

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMEDĚLSKÁ FAKULTA
KATEDRA OBECNÉ PRODUKCE ROSTLINNÉ

Studijní program : Zemědělské inženýrství

Studijní obor : provozně podnikatelský

**Vliv elicitálního působení biologických hnojiv na obsah účinných látek
v rostlině *Echinacea purpurea***

Diplomová práce

**Vedoucí diplomové práce :
Prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.**

**Autor :
Barbora Fuhrmannová**

2006

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Jméno a příjmení: Barbora Fuhrmannová

Studijní program: 4101 T Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Provozně podnikatelský obor

Název tématu: Vliv elicitálního působení biologických hnojiv na obsah účinných látek v rostlině *Echinacea purpurea* (L.) Moench.

Zásady pro vypracování: (v zásadách pro vypracování uveďte cíl práce a metodický postup)

Cílem práce je ověřit účinek elicitorů na obsah vybraných farmakologicky účinných látek v rostlině *Echinacea purpurea* (L.) Moench. 1) Proveďte literární rešerši na téma:

- a) Vliv elicitorů na zvýšení obsahu účinných látek v rostlinách *Echinacea purpurea*
 - b) Botanická charakteristika, způsob pěstování, hnojení, ochrany a agrotechniky rostliny *Echinacea purpurea*
 - c) Chemické složení a účinné látky rostliny *Echinacea purpurea*
 - d) Biologická hnojiva na bázi bakteriálních kultur
- 2) Proveďte nádobový či maloparcelkový experiment s modelovými rostlinami *Echinacea purpurea* se třemi různými typy biologických hnojiv.
- 3) Připravte extrakty účinných látek z vypěstovaných rostlin *Echinacea purpurea*.
- 4) Ve spolupráci s konzultanty stanovte chromatograficky v extraktech množství vybraných farmakologicky účinných látek.
- 5) Výsledky statisticky zpracujte a vyhodnoťte a práci vypracujte v souladu s materiálem „Obecné zásady pro vypracování diplomové práce“.

Rozsah grafických prací: dle potřeby

Rozsah průvodní zprávy: 40 – 70 stran textu + barevná fotodokumentace experimentu

Seznam odborné literatury:

- Bauer R., Wagner H. (1990): Echinacea Handbuch für Ärzte, Apotheker und andere Naturwissenschaftler. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 182 s.
- Biologická hnojiva – metodický materiál pracovníků Institutu mikrobiologie Akademie věd provincie Hebei, ČLR. 6. ročník mezinárodního kurzu „Biologická hnojiva“
- Vrchotová N. a kol. (2002): Extrakce a analýza fenolických látek z třapatky nachové (*Echinacea purpurea* (L.) Moench.). Chemické listy, 96, 7, 636-639
- Ignatov A. et al. (1996): Elicitation of dihydrobenzophenanthridine oxidase in *Sanguinaria Canadensis* cell cultures. Phytochemistry, 43 (6), 1141-1144
- Kolář L. a kol. (1998): Vliv nadbytku dusíku ve výživě *Echinacea purpurea* (L.) Moench. na tvorbu jejích účinných látek. Rostlinná výroba, 11, 489-495


Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Stanislav Kužel, CSc.


Konzultant: Ing. Jiří Špička, CSc., Mgr. Petr Cígler, Mgr. Martin Hrubý

Datum zadání diplomové práce: 11. 3. 2003

Termín odevzdání diplomové práce: 30. 4. 2005

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


prof. Ing. Rostislav Ledvina, CSc.
Vedoucí katedry


prof. Ing. Jan Frelich, CSc.
Děkan

V Českých Budějovicích dne 11. března 2003

ntu

nie věd

inaria

ench.

Hrubý

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma **vliv elicitálního působení biologických hnojiv na obsah účinných látek v rostlině *Echinacea purpurea*** vypracovala samostatně a na základě vlastních zjištění a materiálů, pod vedením prof. Ing. Stanislava Kužela, CSc., které uvádím v seznamu použité literatury.

24. 11. 2006

Jakubmannová

Děkuji svému diplomovému vedoucímu prof. Ing. Stanislavu Kuželovi, CSc. za vedení mojí práce, dále konzultantům doc. Ing. Jiřímu Špičkovi, CSc., Mgr. Martinu Hrubému, PhD., Mgr. Petru Cíglerovi, PhD. a Ing. Tamaře Pelikánové z Ústavu katedry chemie a učitelství chemie v Českých Budějovicích za cenné rady, pomoc a spolupráci při stanovování obsažných látek v rostlinách.

Obsah

1. ÚVOD.....	6
1.1 Cíl práce.....	7
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	8
2.1 Historický pohled	8
2.2 Botanická charakteristika	10
2.3 Agrotechnika	12
2.3.1 Množení, setí a výsadba	12
2.3.2 Hnojení	13
2.3.3 Ochrana rostlin	14
2.3.4 Sklizeň	15
2.4.5 Posklizňová ošetření.....	16
2.4 Chemické složení a obsahové látky.....	17
2.4.1 Alkaloidy	17
2.4.2 Flavonoidy	17
2.4.3 Fytoncidy	18
2.4.4 Glykosidy	18
2.4.5 Saponiny	19
2.4.6 Slizy	19
2.4.7 Hořčiny	20
2.4.8 Silice	20
2.4.9 Třísloviny	21
2.4.10 Organické kyseliny	21
2.4.11 Balastní látky	21
2.5 Účinné látky rodu <i>Echinacea purpurea</i>	23
2.5.1 Kyselina cichorová	23
2.5.2 Deriváty kyseliny kávové	25
2.5.3 Éterické oleje	27
2.5.4 Sloučeniny polyacetylenového typu.....	27
2.5.5 Alkylamidy	28
2.5.6 Alkaloidy	28
2.5.7 Echinacein	29
2.5.7 Polysacharidy	29
2.5.8 Echinacin	30
2.6 Vliv elicitorů na zvýšení obsahu účinných látek v rostlinách <i>Echinacea purpurea</i>	31
2.6.1 Elicitace a imunita	32
2.6.2 Abiotické elicitory	33
2.6.3 Biotické elicitory	36
2.7 Biologická hnojiva.....	38
2.7.1 Vývoj biologických hnojiv v Číně a ve světě.....	38
2.7.2 Důvod výroby biologických hnojiv mobilizujících půdní fosfor	39

2.7.3 Charakteristika hlavních kultur používaných bakterií uvolňujících fosfor.....	40
2.7.4 Postup výroby biologických hnojiv mobilizujících půdní fosfor	42
2.7.5 Účinky biologických hnojiv na různé plodiny (HM0332)	43
2.7.6 Mechanismus zvyšování výnosu při použití biologických hnojiv mobilizujících půdní fosfor	45
2.7.8 Další údaje o mikroorganismech rozpouštějících fosfor	47
2.7.9 Národní průmyslový standard biologických hnojiv na mobilizujících půdní fosfor	49
3. METODIKA.....	51
3.1 Pěstování, aplikace hnojiv a sklizeň rostlin.....	51
3.2 Extrakce	53
3.2.1 Příprava vzorku pro identifikaci účinných látek	53
3.2.2 Obsah základních živin v půdě.....	54
3.4 Analýza vzorků.....	57
4. VÝSLEDKY.....	57
4.1 Vyhodnocení analýzy rozptylu.....	71
4.2 Vyhodnocení růstových charakteristik	72
5. DISKUSE	73
6. ZÁVĚR.....	76
7.PŘÍLOHY	77
8. SEZNAM LITERATURY.....	108

1. ÚVOD

Stále více lidí si v dnešní době začíná uvědomovat, že stav našeho životního prostředí velmi často negativně ovlivňuje náš zdravotní stav. Proto tito lidé prchají z moderního světa do přírody. Další možností ochrany před negativním působením civilizace je posilování obranyschopnosti organismu.

Farmaceutické firmy, které přináší na trh velké množství často chemických přípravků, investují do výzkumu látek podporujících imunitu mnoho času i značné finanční prostředky. Zřejmě i pro to se stále častěji setkáváme s velmi kladným ohlasem na možnosti využívání léčiv přírodních.

Pravdou je, že rostliny jsou nenahraditelným zdrojem vitamínů, vlákniny, apod., a že mohou i léčit, ale na druhou stranu si musíme uvědomit, že užívání léčivých rostlin je spíše preventivní a pokud chceme léčit přímo nějakou chorobu, je vždy nutná konzultace s lékařem.

Díky bylinám se dá předejít mnoha nemocem při užití v počátečním stádiu choroby, u mnoha chorob jsou byliny vhodnou doplňkovou léčbou a v některých případech mohou neutralizovat vedlejší vlivy chemických léků. Právě mezi ně patří výrobky z třapatky nachové (*Echinacea purpurea*), která je předmětem mé diplomové práce.

Echinacea představuje silně působící imunostimulační prostředek. Nejvíce účinných látek se nachází v kořenech, ale lze využívat i nachové okvětní lístky. V listech je účinných látek méně. Léčivý účinek je zřejmě dílem celého komplexu těchto látek.

Obsahuje estery mastných kyselin, jejichž řetězením vznikají farmakologicky vysoce aktivní látky. Sušením se část účinných látek ztrácí, navíc některé z nich jsou špatně vyluhovatelné do vody. Nejvhodnější lékovou formou je tedy tinktura připravená z čerstvé suroviny. Spektrum její účinnosti je poměrně široké – působí protibakteriálně, ale její největší síla tkví v prevenci a virových onemocnění, obyčejným nachlazením počínaje a těžkými chřipkami

konče. Během velmi krátké doby se zvýší tvorba lymfocytů, které se podílí na obranyschopnosti organismu. Má také proti plísňové a proti zánětlivé účinky.

Je oblíbená hlavně jako prevence před nachlazením a chřipkou, při opakujících se zánětech uší, zvláště u dětí. Příznivě ovlivňuje funkci zažívacího ústrojí. Tyto vlastnosti využívali např. američtí indiáni při uštknutí hadů k posílení obranyschopnosti. Preparáty z rostliny jsou známé jak ve fytoterapii, tak i v homeopatii. Extrakt z rostliny je obsažen v komplexních přípravcích např. *Echinacea Star*, *VMM*, *Alveo*, *Echinamax* a mnoha dalších.

1.1 Cíl práce

Cílem mé diplomové práce bylo ověření účinku elicitálního účinku čínských biologických hnojiv mobilizujících půdní fosfor na obsah vybraných farmakologicky účinných látek v rostlině *Echinacea purpurea* (L) Moench. Naplnění cíle práce umožnilo vykonání následujícího doporučeného metodického postupu:

Provedení literární rešerše na téma vliv elicitorů na zvýšení obsahu účinných látek v rostlinách *E. purpurea*, botanická charakteristika, způsob pěstování, hnojení, ochrany a agrotechniky rostliny *E. purpurea*, chemické složení a účinné látky rostliny *E. purpurea*, biologická hnojiva na bázi bakteriálních kultur.

Provedení polního parcelkového experimentu s modelovými rostlinami *E. purpurea* při použití dvou různých typů biologických hnojiv.

Příprava extraktů účinných biologicky aktivních látek z vypěstovaných rostlin *E. purpurea*.

Stanovení pomocí vysoce účinné kapalinové chromatografie (metody HPLC) v extraktech množství vybraných farmakologicky účinných látek.

Statistické zpracování a vyhodnocení získaných výsledků a vypracování práce.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Historický pohled

Echinacea byla jednou z nejdůležitějších rostlin, kterou využívali jako lék již severoameričtí indiáni. Používali zejména kořeny a v čerstvém stavu, řidčeji zelené části *E. angustifolia*, *pallia* a *purpurea* (KOHOUTOVÁ, V., 2003).

Případy použití této rostliny u indiánů spadali do tří základních skupin či kategorií. Byla pokládána za prostředek urychlující hojení a utišující bolest a za lék na infekční choroby. Byla všeobecně používána jako protijed při hadích uštknutích, dalších jiných jedovatých kousnutích nebo poraněních žihadlem a případech otrav jedem vůbec. Kouzelníci si údajně koupali ruce a paže ve šťávě této rostliny a k údivu přihlížejících pak byli schopni, aniž by cítili bolest, vytáhnout holou rukou maso z hrnce s vařící vodou. (SCHAR, 1999).

Droga *Echinacea* má ve srovnání mnoha jinými, v naší západní medicíně zavedenými lékařskými drogami, relativně krátkou historii. První zprávy o jejím lékařském užívání pocházejí z 18. století, kdy se stala populární v lékařské komunitě v USA a byla široce předepisována jako přírodní prostředek proti infekcím a zánětům. (BAUER, R., 1990), (KOHOUTOVÁ, V., 2003).

Širšího uznání dosáhla *Echinacea* ve farmacii až v druhé polovině 19. století. Její první klinické využití bylo klinicky vyzkoušeno u pěti případů záškrtu a patnácti případech tyfu. *Echinacea* si získala mnoho příznivců, ale její význam byl poněkud přeceňován. Přesto se stala nejprodávanějším lékem v USA a v r. 1916 byla zapsána do národního rejstříku léků. S ohledem na nedokonalý výzkum jejích účinků byla však přes tuto skutečnost lékařskou komunitou dlouho odmítána. Do Evropy se její věhlas donesl až začátkem 20. století. Zde se o ní zajímali především lékaři homeopati. Do té doby se používal prakticky pouze kořen *E. angustifolia*, která byla mezitím zařazena

spolu s *E. pallida* do národních seznamů léků v mnoha evropských státech. (KOHOUTOVÁ, V., 2003).

Echinacea byla rozsáhleji zkoumána v minulém století především v Německu, kde nyní zaujímá místo mezi hlavními léky – dnes je dostupných více než 250 produktů s obsahem *Echinacey* (DOUGLAS, J., 1993).

2.2 Botanická charakteristika

Rudbekie jsou okrasné trvalky, které se uplatňují jako jedno či vícebarevné kobercovité výsadby různé výšky. Jejich domovinou jsou listnaté lesy severní Ameriky, převážně na území USA, kde se vyskytuje asi 40 druhů této rostliny (KAMÍR, P., 1991). Druhy rodu *Echinacea* pocházejí hlavně ze severoamerických států Arkansas, Oklahoma, Missouri a Kansas. Pěstují se i ve střední Evropě. Rod *Echinacea* patří do čeledi hvězdnicovitých (Asteraceae). Významné jsou druhy *Echinacea pallida* (třapatka bledá), *E. angustifolia* (třapatka úzkolistá), a *E. purpurea* (třapatka nachová) (HARNISCHFLEGER, G., STOLZE, H., 1983).

Název „*Rudbeckia*“ získala tato rostlina na počest švédského botanika Olafa Rudbecka (1660 – 1740) (KLOPFER, K., 1981), a pojmenování „*Echinacea*“ bylo odvozeno z řeckého slova „*echinos*“ = ježek, zřejmě podle toho, že květní terč je pichlavý (KLIKOVÁ, G., 1990).

Rod *Echinacea* zahrnuje mnoho variet a kříženců pěstovaných v zahradách jako okrasné rostliny (ŠÍCHA, J., 1989).

Mezi nejznámější druhy rodu *Echinacea* patří:

echinacea purpurea,
echinacea angustifolia,
echinacea pallida,
echinacea simulanta,
echinacea paradoxa,
echinacea tennesseensis,
echinacea levigata,
echinacea sanguinea,
echinacea atrorubens,
echinacea gloriosa



Foto č. 1

Nejdříve vzbudila pozornost *Echinacea purpurea* jako rostlina okrasná. Bylo vyšlechtěno mnoho odrůd s bizarními jmény např. „*Sombrero*“, „*Král*“, „*Večerní slunce*“, „*Zářící hvězda*“ a dokonce kultivary s bílými květy např. „*Alba*“, „*Bílý princ*“, „*Bílý král*“, „*Bílý třpyt*“ (DRESS, W. J., 1961), (FOSTER, S., 1985).

Podle GRAEDONA (1999) se pouze tři používají jako rostlinné léky (*Echinacea angustifolia*, *Echinacea pallia*, *Echinacea purpurea*).

Echinacea purpurea dorůstá 70 až 100 cm a KAMÍR (1991) uvádí, že ve výživné půdě až 150 cm, má vzpřímenou, silnou, drsnou, slabě větvenou lodyhu (GOLOVKIN, B. N., 1990). Celá rostlina je drsně chlupatá (VANĚK, V., 1982). Spodní listy jsou dlouze řapíkaté, protáhle vejčité, ostře zubaté nebo pilovité s dlouhou špičkou, hrubé a drsné. Stokové listy jsou střídavé, téměř přisedlé. Květy rozkvétající v červenci až srpnu bývají až 15 cm velké, s rudohnědým, homolovitým terčem. Paprsky jazykových květů mívají nečistě růžové až karmínové zbarvení (GOLOVKIN, B. N., 1990). Trubkovité středové květy jsou vzklenuťé, hnědé, s přečnívajícími tvrdě pichlavými plevkami. Plodem jsou nažky se zakrnělým chmýrem (JANČA, J.M 1996) jsou jednosemenné a přibližně 4 mm dlouhé. (DACHLER, M., 1989). Kořenový systém je tvořen hustým pletencem světle hnědých svazčitých kořenů (HARNISCHFLEGER, G., 1983). Množí se výsevem nebo vegetativně, kořenovými úkrojky (JANČA, J., 1996).

Echinacea purpurea a *E. angustifolia* mají diploidní počet chromozomů ($n = 11$), *E. pallida* je tetraploidní ($n = 22$) (HARNISCHFLEGER, G., STOLZE, H., 1983).

2.3 Agrotechnika

2.3.1 Množení, setí a výsadba

Echinacea purpurea je dosti nenáročná, ale přednost dává vlhčí, humózní půdě, prohřivané sluncem (GOLOVKIN, B. N., 1990). V době vegetace potřebuje zálivku, v zimě dobrou spodní drenáž. Rostliny nejsou náročné, ale v chudých půdách nedávají kvalitní kořen (KAMÍR, P., 1991). DACHLER A PELZMANN (1989) uvádí, že příliš těžké nebo kamenné půdy překáží v tvorbě kořenů. *Echinacea* v přírodě roste na prériích a ve světlých lesích (GOLOVKIN, B., 1990) a dobře snáší šterkovité půdy (RÄTSCH, CH., 1987).

Všechny druhy rodu *Echinacea* jsou nenáročné na technologii pěstování, nemají přirozené nepřátele a jsou i velmi odolné výkyvům počasí (GRBAVČIC, M., 2002).

V prvním roce vyroste z dobře vyvinutého kořene jen přízemní listová růžice. V druhém roce již vyrůstají stonky a na každém z nich velký tmavě růžový květ. Semena se tvoří na velkém pichlavém květním lůžku. Drobná semínka sejeme v únoru až březnu do skleníku (MAZÚR, P., 1999). Abychom zvýšili relativně špatnou klíčivost, může být osivo buď jeden měsíc stratifikováno při teplotě 0°C ve vlhkém písku nebo rašelině anebo 24 hodin namočeno ve vodě (DACHLER, M., 1989). Důležitý je i dostatek světla. Pro klíčení jsou ideální teploty mezi 20 – 25°C, později 16°C přes den a 12°C přes noc. Po vysetí semen na jaře doporučuje BARNIKELA (1985) přikrýt půdu neproděravělou fólií až do vzejití semen.

Asi po 6 týdnech se pikýrují do malých nádob a koncem června nebo v červenci je vysázíme na stanoviště ve sponu alespoň 30 x 40 cm. Přihnojujeme dobře vyzrálých humusem. Vegetativně jí rozmnožujeme na jaře (MAZÚR, P., 1999).

Velká pozornost je v poslední době věnována především hustotě setí či výsadby při pěstování rostlin rodu *Echinacea*. V Německu je doporučováno 8 rostlina na m², v USA je obvyklá nižší hustota. Ukázalo se, že z hlediska výnosu natě je vhodné německé doporučení stejně jako pro výnos kořenů. Podíl sušiny kořenů k celkové sušině produkce se zvyšuje s vyšší hustotou, ale problémem je koncentrace produkovaných alkylamidů (PARMENTER, G. A., 1997).

Egyptští autoři sledovali vliv vzdálenosti rostlin 20, 40 a 60 cm od sebe v řádcích 50 cm vzdálených a zjistili, že nejvyšší výnos v g na rostlinu u natě, listů a kořenů je při vzdálenosti rostlin 60 cm. Při přepočtu na g sušiny na m² je ovšem nejvyšší výnos při 20 cm vzdálenosti rostlin (SHALABY, A. S. a kol., 1997).

2.3.2 Hnojení

Echinacea purpurea by mohla být jednou z perspektivních alternativních plodin v marginálních oblastech českého pohraničí (WITTLINGEROVÁ, Z., 1994) kde klasická zemědělská výroba po vstupu ČR do EU nebude už nikdy rentabilní (KOLÁŘ, L., 1997). *Echinacea purpurea* by v těchto podmínkách snad byla schopna udržet rentabilní zemědělskou výrobu (1 kg kořene se prodává v USA za 1800 Kč), a mohla by tak v českých marginálních oblastech plnit její krajinářskou funkci.

Echinacea je pro horší výrobní podmínky právě těchto oblastí skvěle vybavena. Produkuje totiž tím větší množství svých účinných látek, čím jsou její životní podmínky tvrdší a čím je nerovnováha živin v půdě, kde je pěstována, větší (KUŽEL, S., KOLÁŘ, L., 2000).

PAŠEK (1997) zjistil, že nejvyšší produkci účinných látek *E. purpurea* lze dosáhnout hnojením s neharmonickým poměrem živin. Zdá se, že neharmonická výživa stimulovala u rostliny tvorbu obranných látek,

zajišťujících pro ni přežití v obtížných podmínkách, ty jsou v určité vazbě na tvorbu látek farmakologicky významných pro člověka. KOLÁŘ a kol. (1998) ve své práci dokazuje, že při šestinásobném přebytku dusíku v poměru k draslíku a dalším živinám produkuje rostlina o 60% účinných látek více, než při harmonickém poměru živin bez ohledu na druh dusíkatého hnojiva, za předpokladu, že dusík není imobilizován uhlíkatými zdroji v substrátu, snadno rozložitelnými. Z tohoto důvodu je vyloučeno zelené hnojení. Maxima produkce účinných látek bylo dosaženo teprve v posledních vegetačních fázích rostliny, proto autoři doporučují sklízet nejdříve v době květu (KOLÁŘ, L., 1998).

DACHLER a PELZMANN (1989) uvádí hrubé odhady dávek základních prvků při hnojení na dobře zásobených půdách : cca 120 kg N na ha v dělené dávce, 70 kg P₂O₅ na ha a 150 kg K₂O na ha. Podle BAUERA a WAGNERA (1990) je optimální složení hnojiva 150-180 kg N, 70-100 kg P₂O₅ a 200-250 kg K₂O na hektar, což odpovídá 31-44 kg P a 183-207 kg K.

2.3.3 Ochrana rostlin

KUCHARSKI (1997) se ve své studii věnoval pokusům pro určení pesticidů, vhodných pro pěstování *Echinacey*. Bylo testováno 18 herbicidů, z nichž nejlepší účinnost a toleranci prokázaly přípravky Kerb 500 SC, Azogard 50 WP a Fusilade super.

Jako nejčastější původci nemocí u *E. purpurea* byly identifikovány sněťové nemoci sazenic a *Alternaria alternata*. Sněťové nemoci sazenic mohou být likvidovány mořením, tzn. Moření osiva promýváním nebo moření osiva fungicidy, krátce před výsevem. *Alternaria alternata* může být potírána postřikem. Byly úspěšně vyzkoušeny fungicidy Dithane M-45, Penncozeb 80 WP (3g/kg osiva), Dithane 75 WG, Penncozeb 75 WG (3-5g/kg) a Dithane 455

SC či Penncozeb 455 SC. V Kanadě a USA jsou porosty *Echinacey* napadány tzv. „Yellow diseases“.

Ze škůdců se významně projevil *Philenus spumarius*, *Phytomyza atricornis*, *Liriomyza strigata* a *Lygus* sp. Úspěšně byly vyzkoušeny přípravky: Ambush 25 EC (0,025%), Alfazot 05 EC (0,06%), Basudin 25 E, Bulldock 025 EC, Diazinon 250 EC, Cyperkil (0,015%), Karate 0,25 EC, Ripcord 10 EC a mnohé další (KUCHARSKI, W. A., 1997).

