

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

---

**Studijní program:** N4101 Zemědělské inženýrství  
**Studijní obor:** Agroekologie  
**Katedra:** Katedra biologických disciplín  
**Vedoucí katedry:** doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Studium alelopatických vlastností druhů rodu netýkavka (*Impatiens* L.)**

**Vedoucí diplomové práce:** RNDr. Naděžda Vrchotová, CSc.  
**Konzultanti diplomové práce:** RNDr. Božena Šerá, Ph.D.  
Ing. Karel Suchý, Ph.D.

**Autor:** Jana Krejčová

České Budějovice, duben 2009

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
Zemědělská fakulta  
Katedra biologických disciplin  
Akademický rok: 2006/2007

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Jana KREJČOVÁ**  
Studijní program: **N4101 Zemědělské inženýrství**  
Studijní obor: **Agroekologie**

Název tématu: **Studium alelopatických vlastností druhů rodu netýkavka  
(*Impatiens* L.)**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

**Cíle:** Otestovat alelochemické vlastnosti extraktů z různých částí rostlin metodou klíčivosti semen na vybraných druzích významných plevelů a na hořčici bílé.

**Anotace:** Všechny tři druhy netýkavek (*Impatiens* L.) obsahují řadu sekundárních metabolitů ze skupiny fenolických látek, např. naftochinony. Tyto látky se řadí mezi alelochemikálie, mohou ovlivňovat klíčivost a růst jiných rostlin. Extrakty z netýkavek (listy, kořeny) a jejich frakce tedy mohou negativním způsobem ovlivnit klíčivost a růst vybraných plevelných druhů. Poznatky o alelochemickém působení netýkavek na jiné rostliny mohou mít významný dopad na ekologizaci zemědělství při zavádění alternativních herbicidů.

**Metody:** Práce v terénu při sběru listů a kořenů netýkavek a při sběru semen plevelů. Příprava rostlinných extraktů. Testování vlivu extraktů připravených z netýkavek na klíčivost semen. Nejúčinnější extrakty analyzovat metodou vysokotlaké kapalinové chromatografie (HPLC). Vyhodnotit získaná data ve standardizovaném programu STATISTICA.

Rozsah grafických prací: **obrazové přílohy a tabulky**  
Rozsah pracovní zprávy: **30-50 str.**  
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**  
Seznam odborné literatury: **viz příloha**

Vedoucí diplomové práce: **RNDr. Naděžda Vrchotová, CSc.**  
Ústav systémové biologie AV  
Konzultant diplomové práce: **Ing. Karel Suchý, Ph.D.**  
Katedra biologických disciplin  
Ostatní konzultanti: **RNDr. Božena Šerá, Ph.D.**  
Ústav systémové biologie a ekologie AVČR

Datum zadání diplomové práce: **16. února 2007**  
Termín odevzdání diplomové práce: **30. dubna 2008**

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA  
studijní oddělení ④  
Studentská 13  
370 05 České Budějovice

  
prof. Ing. Martin Křížek, CSc.  
děkan

L.S.

  
doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 16. února 2007

## Příloha zadání diplomové práce

Seznam odborné literatury:

**Harborne, J.B. (1993).** *Introduction to Ecological Biochemistry.* Academic Press.

**Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharm. Therap.* 96: 67-202.

**Hierro, J.L., Callaway, R.M. (2003).** Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant and Soil*, 256: 29-39.

**Klejdus, B., Kubáň, V. (1999).** Rostlinné fenoly v allelopatii. *Chem. Listy*, 93: 243-248.

**Kobayashi K. 2004:** Factors affecting phytotoxic activity of allelochemicals in soil. *Weed Biology and Management* 4, 1-7

**Lobstein, A., Brenne, X., Feist, E., Metz, N., Weniger, B. Anton, R. 2001.** Quantitative Determination of Naphthoquinones of *Impatiens* Species. *Phytochemical Analysis*, (12): 202-205.

**Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů, MŽP ČR, Praha 2003 STATISTICA (1999).** *A comprehensive system for statistics, graphics, and application development.*

**Panichayupakanant, P., Noguchi, H., Deeknamkul, W. Sankawa, U. 1995.** Naphthoquinones and coumarins from *Impatiens balsamina* root cultures. *Phytochemistry*, 40(4): 1141-1143.

**Pietta, P.G. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63: 1035-1042.

**Procházka S. a kol. 1998:** *Fyziologie rostlin*, Academia Praha

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně na základě vlastních zjištění a materiálů uvedených v seznamu citované literatury.

Souhlasím, aby práce byla uložena v informačním systému IS/STAG a v knihovně Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích a zpřístupněna ke studijním účelům.

.....

V Českých Budějovicích dne 20.dubna 2009

Poděkování patří především vedoucí práce RNDr. Naděždě Vrchotové, CSc. a hlavní konzultantce RNDr. Boženě Šeré, Ph.D., za cenné rady a odborné vedení při zpracování diplomové práce, za velkou ochotu, vstřícnost a za vytvoření přátelské atmosféry na pracovišti. Dále bych chtěla poděkovat druhému konzultantovi Ing. Karlovi Suchému, Ph.D. za formální a odborné připomínky k práci. Za vytvoření technického zázemí a za trpělivost děkuji Ing. Ivanovi Černému. Také děkuji za podporu svým rodičům a přátelům.

## **Abstrakt**

Cílem práce bylo otestovat alelopatické vlastnosti extraktů z jednotlivých druhů netýkavek (*Impatiens glandulifera*, *I. noli-tangere* a *I. parviflora*) pomocí testů klíčivosti. Testy byly provedeny na semenech hořčice bílé, řepky olejky a merlíku bílého. Byly použity vodné, methanolové a dichlormethanové extrakty z listů, nadzemních částí a kořenů netýkavek. Toxicita se prokázala u všech extraktů a projevila se dvěma způsoby. Buď došlo pouze k redukci délky kořínků a hypokotylů nebo současně došlo i ke snížení počtu vyklíčených semen. Nejcitlivěji reagovala na působení extraktů semena hořčice bílé, na které působily nejtoxičtější methanolové extrakty z kořenů netýkavky žláznaté a vodné extrakty z nadzemních částí netýkavky malokvěté. Dichlormethanové extrakty nepůsobily toxicky na počet vyklíčených semen, ale výrazně snižovaly délku kořínků a hypokotylů. Vodné a methanolové extrakty byly vyhodnoceny jako nejúčinnější. Extrakty z listů nepůsobily toxicky na počet vyklíčených semen řepky olejky, s výjimkou methanolového extraktu netýkavky žláznaté, výrazně však snížily délku kořínků a hypokotylů. Na semena merlíku bílého působil nejtoxičtější vodný extrakt z listů netýkavky žláznaté. Některé extrakty byly analyzovány metodou HPLC. Chromatografické profily extraktů se lišily jak z hlediska rostlinného druhu, tak i rostlinné části.

Klíčová slova: netýkavky, rostlinné invaze, alelopatie, testy toxicity

## **Abstract**

The aim of the work was to prove allelopathic effects of the extracts from *Impatiens* species (*Impatiens glandulifera*, *I. noli-tangere* a *I. parviflora*) by the help of the seed germination testing. The Tests were made on the seeds of white mustard, oilseed rape and white goosefoot. The Aqueous, methanolic and dichlormethanolic extracts from the leaves, above-ground-parts and roots of *Impatiens* were used. Toxicity was proved in the all extracts and was shown by two ways. Either were reduced only the lengths of the radicles and hypocotyls or concurrently was reduced the count of the germinated seeds. The seeds of white mustard reacted most sensitively on activity of the extracts, especially on activity the methanolic extracts from the roots of himalayan balsam and the aqueous extracts from the above-ground-parts of yellow balsam. The dichlormethanolic extracts didn't have the toxic effect on count of the germinated seeds, but they reduced markedly the lengths of the radicles and hypocotyls. The aqueous and methanolic extracts have toxicest effect. The extracts of the leaves didn't

have the toxic effect on count of the germinated seeds of oilseed rape, except for the methanolic extract from himalayan balsam, but they reduced markedly the lengths of the radicles and hypocotyls. On the seeds of white goosefoot has toxicest effect the aqueous extract from the leaves of himalayan balsam. Some extracts were analyzed by HPLC method. The chromatographic profiles of the extracts were different in light of the plant species and plant part.

Key words: *Impatiens*, plant invasion, allelopathy, test toxicity



## **OBSAH**

1. Úvod	9
2. Literární přehled	11
2.1. Rod netýkavka ( <i>Impatiens</i> )	11
2.2. Zástupci rodu netýkavka v ČR	12
2.3. Monitoring a metody likvidace netýkavek	14
2.4. Rostlinné invaze	16
2.5. Alelopatie	17
2.6. Obsahové látky netýkavek	18
2.7. Testy toxicity	21
2.8. Legislativa	23
3. Materiál a metody	24
3.1. Lokality a odběry materiálu	24
3.2. Příprava extraktů	24
3.3. Měření extraktů na HPLC	25
3.4. Testy klíčivosti	26
3.4.1. Příprava testů klíčivosti	26
3.4.2. Vyhodnocení testů klíčivosti	27
3.5. Statistika	28
3.6. Použité chemikálie	28
3.7. Testovaná semena	28
4. Výsledky a diskuse	29
4.1. Vliv extraktů na klíčivost semen hořčice bílé	29
4.1.1. Vliv extraktů z listů na semena hořčice bílé	29
4.1.2. Vliv extraktů z nadzemních částí na semena hořčice bílé	31
4.1.3. Vliv extraktů z kořenů na semena hořčice bílé	33
4.2. Vliv extraktů na klíčivost semen řepky olejky	34
4.3. Vliv extraktů na klíčivost semen merlíku bílého	36
4.4. Analýza extraktů na HPLC	37
5. Závěr	42
6. Literatura	43
7. Přílohy	53

# 1. ÚVOD

Předložená práce pojednává o alelopatických vlastnostech druhů rodu netýkavka. Naším původním druhem je netýkavka nedůtklivá, zatímco netýkavky žláznatá a malokvětá k nám byly zavlečeny z Asie, především z pohoří Himaláje (Kubát et al., 2002). Z počátku byly pěstovány v botanických a zámeckých zahradách jako okrasné a nektarodárné rostliny. Odtud se začaly v průběhu 19. století rozšiřovat dále po celém našem území (Slavík, 1996; Kubát et al., 2002). V současnosti je najdeme na březích téměř všech našich vodních toků a v lesích.

Oba nepůvodní druhy jsou považovány za nebezpečné pro svůj značný invazní potenciál, kdy ve volné přírodě osidlují některé původní ekosystémy a tím ovlivňují biodiverzitu v dané lokalitě. Jejich specifický způsob rozšiřování, kdy jsou semena uložena v pukavých tobolkách, které je v době plné zralosti vymrští daleko do okolí, a vysoká produkce semen, u netýkavky žláznaté se uvádí až 32 000 semen na 1 m<sup>2</sup> (Wolf, 2007), umožňuje jejich rychlé a snadné osidlování dalších ploch. Charakteristická jsou pro ně stinná až polostinná stanoviště s vlhkými a na živiny bohatými půdami (Kubát et al., 2002). Především osidlují taková místa, kde je již stávající vegetace nějakým způsobem narušena.

Dalším důvodem jejich úspěšného rozšiřování může být i fakt, že jejich rostlinné části obsahují tzv. alelochemikálie. Tyto látky mohou inhibovat klíčení ostatních rostlin a tím si zabezpečují pro svůj vývin dostatek živin a energie (Šerá et al., 2005; Krejčová et al., 2007; Vrchotová et al., 2008). Do prostředí jsou uvolňovány například prostřednictvím kořenů a opadem nadzemních částí (Klejduš et Kubáň, 1998).

V současné době je podrobná chemická analýza provedena pouze u netýkavky balzamíny (Panichayupakaranant et al., 1995; Ishiguro et al., 1998; Yang et al., 2001; Hua et al., 2001; Oku et Ishiguro, 2002, a další), avšak u druhů, které jsou zde studovány, je podobných chemických analýz prozatím málo. V nadzemních částech netýkavek byly nalezeny především naftochinony (Lobstein et al., 2001; Šerá et al., 2005), deriváty kvercetinu a kávové kyseliny (Šerá et al., 2005).

Hlavním cílem této práce bylo otestovat alelopatické vlastnosti extraktů z netýkavek pomocí testů toxicity. Pro pokusy byla vybrána semena hořčice bílé, která je standardem pro obdobné testy, dále semena řepky olejky a jednoletého plevelu merlíku bílého. K analýze fenolických látek byla použita metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Poznatky o

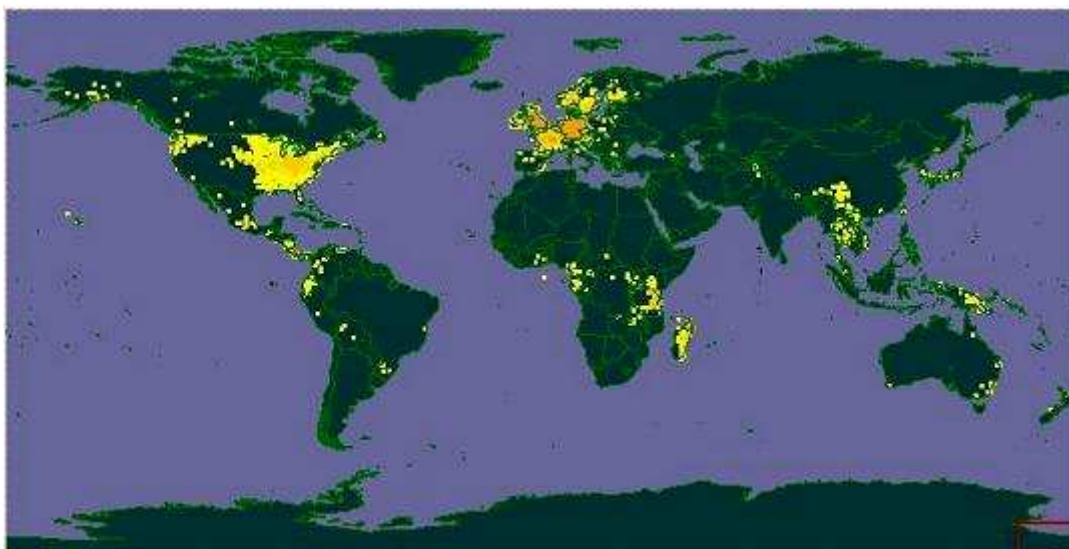
alelochemickém působení netýkavek na jiné rostliny by mohly být využity v ekologickém zemědělství pro výrobu bioherbicidů.

## 2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1. Rod netýkavka (*Impatiens*)

Rod netýkavka je nejznámějším a nejpočetnějším rodem čeledi netýkavkovité (*Balsaminaceae*) a zahrnuje okolo 1200 druhů. Do stejné čeledi patří dalších osm rodů (např. *Chryseae*, *Hydrocera*, *Impatiellia*, *Tytonia*, a další), které již nejsou tolik početné (GBIF, 2009a). V dostupné literatuře můžeme nalézt rozdílné informace jak o přesném počtu jednotlivých zástupců rodu netýkavka, tak i v řazení jednotlivých rodů do čeledi netýkavkovité. Například podle Egliho a Conga je čeleď rozdělena do dvou rodů, podle Choukase-Bradleyho do čtyř a podle Morgana do pěti. Morgan uvádí, že rod netýkavka má přes 1000 druhů, podle Conga je to o něco méně, kolem 900 druhů (Eggl, 2002; Choukas-Bradley et Brown, 2004; Morgan, 2007; Cong et al., 2008). Mezitím jsou objevovány další druhy, např. *Impatiens rupestris* a *Impatiens yaoshanensis*, které byly popsány v Číně, v provinciích Hunan a Yunnan (Cai et al., 2008; Cong et al., 2008). Pro nádhernou výraznou barvu květů jsou netýkavky dále šlechtěny a vznikají tak opět další druhy (Morgan, 2007).

Původní výskyt rodu netýkavka byl především v tropických a subtropických oblastech Afriky a Asie. Postupem času se jednotlivé druhy šířili i do jiných oblastí (Obr. 1.). Uvedená mapa je pouze informativní, není zde uveden výskyt všech zástupců (z celkových 46 289 záznamů je zpracováno 37 104). Data jsou průběžně aktualizována (GBIF, 2009b). V příloze 1., 2. a 3. jsou detailněji uvedeny mapy výskytu netýkavek v Evropě a severní Americe.



Obr. 1. Mapa výskytu rodu netýkavka ve světě (GBIF, 2009b)

## 2.2. Zástupci rodu netýkavka v ČR

V České republice se vyskytují dva invazní druhy, a to netýkavka žláznatá (*Impatiens glandulifera*) a netýkavka malokvětá (*Impatiens parviflora*). Netýkavka nedůtklivá (*Impatiens noli-tangere*) je zde původní. Vzácně byl zaznamenán výskyt *Impatiens scabrida* DC. a *Impatiens balfourii* (Kubát et al., 2002). První údaje o výskytu netýkavky žláznaté v Čechách jsou z roku 1846, kdy byla determinována v Červeném Hrádku (Jirkov, okres Chomutov; Malíková, 2003), netýkavka malokvětá se začala šířit z botanických a zámeckých zahrad v poslední třetině 19. století (Malíková, 2003).

### Netýkavka žláznatá (*Impatiens glandulifera* Royle)

Tato statná jednoletá bylina dorůstá výšky až 2,5 m (Obr. 2.). Horní lodyžní listy jsou vstřícné nebo v přeslenu. Řapíkaté listy jsou většinou kopinaté o délce 10 – 25 cm a šířce okolo 8 cm s ostře pilovitým okrajem. Květenství je tvořeno hrozny s 5 – 20 květy o velikosti 2,6 – 4,4 cm, které jsou zbarveny od červenofialové přes růžovou až po téměř bílé. Doba květu bývá od začátku srpna až do konce října. Plodem je tobolka, ve které je uloženo 4 až 16 semen. Tobolky mohou měřit až 3 cm (Beerling et Perrins, 1993; Kubát et al., 2002).

Charakteristickým prostředím výskytu jsou vlhká a dobře zásobená stanoviště (břehy, mokré lesy) na hlinitých nebo jílovitých půdách. Rostliny mají výraznou sladkou vůni (Aichele et Golte-Bechtle, 2005; Krása, 2007).



Obr. 2. Netýkavka žláznatá (vlastní foto, 2008; Baranovič, 2009)

### Netýkavka nedůtklivá (*Impatiens noli-tangere* L.)

Jednoletá bylina dorůstající do výšky 90 cm (Obr. 3.). Lodyha je přímá, v horní polovině bohatě větvená. Světle zelené vejčité listy jsou uspořádány střídavě, jejich okraje jsou pilovité. Žluté květy o velikosti 2 – 3,5 cm jsou protáhlé v dlouhou zakřivenou ostruhu. Uvnitř jsou červeně tečkované. Květenství tvoří chudé úžlabní hrozny. Kvetou v červenci a srpnu. Plodem je tobolka visící dolů (Kubát et al., 2002; Aichele et Golte-Bechtle, 2005).

Roste v lužních lesích, v blízkosti lesních potoků a pramenišť. Vyžaduje vlhká, stinná a eutrofní až mezotrofní stanoviště (Kubát et al., 2002).

Na netýkavku nedůtklivou je vázán motýl píďalka síťkovaná (*Eustroma reticulata*), jejíž larvy se živí pouze tímto druhem (Příloha 4.). U nás není veden jako ohrožený druh, ale v Anglii ano a jeho ochrana a tedy i ochrana stanovišť s netýkavkou nedůtklivou je zakotvena v národním Akčním plánu pro ochranu biodiverzity (Hooson et Haw, 2008).



Obr. 3. Netýkavka nedůtklivá (Herman, 2005; Burian, 2008)

### Netýkavka malokvětá (*Impatiens parviflora* DC.)

Tato nepřilíš vysoká jednoletá rostlina dorůstá do výšky nanejvýš 90 cm a má přímou, v horní části větvenou lodyhu (Obr 4.). Postavení listů je střídavé, tvar mají vejčitý s pilovaným okrajem, na vrcholu jsou zašpičatělé. Světle žluté květy dosahující maximálně 2

cm a uvnitř mají výraznou červenou kresbu. Ostruha je přímá a dlouhá 4 – 5 mm. Květenství je tvořeno 4 – 10 hrozny. Semena jsou uložena v tobolce, která je vzpřímená. Doba květu je od června do září (Kubát et al., 2002; Aichele et Golte-Bechtle, 2005).

Vhodnými podmínky pro její růst jsou na živiny bohaté, kyselé až slabě zásadité půdy na vlhkých a stinných stanovištích (břehy potoků, křoviny, rumišť, lesní okraje, příkopy, atd.) (Kubát et al., 2002; Aichele et Golte-Bechtle, 2005).

Listy netýkavky malokvěté jsou preferovanou potravou pro plže ostroústku bezzubou (*Columella edentula*) (Piskorz et Urbańska, 2007).



Obr. 4. Netýkavka malokvětá (Rak, 2007)

### 2.3. Monitoring a metody likvidace netýkavek

Monitoringem se rozumí sledování výskytu určitého druhu v prostoru a čase. V České republice dosud není prováděn systematický monitoring výskytu invazních druhů, a tedy i netýkavek. Existují však dílčí projekty, které tuto problematiku alespoň částečně řeší. Například nevládní organizace Český svaz ochránců přírody koordinuje projekty zaměřené na monitoring vybraných invazních druhů (ČSOP, 2009). V rámci výzkumného programu Ministerstva životního prostředí běží v letech 2007 – 2010 projekt VaV SPII2d1-37-07, který se zabývá dynamikou šíření invazních druhů rostlin v ČR za různých scénářů globální klimatické změny (Mihulka et Hrázský, 2007).

