

Vliv bílkovinných hydrolyzátů na klíčivost a asimilaci kovů u rostlin

Petra Michalisková

Bakalářská práce
2023



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Petra Michalisková**
Osobní číslo: **T20511**
Studijní program: **B0711A130009 Materiály a technologie**
Specializace: **Ochrana životního prostředí**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Vliv bílkovinných hydrolyzátů na klíčivost a asimilaci kovů u rostlin**

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte literární rešerši na zadané téma.
2. U předložených vzorků proveďte testy klíčivosti a proveďte analýzu obsahu vybraných kovů v jednotlivých částech rostlin.
3. Naměřená a vypočtená data statisticky zpracujte a dosažené výsledky kriticky zhodnotte.

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- Vědecké zdroje zahrnuté v databázích Web of Science, ScienceDirect, SciFinder Scholar, Medline aj.
- Mokrejš, P., Sukop, S., & Krejčí, O. (2014). Charakterizace keratinových hydrolyzátů připravených z kuřecího peří. *Chemické listy*, 108, 26-31.
- Lisiecka, J., Knaflowski, M., Spizewski, T., Fraszczak, B., Kaluzewicz, A., & Krzesinski, W. (2011). The effect of animal protein hydrolysate on quantity and quality of strawberry daughter plants cv.'Elsanta'. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 10, 31-40.
- Colla, G., Nardi, S., Cardarelli, M., Ertani, A., Lucini, L., Canaguier, R., & Rouphael, Y. (2015). Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 28-38.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Markéta Julinová, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce: **31. prosince 2022**

Termín odevzdání bakalářské práce: **19. května 2023**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

prof. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 17. února 2023

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem bakalářskou práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá vlivem kolagenového hydrolyzátu na klíčivost a asimilaci kovů u rostliny Oves setý (*Avena sativa*). Literární část je věnována metodám odstraňování polutantů ze znečištěných oblastí metodami fytořemediace. Tyto metody využívají vlastnost některých rostlin, akumulovat znečišťující a škodlivé látky do svých pletiv, případně tyto škodliviny transformovat na formu méně toxickou pro životní prostředí. Pro podporu vitality rostlin mohou být využity bílkovinné hydrolyzáty. Jejich vliv na rostliny je stále předmětem zkoumání. V rámci práce byla semena *Avena sativa* vystavena různým koncentracím kolagenového hydrolyzátu (od 100 mg/l do 600 mg/l) a kadmia (od 5 mg/l do 25 mg/l) v roztoku. Výsledky ukazují, že aplikace kolagenového hydrolyzátu měla pozitivní vliv na velikost klíčků, která se zvýšila až o 18,6 %. Kadmium mělo dle očekávání negativní vliv na všechny měřené biometrické údaje. Asimilace kovů v rostlinách nebyla prokázána. Stanovené hodnoty obsahu kadmia v biomase byly pravděpodobně zapříčiněny důsledkem sorpce kadmia na povrch testovaných rostlin. Výsledky této práce poukazují na potenciál pro využití kolagenového hydrolyzátu v zemědělství a případně pro ochranu rostlin před kontaminací kovy z půdy.

Klíčová slova: fytořemediace, kadmium, test klíčivosti, kolagenový hydrolyzát, asimilace kovů

ABSTRACT

This bachelor's thesis deals with the impact of collagen hydrolysate on the germination and assimilation of metals in Oat (*Avena sativa*). The literary part is dedicated to the methods of removing pollutants from polluted areas by the phytoremediation methods. The methods use the property of some plants to accumulate polluting and harmful substances into their tissue, eventually transform these pollutants into a form which is less toxic for the environment. Protein hydrolysates can be used to support the plant's vitality. Their influence is still being examined. As a part of the thesis were the seeds of *Avena sativa* exposed to different concentrations of collagen hydrolysate (from 100 mg/l to 600 mg/l) and cadmium (from 5 mg/l to 25 mg/l) in solution. The results show that the application of collagen hydrolysate had

a positive effect on the size of the sprouts, which increased their size up to 18,6 %. Cadmium had, as expected, a negative effect on all measured biometric data. The assimilation of metals in plants has not been demonstrated. The determined values of cadmium content in the biomass were probably caused by the absorption of cadmium into the biomass of the tested plants. The results of this work point to the potential for the use of collagen hydrolysate in agriculture and eventually to protect plants from contamination of metals from the soil.

Keywords: Phytoremediation, Cadmium, seed germination test, assimilation of metals

Poděkování

Chtěla bych vyjádřit upřímné poděkování všem, kteří mi pomohli při experimentální části a psaní této bakalářské práce. Za cenné rady, podporu a inspiraci, bych ráda poděkovala vedoucí mé práce, paní doc. Ing. Markétě Julinové, Ph.D., za její trpělivost, vstřícnost a ochotu mi pomoci v každé fázi psaní práce.

Dále bych chtěla poděkovat své rodině za podporu a ochotu poskytnout mi nezbytný čas a prostor, jak pro studium, tak pro práci na této bakalářské práci. Děkuji také přátelům a kolegům za slova povzbuzení, když jsem o sobě pochybovala.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 FYTOREMEDIACE	12
2 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ ASIMILACI KOVŮ ROSTLINAMI.....	15
3 HYPERAKUMULÁTORY	16
4 BÍLKOVINNÉ HYDROLYZÁTY	17
5 VLIV BÍLKOVINNÝCH HYDROLYZÁTŮ NA RŮST ROSTLIN.....	19
6 LIMITY PRO OBSAH TOXICKÝCH KOVŮ	21
7 SHRNUTÍ REŠERŠE A CÍLE PRÁCE	22
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	23
8 MATERIÁL A METODY	24
8.1 POUŽITÉ POMŮCKY A LABORATORNÍ TECHNIKA	24
8.2 POUŽITÉ CHEMICKÉ LÁTKY A SMĚSI	24
8.3 MATERIÁLY	24
8.4 POUŽITÉ METODY	25
8.4.1 Screeningový test klíčivosti	25
8.4.2 Laboratorní experiment	25
8.4.3 Analýza rostlin	26
8.4.4 Mineralizace	27
8.4.5 Stanovení obsahu kadmia pomocí AAS.....	28
9 VÝSLEDKOVÁ A DISKUSNÍ ČÁST.....	30
9.1 STANOVENÍ KLÍČIVOSTI A VITALITY SEMEN.....	30
9.2 HODNOCENÍ VLIVU KOLAGENOVÉHO HYDROLYZÁTU ZA PŘÍTOMNOSTI KADMIA NA KLÍČIVOST A RŮST OVSA SETÉHO (<i>AVENA SATIVA</i>).....	31
9.2.1 Vliv KoH bez přidaného kadmia.....	32
9.2.2 Vliv kadmia na oves setý bez ošetření KoH	33
9.2.3 Srovnání vlivu různých koncentrací kadmia při konstantní koncentraci KoH.....	34
9.2.4 Srovnání vlivu různých koncentrací KoH při konstantní koncentraci kadmia	37
9.2.5 Vliv aplikovaných roztoků na počet kořenů	39
9.3 STANOVENÍ OBSAHU KADMIA V BIOMASE OVSA SETÉHO (<i>AVENA SATIVA</i>)	41
ZÁVĚR	42
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	43
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	46
SEZNAM OBRÁZKŮ	47
SEZNAM TABULEK.....	48

SEZNAM PŘÍLOH.....	49
---------------------------	-----------

ÚVOD

Bílkovinné hydrolyzáty jsou produkty, které vznikají rozkladem bílkovin na menší peptidy a aminokyseliny pomocí enzymů. Hydrolyzáty se často používají jako složky hnojiv pro rostliny kvůli svému vysokému obsahu dusíku a stimulačním vlastnostem pro růst a vývoj rostlin. Využití hydrolyzovaných zbytků v zemědělství může pomoci snížit náklady na hnojení a zároveň omezit množství odpadu vznikajícího v potravinářském průmyslu.

Vliv bílkovinných hydrolyzátů na klíčivost rostlin závisí na konkrétním druhu hydrolyzátu a na jeho dávkování. Některé hydrolyzáty mohou stimulovat klíčení semen, zatímco jiné mohou mít opačný účinek. V práci J. Březinové (2020) byl popsán příznivý vliv bílkovinného hydrolyzátu na klíčivost semen a růst kořenů řeřichy seté (*Lepidium sativum*) a rajčete tyčkového (*Solanum lycopersicum L.*) při koncentraci 300 mg/l, a na semena okurky nakladačky (*Cucumis sativus*) při koncentraci 400 mg/g jak u keratinového, tak u kolagenového hydrolyzátu, s mírným trendem pro hydrolyzát kolagenový. Naopak v testu se semeny papriky (*Capsicum annuum*) byly pozorovány lepší výsledky při použití keratinového hydrolyzátu.

Pokud jde o asimilaci kovů (latinsky *assimilatio* – začlenění, zarovnání) rostlinami, vliv bílkovinných hydrolyzátů na klíčivost a na asimilaci kovů rostlinami závisí na konkrétních vlastnostech hydrolyzátů a na konkrétních podmínkách, jako je druh rostliny, typ půdy a dávkování hydrolyzátu.

Cílem této bakalářské práce je experimentální ověření účinků kolagenového hydrolyzátu získaného enzymatickou hydrolyzou drůbežního peří na růst semen rostliny a na asimilaci kovů, konkrétně kadmia. Na základě práce Stinga a kol. (2012) byla jako experimentální rostlina zvolena oves setý (*Avena sativa*), u které byly hodnoceny základní kvalitativní a kvantitativní růstové parametry.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 FYTOREMEDIACE

Fytoremediace je proces, který využívá rostliny k čištění půdy, vody a vzduchu od nežádoucích látek, jako jsou toxické kovy, ropné látky, pesticidy a další chemická znečištění. Rostliny se používají jako přirozená metoda k odstraňování těchto látek z prostředí. Rostliny absorbují znečišťující látky ze svého okolí pomocí kořenů a listů a následně je metabolizují nebo ukládají v těle rostliny. Fytoremediace je obvykle méně nákladná a méně invazivní než tradiční metody remediace (opatření, která mají za cíl obnovit původní stav kontaminovaného místa nebo minimalizovat škodlivé vlivy na životní prostředí) a může být úspěšná v mnoha různých prostředích, včetně průmyslových lokalit, skládek a kontaminovaných vodních toků. Proces fytoremediace však může být časově náročný a účinnost může být ovlivněna různými faktory, jako jsou typ kontaminace, druh rostlin a podmínky prostředí.

Fytoremediační metody lze rozdělit do dvou technologických skupin: fytodekontaminace a fytostabilizace. Fytodekontaminace je přímé odstraňování znečišťujících látek. Patří sem například fytoextrakce, rhizobiální (kořenová) filtrace, fytodegradace a fytovolatilizace. Při fytostabilizaci nejsou kontaminanty přímo odstraňovány, ale jejich stabilizací přímo na rostlině je zabráněno jejich přestupu dále do životního prostředí (Cunningham, 1995). Níže jsou tyto používané metody stručně vysvětleny a popsány.

Fytostabilizace

je proces, při kterém jsou rostliny používány k fixaci a stabilizaci kontaminovaných půd nebo sedimentů tak, aby byla snížena kontaminace do okolního prostředí nebo bylo zabráněno její šíření. Tento proces je založen na schopnosti kořenů rostlin vázat a udržovat toxické kovy a jiné toxické látky v půdě, čímž snižují jejich mobilnost a rozpustnost (Ansari, 2017).

Fytoakumulace (fytoextrakce)

je proces, při kterém rostliny přijímají, ukládají a koncentrují látky, jako jsou toxické kovy a jiné toxické látky z prostředí, ve kterém rostou. Fytoakumulace je založena na schopnosti rostlin absorbovat a ukládat tyto látky v nadzemních částech, jako jsou listy a klíčky, a následně je odstranit z místa (Ansari, 2017). Tato technika je účinná pouze v případě, že rostliny akumulují velké koncentrace kovů/metaloidů ve výhoncích a mají přiměřenou produkci biomasy (McGrath, 2003). Některé druhy rostlin jsou schopny absorbovat a ukládat větší množství toxických kovů a toxických látek než jiné. Tyto rostliny se nazývají

hyperakumulátory (viz kap. 3). Hyperakumulátory mohou být použity pro revitalizaci znečištěných oblastí pomocí procesu fytoakumulace, kdy jsou rostliny pěstovány v kontaminované půdě a následně sklizeny a odstraněny z místa. Tento proces může být použit jako alternativní nebo doplňková metoda k tradičním metodám čištění znečištěné půdy, jako je například odstraňování horní vrstvy půdy nebo chemické čištění (Ansari, 2017).

Fytovolatilizace

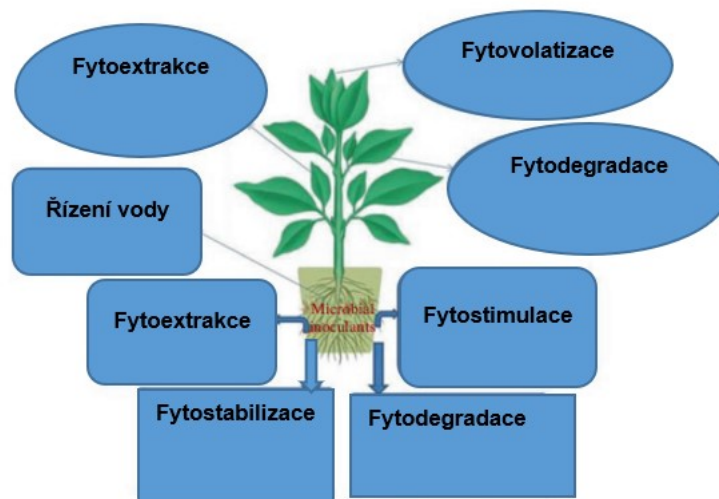
zahrnuje použití rostlin k zachycení určitých kontaminantů a poté k přeměně do plynné formy, která se vypaří do atmosféry (Ansari, 2017).