2.3.4 Sklizeň

Sklizeň kvetoucí nati lze provádět od prvního roku pěstování. *E. purpurea* kvete v prvním roce v říjnu, od druhého roku v srpnu. V prvním roce výsevu by se mělo sklízet, když se na hlavních květenstvích otevře první věnec květních trubic, zatím co v druhém roce sklizeň nastane, až když se otevře první věnec květních trubic u většiny vedlejších květenství. Kořeny lze sklízet také od prvního roku, od konce října do začátku listopadu. Výnosy čerstvých kořenů *E. purpurea* jsou v prvním roce 8,7-11 t/ha při sušinovém poměru EV = 2,6 od druhého roku. Výnos čerstvé natě je podstatně vyšší, lze sklízet 22-34 t/ha při EV = 4,9 v prvním roce a 27-55 t/ha při EV = 3,8 od druhého roku (BOMME, U., 1986, 1987).

Přechod na velkoplošné pěstování léčivých rostlin přináší s sebou požadavek na jejich strojový sběr. Častokrát není možné použít existující zemědělské sběrové stroje a je potřeba hledat nové řešení. Na sběr kořenů *E. purpurea* lze použít stroj, kterého hlavní části jsou: vyorávací ústrojí, oddělovač kamenů, separátor zeminy a zásobník kořenů (ANGELOVIČ, M., 2002).

2.4.5 Posklizňová ošetření

Sušení natě by mělo být provedeno ve vzdušných resp. Tepelných sušicích zařízeních při teplotách maximálně do 45°C. Čerstvá droga obsahuje asi 23 % sušené hmoty. Sušení kořenů, které se sklízají při likvidaci pěstebních ploch, většinou ve 3., méně ve 4. roce, se po odpovídajícím čištění provádí v sušicích zařízeních při teplotách do 50°C. Výtěžek kořenů je určen stářím a vývojem rostlin (KUCHARSKI, W. A., 1996). Stojní čištění a sušení působí vzhledem k jemnému větvení kořenů problémy, proto se doporučuje rozdělit kořeny na 5-10 cm kousky (BAUER, R., 1990).

2.4 Chemické složení a obsahové látky

2.4.1 Alkaloidy

Alkaloidy jsou biologicky neaktivnější, léčebně neúčinnější ze všech obsahových látek rostlin. Po chemické stránce jsou to slabé organické dusíkaté zásady (alkálie). Většinou se používají v čisté, z rostliny izolované formě, a lze je proto také přesně nejen chemicky, ale i z hlediska účinnosti definovat. Jde většinou o látky silně účinkující, ve vyšších dávkách jedovaté. Každý z alkaloidů má svoji specifickou účinnost, působí na jiný tělesný orgán, jinou jeho funkci. V rostlinách se alkaloidy naházejí zejména v buněčné šťávě obvodových pletiv vázány na kyseliny ve formě solí. Jsou to produkty látkové výměny rostlinných buněk a v rostlině zřejmě plní fyziologickou funkci látek ochranných rezervních (JAROŠ, Z., 1992).

2.4.2 Flavonoidy

Fenolické látky s vlastnostmi podobnými vitamínům. Mají příznivý účinek na cévy, normalizují propustnost jejich stěn a zvyšují jejich pevnost. Podporují účinek vitamínu C, působí též cholereticky a spasmolyticky (ZENTRICH, J. A., 1991). Většinou jde o látky nejednotné, o směsi dvou i více látek, které se v rostlinách nacházejí vázány buď na glykosidy nebo se v rostlině vyskytují ve formě tzv. esterů, nejčastěji s kyselinou galovou. Většinou je lze jen obtížně izolovat z rostliny v čisté, chemicky přesně definovatelné formě. Řadě flavonoidů se připisují nespecificky protizánětlivé účinky. Protizánětlivý účinek flavonoidů se tedy neuplatňuje u zánětů vyvolaných choroboplodnými mikroorganismy, mikroby, na něž flavonoidy nepůsobí. Jejich název je odvozen od složení hlavních, chemicky

prozkoumaných zástupců této skupiny látek, které jsou deriváty flavonolu žluté barvy (žlutý = lat. *Flavus*) (JAROŠ, Z., 1992).

2.4.3 Fytoncidy

Jsou to chemicky nejednotné látky vyšších rostlin s účinkem antibakteriálním, antibiotickým. Jsou patrně pro rostliny ochrannými látkami. Náleží k různým chemickým skupinám. Nalézáme mezi nimi silice s obsahem síry, terpeny, fenoly, třísloviny, chinony, alkaloidy, aj. (KORBELÁŘ, J., ENDRIS, Z., 1985). Název fytoncidy však neodpovídá skutečnosti. Je totiž utvořen z latinského *cidere*, což znamená zabíjet, usmrcovat, ničit. Většina fytoncidů bakterie ale neusmrcuje, neničí, nýbrž pouze brzdí, případně zastavuje jejich růst. Takto bakteriostaticky sice působí i některá antibiotika, ale i ve srovnání s nimi je protibakteriální účinnost fytoncidů nesrovnatelně nižší. Mnozí autoři považují fytoncidy za látky s jen mírně dezinfekčními účinky. V žádném případě možnosti léčebného uplatnění fytoncidů nelze s antibiotiky srovnávat (JAROŠ, Z., 1992).

2.4.4 Glykosidy

Patří k rostlinným stavebním látkám a vznikají vazbou cukerné složky se složkou necukernou. Necukerná složka, tzv. *aglykon*, má různé chemické složení a právě to určuje chemické působení celého komplexu. Proto mají glykosidy velmi rozmanité působení (ZENTRICH, J. A., 1991). Podobně jako alkaloidy jsou i glykosidy látkami biologicky velmi aktivním, jsou silně účinné a ve vyšších dávkách jedovaté. Jejich získávání z rostlinného materiálu je velmi obtížné, neboť bývají v rostlinách současně doprovázeny enzymy, které je velmi rychle štěpí. V rostlinách jsou glykosidy produkty látkové výměny, rostliny je obvykle vytváří za pomoci enzymů, a to buď jako látky rezervní

nebo obranné, někdy i proto, aby oslabila účinek některých jiných produktů látkové výměny, které by mohli být pro rostlinu jedovaté. Glykosidy jsou v rostlinách součástí buněčné šťávy a nacházejí v různých jejích částech. Léčivý účinek jednotlivých glykosidů je velmi rozmanitý, často však bývá specifický, uplatňuje se směrem na určitý tělesný orgán či funkci (JAROŠ, Z., 1992).

2.4.5 Saponiny

Látky glykosidní povahy, výrazně snižují povrchové napětí vody, ve které jsou rozpuštěny. Při třepání s vodou silně pění. Je-li jich v krvi větší množství, rozrušují červené krvinky. Jsou tedy krevním jedem. Požije-li se malé množství saponinů, nastává podráždění žaludeční a střevní sliznice. Velké množství saponinů může způsobit i těžké záněty (KORBELÁŘ, J., ENDRIS, Z., 1985). V lékařství se využívají drogy se saponiny nebo saponiny samotné, především jako léčiva, jež usnadňují vykašlávání při zánětlivých chorobách horních cest dýchacích, nebo močopudná léčiva s dezinfekčním působením. Zvyšují tvorbu žlázových výměšků a žaludečních šťáv. Významné jsou i účinky proti houbovým a plísňovým chorobám (JIRÁSEK, V., 1989).

2.4.6 Slizy

Látky sacharidové povahy, které jsou po stránce chemické, tak i biologické indiferentní, inaktivní. Mohou se však uplatnit svými fyzikálními vlastnostmi, především tím, že s vodou silně bobtnají a jsou viskózní. Mají proto mírný a nedráždivý účinek projímavý, mohou přispět ke tvorbě hlenů a k snazšímu odkašlávání. Vytvoření slizového povlaku na sliznicích chrání sliznice před dráždivým účinkem různých škodlivin. Pod ochranou slizů se lépe hojí zanícená tkáň (JAROŠ, Z., 1992).

2.4.7 Hořčiny

Jsou to bezdusíkaté látky chemicky tvořené většinou uhlíkem, vodíkem a dusíkem. Chemicky jsou však dosud málo probádané, neboť nepředstavují skupinu jednotnou, ale mnohé z nich mají charakter glykosidů, laktonů, případně i alkaloidů apod. Většinou jsou to látky pevné, často i krystalické, a z rostlinného materiálu se dají poměrně snadno získat vyluhováním vodou, lihem nebo jinými rozpouštědly. Některé hořčiny jsou biologicky inaktivní, některé mohou být, zejména ve vyšších dávkách, i značně jedovaté. Jsou typické pro čeledi šachtovitých, hořcovitých či hvězdnicovitých. Používají se pro povzbuzení chuti k jídlu, ke zvyšování tvorby žluče a kladně ovlivňují i činnost trávicího ústrojí (RUBCOV, V. G., 1984, (JAROŠ, Z., 1992). Hořčiny působí mírně uklidňujícím způsobem, takže se uplatňují jako gastrosedativa (ZENTRICH, J. A., 1991).

2.4.8 Silice

Dříve zvané éterické oleje. Jsou to látky tekuté, těkající s vodními parami, které se za obyčejné teploty vypařují a po silné ochlazení nebo po delším stání se z nich mohou vylučovat pevné krystalické součásti (např. mentol, kafr aj.) Po chemické stránce jsou to látky velmi nejednotné, zpravidla jde o pestré směsi různých chemických sloučenin. Nejdůležitější a nejčastější složkou silic jsou terpeny a jejich deriváty. V silicích lze však nalézt také mnohé alkoholy, uhlovodíky, aldehydy, ketony, kyseliny, fenolové estery a řadu dalších látek. Z rostlin se dají relativně snadno získat buď rozpouštěním (např. v alkoholu, éteru, aj.) nebo destilací s vodní parou, ale např. i vylisováním. Někdy jsou silice hlavními nositeli účinku rostliny, mnohdy však účinek jiné látky obsažené v rostlině jen podporují. Mají účinek žlučopudný, močopudný, protikřečový, tlumí křeče trávicího a dýchacího ústrojí, působí

proti nadýmání a ovlivňují nervový systém (RUBCOV, V. G., 1984), (JAROŠ, Z., 1992).

2.4.9 Třísloviny

Jsou to látky velmi různorodé, značně komplikovaného chemického složení, mající schopnost srážet bílkoviny. Na vzduchu se velmi snadno okysličují, vytvářejí amorfní a neúčinnou hmotu označovanou jako flobafeny. Neúčinnými se stávají i po dlouhodobém vaření, Třísloviny mohou být v rostlině hlavní nebo vedlejší účinnou látkou, ale mohou účinek jiných látek v rostlině jen podporovat či naopak narušovat. Třísloviny mají antibakteriální účinek, zastavující drobné krvácení, dají se využít při průjmech nebo otravách alkaloidy a těžkými kovy. Léčí i popáleniny či záněty dutiny ústní (RUBCOV, V. G., 1984), (KORBELÁŘ, J., 1981), (JAROŠ, Z., 1992).

2.4.10 Organické kyseliny

Mezi účinnými přírodními látkami drog se často uvádějí organické kyseliny. Jsou v rostlinách volné, nebo vázané jako soli, laktony nebo estery. Jejich terapeutický význam záleží v ovlivňování pozvolného vstřebávání dalších účinných složek drog, v působení na zažívací ústrojí, např. usměrňování peristaltiky a v močopudném působení (JIRÁSEK, V., 1989). U rostlin vyrovnávají vnitřní tlak buněk tím vlastně usměrňují propustnost vody buněčnými membránami rostlin (ZENTRICH, J. A., 1991).

2.4.11 Balastní látky

Kromě látek účinných, léčebně využitelných, obsahuje rostlina více či méně dalších látek průvodních, biologicky inaktivních, indiferentních, léčebně

neúčinných. Některé z nich mohou sice látky, které jsou v rostlině nositelem účinku, podporovat, jejich účinky zesilovat, ale jiné naopak tyto účinky tlumí, snižují nebo dokonce i zcela paralyzují. Obecně se tyto látky označují jako balastní. Paří mezi ně např. buničina, škrob, tuky, vosky aj. Pro léčebný efekt každé rostliny je velmi významná zejména přítomnost enzymů. Ty se mohou jevit jako látky indiferentní, ale mohou na ostatní obsahové látky rostlin uplatňovat také buď příznivý nebo naopak nepříznivý vliv. Účinné obsahové látky rostlin mohou štěpit, rozkládat nebo naopak přispívat k jejich tvorbě.

Přítomnost balastních látek v rostlinném materiálu je jednou z hlavních příčin kolísavosti, nestandardnosti, nespolehlivosti a obtížné odhadnutelnosti výsledného účinku rostlin (JAROŠ, Z., 1992).

2.5 Účinné látky rodu *Echinacea purpurea*

Výzkum obsahových látek rodu *Echinacea* byl prováděn v USA, odkud tento rod pochází, a rovněž v Německu, kde má farmaceutický průmysl pevné zázemí. První zmínka o obsahových látkách rodu *Echinacea* byla publikována v roce 1914 (Heyley, Staley). Podle jejich údajů se v kořenech *E. purpurea* vyskytuje zásobní polysacharid insulin a jemu podobné látky pentosany, redukující monosacharidy a dále pryskyřice a silice. Ve svých dalších pracích identifikovali Heyl a Staley v lipofilní frakci extraktů z kořenů kyseliny olejovou, linolovou, feritovou, palmitovou a tři fytoosteroly. Ty byly v roce 1966 identifikovány jako β -sitostrol-3- β -D-glukosid a stigmasterol (BOHLMANN, GRENZ, 1966).

Dalšími obsahovými látkami kořenů jsou triglyceridy výše uvedených mastných kyselin, levulosa, třísloviny, fenolické kyseliny, betain, řada enzymů a minerální látky (BOHLMANN, GRENZ, 1966)

2.5.1 Kyselina cichorová

Za pravděpodobně nejdůležitější imunostimulátor je považována kyselina cichorová (2,3-dikafeoyl ester kyseliny vinné, kyselina čekanková), která je obsažena ve všech částech rostliny *Echinacea purpurea*, ale nejvíce je koncentrována ve květech a kořenech. V menším množství ji nalezneme i v *Echinacea pallida* a *Echinacea angustifolia* (KOHOUTOVÁ, V., 2000) a shodně prokázali BAUER, R., REMIGER, P., WAGNER, H., (1988) a FACINO, R.M., (1996).

Látka byla poprvé izolována z *Cichorium intybus* – Asteraceae. Výskyt v této rostlině potvrdil i SCARPATI M.L., (1958). Látka se vyskytuje i v jiných rostlinách např. smetance lékařské (*Taraxacum officinale*) WILLIAMS C.A.,

(1996). Z druhů rodu *Echinacea* byl izolován i její metylester a mono- a dimetyléter jak uvádí (ŠÍCHA, HUBÍK, DUŠEK, 1989).

Podle BAUERA, R., WAGNERA, H., (1991) obsahují kořeny *Echinacea purpurea* kyselinu cichorovou. Jak zjistili NUSSLEIN (2000) tato kyselina je velice náchylná k enzymatické degradaci během získávání produktů z rostlin *Echinacea purpurea*. Degradace cichorové kyseliny a dalších derivátů kyseliny kávové může být inhibována přidáním antioxidantů do extraktu. Ukázalo se, že za oxidativní degradaci kávové kyseliny a jejích derivátů je odpovědný enzym polyfenoloxidas (PPO), nikoliv peroxidasa. Byl testován vliv kyseliny askorbové a ethanolu na stabilizaci kyseliny kávové a jejích derivátů. Cichorová kyselina nebyla stabilní i když byly vyloučeny oxidativní procesy. Bylo zjištěno, že reakci při které esterasa štěpí esterovou vazbu mezi vinnou a kávovou kyselinou probíhá i za inhibice enzymu polyfenoloxidas (PPO). Avšak přidáním 40% ethanolu a 50 mM askorbové kyseliny vedlo k stabilizaci kyseliny cichorové ve vodním extraktu z *Echinacea purpurea*.

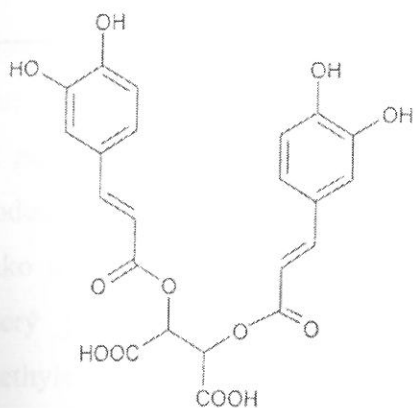
Kyselina cichorová a kaftarová (další derivát kyseliny kávové) jsou hlavní složkou kořene a nadzemní části *E. purpurea*. Obsah kyseliny cichorové v kořenech třapatky dosahuje až 20 mg 1 g sušiny. Rozdíl v obsahu kyseliny cichorové v různých genetických liniích *E. purpurea* může být až čtyřnásobný (VRCHOTOVÁ, N., 2002). Mezi deriváty kyseliny kávové patří rovněž kyselina chlorogenová a echinakosid, které mají esterifikovanou cukernou složku. Tato sloučenina je složena ze dvou molekul glukózy, po jedné molekule rhamózy, kávové kyseliny a brenzkatechinethanolu. Sloučenina vykazovala slabé antibiotické účinky proti zlatému stafylokoku a proti streptokokům.

2.5.2 Deriváty kyseliny kávové

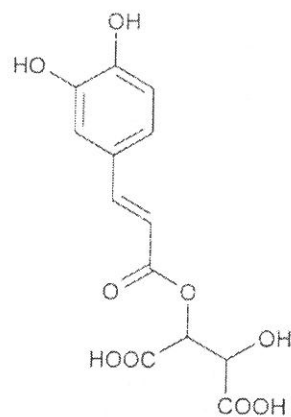
Ve své práci BAUER, R., REMIGER, P., WAGNER, H., (1988), mimo jiné zjistili, že obsah derivátů kyseliny kávové je v květech mnohokrát vyšší než ve zbytku natě. Kyselina kávová je v říši rostlin velice rozšířená, je třeba myslet na to, že při pozitivních výsledcích výzkumu antibakteriálního účinku čerstvých rostlinných extraktů mohou být ve hře kyselina kávová nebo derivát kyseliny kávové (STOLL, A., RENZ, J., BRACK., 1950).

Deriváty kyseliny kávové jsou jednou z nosných složek, jimž je přičítán léčivý účinek *Echinacey*. Ve všech částech rostliny byl nalezen 2,3-dikafenylester kyseliny vinné, tj. derivát kyseliny kávové. Tato sloučenina byla poprvé izolována z rostliny *Cichorium intybus* – *Asteraceae*, proto je tato sloučenina nazývána také jako kyselina cichorová. Z druhů rodu *Echinacea* byl izolován i její metylester a mono- a di-metyléter (BECKER, H., HSIEH, W. CH., 1985).

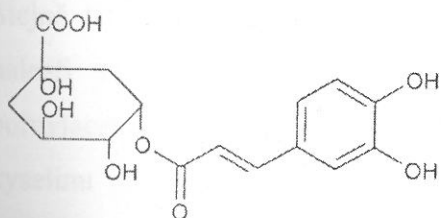
Obrázek č.1 Schématické vzorce derivátů kyseliny kávové



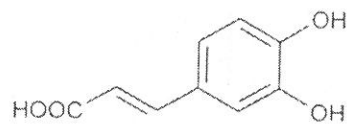
kyselina cichorová



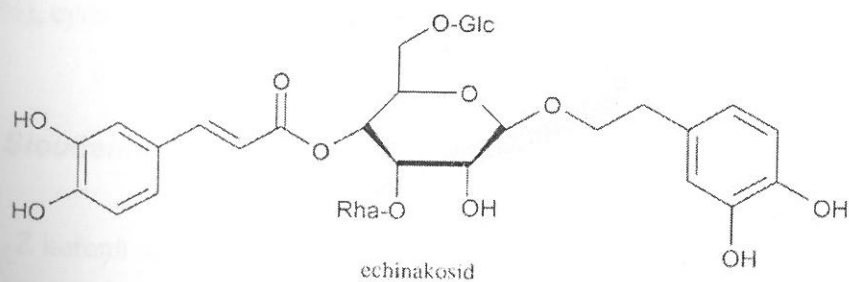
kyselina kaftarová



kyselina chlorogenová



kyselina kávová



echinakosid

2.5.3 Éterické oleje

E. purpurea dále obsahuje éterické oleje, neboli silice. HEIZER a kol. (1988) uvádí, že *Echinacea* obsahuje v kořenech maximálně 0,2 % oleje, zatímco v květech a listech bylo nalezeno po 0,6 %. V éterickém oleji z kořenů *E. purpurea* identifikovali „jako hlavní komponentu“ nejprve sloučeniny typu dodeca-2,4-dien-1-yl-isovaleratu, stejně jako kyselinu palmitovou a linoleovou. Jako další sloučeninu našli v kořenech *Echinacea purpurea* germakren D, který prokázán BOHLMANNEM a HOFLMANNEM vedle vanilinu a methylesteru kyseliny p-hydroxyskořicové i v nadzemních částech (BOHLMANN, F., 1983).

Germakrenalkohol, izolovaný BAUEREM a kol. (1988) z natě *Echinacea purpurea* je pravděpodobně také stavební součástí éterických olejů. Stejně tak je řada alkylamidů těkavých ve vodní páře. BOS a kol. (1988) našli v éterickém oleji nadzemních částí *Echinacea purpurea* borneol, bornylacetat, pentadeca-8-en-2-on, germakren D, karyofylen, karyofylenoxid, a kyselinu palmitovou. Podle BECKERA (1982) obsahuje kořen *E. purpurea* 0,72 % silice. Silice z kořenů byla získána buď destilací s vodní parou nebo extrakcí do nepolárních rozpouštědel. Silice z *E. purpurea* obsahuje minimálně 31 látek s obsahem 18,25 % karyofylenu a 8,73 % farnesenu. Jako vedlejší látky se vyskytují další terpeny α -pinen (1,88 %), β -pinen (1,79 %), kimonem (0,32 %), cymol (0,12 %), a stopy thujanu, humulonů a karyofylenoxidu.

2.5.4 Sloučeniny polyacetylenového typu

Z kořenů obou druhů byly izolovány sloučeniny polyacetylenového typu. V čerstvých i v sušených kořenech bylo nalezeno poměrně velké množství těchto sloučenin (0,2 %). Bylo identifikováno 13 sloučenin, nejvyšší podíl má 1-tridecen-3,5,7,9,11-pentain, dále 1,11-tridekadien-3,5,7,9-tetrain,

v kořenech *Echinacea angustifolia* byl nalezen 8-pentadecen-2-on, v nati obou druhů byly nalezeny pouze 4 ze 13, které se vyskytují v kořenech. Jejich koncentrace je velmi nízká. Polyacetylenové sloučeniny jsou poměrně nestálé, při dlouhodobém skladování se rozkládají (ŠÍCHA, HUBÍK, DUŠEK, 1989). V droze *E. purpurea* byly prokázány pouze stopy těchto sloučenin a v přípravcích z nati nebyly prokázány vůbec (BECKER, H., 1982).

2.5.5 Alkylamidy

Alkylamidy jsou skupina látek, se kterými se v rostlinné říši setkáváme jen velmi zřídka. Z *E. purpurea* byly izolovány a identifikovány polyinamidy dien-diinového typu. Jde o N-isobutylamid kyseliny 2-cis-4-trans-dodekadien-8,10-diinové, N-isobutylamid kyseliny 2-cis-4-trans-undekadien-8,10-diinové a směs dvou izomerů N-isobutylamidu kyseliny 2,4,8,10-dodekatetraenové. Všechny tyto sloučeniny vznikají jako polyiny v biosyntetickém cyklu kyseliny olejové (BAUER, R., 1985, BOHLMANN, F., 1974).

PERRY A kol. (1997) zkoumali hladiny alkylamidů v *E. purpurea* a uvádějí, že alkylamidy přispívají k imunostimulačním účinkům alkoholových extraktů z *Echinacey*.

GRAEDON (1999) uvádí, že čerstvá *Echinacea*, nebo její šťáva obsahuje nestálé (těkavé) látky, které se vysušeném rostlinném materiálu nevyskytují.

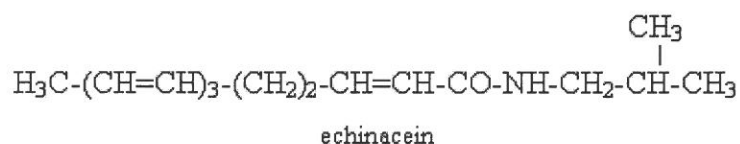
2.5.6 Alkaloidy

Echinacea purpurea obsahuje pyrolisidinové alkaloidy, které jsou typické pro čeleď *Asteraceae*. Ve šťávě z čerstvé rostliny byl nalezen tussilagin a isotussilagin. Obsah těchto alkaloidů v droze je 0,006 %, takže se v běžných přípravcích nemůže projevit jejich toxicita (RÖDER, E., 1984).