Na Chrudimsku se monitorováním invazních druhů zabývá společnost Centaurea (Horník, 2009) a na Liberecku organizace Armillaria (Morávková, 2009). Jednotlivé správy chráněných krajinných oblastí sledují výskyt konkrétních invazních druhů v dané oblasti například v rámci inventarizačních průzkumů nebo při plnění plánů péče. V rámci Programu péče o krajinu probíhá monitoring efektivity opatření k likvidaci invazních druhů obecně (Pánek, 2009).

### **Metody likvidace**

Netýkavky jsou jednoleté rostliny a nevytvářejí podzemní orgány, které by přeživaly do dalších let. Jejich semena však mohou přežívat v půdě až šest let a je tedy nutné veškeré zásahy opakovat více let po sobě (Pánek, 2009).

Při mechanickém zneškodňování se doporučuje několikrát za sezónu vytrhávání rostlin, nebo jejich sekání v době před vykvetením a vytvořením semen, s následným usušením a spálením, popř. kompostováním. Důležitá je správná doba zásahu, protože semena jsou někdy schopná klíčení ještě před dozráním, a proto je vhodné zlikvidovat porost ještě před květem. Následně je nutné zabezpečit lokalitu před novou invazí těchto i jiných druhů vhodným managementovým opatřením, např. pastvou, nebo kosením (Pánek, 2009).

V Rakousku a Německu je metodika podobná, upřednostňuje se též mechanické zneškodnění. Netýkavka žláznatá se nejčastěji pokosí a odveze, nebo je ponechána na místě. Pokud se jedná o velkou plochu může být použit i mulčovač, na březích a menších plochách se využívá křovinořez či ruční vytrhávání. Je doporučováno provádět zásah až při výskytu prvních květů, většinou tedy koncem července, záleží však na oblasti výskytu. (Essl et Walter, 2005; Schmitz, 2007; Follak, 2009).

Pokud je prováděna chemická likvidace, je nejčastěji používán Roundup Bioaktiv. V okolí vodních toků je žádoucí použití přípravků, které nejsou toxické pro vodní organismy. Jejich seznam je možno si vyžádat na oddělení metod ochrany rostlin SRS (Lvončík, 2009). Použití herbicidů v Německu je principiálně možné na základě povolení, obzvláště pokud se jedná o oblast vodního toku (Schmitz, 2007).

Možnost biologické likvidace netýkavek je studována například v Anglii, kde probíhají pokusy s potenciálními nepřáteli, konkrétně s parazitickými druhy hub (*Phoma spp.* a *Puccinia spp.*) a s třásněnkami (*Taeniothrips spp.*) (Tanner, 2009). Dále se zkoumá možné využití určitého druhu obaleče (*Priesterognatha fuligana*) (Burkhart et Nentwig, 2008). Je



však potřeba velké obezřetnosti a analyzovat i potenciální rizika těchto druhů na stávající flóru a faunu v dané oblasti.

#### **2.4. Rostlinné invaze**

Rostlinným invazím je věnována pozornost mnoho let a byla již napsána řada studií na toto téma (např. Pyšek et al., 1998; Richardson et al., 2000; Hulme, 2006; Nehrbass et al., 2007; Hejda et al., 2009 a další). Většina autorů používá různé pojmy při studiu rostlinných invazí. Objasněním terminologie se zabývá například Pyšek (1995) a Richardson et al. (2000). Podle Richardsons (2000) se za invazní druh označuje takový zavlečený druh, který vytváří reproduktivní potomstvo schopné rychlého šíření a překonávání velkých vzdáleností. Úspěšnost invaze je dána populačně biologickými vlastnostmi potencionálního invazního druhu. Těmi jsou například velké množství malých semen, velká počáteční růstová rychlost, šíření pomocí zvěře, vody atd. (Pyšek et Prach, 1997). Další výhodou pro následné rozšiřování invazního druhu bývá nepřítomnost nepřátel v nově osídleném území (Hierro at Callaway, 2003).

Netýkavky se rozšiřují výhradně semeny pomocí autochorie. Pletivo centrálního sloupku v pukavé tobolce je v době zralosti značně napjato. Při doteku nebo otřesu se oddělí plodolisty, prudce spirálně se stočí a vymrští semena daleko od mateřské rostliny, u netýkavky žláznaté až na vzdálenost 7 m (Aichele et Golte-Bechtle, 2005; Schmitz, 2007). V blízkosti vodních toků jsou pak unášena vodou na další místa. Semena přežívají až 18 měsíců a jedna rostlina je schopna vyprodukovat až 32 000 semen na m<sup>2</sup> u netýkavky žláznaté, 10 000 semen na m<sup>2</sup> u netýkavky malokvěté (EPPO, 2009). V roce 2006 byl studován vliv netýkavky žláznaté na složení břehové vegetace na šesti českých řekách. Ukázalo se, že po odstranění netýkavek se původní vegetace obnoví bez negativních důsledků na druhovou diverzitu. Vícerozměrná analýza neodhalila žádný efekt invaze na složení druhů, ale jejich hierarchie se po invazi změnila. Netýkavka žláznatá se stala dominantní na úkor vysokých původních nitrofilních druhů. Ukázalo se tedy, že zde není hrozba ztráty rozmanitosti v napadené oblasti (Hejda et Pyšek, 2006).

Na druhou stranu podle vyjádření organizace EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) má netýkavka žláznatá negativní vliv na biodiverzitu a původní floru. Přesto i zde se potvrzuje, že flora je pouze redukována díky vyšší konkurenční schopnosti netýkavky, ale není zcela potlačena. Rostliny, které dokončují svůj životní cyklus na jaře nebo v časném létě jsou netýkavkou ovlivněny minimálně. Na původní rostliny ale

působí také tím, že díky silné sladké vůni a velkému množství nektaru odlákává opylovače ostatním rostlinám a působí tak negativně na reprodukční schopnosti původních druhů. Na divokou faunu působí pozitivně. Přitahuje například různé mšice a hmyz, které jsou potravou pro různé členovce (EPPO, 2009).

Vliv netýkavky malokvěté na biodiverzitu kolísá v závislosti na stanovištních podmínkách. Někdy se uvádí, že netýkavka malokvětá má vyšší konkurenční schopnosti než netýkavka nedůtklivá nebo další původní rostliny, ale důkazy nasvědčují tomu, že by to bylo pravdivé pouze v případě, že by podmínky pro domácí druhy musely být suboptimální. Úplné vytlačení původních druhů netýkavkou malokvětou nebylo prokázáno (EPPO, 2009).

## 2.5. Alelopatie

Pojem alelopatie byl zaveden Molischem v roce 1937 a je odvozen z řeckých slov *allelon* (navzájem) a *pathos* (trpět). Mezinárodní společnost pro alelopatii ho v roce 1996 definovala jako proces zahrnující produkci sekundárních metabolitů rostlinami, mikroorganismy, viry a houbami, který ovlivňuje růst a vývoj zemědělských a biologických systémů (nepočítaje živočichy), včetně pozitivních a negativních účinků (Kruse et al., 2000). Častěji se však používá definice podle Mullera (1970), který vymezuje alelopatii jako biochemickou interakci mezi rostlinami (Harborne, 1993). Látky, které jsou uvolňovány z rostlin a působí alelopaticky na jiné rostliny, označujeme jako alelochemikálie. Jsou za ně považovány mnohé sekundární metabolity, jako například fenoly, flavony, isoflavony, alkaloidy, saponiny, terpeny, mastné kyseliny a jiné (Klejdus et Kubáň, 1999).

Alelochemikálie se vyskytují v různých rostlinných částech v rozdílném množství. Do prostředí se dostávají prostřednictvím kořenových výměšků, z nadzemních částí, rozkladem rostlinného materiálu, mikrobiální aktivitou a agronomickými zásahy (Klejdus et Kubáň, 1999; Kobayashi, 2004). U citlivých rostlin svým působením většinou negativně ovlivňují klíčivost semen, růst a celkový vývoj dané rostliny (Kruse et al., 2000). Tím si pro sebe zajišťují optimální životní podmínky.

V zemědělství je známá autotoxicita některých plodin, kdy uvolňují do prostředí alelochemikálie, které jsou i pro ně samotné toxické. To bylo prokázáno například u vojtěšky seté (*Medicago sativa*), jetele (*Trifolium spp.*), chřestu lékařského (*Asparagus officinalis*), pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) atd. (Kruse et al., 2000; Chon et Kim, 2002; Wu et al., 2007).

Při objasňování úspěšnosti mnohých polních plevelů byl prokázán jejich alelopatický účinek na klíčivost semen kulturních plodin, např. u pýru plazivého (*Elytrigia repens*), pcháče osetu (*Cirsium arvense*), ptačince prostředního (*Stellaria media*), merlíku bílého (*Chenopodium album*) (Kruse et al., 2000; Samad et al., 2008). Stejně účinky byly též potvrzeny u invazních druhů rodu *Reynoutria* (Cvrčková et al., 2007; Šerá et al., 2008).

V současnosti se ubírá směr výzkumu v oblasti zemědělství na potenciální využití alelopatických látek pro přípravu přirozených herbicidů (Klejdus a Kubáň, 1999; VanTine et Verlinden, 2003; Huang et Chou, 2005). Například v Turecku byl testován přírodní produkt Dopa z rostliny *Mucuna pruriens*, u kterého byly prokázány potlačující účinky na vybrané druhy plevelů, aniž by došlo k negativnímu ovlivnění sledovaných kulturních plodin (Topal et Kocaçalışkan, 2006). Podobný účinek na testované plevele měl i parthenin, který byl izolovaný z rostliny *Parthenium hysterophorus* (Datta et Saxena, 2001; Bathis et al., 2002a, 2002b, 2006).

Rostliny vylučující alelochemikálie mohou vykazovat i pozitivní účinky. Například byl prokázán pozitivní vliv koukolu polního (*Agrostemma githago*) na růst a výnos pšenice seté. Z koukolu se uvolňuje agrostemin, který působí jako biostimulátor (Malik a Williams, 2005). Při testování vodných extraktů z listů plevelných druhů dvouzubce chlupatého (*Bidens pilosa*) a řeřichy virginské (*Lepidium virginicum*) byl prokázán stimulační účinek na růst kukuřice seté (*Zea mays* L.) (Kahl, 1987).

Studium allelopatických vlastností mimo laboratorní podmínky je vždy složitější v tom, že ovlivnění cílové rostliny nemusí být vyvoláno pouze metabolity vyloučenými ze zdrojové rostliny, ale díky vysoké heterogenitě prostředí i jinými organismy (Procházka et al., 1998).

## **2.6. Obsahové látky netýkavek**

V netýkavkách se nachází různé spektrum biologicky aktivních látek. U druhů vyskytujících se u nás byly detekovány deriváty naftochinonu, kávové kyseliny a kvercetinu (Lobstein et al., 2001; Šerá et al., 2005). V literatuře je možno najít údaje o obsahových látkách dalších druhů netýkavek, především u netýkavky balzamíny, která je podrobně chemicky studována. V jejích rostlinných částech byly nalezeny například deriváty naftochinonu, kumarinu, kaempferolu a řada antimikrobiálních peptidů (AMPs) (Panichayupakaranant et al., 1995; Sankawa, 1995; Patel et al., 1998; Bernards, 2001; Hisae et Ishiguro, 2002; Thevissen et al., 2005; Lim et al., 2007; Ding et al., 2008). V květech

*Impatiens textori* Miq. byly objeveny deriváty malvidinu (Tatsuzawa et al., 2009). Z kořenů *Impatiens pritzellii* Hook, f. (var. *hupehensis*) byly izolovány tři nové triterpenoidní saponiny a to impatipriny typu A,B a C (Zhou et al., 2007a), dále například alfa-spinasterol a stearová kyselina (Zhao et al., 2005). V květech netýkavky nedůtklivé byly detekovány karotenoidy (violaxanthin, lutein) (Hatcher, 2003).

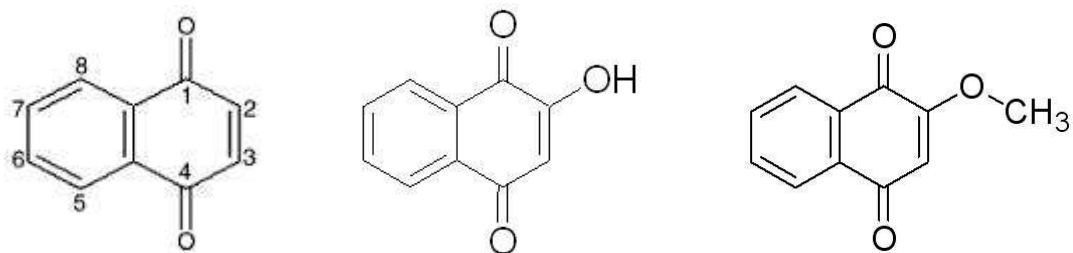
Látky obsažené v netýkavkách mají většinou antikancerogenní, antimikrobiální, antifungicidní, antipruritické (proti svědění) a antidermatické (protizánětlivý) účinky. Díky těmto vlastnostem jsou ve světě extrakty z některých druhů netýkavek využívány v tradičním domácím léčení. Například v Číně je běžně používán extrakt z kořenů *Impatiens pritzellii* k léčení revmatoidní artritidy a k akutním bolestem břicha (Zhou et al., 2007b), v Americe se využívá extrakt z *Impatiens capensis* nebo *Impatiens pallida* při bodnutí hmyzem a proti popáleninám z jedovatce kořenujícího (*Toxicodendron radicans*) (Becker, 2001), v Anglii se komerčně vyrábí kožní mast obsahující extrakt z květů netýkavky žláznaté (prodejná i v ČR) (FloraCura, 2009).

## **Naftochinony**

Naftochinony patří mezi sekundární metabolity a jsou produkovány různými druhy rostlin, hub a mikroorganismů. V buňkách se vyskytují ve vakuolách, kde jsou většinou rozpuštěny ve formě glykosidů. Od základní struktury naftochinonů (Obr. 5.) se dále odvíjí různé deriváty, které jsou pojmenovány často podle organismu, ve kterém byly určeny.

Naftochinony jsou významné díky široké škále vlastností, která se u nich prokázala. Byla zjištěna fytotoxicita, antikancerogenní, antimikrobní, antifungální, antivirální a antiparazitální účinky (Babula et al., 2004). V tradiční medicíně, především v Asii a Jižní Americe, se rostliny s obsahem naftochinonů využívají k léčbě nádorových onemocnění (Babula et al., 2004). V lékařství se používají například extrakty z rosnatky okrouhlolisté (*Drosera rotundifolia*) obsahující naftochinony droseron, methyljuglon a plumbagin, které uvolňují hlen z dýchacích cest (Budzianowski, 2000; Babula et al., 2004; Hohtola et al., 2005).

Rostlinné naftochinony vznikají šesti možnými biosyntetickými cestami, podle toho, o jakou čeleď či rod se jedná. Základním prekurzorem biosyntézy většiny naftochinonů je kyselina šikimová (Babula 2004). Na Obr. 6. je znázorněno schéma jedné z možných cest biosyntézy.

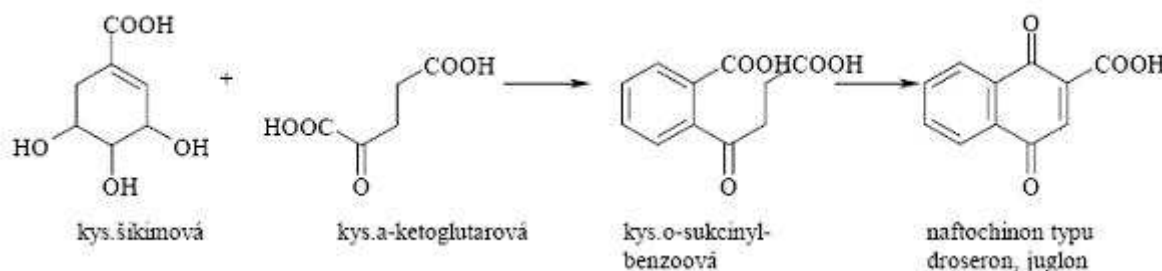


a)

b)

c)

Obr. 5. Základní struktura naftochinonu<sup>a)</sup>, lawson<sup>b)</sup>, 2-methoxy-1,4-naftochinon<sup>c)</sup>



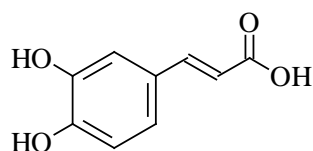
Obr. 6. Biosyntéza juglonu a droseronu (Babula, 2004)

### Kávová kyselina

Je jednou z nejběžnějších fenolických kyselin, často se vyskytující v ovoci, obilninách a potravních doplncích (Jiang et al., 2005; Jung et al., 2006). Od jejího základního vzorce (obr. 7.) jsou odvozeny různé deriváty, které se řadí do pěti kategorií a to na základě počtu jednotek kávové kyseliny a podle typu navázaných glykosidů a esterů (monomery, dimery, atd.) (Lim et al., 2003; Jiang et al., 2005).

Kávová kyselina má v rostlinách klíčovou roli při metabolismu fenylypropanoidů a dále působí jako prekurzor pro biosyntézu ligninu (Lim et al. 2003).

Její deriváty hrají významnou roli v prevenci nemocí. Byly u nich zjištěny antioxidační, antikancerogenní, antivirální, antihypertenční, antitrombózní, antidiabetické a další vlastnosti (Jiang et al., 2005; Jung et al., 2006; Song et al., 2008).

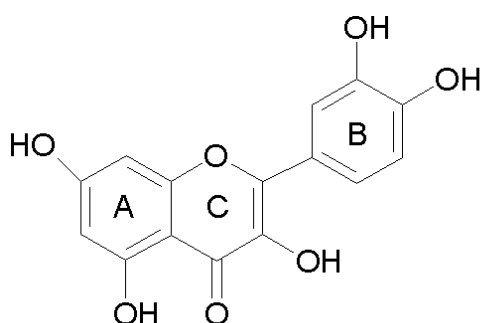


Obr. 7. Strukturální vzorec kávové kyseliny

## Kvercetin

Kvercetin (Obr. 8.), patřící mezi flavonoidy, se běžně vyskytuje v rostlinách a potravě většinou ve formě glykosidů. Vysoký obsah kvercetinu a jeho derivátů byl zjištěn u mnoha druhů zeleniny a ovoce, v čaji, červeném víně (Lakhanpal et Rai, 2007; Jakubowicz-Gil, 2008). Mezi známé glykosidy odvozené od kvercetinu patří rutin, avikularin, rejnoutrin, isokvercitrin, kvercimeritrin, hyperin a kvercitrin (Velíšek, 2002).

Obecně u flavonoidů, a tedy i u kvercetinu byly popsány významné vlastnosti pro lidské zdraví a to především antioxidační, dále antivirální, antikancerogenní a protizánětlivé vlastnosti (Pietta, 2000; Havsteen, 2002). Jeho příjem v potravě hraje tedy důležitou roli.



Obr. 8. Strukturální vzorec kvercetinu

### 2.7. Testy toxicity

Vliv chemických sloučenin na životní prostředí je stále více sledován díky neustále se rozvíjejícímu chemickému průmyslu. Ke zjištění či odhadu možného toxického vlivu testované látky na živé organismy a jejich prostředí slouží testy toxicity. Je to experimentální metoda, pomocí které se sleduje odpověď organismu vystaveného působení toxické látky. Testy toxicity lze rozdělit na dvě skupiny a to testy zaměřené na odhad možných toxických účinků na člověka a testy s cílem získat informace o možných nepříznivých účinků látek na životní prostředí (Kočí, 2006).

Pro testy toxicity vyšších rostlin se standardně používají semena hořčice bílé (*Sinapis alba*), které mají velmi dobrou klíčivost. Metodika byla popsána Ministerstvem životního prostředí pro ekotoxicitu odpadu a dále Vysokou školou chemicko – technologickou, kde byla popsána metodika pro testování toxicity odpadních vod (Kočí et al., 2001; Křenek, 2007).

Základem testů je vložení určitého počtu semen (obvykle 30 ks) do Petriho misek, které jsou vyloženy filtračním papírem. K semenům se přidá extrakt s testovanou látkou a semena jsou inkubována zpravidla 72 hodin (temno, 20°C). Zároveň je dělána kontrola, kdy

na semena působí pouze extrakční činidlo bez testovací látky. Po inkubaci se vyhodnocuje počet vyklíčených semen a délky kořínků a hypokotylů. Test je platný, pokud u kontrol vyklíčí více jak 90 % semen. Data jsou dále zpracována a statisticky vyhodnocena (Kočí et al., 2001; Křenek, 2007).

Hořčice bílá patří do čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*) a pochází z jihovýchodního Středomoří. Je jednoletou olejninou dosahující výšky do 150 cm. Žlutě zbarvené květy jsou oboupohlavné čtyřčetné s chlupatými stopkami. Zpočátku tvoří klubkaté květenství, později protáhlé hrozny. Doba kvetení záleží na době výsevu. Plodem jsou bílé štětinaté šesule. Žlutá semena kulovitěho tvaru dosahují velikosti 1,5 - 4 mm. Po vyklíčení vyrůstá jednoduchý kořen s hypokotylem. Kvetoucí rostliny jsou opylovány nejčastěji včelami, kterým poskytují potravu v letním a podzimním období. Pro pěstování jsou vhodné hlinitopísčité půdy, dobře hnojené s neutrální půdní reakcí (Kočí et al., 2001).

Z hospodářského hlediska se hořčice pěstuje především pro semeno, ze kterého se vyrábějí doplňky jídel. Vylisovaný olej ze semen je využíván v potravinářském průmyslu, dále ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu (Kočí et al.).