Fytofiltrace

označuje proces, kde se uvnitř rostliny vysrážejí nečistoty, jako jsou kovy z rhizosféry, která je jimi prostoupena a ovlivněna (Ansari, 2017).

Fytodegradace

Při fytodegradaci jsou rostliny používány k rozkladu organických látek, jako jsou ropné látky, na méně toxické sloučeniny. Při odstraňování znečištění v půdě a vodě metodou fytodegradace se často využívají bakterie. Bakterie mohou pomoci rostlinám tím, že zvyšují schopnost rostlin absorbovat a transformovat znečištění. Například některé bakterie mohou produkovat enzymy, které rozkládají organické sloučeniny na jednodušší a snadno absorbovatelné formy pro rostliny. Jiné bakterie mohou rozkládat organické sloučeniny, jako jsou pesticidy nebo ropné látky (Ansari, 2017). V práci Abid A. Ansari a kol. (2017) je uveden přehled některých půdních polutantů, které by mohly být odstraněny z půdy pomocí mikrobiálně podporované fytoremediace.



Obrázek 1 Druhy fytoremediace (Ansari, 2017)

2 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ ASIMILACI KOVŮ ROSTLINAMI

Faktory, které mohou ovlivnit schopnost rostlin asimilovat kovy a mohou mít vliv na růst a zdraví rostlin:

- o pH půdy – kyselá půda může zvýšit rozpustnost kovů v půdě a zlepšit jejich dostupnost pro rostliny.
- o Obsah organické hmoty v půdě – organická hmota může vázat kovy a snížit jejich dostupnost pro rostliny.
- o Koncentrace kovů v půdě – příliš vysoká koncentrace kovů v půdě může vést k toxicitě pro rostliny.
- o Typ kovů – různé kovy mají různou schopnost být asimilovány rostlinami.
- o Konkurence s jinými živinami – některé živiny, jako například vápník, mohou soutěžit s kovy o vstřebávání rostlinami.
- o Stáří rostlin – mladé rostliny jsou obvykle schopné absorbovat kovy efektivněji než starší rostliny.
- o Fyziologický stav rostliny – zdravé rostliny jsou obvykle schopné lépe asimilovat kovy než oslabené rostliny.
- o Přítomnost mykorhizních organismů – mykorhizní organismy mohou zlepšit vstřebávání kovů rostlinami tím, že poskytují rostlinám lepší přístup k vodě a živinám v půdě.
- o Aplikace nutrientů, stimulátorů.
- o Přítomnost komplexotvorných látek, např. huminiových kyselin, se kterými daný kov tvoří komplexy. (Richter, 2004).

3 HYPERAKUMULÁTORY

Vyšší rostliny jsou schopné metabolizovat a rozkládat mnoho znečišťujících látek. Některé rostliny mohou také akumulovat vysoké koncentrace toxických kovů a často se označují jako hyperakumulátory.

Byly navrženy hodnoty hyperakumulace pro koncentrace kovů v listech a klíčcích: 100 mg.kg⁻¹ nebo více pro ionty kadmia; 1000 mg.kg⁻¹ nebo více pro ionty niklu, mědi, kobaltu a olova a 10000 mg.kg⁻¹ pro ionty zinku a manganu. Zároveň nesmí rostliny vykazovat známky fytoxicity. Tyto mezní hodnoty jsou přibližně o jeden řád vyšší, než jsou zaznamenány pro běžné druhy (Baldassarre Švecová, 2018).

Bylo provedeno mnoho vědeckých studií na téma hyperakumulace, včetně identifikace nových druhů rostlin, které jsou schopny hyperakumulace různých toxických kovů. Díky těmto studiím máme více poznatků o mechanismech hyperakumulace, jako je fytoextrakce a další metody čištění kontaminovaných oblastí, a jejího využití v praxi.

Některé příklady studovaných hyperakumulátorů kadmia jsou: penízek modravý (*Thlaspi caerulescens*), řeřišničník Hallerův (*Arabidopsis halleri*) (Boominathan, 2003); lilek černý (*Solanum nigrum*) (Sun, 2006); lantana obyčejná (*Lantana camara*) (Soubasakou, 2022).

4 BÍLKOVINNÉ HYDROLYZÁTY

Rostoucí populace a životní úroveň obyvatelstva souvisí s nárůstem spotřeby potravin a spotřebního zboží. Důležitou roli mají produkty vyrobené z přírodních polymerů a proteinů. V mnoha průmyslových odvětvích (potravinářství, koželužství, kožedělný průmysl, farmacie, kosmetika) je zpracovávána živočišná bílkovina kolagen, ale také keratin nebo elastin. Při jejich zpracování vzniká velké množství vedlejších produktů v různých fázích výroby, které mohou mít vysoký potenciál využití.

Ročně jsou nasbírány miliony tun peří obsahující keratin a chrupavek obsahujících kolagen, které jsou odpadní surovinou při chovu drůbeže. Likvidace těchto materiálů se v současnosti provádí anaerobní transformací na bioplyn. Jiné způsoby likvidace těchto odpadů, spalováním nebo kompostováním, jsou problematické, protože tyto odpady špatně hoří a při kompostování se rozkládají velmi pomalu. V případě likvidace zůstane tento odpad zcela nevyužit.

Vedlejší bílkovinné produkty lze za vhodných technologických podmínek zpracovávat ekologicky udržitelným způsobem, což vede ke snížení odpadních vod, snížení pevných odpadů a k výrobě produktů, které jsou kvalitativně srovnatelné s produkty z primární porážky a dalších potravinářských surovin. Dále jsou uvedeny možnosti využití vyrobených želatin a hydrolyzátů:

- o kolagenový hydrolyzát vyrobený z kolagenového odpadu z kožedělného průmyslu, jako dusíkaté NPK hnojivo, nebo použití pro výrobu biodegradovatelných gelů;
- o keratinový hydrolyzát vyrobený z kuřecích vedlejších produktů a ovčí vlny jako zvlhčující a uzavírací činidlo v kosmetických přípravcích;
- o želatina vyrobená z kuřecích vedlejších produktů jako přísada do sladkostí a jako funkční přísada do masných výrobků.

V některých případech může použití bílkovinných hydrolyzátů pomoci snížit negativní dopady stresových podmínek na klíčivost a růst semen a rostlin (Lisiecka, 2011; Wang, 2022), jako jsou například nedostatek vody, teplotní stres nebo stres toxickými kovy.

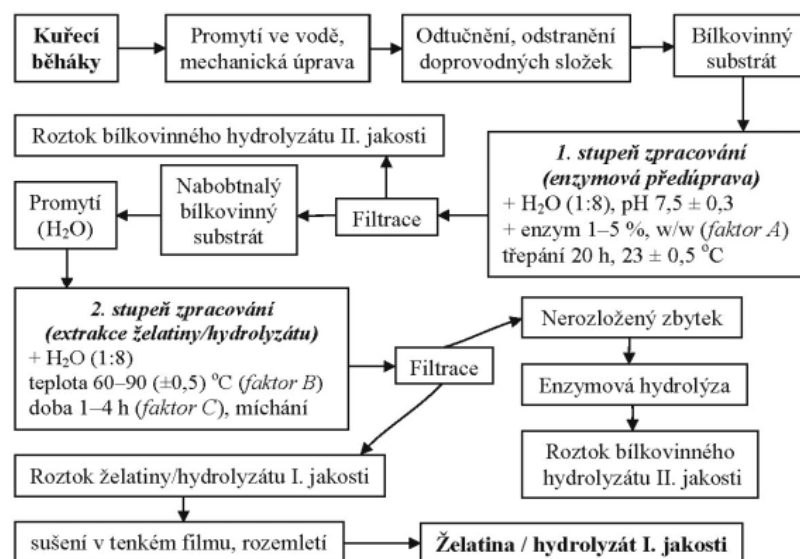
Tým Evy Baldassarre Švecové zkoumal v roce 2018, v rámci projektu BIOSTYM, využití odpadního drůbežního peří pro přípravu bílkovinného hydrolyzátu vařením. Vaření kuřecích vedlejších produktů v autoklávu při 110 °C za přítomnosti oxidu uhličitého (tlaková

hydrolýza) má za následek tvorbu čpavku. Vzniklý hydrolyzát byl aplikován na rostliny. Při tomto projektu byl potvrzen pozitivní účinek bílkovinného hydrolyzátu na rostliny s tím, že budou provedeny další experimenty.

Další metodou přípravy bílkovinného hydrolyzátu je metoda enzymové hydrolýzy. Kuřecí přebytky jsou po enzymové předúpravě filtrovány a následně sušeny, aby byla získána koncentrovaná forma enzymaticky hydrolyzovaných složek (obr. 2). Enzymová hydrolýza je citlivá na teplotu, pH a koncentraci enzymů. Pro dosažení optimálního rozkladu složek je důležité přesné nastavení podmínek pro každý krok procesu. Zvýšení klíčivosti semen, růstu a vývoje rostlin za použití takto připraveného hydrolyzátu je popsáno např. v práci J. Březinové z roku 2020.

Díky těmto metodám jsou bílkoviny hydrolýzou přeměněny na peptidy a aminokyseliny, což odpovídá nařízení EU o vedlejších živočišných produktech.

Použití těchto směsí aminokyselin a peptidů může zvýšit odolnost rostlin vůči stresu, účinnost fotosyntézy, stomatální funkci, tvorbu plodů, obsah aminokyselin a fytohormonů, chelataci a syntézu proteinů.



Obrázek 2 Schéma zpracování kuřecích běháků na želatiny a hydrolyzáty I. jakosti a hydrolyzáty II. jakosti (převzato a upraveno, Mokrejš, 2019).

5 VLIV BÍLKOVINNÝCH HYDROLYZÁTŮ NA RŮST ROSTLIN

Vliv bílkovinných hydrolyzátů na růst rostlin závisí na mnoha faktorech, jako jsou např. druh rostliny, koncentrace hydrolyzátů, způsob aplikace hydrolyzátů, typ půdy, prostředí. Většina studií ukazuje, že aplikace bílkovinných hydrolyzátů může zlepšit klíčivost semen, zvýšit růst kořenů, stimulovat tvorbu listů, zvýšit obsah chlorofylu, zlepšit fotosyntézu a zvýšit výnos plodin. Bílkovinné hydrolyzáty mohou být k dispozici jako tekutý produkt, rozpustný prášek nebo jako mikrogranulát.

V práci Fitriyah, F a kol. (2022) byla použita semena kukuřice (*Zea mays*) a třtiny cukrové (*Saccharum officinarum*) k posouzení účinku hydrolyzovaných bílkovin na klíčivost a růst rostlin. Bylo zjištěno, že zkoumané hydrolyzované bílkoviny zlepšují klíčivost rostlin a podporují růst kořenů a klíčků. Dále autoři prokázali, že aplikace bílkovinných hydrolyzátů zvyšuje obsah antioxidantů v rostlinách a zlepšuje asimilaci dusíku.

Italská studie autorů Rouphael, Y. a kol. z roku 2021 ukázala, že aplikace granulovaného bílkovinného hydrolyzátu přidaného přímo do substrátu zvýšila výšku rostlin, počet i plochu listů, obsah dusíku a chlorofylu v listech u přesazených rajčat a salátu, přičemž rozdíly byly u všech uvažovaných parametrů závislé na dávce (kontrolní vzorek; 0,5 g/l; 1,0 g/l; 2,0 g/l a 4,0 g/l substrátu).

Experiment Sriharan R. a kol. (2022) porovnával účinky hydrolyzátů z kuřecího peří a hydrolyzátů z ryb na růst a vývoj čajovníku (*Camellia sinensis*). Aplikace hydrolyzátu bílkovin zvýšila obsah dusíku a fosforu v listech čajovníků a oba přidané hydrolyzáty zvyšovaly růst a vývoj čajových keřů v porovnání s kontrolním keřem bez přidaného hydrolyzátu. Experiment ukázal, že hydrolyzát získaný z kuřecího peří měl větší pozitivní účinek na zlepšení růstu a vývoje čajovníku než hydrolyzát z ryb, což mohlo být způsobeno tím, že hydrolyzát z kuřecího peří obsahoval větší koncentrace aminokyselin a peptidů.

Ve studii Jain, B. M., a kol. z roku 2022, byl sójový hydrolyzát aplikován na semena pšenice (*Triticum aestivum L.*) a pískavice řecké (*Cicer arietinum L.*) v koncentracích 0,5 %, 1 %, 1,5 % a 2 % vodného roztoku. Aplikace probíhala během 15 minut namáčením semen v roztoku hydrolyzátu. Po namočení byla semena opláchnuta vodou a nechána klíčit v Petriho miskách. Celkově bylo použito pět různých variant aplikace, včetně kontrolní skupiny s čistou vodou bez hydrolyzátu. Výsledky ukázaly, že aplikace sójového hydrolyzátu zvýšila klíčivost a rychlost růstu semen obou rostlinných druhů. Konkrétně se projevil zvýšený počet klíčících semen, větší délka kořenů a zvýšená hmotnost biomasy.

Také bylo pozorováno, že sójový hydrolyzát podporuje tvorbu antioxidantů, což může vést k větší odolnosti semen a rostlin vůči stresovým podmínkám, jako je například sucho.

Existují i studie, které naopak přináší výsledky o žádných nebo dokonce negativních účincích přidaného bílkovinného hydrolyzátu. Například studie provedena v letech 2006-2007 na Přírodovědecké univerzitě v Poznani se skládala ze dvou pokusů se sazenicemi jahodníku, druh „Elsanta“ (Lisiecka, 2011). Sazenice byly vysazeny do černých polypropylenových pytlů 20 x 85 cm, které byly naplněny 12 dm³ rašelinového substrátu. Rostliny byly šestkrát postříkány vodným roztokem hydrolyzátu (1 %). První postřik byl aplikován ke kořenům (po přesazení) a další na řapíky listů. V závěru studie bylo konstatováno, že aplikovaný biostimulant na bázi živočišného hydrolyzátu neměl příznivý vliv na množství a kvalitu jahodníku a jeho dceřiných rostlin.