2.5.7 Echinacein

Podle KAMÍRA obsahuje *E. purpurea* sloučeninu nazvanou echinacein. Je to látka, která má insekticidní účinky, zvyšuje přirozeně obranné síly organismu a má příznivý účinek na kloubová vaziva. Chemicky jde o N-isobutylamid kyseliny 2-trans-6-cis-8,10-trans-dodekanové. Jen v malém množství se nachází i v *Echinacea purpurea*.

Obrázek č.2 Schématický vzorec echinaceinu



2.5.7 Polysacharidy

Z terapeutického hlediska jsou polysacharidy významné. Mají imunostimulační účinky. WAGNER a PROKSCH (1981) izolovali z nadzemních částí *E. purpurea* polysacharidovou frakci, která byla chromatograficky rozdělena na 5 dalších frakcí. Z terapeutického hlediska jsou důležité frakce o molekulární hmotnosti 35.000 a 45.000. Obsahují hereroxylan složený z xylózy a arabinózy a arabino-rhamno-galaktan. Obě frakce jsou velmi dobře rozpustné ve vodě, obsahují velké množství uronových kyselin. Další frakce získané gelovou filtrací mají molekulovou hmotnost 1.000 – 5.000, 5.000 – 50.000, 50.000 – 500.000 – 750.000.

Všechny tyto frakce mají imunostimulační efekt. Aktivizují neutrofyly (WAGNER, H., 1985) a mikrořágy (STIMPEL, K., 1984). Vlivem těchto polysacharidů aktivované mikrořágy získávají významnou extracelulární

toxicitu proti nádorovým buňkám. Tato aktivace polysacharidem je nezávislá na souběžném účinku lymfocytů (STIMPEL, K., 1984).

2.5.8 Echinacin

Echinacin tvoří komplex s kyselinou hyaluronovou a blokuje enzym hyaluronidázu, která reguluje polymerizaci kyseliny hyaluronové a zároveň ovlivňuje výměnnou cestu tekutiny mezi buňkami a cévními stěnami. Echinacin blokuje hyaluronidasu tělu vlastní i hyaluronidasu vytvořenou bakteriemi a tím zamezuje šíření lokální infekce. Účinek byl prokázán aktivním vlivem na množení fibroblastů, které by mohlo vést k znovu vytvoření inhibitoru hyaluronidasy. Také KOHOUTOVÁ, V., 2000 prokázala při aplikaci echinacinu na myši, že docházelo k výrazné aktivaci fagocytů. Později zjistila, že aplikace echinacinu má stejný efekt, jako hormon glukokortikoid.

ŠÍCHA, HUBÍK, DUŠEK, (1989) dále identifikovali echinacin B jako pseudokrystalickou látku s velmi nízkou toxicitou. Je to směsný polysacharid, jehož účinnou složku tvoří kyselý mukopolysacharid a má imunostimulační účinky a působí také jako inhibitor hyaluronidázy.

2.6 Vliv elicitorů na zvýšení obsahu účinných látek v rostlinách *Echinacea purpurea*

Stres se týká hlavně člověka a živočichů, postihuje také rostliny a téma „rostlina a stres“ je předmětem seriózního vědeckého bádání. V současnosti je stres u rostlin zkoumán z různých hledisek, od velkých ekosystémů až po biologické regulace rostliny na molekulární úrovni (BLÁHA et al., 2003).

Zakladatelem nauky o stresu je maďarsko-německo-kanadský fyziolog Hans Seley. Jeho původní definice, ještě z doby těsně před druhou světovou válkou, zní: „Stres je nespecifická (tj. nastávající po různých zátěžích stereotypně) fyziologická reakce na jakýkoli nárok na organismus kladený.“ Slovo nárok zde má v sobě složku nadměrnosti, a tak učitel českých endokrinologů, Josef Charvát, zavedl pojem zátěž. Mluvíme tedy o reakcích zátěžových nebo stresových (KOPŘIVA, 2002).

Pro jednotlivé vlivy prostředí lze s určitou opatrností stanovit meze, které nejsou pro vývoj a růst rostliny optimální a kdy jsou nutné změny vlastností rostlin pro další úspěšné rozmnožování a vývoj. Na živé organizmy však nikdy nepůsobí pouze jednotlivé faktory vnějšího prostředí, ale celý komplex vlivů, abiotických (fyzikálních a chemických) a biotických faktorů, které vstupují do vzájemných interakcí.

Proto není možné definovat přesně hranici, kdy se jedná jen o silný tlak komplexu negativních vnějších podmínek, vůči kterým je rostlina ještě přizpůsobena a je schopna se s nimi v průběhu vegetace vyrovnat, a od kdy již rostlina „strádá“, tj. kdy je již nutná „obranná reakce“ rostliny či dokonce změna genetické výbavy.

Negativní vnější vlivy – stresory, působí na celou rostlinu, tj. na kořeny, nadzemní část i na vyvíjející se semena. Rostliny jsou přizpůsobeny k vykonávání všech velmi důležitých životních funkcí za poměrně značného kolísání faktorů vnějšího prostředí. Při působení stresorů může rostlina dosáhnout nového rovnovážného stavu na základě činnosti kompenzačních

procesů. Při nezvládnutí vlivu stresorů dojde až k uhynutí rostliny (BLÁHA et al., 2003).

Skupina reakcí, které se spustí pod vlivem stresorů, se nazývá stresová reakce a probíhá ve čtyřech fázích, a to ve fázi poplachové – fázi restituční – fázi rezistence – fázi vyčerpání.

Poplachová fáze je zahájena bezprostředně po účinku stresoru či spíše kombinací stresorů, kdy jsou jejich působením narušeny buněčné struktury a životní funkce rostliny. V restituční fázi, nedojde-li ovšem k překročení letální meze rostliny a k jejímu úhynu, začnou pracovat kompenzační mechanismy. Tyto mechanismy směřují ke zvýšené odolnosti rostliny ve fázi rezistence vůči působícím stresorům. Při dlouhodobém a intenzivním vlivu stresorů nemusí být zvýšená odolnost rostliny vždy trvalého charakteru a může dojít opět k jejímu poklesu ve fázi vyčerpání.

Výsledkem stresové reakce je určitá úroveň adaptační schopnosti. Přechodně se může zvýšit i úroveň odolnosti vůči biotickým stresorům – tento jev se nazývá aklimatizace. Řada rostlinných druhů se dokáže vyhnout působení stresů, většinou však se rostlina pokouší o nastolení tolerance vůči stresu (BLÁHA et al., 2003).

2.6.1 Elicitace a imunita

V odborné literatuře a metodikách využívání stimulatorů – stresorů je označována jako tzv. metoda elicítace, která se začala používat teprve nedávno a souvisí s rozvojem kultivace rostlin in vitro. Jedná se o metodu, která využívá schopnosti rostlin reagovat na různá infekční agens celou řadou reakcí, na jejichž konci nastává zvýšená tvorba sekundárních metabolitů jak uvedli DICOSMO et al., 1985, které představují důležité suroviny pro farmaceutický průmysl. Rostlinné buňky jsou schopny se bránit stresovým faktorům vnějšího prostředí. Při stresu dochází k uvolňování látek z buněčných stěn rostlin a

následně k vytvoření nízkomolekulárních látek - fytoalexinů, představujících obrannou reakci rostliny. Sekundární metabolity se tedy mohou tvořit v rostlině jako součást reakce obranného mechanismu v rostlině na přítomnost patogenu. Fytoalexiny představují jednu z možností iniciace genové aktivity za vzniku určitých enzymů, které katalyzují vytváření antimikrobiálně působících sekundárních metabolitů. Patří sem například flavonoidy, isoflavonoidy, terpeny, steroidy, stilbeny.

Další chemicky složitější látky jsou glykosidy, alkaloidy, které se v rostlině vyskytují v malém množství, ale jsou pro živočichy velice toxické (HNILÍČKA et al., 2003).

2.6.2 Abiotické elicitory

Abiotické faktory jsou komplexem vlivů, které na rostliny působí. K abiotickým stresorům zařazujeme fyzikální faktory, ke kterým patří vodní stres a teplota. Vodním stresem se zabývala HNILÍČKOVÁ et al., 2003, když zjišťovala vliv tohoto stresoru na intenzitu fotosyntézy a transpirace na rostliny rajčete jedlého (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

Z výsledků vyplývá, že u stresovaných rostlin byla nejvyšší hodnota intenzity fotosyntézy dosažena u všech odrůd dříve u variant stresovaných než u kontrolních variant. Z toho vyplývá, že stresované rostliny zkracují vegetaci, a že vodní stres snižuje intenzitu fotosyntézy.

Dalším fyzikálním faktorem je teplota. Na rostliny nepůsobí jen teploty v optimálních hranicích, ale také teploty extrémní. Jedním z významných stresorů vnějšího prostředí, který působí na růst rostlin je nízká teplota. Nízká teplota zpomaluje proces fotosyntézy a transpirace, mění intenzitu dýchání, poškozuje biomembrány, čímž se mění jejich propustnost a jejich další fyzikální a chemické vlastnosti. Při teplotách pod bodem mrazu dochází k mechanickému poškození buněk (BLÁHA et al., 2003).

Sluneční záření a jeho spektrální složení je pro rostliny zdrojem nejenom tepelné energie, ale také energie nutné pro fotosyntézu. Můžeme hovořit o stresu způsobeném slunečním zářením. Stres vyvolaný slunečním zářením je možné rozdělit do dvou skupin. První skupina je představována extrémními hodnotami intenzity slunečního záření pro danou určitou rostlinu. Druhou skupinu stresorů představuje ultrafialové záření (BLÁHA et al., 2003).

Z atmosférických jevů na rostlinu nepůsobí pouze sluneční záření, ale také obsah a koncentrace látek v ovzduší a ozón. Škodlivé látky se do ovzduší dostávají nejenom z přirozených zdrojů, jako jsou např. přirozené požáry savan, lesů, vulkanická činnost sopek, ale také průmyslovou činností člověka. Činností člověka se do atmosféry dostávají především oxidy síry, dusíku a dříve používané freony (BLÁHA et al., 2003).

Také obsah živin v půdě působí jako abiotický faktor na růst rostlin a tvorbu některých látek. Je prokázáno, že stimulace tvorby obranných látek, které jsou v určité vazbě na tvorbu farmakologicky účinných látek, lze dosáhnout hnojením s neharmonickým poměrem živin (PAŠEK, 1997). Tento jev pozoroval KOLÁŘ, et al., 1998 při šestinásobném přebytku dusíku v poměru k draslíku a dalším živinám v *Echinacea purpurea*, kdy rostlina produkuje o 60 % účinných látek více, než při harmonickém poměru živin.

Třetí významnou skupinou abiotických elicitorů jsou sloučeniny na bázi organických sloučenin. Neustále jsou vyhledávány a vyvíjeny další, nové organické látky, které jsou experimentálně zkoušeny jako elicitory při elicítaci testovaných kultur pěstovaných in vitro nebo in vivo.

Jeden experiment se zabýval využitím kyseliny linolové. Ta je po chemické stránce cis, cis-9,12-oktadekadienová kyselina, která patří do skupiny vyšších mastných kyselin. Tuto kyselinu použil BOSTOCK et al., 1981 jako potenciální elicitor z toho důvodu, že vyvolává akumulaci fytoalexinů (isoflavonoidů) v listech *Phaseolus vulgaris*, podobné těm, které byly dosaženy po elicítaci avirulentním kmenem *Pseudomonas syringae phaseolica*. Maximální množství akumulovaných fytoalexinů se projevilo jako

odpověď na 1,6 mM koncentraci arachidonové a linolové kyseliny. Všechny polynasyčené mastné kyseliny všechny cis-5, 8, 11, 14, 17 eicosapentanové a všechny cis-5,8, 11, 14 eicosatetraenové (arachidonové) kyseliny byly nejefektivnějšími elicitory tvorby seskviterpenických fytoalexinů, které byly zjištěny v houbových extraktech patogenu *Phytophthora infestans*.

Při porovnávání dosažených hodnot v závislosti na koncentraci elicitoru byl nejvyšší obsah flavonoidů zaznamenán v kultuře vystavené působení kyseliny linolové o koncentraci 2,0 mg/ml a 1,0 mg/ml. Významný byl nárůst obsahu flavonoidů také u koncentrací 0,01 a 0,20 mg/ml. Nevýznamný nárůst produkce flavonoidů byl zjištěn při působení koncentrace 0,02 mg/ml za 24 a 48 hodin a u koncentrace 2,0 mg/ml po 24 hodinách. Při srovnání produkce flavonoidů u elicitovaných kultur s kontrolními konstatovali, že elicitované kultury vykazovaly vyšší obsah flavonoidů zejména po 24 hodinách při koncentraci 0,01; 0,20 a 1,0 mg/ml. Po 48 hodinách pak byla produkce vůči kontrolním vzorkům většinou nižší s výjimkou koncentrace 1,0 a 2,0 mg/ml. Po 7 dnech působením kyseliny linolové měly všechny kontrolní kultury vyšší obsah flavonoidů než kultury elicitované. Nejvyšší nárůst tvorby flavonoidů byl zaznamenán při použití elicitoru o koncentraci 2,0 mg/ml a o době působení 48 hodin a to o 118 %. Při 24 hodinovém působení elicitoru o koncentraci 1,0 mg/ml došlo ke zvýšení produkce flavonoidů o 94 %. Je zřejmé, že po dosažení maximální produkce flavonoidů dochází pak už jen ke snižování jejich obsahu. Toto snižování obsahu flavonoidů je pravděpodobně způsobeno jejich metabolizací. Na odbourávání se pravděpodobně podílí i elicitor (BEIDERBECK et al., 1989).

Při hodnocení produkce flavonoidů v čase během elicitace kyselinou linolovou, vysledovali TŮMOVÁ et al., 2000, že u většiny pokusných koncentrací je obsah flavonoidů nejvyšší 24 hod po aplikaci elicitoru a poté klesá (u koncentrace 0,01; 0,10; 0,20; a 1,0 mg/ml). U koncentrací 0,02 a 2,0 mg/ml je maximální produkce po 48 hodinové elicitaci.

2.6.3 Biotické elicitory

Biotické faktory jsou vlastně živé organismy, které obývají určité životní prostředí a vstupují do různých vztahů s ostatními organismy a prostředím. Ovlivňují se v rámci jednoho druhu i mezidruhově a svými životními aktivitami mění i neživé prostředí, které osidlují. Jsou-li účinky určitých organismů na jiné organismy negativní, pak o nich hovoříme jako o biotických stresorech. Mezi biotické stresory je možné zařadit patogenní mikroorganismy, jako jsou např. viry, bakterie a jiné mikroorganismy, houby, dále hmyzí a živočišné škůdce, ale také samotné rostliny (HNILIČKA et al., 2003).

K elicitaci se využívá homogenátu mikroorganismů. Jednou z metod, kterou je možné dosáhnout zvýšení produkce přírodních látek v kulturách *in vitro*, je elicitace buněčných kultur.

MARINELI et al., 1994 uvádí ve své práci elicitaci s využitím homogenátu z usmrcených buněk z *Escherichia coli* a *Aspergillus terreus* na produkci flavonoidů v kultuře *Ononis arvensis* L. Uvedené elicitory zvyšovaly akumulaci flavonoidů zejména po 24 hodinách nebo po 48 hodinách elicitace. Při použití elicitoru - usmrcených buněk *Pseudomonas aeruginosa* koncentraci I (1 g buněčného materiálu byl dán do 100 ml odměrné baňky, která byla po značku doplněna destilovanou vodou) u kalusové kultury došlo po 24 hodinách ke snížení obsahu flavonoidů v porovnání s kontrolní skupinou. Naopak po 48 hodinách nastalo zvýšení obsahu flavonoidů. Po 7 dnech elicitace obsah flavonoidů opět poklesl pod úroveň kontrolní skupiny. Po aplikaci elicitoru v koncentraci II, která se připravila tak, že byl odpipetován 1 ml suspenze o koncentraci I do 100 ml odměrné baňky a po značku doplněn destilovanou vodou, byl v kalusové kultuře po 24 hodinách zaznamenán nižší obsah flavonoidů než v kontrolní skupině, avšak po 48 hodinách elicitace produkce

flavonoidů převýšila kontrolní skupinu a po 7 dnech elicitace dosáhla maxima. Po aplikaci elicitoru v koncentraci III, která se připravila odpipetováním 1 ml suspenze o koncentraci II do 100 ml odměrné baňky a doplněním destilované vody po značku byl ke kalusové kultuře po 4 hodinové elicitaci obsah flavonoidů nepatrně nižší než u kontroly, ale po 48 hodinách došlo ještě k většímu poklesu. Ani po 7 dnech elicitace nedošlo k převýšení obsahu flavonoidů získaných u kontrolní skupiny. U suspenzní kultury při použití koncentrace I došlo k výraznému nárůstu obsahu flavonoidů po 48 hodinách. Ostatní hodnoty obsahu flavonoidů byly nižší než u kontrolních skupin. Koncentrace elicitoru II způsobila postupné snižování produkce flavonoidů v suspenzní kultuře. Produkce flavonoidů zjištěná po 24 hodinách elicitaci byla sice nejvyšší, ale statisticky nevýznamná v porovnání s kontrolou. Pouze nejnižší testovaná koncentrace elicitoru III dokázala převýšit obsah flavonoidů nad úroveň kontrolních skupin, a to ve všech časových intervalech. Nejvyšší obsah flavonoidů byl naměřen po 7 dnech elicitace. Při hodnocení všech dosažených výsledků lze říci, že u kalusových kultur vyvolal maximální produkci elicitor o koncentraci II po 7 dnech elicitace. Tato hodnota byla vyšší o 83% vzhledem ke kontrole.

2.7 Biologická hnojiva

2.7.1 Vývoj biologických hnojiv v Číně a ve světě

Je tomu již více než sto let, co byla použita biologická hnojiva. Na počátku dvacátých let minulého století je v Americe a Austrálii používáno hnojivo *rhizobium*. V současné době se továrny na výrobu biologických hnojiv se standardizovanou technologií produkce a systémem výstupní kontroly nalézají nejen v průmyslově rozvinutých státech jako USA a, Anglie, Japonsko, Kanada, Francie, Itálie či Německo, ale také v rozvojových zemích jako Indie, Thajsko, Filipíny a Burundi. V některých rozvinutých státech pokrývají biologická hnojiva více než deset procent z celkového použitého množství. Výroba a výzkum biologických hnojiv začaly počátkem padesátých let minulého století a od této doby dochází k výstavbě továren na biologická hnojiva. Podle nekompletních statistických údajů převyšuje počet továren na biologická hnojiva čtyři sta a jejich celková produkce činí dva miliony tun. Rozličné používané kultury zahrnují bakterie, houby a actinomycety, včetně dusíkatých bakterií, hlízovitých kořenových bakterií, fotosyntetických bakterií, lactobacillu, bakterií rozpouštějící celulozu apod. (uvedené kultury jsou používané v Číně). Výrobky zahrnují přípravky mobilizující půdní dusík, zlepšující jeho příjem rostlinou tzv. na dusíkaté bázi, rhizobium inoculum, inoculum rozpouštějící fosfor, inoculum silikátových bakterií, bacilární inoculum, inoculum rozkládající celulozu, komplexní inoculum atd. V současné době nabízený sortiment má podobu kapalnou, či formu liofilizovanou (zmraženou a vysušenou) pevnou práškovou nebo granulovanou.

2.7.2 Důvod výroby biologických hnojiv mobilizujících půdní fosfor

Fosfor je jedním z prvků, které rostliny potřebují nejvíce. Bez vyváženého přísunu dusíku, fosforu a draslíku, vápníku a hořčíku nemůže obilí normálně růst a nelze dosahovat vysoké kvality a výnosu. Při nedostatku fosforu roste rostlina pomalu, stonek je útlý, rostlina je náchylná k napadení škůdci, podzemní kořen je tenký a postranní kořínky jsou sporadické. Podle čínského ministerstva zemědělství vykazují dvě třetiny z celkového množství 140 milionu hektarů orné půdy absenci fosforu a poměr hnojení dusíkem a fosforem je značně nevyvážený. Tento poměr se snížil z 1:0,58 v roce 1971 na 1:0,25 v roce 1994, což je citelně pod průměrnou mezinárodní úrovní, která činí 1:0,6 a negativně ovlivňuje vývoj zemědělství. Obecně jsou udávány tři důvody nedostatku fosforu v půdě. Za prvé je to kvalita fosforitu, suroviny k výrobě fosforečných hnojiv, která je nízká a značně komplikovaná výrobní technologie, což znemožňuje vylepšovat druhů a kvalitu fosforečných hnojiv. Za druhé se fosfor relativně silně a rychle při použití minerálních hnojiv přechází v půdě do forem pro rostlinu nevyužitelných. Za třetí je použití organických hnojiv v nynější době na velmi nízké úrovni. V současnosti se hnojí více dusíkem a méně fosforem a draslíkem, čímž dochází k nedostatku přijatelných forem fosforu v půdě. Čínská vláda vynakládá každý rok značné množství valut na dovoz fosforečných hnojiv. Nákup dvou miliony dvě stě dvacet devět tisíc tun ročně značně zatěžuje čínskou ekonomiku. Ve skutečnosti je půda přirozenou zásobárnou fosforu. Celkový obsah fosforu ve svrchní vrstvě je obvykle v rozmezí 0,02-0,08 % a může dosahovat až 0,2 %. Počítáme-li 0,08 % máme k dispozici 1800 kg P_2O_5 na hektar plochy. Tento fosfor je v půdě v podobě organického, minerálního a špatně rozpustného fosfátu, který ze sedmdesáti až devadesáti procent nemohou rostliny přijímat přímo. Anorganický fosfor tvoří

fosfáty, apatity. Organický zahrnuje fosfoinositoly, fosfolipidy a nukleové kyseliny aj.. Vzhledem k výše uvedeným skutečnostem začal v roce 1988 mikrobiologický institut Akademie věd v Hebei s vývojem biologických hnojiv mobilizujících půdní fosfor.

2.7.3 Charakteristika hlavních kultur používaných bakterií uvolňujících fosfor

V třicátých letech minulého století začal Sovětský svaz s výzkumem v oblasti aplikované mikrobiologie při rozkladu obtížně rozpustných fosfátů. V padesátých letech zahájili výzkumníci činnost v této oblasti v Číně.

Existuje značné množství mikroorganismů, které rozkládají nebo rozpouštějí obtížně rozpustné fosfáty v půdě. Tyto je možné rozdělit v závislosti na rozkladu odlišných substrátů na organické a anorganické fosfobakterie. Ve skutečnosti není toto rozlišení přesné, organické fosfobakterie nerozkládají pouze organické fosfidy, ale mohou také rozpouštět anorganické fosfidy, např. $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Na druhou stranu mohou anorganické fosfobakterie rozkládat organické fosfidy (např. lecitin).