V pokusech jsme testovali toxicitu i na jiných semenech, a to na semenech řepky olejky a merlíku bílého.

Řepka olejka je jednoletá kulturní plodina patřící do čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*) a dosahuje výšky do 120 cm. Kořen má silný, dolní lodyžní listy jsou peřenosečné, řapíkaté, horní jednoduché a přisedlé. Žluté květy tvoří hrozny, plody jsou šesule. Semena mají palčivou chuť. Obecně se pěstuje na polích, odkud zplaňuje na jejich okraje a podél komunikací nebo je zavlékána na rumišťe, železniční nádraží, do areálů továren zpracovávajících olejniny, do přístavů a okolí sil (Kocián, 2009).

Merlík bílý patří do čeledi merlíkovité (*Chenopodiaceae*), mezi významné jednoleté polní plevely dorůstající do výšky až 150 cm. Lodyha je přímá. Listy má střídavé, světle modrozelené, vejčité až kopinaté, okraje jsou zubaté. Kořen je křivý, často větvený. Květy jsou drobné, oboupohlavné s pětičetným okvětím. Květenství je lichoklasnaté až licholatnaté. Plody jsou drobné, až 1,4 mm dlouhé nažky. Semena jsou černá, lesklá, nebo hnědavá až nažloutlá. Rozmnožuje se generativně. Na jedné rostlině může dozrát až 20 000 nažek. Semena mají dlouhou dormanci a nepravidelnou klíčivost (Hron et Kohout, 1988; Aichele et Golte-Bechtle, 2005).

Testy ekotoxicity se mohou stanovovat na dalších organismech, např. se využívají vláknité zelené řasy (rod *Cladophora*, *Rhizoclonium*), ryby (živorodka duhová - *Poecilia*

*reticulata* a danio pruhovaný - *Brachydanio rerio*), korýši (hrotnatka obecná - *Daphnia magna*), chlorokokální řasy druh (*Scenedesmus quadricauda*, *Scenedesmus subspicatus*) a další. Toxicita se podle rychlosti působení látek na daný organismus rozlišuje na akutní (do několika minut, hodin) a chronickou (týdny, měsíce) (Ambrožová, 2003).

## 2.8. Legislativa

Netýkavka žláznatá do roku 2006 podléhala monitoringu státní rostlinolékařské správy na základě vyhlášky č. 330/2004 Sb., o opatřeních proti zavlékání a šíření škodlivých organismů rostlin a rostlinných produktů, kde byla vedena v příloze č. 8. v seznamu invazních škodlivých organismů. Tato vyhláška byla novelizována vyhláškou č. 493/2006 Sb., a netýkavka byla ze seznamu vyškrtnuta. Důvodem pro vyškrtnutí byl fakt, že k této rostlině není k dispozici analýza rizika. Netýkavka tedy není stanovena jako invazní z hlediska právních předpisů o rostlinolékařské péči v ČR (Růžička, 2009). Přesto je i nadále podle obecných definic brána z pohledu ochrany přírody za nebezpečný nepůvodní druh se značným invazním potenciálem.

Z hlediska právních předpisů o rostlinolékařské péči se na netýkavky, stejně jako na další plevelné rostliny, vztahuje ustanovení § 3 odst. 1 písm. a) zákona č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči a o změně některých souvisejících zákonů, v platném znění, které ukládá fyzickým nebo právnickým osobám, které pěstují, vyrábějí, zpracovávají nebo uvádějí na trh rostliny, rostlinné produkty nebo jiné předměty, a vlastníkům pozemků nebo objektů nebo osobám, které je užívají z jiného právního důvodu, povinnost zjišťovat a omezovat výskyt a šíření škodlivých organismů včetně plevelů tak, aby nevznikla škoda jiným osobám nebo nedošlo k poškození životního prostředí anebo k ohrožení zdraví lidí nebo zvířat (Růžička, 2009).

V legislativě ČR chybí přesné definování pojmu invazního druhu. Ministerstvo životního prostředí vykládá tento pojem podle zákona č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny, § 5 odst. 4, kde je definován pojem geograficky nepůvodní druh, což je druh rostliny nebo živočicha, který není součástí přirozených společenstev určitého regionu.

Z mezinárodních úmluv je důležitá úmluva o biologické rozmanitosti, kde je v čl. 8 (h) uvedeno, že bude prováděna kontrola, případně vyhubení těch cizích druhů, které ohrožují ekosystémy, přírodní stanoviště nebo druhy (CBD, 1992).



## 3. Materiál a metody

### 3. 1. Lokality a odběry materiálu

#### Lokality

##### Listy

*Impatiens glandulifera* – přítok Malše, u obce Chodeč, sběr 26.7.2006

*Impatiens parviflora* a *Impatiens noli-tangere* – řeka Stropnice, U Želízků, sběr 26.7.2006

*Impatiens parviflora* – ul. na Sádkách (ČB), intravilán obce, sběr 16.7.2007

##### Nadzemní části (směs: stonky, květy, listy)

*Impatiens glandulifera* – Boršov, sběr 20.7.07

*Impatiens parviflora* a *Impatiens noli-tangere* – u Strážkovic, sběr 18.7.07

##### Kořeny

*Impatiens glandulifera* - Boršov, sběr 22.8.08

(mapy jednotlivých lokalit sběru v příloze 5.)

#### Sběr materiálu

Sběr listů a nadzemních částí byl proveden z různých jedinců příslušného druhu v dopoledních hodinách, kdy již není na listech rosa a zároveň ještě neprobíhají naplno asimilační procesy. Při sběru bylo sucho a byly sbírány jen nepoškozené, zdravé části rostlin. Sebraný materiál byl dále sušen při zastínění a laboratorní teplotě (22°C). Poté byl jemně umlet na nožovém mlýnku.

Sběr kořenů probíhal též v dopoledních hodinách. Kořeny byly zbaveny půdy, opláchnuty vodou, zmrazeny, lyofilizovány a poté umlety jako předchozí materiál.

### 3.2. Příprava extraktů

- 1) naváženo 3,5 g sušeného, jemně rozemletého vzorku
- 2) přidáno 80 ml příslušného extrakčního činidla (100% methanol (MeOH), 100% dichlormethan (DCM) nebo horká destilovaná voda (90°C))
- 3) extrakce – protřepávání extraktu hodinu ve tmě, další hodinu ponechání v klidu
- 4) filtrace přes skleněný filtr
- 5) sediment promyt 2 x 15 ml příslušného extrakčního činidla
- 6) filtrace přes skleněný filtr, filtráty spojeny a objem upraven na 100 ml příslušným extrakčním činidlem (Obr. 9.)

- 7) odběr 1ml pro další analýzy (HPLC - High pressure liquid chromatography)
- 8) uskladnění methanolových a dichlormethanových extraktů v lednici (-4°C), vodných v mrazáku (-18°C).



Obr. 9. Příprava extraktů

### 3.3. Měření extraktů na HPLC

#### Podmínky separace:

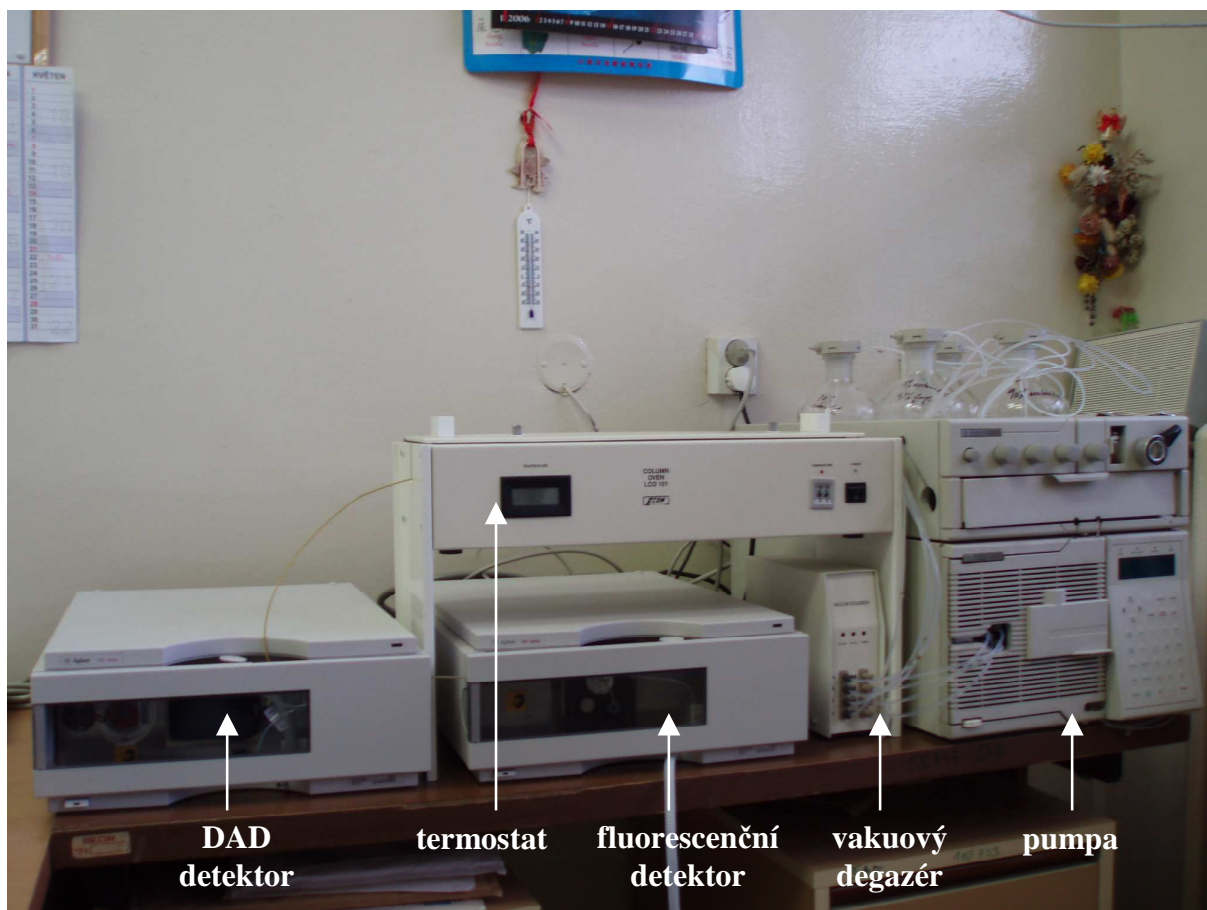
Mobilní fáze A: 5% acetonitrilu, 0,1% ortofosforečné kyseliny, destilovaná voda

Mobilní fáze B: 80% acetonitrilu, 0,1% ortofosforečné kyseliny, destilovaná voda

Pro měření byl použit tento gradient:

0%B ...0. min
45%B ...55. min
80%B ... 65. min

Průtok byl  $0,25 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ . Dělení i s promýváním probíhalo při teplotě  $25^\circ\text{C}$  při zapojeném degazéru. Byla použita kolona Phenomenex Luna C18(2),  $3 \mu\text{m}$ ,  $2 \times 150 \text{ mm}$ . Záznam byl proveden v celém rozsahu spektra (190 – 600 nm). Identifikace látek byla provedena podle standardů (porovnání retenčních časů a UV spekter). Schéma HPLC je zobrazeno na Obr. 10. Data byla vyhodnocena programem ChemStation.



Obr. 10. Schéma HPLC

### 3.4. Testy klíčivosti

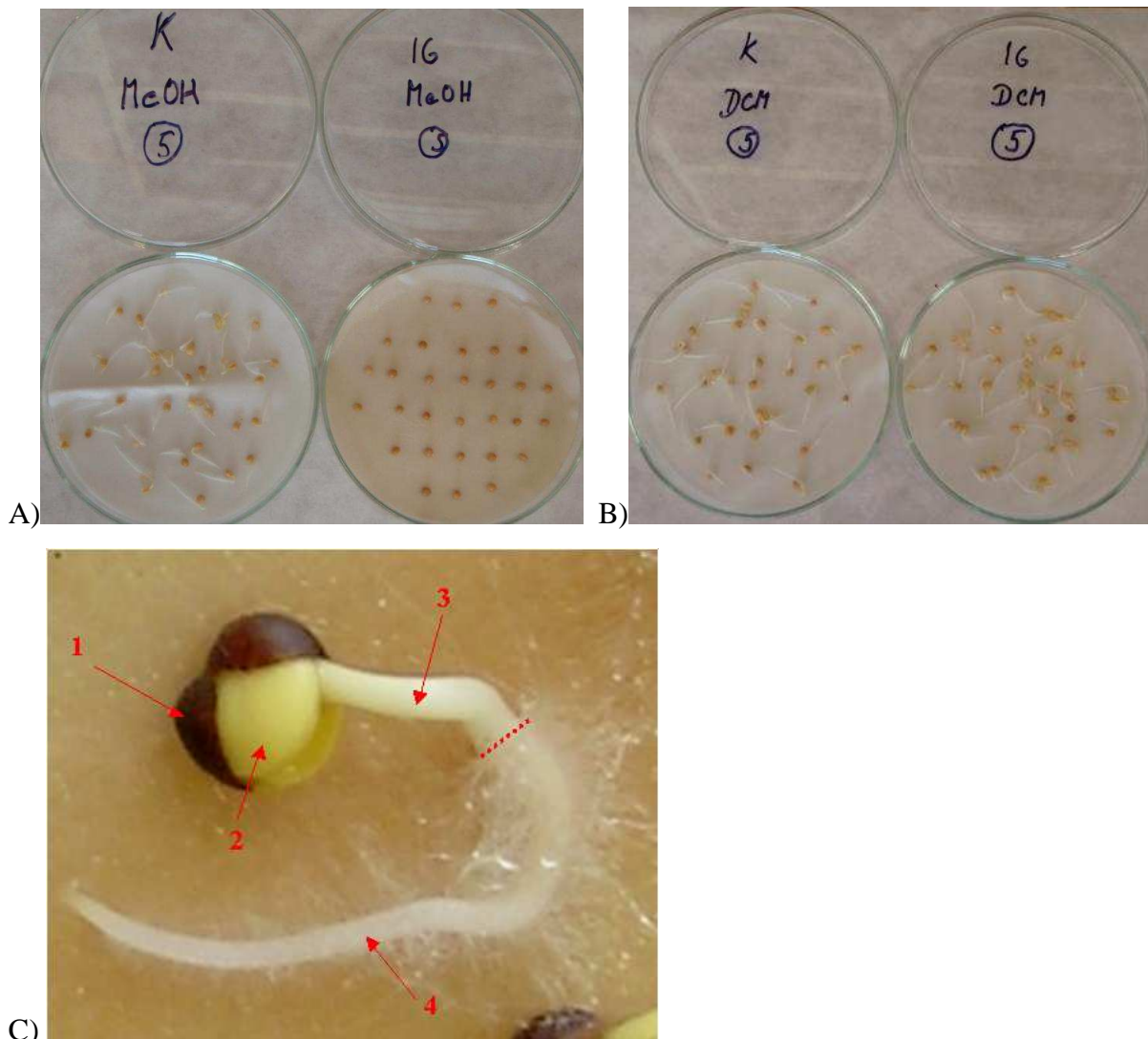
Testy klíčivosti byly provedeny na semenech hořčice bílé, řepky olejky a merlíku bílém. Pro každý typ extraktu a pro kontroly bylo připraveno 5 Petriho misek po 30 semenech, u merlíku bílého po 50 semenech, tzn. pro každý typ extraktu a kontroly bylo testováno celkem 150 semen, u merlíku 250 semen

#### 3.4.1. Příprava testů klíčivosti

- 1) vložení 3 ks filtračního papíru (typ KA4) do Petriho misky o průměru 9 cm
- 2) přidání 6 ml rostlinného extraktu, u kontrol pouze čisté extrakční činidlo
- 3) ponechání misek obsahujících DCM a MeOH (vzorky i kontroly) při pokojové teplotě, dokud se extrakční činidla zcela neodpařila, pak přidáno do těchto misek 6 ml H<sub>2</sub>O
- 4) podle šablony bylo vloženo do každé misky 30 semen testované rostliny
- 5) uzavření misek a inkubace v termostatu 48 h ve tmě a při 22°C

### 3.4.2. Vyhodnocení testů klíčivosti

- 1) počet vyklíčených semen
- 2) milimetrovým pravítkem změřena délka kořínku a hypokotylu (Obr. 11.)
- 3) údaje zapsány do tabulek a následně statisticky vyhodnoceny



Obr. 11. Fotodokumentace měření morfometrických charakteristik. A) a B) rozdíly v klíčivosti semen v porovnání s kontrolami – methanолоvé (MeOH) a dichlormethanové extrakty (DCM). C) Vyznačení hypokotylu a kořínku u semena řepky olejky. Popis: 1 – zbytky osemení; 2 – dělohy; 3 – hypokotyl; 4 – kořínek. Přerušovanou čarou je znázorněn předěl hypokotylu od kořínku.

### 3.5. Statistika

Počty klíčících semen byly přepočteny na procenta a z důvodů „normalizace dat“ byla použita arcsin transformace. Za stejným účelem byla u morfometrických dat (délky kořínků a hypokotylů) použita logaritmická transformace. Pro výpočty morfometrických charakteristik byla data zprůměrována (průměr na jednu Petriho misku) a pak bylo počítáno jen s těmito průměry.

Získaná data byla analyzována ve statistickém programu STATISTICA (Statistica 1999). Pro souhrnné hodnocení výsledků byla použita jednofaktorová ANOVA a pro mnohonásobné porovnání Tukey HSD test (hladina významnosti  $p < 0,05$ ). Vysvětlujícími proměnnými byly treatmenty a příslušné kontroly. Vysvětlované proměnné byly počty klíčících semen, délky kořínků a hypokotylů.

### 3.6. Použité chemikálie

Methanol, acetonitril – LiChrosolv (R), Merck

Dichlormethan – SupraSolv (R), Merck

Kyselina ortho-fosforečná – Fluka

Destilovaná voda

Kávová kyselina, kvercetin, katechin, epikatechin, 2-methoxy-1,4-naftochinon a 2-hydroxy-1,4-naftochinon (Sigma-Aldrich)

### 3.7. Testovaná semena

Semena hořčice bílé (*Sinapis alba*, odrůda Veronika), řepky olejky (*Brassica napus*, odrůda Oponent), semena merlíku bílého (*Chenopodium album* agg.) (Příloha 6.).

### Vysvětlivky – použity v následujících tabulkách

IG – *Impatiens glandulifera*, INT – *Impatiens noli-tangere*, IP – *Impatiens parviflora*, K – kontroly, H<sub>2</sub>O – vodný extrakt, H<sub>2</sub>O ř. – ředěný vodný extrakt 1:1, MeOH – methanolový extrakt, DCM – dichlormethanový extrakt, Ø – průměr, SD – směrodatná odchylka, HSD – Tukey test.

## 4. Výsledky a diskuse

V tabulce 1. je znázorněno schéma pokusů. Nejprve byl proveden test klíčivosti na semenech hořčice bílé při působení extraktů z listů netýkavek. Podle výsledků, které prokázaly toxicitu extraktů, byly navrženy další potřebné pokusy.

Tab. 1. Schéma provedených pokusů

		hořčice bílá	řepka olejka	merlík bílý
listy	IG	H <sub>2</sub> O, MeOH, DCM	H <sub>2</sub> O, MeOH, DCM	H <sub>2</sub> O
	INT	H <sub>2</sub> O, MeOH, DCM	H <sub>2</sub> O, MeOH, DCM	H <sub>2</sub> O
	IP	H <sub>2</sub> O, MeOH, DCM	H <sub>2</sub> O, MeOH, DCM	H <sub>2</sub> O
	K	H <sub>2</sub> O, MeOH, DCM	H <sub>2</sub> O, MeOH, DCM	H <sub>2</sub> O
nadzemní části	IG	H <sub>2</sub> O, MeOH	-	-
	INT	H <sub>2</sub> O, MeOH	-	-
	IP	H <sub>2</sub> O, MeOH	-	-
	K	H <sub>2</sub> O, MeOH	-	-
kořeny	IG	H <sub>2</sub> O, MeOH, DCM	-	-
	K	H <sub>2</sub> O, MeOH, DCM	-	-

### 4.1. Vliv extraktů na klíčivost semen hořčice bílé

#### 4.1.1. Vliv extraktů z listů na semena hořčice bílé

Data uvedená v následujících tabulkách byla počítána pouze z počtu vyklíčených semen. Z údajů uvedených v tabulce 2. vyplývá, že vysoce toxické jsou vodné a methanové extrakty. U nich byla podle Tukeyho HSD testu statisticky prokázána nízká klíčivost a vysoký inhibiční účinek na délku kořínků a hypokotylů v porovnání s kontrolou. Hypokotyl byl v tomto případě měřitelný pouze u vodného extraktu netýkavky malokvěté. U dichlormethanového extraktu se statisticky lišil průměrný počet vyklíčených semen v porovnání s kontrolou pouze u netýkavky žláznaté, což naznačuje její toxicitu. U zbylých dvou druhů nebyl statisticky prokázán jejich vliv na průměrný počet vyklíčených semen. Byl však i zde prokázán inhibiční účinek na délku kořínků a hypokotylů, i když menší než u předchozích dvou extraktů. Délka kořínků byla u dichlormethanového extraktu v průměru 3,6 x a délka hypokotylů 2,7 x menší než u kontroly. Menší účinnost dichlormethanového extraktu může být způsobena tím, že látky vyextrahované dichlormethanem jsou nepolární, ve vodě nerozpustné nebo jen málo rozpustné a tyto látky se nedostanou do semen.