Existuje mnoho faktorů, které mohou ovlivnit výsledky jednotlivých studií a způsobit rozpory v jejich závěrech. Jedním z těchto faktorů může být rozdílná metodika použitá v různých studiích, různé druhy testovaných rostlin nebo různé koncentrace hydrolyzátů použité v experimentu. Dalším faktorem může být rozdílné prostředí, ve kterém jsou semena nebo rostliny testovány, například různé teploty, vlhkostní a půdní podmínky. Navíc mohou být rozpory v závěrech způsobeny také rozdílností v genetické variabilitě rostlin, což může vést k odlišným výsledkům ve studiích.

6 LIMITY PRO OBSAH TOXICKÝCH KOVŮ

Každá půda se vyznačuje určitou hodnotou toxických kovů, která udává jejich přirozený obsah. Obsah některých toxických kovů v půdách v České republice je hodnocen limity, které upravuje legislativa. Jsou to např.

- o 153/2016 Sb. VYHLÁŠKA Ministerstva životního prostředí ze dne 9. května 2016 stanovení podrobností ochrany kvality zemědělské půdy a o změně vyhlášky č. 13/1994 Sb., kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu.
- o Nařízení vlády č. 75/2015 Sb., o podmínkách provádění agroenvironmentálně-klimatických opatření a o změně nařízení vlády č. 79/2007 Sb., o podmínkách provádění agroenvironmentálních opatření, ve znění pozdějších předpisů.

V příloze č. 4, tohoto nařízení vlády, jsou uvedené stanovené maximální limity pro některé toxické kovy.

Tabulka 1 Stanovené maximální limity obsahu sledovaných toxických kovů, které může obsahovat vzorek půdy v podopatření integrované produkce ovoce a integrovaná produkce zeleniny a jahodníku, uvedené v příloze 4; 75/2015 Sb.

	Chemická látka	Mezní hodnota celkového obsahu chemické látky v půdě (mg/kg)
1.	Olovo (Pb)	100,0
2.	Kadmium (Cd)	0,4
3.	Rtuť (Hg)	0,6
4.	Chrom (Cr)	100,0
5.	Arsen (As)	30,0

7 SHRNU TÍ REŠERŠE A CÍLE PRÁCE

Téma fytořemediace a fytostabilizace kontaminovaných půd ukazuje, že se tyto technologie stávají stále více populárními jako alternativa k tradičním metodám sanace kontaminovaných oblastí. Zvýšení účinnosti fytořemediace a fytostabilizace může být docíleno pomocí přídavku různých typů přírodních (Stingu, 2012) a syntetických látek, jako jsou biostimulanty nebo regulátory růstu. Prostudované práce naznačují, že řada proteinových hydrolyzátů jak živočišného, tak rostlinného původu může pozitivně ovlivnit klíčivost rostlin. V diplomové práci J. Březinové (2020) bylo zjištěno, že aplikace kolagenového hydrolyzátu na semena vybraných typů rostlin ((řeřicha setá (*Lepidium sativum*), okurka nakladačka (*Cucumis sativus*), rajče tyčkové (*Solanum lycopersicum L.*)) vedla k výrazně vyšší klíčivosti a růstu rostlin (Březinová, 2020). Pozitivní výsledky této práce tak naznačují, že kolagenový hydrolyzát by mohl být vhodným pomocným přípravkem při fytořemediacích. Nicméně efekt hydrolyzátu na celý proces je závislý především na druhu rostliny a použité koncentraci.

Cílem této práce je tak v rámci naplánovaného experimentu posoudit vliv kolagenového hydrolyzátu na klíčivost a asimilaci kadmia u semen ovsa setého (*Avena sativa*). Pro tuto práci bylo připraveno šest různých koncentrací kolagenového hydrolyzátu a tři koncentrace kadmia. Bylo zkoumáno, zda a jakým způsobem kolagenový hydrolyzát ovlivňuje akumulaci kadmia u semen ovsa setého a jaký má vliv na jejich klíčivost a růst.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

8 MATERIÁL A METODY

8.1 Použité pomůcky a laboratorní technika

- o Plastové Petriho misky o průměru 9 cm;
- o Skleněné Petriho misky o průměru 9 cm;
- o Papirové filtry Munktell (grade 1290, plošná hmotnost papíru 84 g/m², filtrační rychlost 100 s, záchyt částic 3–5 μm);
- o Míchačka magnetická IKA Color Squid, Laboratory equipment, Německo;
- o Míchadlo RZR 2020, Heidolph, Německo;
- o Analytické váhy Kern ABJ 220 - 4NM, Německo;
- o Horkovzdušná trouba, Mora, Česká republika;
- o Temperační box (25±1 °C);
- o Mineralizátor mls 1200, digestion/drying module, exhaust module EM-30, Milestone – microwave laboratory systems, Švýcarsko;
- o Atomový absorpční spektrometr ContrAA 800, Analytikjena, Německo;
- o jiné běžné laboratorní pomůcky.

8.2 Použité chemické látky a směsi

- o Síran kademnatý (CdSO₄), čistota p.a., Penta s.r.o.
- o Peroxid vodíku pro ultrastopovou analýzu (30 % H₂O₂), analpure – ultra, Analytika, spol. s r.o.
- o Kyselina dusičná (HNO₃) 65–69 % analpure-ultra, Analytika, spol. s.r.o.

8.3 Materiály

- o Oves setý (*Avena sativa*) byl zakoupen v obchodu Centrum-bylin.cz; Petr Bezecný, Pěkná 44, 643 00, Brno, (nebyl chemicky ošetřen).

o Kolagenový hydrolyzát (KoH) připravený enzymatickou hydrolyzou z kuřecích běháků byl laskavě poskytnut prof. Ing. Pavlem Mokrejšem, Ph.D. Elementární analýzou byl stanoven obsah uhlíku $43,55 \pm 0,16$ %, dusíku $12,72 \pm 0,05$ % a síry $1,35 \pm 0,18$ % (Březinová, 2020). Přípravu pracovních roztoků kolagenového hydrolyzátu bylo nutné provést v dostatečném předstihu pro zajištění dobrého rozpuštění. Kolagenový hydrolyzát byl připraven v šesti koncentracích: 100 mg/l, 200 mg/l, 300 mg/l, 400 mg/l, 500 mg/l, 600 mg/l.

8.4 Použité metody

8.4.1 Screeningový test klíčivosti

Po zakoupení semene byl v domácím prostředí proveden jednoduchý test klíčivosti. Test byl proveden 2x. Postupováno bylo následně: na připravený keramický talířek a na navlhčenou vatu (1x) / navlhčený ubrousek (1x) byla rovnoměrně rozložena semena. Talířek se semeny byl překryt potravinovou fólií a umístěn na temné místo s teplotou cca 21°C. Pravidelně byla kontrolována vlhkost vaty/ubrousku a případně byla přidána další voda. Výsledek testu klíčivosti semen ovsa setého v domácím prostředí je uveden v kapitole 9.1.

8.4.2 Laboratorní experiment

Pro přípravu kontrolního vzorku byla použita pouze voda bez přidaného hydrolyzátu a bez přidaného kovu. Byla používána pitná voda z vodovodního řádu, která byla vystavena varu po dobu 15 minut pro jistotu bakteriální čistoty (dále jen voda). Voda byla připravena vždy nově v den aplikace, před aplikací byla zchlazena na laboratorní teplotu.

Filtrační papíry byly 3x promyty vařící destilovanou vodou pro odstranění nežádoucích látek.

Dále byly připraveny vzorky ošetřené roztokem kolagenového hydrolyzátu (KoH) o koncentraci 100 mg/l, 200 mg/l, 300 mg/l, 400 mg/l, 500 mg/l a 600 mg/l, bez přidaného kadmia; vzorky s kadmii byly použity v koncentraci 5 mg/l, 12,5 mg/l, 25 mg/l a postupně zkombinovány se všemi připravenými roztoky KoH.

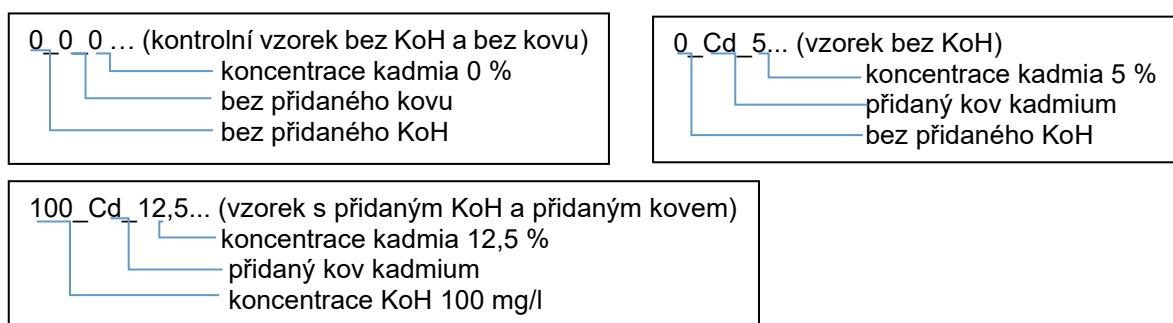
Do Petriho misek o průměru 9 cm byl položen list filtračního papíru a rovnoměrně zvlhčen 4 ml jedním z předem připravených roztoků. Do každé misky bylo vyseto 10 semen

rovnoměrně rozmístěných na filtračním papíru 10 mm až 20 mm od okraje misky. Důležitý byl kontakt semen se zkoušeným materiálem. Vše bylo provedeno ve třech replikátech.

Triplikáty kontrolního vzorku a vzorků bez přidaného kadmia byly připraveny v rámci dvou experimentů. Pro rozlišení byly tyto testy označeny římskými číslicemi I. a II. Triplikáty roztoků s kadmíem byly připraveny v rámci jednoho experimentu.

Petriho misky (PM) byly uloženy ve tmě v klimatizovaném boxu s teplotou 25 °C.

Označení vzorků



8.4.3 Analýza rostlin

Měření rostlin bylo provedeno sedmý den, přičemž den založení semínek byl označen jako den nula. Kořeny a klíčky byly měřeny samostatně, pomocí pravítka s přesností 1 mm. V případě, že z jednoho semínka vyrostlo více kořenů, byl započten pouze nejdelší z těchto kořenů. Klíček byl vždy jen jeden. Části rostlin menší než 5 mm byly považovány za neměřitelné a nebyly započteny. Vyhodnocovanými parametry byla klíčivost (rovnice 1), délka klíčku (rovnice 2), délka kořene (rovnice 3) a počet kořenů na semeno (rovnice 4).

o Klíčivost

$$ARG = \frac{GR1+GR2+\dots}{x} \quad (1)$$

kde

ARG – klíčivost [%]

GR – počet vzklíčených semen

x – celkový počet semen

o Délka klíčku

$$AGLP = \frac{GLP1+GLP2+\dots}{y} \quad (2)$$

kde

AGLP – celková průměrná délka klíčku [mm]

GLP – průměrná délka klíčku [mm]

y – počet sad Petriho misek daného vzorku

o Délka kořene

$$AR_{HLP} = \frac{RHLP1+RHLP2+\dots}{y} \quad (3)$$

AR_{HLP} – celková průměrná délka kořene [mm]

R_{HLP} – průměrná délka nejdelšího kořene [mm]

y – počet sad Petriho misek daného vzorku

o Počet kořenů/semeno

$$ARSP = \frac{RSP1+RSP2+\dots}{x} \quad (4)$$

kde

ARSP – celkový průměr počtu kořenů na jedno semeno [ks]

RSP – průměrný počet kořenů/semeno [ks]

z – počet vyklíčených semen

8.4.4 Mineralizace

Pro posouzení asimilace kadmia bylo vybráno, na základě plánovaného experimentu (data nejsou prezentována), šest typů triplikátů vzorků (0_0_0; 600_0_0; 0_Cd_25; 300_Cd_12,5; 600_Cd_5; 600_Cd_25). Celé rostliny těchto vzorků byly důkladně

opláchnuty destilovanou vodou (3x) a vysušeny v horkovzdušné troubě při teplotě 60 – 80 °C do konstantní hmotnosti a poté byla sušená biomasa zvážena s přesností na pět desetinných míst na analytických vahách.

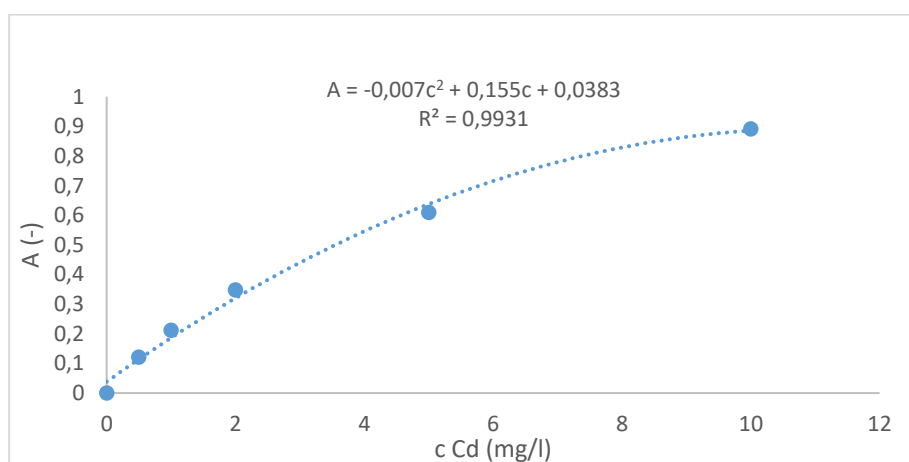
Pro stanovení koncentrace kadmia v rostlinných pletivech ovsa, byly vysušené vzorky převedeny do teflonových patron a po přidání 2,5 ml HNO₃ a 0,5 ml 30 % H₂O₂ byly mineralizovány pod dobu 20 minut. Po vychladnutí byl obsah patrony převeden do 25 ml odměrné baňky a doplněn po rysku destilovanou vodou.