V současnosti k druhům mikroorganismů rozkládající fosfáty můžeme zařadit *pseudomonas*, *bacillus*, *mycobakterium*, *pennicilium* a *aspergillus*. Mikrobiologický institut Akademie věd v Hebei zkoumá dvě kultury uvolňující fosfor. Jedná se konkrétně o *Bacillus Megaterium* a *Escherichia sp.*

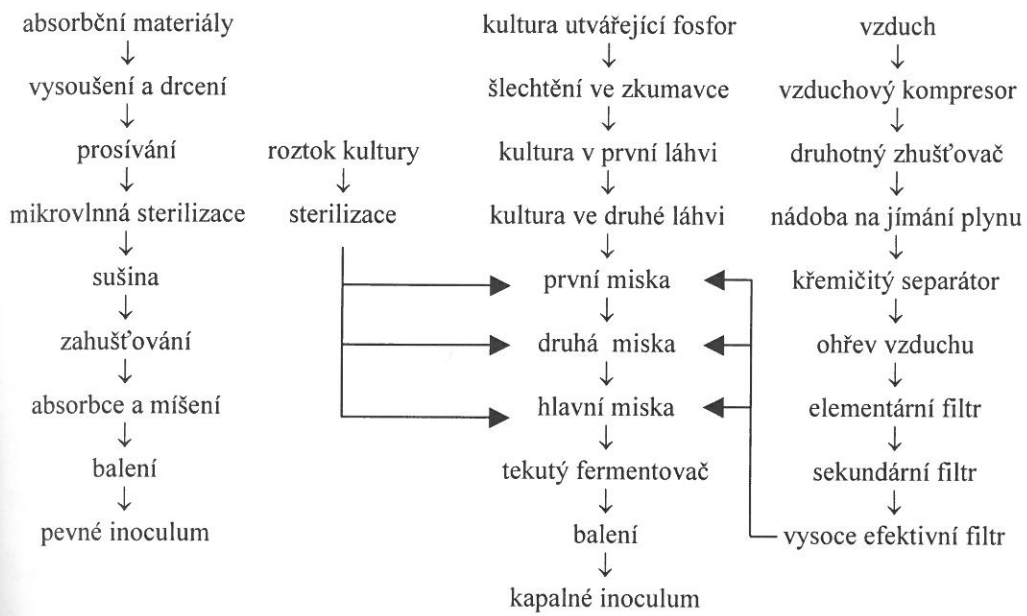
Bacillus Megaterium vytváří v průběhu reprodukce spóry, snadno se připravuje a uchovává, takže má příhodnější komerční uplatnění. Je však třeba poznamenat, že schopnost uvolňování fosforu je nižší než u *Escherichea sp.*

Bacillus Megaterium - gram pozitivní bakterie, výlučně aerofilní, buňka sloupovitá až elipsoidní v nutričním roztoku. Obvyklá šířka 1,2–1,5 μ , délka 2-5 μ , v prostředí karbohydrátů narůstá. Vytváří více než jednu spóru, která odolává teple. Spóra má tvar elipsy, roste v sedmiprocentním roztoku NaCl, Při

kultivací pozorujeme bohatý růst v živném roztoku, nešíří se, v pozdějším stádiu má kultura žlutavou barvu, při delší kultivaci barva hnědá nebo černá. Při aplikaci arabinosy, xylosy, manitolu, hydrolyzačního škrobu obvykle dochází k uvolňování kyseliny a citrátů jako zdroje uhlíku. Obsah G+C je 36-38 %. Vogues–Proskauerova reakce je negativní a reakce na vaječný žloutek je též negativní.

Escherchia sp. Hm0332 je bakterie s dvěma ústními otvory vytváří kulturu ve tvaru tyčinek o šířce 0,5–0,7 μ a délce 1,0-2,5 μ . Bakterie se vyskytuje samostatně nebo ve dvojici a může se pohybovat. Kultura vytváří v průběhu 48 hodin v živném roztoku kruhové kolonie s pravidelnými rohy o průměru 4 mm, které jsou vlhké a hladké, barvy galatitu. Rozpětí teplot leží mezi 10–40 stupni Celsia. Teploty 28-30°C zlepšují růst. Kultury přežívají při pH v rozmezí 6-7,9, optimální pH pro bakterie je 7-7,3. Vždy negativní jsou gramové reakce, oxidační reakce a Voges-Proskauerova reakce, vždy pozitivní jsou reakce na kontaktní enzym, indolové reakce a reakce na metylovou červeň. Tento aerogen vytváří kyselinu z laktosy, cukrosy a glukosy a používá soli kyseliny jablečné a kyseliny mléčné jako jedinečný zdroj energie a uhlíku.

2.7.4 Postup výroby biologických hnojiv mobilizujících půdní fosfor



2.7.5 Účinky biologických hnojiv na různé plodiny (HM0332)

Mezi lety 1990 až 2000 bylo více než třicet druhů rostlin podrobena testování na různých typech půd. V průběhu testu vykazovalo 90 procent plodin výrazné zvýšení výnosu. Jednalo se o plodiny jako pšenice, kukuřice, bavlna, rýže, sladké brambory, burské oříšky, fazole, meloun, grep, jablko, hruška, okurka, pepř, rajče, zelí, baklažán apod.

Tabulka č.1 Účinek biologického hnojiva na zvyšování výnosu jednotlivých plodin (jednotka: Kg/mu [1 ha = 15 mu])

Oblast	Qingyuan	Xingtang	Xinle	Roncheng	Qingyuan	Xingtang	Jingxian
Plodina	kukuřice	sladké brambory	bavlna	burský oříšek	burský oříšek	burský oříšek	Soja
Varianta							
Kontrola	462,4	1137-8	38-5	207,8	270,7	172,5	54,9
Biologické hnojivo	534,7	1330,1	45,4	237,7	328,7	270,2	66,9
Zvýšení výnosu	72,3	192,4	6,9	29,9	58,0	34,7	12,0
Procento navýšení	15,6%	16,9%	17,9%	14,3%	21,4%	20,1%	21,8%

Tabulka č.2 Účinek biologického hnojiva na zvyšování výnosu jednotlivých plodin (jednotka: Kg/mu [1 ha = 15 mu])

Oblast	Jingxian	Changli	Xingtang	Gaoyang	Shunping	Shunping
Plodina	gřep	hruška	jablko	okurka	špenát	zelí
Kontrola	2318,8	49,5	31,3	7020	1773	3420,5
Biologické hnojivo	2805	55,9	42	10140	2172	3984
Zvýšení výnosu	486,2	6,4	10,7	3120	399	563,5
Procento navýšení	21,0	12,9	34,2	44,4	22,5	16,5

(Stejně oblasti mají přinejmenším tři testovací místa)

2.7.6 Mechanismus zvyšování výnosu při použití biologických hnojiv mobilizujících půdní fosfor

Rozpouští se málo rozpustný fosfát v půdě a vylepšuje se obsah dostupného fosforu (přístupného fosforu). V průběhu testování bylo zjištěno, že HM0332 uvolňující fosfor může dosáhnout velikosti 3-7 μm za podmínek čisté kultury a schopnosti uvolňování fosforu je 8,28 % použijeme-li fosfáty jako zdroj fosforu.

Tabulka č.3 Výsledky testování schopnosti kultury HM0332 uvolňovat fosfor

Druh fosforu	zpracování	obsah fosforu	procento navýšení	schopnost uvolňovat fosfor
Ve vodě rozpustný fosfor (mg/100 ml)	Kontrola	0,143		
	Hm032	0,324	227,73%	+ 0,49%
Pomalou rozpustný	Kontrola	123,89		
	Hm032	134,10	8,24%	+7,79%
Špatně rozpustný	Kontrola	3,112		
	Hm032	2,160	69,4%	
Fosfor celkově (mg.kg)	8,28%			

(1) Mechanismus rozpouštění obtížně rozpustného fosfátu

A. Produkce organických kyselin

Existuje přímá úměrnost mezi schopností rozpouštět fosfor a celkovým množstvím kulturou vytvořené kyseliny. Typ a obsah kyselin přímo ovlivňují schopnost rozpouštět fosfor. Pomocí HPLC bylo změřeno, že HM0332 vytváří za podmínek čisté kultury více organických kyselin jako kyselina jablečná, kyselina mléčná, kyselina šťavelová, kyselina malonová, kyselina jantarová atd.. V průběhu testu došlo k zvýšení tvorby kyselin současně nárůstem počtu bakterií. Logaritmická fáze je nejrychlejší a celkové množství kyseliny dosáhne

kinetické rovnováhy po dosažení doby vyvážení. Největší produkce kyseliny se dosáhlo během 36-48 hodin a hodnota činila 9,417 nmol/l, přičemž došlo ke snížení pH na přibližně 4,5. Je na místě předpoklad, že kyselina vytvořená mikroblem může reagovat s Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} a rozpouštět obtížně rozpustné fosfáty.

- B. Uvolňování protonu v průběhu asimilace amoniaku
(v kultuře je obsažen NH_4^+)



- C. Dochází k tvorbě H^+ v důsledku dýchání bakterie



- (2) Fosfát se uvolňuje výměnou mezi PO_4^{3-} (fosfátový iont) a organickým aniontem

- A. Produkce fyziologicky aktivních látek

Kultura HM0322 produkuje v průběhu růstu mnoho fyziologicky aktivních látek. Jedná se například o růstové hormony, giberelin, aminokyseliny, vitaminy, jejichž obsah je závislý na počtu bakterií. V současnosti nejsou k dispozici žádné přesné výsledky.

- B. Aktivace dalších prvků jako draslík, hliník, železo apod.

2.7.8 Další údaje o mikroorganismech rozpouštějících fosfor

Ve světové literatuře se objevují zprávy o houbách uvolňujících fosfor, ale v současné době je k dispozici jen nepatrné množství příkladů využití hub jako kultury. Jejich účinky jsou lepší než v případě bakterií v Číně. Profesor Lin Qimei z Čínské zemědělské univerzity potvrzuje, že účinek hub uvolňujících fosfor je lepší než u bakterií a tvorba kyselin je též vydatnější. Navíc je vytvářeno více organických kyselin.

Tabulka č.4 Fosfor v bakteriálních kulturách (mg/l)

Kultura	obsah dostupného fosforu	obsah fosforu celkem	pH
B1	26.92	30.54	3.89
B2	43.34	46.73	3.59
B5	25.74	39.21	3.41
B9	31.14	36.42	4.24
Kontrola	3.28	5.28	7.39

(pěstováno 6 dní)

Tabulka č.5 Fosfor v houbovité kultuře (mg/l)

Kultura	obsah dostupného fosforu	obsah fosforu celkem	pH
F1	37.41	52.38	6.30
F2	71.23	83.19	4.39
F3	90.54	129.98	3.41
F4	64.21	68.64	4.26
F5	145.36	320.54	3.04
F6	74.48	100.74	3.63
F7	81.23	113.62	4.28
F8	59.64	65.22	3.82
Kontrola	0.53	6.06	7.28

(pěstováno 6 dní)

Tabulka č. 6 Druhy a obsah organických kyselin v bakteriální kultuře

Kultura	kyselina jablečná	kyselina propionová	kyselina mléčná	kyselina octová	kyselina citronová	celkem
B1	10.56	16.6	0	0	0	27.16
B2	70.76	0	25.86	11.16	0	107.78
B5	198.32	8.83	67.52	17.93	46.32	338.98
B9	38.77	15.14	33.07	0	50.92	137.9
Kontrola	15.77	0	0	0	27.85	43.62

Tabulka č. 7 Druhy a obsah organických kyselin v houbových kulturách

Kultura	kyselina šřavelová	kyselina vinná	kyselina mléčná	kyselina octová	kyselina citronová	kyselina jantarová	celkem
F1	18.23	62.89	0	41.99	0	28.49	151.60
F2	0	0	0	0	30.97	0	36.08
F3	128.70	0	14.16	0	20.65	19.88	183.46
F4	0	0	0	96.26	23.58	0	119.98
F5	39.10	0	18.61	111.2	104.6	0	302.27
F6	29.58	0	0	0	25.89	0	67.88
F7	42.03	0	161.5	0	37.76	0	276.42
F8	138.3	0	28.45	10.46	0	0	185.43
Kontrola	10.50	9.23	0	0	15.42	0	48.54

2.7.9 Národní průmyslový standard biologických hnojiv na mobilizujících půdní fosfor

Národní standard pro biologická hnojiva na bázi fosforu byl vyhlášen 22.12. 2000 a vstoupil v platnost 1.4. 2001. Standard určuje klasifikaci, technologický index, vzorkování, metody testování, balení, označení, přepravu a skladování fosfobakteriálních hnojiv. Tento standard je použitelný na veškeré aktivní mikrobiologické produkty s prospěšnými fosfobakteriemi, které rozkládají obtížně rozpustný fosfát, vylepšují výživu plodin fosforem a podporují jejich růst.

Tabulka č.8 Technologický index kapalných fosfobakteriálních hnojiv

Položka		index
Vzhled, zápach		zakalená kapalina, slabý nebo žádný zápach
Počet efektivních bakterií (10 ⁸ /ml)	Organický fosfor	≥2,0
	Anorganický fosfor	≥1,5
Poměr smíšených mikrobů		≤5%
pH		4,5-8,0
doba trvání (měsíce)		≥6

Tabulka č.9 Technologický index pevných fosfobakteriálních hnojiv (prášek)

Položka		index
Vzhled, zápach		forma prášku, nekompaktní, vlhký, bez plísňe slabší zápach
Vlhkost v procentech		25-50
Množství aktivních bakterií (10 ⁸ / ml)	organický fosfor	≥1,5
	anorganický fosfor	≥1,0
Velikost prášku (průměr prášku)		≤10% (zbytek po prosetí sítem o průměru 20 mm)
pH		6.0 – 7,5
poměr smíšených mikrobů		≤10%
doba platnosti (měsíce)		≥6

Tabulka č.10 Technologický index pevných fosfobakteriálních hnojiv (granule)

Položka	index	
Vzhled, zápach	nekompaktní, černé nebo bílé granule, drobný slabší zápach	
Vlhkost v procentech	≤10%	
Množství aktivních bakterií (10 ⁸ / ml)	organický fosfor	≥0,5
	anorganický fosfor	≥0,5
Velikost prášku (průměr prášku)	beze zbytku po prosetí standardním sítem 2,5 – 4,5mm	
pH	6,0-7,5	
poměr smíšených mikrobů	≤20%	
doba platnosti (měsíce)	≥6	

3. METODIKA

3.1 Pěstování, aplikace hnojiv a sklizeň rostlin

Podle zadání práce byl ověřován vliv elicitálního působení biologických hnojiv na obsah některých účinných látek v rostlině *Echinacea purpurea*. V letech 2002 až 2005 jsem uskutečnila maloparcelkový pokus se dvěma různými typy biologických hnojiv. Vzorky nadzemní hmoty a kořenů rostlin se odebíraly ve druhém a třetím roce. V získaných vzorcích pěstovaných rostlin rodu *Echinacea* byly provedeny analýzy stanovení obsahu vybraných účinných látek metodou vysoko účinné kapalinové chromatografie (HPLC) a provedeno vlastní vyhodnocení dosažených výsledků.

K pokusu byly vybrány rostliny *E. purpurea*. Osivo bylo zaseto do hloubky zhruba 2-3 mm koncem září roku 2002 do plastových kelímků naplněných zahradnickým substrátem umístěných na Katedře obecné produkce rostlinné ZF JČU v Českých Budějovicích. Maloparcelkový experiment byl zajištěn v pěstební ploše v Českých Budějovicích na zahradě v ulici Lednická č. p. 149. Na přesně rozměřeném pokusném pozemku byly koncem měsíce března roku 2003 založeny pokusné parcelky s rostlinami *Echinacea purpurea* ve sponu 25 x 30 cm celkem o rozloze 6 m². Byly vytvořeny 3 parcely (2 pokusné a jedna



Foto č. 2

kontrolní) každá o výměře 2 m². Na každé parcelce bylo 20 rostlin. Předpěstované rostliny v plastových kelímcích byly vysazeny do půdy v květnu 2003. Použitá hustota porostu (spon 25x30 cm) se osvědčila, neboť po

vytvoření listové růžice došlo k významnému zastínění půdy a tím k potlačení růstu plevelných rostlin v pozdějších etapách růstu. Zastínění půdy je viditelné na fotografii č. 2.

V dalším roce přesněji 20.5. 2004 byla provedena aplikace hnojiv u jednotlivých rostlin na hloubku zhruba 10 - 15 cm a na šířku 20 cm kolem každé rostliny. Do brázdy vytvořené kolem rostliny byla aplikována suspenze hnojiva, poté byla opět rostlina zahrnuta zeminou a zalita. Byla použita čínská hnojiva tekuté a pevné konzistence. Třetí kontrolní parcelka nebyla hnojena. Kolem rostlin byla zde též provedena brázda, rostlina byla zasypána zeminou a zalita.

Sklizeň vzorků nadzemní části 20ti rostlin z každé parcely byla provedena v říjnu roku 2004. Dne 25. května roku 2005 byly odebrány kořeny v počtu 5ti vzorků z každé parcely (celkem tři parcely).

Druhá aplikace hnojiv byla uskutečněna 15. června roku 2005.

Dne 20. října roku 2005 proběhla sklizeň 15ti vzorků nadzemní části rostlin a kořenů. Rostliny byly popsány, změřena jejich výška, stanoven počet listů, květů, odnoží a roztríděny a usušeny při teplotě do 40°C.

3.2 Extrakce

3.2.1 Příprava vzorku pro identifikaci účinných látek

Pro následující analýzu byla použita hmota kořenů, listů a květů, která byla rozdrovena tříštivým mlýnkem na jemnou hmotu. Rostliny skladované odděleně z každé parcelky byly výškově změřeny, zváženy, spočítány byly odnože, počty listů a květů (viz příloha č.1). Tyto hodnoty pak posloužily k určení výnosu rostlin se kterou bylo následně kalkulováno v ekonomické bilanci pěstování těchto léčivek.

Podle VRCHOTOVÉ, N. a kol., 2002 existují různé možnosti přípravy extraktu, které se liší např. použitím extrakčního činidla, dobou extrakce atd., takže optimální volba postupu je problematická a měla by se volit i vzhledem k charakteru analyzovaných látek.

V našem experimentu byl odebrán vzorek k rozboru z rozemletého kořenového, květního a listového materiálu z maloparcelkového pokusu o hmotnosti 2 g. Ten byl zalit 20 ml 96 % ethanolu a ponechán extrahovat při pokojové teplotě v třepačce na Katedře obecné produkce rostlinné ZF JČU v Českých Budějovicích 24 hodin. Po této době byla směs doplněná 20ml destilované vody a opět ponechána extrahovat dalších 24 hodin v třepačce. Po provedené extrakci byla směs zfiltrována a připravena k následnému rozboru metodou HPLC.

3.2.2 Obsah základních živin v půdě

Výluh 0,1 M NaOH + PyNa, metodou odparků z 10 ml vzorku, 20 ml pro HK a FK. Použita 0,2 M Mohrova sůl (MS) a 0,4 N chromsírová směs (CHS), oxidace 45 min při 125°C. Stanovení bylo provedeno v září 2006.

Půdní typ písčito-hlinitý, Cambisol (hnědá, kyselá půda). Půda obsahuje vysoký obsah fosforu, velmi malý obsah draslíku, dobrý obsah hořčíku, vysoký obsah vápníku, potřeba vápnění žádná, pH je neutrální, N-tot je v normě (HORÁČEK J., 1994).

Tabulka č.11 Průměrný obsah živin v půdě (stanovení Mehlich III)

pH _(CaCl2)	N _{tot}	P mg/kg	K mg/kg	Mg mg/kg	Ca mg/kg
6,84%	0,19 %	593	63	166	4011

Obsah celkového uhlíku (C_{OX} 2,73%) poukazuje na střední obsah humusu. Poměr (HK/FK 1,42) fulváto-humátový typ humusu, půda pravidelně organicky hnojená, parametry organických látek půdy a humus látek půdy odpovídají dlouhodobému silnému antropogennímu vlivu – pravidelná aplikace vysokých dávek organických hnojiv (minimálně 45 tun a více/ 3 roky).

Frakcionací a následným zpracováním (LEDVINA a kol. 1988) byly stanoveny humusové látky (HL 1,22 mg/g), fulvokyseliny (FK 0,54 mg/g) a huminové kyseliny (HK 0,77 mg/g).

Stupeň humifikace Sh vykazuje střední hodnotu (LEDVINA, 1994).

Tabulka č.12 Průměrný obsah organických látek a frakcionace humusu

%celk. C _{OX}	%C _{HL}	HK+FK	%C _{FK}	%C _{HK}	HK/FK	Sh
2,73	1,22	1,31	0,54	0,77	1,42	48,0

3.3 Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC)

HPLC patří mezi nejdokonalejší varianty sloupcové (kolonové) kapalinové chromatografie. Její vznik byl zejména podpořen prudkým rozvojem přístrojové techniky, zejména v oblasti detekce chromatografovaných látek. Její výhodou je velká účinnost a rozlišovací schopnost. Nevýhodou je velmi vysoká cena komerčních přístrojů – HPLC chromatografů. Používá se k dělení složitých směsí velmi příbuzných látek (SKLENÁK, L., 2003).

Jako sorbent jsou používány velmi jemné (průměr $2\ \mu\text{m}$ – $5\ \mu\text{m}$), vysoce homogenní částice v kovových nebo skleněných trubicích (kolonách) (SKLENÁK, L., 2003).

V klasickém experimentálním uspořádání tvoří kolonu skleněná trubička s průměrem 2 až 6 mm a délkou 10 mm až 1 m (nejčastěji 20 cm). Na dně kolony je frit a na zachycení náplně a kohout, kterým je možné regulovat průtok mobilní fáze. Kolona se naplní stacionární fází, pipetou se nadávkuje vzorek a začne se přivádět mobilní kapalina za použití vysokého tlaku (do 50 MPa). Rychlost mobilní kapaliny se volí mezi 0,1 až 5 cm/s (GARAJ, J., 1987). Průtokem mobilní fáze dochází k prostupu jednotlivých složek kolonou. Při vhodně zvolených podmínkách je jejich rychlost natolik odlišná, že jednotlivé složky vytvoří oddělené zóny (pásky), které postupně opouštějí soustavu (kolonu) ve formě tzv. fluátu, což je roztok složky v mobilní fázi. Koncentrace složky v příslušných podílech fluátu nejprve stoupá a po dosažení maxima opět klesá, což se projeví na vnějším chromatogramu jako tzv. pík, jehož plocha je úměrná množství složky. Při volbě správných podmínek jsou píky jednotlivých složek navzájem oddělené.

Po opuštění kolony fluát prochází detektorem a jeho jednotlivé frakce se pro další zpracování zachycují tzv. sběračem frakcí. Signály z detektoru se registrují zapisovačem a zaznamenávají formou vnějšího chromatogramu. Nedetekují-li se složky v fluátu po opuštění kolony detektorem, je třeba fluát

zachycovat sběračem frakcí a jednotlivé frakce podrobit zkouškám na důkaz či stanovení složek. V některých případech lze tímto způsobem provést pouze skupinové dělení látek.

Potom se jednotlivé frakce podrobují dalšímu dělení (HUBAČEK, J., 1988). GARAJ a kol. (1987) uvádí, že jako detektory se v HPLC nejčastěji používají diferenciální refraktometry a fotometrické UV detektory. Oba tyto detektory jsou koncentrační. Ze selektivních detektorů se používají elektrochemické detektory, fluorescenční detektor a infračervený detektor.

3.4 Analýza vzorků

Extrakty rostlinných vzorků byly analyzovány pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC - high-performance liquid chromatography) ve spolupráci s Katedrou chemie a učitelství chemie v Č.Budějovicích. Vzor chromatogramu třapatky nachové je znázorněn viz *příloha č. 3*. Jako mobilní fáze byla užitá směs acetonitrilu. Mobilní fáze A: 5% acetonitril + 0.1% H₃PO₄ (85%). Mobilní fáze B : 50% CH₃CN + 0.1% H₃PO₄ (85%). Průtok mobilní fáze byl 0,25 ml/min při 325 nm. Množství kyseliny cichorové bylo počítáno podle kalibrační křivky pro kyselinu kaftarovou. Výsledky byly analyzovány pomocí strojů na Katedře aplikované chemie a učitelství chemie: Vysokotlaká pumpa Spectra System P2000, Uvdetektor Specra System UV 3000 HR Thermo Separation Products, SN 4000, Auto sampler MIDAS Holland Spark.

4. VÝSLEDKY

Po provedeném rozboru metodou HPLC byly naměřené výsledky vyhodnoceny a statisticky zpracovány. Dosažené výsledky jsou pro větší přehled rozděleny podle prováděných pokusů a vyjádřeny jako procentický obsah sledovaných látek graficky včetně tabulkového zpracování. U všech typů pokusu byly stanoveny kyseliny - kaftarová, cichorová, kávová a chlorogenová.

Obsah sledovaných biologicky aktivních látek v rostlině *Echinacea purpurea* se měnil v závislosti na ročníku.

Ve druhém roce (2004) pěstování rostliny bylo u *nehnojeného* porostu v jednotlivých částech rostliny dosaženo následujících výsledků.