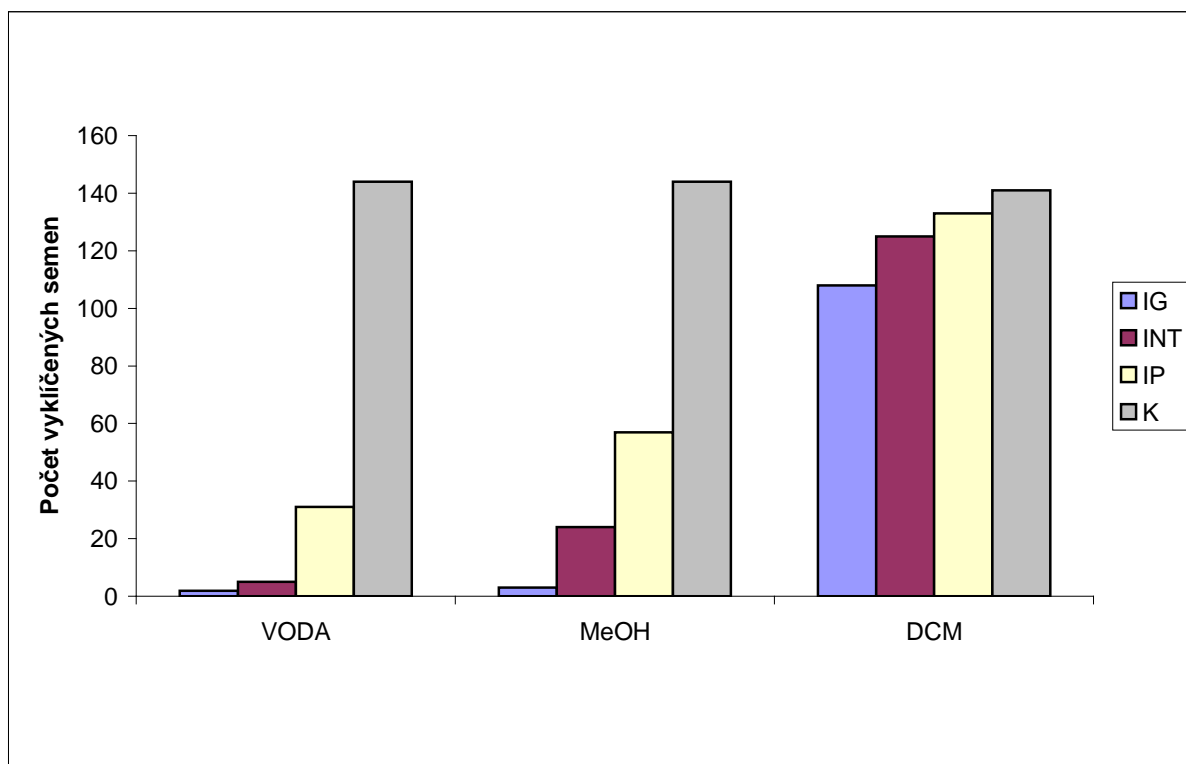
Průměrná délka kořínků a hypokotylů u všech třech typů extraktu se statisticky nelišila mezi jednotlivými druhy (vztah a-a). Z hlediska průměrného počtu vyklíčených semen se

statisticky nelišila netýkavka žláznatá a nedůtklivá, ostatní druhy se mezi sebou prokazatelně lišily.

Tab. 2. Vliv vodných, methanolových a dichlormethanových extraktů z listů netýkavek na klíčivost semen hořčice bílé.

Rostlinný extrakt		Počet semen			Kořínek [mm]			Hypokotyl [mm]		
		Ø	SD	HSD	Ø	SD	HSD	Ø	SD	HSD
H <sub>2</sub> O	IG	0,40	0,55	a	0,07	0,05	a	0,00	0,00	a
	INT	1,00	0,71	a	0,05	0,02	a	0,00	0,00	a
	IP	6,20	3,11	b	0,49	0,31	a	0,17	0,25	a
	K	28,80	1,64	c	16,41	2,15	b	5,30	0,78	b
MeOH	IG	3,00	0,00	a	0,10	0,00	a	0,00	0,00	a
	INT	4,80	2,68	a	0,16	0,09	a	0,00	0,00	a
	IP	11,40	2,51	b	0,41	0,08	a	0,00	0,00	a
	K	28,80	0,45	c	16,19	1,30	b	3,58	0,34	b
DCM	IG	21,60	4,28	a	4,77	2,14	a	1,74	0,82	a
	INT	25,00	3,08	ab	5,25	2,77	a	1,37	0,72	a
	IP	27,80	1,64	b	4,77	0,45	a	2,07	0,26	a
	K	28,20	1,30	b	17,69	4,36	b	4,61	0,64	b

Z Obr. 12. a z tabulky 2. je zřejmé, že vodné a methanolové extrakty jsou vysoce účinné, přičemž vodný je více účinnější než methanolový. Dichlormethanové extrakty neměly téměř žádný významný vliv na počet vyklíčených semen ve srovnání s kontrolou. Nejvíce byla ovlivněna klíčivost po působení vodného extraktu z netýkavky žláznaté, kdy vyklíčilo pouze 1,4% semen hořčice. Průměrná klíčivost semen v kontrole byla 95,3 %, což potvrzuje čistotu semen hořčice bílé. V případě poklesu klíčivosti u kontroly pod 90 % (Křenek, 2007) by byl test nerelevantní, protože by to mohlo poukazovat na znečištění semen hořčice a nebylo by možno porovnat kontrolu s testovanými rostlinnými extrakty.



Obr. 12. Vliv vodných, methanolových a dichlormethanových extraktů z listů netýkavek na počet vyklíčených semen hořčice bílé

#### 4.1.2. Vliv extraktů z nadzemních částí na semena hořčice bílé

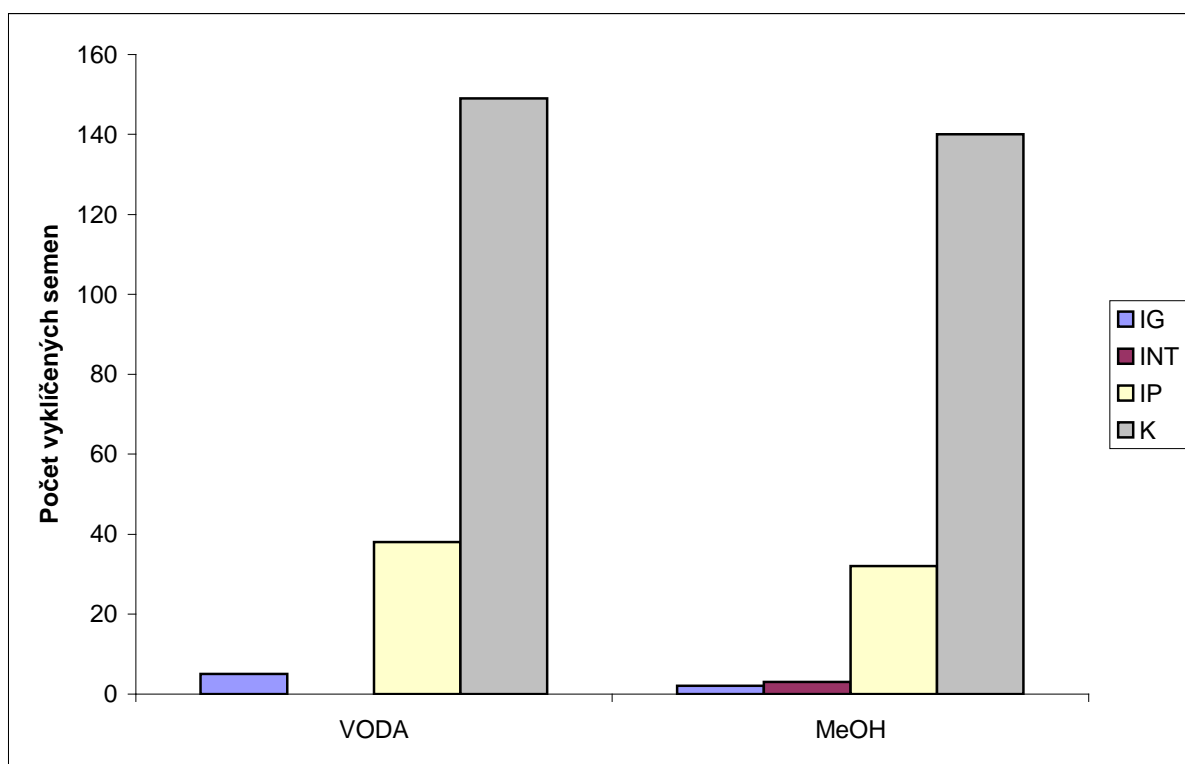
Na základě zjištění, že dichlormethanové extrakty z listů jsou méně účinné, byly testovány u nadzemních částí pouze vodné a methanolové extrakty. Podle Tukeyho HSD testu byl prokázán toxický účinek extraktů na klíčení semen u všech netýkavek. Vliv extraktů z jednotlivých druhů netýkavek byl rozdílný (Tab. 3.). Vodné a methanolové extrakty z netýkavky žláznaté a nedůtklivé působily stejně toxicky na průměrný počet vyklíčených semen. Průměrná délka kořínků a hypokotylů se statisticky lišila u jednotlivých druhů oproti kontrole, což dokazuje inhibiční účinky, ale nelišila se mezi jednotlivými druhy netýkavek.



Tab. 3. Vliv vodných a methanolových extraktů z nadzemních částí netýkavek na klíčivost semen hořčice bílé.

Rostlinný extrakt		Počet semen			Kořínek [mm]			Hypokotyl [mm]		
		Ø	SD	HSD	Ø	SD	HSD	Ø	SD	HSD
H <sub>2</sub> O	IG	1,00	1,00	a	0,06	0,02	a	0,00	0,00	a
	INT	0,00	0,00	a	-	-	-	-	-	-
	IP	7,60	3,44	c	0,39	0,53	a	0,00	0,00	a
	K	29,80	0,45	b	9,71	1,14	b	3,07	0,21	b
MeOH	IG	0,40	0,55	a	0,03	0,00	a	0,00	0,00	a
	INT	0,60	0,55	ac	0,03	0,00	a	0,00	0,00	a
	IP	6,40	6,50	c	0,27	0,28	a	0,00	0,00	a
	K	28,00	0,71	b	6,53	0,98	b	2,66	0,10	b

Z Obr. 13. je patrné, že po působení vodného extraktu z netýkavky nedůtklivé nevyklíčilo žádné semeno a ukazuje to tedy na silnou toxicitu tohoto extraktu. Průměrná klíčivost u kontroly byla 96,3 % .



Obr. 13. Vliv vodného a methanolového extraktu z nadzemních částí netýkavek na počet vyklíčených semen hořčice bílé

#### 4.1.3. Vliv extraktů z kořenů na semena hořčice bílé

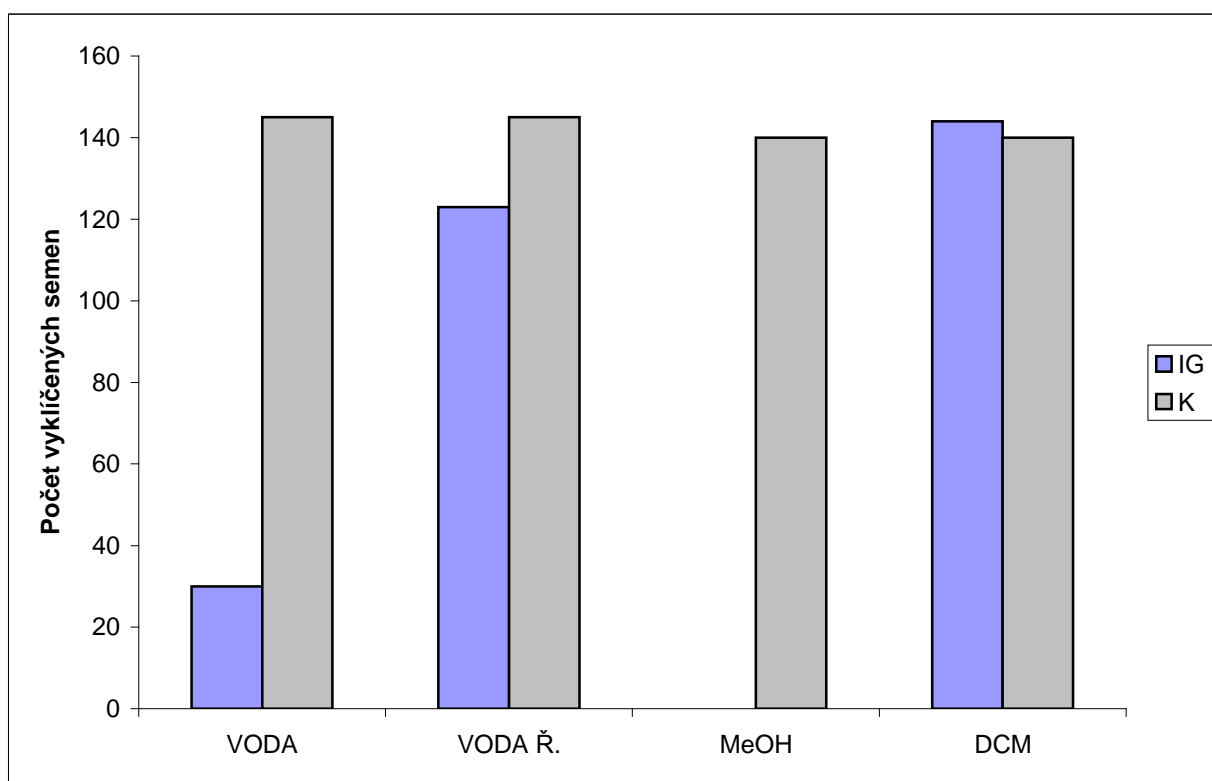
Semena hořčice byla testována na působení všech tří typů rostlinných extraktů. Bylo potřeba otestovat, zda mají stejný vliv i extrakty z podzemních částí, kde je rozdílné spektrum a množství látek. Pro pokus byla vybrána netýkavka žláznatá, jejíž extrakty z listů a nadzemních částí se ukázaly v předešlých testech jako vysoce toxické. Dále byl zkoumán vliv zředěného vodného extraktu v poměru 1 : 1 oproti nezředěnému. Zde se ukázalo, že nezředěný extrakt je mnohem toxičtější než zředěný. Ten se významně statisticky nelišil v průměrném počtu vyklíčených semen v porovnání s kontrolou. Byl však u něj prokázán inhibiční účinek na délku kořínků a hypokotylů (Tab. 4.). Nejtoxičtěji působil methanolvý extrakt, kdy nevyklíčila žádná semena hořčice. Dichlormethanový extrakt působil zcela netoxicky, nebyl zde prokázán žádný inhibiční účinek, jako v předchozích pokusech. Na základě vyhodnocení Tukeyho HSD testu se ani v jednom parametru (počet semen, délka kořínku, hypokotylu) nelišil od kontroly, lze však předpokládat, že by mohl mít tendenci ke stimulaci klíčivosti semen hořčice bílé.

Ze získaných výsledků vyplývá, že nejvíce toxické byly extrakty z nadzemních částí. Může to být tím, že součástí nadzemních částí byly i květy, které obsahují jiné množství a jiné spektrum látek. Bylo by vhodné tuto domněnku ověřit v dalších pokusech.

Tab. 4. Vliv vodných, methanolvých a dichlormethanových extraktů z kořenů na klíčivost semen hořčice bílé.

Rostlinný extrakt		Počet semen			Kořínek [mm]			Hypokotyl [mm]		
		Ø	SD	HSD	Ø	SD	HSD	Ø	SD	HSD
H <sub>2</sub> O	IG	6,00	3,46	a	0,53	0,40	a	0,13	0,15	a
H <sub>2</sub> O ř.	IG	24,60	2,97	b	3,66	0,56	b	1,73	0,24	b
	K	29,00	1,00	b	10,98	1,84	c	3,09	0,15	c
MeOH	IG	0,00	0,00	a	-	-	-	-	-	-
	K	28,00	1,87	b	8,15	3,74	-	4,19	1,15	-
DCM	IG	28,80	1,10	a	11,90	1,93	a	4,11	1,17	a
	K	28,00	1,87	a	9,93	1,01	a	3,33	0,22	a

Na Obr. 14. je vidět, že dichlormethanový extrakt měl vyšší klíčivost semen (96%) než u kontroly (95%). Výrazně toxicky působil methanolvý extrakt, po jehož působení nevyklíčila žádná semena. Též byl významný rozdíl mezi nezředěným vodným extraktem a ředěným. Bylo by vhodné provést test ještě se zředěným methanolvým extraktem, zda by měl podobný účinek.



Obr. 14. Vliv vodných, methanolových a dichlormethanových extraktů z kořenů na počet vyklíčených semen hořčice bílé.

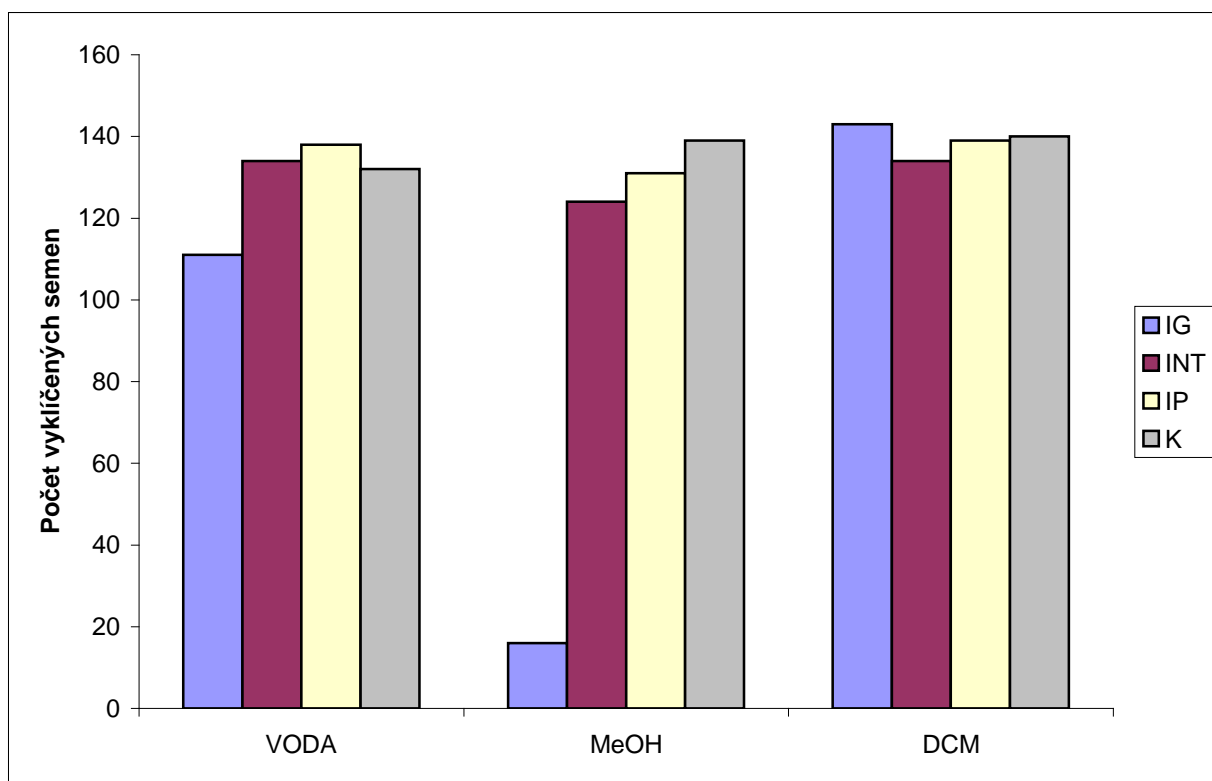
#### 4.2. Vliv extraktů na klíčivost semen řepky olejky

Po vyhodnocení vlivu jednotlivých extraktů z listů netýkavek na semena řepky olejky je zřejmé, že extrakty nepůsobily téměř toxicky na průměrný počet vyklíčených semen v porovnání s kontrolami, byl však viditelný signifikantní rozdíl v délce kořínků a hypokotylů (Tab. 5.). U vodných extraktů z netýkavky nedůtklivé a malokvěté je zřejmá mírná podpora klíčivosti semen řepky olejky. Zároveň je zde prokázán inhibiční účinek na délku kořínků a hypokotylů v porovnání s kontrolou. Nejúčinněji působil methanolový extrakt z netýkavky žláznaté. Methanolové extrakty z netýkavky nedůtklivé a malokvěté se podle Tukeyho HSD testu nelišily průměrným počtem vyklíčených semen řepky od kontroly a ani mezi sebou. Byl u nich však prokázán inhibiční účinek na délku kořínků a hypokotylů. Dichlormethanový extrakt z jednotlivých druhů netýkavek nepůsobil toxicky na počet vyklíčených semen a délku hypokotylů v porovnání s kontrolou a ani jednotlivé druhy se mezi sebou nelišily. Statisticky prokazatelný rozdíl byl pouze v průměrné délce kořínků. Látky vyextrahované dichlormethanovým činidlem z jednotlivých netýkavek působí na klíčivost semen podobně, v tomto případě není rozdílný vliv mezi druhem netýkavky.

Tab. 5. Vliv vodných, methanolových a dichlormethanových extraktů z listů na klíčivost semen řepky olejky.