8.4.5 Stanovení obsahu kadmia pomocí AAS

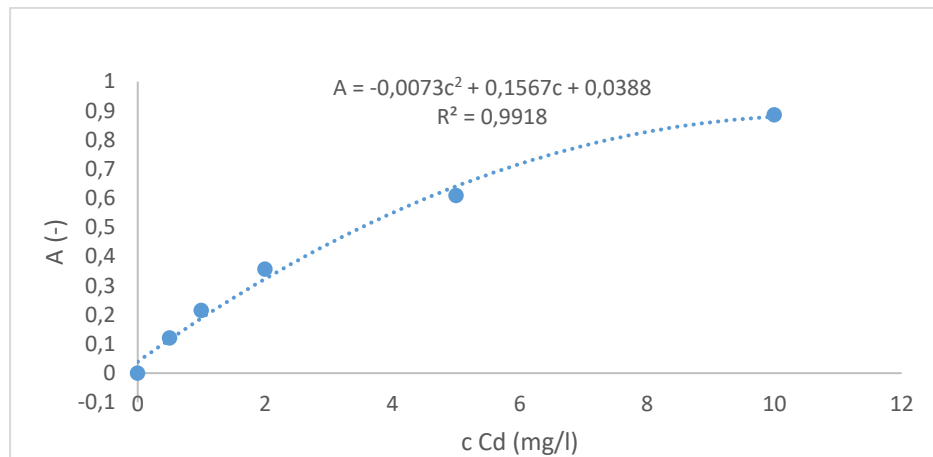
Ke stanovení obsahu kadmia byla použita metoda atomové absorpční spektrometrie (AAS).

Před vlastním stanovením kadmia v připravených vzorcích, byla nejprve změřena kalibrační křivka pomocí připravených standardních roztoků kadmia o koncentraci: 0,5 mg/l; 1 mg/l; 2 mg/l; 5 mg/l; 10 mg/l. Vzorek byl vpraven do plamenového atomizátoru, kde byl rozptýlen na atomární úroveň. Atomové záření kadmia bylo nasměrováno do spektrofotometru, kde byla detekována jeho absorbance při vlnové délce 228 nm.

Koncentrace kadmia v testovaném vzorku je vypočtena pomocí kalibrační křivky (obr. 3 a 4), která byla vytvořena z absorpčních spekter standardních roztoků.



Obrázek 3 Stanovení kadmia – kalibrační křivka pro analýzu první sady vzorků, bez obsahu kadmia



Obrázek 4 Stanovení kadmia – kalibrační křivka pro analýzu druhé sady vzorků, s obsahem kadmia

o Výpočet koncentrace kadmia v sušině

Zjištěné koncentrace kadmia v roztoku byly přepočteny na gram sušiny podle rovnice 5.

$$v = \frac{c_a * V}{m_1} \left(\frac{mg}{g} \right) \quad (5)$$

Kde

v... obsah kadmia ve vzorku

c_a ... koncentrace stanoveného analytu [mg/l]

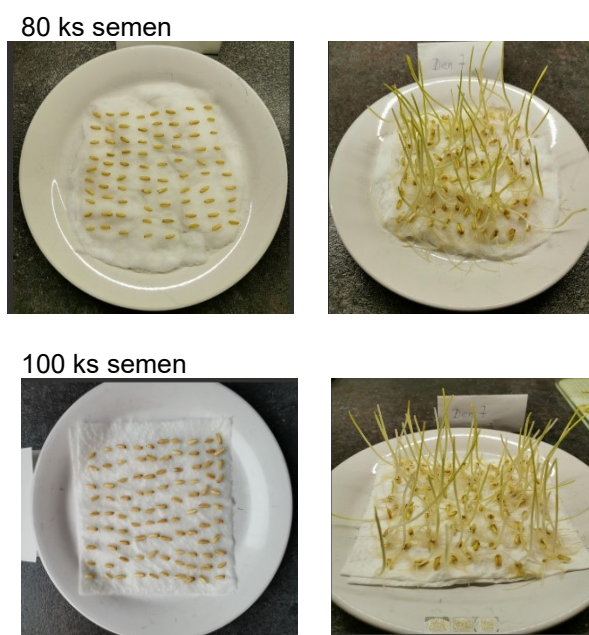
V... objem roztoku [l]

m_1 ...hmotnost navážky sušiny biomasy použité k mineralizaci [g]

9 VÝSLEDKOVÁ A DISKUSNÍ ČÁST

9.1 Stanovení klíčivosti a vitality semen

Nejprve byl proveden screeningový test klíčivosti v domácích podmínkách. Byly provedeny dva testy schopnosti klíčení semen ovsa. V prvním testu bylo založeno 80 ks semínek, z nichž 7 ks nevyklíčilo. V druhém testu bylo založeno 100 ks semínek, nevyklíčilo 8 ks. Klíčivost tak byla vyhodnocena jako 91 % resp. 92 %. Pozorované klíčky byly silné, pevné a měly světle zelenou barvu, což bylo způsobeno klíčením ve tmě. Kořeny začaly tvořit síť. Rostlinky byly celkově vitální a bylo jednoznačně potvrzeno, že zakoupená semena jsou s dobrou klíčivostí. S ohledem na velikost připravených Petriho misek o průměru 9 cm a vitality rostlin byla zvolena osmidenní (včetně prvního dne označeného jako den nula) doba trvání testu.

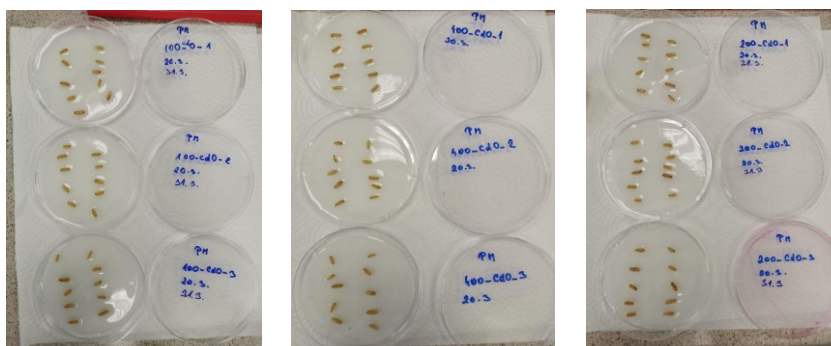


Obrázek 5 Fotografie – Screeningový test klíčivosti (foto Michalisková, 2023)

Po provedení screeningového testu bylo přikročeno k testu v laboratorních podmínkách s aplikací kolagenového hydrolyzátu a kadmia.

Nicméně v laboratorních podmínkách se klíčivost snížila na 30–33 %, i přesto, že byl zachován stejný postup kultivace ověřený již v diplomové práci J. Březinové z roku 2020, v rámci kterého bylo dosaženo vždy uspokojivého procenta klíčivosti u všech testovaných

rostlin. Nízká klíčivost obecně může být způsobena různými faktory, například nízkou kvalitou semen, nesprávnými podmínkami pro klíčení nebo nevhodným skladováním semen před klíčením. Bylo tedy provedeno opakování tohoto testu s použitím jak převařené kohoutkové pitné vody, kohoutkové pitné vody (Stingu, 2012) a destilované vody (Szopa, 2023). Vždy s velmi podobnými výsledky. I přestože byly v průběhu testu klíčivosti dodrženy veškeré standardní podmínky doporučované pro tyto testy klíčivosti a zároveň bylo při screeningovém testu realizovaném v domácích podmínkách prokázáno, že pořízená semena byla kvalitní a „zdravá“, se důvod snížení klíčivosti v rámci této práce nepodařilo z časových důvodů objasnit. Proto byly tyto hodnoty klíčivosti považovány za přijatelné a byly zahájeny další experimenty, jejichž výsledky jsou uvedeny v následujících kapitolách.



Obrázek 6 Fotografie – test klíčivosti, část připravených vzorků oves setý (*Avena sativa*) (foto Michalisková, 2023)

9.2 Hodnocení vlivu kolagenového hydrolyzátu za přítomnosti kadmia na klíčivost a růst ovsa setého (*Avena sativa*)

Hodnocení vlivu KoH na klíčivost a růst ovsa setého bylo realizováno v rámci dvou experimentů, a to v rozsahu: kontrolní vzorek (převařená pitná voda) a vzorky bez přidaného kadmia. Byly naměřeny odlišné výsledky, z tohoto důvodu je na obrázcích rozlišení římskými číslicemi I. a II. Data jsou prezentována formou sloupcových grafů jako průměr \pm směrodatná odchylka. Hodnotícími parametry jsou délka klíčku, průměrná délka kořínků, průměrná délka nejdelšího kořínku. Vyhodnocen byl také počet kořínků připadající na semeno formou krabicového grafu, kde je prezentován průměr, medián a minimální a maximální naměřená hodnota (kap. 9.2.5). Hlavní osa y (vlevo) udává délku části rostliny v milimetrech (mm), vedlejší osa y (vpravo) pak udává celkový počet kořenů

na semeno vyjádřený v kusech (ks). Údaje o počtu kořenů na jedno semeno jsou na obrázcích níže znázorněny pouze orientačně bez uvedení rozptylu hodnot, z důvodu zachování přehlednosti prezentovaných dat.

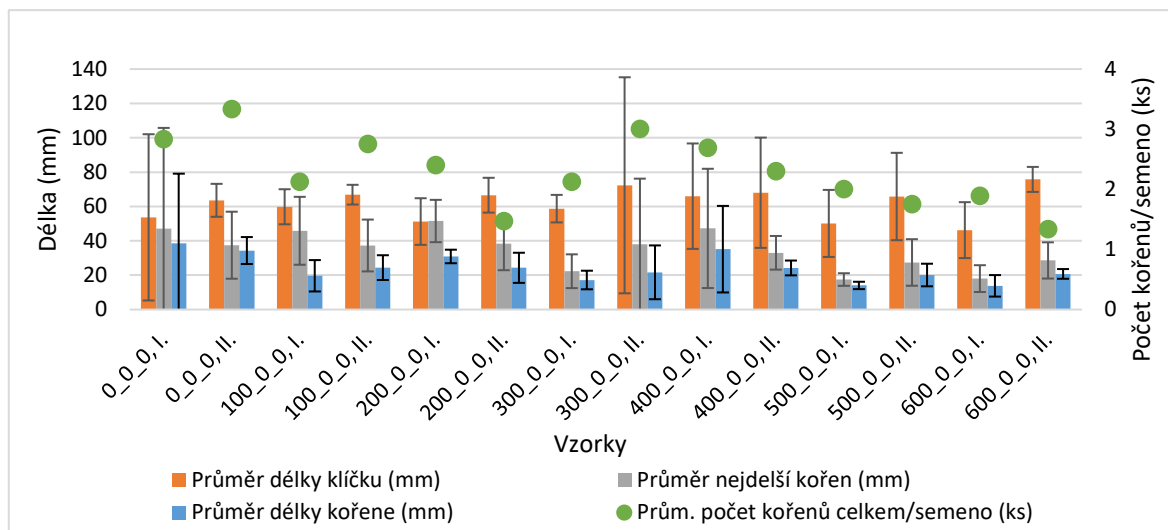
Data, která byla použita k tvorbě obrázků jsou součástí příloh této bakalářské práce.

9.2.1 Vliv KoH bez přidaného kadmia

V prvním experimentu byl porovnáván vliv různých koncentrací KoH na růst ovesných klíčků a kořenů bez přítomnosti kadmia. Jak je patrné z dat prezentovaných na obr. 7 hodnoty sledovaných parametrů se pohybují v rámci chyby měření, nicméně lze vypožorovat jistý trend.

V testu č. I. byl nejdelší klíček naměřen u semen ošetřených roztokem KoH o koncentraci 400 mg/l; průměrně nejdelší kořen měl vzorek s 200 mg/l KoH; největší počet kořenů měl roztok 400 mg/l KoH. Nejdelší kořen v absolutním čísle měl vzorek ošetřený roztokem 400 mg/l KoH a to $74,25 \pm 34,72$ mm, což ale bylo o 36,3 % méně než absolutně nejdelší kořen kontrolního vzorku ($117 \pm 58,63$ mm). Naopak nejnižší hodnoty u všech biometrických parametrů měly vzorky s 500 mg/l a 600 mg/l KoH. V testu č. II. byly nejdelší klíčky změřeny při koncentraci 600 mg/l, což bylo o 19,1 % více než u kontrolního vzorku. Nejvyšší množství kořenů měl vzorek ošetřeným roztokem 300 mg/l KoH, což ale bylo o 9,9 % méně, než měl kontrolní vzorek. Nejkratší kořeny měly vzorky s 500 mg/l a 600 mg/l KoH stejně jako v testu č. I.

Z toho se lze domnívat, že jako optimální se pro klíčivost a růst jeví koncentrace KoH v rozmezí 300 až 400 mg/l. Toto zjištění je v souladu s prací J. Březinové (2020), ve které byla pro řechici setou (*Lepidium sativum*) a rajče tyčkové (*Solanum lycopersicum L.*) stanovena optimální koncentrace KoH 300 mg/l, a pro okurku nakladačku (*Cucumis sativus*) 400 mg/l.