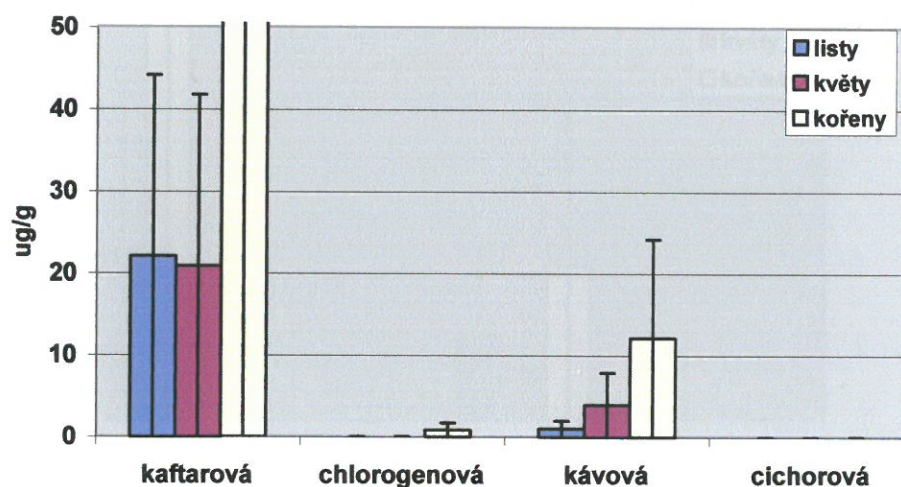
Tabulka č. 13

Graf č. 1

Průměrné hodnoty kyselin ($\mu\text{g/g}$) mezi jednotlivými částmi rostlin ve druhém roce (nehnojené)

	kaftarová	chlorogenová	kávová	cichorová
listy	22,095	0,013	1,002	0,000
květy	20,912	0,012	3,932	0,001
kořeny	427,870	0,851	12,114	0,011

Obsah kyselin v jednotlivých částech rostlin ve druhém roce (nehnojené)



Nejvyšší obsah kyseliny kaftarové ($428 \mu\text{g/g}$) až 20ti násobek oproti jejímu obsahu v listech ($22 \mu\text{g/g}$) a květech ($21 \mu\text{g/g}$) byl zjištěn v kořenech. Obdobně v případě kyselin kávové, chlorogenové a cichorové byly nejvyšší hodnoty nalezeny též v kořenech, nižší v květech a nejnižší v listech. Obsah kyseliny kávové byl v kořenech 3x násobný ve srovnání s květy a 12ti násobný s listy. Obsahy kyseliny cichorové ve všech případech byly velmi nízké.

Vliv *tekutého* čínského biologického hnojiva na obsah sledovaných kyselin je patrný z *tabulky č. 14*:

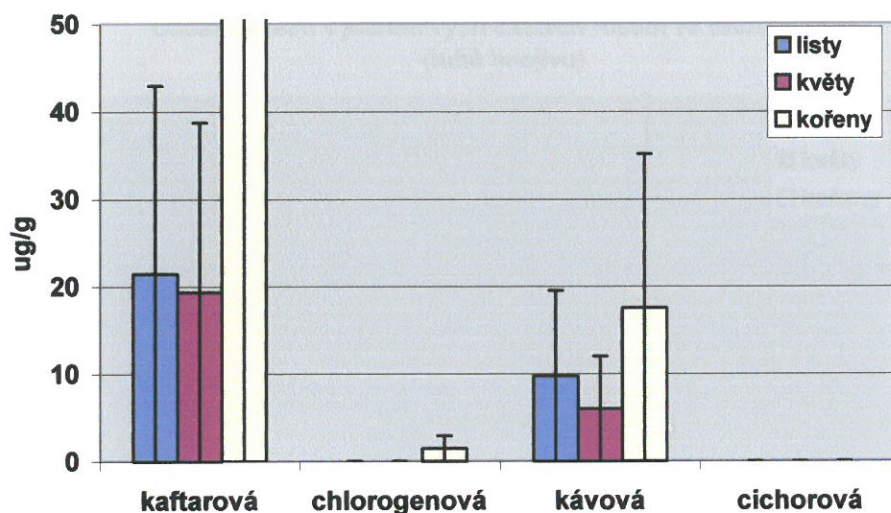
Tabulka č. 14

Graf č. 2

Průměrné hodnoty kyselin (ug/g) mezi jednotlivými částmi rostlin ve druhém roce (tekuté hnojivo)

	kaftarová	chlorogenová	kávová	cichorová
listy	21,472	0,012	9,768	0,003
květy	19,369	0,011	6,004	0,002
kořeny	736,207	1,464	17,584	0,016

Obsah kyselin v jednotlivých částech rostlin ve druhém roce (tekuté hnojivo)



Stejně jako v kontrolní nehnojené variantě byl obsah kyseliny cichorové i chlorogenové velmi nízký až nulový. Nejvyšší obsahy byly zaznamenány u kyseliny kaftarové u kořenů (736 $\mu\text{g/g}$) až 35ti násobek oproti jejímu obsahu v listech (22 $\mu\text{g/g}$) a proti květům (19 $\mu\text{g/g}$). Obsah kyseliny kávové byl v kořenech 3x násobný ve srovnání s květy a 2x násobný s listy.

Tekuté čínské biologické hnojivo v druhém roce (2004) způsobilo zvýšení obsahu kyseliny kaftarové na 178% ve srovnání s kontrolou. V květech způsobilo snížení na 95,5%.

Vliv *tuhého* čínského biologického hnojiva na obsah sledovaných kyselin je patrný z *tabulky č. 15*:

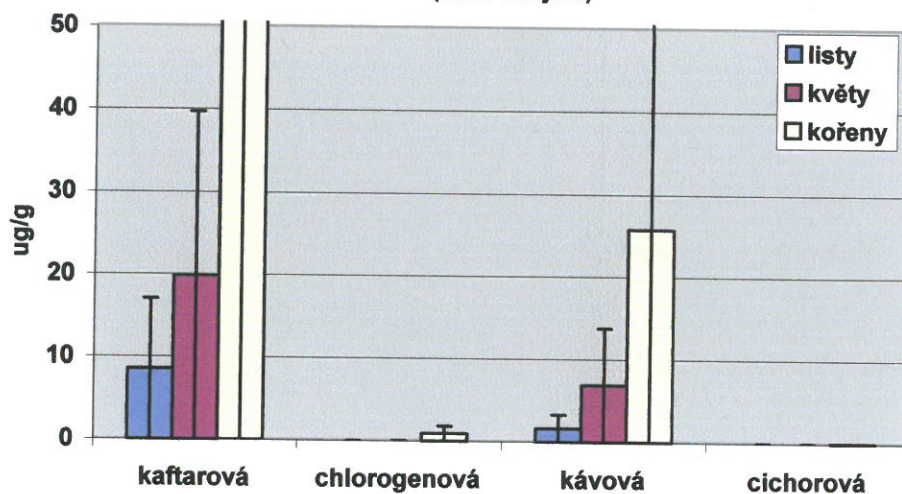
Tabulka č. 15

Graf č. 3

Průměrné hodnoty kyselin (ug/g) mezi jednotlivými částmi rostlin ve druhém roce (tuhé hnojivo)

	kaftarová	chlorogenová	kávová	cichorová
listy	8,520	0,005	1,636	0,000
květy	19,844	0,011	6,883	0,002
kořeny	460,696	0,916	25,744	0,024

Obsah kyselin v jednotlivých částech rostlin ve druhém roce (tuhé hnojivo)



Stejně jako v kontrolní nehnojené variantě byl obsah kyseliny cichorové i chlorogenové velmi nízký až nulový. Nejvyšší obsahy byly zaznamenány v kyselině kaftarové u kořenů (460 $\mu\text{g/g}$) až 54x násobek oproti jejímu obsahu v listech (9 $\mu\text{g/g}$) a květech až 23x násobek (20 $\mu\text{g/g}$).

Tuhé čínské biologické hnojivo způsobilo zvýšení obsahu kyseliny kaftarové u kořenů na 107 % ve srovnání s kontrolou. V květech byl pokles na 95 %.

Ve třetím roce (2005) pěstování rostliny bylo u *nehnojeného* porostu v jednotlivých částech rostliny dosaženo následujících výsledků.

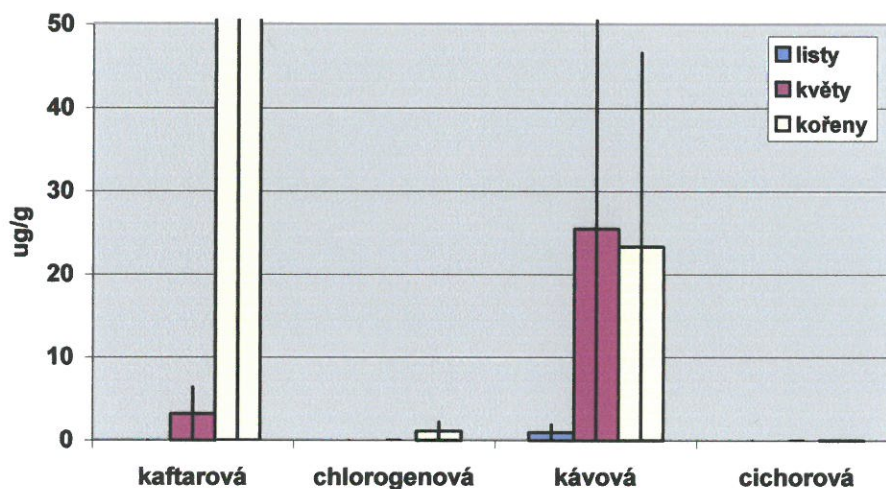
Tabulka č. 16

Graf č. 4

Průměrné hodnoty kyselin (ug/g) mezi jednotlivými částmi rostlin ve třetím roce (nehnojené)

	kaftarová	chlorogenová	kávová	cichorová
listy	0,000	0,000	0,978	0,000
květy	3,195	0,002	25,493	0,007
kořeny	560,325	1,114	23,338	0,021

Obsah kyselin v jednotlivých částech rostlin ve třetím roce (nehnojené)



Nejvyšší obsah kyseliny kaftarové je opět v kořenech (560 $\mu\text{g/g}$). V listech není vůbec přítomen a oproti květům (3,2 $\mu\text{g/g}$) činí 175x násobek.

Obsah kyseliny kávové byl v kořenech 24x násobný (23 $\mu\text{g/g}$) ve srovnání s listy a nepatrně nižší oproti květům (25 $\mu\text{g/g}$).

Obsahy kyselin cichorové a chlorogenové byly ve všech případech opět velmi nízké, v listech nulové.

Vliv *tekutého* čínského biologického hnojiva na obsah sledovaných kyselin je patrný z *tabulky č. 17*.

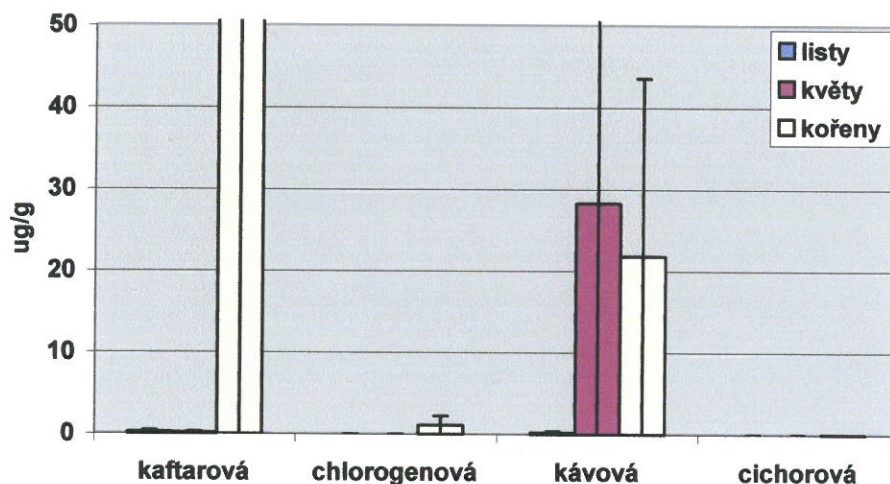
Tabulka č. 17

Graf č. 5

Průměrné hodnoty kyselin (ug/g) mezi jednotlivými částmi rostlin ve třetím roce (tekuté hnojivo)

	kaftarová	chlorogenová	kávová	cichorová
listy	0,221	0,000	0,201	0,000
květy	0,139	0,000	28,296	0,007
kořeny	555,201	1,104	21,793	0,020

Obsah kyselin v jednotlivých částech rostlin ve třetím roce (tekuté hnojivo)



Stejně jako v kontrolní variantě byl obsah kyseliny cichorové i chlorogenové velmi nízký až nulový.

Nejvyšší obsah byl zaznamenán u kyseliny kaftarové v kořenech (555 $\mu\text{g/g}$), v květech a listech byl obsah zanedbatelný.

Obsah kyseliny kávové byl v kořenech (22 $\mu\text{g/g}$) až 110x násobek oproti listům a její obsah v květech byl tentokrát (28 $\mu\text{g/g}$) až 1,2x vyšší než v kořenech.

Kapalné čínské biologické hnojivo ve třetím roce způsobilo pokles obsahu kyseliny kaftarové v kořenech o 4 % ve srovnání s kontrolními nehnojenými vzorky.

Stejně jako v kontrolní nehnojené variantě byl obsah kyseliny cichorové i chlorogenové u *tuhého* hnojení nulový.

U kyseliny kaftarové byly zaznamenány nejvyšší hodnoty v kořenech (519 $\mu\text{g/g}$), což je 1000x víc než v listech a 148x víc než v květech (3,5 $\mu\text{g/g}$).

Obsah kyseliny kávové byl v kořenech (21 $\mu\text{g/g}$), což je 20x více než v listech (1,3 $\mu\text{g/g}$) a 2x více než v květech (12 $\mu\text{g/g}$).

Tuhé čínské biologické hnojivo ve třetím roce způsobilo snížení obsahu kyseliny kaftarové v kořenech o 8 % ve srovnání s kontrolou.

U květů nezpůsobilo žádnou změnu.

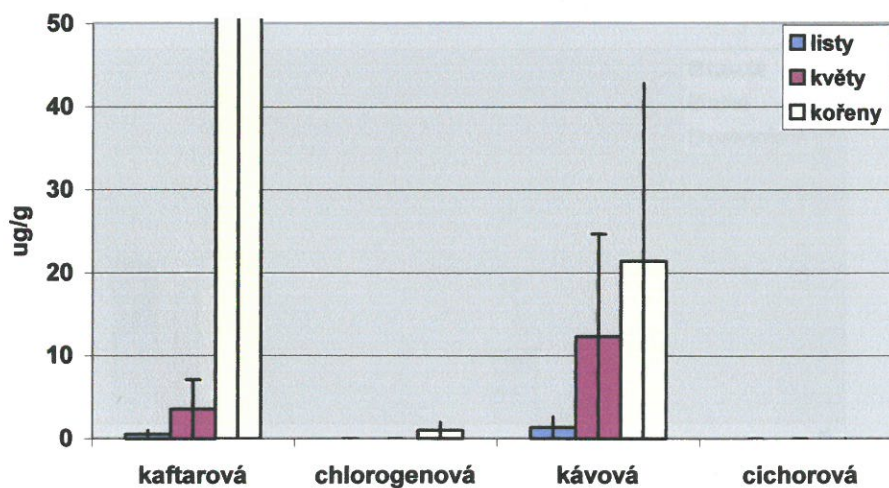
Tabulka č. 18

Graf č. 6

Průměrné hodnoty kyselin ($\mu\text{g/g}$) mezi jednotlivými částmi rostlin ve třetím roce (tuhé hnojivo)

	kaftarová	chlorogenová	kávová	cichorová
listy	0,519	0,000	1,326	0,000
květy	3,553	0,002	12,334	0,003
kořeny	519,439	0,999	21,420	0,018

Obsah kyselin v jednotlivých částech rostlin ve třetím roce (tuhé hnojivo)



Ve *druhém* ročníku pěstování rostliny bylo porovnáno množství biologicky aktivních látek v *listech* mezi různými způsoby hnojení.

Kyselina kaftarová má nejvyšší obsah u nehnojených rostlin (22 µg/g). Nepatrně menší obsah při hnojení tekutými hnojivými (21,5 µg/g) a 2,5x méně při hnojení tuhými hnojivými (8,5 µg/g).

Kyselina kávová má u nehnojených listů (1 µg/g). Při hnojení tekutými hnojivými je to téměř 10ti násobek (9,7 µg/g) a při hnojení tuhými činí 1,5x násobek (1,6 µg/g) oproti nehnojeným.

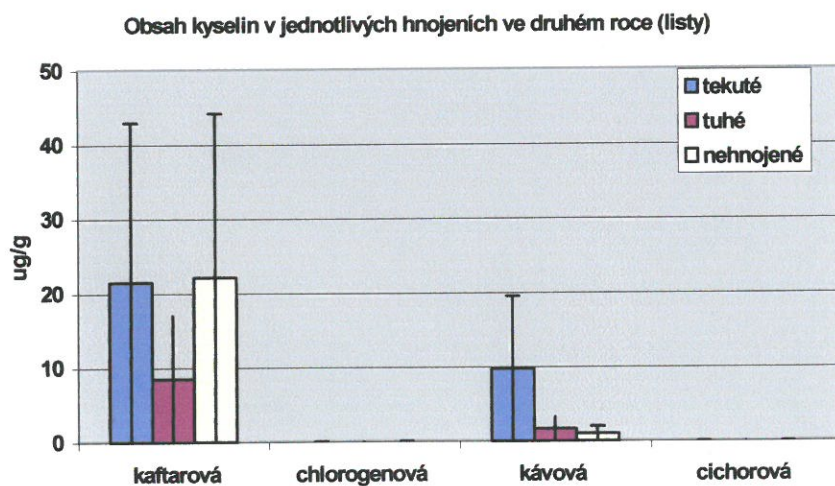
Kyselina chlorogenová má sotva měřitelné množství a kyselina cichorová nulové.

Tabulka č. 19

Graf č. 7

Průměrné hodnoty kyselin (ug/g) v jednotlivých hnojeních ve druhém roce (listy)

	kaftarová	chlorogenová	kávová	cichorová
tekuté	21,472	0,012	9,768	0,003
tuhé	8,520	0,005	1,636	0,000
nehnojené	22,095	0,013	1,002	0,000



U vzorků z tříletých rostlin v listech kleslo množství všech kyselin na setinu až nulu.

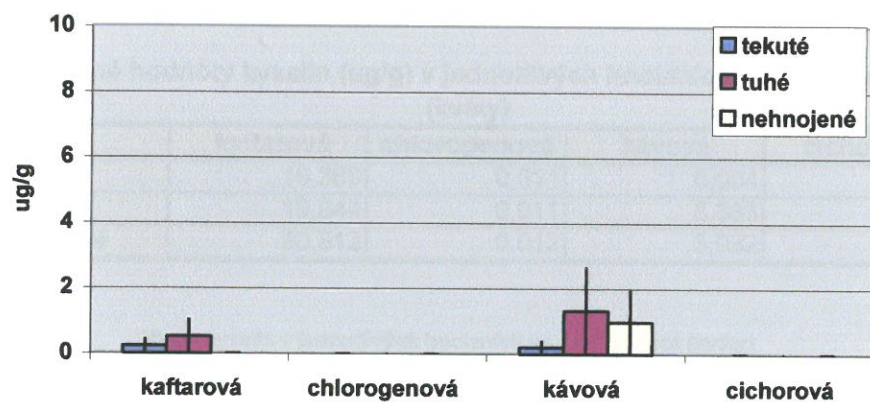
Tabulka č. 20

Graf č. 8

Průměrné hodnoty kyselin (ug/g) v jednotlivých hnojeních ve třetím roce (listy)

	kaftarová	chlorogenová	káвовá	cichorová
tekuté	0,221	0,000	0,201	0,000
tuhé	0,519	0,000	1,326	0,000
nehnojené	0,000	0,000	0,978	0,000

Obsah kyselin v jednotlivých hnojeních ve třetím roce (listy)



Ve *druhém* ročníku pěstování rostliny bylo porovnáno množství biologicky aktivních látek v *květech* mezi různými způsoby hnojení.

Nejvyšší obsah byl zjištěn u nehnojených vzorků (21 $\mu\text{g/g}$), nepatrně méně u hnojení tuhými hnojivy (20 $\mu\text{g/g}$) a při hnojení tekutými (19,3 $\mu\text{g/g}$).

Kyselina kávová je v nehnojených vzorcích obsažena (4 $\mu\text{g/g}$), při hnojení tuhými hnojivy je její množství téměř dvojnásobné (7 $\mu\text{g/g}$) a při hnojení tekutými hnojivy je množství pouze 1,5x násobné (6 $\mu\text{g/g}$).

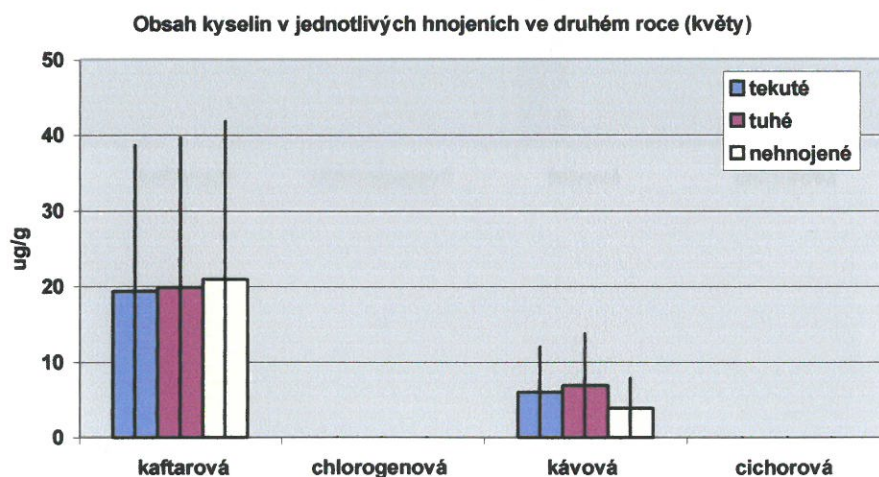
Kyselina chlorogenová a cichorová mají opět zanedbatelné, sotva měřitelné množství.

Tabulka č. 21

Graf č. 9

Průměrné hodnoty kyselin ($\mu\text{g/g}$) v jednotlivých hnojeních ve druhém roce (květy)

	kaftarová	chlorogenová	kávová	cichorová
tekuté	19,369	0,011	6,004	0,002
tuhé	19,844	0,011	6,883	0,002
nehnojené	20,912	0,012	3,932	0,001



V *tříletých* vzorcích u *květů* klesá množství všech kyselin opět na setiny až nulu.

Pouze u kyseliny kávové při hnojení tekutými hnojivy toto množství vzrostlo na 4x násobek (28 µg/g).

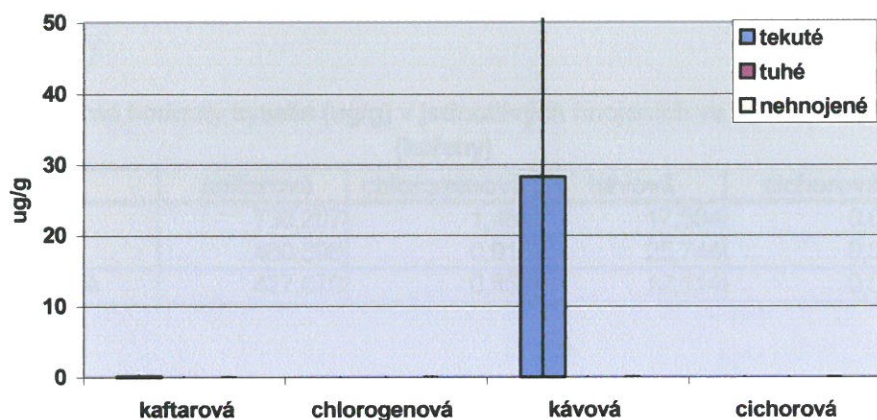
Tabulka č. 22

Graf č. 10

Průměrné hodnoty kyselin (µg/g) v jednotlivých hnojeních ve třetím roce (květy)

	kaftarová	chlorogenová	kávová	cichorová
tekuté	0,139	0,000	28,296	0,007
tuhé	0,000	0,000	0,000	0,000
nehnojené	0,000	0,000	0,000	0,000

Obsah kyselin v jednotlivých hnojeních ve třetím roce (květy)



Jako poslední se ve *druhém* roce porovnávalo množství biologicky aktivních látek v *kořenech* mezi různými způsoby hnojení.

Při sledování hodnot bylo u kyseliny kaftarové překvapivě zjištěno největší množství u tekutého hnojiva (736 µg/g). U tuhého hnojiva činí obsah kyseliny kaftarové 60 % (460 µg/g) oproti tekutému hnojivu. U nehnojených vzorků je to jenom 58 % (428 µg/g).

Kávová kyselina je v největším množství obsažena ve vzorcích hnojených tuhými hnojivy (26 µg/g). Vzorky hnojené tekutým hnojivem mají o 32 % méně kyseliny kávové. Vzorky nehnojené mají dokonce poloviční množství v porovnání s tuhými hnojivy.