Rostlinný extrakt		Počet semen			Kořínek [mm]			Hypokotyl [mm]		
		Ø	SD	HSD	Ø	SD	HSD	Ø	SD	HSD
H <sub>2</sub> O	IG	22,20	3,19	a	1,57	0,63	a	0,17	0,16	a
	INT	26,80	2,28	b	2,34	0,47	a	0,85	0,22	ab
	IP	27,60	1,52	b	2,24	0,56	a	1,39	0,65	b
	K	26,40	2,61	a	14,63	2,49	b	5,35	0,51	c
MeOH	IG	3,20	3,77	a	0,15	0,15	a	0,00	0,00	a
	INT	24,80	2,39	b	0,95	0,04	a	0,01	0,01	a
	IP	26,20	1,10	b	1,69	0,19	a	0,40	0,27	a
	K	27,80	1,30	b	20,13	1,95	b	6,01	0,66	b
DCM	IG	28,60	1,34	a	6,58	2,32	a	3,42	0,99	a
	INT	26,80	2,17	a	13,58	1,54	b	3,74	0,66	a
	IP	27,80	0,84	a	9,31	0,70	a	3,78	0,37	a
	K	28,00	1,58	a	16,69	1,39	c	2,70	0,40	a

Z Obr. 15. je vidět, že pouze methanolový extrakt z netýkavky žláznaté významně ovlivnil počet vyklíčených semen, u ostatních extraktů jednotlivých druhů se počet vyklíčených semen blížil počtu u kontrol, v některých případech byl vyšší než u kontroly. Průměrná klíčivost u kontroly byla 91,3%.



Obr. 15. Vliv vodných, methanolových a dichlormethanových extraktů z listů netýkavek na počet vyklíčených semen řepky olejky.

### 4.3. Vliv extraktů na klíčivost semen merlíku bílého

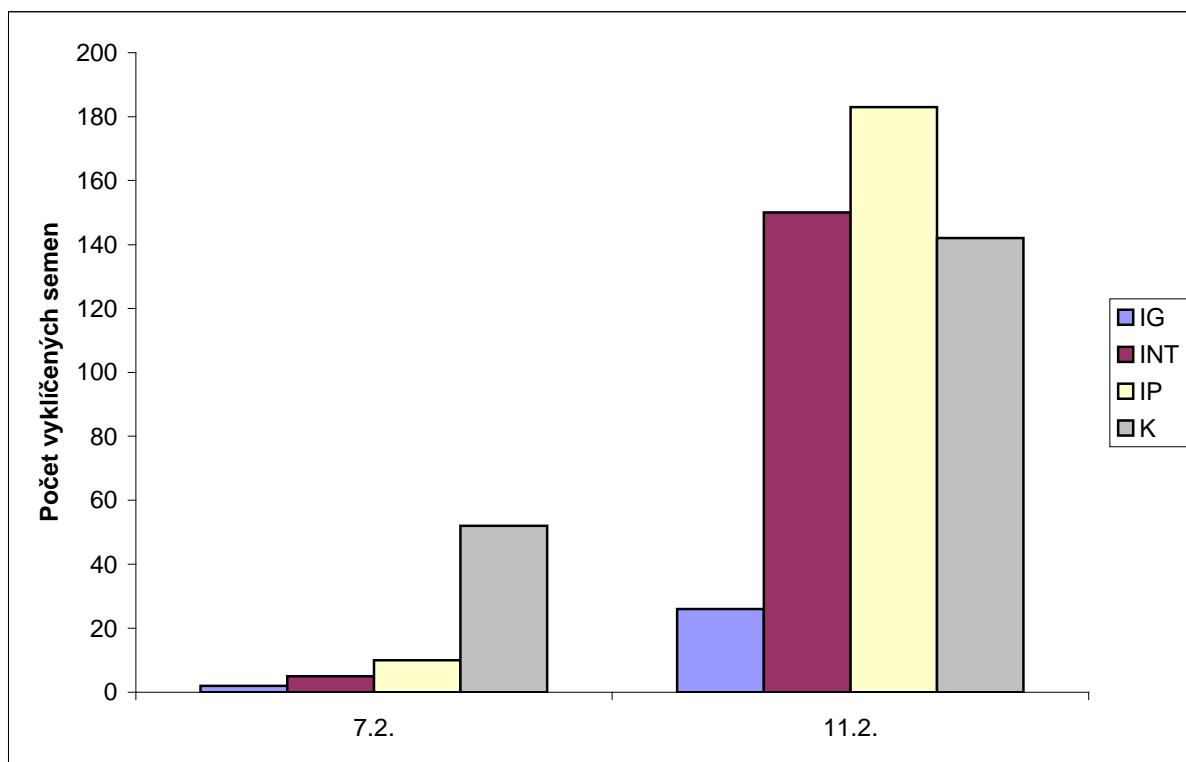
Následující tabulka 6. zobrazuje výsledky vlivu vodného extraktu z listů netýkavek na klíčivost semen merlíku bílého.

Zde bylo nutno provést dva odečty, protože při prvním odečítání semena téměř vůbec neklíčila. Po dalších čtyřech dnech bylo provedeno druhé odečítání. Při prvním odečítání byl prokazatelný rozdíl vlivu extraktů z netýkavek na průměrný počet vyklíčených semen merlíku v porovnání s kontrolou (Obr. 16.). Nebyl však prokazatelný rozdílný vliv na průměrný počet vyklíčených semen a na délku kořínků a hypokotylů mezi jednotlivými druhy netýkavek. Při druhém odečítání se nelišil vliv extraktů z netýkavky nedůtklivé na průměrný počet vyklíčených semen merlíku v porovnání s kontrolou. U netýkavky žláznaté a malokvěté byl prokázán inhibiční účinek na průměrnou délku kořínků. Vliv na průměrnou délku hypokotylů byl prokazatelný u netýkavky žláznaté. Působení extraktů z netýkavky nedůtklivé a malokvěté na průměrnou délku hypokotylů nebylo prokazatelné. Merlík má specifický způsob klíčení, odlišný od předchozích dvou rostlin. Tím, že má dlouhou dormanci a neklíčí všechna semena najednou, ale postupně, si zachovává odolnost vůči nepříznivým podmínkám.

Tab. 6. Vliv vodného extraktu z listů netýkavek na klíčivost semen merlíku bílého.

Datum odečtů		Počet semen			Kořínek [mm]			Hypokotyl [mm]		
		Ø	SD	HSD	Ø	SD	HSD	Ø	SD	HSD
7.2.	IG	0,20	0,45	a	0,02	0,00	ab	0,00	0,00	ab
	INT	0,40	0,55	a	0,07	0,07	a	0,00	0,00	a
	IP	0,60	0,89	a	0,03	0,01	a	0,00	0,00	a
	K	10,20	2,28	b	0,80	0,27	b	0,54	0,19	b
11.2.	IG	5,00	2,55	a	0,45	0,29	c	0,32	0,35	a
	INT	29,80	3,42	bd	10,09	2,54	ab	9,82	2,55	b
	IP	36,40	2,07	c	7,20	1,30	a	9,70	1,59	b
	K	28,00	2,35	d	14,09	4,07	b	9,22	1,83	b

Z Obr. 16. je zřejmé, že i po druhém odečtu vyklíčilo nejméně semen u netýkavky žláznaté. V porovnání s kontrolou (klíčivost 56,8 %) má extrakt z netýkavky nedůtklivé a malokvěté průkazné stimulační účinky na klíčivost semen merlíku bílého.

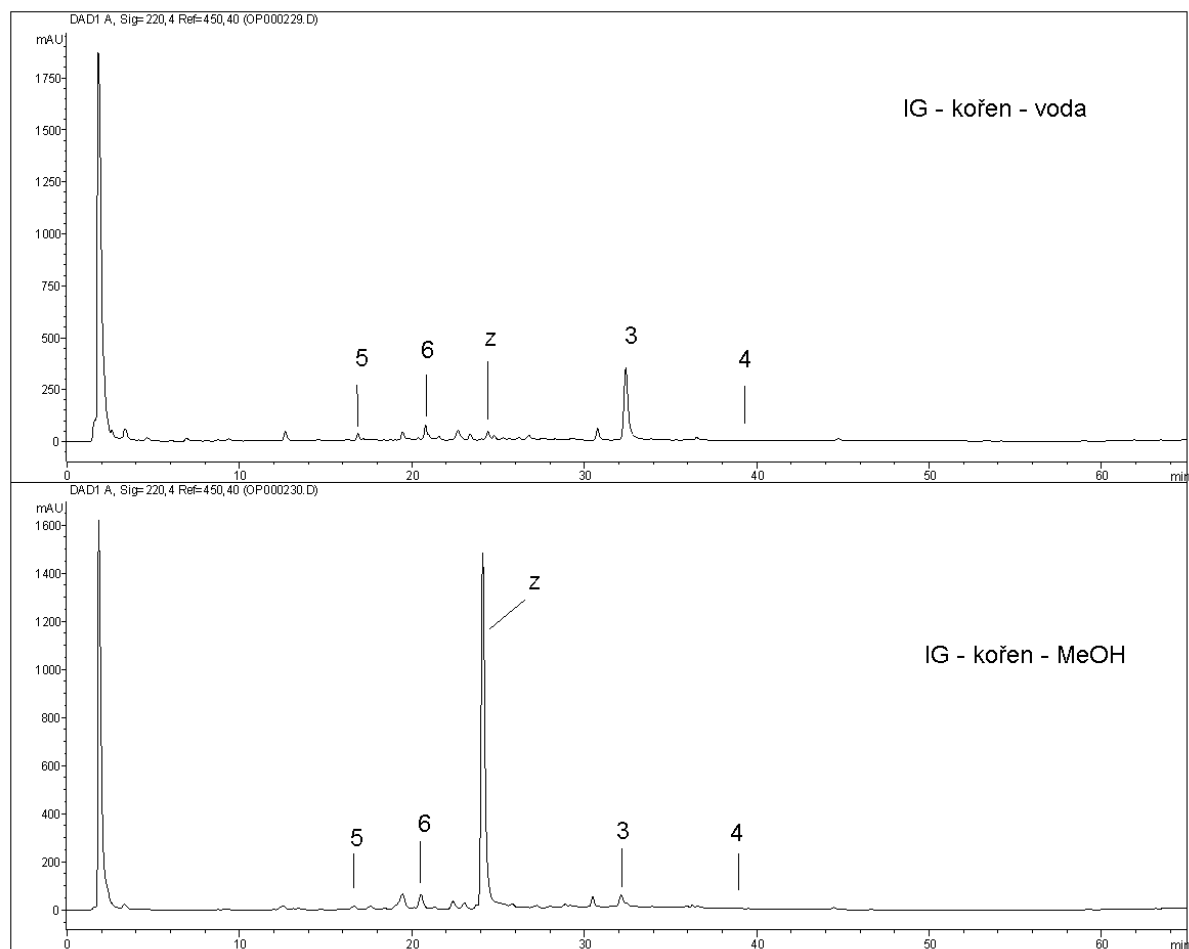


Obr. 16. Vliv vodného extraktu z listů netýkavek na počet vyklíčených semen merlíku bílého.

#### 4.4. Analýza extraktů na HPLC

Na následujících obrázcích jsou znázorněny chromatografické profily některých extraktů. Je zřejmé, že se liší chromatografické profily vodného od methanolového extraktu a liší se i chromatografické profily extraktů z listů mezi jednotlivými netýkavkami.

Na Obr. 17. je chromatografický profil methanolového extraktu z kořenu netýkavky žláznatě zřetelný dominantní vrchol neznámé látky. Je možné, že právě tato látka má silné toxické vlastnosti, musely by se ovšem provést testy toxicity pouze s touto izolovanou látkou.

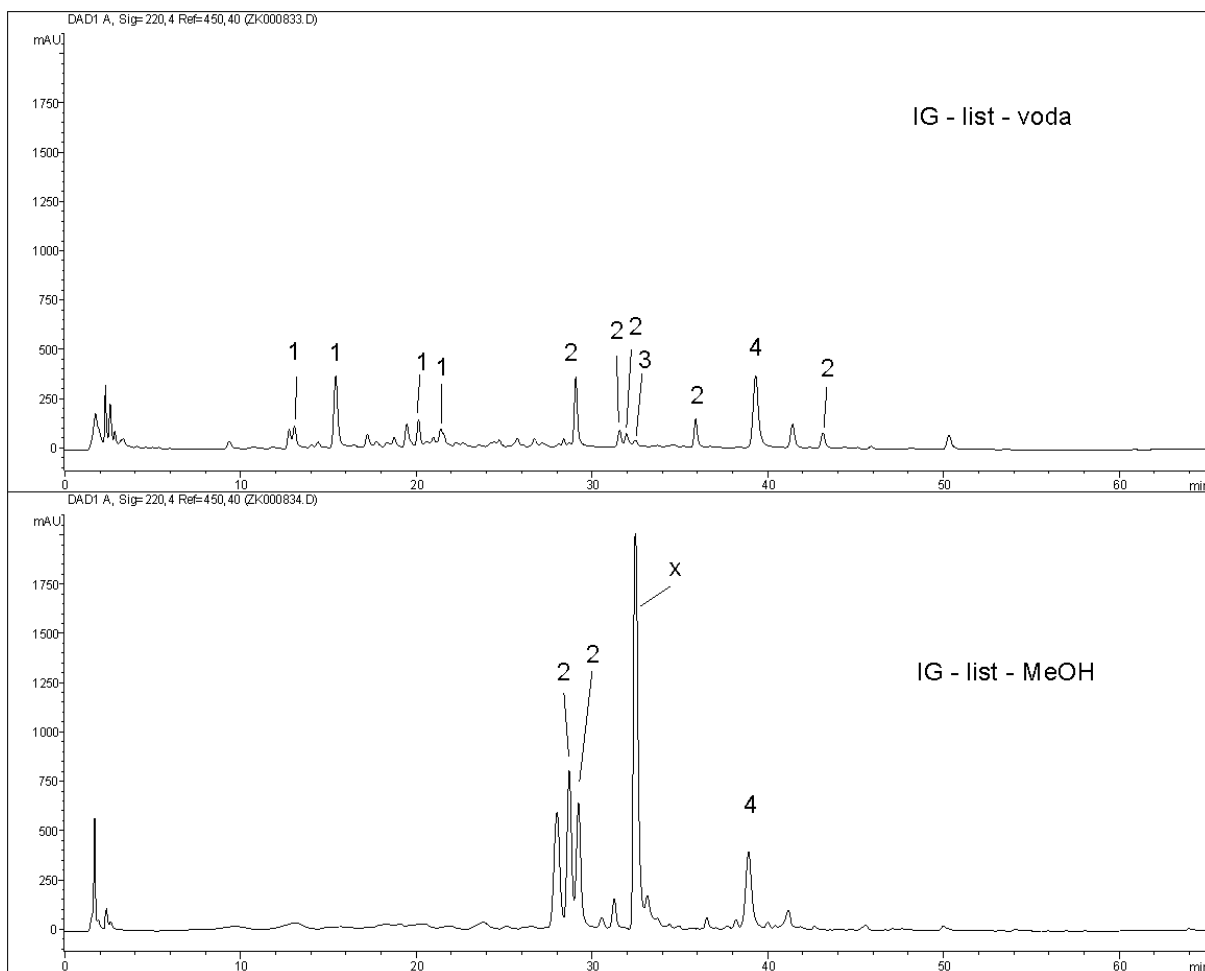


Obr. 17. Chromatografický profil vodného a methanolového extraktu z kořenů netýkavky žláznaté.

Vysvětlivky:

3: 2-hydroxy-1,4-naftochinon, 4: 2-methoxy-1,4-naftochinon, z: dominantní vrchol v methanolicském extraktu, neznámá látka, 5: katechin, 6: epikatechin

Při porovnání chromatografického profilu extraktů z listů (Obr. 18.) s profilem z kořenů netýkavky žláznaté je mezi nimi vidět rozdíl. V listech i kořenech byly detekovány oba naftochinony.

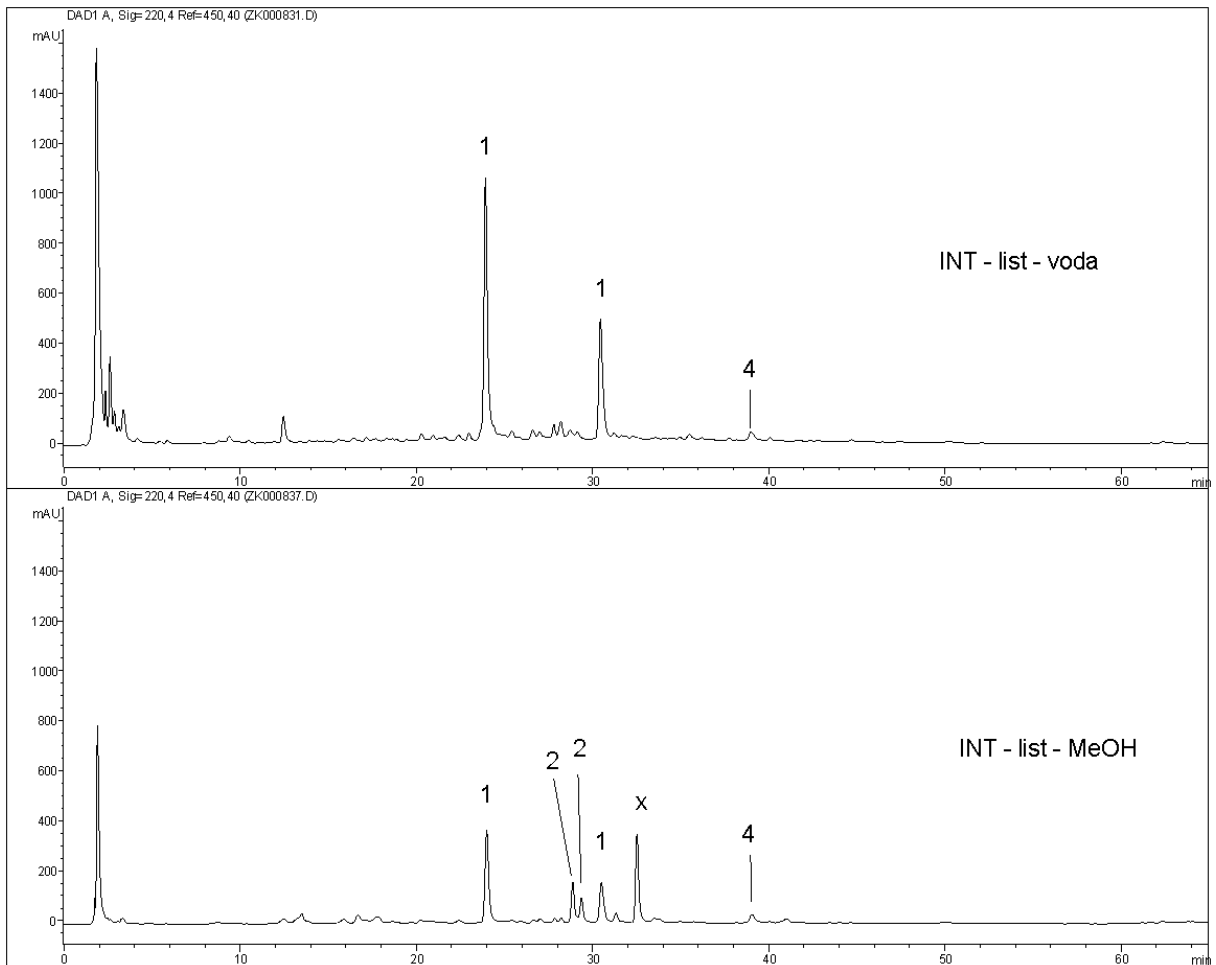


Obr. 18. Chromatografický profil vodného a methanolového extraktu z listů netýkavky žláznaté.

1: látky s podobným spektrem jako kávová kyselina, 2: látky s podobným spektrem jako kvercetin, 3: 2-hydroxy-1,4-naftochinon, 4: 2-methoxy-1,4-naftochinon, x: dominantní vrchol methanolickeho extraktu, neznámá látka

Po analyzování vodného extraktu z listů netýkavky nedůtklivé je zřejmý dominantní vrchol látek s podobným spektrem jako kávová kyselina (Obr. 19.).