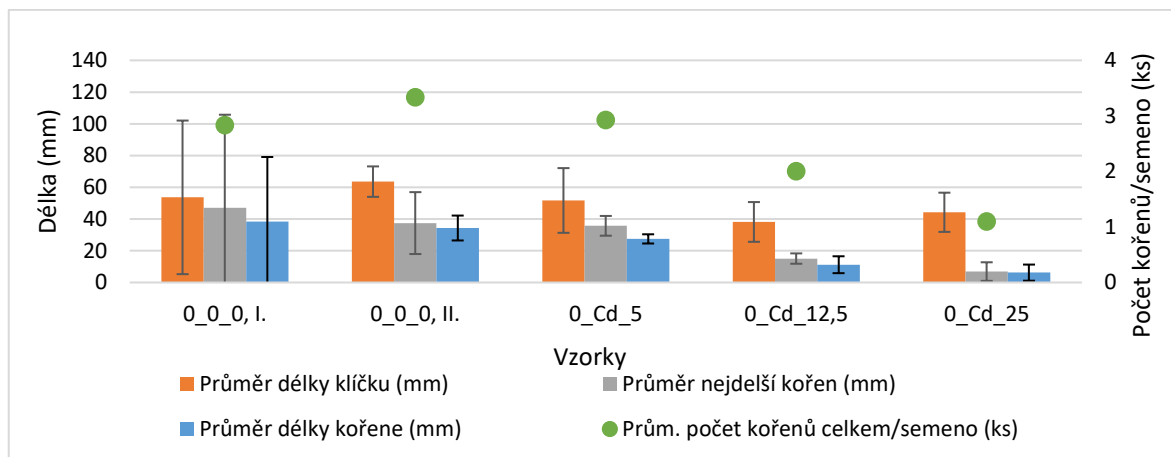


Obrázek 7 Vliv koncentrace KOH na oves setý v prostředí bez přidaného Cd

9.2.2 Vliv kadmia na oves setý bez ošetření KOH

Protože se jednalo o první experimenty a nějak se začít muselo, byly zvoleny koncentrace kadmia, které byly otestovány v práci Stingu a kol. (2012), ve které byl zkoumán vliv rostlinných extraktů ((z kůry smrku ztepilého (*Picea abies*), skořápek kaštanu jedlého (*Castanea sativa*)), klejichy hedvábné (*Asclepias syriaca*)) na bioakumulaci kadmia v rostlinách ovsu setého (*Avena sativa*) a to 5 mg/l, 12,5 mg/l a 25 mg/l.

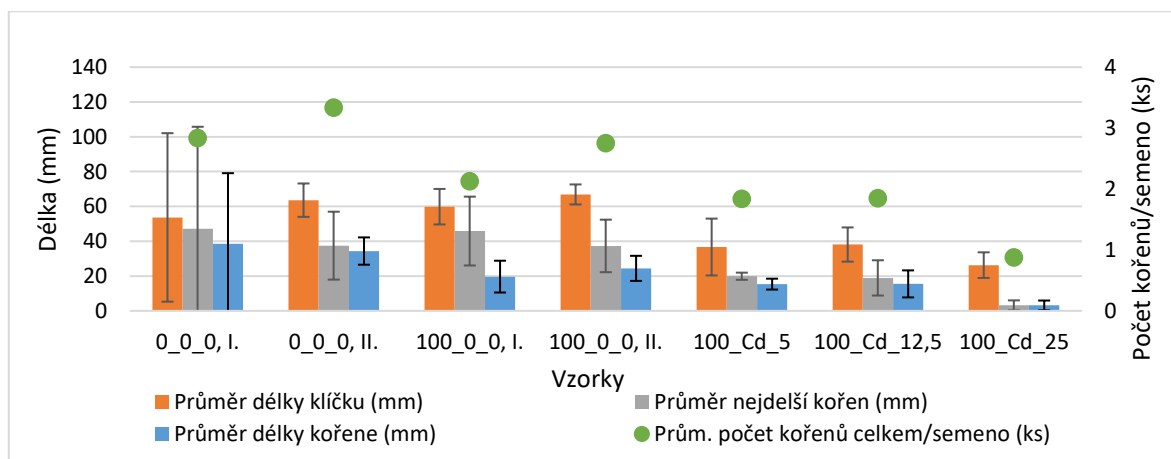
Z dat prezentovaných na obr. 8 je patrné, že všechny vzorky bez ošetření kolagenovým hydrolyzátem, měly nižší hodnoty veškerých měřených biometrických údajů než vzorky kontrolní. Negativní vliv kadmia je více výrazný u parametru délka kořene. Dle očekávání a v souladu s prací Stingu a kol. (2012) dochází s rostoucí koncentrací kadmia ke snižování klíčivosti a vitality rostlin. Výsledky tohoto experimentu jsou ve shodě také se studií Bahmani a kol. (Bahmani, 2012), ve které je popisován vliv kadmia na růst fazole. Zjištěno bylo snížení délky kořenů až o 83,9 % a snížení délky výhonků až o 66,3 %. Zároveň byl prezentován výsledek experimentu s různými druhy fazole, kdy se ukázala odlišná odolnost na stres kadmíem mezi jednotlivými genotypy fazole.



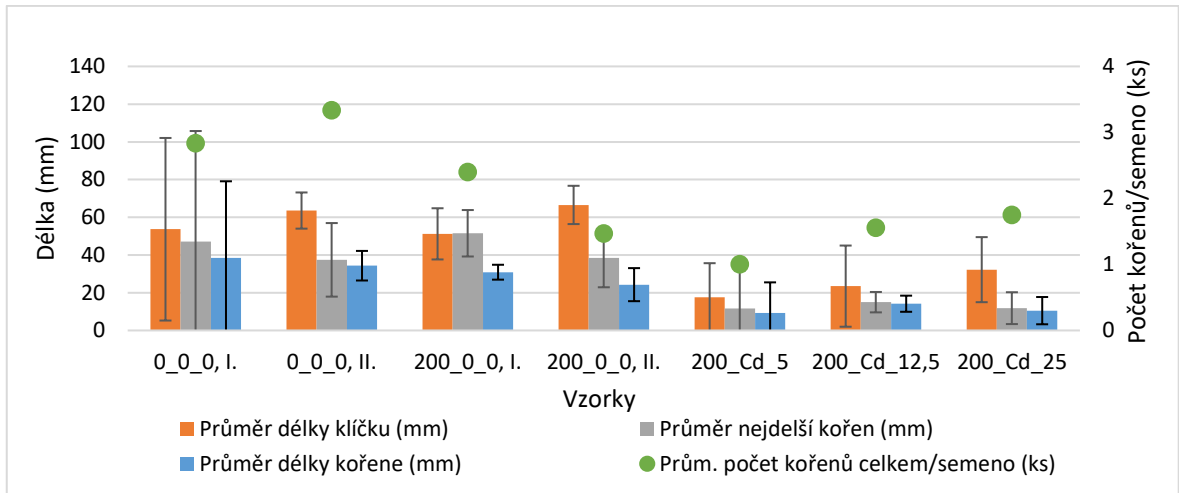
Obrázek 8 Vliv koncentrace kadmia na oves v prostředí bez ošetření KoH

9.2.3 Srovnání vlivu různých koncentrací kadmia při konstantní koncentraci KoH

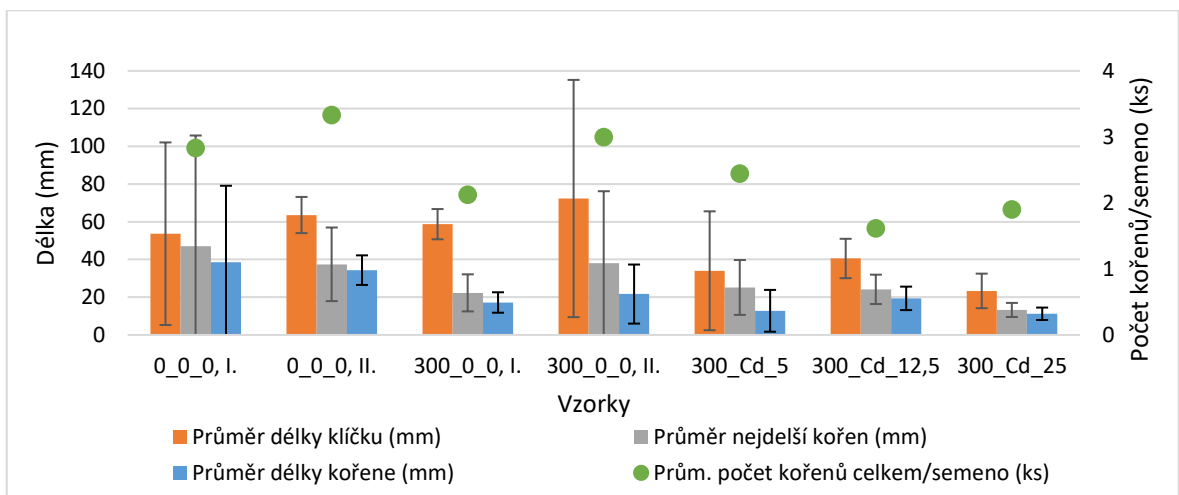
Na obr. 9 až 14 je zobrazen vliv různých koncentrací kadmia na semena ošetřená kolagenovým hydrolyzátem (KoH) o stejné koncentraci. Hlavní osa y (vlevo) udává délku části rostliny v milimetrech (mm), vedlejší osa y (vpravo) pak udává celkový počet kořenů na semeno vyjádřený v kusech (ks). Údaje o počtu kořenů na jedno semeno jsou na obrázcích níže znázorněny pouze orientačně bez uvedení rozptylu hodnot, z důvodu zachování přehlednosti obrázku. Detailnější informace k počtu kořenů/semeno jsou uvedeny v kap. 9.2.5.



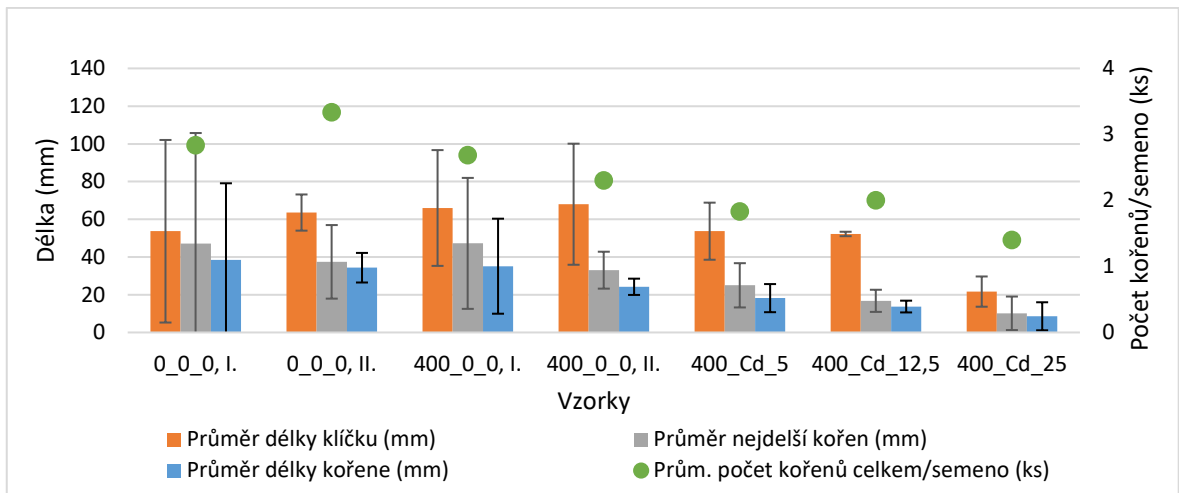
Obrázek 9 Vliv přidaného kadmia na oves při stejné koncentraci KoH – koncentrace KoH 100 mg/l



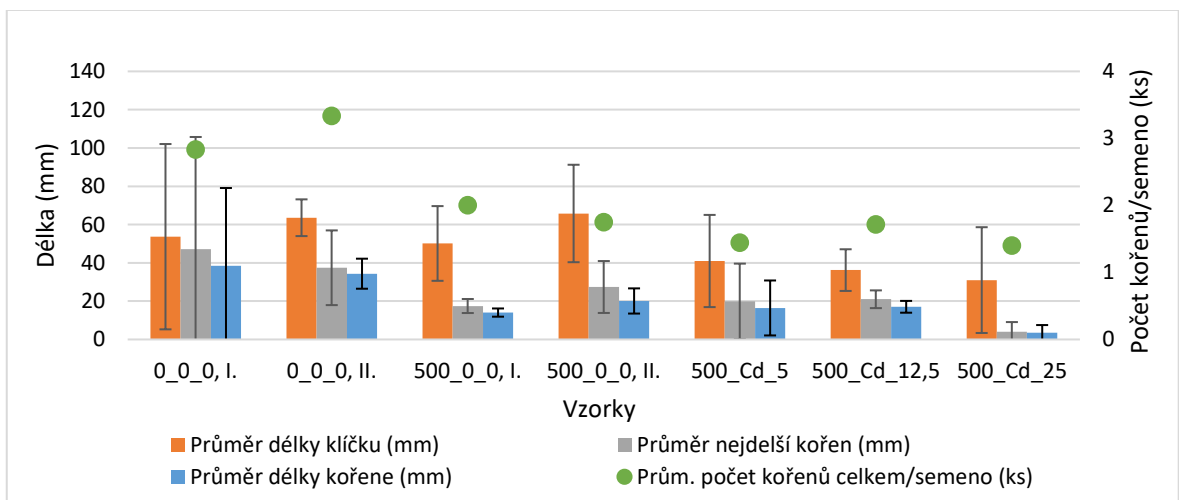
Obrázek 10 Vliv přidaného kadmia na oves při stejné koncentraci KoH – koncentrace KoH 200 mg/l



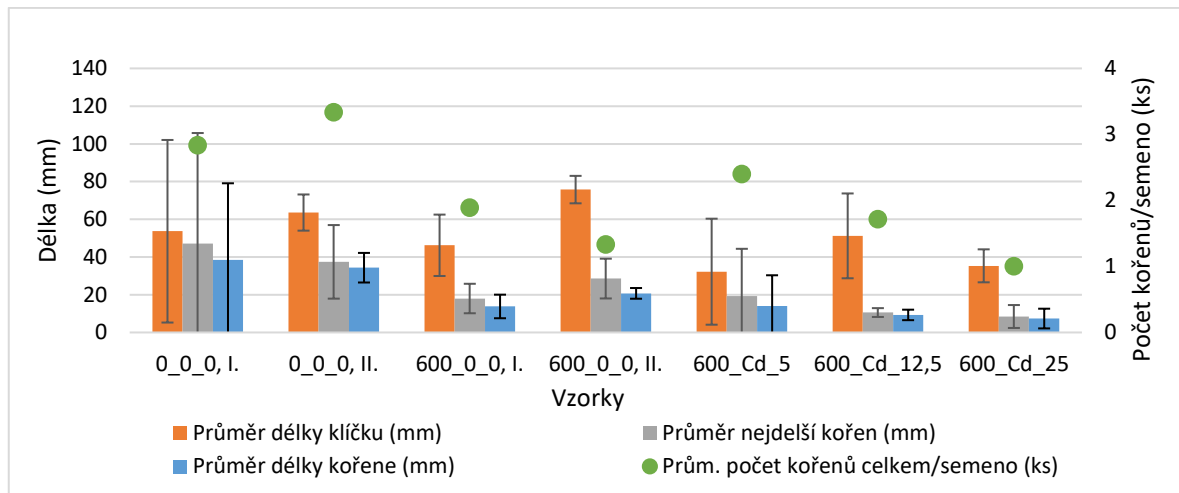
Obrázek 11 Vliv přidaného kadmia na oves při stejné koncentraci KoH – koncentrace KoH 300 mg/l



Obrázek 12 Vliv přidaného kadmia na oves při stejné koncentraci KoH – koncentrace KoH 400 mg/l



Obrázek 13 Vliv přidaného kadmia na oves při stejné koncentraci KoH – koncentrace KoH 500 mg/l



Obrázek 14 Vliv přidaného kadmia na oves při stejné koncentraci KoH – koncentrace KoH 600 mg/l

I přes přítomnost KoH byl zaznamenán inhibiční vliv kadmia na klíčivost a růst rostlin. Z obrázků č. 9 až 14 je zřejmé, že délka kořenů i klíčků se snižovala s rostoucí koncentrací kadmia v roztoku. V tomto experimentu byly všechny kořeny vzorků kratší než kořeny kontrolních vzorků. Nejkratší kořen měl vzorek ošetřený 100 mg/l KoH a 25 mg/l kadmia (100_Cd_25) a vzorek ošetřený 500 mg/l KoH a 25 mg/l kadmia (500_Cd_25). Negativní vliv Cd na růst a délku kořene byl významnější, než negativní vliv na délku klíčku.