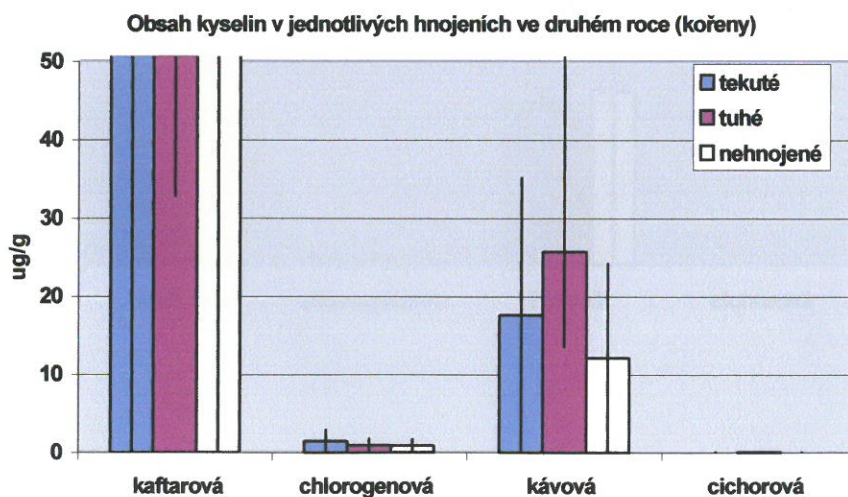
Kyselina chlorogenová má ve všech vzorcích obsah téměř nulový a kyselina cichorová prakticky neměřitelný. Tyto výsledky platí jak ve *druhém* (viz *tab. č. 23*), tak *třetím* roce (viz *tab. č.24*).

Tabulka č. 23

Graf č. 11

Průměrné hodnoty kyselin (ug/g) v jednotlivých hnojeních ve druhém roce (kořeny)

	kaftarová	chlorogenová	kávová	cichorová
tekuté	736,207	1,464	17,584	0,016
tuhé	460,696	0,916	25,744	0,024
nehnojené	427,870	0,851	12,114	0,011



Ve třetím roce u kořenů má kyselina kaftarová tentokrát nejvyšší zastoupení u nehnojených vzorků (560 µg/g). U hnojených tekutými hnojivy má o 1 % obsah nižší (555 µg/g) a vzorky hnojené tuhými hnojivy mají obsah o 8 % nižší.

To samé platí pro kyselinu kávovou, kde je její největší obsah v nehnojených vzorcích.

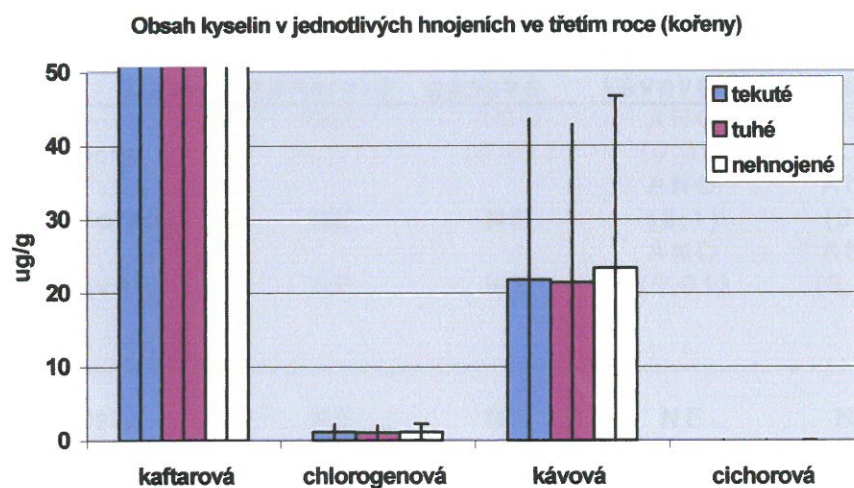
U kořenů hnojených tekutými hnojivy se obsah snížil o 7 % a u hnojených tuhými hnojivy se snížil o 8 %.

Tabulka č. 24

Graf č. 12

Průměrné hodnoty kyselin (ug/g) v jednotlivých hnojeních ve třetím roce (kořeny)

	kaftarová	chlorogenová	kávová	cichorová
tekuté	555,201	1,104	21,793	0,020
tuhé	519,439	0,999	21,420	0,018
nehnojené	560,325	1,114	23,338	0,021



4.1 Vyhodnocení analýzy rozptylu

Vliv různých forem biologických hnojiv ve *druhém* roce pěstování na obsah všech kyselin (kaftarové, cichorové, chlorogenové a kávové) v *listech* byl statisticky vysoce průkazný (na hladině 0,05 a nižší).

V *květech* se prokázalo, že výsledky jsou statisticky průkazné (na hladině 0,1) u kyseliny kávové a cichorové.

V *kořenech* taktéž u kyseliny kávové a cichorové byl obsah statisticky vysoce průkazný (na hladině 0,05 a nižší).

Ve *třetím* roce pěstování se statisticky průkazné obsahy ukázaly pouze v *květech*. U kyselin kaftarové a chlorogenové byly výsledky statisticky průkazné (na hladině 0,1) a u kyselin kávové a cichorové byly statisticky vysoce průkazné (na hladině 0,05 a nižší).

Vyhodnocení analýzy rozptylu je patrné v *tabulce č. 25 a příloze č. 5*.

Tabulka č. 25

červená – velmi vysoká průkaznost, *modrá* – vysoká průkaznost

2004	kyselina kaftarová	k.chloro- genová	kyselina kávová	kyselina cichorová
listy	ANO (0,01)	ANO (0,01)	ANO (0,01)	ANO (0,01)
kořeny	NE	NE	ANO (0,1)	ANO (0,1)
květy	NE	NE	ANO (0,01)	ANO (0,01)
2005				
listy	NE	NE	NE	NE
kořeny	NE	NE	NE	NE
květy	ANO (0,1)	ANO (0,1)	ANO (0,01)	ANO (0,01)

4.2 Vyhodnocení růstových charakteristik

Biologická hnojiva pozitivně ovlivnila ve druhém roce pěstování statisticky vysoce průkazně (na hladině 0,05 a nižší) *výšku rostlin, počet listů, počet květů a hmotnost sušiny v květu.*

Ve *třetím* roce pěstování byly pozitivně ovlivněny biologickými hnojivy velmi vysoce statisticky průkazně *počet listů, hmotnost sušiny květu a hmotnost sušiny listu.* Vysoká průkaznost vlivu hnojiv se projevila ve *třetím* roce u *počtu květů a hmotnosti sušiny kořene.*

Vyhodnocení růstových charakteristik je patrné v *tabulce č. 26 a příloze č. 6.*

Tabulka č. 26

červená – velmi vysoká průkaznost, modrá – vysoká průkaznost

	výška	počet odnoží	počet listů	počet květů	hmotnost sušina květ	hmotnost sušina kořen	hmotnost sušina list	hmotnost sušina celkem
2004	<i>ANO (0,01)</i>	NE	<i>ANO (0,05)</i>	<i>ANO (0,01)</i>	<i>ANO (0,01)</i>	NE	NE	NE
2005	NE	NE	<i>ANO (0,01)</i>	<i>ANO (0,1)</i>	<i>ANO (0,01)</i>	<i>ANO (0,1)</i>	<i>ANO (0,01)</i>	NE

5. DISKUSE

HPLC patří mezi nejdokonalejší varianty sloupcové (kolonové) kapalinové chromatografie. Její vznik byl zejména podpořen prudkým rozvojem přístrojové techniky, zejména v oblasti detekce chromatografovaných látek. Její výhodou je velká účinnost a rozlišovací schopnost. Používá se k dělení složitých směsí velmi příbuzných látek (SKLENÁK, L., 2003).

Badatelskou částí cíle projektu je výzkum několika druhů čínských biologických hnojiv vyrobených čínským partnerem v Institutu mikrobiologie Akademie věd v Hebei jako elicitacních faktorů, které by mohly indukovat v pěstovaných rostlinách vyšší produkci farmaceuticky významných sekundárních metabolitů.

Ke splnění cílů byl založen, veden a sklizen v letech 2002 až 2005 maloparcelkový polní pokus pěstování rostliny *Echinacea purpurea* se dvěma různými typy čínských biologických hnojiv, mobilizujících půdní fosfor.

Ve vypěstovaných vzorcích kořenů, listů a květů rostlin *Echinacea purpurea* byly po provedené extrakci uskutečněny analýzy stanovení obsahu kyselin kaftarové, cichorové, chlorogenové a kávové metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC).

Dosažené výsledky jsou v práci vyjádřeny v hmotnostních jednotkách sledovaných látek v sušině biomasy ($\mu\text{g/g}$).

Odlišné varianty hnojení (nehnojené, hnojené kapalným a pevným biologickým hnojivem) ovlivnily obsah sledovaných kyselin (kaftarové, kávové, chlorogenové a cichorové) v jednotlivých částech rostliny (list, květ, kořen) v různých letech (druhý a třetí rok pěstování).

Ve *druhém* roce (2004) pěstování rostliny bylo u *nehnojeného* porostu v jednotlivých částech rostliny dosaženo nejvyšších hodnot u kyseliny kaftarové v kořenech $428\mu\text{g/g}$, v listech $22\mu\text{g/g}$, v květech $20\mu\text{g/g}$, u kyseliny kávové $12\mu\text{g/g}$ v kořenech, $4\mu\text{g/g}$ v květech a $1\mu\text{g/g}$ v listech. V *Třetím* roce v porovnání s druhým sledujeme nárůst obsahu kyseliny kaftarové v kořenech

o 31% a pokles k nulové hodnotě v listech. V květech bylo zjištěno snížení obsahu až o 85%. U kyseliny kávové jsme zaznamenali ve třetím roce nárůst hodnot v kořenech o 105% a v květech o 500%, naopak v listech se obsah prakticky neměnil (pokles o 3%).

Obsah kyselin chlorogenové a cichorové ve všech částech rostlin u všech sledovaných variant hnojení byl velmi nízký až nulový.

Při hnojení *kapalnými* hnojivy ve *druhém* roce pěstování byl nejvyšší obsah kyseliny kaftarové v kořenech 736 μ g/g, nižší v listech 21 μ g/g a květech 19 μ g/g. U kyseliny kávové opět nejvyšší v kořenech 18 μ g/g, se snížením v listech 10 μ g/g a květech 6 μ g/g. Ve *třetím* roce pěstování pozorujeme v případě kyseliny kaftarové pokles obsahu ve všech sledovaných částech rostliny. Nejmenší v kořenech o 25%, nejvyšší v listech o 99% a květech o 100%. Obsah kyseliny kávové se zvýšil v květech o 370%, v kořenech o 24%, naopak prudce se snížil v listech až o 98%.

Použitím pevných hnojiv ve *druhém* roce bylo dosaženo obsahu kyseliny kaftarové 460 μ g/g v kořenech, 20 μ g/g v květech a 9 μ g/g v listech. U kyseliny kávové 26 μ g/g v kořenech, 7 μ g/g v květech a 2 μ g/g v listech. Hnojení ve *třetím* roce vedlo ke zvýšení obsahu kyseliny kaftarové v kořenech o 12%, k poklesu obsahu o 85% v květech a o 94% v listech. V případě kyseliny kávové můžeme konstatovat ve třetím roce nárůst obsahu o 100% v květech, při současném snížení obsahu o 17% v kořenech a o 20% v listech.

Ve své práci KOLÁŘ a kol. 1998 [33] prokázal, že při šestinásobném přebytku dusíku v poměru k draslíku a dalším živinám v *Echinacea purpurea* produkuje rostlina o 60 % účinných látek více než při harmonickém poměru živin. Podle rozboru živin z maloparcelkové plochy byla zásobenost N_{\min} v obou případech u nehnojených pozemků nízká a doporučený poměr mezi $N_{\min} : K$ nebyl zajištěn a proto se vliv poměru do zjištěných výsledků projevil minimálně.

Z výsledků KUŽELA a kol. (2005) vyplynulo, že testování biologických čínských hnojiv v nádobovém pokusu na katedře Obecné

produkce rostlinné ZF Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích nepřineslo výsledky, které byly očekávány čínským partnerem. Z mnoha ukazatelů, které mohla tato hnojiva ovlivnit, tj. výška rostlin, počet odnoží, počet listů na jedné rostlině, hmotnost biomasy čerstvé celkem, sušiny celkem, hmotnost čerstvé hmoty květů kořenů, počet pupat, počet květů, poměr květy:poupata, obsah kyseliny kaftarové v kořenech, nati, květech a ve stejných materiálech i obsah kyseliny kávové, cichorové a chlorogenové byl získán jen jediný statisticky průkazný výsledek. Hnojení bio-hnojivy zvýšilo pouze hmotnost čerstvé hmoty květů. Hnojení těmito hnojivy neumožnilo dosažení vyššího obsahu fenolických látek, které považujeme za zdroj fyziologicky účinných látek extraktů rostlin rodu *Echinacea*. Ve výsledcích těchto autorů lze sice nalézt mnoho trendů, např. že hnojení bio-hnojivy silně urychluje nástup kvetení, ale statisticky průkazné tyto a jiné trendy vlastností nebyly. V případě našeho maloparcelkového pokusu se nám podle očekávání podařilo prokázat vliv čínských bio-hnojiv, mobilizujících půdní fosfor, na řadu sledovaných parametrů růstových charakteristik (ve *druhém roce* výška, počet listů, počet květů, hmotnost sušiny květu. Ve *třetím roce* počet listů, počet květů, hmotnost sušiny květů, hmotnost sušiny kořene, hmotnost sušiny listů), a na kvantitu některých sledovaných biologicky aktivních látek. (Ve *druhém roce* u listů kyseliny kaftarová, chlorogenová, kávová, cichorová. U kořenů kyselina kávová, cichorová. U květů kyselina kávová, cichorová. Ve *třetím roce* u květů kyselina kaftarová, chlorogenová, kávová a cichorová). Zdůraznit bych chtěla především urychlení nástupu kvetení a vysoce průkazně a ovlivnění počtu květů, hmotnosti sušiny květu v obou letech sledování. Stejně tak statisticky průkazný vliv použitých hnojiv na obsah kyselin kávové a cichorové v druhém roce a všech sledovaných kyselin (kaftarové, chlorogenové, kávové a cichorové) v roce třetím.

6. ZÁVĚR

Obsah biologicky aktivních látek v jednotlivých částech rostliny *Echinacea purpurea* se měnil v závislosti na ročníku a hnojení *kapalnými* či *pevnými* biologickými hnojivy.

V druhém roce pěstování se projevil vliv hnojení na obsah všech sledovaných kyselin v *listech* statisticky vysoce průkazně. Největší obsah kyseliny kaftarové v *listech* byl pozorován ve *druhém* roce v kontrolní variantě a ve variantě hnojení kapalným hnojivem. Nejvyšší obsah kyseliny kávové byl dosažen při použití kapalného hnojiva. Ve *třetím* roce došlo vlivem ročníku k výraznému poklesu obsahu sledovaných kyselin. Rozdíly v obsazích všech sledovaných kyselin v *listech* v *třetím* roce pěstování byly staticky neprůkazné.

Vliv hnojení statisticky vysoce průkazně ovlivnil obsah kyselin cichorové a kávové v květech v obou letech pěstování. Obsah kyselin kaftarové a chlorogenové v květech byl hnojením statisticky průkazně ovlivněn pouze ve *třetím* roce.

V kořenech byl jako statisticky průkazný vyhodnocen vliv hnojení pouze na obsah kyseliny kávové a cichorové v *druhém* roce pěstování.

V kořenech bylo zaznamenáno absolutně největší množství všech kyselin, jak v *druhém* tak i v *třetím* roce ve všech variantách hnojení.

Provedeným experimentem byl potvrzen statisticky průkazný vliv čínských biologických hnojiv, mobilizujících půdní fosfor na obsah kyselin kávové, kaftarové, cichorové a chlorogenové v některých částech rostliny *Echinacea purpurea*.

7.PŘÍLOHY

Příloha č. 1

	výška (cm)	počet odnoží	počet listů	počet květů	h m o t n o s t			
					sušina květů	sušina kořer	sušina list	sušina celkem
Hnojivo tekuté 1	77, 75, 56, 53, 41, 20, 18	7	28	8	4,69	3,46	3,02	11,17
Hnojivo tekuté 2	87, 78, 60, 56, 46, 40, 40, 22, 18	9	71	15	11,76	23,16	10,09	45,01
Hnojivo tekuté 3	56, 59, 22, 93, 98	5	32	7	4,21	7,72	2,91	14,84
Hnojivo tekuté 4	58, 56, 50, 33, 76, 82	6	36	6	5,74	3,27	4,09	13,10
Hnojivo tekuté 5	80, 78, 56, 55	4	28	4	3,50	3,02	4,26	10,78
Hnojivo tekuté 6	79, 63, 44, 22	4	27	7	4,67	2,32	2,35	9,34
Hnojivo tekuté 7	65, 20, 72	3	22	6	4,33	2,04	2,15	8,52
Hnojivo tekuté 8	78, 25	2	23	5	2,72	2,18	2,19	7,09
Hnojivo tekuté 9	32, 18	2	13	3	2,75	2,00	2,08	6,83
Hnojivo tekuté 10	71, 68, 44, 40, 86, 90	6	36	7	4,85	8,30	4,29	17,44
Hnojivo tekuté 11	71, 58, 53	3	29	6	5,29	3,80	2,75	11,84
Hnojivo tekuté 12	56, 32	2	29	5	4,14	2,11	2,34	8,59
Hnojivo tekuté 13	56, 52, 66	3	53	4	4,53	19,63	5,98	30,14
Hnojivo tekuté 14	72	1	11	2	2,05	2,12	2,03	6,20
Hnojivo tekuté 15	58, 51, 45, 26, 99	5	33	9	7,35	5,13	3,11	15,59

	výška (cm)	počet odnoží	počet listů	počet květů	h m o t n o s t			
					sušina květů	sušina kořer	sušina list	sušina celkem
Hnojivo tuhé 1	53, 67, 82, 101	4	20	5	2,02	2,53	2,15	6,70
Hnojivo tuhé 2	28, 56, 72	3	17	3	3,59	2,35	3,00	8,94
Hnojivo tuhé 3	35, 81, 90	3	27	3	2,49	2,10	2,05	6,64
Hnojivo tuhé 4	33, 102	2	15	2	3,01	5,30	2,08	10,39
Hnojivo tuhé 5	79, 88	2	19	3	2,06	6,67	2,16	10,89
Hnojivo tuhé 6	36, 69, 93	3	17	3	2,39	4,40	2,13	8,92
Hnojivo tuhé 7	47, 56, 65, 73	4	30	5	2,99	4,24	2,25	9,48
Hnojivo tuhé 8	71	1	12	2	2,35	8,57	2,00	12,92
Hnojivo tuhé 9	103, 105	2	22	3	2,95	7,43	3,09	13,47
Hnojivo tuhé 10	45, 50, 93, 95, 105	5	33	5	2,61	8,08	2,06	12,75
Hnojivo tuhé 11	42, 56, 78	3	22	3	2,02	2,23	2,10	6,35
Hnojivo tuhé 12	71, 78, 86, 87	4	28	4	2,90	14,18	3,37	20,45
Hnojivo tuhé 13	54, 55, 93	3	22	3	2,00	2,98	2,41	7,39
Hnojivo tuhé 14	47, 88, 97	3	23	4	4,76	12,35	2,17	19,28
Hnojivo tuhé 15	56	1	5	1	3,22	2,75	2,06	8,03

	výška (cm)	počet odnoží	počet listů	počet květů	h m o t n o s t				
					sušina květ	sušina kořer	sušina list	sušina celkem	
Nehnojené 1	48, 79, 93	3	24	5	5,50	11,76	1,56	18,82	
Nehnojené 2	56, 64, 91	3	26	3	1,27	8,93	1,73	11,93	
Nehnojené 3	76, 77, 85, 91	4	27	4	5,55	1,02	2,87	9,44	
Nehnojené 4	59, 71, 77	3	20	4	2,98	9,43	2,59	15,00	
Nehnojené 5	49, 61, 93	3	23	4	3,82	5,75	1,75	11,32	
Nehnojené 6	56, 58	2	21	3	3,32	2,25	1,22	6,79	
Nehnojené 7	48, 72, 83, 87, 96	5	51	5	5,53	10,27	5,72	21,52	
Nehnojené 8	56, 59, 75, 95	4	32	5	2,71	8,74	4,04	15,49	
Nehnojené 9	39, 47, 53	3	22	4	5,03	7,56	3,92	16,51	
Nehnojené 10	20, 53, 94, 102	4	26	6	5,72	2,86	1,92	10,50	
Nehnojené 11	65, 66, 72	3	26	3	2,00	7,59	1,97	11,56	
Nehnojené 12	48, 59, 79, 101	4	25	4	7,23	6,69	2,96	16,88	
Nehnojené 13	42, 65	2	35	2	2,02	0,46	3,42	5,90	
Nehnojené 14	53, 70, 71, 95, 98	5	43	7	6,56	6,48	5,77	18,81	
Nehnojené 15	22, 31, 46, 75, 79, 91, 93	7	72	10	4,90	16,44	6,38	27,72	

	výška (cm)	počet odnoží	počet listů	počet květů	h m o t n o s t			
					sušina květ	sušina kořer	sušina list	sušina celkem
Hnojivo tekuté 1	104, 89, 63, 72, 80, 56	6	94	12	2,50		1,41	3,91
Hnojivo tekuté 2	98, 80, 90, 67, 87, 77, 68	7	122	21	9,29		19,02	28,31
Hnojivo tekuté 3	81, 84, 73	3	81	10	3,94		11,14	15,08
Hnojivo tekuté 4	101, 73, 97, 74, 55, 83, 91, 68, 82	9	129	16	6,98		19,09	26,07
Hnojivo tekuté 5	98	1	86	9	7,19		10,74	17,93
Hnojivo tekuté 6	74, 67, 80, 75, 50	5	76	11	6,17		15,38	21,55
Hnojivo tekuté 7	101, 89, 83, 86, 35, 59, 94, 84, 102, 83	10	96	12	3,61		9,74	13,35
Hnojivo tekuté 8	77, 89, 95, 95	4	55	6	3,33		6,31	9,64
Hnojivo tekuté 9	89, 80	2	13	9	3,34		7,91	11,25
Hnojivo tekuté 10	79, 80, 90, 91	4	69	10	8,71		9,23	17,94
Hnojivo tekuté 11	71, 78, 79, 78, 81, 88, 96	7	68	9	6,89		12,10	18,99
Hnojivo tekuté 12	105	1	44	8	3,19		9,46	12,65
Hnojivo tekuté 13	109	1	33	6	7,36		4,55	11,91
Hnojivo tekuté 14	84, 84, 79, 71, 76, 84, 96	6	103	13	6,80		13,48	20,28
Hnojivo tekuté 15	96, 98, 104, 113, 86, 87, 122, 97, 91, 31, 93	11	150	23	8,80		27,68	36,48
Hnojivo tekuté 16	65, 97, 92, 81, 78, 81, 83	7	106	14	8,87	0,91	14,32	24,10
Hnojivo tekuté 17	110, 100, 67, 115, 126, 118, 41, 28	8	83	28	7,66	1,88	14,89	24,43
Hnojivo tekuté 18	107, 106, 107, 119, 102	5	95	23	5,55	11,65	20,44	37,64
Hnojivo tekuté 19	55, 71, 102, 49, 56, 99, 71, 66, 77, 84, 69, 66	12	161	22	7,97	4,70	24,09	36,76
Hnojivo tekuté 20	41, 93, 83, 93, 84, 92, 97, 70	8	96	15	6,58	8,94	12,52	28,04

	výška (cm)	počet odnoží	počet listů	počet květů	h m o t n o s t			
					sušina květ	sušina kořen	sušina list	sušina celkem
Hnojivo tuhé 1	87, 78, 90, 101, 107	5	35	18	4,53		4,79	9,32
Hnojivo tuhé 2	94, 78, 78, 100	4	60	10	5,19		6,67	11,86
Hnojivo tuhé 3	94, 116, 91, 90, 109	5	106	18	4,76		15,48	20,24
Hnojivo tuhé 4	103, 92, 98, 99, 98, 96, 95, 68, 69	9	109	17	6,37		11,14	17,51
Hnojivo tuhé 5	111, 90, 81, 77, 80	5	44	10	3,77		6,38	10,15
Hnojivo tuhé 6	98, 80, 61, 75, 59, 87, 99	7	102	13	2,74		10,94	13,68
Hnojivo tuhé 7	59, 101	2	85	12	2,86		12,15	15,01
Hnojivo tuhé 8	90, 85, 93, 91, 72, 77	6	71	11	2,00		10,81	12,81
Hnojivo tuhé 9	80, 103, 116	3	62	13	3,20		10,64	13,84
Hnojivo tuhé 10	52, 90, 91, 65, 86	5	44	10	4,74		7,08	11,82
Hnojivo tuhé 11	99, 112, 43	3	83	13	4,22		13,45	17,67
Hnojivo tuhé 12	100, 79, 87, 79, 81	5	28	12	3,21		4,70	7,91
Hnojivo tuhé 13	81, 73, 75, 69, 70	5	63	6	2,84		10,21	13,05
Hnojivo tuhé 14	100	1	80	8	5,52		12,69	18,21
Hnojivo tuhé 15	92, 79	2	36	5	4,91		5,97	10,88
Hnojivo tuhé 16	102, 79	2	71	11	3,82	13,05	16,07	32,94
Hnojivo tuhé 17	101, 100, 88, 113, 90, 77, 98	7	49	13	5,48	12,02	5,76	23,26
Hnojivo tuhé 18	68, 67, 92, 78, 81	5	72	11	4,30	27,25	10,23	41,78
Hnojivo tuhé 19	79, 66, 70, 80	4	52	8	5,75	8,74	6,97	21,46
Hnojivo tuhé 20	80, 80, 97, 78, 69, 90, 54	7	53	11	2,86	13,86	7,07	23,79

	výška (cm)	počet odnoží	počet listů	počet květů	h m o t n o s t			
					sušina květ	sušina kořer	sušina list	sušina celkem
Nehnojené 1	90, 93, 63, 93, 88, 91, 46	7	127	17	2,79		16,87	19,66
Nehnojené 2	104, 65, 89, 86, 58, 35, 100, 104	8	164	22	5,02		22,81	27,83
Nehnojené 3	90, 94	2	53	5	3,97		8,76	12,73
Nehnojené 4	83, 90, 85, 89, 84, 93	6	74	9	3,44		10,65	14,09
Nehnojené 5	100, 92, 102, 73	4	118	14	4,87		19,93	24,80
Nehnojené 6	102, 78, 76, 73, 85	5	99	15	5,65		15,07	20,72
Nehnojené 7	95, 98, 89, 95, 96, 95, 90, 100, 79, 90, 34, 50, 99	13	190	27	3,74		22,26	26,00
Nehnojené 8	79, 94, 94, 95, 71, 98, 79	7	87	14	6,77		7,99	14,76
Nehnojené 9	110, 104	2	57	13	2,01		10,47	12,48
Nehnojené 10	93, 98, 46, 90, 97, 87, 94, 43	8	136	15	4,64		17,22	21,86
Nehnojené 11	106, 80, 92	3	76	10	4,38		10,72	15,10
Nehnojené 12	72, 79, 84, 71, 69, 89, 87, 63	8	84	17	5,35		14,88	20,23
Nehnojené 13	73, 88, 90, 90, 86, 88, 64, 89	8	95	16	4,20		11,99	16,19
Nehnojené 14	99, 106, 94, 83, 110, 56	6	84	18	3,19		12,96	16,15
Nehnojené 15	110, 86, 80, 96, 91	5	37	11	2,16		5,71	7,87
Nehnojené 16	106, 101, 67, 63	4	101	13	4,58	8,28	14,12	26,98
Nehnojené 17	90, 90, 86, 94, 83, 83	6	108	14	3,15	12,74	11,86	27,75
Nehnojené 18	78, 69, 78, 85, 78, 107, 104, 98	8	65	15	5,12	9,07	7,96	22,15
Nehnojené 19	95, 84, 111, 90	4	131	18	2,92	1,38	17,00	21,30
Nehnojené 20	46, 93, 108, 99, 105, 108, 100, 78, 85	9	114	21	5,25	1,15	18,36	24,76