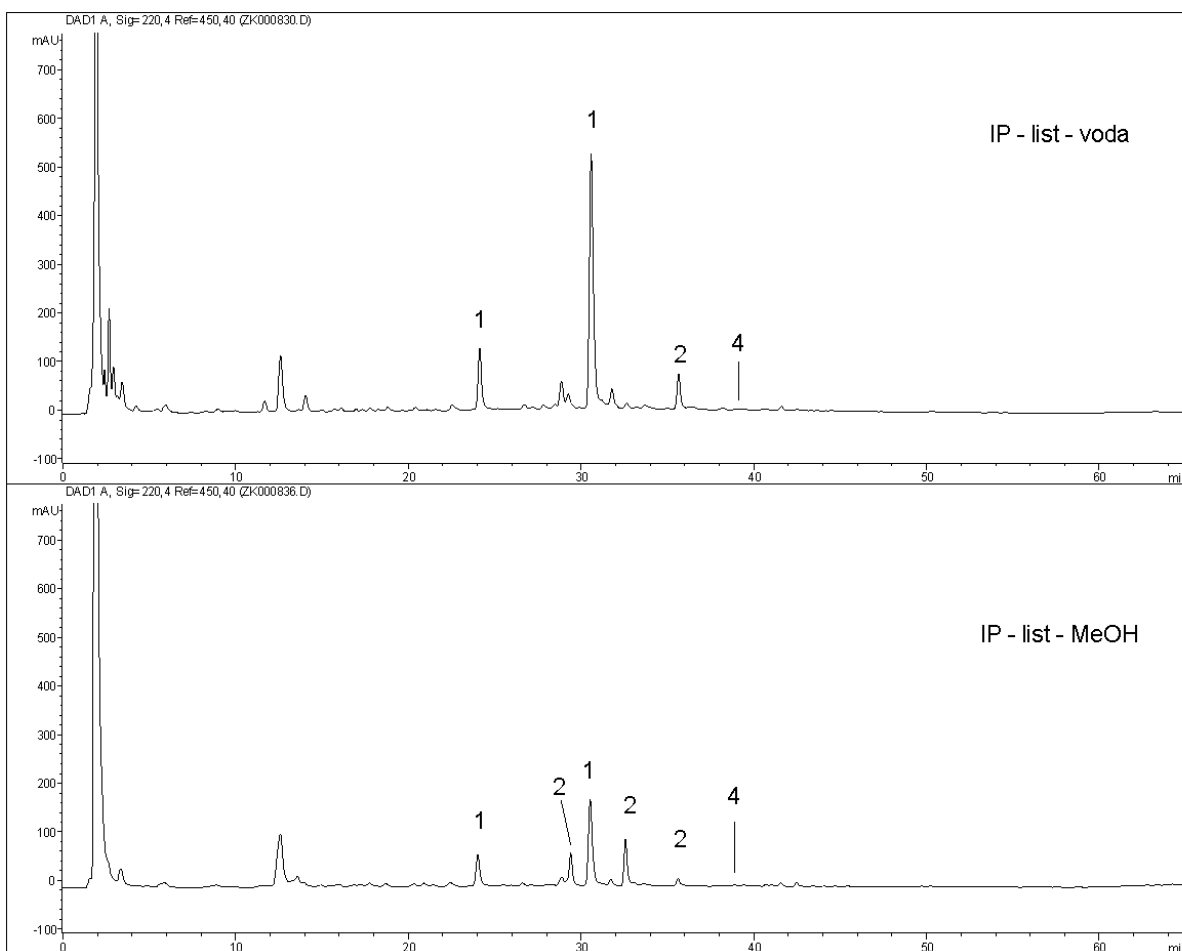




Obr. 19. Chromatografický profil vodného a methanolového extraktu z listů netýkavky nedůtklivé.

1: látky s podobným spektrem jako kávová kyselina, 2: látky s podobným spektrem jako kvercetin, 4: 2-methoxy-1,4-naftochinon, x: neznámá látka

Na chromatografickém profilu extraktů z listů netýkavky malokvěté (Obr. 20.) byl detekován dominantní vrchol látek s podobným spektrem jako kyselina kávová.



Obr. 20. Chromatografický profil vodného a methanolového extraktu z listů netýkavky malokvěté.

1: látky s podobným spektrem jako kávová kyselina, 2: látky s podobným spektrem jako kvercetin, 4: 2-methoxy-1,4-naftochinon

Vzhledem k tomu, že v současné době je velmi málo studií, které by se zabývaly chemickým složením a alelopatickými vlastnostmi netýkavek, nemohou zde dosažené výsledky být dostatečně porovnány s údaji v literatuře. Stanovením obsahu naftochinonů v druzích netýkavek se zabývá studie Lobstein et al. (2001), dále Šerá et al. (2005) a Vrchotová et al. (2008). Lobstein uvádí, že v listech, stoncích a květech netýkavky žláznaté byly identifikovány deriváty naftochinonů, a to 2-hydroxy-1,4-naftochinon, a 2-methoxy-1,4-naftochinon. Ty byly též detekovány na předchozích chromatografických profilech v listech a kořenech netýkavky žláznaté (Obr. 17. a 18.), už ale nebyly detekovány v listech netýkavky malokvěté a nedůtklivé, kde byl detekován pouze 2-methoxy-1,4-naftochinon. Je možné, že se zde nacházel i 2-hydroxy-1,4-naftochinon, ale byl v množství, které bylo pod hranicí detekce.

## 5. Závěr

Testy prokázaly toxicitu extraktů z rostlinných částí jednotlivých netýkavek. Toxicita se projevila dvěma způsoby. Buď došlo pouze k redukci délky kořínků a hypokotylů nebo současně došlo i ke snížení počtu vyklíčených semen. Alelopatické vlastnosti vykazovaly jak extrakty z listů, tak z celých nadzemních částí, tak i extrakty z kořenů. Silně toxicky působily především vodné a methanolové extrakty (snížení počtu vyklíčených semen i délky kořínků a hypokotylů). Methanolové extrakty byly mnohdy účinnější než vodné. Nejcitlivěji reagovala na působení extraktů z netýkavek semena hořčice bílé, na které působily nejtoxičtěji methanolové extrakty z kořenů netýkavky žláznaté a vodné extrakty z nadzemních částí netýkavky malokvěté. Z hlediska druhu byly nejvíce toxické extrakty z netýkavky žláznaté. Dichlormethanové extrakty nepůsobily toxicky na počet vyklíčených semen, ale působily toxicky na délku kořínků a hypokotylů, kterou výrazně snižovaly. Extrakty z listů netýkavek nepůsobily toxicky na počet vyklíčených semen řepky olejky, s výjimkou methanolového extraktu z listů netýkavky žláznaté, výrazně však snížily délku kořínků a hypokotylů. Na semena merlíku bílého působil nejtoxičtěji vodný extrakt z listů netýkavky žláznaté.

Extrakty působily toxicky na klíčení semen a na délku kořínků a hypokotylů, nebyla však testována jejich toxicita na již rostoucí rostliny. Z tohoto důvodu je zatím nelze doporučit pro přípravu bioherbicidů.

Do budoucna by bylo vhodné se zaměřit na jednotlivé frakce vodných a methanolových extraktů a na testování extraktů z květů netýkavek, především žláznaté.

Testy byly prováděny pouze v laboratorních podmínkách, proto by bylo dobré otestovat alelopatické působení např. ve sklenicích a přírodních stanovištích. Další směr výzkumu by mohl být zaměřen na působení extraktů z netýkavek na mikroorganismy a hmyz.

Dílní výsledky byly v průběhu diplomové práce ústně prezentovány na odborném semináři v Praze a dále publikovány (Krejčová et al., 2007; Vrchotová et al., 2008, Příloha 7. a 8.)

## 6. Literatura

- AICHELE, D. ET GOLTE-BECHTLE, M. (2005): Co tu kvete? Kvetoucí rostliny střední Evropy ve volné přírodě. Euromedia Group. ISBN 80-7202-808-1. p. 152, 200, 290, 368
- ALTERVISTA (2009): Botanica e vari ipertesti didattici. [online]. [cit. 23.3.2009]. <<http://luirig.altervista.org/>>
- AMBROŽOVÁ J. (2003): Aplikovaná a technická hydrobiologie. 2. vyd. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. ISBN 80-7080-521-8. p. 194-226
- BABULA, P., MIKELOVÁ, R., POTĚŠIL, D., KIZEK, R., HAVEL, L. ET SLADKÝ, Z. (2004): Naftochinony - výskyt v přírodě, biologické vlastnosti. In MendelNet04 Agro. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. ISBN 80-7157-813-4. p. 99-104 p.
- BARANOVIČ, R. (2009): Netykavka žliazkatá. Fotografie. [online]. [cit. 23.3.2009]. <<http://rastliny.nahuby.sk/atlas-rastlin/Impatiens-glandulifera/Netykavka-zliazkata/Netykavka-zlznata-/ID10183>>
- BATISH, D. R., SINGH, H. P., KOHLI, R. K., SAXENA, D. B. ET KAUR, S. (2002a): Allelopathic effects of parthenin against two weedy species, *Avena fatua* and *Bidens pilosa*. Environmental and Experimental Botany. Vol. 47. Nr. 2. p. 149-155
- BATISH, D. R., SINGH, H. P., SAXENA, D. B. ET KOHLI, R. K. (2002b): Weed suppressing ability of parthenin - a sesquiterpene lactone from *Parthenium hysterophorus*. New Zealand Plant Protection. Vol. 55. p. 218-221
- BATISH, D. R., SINGH, H. P., KOHLI, R. K., KAUR, S., SAXENA, D. B. ET YADAV, S. (2007): Assessment of Phytotoxicity of Parthenin. Zeitschrift für Naturforschung - C. Journal of biosciences. Vol. 62. Nr. 5-6. p. 367-72
- BECKER, S. (2001): Medical Attributes of *Impatiens sp.* - Jewelweed, Touch-me-not. [online]. [cit. 20.3.2009]. <<http://klemow.wilkes.edu/Impatiens.html>>
- BEERLING, D. J. ET PERRINS, J. M. (1993): *Impatiens glandulifera* Royle (*Impatiens roylei* Walp.). Journal of Ecology (Oxford), Vol. 81. Nr. 2. p. 367-382
- BERNARDS, M. (2001): Isolation of an antimicrobial compound from *Impatiens balsamina* L. using bioassay-guided fractionation. Phytother Res. 2001 Dec, 15(8). 676 – 80 p.
- BUDZIANOVSKI, J. (2000): Naphthoquinone glucosides of *Drosera gigantea* from in vitro cultures. Planta medica. Volume 66 (7), p. 667-669

- BURIAN, M. (2008): Netýkavka nedotklivá (*Impatiens noli-tangere*). Fotografie [online]. [cit. 23.3.2009].  
<[http://www.nahuby.sk/obrazok\\_detail.php?obrazok\\_id=113587&next\\_img\\_type=gallery](http://www.nahuby.sk/obrazok_detail.php?obrazok_id=113587&next_img_type=gallery)>
- BURKHART, K. ET NENTWIG, W. (2008): Control of *Impatiens glandulifera* (*Balsaminaceae*) by Antagonists in its Invaded Range. *Invasive Plant Science and Management*. Vol. 1. Nr. 4. p. 352-358
- CAI, X.-Z., LIU, K.-M. ET TIAN, S.-Z. (2008): *Impatiens rupestris* (*Balsaminaceae*), a New Species from Hunan, China. *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature*. Vol. 18. Nr. 1. p. 9-11
- CBD (1992): Convention on Biological Diversity. [online]. [cit. 10.4.2009].  
<<http://www.cbd.int/>>
- CONG, Y. Y., LIU, K. M. ET TIAN, S. Z. (2008): *Impatiens yaoshanensis* (*Balsaminaceae*), a new species from Yunnan, China. *Ann. Bot. Fennici*. Vol. 45. Nr. 2. p. 148-150
- CVRČKOVÁ K., VRCHOTOVÁ N., ŠERÁ B. ET KREJČOVÁ J. (2007): Příspěvek ke studiu alelopatických vlastností křídlatek. – 16 p., In: Konference ČBS. Rostlinné invaze v České republice: situace, výzkum a management, 30. 11. - 1. 12. 2007, Praha.
- ČSOP (2009): Nepůvodní (invazní) druhy rostlin. Český svaz ochránců přírody. [online]. [cit. 8.4.2009].  
<[http://www.csop.cz/index.php?cis\\_menu=1&m1\\_id=1002&m2\\_id=1028&m3\\_id=m3\\_id&m4\\_id=1704&m\\_id\\_old=1120](http://www.csop.cz/index.php?cis_menu=1&m1_id=1002&m2_id=1028&m3_id=m3_id&m4_id=1704&m_id_old=1120)>
- DATTA, S. ET SAXENA, D. B. (2001): Pesticidal properties of parthenin (from *Parthenium hysterophorus*) and related compounds. *Pest Manag Sci*. Vol. 57. Nr. 1. p. 95-101
- DERBYSHIRE FLORA PROJECT (2009): The Flora of Derbyshire - Checklist, Maps and Sample Accounts. [online]. [cit. 3.2.2009].  
<<http://www.derby.gov.uk/dccwebdev/museum/flora/flora.aspx?gotopage=about>>
- DING, Z. S., JIANG, F. S., CHEN, N. P., LV, G. Y. ET ZHU, C. G. (2008): Isolation and identification of an anti-tumor component from leaves of *Impatiens balsamina*. *Molecules*. Vol. 13. Nr. 2. p. 220-9
- EGGLI, U. (2002): Dicotyledons. Springer. ISBN 3540419667. p. 44
- EPPO (2009): Invasive alien plants - EPPO Lists and documentation. [online]. [cit. 23.3.2009]. <[http://www.eppo.org/QUARANTINE/ias\\_plants.htm](http://www.eppo.org/QUARANTINE/ias_plants.htm)>

- ESSL, F. ET WALTER, J. (2005): Neobiota in Österreich. In: Wallner, R.M. (Red.) Aliens. Neobiota in Österreich. Grüne Reihe des Bundesministeriums für Land-, und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft. Band 15. p. 48-100
- FLORACURA (2009): Miriana Flowers Bachblüten First Aid Creme (Notfall Creme, Erste Hilfe Creme). [online]. [cit. 20.3.2009]. <<http://www.floracura.com/bachblueten-creme-miriana-flow.php>>
- FLORAWEB (2009): FloraWeb - Daten und Informationen zu Wildpflanzen und zur Vegetation Deutschlands. [online]. [cit. 3.2.2009]. <<http://www.floraweb.de/>>
- FOLLAK, S. (2009): Institut für Pflanzengesundheit. Abteilung feld- und gartenbauliche Phytopathologie & Herbologie. E-Mailová komunikace ze 17.4.2009.
- GBIF (2009a): Classification of Family: *Balsaminaceae*. [online]. [cit. 23.3.2009]. <<http://data.gbif.org/species/browse/provider/1/taxon/13146167/>>
- GBIF (2009b): Genus: *Impatiens*. [online]. [cit. 23.3.2009]. <<http://data.gbif.org/species/13196892/>>
- HARBORNE, J.B. (1993): Introduction to Ecological Biochemistry. 4th ed. London. Academic Press. ISBN 0-12-324686-5. p. 244-294
- HAVSTEEN, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharm.Therap. Vol. Nr. 2-3. 96. p. 67-202
- HATCHER, P. E. (2003): *Impatiens noli-tangere* L. The Journal of Ecology. Vol. 91. No. 1. p. 147-167
- HEJDA, M. ET PYŠEK, P. (2006): What is the impact of *Impatiens glandulifera* on species diversity of invaded riparian vegetation? Biological Conservation. Vol. 132. Nr. 2. p. 143-152
- HEJDA M., PYŠEK P., PERGL J., SÁDLO J., CHYTRÝ M. ET JAROŠÍK V. (2009): Invasion success of alien plants: do habitats affinities in the native distribution range matter? Global Ecology and Biogeography. Vol. 18. Nr. 3. p. 372-382
- HERMAN, V. (2005): *Impatiens noli-tangere* L. - netýkavka nedůtklivá. Fotografie. [online]. [cit. 23.3.2009]. <<http://www.biolib.cz/cz/taxonimage/id70597/?taxonid=3587>>
- HIERRO, J. L. ET CALLAWAY, R. M. (2003): Allelopathy and exotic plant invasion. Plant and Soil, 256. Nr. 1. p. 29-39
- HISAE, O. ET ISHIGURO, K. (2002): Cyclooxygenase-2 Inhibitory 1,4-Naphthoquinones from *Impatiens balsamina* L.". Biol. Pharm. Bull. Vol. 25. Nr. 5. p. 658-660

- HOHTOLA, A., JALONEN, J., TOLONEN, A., JAAKOLA, L., KÄMÄRÄINEN, T., PAKONEN, M., KARPPINEN, K., LAINE, K., NEUBAUER, P., MYLLYKOSKI, L., GYÖRGY, Z., RAUTIO, A. ET PELKONEN OLAVI (2005): Natural product formation by plants; enhancement, analysis, processing and testing. Sustainable use of renewable natural resources — from principles to practices. University of Helsinki Department of Forest Ecology Publications 34. 1 – 10 p. [online]. [cit. 20.4.2009].  
<http://www.helsinki.fi/mmttk/mmeko/sunare>
- HOOSON, J. ET HAW, K. (2008): Reintroduction of the netted carpet moth *Eustroma reticulatum* to Derwentwater, The Lake District, Cumbria, England. Conservation Evidence (2008) 5, 80-82p.
- HORNÍK, J. (2009): Netykavka žláznatá (*Impatiens glandulifera* Royle). [online]. [cit. 23.3.2009].  
 <<http://www.centaurea.cz/invazni-rostliny/netykavka-zlznata-impatiens-glandulifera.html>>
- HRON, F. ET KOHOUT, V. (1988): Polní plevel - část speciální. Skriptum VŠZ Praha. p. 145
- HUA, L., PENG, Z. F., CHIA, L. S., GOH, N. K. ET TAN, S. N. (2001): Separation of Kaemferols in *Impatiens balsamina* Flowers by Capillary Electrophoresis with Electrochemical Detection. J. Chrom. A. Vol. 909 Nr. 2. p. 297-303
- HUANG, H.-C. ET CHOU, C.-H. (2005): Impact of plant disease biocontrol and allelopathy on biodiversity and agricultural sustainability. Plant Pathology. Bulletin 14 (1). p. 1-12
- HULME, P. E. (2006): Beyond control: wider implications for the management of biological invasions. Journal of applied ecology – Oxford. Vol. 43. Nr. 5. p. 835-847
- CHON, S.-U. ET KIM, J.-D. (2002): Biological activity and quantification of suspected allelochemicals from alfalfa plant parts. Journal of agronomy and crop science. Vol. 188. Nr. 4. p. 281-285
- CHOUKAS-BRADLEY, M. ET BROWN, T. T. (2004): An illustrated guide to eastern woodland wildflowers and trees: 350 plants observed at Sugarloaf Mountain, Maryland. University of Virginia Press. ISBN 0813922518. p. 162
- ISHIGURO, K., OHIRA, Y. A OKU, H. (1998): Antipruritic Dinaphthofuran-7,12-dione Derivatives from the Pericarp of *Impatiens balsamina*. J. Nat. Prod., 61, 1126-1129 p.
- JAKUBOWICZ-GIL, J., RZESKI, W., ZDZISINSKA, B., DOBROWOLSKI, P. ET GAWRON, A. (2008): Cell death and neuronal arborization upon quercetin treatment in rat neurons. Acta neurobiologiae experimentalis. Vol. 68. Nr. 2. p. 139-146

- JING, R.-W., LAU, K.-M., HON, P.-M., MAK, T. C. W., WOO, K.-S. ET FUNG, K.-P.(2005): Chemistry and biological activities of caffeic acid derivatives from *Salvia miltiorrhiza*. *Current medicinal chemistry*. Vol. 12. Nr. 2. p. 237-246
- JUNG, U. J., LEE, M. K., PARK, Y. B., JEON, S. M. ET CHOI, M. S. (2006): Antihyperglycemic and antioxidant properties of caffeic acid in db/db mice. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. Vol. 318. Nr. 2. p. 476-83
- KAHL, H. (1987): Allelopathic effects in the maize-quelites-agroecosystem of the *Tarahumara Indians*. *Journal of Agronomy and Crop Science*. Vol. 158. Nr. 1. p. 56-64
- KLEJDUS, B. ET KUBÁŇ, V. (1999): Rostlinné fenoly v allelopatii. *Chem. listy* 93, 243 – 248 p.
- KOBAYASHI K. (2004): Factors affecting phytotoxic activity of allelochemicals in soil. *Weed Biology and Management*. Vol. 4. Nr. 1. p.1-7
- KOCIÁN, P. (2009): Brukev řepka olejka. [online]. [cit. 10.4.2009].  
<<http://www.kvetenacr.cz/detail.asp?IDdetail=172>>
- KOČÍ, V. (2006): Význam testů toxicity pro hodnocení vlivů látek na životní prostředí. *Chem. Listy* 100. p. 882-888
- KOČÍ, V., RAKOVNICKÝ, T. ET ŠVAGR, A.(2001): Test semichronické toxicity se semeny *Sinapis alba*. Vysoká škola chemicko – technologická v Praze. Fakulta technologie ochrany prostředí. Ústav chemie ochrany prostředí. p. 1-3
- KRÁSA, P. (2009): *IMPATIENS GLANDULIFERA* Royle - netýkavka žláznatá / netýkavka Royleho. [online]. [cit. 23.3.2009]. <<http://www.botany.cz/cs/impatiens-glandulifera/>>
- KREJČOVÁ J., ŠERÁ B., VRCHOTOVÁ N. ET CVRČKOVÁ K. (2007): Příspěvek ke studiu alelopatických vlastností netýkavek. - 22-24 p., In: Interakce mezi rostlinami a patogenními mikroorganismy, Sborník příspěvků, Praha, 15.11.2007, VÚRV Praha.
- KRUSE, M., STRANDBERG, M. ET STRANDBERG, B. (2000): Ecological Effects of Allelopathic Plants – a Review. National Environmental Research Institute, Silkeborg, Denmark. NERI Technical Report No. 315. p. 66
- KŘENEK, L. (2007): Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů. Ministerstvo životního prostředí. Odbor odpadů. p. 14-16
- KUBÁT, K., HROUDA, L., CHRTEK, J. JUN., KAPLAN, Z., KIRSCHNER, J. ET ŠTĚPÁNEK, J. (2002): Klíč ke květeně České republiky. Academia. Praha. p. 452
- LAKHANPAL, P. ET RAI, D. K. (2007): Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*. Vol. 2. Nr. 2. p. 20-35



- LIM, E.-K., HIGGINS, G. S., LI, Y. ET BOWLES, D. (2003): Regioselectivity of glucosylation of caffeic acid by a UDP-glucose:glucosyltransferase is maintained in planta. *Biochem. J.* Vol. 373 Nr. 3. p. 987-992
- LIM, Y. H., KIM, I. H., ET SEO, J. J. (2007): In vitro activity of kaempferol isolated from the *Impatiens balsamina* alone and in combination with erythromycin or clindamycin against *Propionibacterium acnes*. *J. Microbiol.* Vol. 45. Nr. 5. p. 473-477
- LOBSTEIN, A., BRENNE, X., FEIST, E., METZ, N., WENIGER B. ET ANTON, R. (2001): Quantitative Determination of Naphthoquinones of *Impatiens* Species. *Phytochem. Anal.* 12. p. 202-205
- LVONČÍK, S. (2009): Státní Rostlinolékařská správa. Oddělení metod ochrany rostlin SRS. E-Mailová komunikace z 15.4.2009.
- MALIK, M. ET WILLIAMS, R.D. (2005): Allelopathic growth stimulation of plants and microorganisms. *Allelopathy Journal.* Vol. 16. Nr. 2. p. 175-198
- MALÍKOVÁ, L. (2003): Šíření a perzistence druhu *Impatiens glandulifera* Royle. Magisterská diplomová práce. Biologická fakulta Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. p. 4-6
- MAPY SEZNAM (2009): [online]. [cit. 8.3.2009]. <<http://www.mapy.cz/>>
- MIHULKA, S. ET HRÁZSKÝ, Z. (2007): Projekt VaV SPII2d1-37-07. Dynamika šíření invazních druhů rostlin v ČR za různých scénářů globální klimatické změny (2007-2010, MZP/SP). [online]. [cit. 30.3.2009]. <<http://aplikace.isvav.cvut.cz/projectDetail.do?rowId=SPII2D1%2F37%2F07>>
- MORÁVKOVÁ, K. (2009): Armillaria – základní organizace Českého svazu ochránců přírody. [online]. [cit. 8.4.2009]. <<http://www.armillaria.cz/profil.htm>>
- MORGAN, R. J. (2007): *Impatiens: The Vibrant World of Busy Lizzies, Balsams, and Touch-me-nots*. Timber Press. ISBN 9780881928525. 13 p.
- NEHRBASS, N., WINKLER, E. MÜLLEROVÁ, J., PERGL, J., ET PYŠEK, P. (2007): A simulation model of plant invasion: long-distance dispersal determines the pattern of spread. *Biol. Invasions.* 9. p. 383-395
- OKU, H. ET ISHIGURO, K. (2002): Cyclooxygenase-2 inhibitory 1,4-naphthoquinones from *Impatiens balsamina* L. *Biological & pharmaceutical bulletin.* Vol. 25. Nr. 5. p. 658-660
- PÁNEK, M. (2009): Referát monitoringu péče o přírodu a krajinu. E-Mailová komunikace ze dne 27.3.2009.