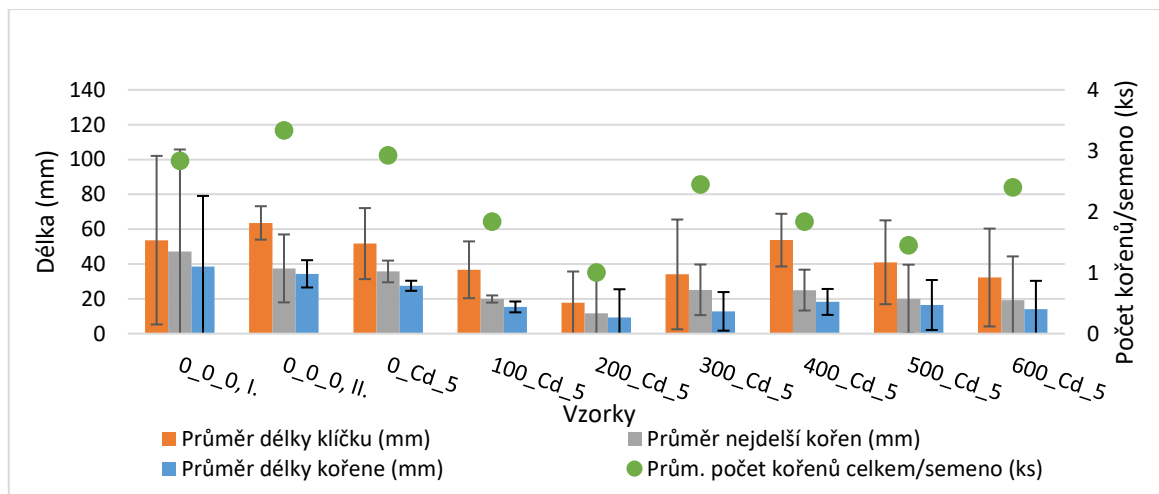
Nicméně v případě parametru délka klíčku se lze domnívat, že KoH v koncentracích 300 mg/l až 400 mg/l má jistý příznivý účinek (odhlédneme-li od velké směrodatné odchylky). Pro lepší názornost bylo v kapitole níže provedeno srovnání semen ošetřených různými koncentracemi KoH při zafixované hodnotě kadmia.

9.2.4 Srovnání vlivu různých koncentrací KoH při konstantní koncentraci kadmia

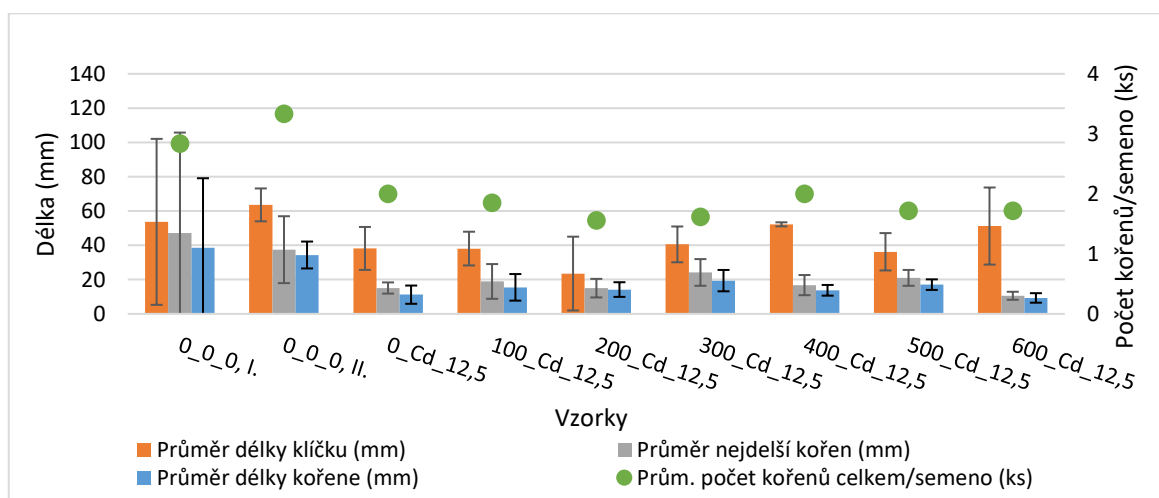
Na obr. 15 až 17 níže je zobrazený vliv různých koncentrací kadmia na semena ošetřená kolagenovým hydrolyzátem (KoH). Při tomto srovnání výsledků testů je již patrnější výše uvedená domněnka, že KoH má jistý pozitivní vliv na toleranci ovsa setého na kadmium. Nejvíce je to patrné u parametru průměrná délka klíčku. U vzorků ošetřených KoH a současně zatížených 5 mg/l kadmia je trend snižování délky klíčku u koncentrací 100 mg/l a 200 mg/l až o -65,8 % ($17,67 \text{ mm} \pm 18,01 \text{ mm}$) při porovnání se vzorkem bez ošetření KoH ($51,70 \text{ mm} \pm 20,39 \text{ mm}$); při koncentraci 300 mg/l a výše došlo k prodlužování klíčku, nejdelší klíčky byly naměřeny na vzorcích ošetřených 400 mg/l KoH, a to až o +3,8 % ($53,70 \text{ mm} \pm 15,14 \text{ mm}$) oproti vzorku bez ošetření kadmíem. U vzorků ošetřených KoH a

současně zatížených 12,5 mg/l kadmia je opět patrný trend snižování délky klíčku u koncentrací 100 mg/l a 200 mg/l až o -38,4 % (23,50 mm ± 21,52 mm) při porovnání se vzorkem bez ošetření KoH (38,17 mm ± 12,52 mm); při koncentraci 300 mg/l a více došlo k prodlužování klíčku a nejdelší klíčky byly naměřeny na vzorcích ošetřených 400 mg/l KoH a to až +36,8 % (52,22 ± 1,17 mm) oproti vzorku bez ošetření kadmiiem.

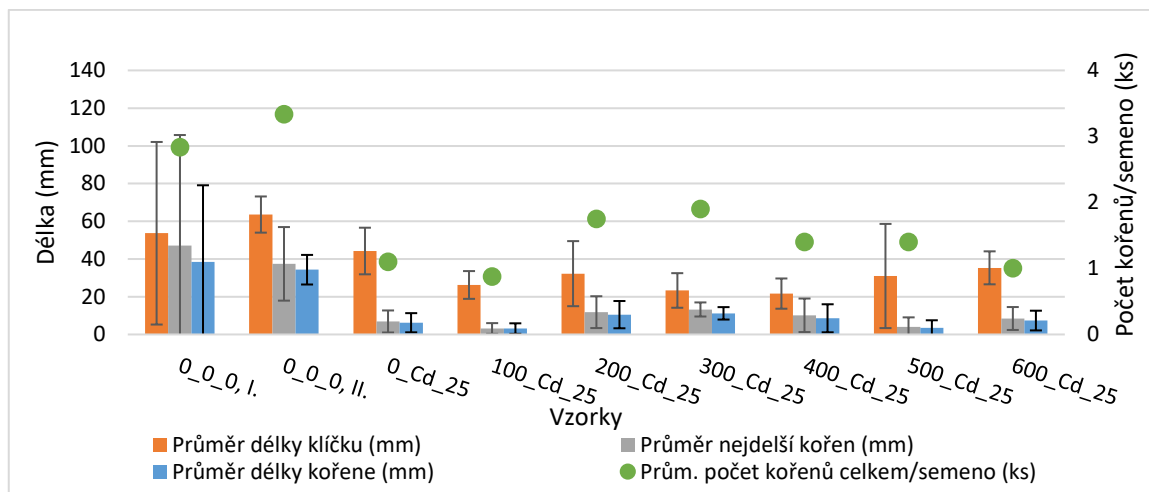
U vzorků ošetřených KoH a zatížených 25 mg/l kadmia se trend ve snižování délky klíčku k určité koncentraci KoH neprojevil, nicméně nejkratší klíček byl naměřen u koncentrace 400 mg/l KoH a to -51,1 % (21,67 mm ± 8,02 mm) při porovnání se vzorkem bez ošetření KoH (44,25 ± 12,36 mm); a nejdelší klíček byl naměřen u koncentrace 600 mg/l -20,16 % (35,33 ± 8,74 mm) při porovnání se vzorkem bez ošetření KoH.



Obrázek 15 Vliv různých koncentrací KoH při koncentraci 5 mg/l kadmia



Obrázek 16 Vliv různých koncentrací KoH při koncentraci 12,5 mg/l kadmia



Obrázek 17 Vliv různých koncentrací KoH při koncentraci 25 mg/l kadmia

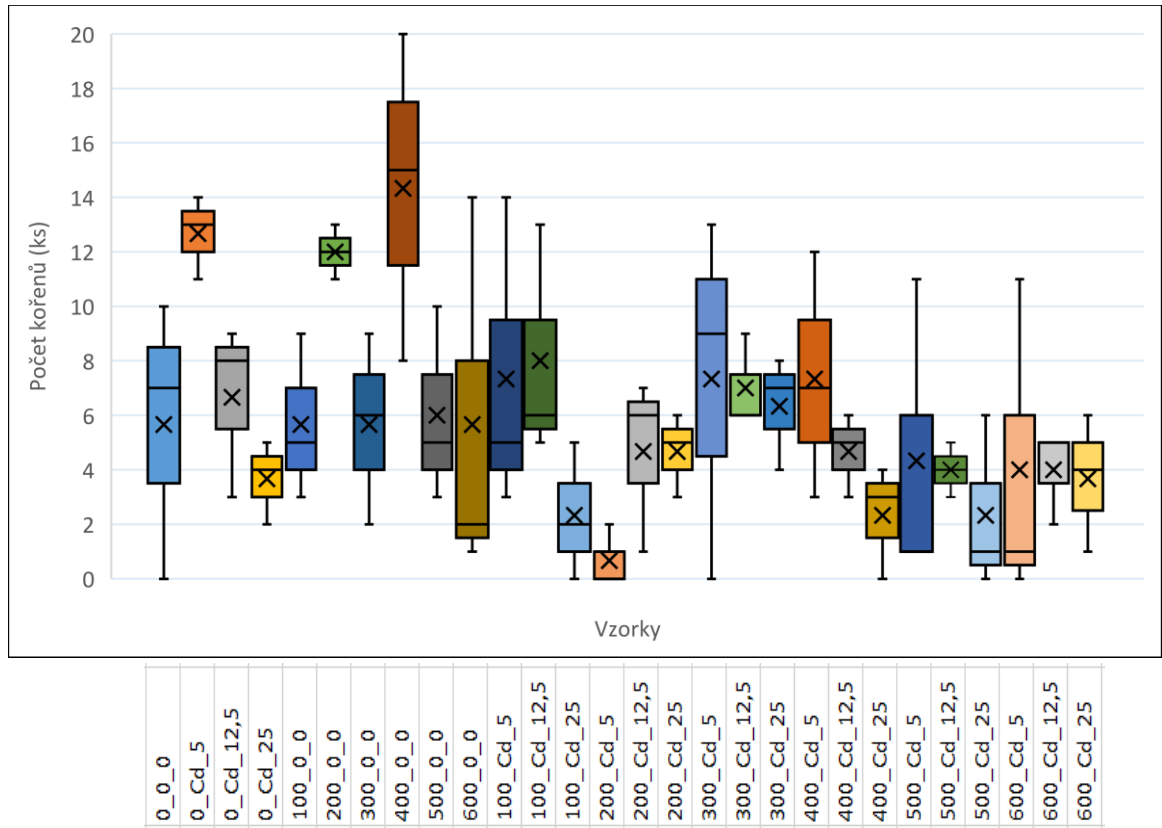
Jistý trend lze ale pozorovat i u parametru průměrný celkový počet kořenů připadající na jedno semeno, a proto je v rámci kapitoly níže tento parametr podrobněji diskutován.