Příloha č. 2

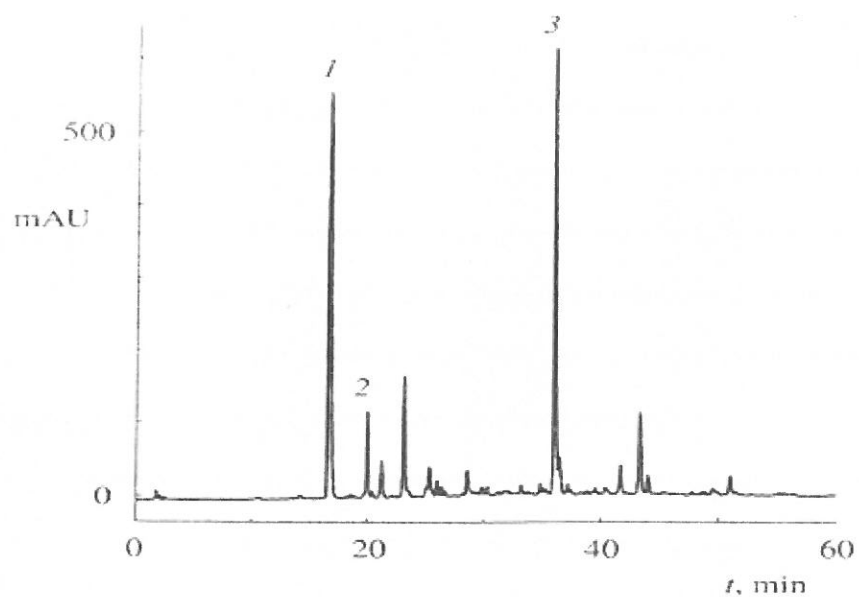


Vysokotlaká pumpa , Spectra System P2000



Auto sampler, MIDAS, výroba Holland Spark

Příloha č. 3



Chromatogram vodně-methanolového extraktu z třapatky nachové; HPLC: mobilní fáze A 5% acetonitril + 0,15% kyselina trifluoroctová, mobilní fáze B 80% acetonitril + 0,15% kyselina trifluoroctová, gradient: 0–20 % B (25 min), 20 % B–40 % B (35 min), průtok: 0,25 ml.min⁻¹; 1 – kyselina kaftarová, 2 – kyselina kávová, 3 – kyselina cichorová

Příloha č. 4

TEKUTÉ, LISTY VE 2. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 1	0,000	0,000	8,475	0,002
Vzorek č. 2	3,368	0,002	10,314	0,003
Vzorek č. 3	202,355	0,115	11,073	0,003
Vzorek č. 4	9,191	0,005	9,754	0,003
Vzorek č. 5	9,635	0,005	10,993	0,003
Vzorek č. 6	12,376	0,007	13,591	0,004
Vzorek č. 7	22,847	0,013	11,153	0,003
Vzorek č. 8	13,760	0,008	12,312	0,003
Vzorek č. 9	31,855	0,018	11,833	0,003
Vzorek č. 10	26,110	0,015	8,115	0,002
Vzorek č. 11	7,833	0,004	5,237	0,001
Vzorek č. 12	19,687	0,011	10,833	0,003
Vzorek č. 13	34,466	0,020	7,315	0,002
Vzorek č. 14	9,243	0,005	6,556	0,002
Vzorek č. 15	2,689	0,002	9,154	0,002
Vzorek č. 16	1,473	0,001	9,554	0,002
Vzorek č. 17	0,752	0,000	8,794	0,002
Vzorek č. 18	0,000	0,000	10,114	0,003
Vzorek č. 19	10,209	0,006	10,593	0,003
Vzorek č. 20	11,593	0,007	9,594	0,003
Průměr	21,472	0,012	9,768	0,003

TEKUTÉ, KVĚTY VE 2. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 21	16,658	0,009	8,595	0,002
Vzorek č. 22	18,721	0,011	7,275	0,002
Vzorek č. 23	18,251	0,010	7,156	0,002
Vzorek č. 24	19,374	0,011	9,674	0,003
Vzorek č. 25	21,515	0,012	5,796	0,002
Vzorek č. 26	16,763	0,010	6,356	0,002
Vzorek č. 27	20,131	0,011	5,037	0,001
Vzorek č. 28	21,672	0,012	5,836	0,002
Vzorek č. 29	20,444	0,012	6,516	0,002
Vzorek č. 30	16,946	0,010	4,157	0,001
Vzorek č. 31	21,645	0,012	5,237	0,001
Vzorek č. 32	15,405	0,009	4,237	0,001
Vzorek č. 33	19,531	0,011	4,917	0,001
Vzorek č. 34	12,742	0,007	9,554	0,002
Vzorek č. 35	20,366	0,012	5,437	0,001
Vzorek č. 36	21,254	0,012	4,597	0,001
Vzorek č. 37	18,826	0,011	4,317	0,001
Vzorek č. 38	24,309	0,014	5,557	0,001
Vzorek č. 39	23,656	0,013	5,437	0,001
Vzorek č. 40	19,165	0,011	4,397	0,001
Průměr	19,369	0,011	6,004	0,002

TUHÉ, LISTY VE 2. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 41	11,671	0,007	0,000	0,000
Vzorek č. 42	4,308	0,002	3,378	0,001
Vzorek č. 43	8,408	0,005	2,287	0,001
Vzorek č. 44	14,752	0,008	1,719	0,000
Vzorek č. 45	10,705	0,006	2,810	0,001
Vzorek č. 46	18,277	0,010	2,602	0,001
Vzorek č. 47	13,316	0,008	1,491	0,000
Vzorek č. 48	2,277	0,001	2,287	0,001
Vzorek č. 49	9,139	0,005	1,751	0,000
Vzorek č. 50	14,439	0,008	1,251	0,000
Vzorek č. 51	9,713	0,006	1,891	0,000
Vzorek č. 52	6,188	0,004	0,660	0,000
Vzorek č. 53	16,711	0,009	0,776	0,000
Vzorek č. 54	6,867	0,004	1,135	0,000
Vzorek č. 55	0,000	0,000	4,157	0,001
Vzorek č. 56	0,000	0,000	4,517	0,001
Vzorek č. 57	2,128	0,001	0,000	0,000
Vzorek č. 58	1,272	0,001	0,000	0,000
Vzorek č. 59	6,554	0,004	0,000	0,000
Vzorek č. 60	13,682	0,008	0,000	0,000
Průměr	8,520	0,005	1,636	0,000

TUHÉ, KVĚTY VE 2. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 61	19,792	0,011	4,917	0,001
Vzorek č. 62	19,322	0,011	6,836	0,002
Vzorek č. 63	22,324	0,013	8,715	0,002
Vzorek č. 64	23,343	0,013	6,956	0,002
Vzorek č. 65	20,888	0,012	7,355	0,002
Vzorek č. 66	15,510	0,009	6,116	0,002
Vzorek č. 67	17,442	0,010	6,276	0,002
Vzorek č. 68	19,478	0,011	5,996	0,002
Vzorek č. 69	23,708	0,013	5,876	0,002
Vzorek č. 70	22,194	0,013	6,356	0,002
Vzorek č. 71	20,236	0,011	7,116	0,002
Vzorek č. 72	18,878	0,011	6,556	0,002
Vzorek č. 73	19,792	0,011	6,476	0,002
Vzorek č. 74	19,269	0,011	6,836	0,002
Vzorek č. 75	18,042	0,010	8,395	0,002
Vzorek č. 76	17,520	0,010	9,794	0,003
Vzorek č. 77	22,638	0,013	10,753	0,003
Vzorek č. 78	18,277	0,010	6,316	0,002
Vzorek č. 79	21,567	0,012	6,156	0,002
Vzorek č. 80	16,658	0,009	3,870	0,001
Průměr	19,844	0,011	6,883	0,002

NEHNOJENÉ, LISTY VE 2. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 81	22,585	0,013	1,623	0,000
Vzorek č. 82	12,298	0,007	0,000	0,000
Vzorek č. 83	15,797	0,009	0,000	0,000
Vzorek č. 84	18,277	0,010	1,899	0,000
Vzorek č. 85	23,839	0,014	0,000	0,000
Vzorek č. 86	24,961	0,014	0,000	0,000
Vzorek č. 87	17,807	0,010	0,000	0,000
Vzorek č. 88	35,249	0,020	1,463	0,000
Vzorek č. 89	17,677	0,010	1,607	0,000
Vzorek č. 90	14,857	0,008	0,000	0,000
Vzorek č. 91	14,152	0,008	1,911	0,000
Vzorek č. 92	19,661	0,011	1,891	0,000
Vzorek č. 93	13,238	0,008	2,478	0,001
Vzorek č. 94	17,755	0,010	2,011	0,001
Vzorek č. 95	51,698	0,029	2,027	0,001
Vzorek č. 96	30,288	0,017	0,000	0,000
Vzorek č. 97	16,058	0,009	0,000	0,000
Vzorek č. 98	28,199	0,016	0,000	0,000
Vzorek č. 99	14,857	0,008	0,000	0,000
Vzorek č. 100	32,638	0,019	3,130	0,001
Průměr	22,095	0,013	1,002	0,000

NEHNOJENÉ, KVĚTY VE 2. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 101	18,199	0,010	3,126	0,001
Vzorek č. 102	20,914	0,012	3,758	0,001
Vzorek č. 103	20,862	0,012	4,237	0,001
Vzorek č. 104	12,324	0,007	4,037	0,001
Vzorek č. 105	23,264	0,013	3,670	0,001
Vzorek č. 106	21,645	0,012	3,402	0,001
Vzorek č. 107	21,776	0,012	3,054	0,001
Vzorek č. 108	21,489	0,012	3,058	0,001
Vzorek č. 109	23,734	0,013	6,116	0,002
Vzorek č. 110	21,306	0,012	1,951	0,001
Vzorek č. 111	19,713	0,011	4,597	0,001
Vzorek č. 112	23,578	0,013	1,247	0,000
Vzorek č. 113	21,933	0,012	4,197	0,001
Vzorek č. 114	9,139	0,005	4,717	0,001
Vzorek č. 115	24,309	0,014	4,917	0,001
Vzorek č. 116	23,734	0,013	5,237	0,001
Vzorek č. 117	23,029	0,013	6,076	0,002
Vzorek č. 118	23,578	0,013	2,754	0,001
Vzorek č. 119	21,019	0,012	3,858	0,001
Vzorek č. 120	22,690	0,013	4,637	0,001
Průměr	20,912	0,012	3,932	0,001

TEKUTÉ, KOŘENY VE 2. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 121	657,066	1,307	9,598	0,009
Vzorek č. 122	643,358	1,279	30,641	0,028
Vzorek č. 123	540,092	1,074	17,069	0,016
Vzorek č. 124	899,240	1,788	17,629	0,016
Vzorek č. 125	941,277	1,872	12,984	0,012
Průměr	736,207	1,464	17,584	0,016

TUHÉ, KOŘENY VE 2. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 126	409,410	0,814	16,789	0,015
Vzorek č. 127	396,616	0,789	42,533	0,039
Vzorek č. 128	35,275	0,070	16,370	0,015
Vzorek č. 129	456,931	0,909	19,308	0,018
Vzorek č. 130	1005,248	1,999	33,719	0,031
Průměr	460,696	0,916	25,744	0,024

NEHNOJENÉ, KOŘENY VE 2. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 131	657,066	1,307	17,209	0,016
Vzorek č. 132	524,556	1,043	8,731	0,008
Vzorek č. 133	423,118	0,841	15,810	0,014
Vzorek č. 134	221,154	0,440	6,394	0,006
Vzorek č. 135	313,454	0,623	12,424	0,011
Průměr	427,870	0,851	12,114	0,011

TEKUTÉ, LISTY VE 3. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 136	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 137	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 138	3,316	0,002	0,000	0,000
Vzorek č. 139	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 140	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 141	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 142	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 143	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 144	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 145	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 146	0,000	0,000	3,014	0,001
Vzorek č. 147	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 148	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 149	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 150	0,000	0,000	0,000	0,000
Průměr	0,221	0,000	0,201	0,000

TEKUTÉ, KVĚTY VE 3. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 151	2,091	0,001	12,992	0,003
Vzorek č. 152	0,000	0,000	31,740	0,008
Vzorek č. 153	0,000	0,000	17,869	0,005
Vzorek č. 154	0,000	0,000	12,152	0,003
Vzorek č. 155	0,000	0,000	44,772	0,012
Vzorek č. 156	0,000	0,000	28,942	0,008
Vzorek č. 157	0,000	0,000	38,056	0,010
Vzorek č. 158	0,000	0,000	30,261	0,008
Vzorek č. 159	0,000	0,000	42,773	0,011
Vzorek č. 160	0,000	0,000	16,510	0,004
Vzorek č. 161	0,000	0,000	5,596	0,001
Vzorek č. 162	0,000	0,000	42,373	0,011
Vzorek č. 163	0,000	0,000	35,658	0,009
Vzorek č. 164	0,000	0,000	61,162	0,016
Vzorek č. 165	0,000	0,000	3,586	0,001
Průměr	0,139	0,000	28,296	0,007

TUHÉ, LISTY VE 3. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 166	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 167	3,734	0,002	14,991	0,004
Vzorek č. 168	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 169	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 170	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 171	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 172	4,047	0,002	0,000	0,000
Vzorek č. 173	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 174	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 175	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 176	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 177	0,000	0,000	2,894	0,001
Vzorek č. 178	0,000	0,000	2,007	0,001
Vzorek č. 179	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 180	0,000	0,000	0,000	0,000
Průměr	0,519	0,000	1,326	0,000

TUHÉ, KVĚTY VE 3. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 181	5,092	0,003	1,819	0,000
Vzorek č. 182	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 183	0,000	0,000	7,072	0,002
Vzorek č. 184	0,000	0,000	7,195	0,002
Vzorek č. 185	0,000	0,000	14,471	0,004
Vzorek č. 186	0,000	0,000	26,903	0,007
Vzorek č. 187	2,125	0,001	17,909	0,005
Vzorek č. 188	2,047	0,001	28,662	0,007
Vzorek č. 189	2,047	0,001	2,474	0,001
Vzorek č. 190	24,491	0,014	15,950	0,004
Vzorek č. 191	0,000	0,000	11,313	0,003
Vzorek č. 192	0,000	0,000	9,594	0,003
Vzorek č. 193	17,494	0,010	3,838	0,001
Vzorek č. 194	0,000	0,000	19,228	0,005
Vzorek č. 195	0,000	0,000	18,588	0,005
Průměr	3,553	0,002	12,334	0,003

NEHNOJENÉ, LISTY VE 3. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 196	0,000	0,000	3,170	0,001
Vzorek č. 197	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 198	0,000	0,000	2,694	0,001
Vzorek č. 199	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 200	0,000	0,000	1,999	0,001
Vzorek č. 201	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 202	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 203	0,000	0,000	2,343	0,001
Vzorek č. 204	0,000	0,000	1,888	0,000
Vzorek č. 205	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 206	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 207	0,000	0,000	2,570	0,001
Vzorek č. 208	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 209	0,000	0,000	0,000	0,000
Vzorek č. 210	0,000	0,000	0,000	0,000
Průměr	0,000	0,000	0,978	0,000

NEHNOJENÉ, KVĚTY VE 3. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 211	5,614	0,003	0,000	0,000
Vzorek č. 212	1,776	0,001	30,861	0,008
Vzorek č. 213	3,786	0,002	15,111	0,004
Vzorek č. 214	2,334	0,001	10,274	0,003
Vzorek č. 215	1,614	0,001	14,631	0,004
Vzorek č. 216	3,316	0,002	7,675	0,002
Vzorek č. 217	3,603	0,002	41,974	0,011
Vzorek č. 218	1,097	0,001	25,064	0,007
Vzorek č. 219	2,548	0,001	10,833	0,003
Vzorek č. 220	3,786	0,002	28,822	0,008
Vzorek č. 221	9,739	0,006	16,190	0,004
Vzorek č. 222	2,251	0,001	51,568	0,013
Vzorek č. 223	1,144	0,001	45,571	0,012
Vzorek č. 224	2,470	0,001	37,057	0,010
Vzorek č. 225	2,846	0,002	46,771	0,012
Průměr	3,195	0,002	25,493	0,007

TEKUTÉ, KOŘENY VE 3. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 226	284,211	0,565	42,533	0,039
Vzorek č. 227	430,429	0,856	0,000	0,000
Vzorek č. 228	404,841	0,805	0,000	0,000
Vzorek č. 229	650,669	1,294	30,641	0,028
Vzorek č. 230	381,994	0,760	38,056	0,035
Vzorek č. 231	508,107	1,010	21,251	0,019
Vzorek č. 232	1114,911	2,217	0,000	0,000
Vzorek č. 233	615,029	1,223	32,460	0,030
Vzorek č. 234	465,155	0,925	13,585	0,012
Vzorek č. 235	650,669	1,294	33,019	0,030
Vzorek č. 236	61,229	0,122	8,731	0,008
Vzorek č. 237	522,729	1,040	32,739	0,030
Vzorek č. 238	590,354	1,174	29,801	0,027
Vzorek č. 239	838,925	1,668	15,390	0,014
Vzorek č. 240	808,767	1,608	28,682	0,026
Průměr	555,201	1,104	21,793	0,020

TUHÉ, KOŘENY VE 3. ROCE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 241	190,344	0,108	16,949	0,004
Vzorek č. 242	93,475	0,053	13,551	0,004
Vzorek č. 243	72,587	0,041	2,582	0,001
Vzorek č. 244	527,298	1,049	19,028	0,017
Vzorek č. 245	489,830	0,974	20,427	0,019
Vzorek č. 246	582,130	1,158	14,831	0,014
Vzorek č. 247	341,784	0,680	19,028	0,017
Vzorek č. 248	753,936	1,499	33,299	0,030
Vzorek č. 249	441,395	0,878	32,460	0,030
Vzorek č. 250	681,741	1,356	20,427	0,019
Vzorek č. 251	201,050	0,400	0,000	0,000
Vzorek č. 252	493,485	0,981	35,258	0,032
Vzorek č. 253	871,824	1,734	24,345	0,022
Vzorek č. 254	1398,208	2,781	21,546	0,020
Vzorek č. 255	652,497	1,298	47,570	0,043
Průměr	519,439	0,999	21,420	0,018

NEHNOJENÉ, KOŘENY VE 3. ROČE	kyselina kaftarová (ug/g)	kyselina chlorogenová (ug/g)	kyselina kávová (ug/g)	kyselina cichorová (ug/g)
Vzorek č. 256	684,482	1,361	43,373	0,040
Vzorek č. 257	424,946	0,845	11,669	0,011
Vzorek č. 258	497,141	0,989	24,904	0,023
Vzorek č. 259	621,426	1,236	31,900	0,029
Vzorek č. 260	662,550	1,318	30,781	0,028
Vzorek č. 261	660,722	1,314	19,308	0,018
Vzorek č. 262	391,133	0,778	32,460	0,030
Vzorek č. 263	593,096	1,179	24,625	0,023
Vzorek č. 264	1398,208	2,781	13,404	0,012
Vzorek č. 265	710,070	1,412	23,365	0,021
Vzorek č. 266	201,050	0,400	8,605	0,008
Vzorek č. 267	342,698	0,682	36,657	0,033
Vzorek č. 268	83,253	0,166	28,710	0,026
Vzorek č. 269	19,191	0,038	3,246	0,003
Vzorek č. 270	1114,911	2,217	17,069	0,016
Průměr	560,325	1,114	23,338	0,021

Příloha č. 5

Statistické zpracování dat studujících vliv biologických hnojiv na obsah některých farmakologicky aktivních látek v jednotlivých částech *E. purpurea* ve sledovaných letech:

Analýza rozptylu 2. rok pěstování Listy		kyselina kaftarová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	22,09455	93,26573	20	
tekuté	B	11,95195	111,4633	19	
pevné	C	8,52035	32,08724	20	
F = 12.68298 p = 2.8633E-5					
At the 0.01 level, the means are significantly different.					

Analýza rozptylu 2. rok pěstování Listy		kyselina chlorogenová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	0,0125	3,01E-05	20	
tekuté	B	0,00679	3,67E-05	19	
pevné	C	0,00485	1,01E-05	20	
F = 12.40155 p = 3.4776E-5					
At the 0.01 level, the means are significantly different.					

Analýza rozptylu 2. rok pěstování Listy		kyselina kávová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	1,002	1,16848	20	
tekuté	B	9,76785	3,96718	20	
pevné	C	1,6356	1,91733	20	
F = 203.28283 p = 0					
At the 0.01 level, the means are significantly different.					

Analýza rozptylu 2. rok pěstování Kořeny		kyselina kávová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	12,1136	20,96966	5	
tekuté	B	17,5842	63,92217	5	
pevné	C	25,7438	138,7393	5	
F = 3.15574 p = 0.0792					
At the 0.05 level, the means are NOT significantly different. At the 0.10 level, the means are NOT significantly different.					