- PANICHAYUPAKARANANT, P., NOGUCHI, H., DE-EKNAMKUL, W. ET SANKAWA, U. (1995): Naphthoquinones and coumarins from *Impatiens balsamina* root cultures. *Phytochemistry*. Vol 40. Nr. 4. p. 1141-1143
- PATEL, S. U., OSBORN, R., REES, S. ET THORNTON, J. M. (1998): Structural studies of *Impatiens balsamina* antimicrobial Protein (Ib-AMP1). *Biochemistry*. Vol. 37. Nr. 4. p. 983-990
- PETLEY-JONES (2009): 1772 Netted Carpet *Eustoma reticulatum*. Fotografie. [online]. [cit. 17.3.2009]. <<http://ukmoths.org.uk/show.php?bf=1772>>
- PISKORZ, R. ET URBAŃSKA, M. (2007): Utilization of the invasive plant *Impatiens parviflora* DC. by the snail *Columella edentula* Draparnaud in oak-hornbeam forests. *Acta – societatis botanicorum poloniae*. Vol. 76. Nr. 1. p. 61-68
- PIETTA, P.G. (2000): Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* Vol. 63. Nr. 7. p. 1035-1042
- PROCHÁZKA, S., MACHÁČKOVÁ, I., KREKULE, J. ET ŠEBÁNEK, J. (1998): *Fyziologie rostlin*. 1. vyd. Praha. Academia. ISBN 80-200-0586-2. p. 423-430
- PYŠEK, P., PRACH, K. ET MANDÁK, B. (1998): Invasions of alien plants into habitats of Central European landscape: an historical pattern. – In: Starfinger U., Edwards K., Kowarik I. & Williamson M. (eds.): *Plant invasions: Ecological mechanisms and human responses*, p. 23–32, Backhuys Publishers, Leiden.
- PYŠEK, P. (1995): On the terminology used in plant invasion studies. - In: Pyšek P., Prach K., Rejmánek M. & Wade M. (eds.), *Plant invasions - General aspects and special problems*. SPB Academic Publ. Amsterdam. p. 71-81
- PYŠEK, P. ET PRACH, K. (1997): Invazní rostliny v české floře. *Zprávy Čes. Bot. Společ.* 32, Mater. 14, Praha. p. 7-12
- RAK, L. (2007): *IMPATIENS PARVIFLORA* DC. - netýkavka malokvětá / netýkavka malokvetá. [online]. [cit. 23.3.2009]. <<http://www.botany.cz/cs/impatiens-parviflora/>>
- RICHARDSON, D. M., PYŠEK, P., REJMÁNEK, M., BARBOUR, M. G., PANETTA, F. D. ET WEST, C. J. (2000): Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity & Distributions*. Oxford. Vol. 6. Nr. 2. p. 93-107
- RŮŽIČKA, T. (2009): Státní rostlinolékařská správa. Vedoucí odboru ochrany proti škodlivým organismům. E-Mailová komunikace ze dne 27.3.2009
- SANKAWA, U. (1995): Naphthoquinones and coumarins from *Impatiens balsamina* root cultures. *Phytochemistry*. Vol. 40. Nr. 4. p. 1141-1143

- SAMAD, M. A., RAHMAN, M. M., HOSSAIN, A. K. M. M., RAHMAN, M. S. ET RAHMAN S. M. (2008): Allelopathic effects of five selected weed species on seed germination. *J. Soil. Nature*. Vol. 2. Nr. 2. p. 13-18
- SCHMITZ, G. (1997): *Impatiens glandulifera* Royle (*Balsaminaceae*), Drüsiges Springkraut. [online]. [cit. 17.4.2009].  
<<http://www.floraweb.de/neoflora/handbuch/impatiensglandulifera.html>>
- SLAVÍK B. (1996): Rod *Impatiens* v České republice. *Preslia*. Praha. 67. p. 193-211
- STATISTICA (1999). A comprehensive system for statistics, graphics, and application development.
- SONG, H. S., PARK, T. W., SOHN, U. D., SHIN, Y. K., CHOI, B. C., KIM, C. J. ET SIM, S. S. (2008): The Effect of Caffeic Acid on Wound Healing in Skin-incised Mice. *Korean J Physiol Pharmacol*. Vol. 12. Nr. 6. p. 343-347
- ŠERÁ, B., VRCHOTOVÁ, N. ET TRÍSKA, J. (2005): Phenolic compounds in the leaves of alien and native *Impatiens* plants. 281 – 282 p., In: Alford D.V. & Backhaus G.F. (eds), 2005 BCPC symposium proceedings No. 81, Plant protection and plant health in Europe: Introduction and spread of invasive species, Page Bros, Norwich.
- ŠERÁ B., VRCHOTOVÁ N., CVRČKOVÁ K. ET KREJČOVÁ J. (2008): Příspěvek ke studiu alelopatických vlastností křídlatek. - *Zpr. Bot. Společ.*, Praha, 43, Mater. 23. p. 141-150.
- TANNER, R. (2009): The biological control of Himalayan balsam (*Impatiens glandulifera*) in the UK. Phase 2. [online]. [cit. 23.3.2009].  
<<http://www.cabi.org/ProjectsDetail.asp?ProjectID=354>>
- TATSUZAWA, F., SAITO, N., MIKANAGI, Y., SHINODA, K., TOKI, K., SHIGIHARA, A. ET HONDA, T. (2009): An unusual acylated malvidin 3-glucoside from flowers of *Impatiens textori* Miq. (*Balsaminaceae*). *Phytochemistry*. Vol. 70. Nr. 5. p. 672-674
- TELA BOTANICA (2009): Le réseau de la botanique francophone. [online]. [cit. 2.2.2009].  
<<http://www.tela-botanica.org/>>
- THEVISSSEN, K, FRANÇOIS, I. E., SIJTSMA, L., VAN AMERONGEN, A., SCHAAPER, W. M., MELOEN, R., POSTHUMA-TRUMPIE, T., BROEKAERT, W. F. ET CAMMUE, B. P. (2005): Antifungal activity of synthetic peptides derived from *Impatiens balsamina* antimicrobial peptides Ib-AMP1 and Ib-AMP4. *Peptides*. Vol. 26. Nr. 7. p. 1113-9
- TOPAL, S. ET KOCAÇALIŞKAN, I. (2006): Allelopathic effects of dopa against four weed species. *D.P.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. Sayı: 11. Eylül. p. 27-32

- USDA (2009): United States Department of Agriculture. Plants database. [online]. [cit. 2.2.2009]. <<http://plants.usda.gov/>>
- VANTINE, M. ET VERLINDEN, S. (2003): Organic weed management. WVU Extension Service Tom McConnell. Extension Farm Management Specialist and Program Leader. [online]. [cit. 23.3.2009]. <<http://www.wvu.edu/~agexten/farmman2/organic/weedmang.pdf>>
- VELÍŠEK, J. (2002): Chemie potravin. 3. Vyd. 2. Tábor: OSSIS. ISBN 80-86659-02-3. p. 31-32
- VRCHOTOVÁ N., ŠERÁ B. ET KREJČOVÁ J. (2008): Allelopathic activity of extracts from *Impatiens* species (Balsaminaceae). - p. 202, In: 6th International Symposium on Chromatography of Natural Products, The Application of Chromatographic Methods in Phytochemical and Biochemical Analysis, June 15-18, 2008, Lublin, Poland.
- WOLF, M. (2007): In der Spur des Menschen: biologische Invasionen in aller Welt- ein didaktisches Konzept zur gleichnamigen Ausstellung des Botanischen Gartens der Universität Potsdam. GRIN Verlag. ISBN 9783638713689, p. 29
- WU, H., PRATLEY, J., LEMERLE, D., AN., M. ET LIU, D. L. (2007): Autotoxicity of wheat (*Triticum aestivum* L.) as determined by laboratory bioassays. Plant Soil. Vol. 296. Nr. 1. p. 85-93
- YANG, X., SUMMERHURST, D. K., KOVAL, S. F., FICKER, CH., SMITH, M. L. ET BERNARDS, M. (2001): Isolation of an antimicrobial compound from *Impatiens balsamina* L. using bioassay-guided fractionation. Phytother Res. Vol. 15. Nr. 8. p. 676-80
- ZÁKONY ČR: Zákon č. 114/1992 Sb., zákon o ochraně přírody a krajiny
- ZÁKONY ČR: Zákon č. 326/2004 Sb. o rostlinolékařské péči a o změně některých souvisejících zákonů
- ZÁKONY ČR: Vyhláška č. 330/2004, o opatřeních proti zavlékání a rozšiřování škodlivých organismů rostlin a rostlinných produktů
- ZÁKONY ČR: Vyhláška č. 493/2006, kterou se mění vyhláška č. 330/2004 Sb., o opatřeních proti zavlékání a rozšiřování škodlivých organismů rostlin a rostlinných produktů, ve znění pozdějších předpisů
- ZDSF (2009): Zentrum des Datenverbundnetzes der Schweizer Flora. [online]. [cit. 6.3.2009]. <<http://www.crsf.ch/>>

- ZHAO, X.Y., SUN, H. D. ET WU, J. Z. (2005): Studies on chemical constituents from rhizome of *Impatiens pritzellii* var. hupehensis. Zhongguo Zhongyao Zazhi / China Journal of Chinese Materia Medica. VOL 30; Nr. 8, p. 584-586
- ZHOU, X.-F., ZHAO, X.-Y., TANG L., RUAN H.-L., ZHANG Y.-H., PI H.-F., XIAO W.-L., SUN H.-D. ET WU J.-Z. (2007a): Three new triterpenoid saponins from the rhizomes of *Impatiens pritzellii* var. hupehensis. J Asian Nat Prod Res. Vol. 9. Nr. 3-5. p. 379-85
- ZHOU, X.-F. , ZHAO, X.-Y., TANG, L., RUAN, H.-L., ZHANG, Y.-H., PI, H.-F., XIAO, W.-L., SUN, H.-D. ET WU, J.-Z. (2007b): Immunomodulatory activity of the rhizomes of *Impatiens pritzellii* var. hupehensis on collagen-induced arthritis mice. Journal of ethnopharmacology. Vol. 109. Nr. 3. p. 505-509

## 7. Seznam příloh

Příloha 1. Mapy výskytu netýkavek v Anglii a Francii

Příloha 2. Mapy výskytu netýkavek v Německu a Švýcarsku

Příloha 3. Mapy výskytu netýkavek v Itálii a USA

Příloha 4. Píďalka síťkovaná (*Eustroma reticulata*)

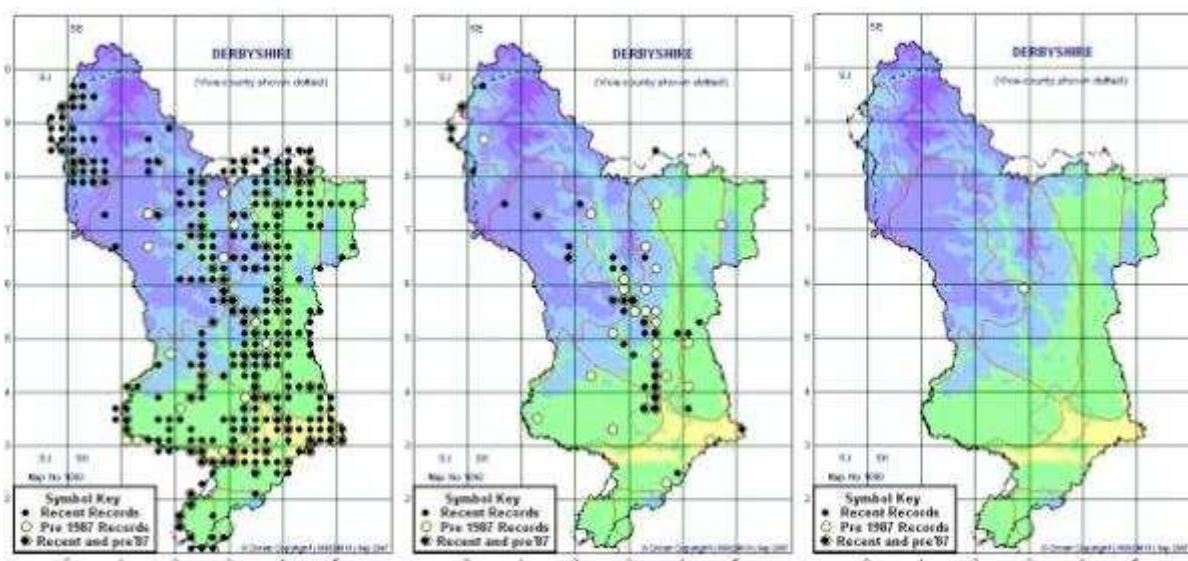
Příloha 5. Mapy lokalit sběru rostlinného materiálu

Příloha 6. Semena hořčice bílé, řepky olejky a merlíku bílého

Příloha 7. Presentované dílčí výsledky na odborném semináři v Praze

Příloha 8. Poster z mezinárodního symposia v Polsku

Příloha 1. Mapy výskytu netýkavek v Anglii a Francii



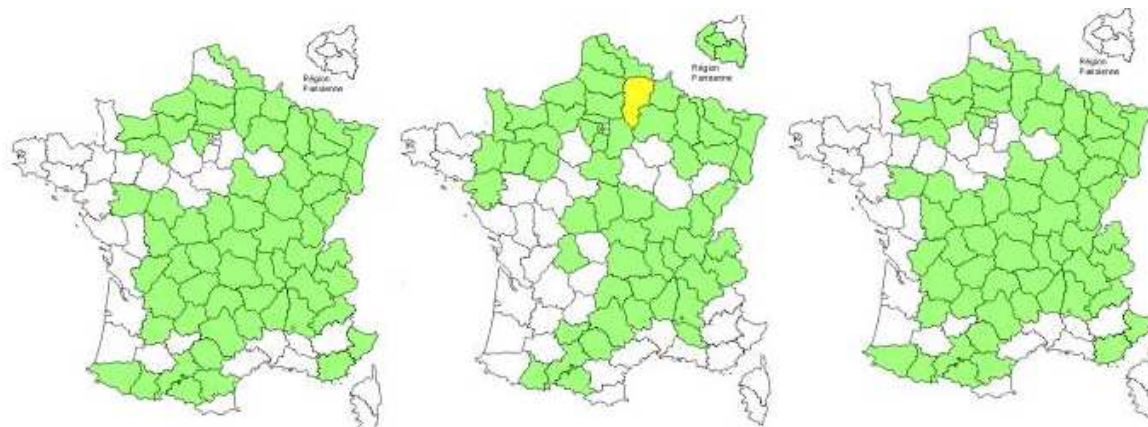
*Impatiens glandulifera*

*Impatiens parviflora*

*Impatiens noli-tangere*

Mapy výskytu netýkavek v Anglii, ze září 2007, Derbyshire Flora Project (2009)

Legenda: černé body značí současný výskyt, bílé značí výskyt před r. 1987



*Impatiens glandulifera*

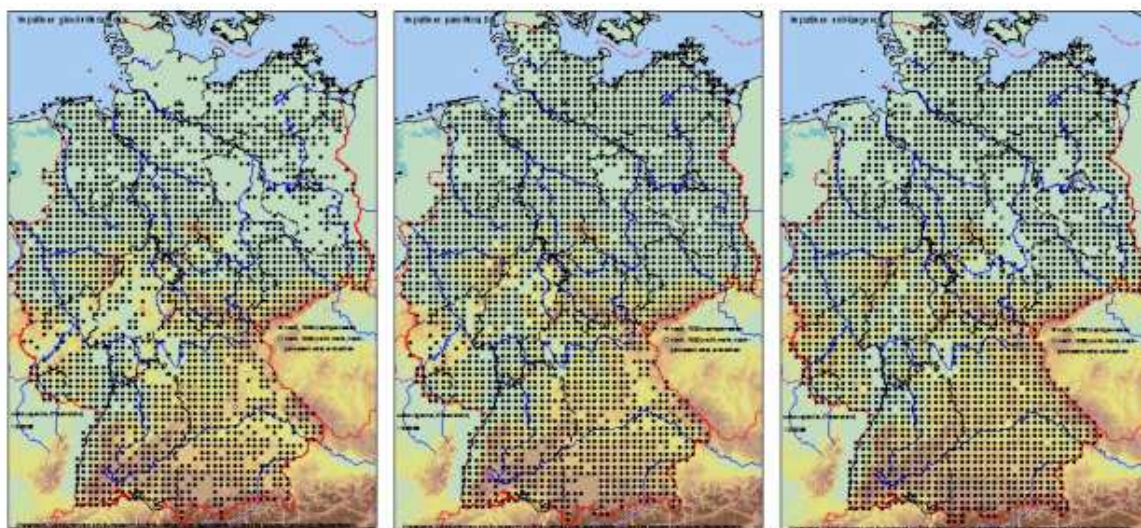
*Impatiens parviflora*

*Impatiens noli-tangere*

Mapy výskytu netýkavek ve Francii, z dubna 2008, Tela botanica (2009)

Legenda: zelená a žlutá barva značí výskyt, bílá nepřítomnost druhu

Příloha 2. Mapy výskytu netýkavek v Německu a Švýcarsku



*Impatiens glandulifera*

*Impatiens parviflora*

*Impatiens noli-tangere*

Mapky výskytu netýkavek v Německu, z prosince 2006, FloraWeb (2009)

Legenda: černé body značí výskyt příslušného druhu



*Impatiens glandulifera*



*Impatiens parviflora*



*Impatiens noli-tangere*

Mapky výskytu netýkavek ve Švýcarsku, z října 2007, (ZDSF, 2009)

Legenda: Zelené a šedé body značí výskyt



Příloha 3. Mapy výskytu netýkavek v Itálii a USA



*Impatiens glandulifera*



*Impatiens parviflora*



*Impatiens noli-tangere*

Mapy výskytu netýkavek v Itálii (AlterVista, 2009)

Legenda: zelené oblasti značí výskyt netýkavek



*Impatiens glandulifera*



*Impatiens parviflora*



*Impatiens noli-tangere*

Mapy výskytu netýkavek v USA (USDA, 2009)

Legenda: zelené oblasti značí výskyt netýkavek

Příloha 4. Píd'alka síťkovaná (*Eustroma reticulata*)



Larva píd'alky síťkované na netýkavkce nedůtklivé  
(Foto: Rob Petley-Jones, Uk moths, 2009)

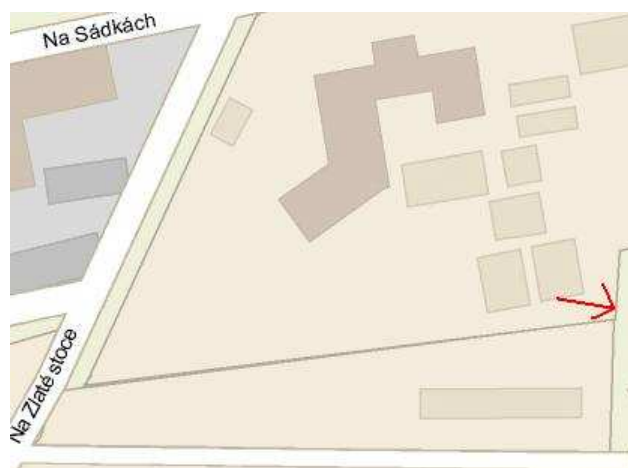


Dospělý motýl (můra) píd'alka síťkovaná  
(Foto: Rob Petley-Jones, Uk moths, 2009)

Příloha 5. Mapy lokalit sběru rostlinného materiálu



Sběr *I. parviflora* a *I. noli-tangere*  
(GPS: 48°52'N, 14°33'E)



Sběr *I. parviflora*  
(GPS: 48°58'N, 14°27'E)



Sběr *I. glandulifera* (GPS: 48°48'N, 14°28'E)



Sběr *I. glandulifera* (GPS: 48°55'N, 14°26'E)

(Mapy Seznam, 2009)

Příloha 6. Semena hořčice bílé, řepky olejky a merlíku bílého



Semena hořčice bílé



Semena řepky olejky



Semena merlíku bílého (USDA, 2009)



Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.  
Praha 6 - Řezyňe

## Interakce mezi rostlinami a patogenními mikroorganismy

### Obsah

2-7	L. Věchet: Význam interakcí hostitel-patogen a poznávací systémy v interakci hostitel-patogen.
8-11	B. Kokotková: Zkosenosti s biologickou ochranou proti spále rážokvětých rostlin ve světě a v České republice
12-15	A. Hamzalová: Pyrenophora tritici-repentis (Drechs.) Drechs. v České republice.
16-18	L. Věchet: Interakce pšenice ozimá (Triticum aestivum) a padlí travní (Blumeria graminis f.sp. tritici) v infekčním procesu.
19-21	V. Dumanalová, M. Fajferová, P. Bartoš: Biologické interakce mezi ozimou pšenicí a mrazovým sčítaním Tilletia tritici, T. laevis a T. controversa.
22-24	J. Krejčová, B. Šerá, N. Vrchelová, K. Cvrliková: Příspěvek ke studiu alelopatických vlastností netýkavců.
25-27	J. Hýsel, M. Vaňh: Biologická interakce mezi patogeny a antiagonistickými organismy u jarního ječmene.
28-32	L. Věchet, L. Burketová: Inhibovaná rezistence rostlin. Inhibovaná rezistence pšenice k padlí travnímu Blumeria graminis f.sp. tritici.
33-39	V. Šašák, B. Korbelová, L. Burketová: Antioxidanti mechanismy a signální dráhy. Role aktivované při napadení Lepidoptera trawu hruš.
40-47	M. Švec: Poplachový mechanismus nepříjemné rezistence při pšenicí.
48-53	D. Novotný: Příspěvek k poznání endofytické mykózy obilny větvi a listů jabloní a jejich vztahu k fytopatogenům houbovým.
54	Závěr.