9.2.5 Vliv aplikovaných roztoků na počet kořenů

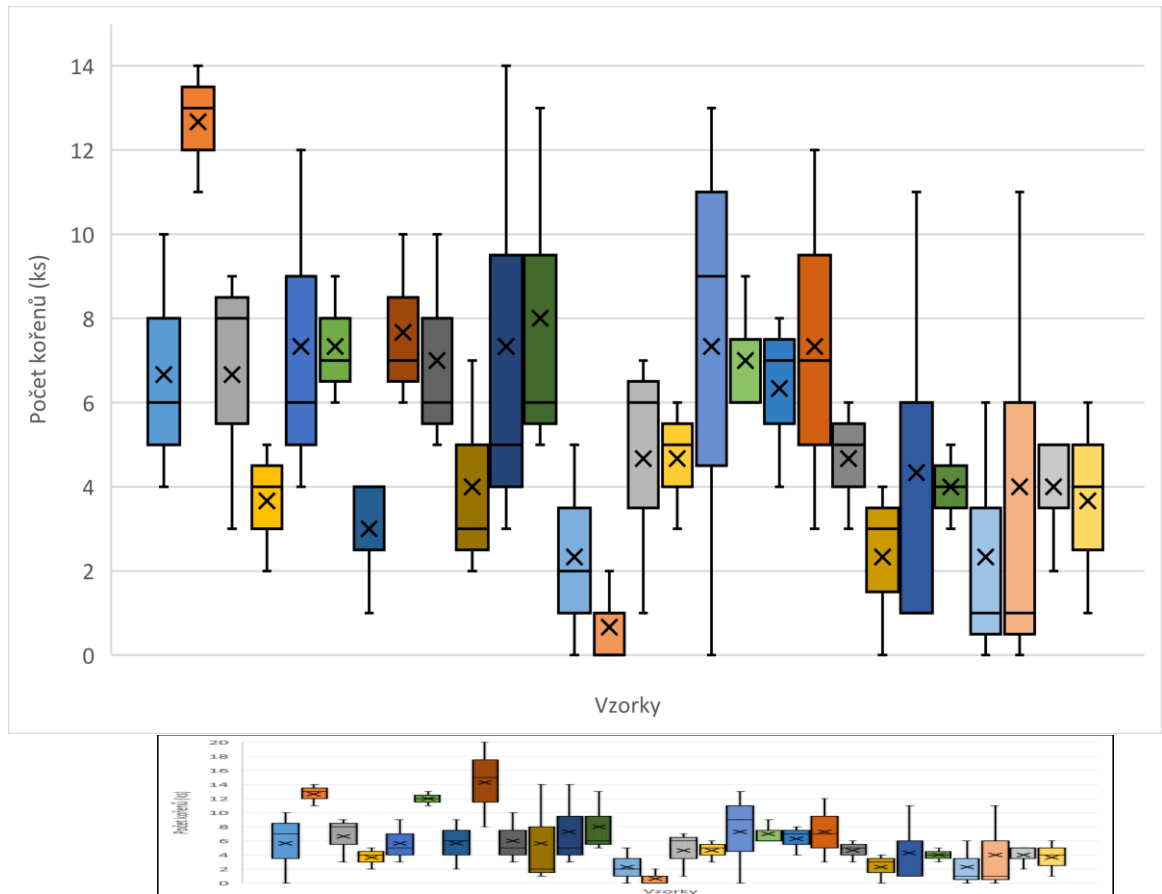
Na obr. 18 a 19 je podrobně znázorněn parametr průměrný počet kořenů vyjádřený jako celkový připadající na jedno semeno formou krabicového grafu, kde je prezentován průměr, medián a minimální a maximální naměřená hodnota.

Analýza počtu kořenů v obou testech ukázala očekávaný inhibiční vliv kadmia na počet kořenů. Nejnižší počet kořenů měly v obou testech vzorky s koncentrací 25 mg/l kadmia. Naopak v obou testech je naznačený jistý progres v počtu kořenů u vzorků s roztokem 5 mg/l kadmia za současného ošetření roztokem KoH. Vzorek s roztokem 5 mg/l kadmia bez KoH tento trend nevykázal.

Pro lepší přehlednost jsou v tabulkách uvedeny údaje z testu I. i testu II. samostatně.



Obrázek 18 Vliv KoH a Cd na počet kořenů test I.



Obrázek 19 Vliv KoH a Cd na počet kořenů test II.

9.3 Stanovení obsahu kadmia v biomase ovsa setého (*Avena sativa*)

Ve vybraných vzorcích, byl stanoven obsah kadmia. Vzorky k analýze byly vybrány podle plánovaného experimentu (DOE – faktoriální plán, dvouúrovňový). Získané výsledky (tab. 2) však nebylo možno tímto způsobem vyhodnotit. V průběhu analýzy a po zpracování výsledků stanovení pomocí AAS se ukázalo, že kadmium ulpěle na povrchu rostlin nebylo v průběhu přípravy vzorků důkladně odstraněno, neboť pro vzorky s výrazně rozdílnou koncentrací kadmia bylo dosaženo srovnatelných hodnot. Nelze tak rozlišit, zda-li došlo k akumulaci nebo k sorpci kadmia na povrchu biomasy ovsa setého.

Pokud jsou srovnány hodnoty obsahu kadmia u vzorku 600_Cd_0 a vzorku 600_Cd_5, lze se domnívat, že došlo k tvorbě komplexu mezi KOH a kadmium a v důsledku toho došlo k lepšímu odstranění kadmia z povrchu rostlin.

Tabulka 2 Obsah kadmia v biomase sušiny ovsa setého

Označení vzorku	Testované prostředí		Obsah Cd v biomase (mg/g sušiny)
	obsah KOH (mg/l)	obsah Cd (mg/l)	
0_0_0	0	0	< ND*
600_0_0	600	0	< ND*
600_Cd_5	600	5	0,129
300_Cd_12,5	300	12,5	0,059
0_Cd_25	0	25	0,233
600_Cd_25	600	25	0,193

* pod detekčním limitem

ZÁVĚR

Na základě naměřených dat lze konstatovat, že ošetření semen ovsa setého (*Avena sativa*) kolagenovým hydrolyzátem má pozitivní vliv na růst prvního klíčku i na růst kořenů, což potvrzuje, že kolagenový hydrolyzát může být účinným nástrojem pro zlepšení růstu rostlin. Nicméně vzhledem k nízké klíčivosti semen v laboratorních testech je vhodné v budoucnu provést další testy pro potvrzení těchto výsledků.

Negativní vliv kadmia na klíčivost a růst rostlin byl v souladu s obecně dostupnými informacemi. Čím vyšší byla koncentrace kadmia, tím vyšší byl inhibiční vliv především na kořeny. Stejný závěr je uveden například v práci od Moosavi, S. A., a kol., z roku 2012.

Výsledky ukázaly, že přídavek KoH by mohl mít pozitivní vliv na růst ovsa setého (*Avena sativa*), který byl vystaven kadmiovým iontům. Vysoké dávky kadmia měly negativní vliv na růst rostlin, ale přídavek kolagenového hydrolyzátu by mohl zmírnit tyto negativní účinky.

Pro podporu růstu podzemních i nadzemních částí ovsa setého (*Avena sativa*) lze, na základě výše uvedených dat, zvolit ošetření semen kolagenovým hydrolyzátem (KoH) o koncentrací 400 mg/l dle testu I. (klíček byl delší o 18,6 % a nejdelší kořen a průměrný počet kořenů byl ve shodě s kontrolním vzorkem); popř. podle údajů z testu II. ošetření KoH o koncentraci 300 mg/l (klíček byl delší o 12,1 % a nejdelší kořen a průměrný počet kořenů byl ve shodě s kontrolním vzorkem).

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ANSARI, A.A., Gill S.S., Gill R., Lanza G.R., Newman L., 2017. *Phytoremediation: Management of Environmental Contaminants, Volume 5*. 1 - 514. ISBN 9783319523811.

Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-52381-1

BAHMANI, R., 2012. *Effect of cadmium chloride on growth parameters of different bean genotypes (Phaseolus vulgaris L.)* [online]. [cit. 2023-05-16]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/285677403_Effect_of_cadmium_chloride_on_growth_parameters_of_different_bean_genotypes_Phaseolus_vulgaris_L. Islamic Azad University, Karaj, Iran.

BALDASSARRE ŠVECOVÁ, E. a a kol., 2018. *Biostimulanty rostlin: Výzkum biostimulantů rostlin a jejich vlivu na symbiotické mikroorganismy. In: Botanický ústav AV ČR* [online]. [cit. 2023-05-16]. Dostupné z: <https://www.ibot.cas.cz/cs/biostimulanty-rostlin/>

BOOMINATHAN, R., 2003. *Cadmium tolerance and antioxidative defenses in hairy roots of the cadmium hyperaccumulator, Thlaspi caerulescens. Biotechnology and Bioengineering* [online]. 83, 158-167 [cit. 2023-05-16]. ISSN 10970290. Dostupné z: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsair&an=edsair.doi.....75068ebdff42abe1e02b332e789900e2&scope=site>

BREZINOVÁ, J., 2020. *Stanovení ekotoxických vlivů produktů získaných z bilkoviných odpadů na vyšší rostliny*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 113 s. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/48620>.

CUNNINGHAM, S., BRETI, W. a HUANG J., 1995. *Phytoremediation of contaminated soils. Trends in Biotechnology* [online]. 13, 393-397 [cit. 2023-05-16]. ISSN 01677799.

Dostupné

z:

<https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsair&an=edsair.doi.....dc07190a34934a813b74ebfae8b95a7d&scope=site>

EBRAHIMI, A., 2012. *Effects of Some Heavy Metals on Seed Germination Characteristics of Canola (Barassica napus), Wheat (Triticum aestivum) and Safflower (Carthamus tinctorious) to Evaluate Phytoremediation Potential of These Crops. Journal of Agricultural Science* [online]. 4(9), 1137-1150 [cit. 2023-05-16]. ISSN 19169752.

Dostupné z: doi:10.5539/jas.v4n9p11

FITRIYAH, F., KRESNAWATY I. a SANTOSO D., 2022. *Protein hydrolysates enhance germination and early growth of maize and sugarcane*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* [online]. 974(1) [cit. 2023-05-16]. ISSN 17551315. Dostupné z: doi:10.1088/1755-1315/974/1/012066

JAIN, B. M. a BADVE, M. P., 2022. *A novel process for synthesis of soybean protein hydrolysates and study of its effectiveness as a biostimulant and emulsifier*. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification* [online]. 174 [cit. 2023-05-16]. ISSN 02552701. Dostupné z: doi:10.1016/j.cep.2022.108880

LISIECKA, J. KNAFLEWSKI, M.; SPIZEWSKI, T.; FRĄSZCZAK, B.; KAŁUZEWICZ, A.; KRZESIŃSKI, W., 2011. *The effect of animal protein hydrolysate on quantity and quality of strawberry daughter plants cv. 'Elsanta'*. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus* [online]. 10(1), 31 - 40 [cit. 2023-05-16]. ISSN 16440692. Dostupné z: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edselc&an=edselc.2-52.0-79953009363&scope=site>

MCGRATH, S. P. a F.ZHAO, 2003. *Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils*. *Current Opinion in Biotechnology* [online]. 14(3), 277-282 [cit. 2023-05-16]. ISSN 09581669. Dostupné z: doi:10.1016/S0958-1669(03)00060-0

MOKREJŠ, P., GÁL, R., PAVLAČKOVÁ, J., JANÁČOVÁ, D., MRÁZEK, P., 2019. *Využití vedlejších kolagenních produktů z porážky drůbeže k přípravě želatin a hydrolyzátů* [online]. [cit. 2023-05-16]. ISSN edsoaiOpen. Dostupné z: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsoai&an=edsoai.on1359202248&scope=site>

MOOSAVI, S. A., 2012. *Effects of Some Heavy Metals on Seed Germination Characteristics of Canola (Barassica napus), Wheat (Triticum aestivum) and Safflower (Carthamus tinctorious) to Evaluate Phytoremediation Potential of These Crops*. *Journal of Agricultural Science* [online]. 4(9), 1137-1150 [cit. 2023-05-18]. ISSN 19169752. Dostupné z: doi:10.5539/jas.v4n9p11

RAGURAJ, S. a kol., 2022. *Influence of chicken feather waste derived protein hydrolysate on the growth of tea plants under different application methods and fertilizer rates*. *Environmental Science and Pollution Research* [online]. 1-12 [cit. 2023-05-16]. ISSN 09441344. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-022-24758-z

RICHTER, R., 2004. ŽIVINNÝ REŽIM PŮD [online]. In: . Ústav agrochemie a výživy rostlin, MZLU v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno: Ústav agrochemie a výživy rostlin, MZLU v Brně, s. 1 [cit. 2023-05-16]. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/agrochemie_pudy/zivinny_rezim.htm

ROUPHAEL, Y. et al., 2021. *Vegetal-protein hydrolysates based microgranule enhances growth, mineral content, and quality traits of vegetable transplants. Scientia Horticulturae* [online]. 290 [cit. 2023-05-16]. ISSN 03044238. Dostupné z: [doi:10.1016/j.scienta.2021.110554](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110554)

SOUBASAKOU, G., CAVOURA O. a DAMIKOUKA, I., 2022. *Phytoremediation of Cadmium-Contaminated Soils: A Review of New Cadmium Hyperaccumulators and Factors Affecting their Efficiency. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* [online]. 109, 783-787 [cit. 2023-05-16]. ISSN 14320800. Dostupné z: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsair&an=edsair.doi.....b2fb6bcc240d5a1ce54f9c904df9e30b&scope=site>

STINGU, A. a kol., 2012. *New approaches concerning the utilization of natural amendments in cadmium phytoremediation. Industrial Crops* [online]. 35(1), 53-60 [cit. 2023-05-16]. ISSN 09266690. Dostupné z: [doi:10.1016/j.indcrop.2011.06.005](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.06.005)