Analýza rozptylu 2. rok pěstování Kořeny		kyselina cichorová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	0,011	1,70E-05	5	
tekuté	B	0,0162	5,22E-05	5	
pevné	C	0,0236	1,18E-04	5	
F = 3.21604 p = 0.07614					
At the 0.05 level, the means are NOT significantly different. At the 0.10 level, the means are NOT significantly different.					

Analýza rozptylu 2. rok pěstování Květy		kyselina kaftarová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	20,91175	14,67582	20	
tekuté	B	19,3687	7,67523	20	
pevné	C	19,8439	5,17622	20	
F = 1.36124 p = 0.26455					
At the 0.10 level, the means are NOT significantly different.					

Analýza rozptylu 2. rok pěstování Květy		kyselina chlorogenová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	0,0117	4,64E-06	20	
tekuté	B	0,011	2,42E-06	20	
pevné	C	0,0112	1,75E-06	20	
F = 18.4552 p = 0,41					
At the 0.10 level, the means are NOT significantly different.					

Analýza rozptylu 2. rok pěstování Květy		kyselina kávová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	3,9323	1,51898	20	
tekuté	B	6,00425	2,82496	20	
pevné	C	6,88335	2,44638	20	
F = 20.28549 p = 2.22226E-7					
At the 0.01 level, the means are significantly different.					

Analýza rozptylu 2. rok pěstování Květy		kyselina cichorová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	0,00105	1,55E-07	20	
tekuté	B	0,0015	3,68E-07	20	
pevné	C	0,002	2,11E-07	20	
F = 18.4552 p = 6.60836E-7					
At the 0.01 level, the means are significantly different.					

Analýza rozptylu 3. rok pěstování Listy		kyselina kaftarová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	0	0	15	
tekuté	B	0,22107	0,73306	15	
pevné	C	0,51873	1,87748	15	
F = 1,16804 p = 0,32087					
At the 0,10 level, the means are NOT significantly different.					

Analýza rozptylu 3. rok pěstování Listy		kyselina chlorogenová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	0	0	15	
tekuté	B	1,33E-04	2,67E-07	15	
pevné	C	2,67E-04	4,95E-07	15	
F = 1,05 p = 0,35894					
At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.					

Analýza rozptylu 3. rok pěstování Listy		kyselina kávová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	0,9776	1,61615	15	
tekuté	B	0,20093	0,60561	15	
pevné	C	1,32613	15,05385	15	
F = 0,86427 p = 0,42872					
At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.					

Analýza rozptylu 3. rok pěstování Listy		kyselina cichorová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	3,33E-04	2,38E-07	15	
tekuté	B	6,67E-05	6,67E-08	15	
pevné	C	4,00E-04	1,11E-06	15	
F = 0,98658					
p = 0,38132					
At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.					

Analýza rozptylu 3. rok pěstování Kořeny		kyselina kaftarová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	560,325	130042,73	15	
tekuté	B	555,201	62722,5022	15	
pevné	C	519,439	116388,347	15	
F = 0,07222					
p = 0,93044					
At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.					

Analýza rozptylu 3. rok pěstování Kořeny		kyselina chlorogenová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	1,1144	0,51427	15	
tekuté	B	1,10407	2,48E-01	15	
pevné	C	0,99933	5,21E-01	15	
F = 0,14213					
p = 0,86793					
At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.					

Analýza rozptylu 3. rok pěstování Kořeny		kyselina kávová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	23,3384	123,9159	15	
tekuté	B	21,79253	210,5866	15	
pevné	C	21,42007	149,9503	15	
F = 0,09612 p = 0,90856					
At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.					

Analýza rozptylu 3. rok pěstování Kořeny		kyselina cichorová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	0,0214	1,03E-04	15	
tekuté	B	1,99E-02	1,77E-04	15	
pevné	C	0,01813	1,54E-04	15	
F = 0,27718 p = 0,75929					
At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.					

Analýza rozptylu 3. rok pěstování Květy		kyselina kaftarová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	3,19493	4,66964	15	
tekuté	B	0,1394	0,29149	15	
pevné	C	3,55307	53,95067	15	
F = 2,68847 p = 0,07968					
At the 0,1 level, the means are significantly different.					

Analýza rozptylu 3. rok pěstování Květy		kyselina chlorogenová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	0,0018	1,74E-06	15	
tekuté	B	6,67E-05	6,67E-08	15	
pevné	C	2,00E-03	1,77E-05	15	
F = 2,60537 p = 0,08578					
At the 0,1 level, the means are significantly different.					

Analýza rozptylu 3. rok pěstování Květy		kyselina kávová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	25,49347	264,8171	15	
tekuté	B	28,29613	270,9516	15	
pevné	C	12,3344	79,21174	15	
F = 5,31472 p = 0,00876					
At the 0,01 level, the means are significantly different.					

Analýza rozptylu 3. rok pěstování Květy		kyselina cichorová:			
	Data	Mean	Variance	N	
nehnojené	A	0,00673	1,75E-05	15	
tekuté	B	7,33E-03	1,92E-05	15	
pevné	C	3,27E-03	5,21E-06	15	
F = 5,17053 p = 0,00983					
At the 0,01 level, the means are significantly different.					

Příloha č. 6

Statistické zpracování dat studujících vliv biologických hnojiv na růstové charakteristiky rostlin *Echinacea purpurea*:

počet odnoží 2. rok pěstování				
	Data	Mean	Variance	N
nehnojené	A	3,66667	1,66667	15
tuhé	B	2,86667	1,26667	15
tekuté	C	4,13333	4,8381	15
F = 2.37623				
p = 0.10528				
At the 0.1 level, the means are NOT significantly different.				

počet listů 2. rok pěstování				
	Data	Mean	Variance	N
nehnojené	A	31,53333	198,5524	15
tuhé	B	20,8	51,88571	15
tekuté	C	31,4	217,6857	15
F = 3.64619				
p = 0.03466				
At the 0.05 level, the means are significantly different.				

počet květů 2. rok pěstování				
	Data	Mean	Variance	N
nehnojené	A	4,6	3,82857	15
tuhé	B	3,26667	1,35238	15
tekuté	C	6,26667	9,35238	15
F = 6.99541				
p = 0.00239				
At the 0.01 level, the means are significantly different.				

**hmotnost sušina květ
2. rok pěstování**

	Data	Mean	Variance	N
nehnojené	A	4,276	3,3028	15
tuhé	B	2,75733	0,54534	15
tekuté	C	4,83867	5,35256	15

F = 5.66932
p = 0.00661

At the 0.01 level,
the means are significantly different.

**hmotnost sušina kořen
2. rok pěstování**

	Data	Mean	Variance	N
nehnojené	A	7,082	18,27467	15
tuhé	B	5,744	14,3067	15
tekuté	C	6,01733	43,34794	15

F = 0.29618
p = 0.7452

At the 0.1 level,
the means are NOT significantly different.

**hmotnost sušina list
2. rok pěstování**

	Data	Mean	Variance	N
nehnojené	A	3,188	2,77866	15
tuhé	B	2,33867	0,19251	15
tekuté	C	3,11071	1,32736	14

F = 2.28579
p = 0.11451

At the 0.1 level,
the means are NOT significantly different.

**hmotnost sušina celkem
2. rok pěstování**

	Data	Mean	Variance	N
nehnojené A		14,546	33,7542	15
tuhé B		10,84	18,75474	15
tekuté C		14,432	107,0894	15

F = 1.25236

p = 0.29628

At the 0.1 level,
the means are NOT significantly different.

**výška rostliny
2. rok pěstování**

	Data	Mean	Variance	N
nehnojené A		68,8	415,4593	55
tuhé B		71,18605	487,0598	43
tekuté C		55,66129	480,8506	62

F = 8.45528

p = 3.25489E-4

At the 0.01 level,
the means are significantly different.

**počet odnoží
3. rok pěstování**

	Data	Mean	Variance	N
nehnojené	A	6,15	7,08158	20
tuhé	B	4,6	4,14737	20
tekuté	C	5,85	10,87105	20

F = 1.83484
p = 0.16894

At the 0.1 level,
the means are NOT significantly different.

**počet listů
3. rok pěstování**

	Data	Mean	Variance	N
nehnojené	A	100	1419,895	20
tuhé	B	65,25	560,7237	20
tekuté	C	88	1338,421	20

F = 5.63152
p = 0.00586

At the 0.01 level,
the means are significantly different.

**počet květů
3. rok pěstování**

	Data	Mean	Variance	N
nehnojené	A	15,2	23,32632	20
tuhé	B	11,5	12,05263	20
tekuté	C	13,85	40,23947	20

F = 2.78173
p = 0.07035

At the 0.1 level,
the means are significantly different.

**hmotnost sušina květ
3. rok pěstování**

	Data	Mean	Variance	N
nehnojené	A	4,16	1,52565	20
tuhé	B	4,1535	1,44102	20
tekuté	C	6,2365	4,75238	20

F = 11.20704
p = 7.85874E-5

At the 0.01 level,
the means are significantly different.

**hmotnost sušina kořen
3. rok pěstování**

	Data	Mean	Variance	N
nehnojené	A	6,524	25,88623	5
tuhé	B	14,984	50,80783	5
tekuté	C	5,616	21,10033	5

F = 4.09419
p = 0.0441

At the 0.1 level,
the means are significantly different.

**hmotnost sušina list
3. rok pěstování**

	Data	Mean	Variance	N
nehnojené	A	13,8795	23,27333	20
tuhé	B	9,46	12,00465	20
tekuté	C	13,175	42,16547	20

F = 4.36829
p = 0.01718

At the 0.05 level,
the means are significantly different.

**hmotnost sušina celkem
3. rok pěstování**

	Data	Mean	Variance	N
nehnojené A		19,6705	33,28166	20
tuhé B		17,3595	69,51407	20
tekuté C		20,8155	89,47597	20

F = 0.96716

p = 0.38631

At the 0.1 level,
the means are NOT significantly different.

**výška rostliny
3. rok pěstování**

	Data	Mean	Variance	N
nehnojené A		86,25203	255,7802	123
tuhé B		85,6087	219,9551	92
tekuté C		83,35593	338,7953	118

F = 0.98985

p = 0.37273

At the 0.1 level,
the means are NOT significantly different.

8. SEZNAM LITERATURY

- 1) BARNICEL, I. Echinacea Arten als Heilpflanzen und der Anbau von Echinacea purpurea MOENCH in Schwebheim. (Diplomarbeit). Nürnberg: Friedrich-Alexander-Universität, 1985. In BAUER, R., WAGNER, H. Echinacea. Handbuch für Apotheker und andere Naturwissenschaftler. 1. Aufl. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1990. 182 s. ISBN 3-8047-0999-0.
- 2) BAUER, R., FOSTER, S. Analysis of alkamides and caffeic acid derivatives from Echinacea sumulata and E. paradoxa roots. *Planta Medica*, 1991, vol. 57, no. 5, p. 447-449.
- 3) BAUER, R., REMIGER, P. TLC Analysis of Alkamides in Echinacea Drugs. *Planta Medica*, 1988, vol. 55, p. 367-371.
- 4) BAUER, R., WAGNER, H. Echinacea. Handbuch für Apotheker und andere Naturwissenschaftler. 1. Aufl. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1990. 182 s. ISBN 3-8047-0999-0.
- 5) BECKER, H., HSIEH, W. Cichoric acid and its derivatives from Echinacea species. *Zeitschrift für Naturforschung*, 1985, vol. 40, p. 585-587. BAUER, R., WAGNER, H. Echinacea. Handbuch für Apotheker und andere Naturwissenschaftler. 1. vyd. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1990. 182 s. ISBN 3-8047-0999-0.
- 6) BOHLMANN, F., DALLWITZ, K. (1966): *Chem. Ber.* 99, p. 3197 In: Šícha, J., Hubík, J., Dušek, J. (1989): *Obsahové látky rodu Echinacea. Potenciální antivirotika a imunostimulancia. Českoslov. Farm.* p. 424

- 7) BOHLMANN, F., HOFFMANN, H. Further Amides from *Echinacea purpurea*. *Phytochemistry*, 1983, vol. 22, p. 1173-1175.
- 8) BOMME, U. Anbau-, Erntezeiten und Sorten-versuche mit Sonenhut (*Echinacea angustifolia* S und *Echinacea purpurea* Moench). Versuchsergebnisse Heil- und Gewürzpflanzen 1985-1986. Freising: Bayerische Landesanst. für Bodenkult. Und Pflanzenbau, 1986, p. 41-96.
- 9) BOSTOCK, R. M., KUC, J. A., LAINE, R. A.: Eicosanpentanoic and arachidonic acids from *Phytophthora infestans* elicit fungitoxic sesquiterpens in potato., *Science* 12, 1981 p. 67-69.
- 10) DACHLER, M., PELZMANN, H. Heil- und Gewürzpflanzen. 1. vzd. Wien: Österreichischer Agrarverlag, 1989. 244 s. ISBN 3704010243.
- 11) DICOSMO, F., MISAWA, M. Elicitig secondary metabolism in plant cell cultures. *Trends. Biotechnol.*, 1985, vol. 3, p. 318-322.
- 12) DOUGLAS, J. *Echinacea – THE PURPLE CONEFLOWERS* (ONLINE). 1993, Juli (cit.2004-02-18). Dostupný na WWW:<<http://www.crop.cri.cy/psp/broadshe/echinace.htm>>
- 13) DRESS, W. J. The Coneflowers: *Dracopis*, *Echinacea*, *Ratibida* and *Fudbeckia*. *Notes on cultivated compositae*, 1961, vol. 6., no. 9, p. 67-83.
- 14) FOSTER, S. *Echinacea: The Purple Coneflowers*. *American Horticulturist*, 1985, vol. 64, no. 8, p. 14-17.
- 15) GARAJ, J., BUSTIN, D., HLADKŮ, Z. *Analytická chémie*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1987. 740 s.

- 16) GLOWNIAK, K., ZGÓRKA, G., KOZYRA, M. J. Chromatogr. A 730, 25, 1996. In: VRCHOTOVÁ, N., aj. Extrakce a analýza fenolických látek z třapatky nachové. Chemické listy, 2002, roč. 96, č.7, s. 636-639.
- 17) GOLOVKIN, B. N., KLIKOVÁ, G. Trvalky-rozkvetlá zahrada I. 1. vyd. Praha: Lidové nakladatelství, 1990. 352 s. ISBN 80-7022-052-X.
- 18) GRAEDON, J., GRAEDON, T. The people's pharmacy guide to home and herbal remedies. 1. edition. N.Z.: St. Martin's Press, 1999, 428 p. ISBN 0-312-20779-4.
- 19) GRBAVČIČ, M. Druhy rodu Echinacea a Leuzea jako tonizující rostliny. Úroda, 2002, roč. 50, č. 9., s. 9.
- 20) HARNISCHFLEGER, G., STOLZE, H. Bewährte Pflanzendrogen in Wissenschaft und Medizin. 1. Aufl. Bad Homburg/Melsungen, Germany: Notamed Verlag, 1983. s. In: ŠÍCHA, J., HUBÍK, J., DUŠEK, J. Obsahové látky rodu Echinacea. Potencionální antivirotika a imunostimulancia. Československá farmacie, 1989, roč. 38, č. 9, s. 424-428.
- 21) HEYL, F. W, STALEY, F.: Am. 1. Phann 86, 450 (1914). In ŠÍCHA, J., HUBIK, J., DUŠEK, J.: Obsahové látky rodu Echinacea potencionální v antivirotika a imunostimulancia. Československá farmacie, 1989, roč. 38, č. 9, s. 424 - 428.
- 22) HNILIČKA, F., HNILIČKOVÁ, H., BLÁHA, L., MÖLLEROVÁ, J., ZIEGLEROVÁ, J.: Ekologické a fyziologické odezvy rostlin na biotické stresory (rešeršní studie), Sborník ze semináře „Vliv biotických a abiotických stresorů na vlastnosti rostlin.“ VÚRV, ČZU Praha, 2003, s. 156 - 170

- 23) HORÁČEK J., LEDVINA R., KOUBALÍKOVÁ J. : Geologie a půdoznalství cvičení 1994, str. 63.
- 24) HUBÁČEK, J. aj. Chemie pro vysoké školy zemědělské. 1 vyd. Praha: SZN, 1988. 767s.
- 25) International training course on biological fertilizer technology, Baoding China 2002
- 26) JANČA, J., ZENTRICH, J. A. : Herbář léčivých rostlin (4). 1. vyd. Praha: Eminent, 1996, s. 287.
- 27) JAROŠ, Z. Léčivé látky z rostlin. 1. vyd. České Budějovice: Dona, 1992. 79 s. ISBN 80-85463-04-0.
- 28) JIRÁSEK, V., STARÝ, F. Atlas léčivých rostlin. 2. vyd. Praha: SPN, 1989, s. 368.
- 29) KAMÍR, P. Bylinář – rostlinné stimulatory fyzických a duševních sil. 1. vyd. Brno: Littera, 1991. 125 s. ISBN 80-900327-1-0.
- 30) KLOPRER, A., KLORFER, K. Blumen im Garten. 1. vyd. Berlin: Kinderrbuchverlag, 1981. 48 s.
- 31) KOHOUTOVÁ, V.: Echinamax. Finclub plus, a.s., 2000.
- 32) KOLÁŘ, L. et al. : Vliv nadbytku dusíku ve výživě Echinacea purpurea (L.) Moench. na tvorbu jejích účinných látek. Rostlinná výroba, 1998, roč. 44, č. 11, s. 489 - 495.
- 33) KOLÁŘ, L. Imunogenní rostliny jako alternativní rostliny marginálních oblastí pro farmaceutický a potravinářský průmysl. Sbor. ref. mezin. věd. konference Agroregion 97. České Budějovice: JU ZF, 1997, s. 269-271.

- 34) KORBELÁŘ, J., ENDRIS, Z. Naše rostliny v lékařství. 5. vyd. Praha: Avicenum, 1981. 504 s.
- 35) KUCHARSKI, W. A. Anbatechnologie und Pflanzenschutz von *Echinacea purpurea* (L.) Moench. Drogenreport, 1997, vol. 16, no. 10., p. 33-36.
- 36) KUŽEL, S., KOLÁŘ L. : *Echinacea purpurea* (L) Moench perspektivní technická plodina a pícnina , 2000 s. 240 – 243
- 37) KUŽEL, S. a kol. Technologie pěstování rostlin *Echinacea purpurea* a *Shizandra chinensis* a extrakce účinných látek. Průběžná (závěrečná) zpráva o realizaci projektu ME 704. České Budějovice: JČU ZF, 2003. 51 s.
- 38) KUŽEL, S. a kol. Technologie pěstování rostlin *Echinacea purpurea* a *Shizandra chinensis* a extrakce účinných látek. Průběžná (závěrečná) zpráva o realizaci projektu PROJEKT ME 704. České Budějovice: JČU ZF, 2005. 101 s.
- 39) MARINELI, F., RONCHI, V. N., SALVADOR, P.: Elicitor induction of enzyme activities and 6-methoxymellein production in carrot cell-suspension culture. *Phytochemistry* 35, 1994, p. 1457 – 1640
- 40) MAZÚR, P. *Echinacea purpurea*. Zahrádkár, 1999, č. 4, s. 64.
- 41) NUSSLEIN, B., KURZMANN, M., BAUER, R., KREIS, W., 2000 : Enzymatic degradation of cichoric acid in *Echinacea purpurea* preparations. *J. Nat. Prod.* 63, p. 1615 – 1618

- 42) PARMENTER, G. A., LITTLEJOHN, R. P. Planting density effects on foot yield of purple conflower (*Echinacea purpurea* (L.) Moench). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 1997, vol. 25, p. 169-175.
- 43) PAŠEK, J. Návrh výroby imunogenního sirupu z fyziologicky účinné látky *Echinacea purpurea* (L.) Moench. Diplomová práce. České Budějovice, ZF JU, 1997. 69 s.
- 44) PERRY, N. B., van KLINK, J. W., BURGESS, E. J., PARMENTER, G. A. Alkamide levels in *Echinacea purpurea*: a rapid analytical method revealing differences among roots, rhizomes, stems, leaves and flowers. *Planta Medica*, 1997, vol. 63, no. 1, p. 58-62.
- 45) PISZCZALKA, J. - ANGELOVIČ, M. - DUDÁK, J.: Návrh stroja na zber koreňov liečivých rastlín *Echinacea purpurea* (L.) a *Leuzea rhapontica* (L.). In: *Acta technologica agriculturae*. Zbomík vedeckých prác Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre. 38. Nitra, SPD 1997. s. 201-205.
- 46) PEXÍDR, R.: Vliv kyseliny acetylsalicylové na obsah účinných látek ve vybraných léčivkách, Diplomová práce, ZF JCU, České Budějovice, 2004, 58 s.
- 47) RÄTSCH, CH. Indiánské léčivé rostliny, 1. vyd. Praha: Volvox Globator, 200. 221 s. ISBN 80-7207-349-4.
- 48) RUBCOV, V. G., BENEŠ, K. Zelená lékárna. 1. vyd. Praha: Lidové nakladatelství, 1984, 308 s.

- 49) RÖDER, E., et al. Pyrrolizidine in *Echinacea angustifolia* DC. Und *Echiancea purpurea* MOENCH-Isolierung und Analytik. Deutsche Apotheker Zeitung, 1984, vol.124, p. 2316-2318.
- 50) SHALABY, A. S., EL.GENGAIHI, S. E., AGINA, E. A., EL.KHAYAT, A. S., HENDAWY, S. F. Growth and Yield of *Echinacea purpurea* L. as Influences by Planting Density and Fertilization. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 1997, vol. 5, no. 1, p. 69-76.
- 51) SKLENÁK, L. Experimentální metody biofyziky. Učební texty KFY PŘF OU. 1. vyd. Ostrava: Ostravská univerzita, 2003. 61 s. ISBN 80-7042-899-6.
- 52) STIMPEL, M., PROKSCH, A., WAGNER, H. Macrophage activation and induction of macrophage cytotoxicity by purified polysaccharide fractions from the plant *Echinacea purpurea*. Infect. Immun., vol. 46, no. 3, p. 845-849.
- 53) STOLL, A., RENZ, J., BRACK, A.: Helv. Chim. Acta 33, 1877 (1950). In ŠÍCHA, J., HUBÍK, J., DUŠEK, J.: Obsahové látky rodu *Echinacea* potencionální antivirotika a imunostimulancia. Československá farmacie, 1989, roč. 38, č. 9, s. 424 – 428.
- 54) STOLL, A., RENZ, J., BRACK, A.: Isolierung und Konstitution des Echinakosids, eines Glykosids aus den Wurzeln von *Echinacea angustifolia* D.C.. Helvetica Chimica Acta, 1950, roč. 33, č. 238, s. 1877 – 1893.
- 55) ŠÍCHA, HUBÍK, DUŠEK, : Obsahové látky rodu *Echinacea* potencionální antivirotika a imunostimulancia. Československá farmacie, 1989, roč. 38, č. 9, s. 424 – 428.

- 56) The Institute Microbiology, Hebei Academy of Sciences (1995) s. 12 – 68.
- 57) The Institute Microbiology, Hebei Academy of Sciences (2001)
- 58) TŮMOVÁ L., BLAŽKOVÁ R., (2000) : Vliv tvorby flavonoidů v kultuře *Ononis arvensis* L. in vitro působením CrCl₃ . Čes. Slov. Farm. 51., (2002), No. 1, p. 44-46
- 59) VANĚK, V., VAŇKOVÁ, J. Trvalky. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1982, 299 s.
- 60) VRCHOTOVÁ, N., aj. Extrakce a analýza fenologických látek z třapatky nachové. Chemické listy, 2002, roč. 96, č. 7, s. 636-639.
- 61) WAGNER, H., PROKSCH, A. An immunostimulating active constituent from *Echinacea purpurea*. Z. Phytother, 1981, no. 2, p. 166-171.
- 62) WILLIAMS C.A., GOLDSTONE F., GREENHAM J.: Flavonoids, cinnamic acids and coumarins from the different tissues and medicinal preparations of *Taraxacum officinale*. Phytochemistry 42, 121-127 (1996).
- 63) WITTLINGEROVÁ, Z., KRÍŽ, L., PRENINGEROVÁ, E. Prognóza znečištění složek životního prostředí vlivem antropogenní činnosti. Rostlinná výroba, 1994, roč. 40, č. 4, s. 389-399. ZENTRICH, J. A. Byliny v prevenci. 1.vyd. Olomouc: Fontána, 1991. 331 s. ISBN-80-900205-O-X.8. SEZNAM LITERATURY
- 64) ZENTRICH, J. A. Byliny v prevenci. 1.vyd. Olomouc: Fontána, 1991. 331 s. ISBN-80-900205-O-X.