5. odborný seminář  
15.11.2007.

## Příspěvek ke studiu alelopatiky či vlastnosti neřikavce

J. Krčková<sup>1</sup>, B. Šerá<sup>2</sup>, N. Vrchotová<sup>2</sup>, K. Čvrčková<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Biologická univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, Studená 13, České Budějovice, CZ-370 05

<sup>2</sup>Ústav systematické biologie a ekologie AV ČR, v.v.i., Hranická 31, České Budějovice, CZ-370 05

e-mail: [mad@ucb.cas.cz](mailto:mad@ucb.cas.cz)

Řed *Impatiens patii* do čeledi *Burmanniaceae* a polývyt severní polohou a pásmo tropů. V centrální Evropě roste tři druhy: *Impatiens noli-tangere* L., *I. parryifera* DC. a *I. glandulifera* Royce (Kubel et al. 2002). Jsou to jednokvěté byliny rostoucí na vlhké hlinité půdě. *I. noli-tangere* (neřikavka medláková) je původním druhem osídlením listnaté lesy a keřoviny. *I. parryifera* (neřikavka malokvětá) je velmi podobná předcházejícímu druhu, ale pochází z Asie a má nejne nároky jako předtím druh. *I. glandulifera* (neřikavka hlíznatá) pochází z Himalájí a od předcházejících druhů se liší především značnou výškou (1 – 3 m) a červenofialovými květy. Kolem na všech třech poddělích se šíří např. Pyšek Praha 1994).

Začleno *I. burmannu* je chemicky velmi podobné: stávkovní, fenolické látky v *I. glandulifera*, *I. noli-tangere*, *I. parryifera* jsou popsány jen velmi málo, stejně tak jako biogenné vlastnosti extraktů.

V nadzemních částech *I. glandulifera*, *I. noli-tangere*, *I. parryifera* byly identifikovány naphochinony (Lobstein et al. 2001, Šerá et al. 2005), deriváty kvercetinů (glykosidy flavonoidů) a deriváty křovité kyseliny (Šerá et al. 2005). U naphochinonů (např. 2-methoxy-1,4-naphochinon) jsou studány allelochemické a pesticidní vlastnosti ([www.zrz.zim.gov.pl/doi/](http://www.zrz.zim.gov.pl/doi/)).

V současně době se bada různých rostlinných naphochinonů testuje ve farmakologii, v terénu in vitro vykazují cytotoxické účinky na nádorové buňky (Babula et al. 2006a, Babula et al. 2006b). Také flavonoidy a deriváty křovité kyseliny jsou biogenné aktivní látky ([www.zrz.zim.gov.pl/doi/](http://www.zrz.zim.gov.pl/doi/)).

Nášim cílem bylo osvětlit extrakty z neřikavce na klíčivost semen a prokázat tak jejich allelopatické vlastnosti (in vivo).

### Extrakt

Z listů dvou druhů neřikavce (*I. noli-tangere*, *I. glandulifera*) byly připraveny tři typy extraktů: vodný, methanolový a dichlormethanový. *I. parryifera* byla extrahována jen vodou. 3,5 g sušených, jemně rozemletých listů bylo extrahováno 2 hod 80 ml dechlorované vody, methanolu nebo dichlormethanu. Extrakty byly následně filtrovány přes aktivované filtry, sediment prony 2 x 15 ml extrakčního činidla, následně opět filtrace. Filtráty byly spojeny a výsledný objem byl upraven na 100 ml.

### Typy klíčivosti

Testy byly prováděny na pěti skleněných Petriho miskách pro každý typ extraktu (vodný, methanolový a dichlormethanový) a pro kontrolu.

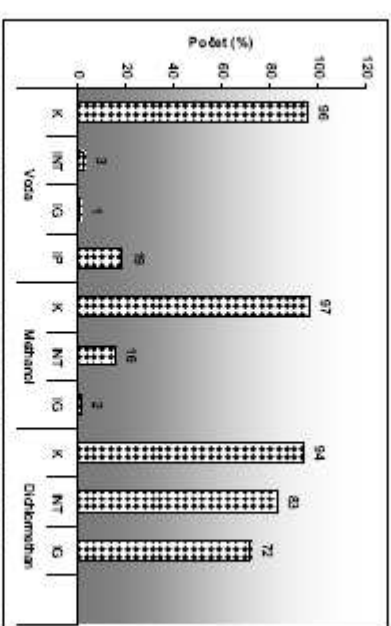
Použití byly misky o průměru 9 cm a jako podklad pro klíčení tři filtrační papíry (KAF). Do každé misky bylo naseto 6 ml extraktu nebo v případě kontrolních pokusů 6 ml extrakčního činidla (voda, methanol nebo dichlormethan). Petriho misky obsahující methanol nebo dichlormethan (suk extrakty, tak kontroly) byly poselány při pokojové teplotě do 48 dnů, než se z nich odpařil methanol nebo dichlormethan. Pak bylo teprve na povrch filtračních papírů naseto 6 ml dechlorované vody.

Do každé připravené misky bylo vloženo 30 semen hořčice bílé (*Leucorhagus arbo* L.). Pro testování každého typu extraktu (nebo kontroly) bylo použito celkem 150 semen. Misky byly uzavřeny a inkubovány 48 hod ve tmě při teplotě cca 22°C. Po ukončení inkubace byla počítána vyklíčená semena a měřeny délky jejich kořínků a hypocotylů.

Získané výsledky ukazují na silnou toxicitu extraktů neřikavce na klíčivost semen hořčice bílé.

V závěru, kde byly použity vodné a methanolové extrakty neřikavce, většina semen vůbec nevyklíčila (obr. 1). Délky kořínků byly také ve srovnání s kontrolními vzorky nepatrné, hypoko byl 1 měřeni jen v pokuse s vodným extraktem *I. parryifera*.

Obrázek 1: Počet vyklíčených semen hořčice bílé po působení vodného, methanolového a dichlormethanového extraktů z neřikavce. Kontrola (K), neřikavka medláková (NNT), n. hlíznatá (IG), n. malokvětá (IP).



V pokusech s použitím dichlormethanových extraktů vyklíčilo více jak 70% semen, ale délka kořínků a hypocotylů byla náhodně násobně menší než v kontrole (Tab. 1, Tab. 2). Dichlormethanové extrakty obsahují nepolární látky, které jsou ve vodě nerozpustné nebo jen málo rozpustné. Domníváme se tudíž, že tyto látky málo pronikají do semen.

Tab. 2: Délky kořínků a hypocotylů u klíčících semen hořčice bílé po působení vodného a methanolového a dichlormethanového extraktů z neřikavce. Neřikavka malokvětá (IP), neřikavka medláková (NNT) a neřikavka hlíznatá (IG).

Kontrolní extrakt	Kontrola		Hypocotyl		
	Průměr	SD	Průměr	SD	
Vodný	IP	0,49	1,13	0,17	0,75
	NNT	0,04	0,23	0,00	0,00
	IG	0,03	0,26	0,00	0,00
Methanolový	NNT	0,16	0,37	0,00	0,00
	IG	0,02	0,14	0,00	0,00
	NNT	5,25	4,79	1,37	1,60
Dichlormethanový	IG	4,77	5,08	1,17	1,97

Následující plánované pokusy na semenech jiných roztlin (např. plevelů) by mohly být odvozeny na základě využitelnosti těchto extraktů v ochranné roztlině.

#### Literatura

- Babula P., Mäčelová R., Adam V., Kizek R., Havel L., Štáblý Z. (2006a): Narkotizovaný – bioogenez, výšky a metabolismus v rostlinách. *Česká a slovenská farmacie* 58, 151-159.
- Babula P., Mäčelová R., Adam V., Poříšil D., Zdeněk J., Kizek R., Havel L., Štáblý Z. (2006b): Chromatografické stanovení narkotizovaní v rostlinách. *Chem. Listy* 100, 271-276.
- Loebstein A., Brenne X., Feist E., Metz N., Wenger B., Anton R. (2001): Quantitative determination of Naphthoquinones of *Impatiens* species. *Phytochemical analysis* 12, 202-205.
- Kubel K., Hrochová I., Čížek J. jun., Kaplan Z., Kirschner J., Štěpánek J. [ed.] (2002): *Klíče ke květené České republice*. Academia, Praha.
- Pyšek P., Prach K. (1994): How important are rivers for supporting plant invasions? 19-26 p., In: de Waal L. C. et al. [ed.], *Ecology and management of invasive plants*, John Wiley & Sons Ltd.
- Šedl B., Vrchotová N., Trška J. (2005): Phenolic compounds in the leaves of alien and native *Impatiens* plants. 281-282 p., In: *Introduction and Spread of Invasive Species*, Berlin, Germany.

Tato práce byla financována grantem Ministerstva zemědělství ČR č. QH72117 a výzkumným záměrem ÚSBE AV ČR, v.v.i. č. AV0260870520.

#### Dodatek

Tabulka 1: Délka kořínků a hypokotylů klíčících rostlin hořčice bílé v kontrolním místě.

<b>Extracní činidlo</b>	<b>Průměr [mm]</b>	<b>SD [mm]</b>
Voda	Kořinek 16,39 Hypokotyl 5,30	8,26 2,81
Metanol	Kořinek 16,23 Hypokotyl 3,58	8,15 2,13
Dichlormetan	Kořinek 17,69 Hypokotyl 4,61	8,87 2,39

Příloha 8. Poster z mezinárodního symposia v Polsku

Medical University of Lublin  
Chair and Dept. of Pharmacognosy with Medicinal Plant Unit,  
Faculty of Pharmacy, Medical University of Lublin  
The Committee of Therapy and Drug Research of the Polish Academy of Sciences  
The Polish Society of Phytochemistry  
The Phytochemical Society of Europe



**6<sup>th</sup> INTERNATIONAL SYMPOSIUM  
ON CHROMATOGRAPHY  
OF NATURAL PRODUCTS (ISCNP)**

***THE APPLICATION OF CHROMATOGRAPHIC METHODS  
IN PHYTOCHEMICAL & BIOMEDICAL ANALYSIS***

**ABSTRACTS**

**JUNE 15-18, 2008  
LUBLIN (POLAND)**



## ORGANIZERS

Medical University of Lublin, Faculty of Pharmacy  
Chair and Dept. of Pharmacognosy with Medicinal Plant Unit

### SYMPOSIUM CHAIRMAN

K. Głowniak (Lublin, Poland)

### In co-operation with:

The Committee of Therapy and Drug Research of the Polish Academy of Sciences  
The Polish Society of Phytochemistry, The Phytochemical Society of Europe

### Patronage of the Symposium

Prof. Dr. Andrzej Książek – Rector of Medical University of Lublin

## HONORARY COMMITTEE

President – Ewa Kopacz – Minister of Health (Republic of Poland)  
Prof. Dr. Wojciech Kostowski – President of VI<sup>th</sup> Division of Medical Sciences  
of the Polish Academy of Sciences  
Prof. Dr. Mirosława Furmanowa – President of The Committee on Therapy and Drug  
Research of the Polish Academy of Sciences  
Zofia Ulz – Main Pharmaceutical Inspector  
HE Thakur Phanit – Ambassador of Kingdom of Thailand  
Genowefa Tokarska – Voivode of Lublin Province  
Krzysztof Grabczuk – Marshal of Lubelskie Region  
Dr. Adam Wasilewski – Mayor of the City of Lublin  
Prof. Dr. Maciej Latański – President of the Scientific Council of Polish Ministry of Health  
Prof. Dr. Jan Gliński – President of the Lublin Branch of the Polish Academy of Sciences  
Prof. Dr. Janusz Pluta – President of the Polish Pharmaceutical Association

## INTERNATIONAL SCIENTIFIC COMMITTEE

Y. Asakawa (Tokushima, Japan)	T. Kowalska (Katowice, Poland)
K.H.C. Baser (Eskisehir, Turkey)	K.H. Kubeczka (Margetshoechheim, Germany)
R. Bauer (Graz, Austria)	T.J. Mabry (Austin, USA)
C. Bicchi (Turin, Italy)	D.G. Nagle (Mississippi, USA)
G.K. Bonn (Innsbruck, Austria)	J. Reichling (Heidelberg, Germany)
I. Chinou (Athenes, Greece)	A.L. Skaltsounis (Athenes, Greece)
W. Cisowski (Gdańsk, Poland)	E. Soczewiński (Lublin, Poland)
H. Frank (Bayreuth, Germany)	B.N. Timmermann (Lawrence, USA)
D.A. Guo (Beijing, China)	A. Vlietinck (Antwerp, Belgium)
Y.V. Heyden (Brussels, Belgium)	R. Verpoorte (Leiden, Netherlands)
K. Hostettmann (Geneve, Switzerland)	H. Wagner (Munich, Germany)
R. Kaliszan (Gdańsk, Poland)	M. Waksmundzka-Hajnos (Lublin, Poland)
J. Karlsen (Oslo, Norway)	T. Wolski (Lublin, Poland)
B. Kopp (Vienna, Austria)	J.K. Zjawiony (Mississippi, USA)

## LOCAL ORGANIZING COMMITTEE

T. Baj,	A. Józefczyk	M. Kwietniewski	E. Majcher	Ł. Świątek
M. Bartnik	M. Kozyra	A. Ludwiczuk	T. Mroczek	J. Widelski
M. Hajnos	S. Kwiatkowski	A. Machalska	K. Skalicka-Woźniak	G. Zgórka

**ILLUSTRATIONS** Krystyna Głowniak & Anna Głowniak-Lipa

© Copyright by Medical University of Lublin, Faculty of Pharmacy, 2008;  
1 Raclawickie Av., 20-059 Lublin

**ISBN 978-83-923841-2-0**

**ALLELOPATHIC ACTIVITY OF EXTRACTS  
FROM *IMPATIENS* SPECIES (*BALSAMINACEAE*)**

Naděžda Vrchotová<sup>1</sup>, Božena Šerá<sup>1</sup>, Jana Krejčová<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Systems Biology and Ecology AS CR,  
Braníšovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

<sup>2</sup>University of South Bohemia, Faculty of Agriculture,  
Studentská 13, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

The aim was to study allelopathic effect of various extracts from *Impatiens noli-tangere*, *I. parviflora* and *I. glandulifera*. The allelopathic effect was tested on seed germination and early growth of young plants. The seeds of White Mustard and Oilseed Rape were incubated with the extracts under laboratory conditions for two days. We monitored the differences in number of germinated seeds, length of radicles, hypocotyls and in RSR ratio between the control and treated seeds. Inhibitory effect of all extracts was significant. The differences in toxic impact were evaluated by ANOVA test. The highest impact was revealed in water and methanolic extracts.

**Acknowledgements:** This study was supported by Czech Ministry of Agriculture No. QH72117 and by the Research Intention of ISBE AS CR No. AV0Z60870520.

## Allelopathic activity of extracts from *Impatiens* species.

### Germination test on *Leucosinapis alba* and *Brassica napus* seeds

Naděžda Vrchotová<sup>1</sup>, Božena Šeráň<sup>1</sup>, Jana Krejčová<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Systems Biology and Ecology AS CR, Braníšovské 31, CZ-37005 Česká Budějovice, Czech Republic  
<sup>2</sup>University of South Bohemia, Faculty of Agriculture, Studentská 13, CZ-37005 Česká Budějovice, Czech Republic



*Impatiens glandulifera*  
(Himalayan Balsam)

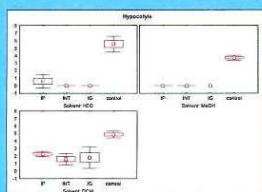
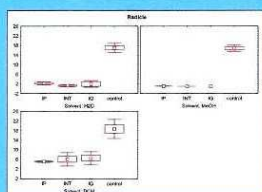
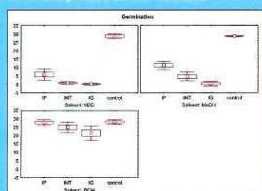


*Impatiens noli-tangere*  
(Touch-me-not Balsam)

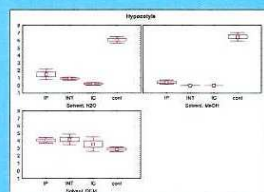
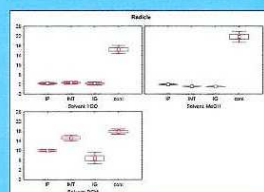
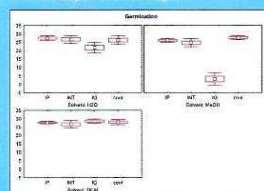


*Impatiens parviflora*  
(Small Balsam)

Tested seeds:  
*Leucosinapis alba* (White Mustard)



*Brassica napus* (Oilseed Rape)



#### Introduction

While the content of chemical compounds in *Impatiens balsamina* is well known, only little was studied the content and biological activity of phenolic compounds from *I. glandulifera* Royte, *I. noli-tangere* L., *I. parviflora* DC. In the aboveground parts of *Impatiens glandulifera*, *I. noli-tangere*, *I. parviflora* have been identified naphthochinons, derivatives of quercetin (glucosides) and the derivatives of caffeic acid. It was mentioned, that naphthoquinones (e.g. 2-methoxy-1,4-naphthoquinone) have allelochemical and pesticide-like effects ([www.ars-rn.gov/duke](http://www.ars-rn.gov/duke)).

At the present time, various naphthoquinones of plant origin are pharmacologically tested. They revealed cytotoxic effect on the cancer cells in vitro. Flavonoles and derivatives of caffeic acid have also an interesting biological effect.

The aim of our study was testing the extracts from above mentioned *Impatiens* species on germination of seeds and proof their phytotoxic (allelopathic) effect.

#### Experimental section

**Extract preparation.** We have prepared nine types of extracts (solvents: water, methanol, dichloromethan) from the leaves of *Impatiens* species (species: *I. glandulifera*, *I. noli-tangere*, *I. parviflora*). The dried and pulverized plant material (3.5 g) was extracted by 80 mL of the above mentioned solvent for two hours. Consequently the extracts were filtered through glass filters, sediments were washed twice with 15 mL of the solvent used for extraction. The extracts were filtered, joined and filled up to 100 mL.

**Germination test.** The test of germination has been performed on the glass Petri dishes. On the filter papers have been applied 6 mL of tested extract (in the control 6 mL of extracting solvent). The Petri dishes have been left to evaporate the solvents (methanol and dichloromethane) at laboratory temperature. When the solvents were evaporated we have applied 6 mL of distilled water. After it we have put on each Petri dish 30 seeds of *Leucosinapis alba* or *Brassica napus*.

Then the dishes were transferred into thermostat and incubated at 22°C for 48 hours. The germinated seeds were counted and the lengths of radicle and hypocotyle were manually measured.

**Data processing.** The statistical data processing was performed on two levels by Student's t-test and by Two factorial ANOVA.

#### Results

- The obtain results showed strong phytotoxicity of the substances present in the extracts on germination of seeds of *Leucosinapis alba* and *Brassica napus*.
- The effect of extracts on the germination of tested seeds differs.
- The most important solvent factor on growth and germination of both seed species had methanol.
- Very small effect was found in dichloromethane.
- The highest inhibitory effect from all tested *Impatiens* species on both sorts of seeds had *I. glandulifera*.

**Acknowledgment.** The funding for this research was provided by grant Czech Ministry of Agriculture No. QH72117 and by the Research Intention of ISBE AS CR AVOZ60870320.