SUN, R., ZHOU, Q. a JIN, C., 2006. *Cadmium accumulation in relation to organic acids in leaves of Solanum nigrum L. as a newly found cadmium hyperaccumulator. Plant and Soil* [online]. 285(1/2), 125 [cit. 2023-05-16]. ISSN 0032079X. Dostupné z: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsjsr&an=edsjsr.24125374&scope=site>

SZOPA, D. a kol., 2023. *Evaluation of Tenebrio molitor protein hydrolysates as biostimulants improving plants growth and root architecture. Journal of Cleaner Production* [online]. 401 [cit. 2023-05-16]. ISSN 09596526. Dostupné z: [doi:10.1016/j.jclepro.2023.136812](https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.136812)

WANG, W. a kol., 2022. *Seed priming with protein hydrolysate promotes seed germination via reserve mobilization, osmolyte accumulation and antioxidant systems under PEG-induced drought stress. Plant Cell Reports* [online]. 41(11), 2173-2186 [cit. 2023-05-16]. ISSN 07217714. Dostupné z: [doi:10.1007/s00299-022-02914-6](https://doi.org/10.1007/s00299-022-02914-6)

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AAS Atomové absorpční spektrometrie

Cd Kadmium

DOE Plánování experimentu

KoH Kolagenový hydrolyzát

ND Není detekováno

PM Petriho miska

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Druhy fytořemediace (Ansari, 2017)	14
Obrázek 2 Schéma zpracování kuřecích běháků na želatiny a hydrolyzáty I. jakosti a hydrolyzáty II. jakosti (převzato a upraveno, Mokrejš, 2019).....	18
Obrázek 3 Stanovení kadmia – kalibrační křivka pro analýzu první sady vzorků, bez obsahu kadmia.....	28
Obrázek 4 Stanovení kadmia – kalibrační křivka pro analýzu druhé sady vzorků, s obsahem kadmia.....	29
Obrázek 5 Fotografie – Screeningový test klíčivosti (foto Michalisková, 2023).....	30
Obrázek 6 Fotografie – test klíčivosti, část připravených vzorků oves setý (<i>Avena sativa</i>) (foto Michalisková, 2023)	31
Obrázek 7 Vliv koncentrace KoH na oves setý v prostředí bez přidaného Cd.....	33
Obrázek 8 Vliv koncentrace kadmia na oves v prostředí bez ošetření KoH	34
Obrázek 9 Vliv přidaného kadmia na oves při stejné koncentraci KoH – koncentrace KoH 100 mg/l.....	34
Obrázek 10 Vliv přidaného kadmia na oves při stejné koncentraci KoH – koncentrace KoH 200 mg/l.....	35
Obrázek 11 Vliv přidaného kadmia na oves při stejné koncentraci KoH – koncentrace KoH 300 mg/l.....	35
Obrázek 12 Vliv přidaného kadmia na oves při stejné koncentraci KoH – koncentrace KoH 400 mg/l.....	36
Obrázek 13 Vliv přidaného kadmia na oves při stejné koncentraci KoH – koncentrace KoH 500 mg/l.....	36
Obrázek 14 Vliv přidaného kadmia na oves při stejné koncentraci KoH – koncentrace KoH 600 mg/l.....	37
Obrázek 15 Vliv různých koncentrací KoH při koncentraci 5 mg/l kadmia	38
Obrázek 16 Vliv různých koncentrací KoH při koncentraci 12,5 mg/l kadmia	38
Obrázek 17 Vliv různých koncentrací KoH při koncentraci 25 mg/l kadmia	39
Obrázek 18 Vliv KoH a Cd na počet kořenů test I.	40
Obrázek 19 Vliv KoH a Cd na počet kořenů test II.	40

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Stanovené maximální limity obsahu sledovaných toxických kovů, které může obsahovat vzorek půdy v podopatření integrované produkce ovoce a integrovaná produkce zeleniny a jahodníku, uvedené v příloze 4; 75/2015 Sb.	21
Tabulka 2 Obsah kadmia v biomase sušiny ovsa setého	41

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: naměřené Hodnoty Částí rostlin ovsa setého, test I., koncentrace KOH - 0 až 300 mg/l	50
Příloha P II: naměřené Hodnoty Částí rostlin ovsa setého, test I., koncentrace KOH - 400 až 600 mg/l	51
Příloha P III: naměřené Hodnoty Částí rostlin ovsa setého, test II., koncentrace KOH - 0 až 600 mg/l	52
Příloha P IV: Hodnoty pro počet kořenů na semeno ovsa setého, test I.	53
Příloha P V: Hodnoty pro počet kořenů na semeno ovsa setého, test II.	54

**PŘÍLOHA P I: NAMĚŘENÉ HODNOTY ČÁSTÍ ROSTLIN OVSA
SETÉHO, TEST I., KONCENTRACE KOH - 0 A 300 MG/L**

Číslo testu	Označení vzorku	Průměr délky kořene (mm)	Průměr délky klíčku (mm)	Průměr nejdelší kořen (mm)	Prům. počet kořenů celkem/ semen o (ks)	SD kořen	SD klíček	SD nejdelší kořen	SD počet kořenů
I.	0_0_0, I.	38,49	53,67	47,11	2,83	40,60	48,40	58,63	5,13
I.	0_Cd_5	27,48	51,70	35,72	2,92	2,90	20,39	6,23	1,53
I.	0_Cd_12,5	11,21	38,17	15,08	2,00	5,32	12,52	3,26	3,21
I.	0_Cd_25	6,22	44,25	6,89	1,10	5,08	12,36	5,85	1,53
I.	100_0_0, I.	19,65	59,83	45,83	2,13	9,14	10,20	19,77	3,06
I.	100_Cd_5	15,35	36,66	19,88	1,83	3,12	16,32	2,06	5,86
I.	100_Cd_12,5	15,48	38,08	18,92	1,85	7,76	9,83	10,13	4,36
I.	100_Cd_25	3,13	26,25	3,17	0,88	2,79	7,36	2,84	2,52
I.	200_0_0, I.	30,89	51,23	51,53	2,40	3,94	13,58	12,31	1,00
I.	200_Cd_5	9,33	17,67	11,67	1,00	16,17	18,01	20,21	1,15
I.	200_Cd_12,5	14,18	23,50	15,00	1,56	4,27	21,52	5,41	3,21
I.	200_Cd_25	10,51	32,25	11,83	1,75	7,23	17,25	8,43	1,53
I.	300_0_0, I.	17,19	58,72	22,31	2,13	5,41	8,01	9,83	3,51
I.	300_Cd_5	12,79	34,02	25,18	2,44	11,08	31,53	14,54	6,66
I.	300_Cd_12,5	19,39	40,53	24,17	1,62	6,22	10,43	7,78	1,73
I.	300_Cd_25	11,21	23,33	13,25	1,90	3,29	9,17	3,73	2,08

**PŘÍLOHA P II: NAMĚŘENÉ HODNOTY ČÁSTÍ ROSTLIN OVSA
SETÉHO, TEST I., KONCENTRACE KOH - 400 A 600 MG/L**

Číslo testu	Označení vzorku	Průměr délky kořene (mm)	Průměr délky klíčku (mm)	Průměr nejdelší kořen (mm)	Prům. počet kořenů celkem/semeno (ks)	SD kořen	SD klíček	SD nejdelší kořen	SD počet kořenů
I.	400_0_0, I.	35,14	66,00	47,23	2,69	25,19	30,69	34,72	6,03
I.	400_Cd_5	18,21	53,70	25,00	1,83	7,46	15,14	11,73	4,51
I.	400_Cd_1 2,5	13,74	52,22	16,78	2,00	3,12	1,17	5,87	1,53
I.	400_Cd_2 5	8,58	21,67	10,17	1,40	7,43	8,02	8,89	2,08
I.	500_0_0, I.	14,04	50,13	17,47	2,00	2,14	19,51	3,66	3,61
I.	500_Cd_5	16,45	40,97	19,86	1,44	14,35	24,08	19,74	5,77
I.	500_Cd_1 2,5	17,06	36,22	21,00	1,71	3,08	10,88	4,63	1,00
I.	500_Cd_2 5	3,47	31,00	4,06	1,40	4,05	27,62	5,02	3,21
I.	600_0_0, I.	13,79	46,22	17,00	1,89	6,26	16,28	7,81	7,23
I.	600_Cd_5	13,98	32,22	12,00	2,40	16,34	28,10	25,14	6,08
I.	600_Cd_1 2,5	9,30	51,22	12,00	1,71	2,78	22,49	2,34	1,73
I.	600_Cd_2 5	7,38	35,33	11,00	1,00	5,23	8,74	6,07	2,52

**PŘÍLOHA P III: NAMĚŘENÉ HODNOTY ČÁSTÍ ROSTLIN OVSA
SETÉHO, TEST II., KONCENTRACE KOH – 0 AŽ 600 MG/L**

Číslo testu	Označení vzorku	Průměr délky kořene (mm)	Průměr délky klíčku (mm)	Průměr nejdelší kořen (mm)	Prům. počet kořenů celkem/semeno (ks)	SD kořen	SD klíček	SD nej. kořen	SD počet kořenů
II.	0 _{II.} 0 _{II.} 0 _{II.}	34,34	63,58	37,44	3,33	7,84	9,59	19,51	3,06
II.	100 _{II.} 0 _{II.} 0 _{II.}	24,40	66,87	37,29	2,75	7,20	5,75	15,09	4,16
II.	200 _{II.} 0 _{II.} 0 _{II.}	24,29	66,56	38,42	1,47	8,76	10,15	15,51	1,53
II.	300 _{II.} 0 _{II.} 0 _{II.}	21,67	72,33	38,00	3,00	15,66	62,88	38,20	1,73
II.	400 _{II.} 0 _{II.} 0 _{II.}	24,21	68,00	33,03	2,30	4,31	32,11	9,79	2,08
II.	500 _{II.} 0 _{II.} 0 _{II.}	20,10	65,79	27,39	1,75	6,57	25,45	13,55	2,65
II.	600 _{II.} 0 _{II.} 0 _{II.}	20,73	75,75	28,58	1,33	2,83	7,28	10,55	2,65

**PŘÍLOHA P IV: HODNOTY PRO POČET KOŘENŮ NA SEMENO
OVSA SETÉHO, TEST I.**

Vzorek, test I.	Počet kořenů PM1	Počet kořenů PM2	Počet kořenů PM3	Min. počet kořenů (ks)	Max. počet kořenů (ks)	Průměr počtu kořenů (ks)	Medián počtu kořenů (ks)
0_0_0	7	10	0	0	10	5,67	7
0_Cd_5	14	11	13	11	14	12,67	13
0_Cd_12,5	3	9	8	3	9	6,67	8
0_Cd_25	5	4	2	2	5	3,67	4
100_0_0	5	3	9	3	9	5,67	5
200_0_0	13	12	11	11	13	12,00	12
300_0_0	9	2	6	2	9	5,67	6
400_0_0	20	15	8	8	20	14,33	15
500_0_0	5	3	10	3	10	6,00	5
600_0_0	2	14	1	1	14	5,67	2
100_Cd_5	5	14	3	3	14	7,33	5
100_Cd_12, 5	13	5	6	5	13	8,00	6
100_Cd_25	0	2	5	0	5	2,33	2
200_Cd_5	2	0	0	0	2	0,67	0
200_Cd_12, 5	6	1	7	1	7	4,67	6
200_Cd_25	6	5	3	3	6	4,67	5
300_Cd_5	0	9	13	0	13	7,33	9
300_Cd_12, 5	9	6	6	6	9	7,00	6
300_Cd_25	8	4	7	4	8	6,33	7
400_Cd_5	3	7	12	3	12	7,33	7
400_Cd_12, 5	6	3	5	3	6	4,67	5
400_Cd_25	3	0	4	0	4	2,33	3
500_Cd_5	11	1	1	1	11	4,33	1
500_Cd_12, 5	5	4	3	3	5	4,00	4
500_Cd_25	6	0	1	0	6	2,33	1
600_Cd_5	0	11	1	0	11	4,00	1
600_Cd_12, 5	5	5	2	2	5	4,00	5
600_Cd_25	4	6	1	1	6	3,67	4

**PŘÍLOHA P V: HODNOTY PRO POČET KOŘENŮ NA SEMENO
OVSA SETÉHO, TEST II.**

Test II.	Počet kořenů PM1	Počet kořenů PM2	Počet kořenů PM3	Min. počet kořenů (ks)	Max. počet kořenů (ks)	Průměr počtu kořenů (ks)	Medián počtu kořenů (ks)
0_0_0	10	6	4	4	10	6,67	6
0_Cd_5	14	11	13	11	14	12,67	13
0_Cd_12,5	3	9	8	3	9	6,67	8
0_Cd_25	5	4	2	2	5	3,67	4
100_0_0	12	6	4	4	12	7,33	6
200_0_0	9	7	6	6	9	7,33	7
300_0_0	4	1	4	1	4	3,00	4
400_0_0	7	10	6	6	10	7,67	7
500_0_0	5	6	10	5	10	7,00	6
600_0_0	2	3	7	2	7	4,00	3
100_Cd_5	5	14	3	3	14	7,33	5
100_Cd_12,5	13	5	6	5	13	8,00	6
100_Cd_25	0	2	5	0	5	2,33	2
200_Cd_5	2	0	0	0	2	0,67	0
200_Cd_12,5	6	1	7	1	7	4,67	6
200_Cd_25	6	5	3	3	6	4,67	5
300_Cd_5	_	9	13	9	13	11,00	11
300_Cd_12,5	9	6	6	6	9	7,00	6
300_Cd_25	8	4	7	4	8	6,33	7
400_Cd_5	3	7	12	3	12	7,33	7
400_Cd_12,5	6	3	5	3	6	4,67	5
400_Cd_25	3	0	4	0	4	2,33	3
500_Cd_5	11	1	1	1	11	4,33	1
500_Cd_12,5	5	4	3	3	5	4,00	4
500_Cd_25	6	0	1	0	6	2,33	1
600_Cd_5	0	11	1	0	11	4,00	1
600_Cd_12,5	5	5	2	2	5	4,00	5
600_Cd_25	4	6	1	1	6	3,67	4

