White PJ. 2018. Selenium metabolism in plants. *Biochimica et Biophysica Acta – General Subjects* **1862**:2333-2342.
- Zhang JS, Gao XY, Zhang LD, Bao YP. 2001. Biological effects of a nano red elemental selenium. *Bio Factors* **15**:27-38.
- Zimolka J, et al. 2005. *Pšenice: pěstovaná, hodnocení a užití zrna*. Profi Press s.r.o., Praha.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

Se – selen

μg – mikrogram

mg – miligram

g – gram

kg – kilogram

t – tuna

ml – mililitr

l – litr

cm – centimetr

mm – milimetr

nm – nanometr

ha – hektar

č. – číslo

např. – například

atd. – a tak dále

et al. – a kolektiv

ČR – Česká republika

USA – Spojené státy americké

ČSÚ – Český statistický úřad

SeCys – selenocystein

SeMet – selenomethionin

ATP – adenosintrifosfát

BBCH – stupnice fenologických fází

N – dusík

Fe – železo

Na – sodík

S – síra

DNO – Doudleby nad Orlicí

DAM 390 – kapalné dusíkaté hnojivo

NPK – hnojivo, které obsahuje dusík, fosfor, draslík

P – hodnota testu

10 Samostatné přílohy

Obrázek č. 6 Odebírání zeminy – Doudleby nad Orlicí



Obrázek č. 7 Sušení zeminy



Obrázek č. 8 Drcení hrud a prosévání zeminy



Obrázek č. 9 Příprava zeminy do nádob



Obrázek č. 10 Setí pšenice jarní do nádob



Obrázek č. 11 Vegetace pšenice – odnožování



Obrázek č. 12 Vegetace pšenice – počátek sloupkování



Obrázek č. 13 Vegetace pšenice – kvetení



Obrázek č. 14 Sklizeň pšenice jarní



Obrázek č. 15 Sklizená pšenice jarní rozdělená na klasy, slámu a kořeny



Obrázek č. 16 Vážení vzorků v laboratoři

