JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
KATEDRA AGROEKOLOGIE
SEKCE AGROCHEMIE A PEDOLOGIE

Studijní program: M 4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Všeobecné zemědělství

Léčivé rostliny, jejich hnojení a ošetření elicitory s cílem maximální produkce některých účinných látek.

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: Autor:
Prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc. Jan Šrámek

---

2 0 0 7

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma **„Léčivé rostliny, jejich hnojení a ošetření elicitory s cílem maximální produkce některých účinných látek.“** vypracoval samostatně na základě vlastních zjištění a materiálů, které uvádím v seznamu literatury.

V Českých Budějovicích, 12. dubna 2007

……

Podpis

Děkuji tímto svému školiteli panu Prof. Ing. Stanislavu Kuželovi, CSs. za metodické vedení a podporu během zpracování této diplomové práce. Také děkuji svému konzultantovi panu Doc. Ing. Jiřímu Špičkovi, CSs. za pomoc při analýze extraktů z rostlin.

OBSAH:

1. ÚVOD **6**

2. CÍL PRÁCE **7**

3. LITERÁRNÍ REŠERŠE **8**

3.1. Rod *Echinacea* 8

3.1.1. Historie 8

3.1.2. Charakteristika *Echinacea purpurea* (L.) MOENCH 9

3.1.3. Ekologie 10

3.1.4. Agrotechnika pěstování, hnojení a ošetřování 10

3.2. Obsahové látky rostlin rodu *Echinacea* **15**

3.2.1. Deriváty kyseliny kávové 16

3.2.2. Flavonoidy 18

3.2.3. Éterické oleje 18

3.2.4. Polyacetyleny 18

3.2.5. Alkylamidy 19

3.2.6. Alkaloidy 19

3.2.7. Polysacharidy 20

3.2.8. Ostatní látky 20

3.3. Farmaceutické využití rostlin rodu *Echinacea* **21**

3.4. Využití rostlin rodu *Echinacea* ve výživě hospodářských zvířat **22**

3.5. Metody stanovení účinných látek **24**

3.6. Stres **27**

3.6.1. Stresory 28

3.6.2. Elicitace a imunita 29

3.6.3. Abiotické elicitory 30

3.6.4. Biotické elicitory 38

3.6.5. Kyselina acetylsalicylová – jako elicitor 40

4. METODIKA – VLASTNÍ POKUS 42
4.1. Pěstování rostlin a aplikace elicitoru 42
4.2. Sklizeň rostlin a příprava extraktu 45
4.3. Analýza vzorků 46

5. VYHODNOCENÍ 47

6. DISKUSE 65

7. EKONOMICKÉ ZHODNOCENÍ 68

8. ZÁVĚR 73

9. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY 75

10. PŘÍLOHY 87

1. ÚVOD

V posledních letech se začaly u nás uplatňovat v lidské výživě potravní doplňky, resp. potraviny pro zvláštní výživu. Jedná se především o přírodní produkty. Tyto potraviny obsahují různé zastoupení a množství vitamínů, minerálních látek a jiných fyziologicky účinných látek. Slouží jako potravní doplněk a nenahrazují léčiva! V kombinaci s léčivy mohou snižovat jejich nežádoucí účinky. Mohou preventivně předcházet onemocněním nebo příznaky onemocnění snižovat. Na výrobu přípravků se používá například hroznové víno, dužnina pomerančů, kanadské borůvky, velkoplodé brusinky, mořské řasy a v neposlední řadě také léčivé rostliny. Pro příklad léčivých rostlin lze uvést *Echinaceu purpureu*, třezalku tečkovanou a heřmánek pravý. V široké nabídce potravinových doplňků se v poslední době rozšiřují přípravky, které obsahují extrakt z rostlin rodu *Echinacea*.

Transformace zemědělské výroby v ČR a rozšiřování alternativních způsobů hospodaření na zemědělské půdě, především v okrajových hraničních oblastech, předpokládá jiné využití těchto méně úrodných oblastí (LFA - less favoured areas). Tyto marginální oblasti by měly být využity pro nepotravinářské využití půdy. Jednou možností využití těchto oblastí je pěstování léčivých rostlin. Extrakty z těchto bylin mohou být využity pro výrobu také již zmiňovaných potravních doplňků. Pro pěstování léčivých rostlin jsou nejvhodnější oblasti s minimálním zatížením průmyslu. LFA oblasti tyto požadavky splňují.

Jednou možnou alternativou je pěstování léčivé rostliny *Echinacea purpurea*. Při pěstování je potřeba zajistit optimální výnos a maximální výtěžnost specificky účinných látek. Pěstitel musí dosáhnout kvalitu požadovanou zpracovatelem a také dostatečného výnosu, aby zajistil ekonomickou efektivnost výroby.

2. CÍL PRÁCE

Cílem práce je pěstování vybrané léčivé rostliny při dosažení maximální produkce vybraných účinných látek.

Ke splnění tohoto cíle byla vybrána rostlina *Echinacea purpurea* (L.) Moench. Na porost této byliny byla foliárně aplikována kyselina acetylsalicylová a byla sledována změna v obsahu kyseliny kávové a jejích derivátů, kyseliny cichorové, chlorogenové a kaftarové, v kořenu a nadzemní části rostliny. Kyselina acetylsalicylová byla použita jako elicitor (stimulátor rostlinné imunity). Foliární aplikace byla provedena ve formě vodného roztoku ve třech různých koncentracích (nízká, střední a vysoká koncentrace).

3. LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1. Rod Echinacea

3.1.1. Historie

Rostliny rodu *Echinacea* pocházejí ze Severní Ameriky, kde je znaly místní kmeny Indiánů. Domovem této rostliny jsou hory na západě Spojených států, hlavně státy Arkansas, Oklahoma, Missouri, Kansas, Nebraska, Montana a Saskatchewan. Indiáni využívali především kořen, nadzemní části jen zřídka. Byla to nejvíce užívaná bylina. Užívali jí na léčení otevřených ran, spálenin, na léčbu příušnic, spalniček, při štípnutí hmyzem, při bolestech zubů, hlavy, krku, při kašli a nachlazení. Dokonce byla u některých kmenů Indiánů používaná jako protijed při hadím uštknutí (chřestýšem). *Echinaceu* podávali také Indiáni svým koním, např. při hříběcí vozhřivce (BAUER, R., WAGNER, H., 1990).

Prostřednictvím Indiánů se s léčivými účinky této rostliny seznámili bílí osadníci. Již roku 1762 jsou první zmínky v literatuře. Další poznatky přichází po americké občanské válce, kdy publikují své poznatky armádní lékaři, kteří se na frontě setkali s léčebnými metodami Indiánů. Další zpráva o jejím používání pochází z r. 1850 od Gideona Lincecuma, který napsal: „Tinktura z kořene této rostliny byla úspěšně používána při silném kašli a při dyspepsii“. Později byla předepisována jako přírodní prostředek proti infekcím a zánětům. V 50. letech 19. století se *Echinacea* rozšiřuje do běžného domácího ošetřování v bělošské populaci v USA (BAUER, R., WAGNER, H., 1990).

Poprvé v Evropě na rostlinu *Echinacea angustifolia* upozornil Beckurts v roce 1897. V roce 1900 popsal Clarke klinické účinky rostlin *Echinacea angustifolia* a *Echinacea purpurea* (BAUER, R., WAGNER, H., 1990). Nejprve se používal kořen rostliny *Echinacea angustifolia* a později nať a celá rostlina *Echinacea purpurea.* Užívání *Echinacey* se hlavně rozšířilo mezi homeopatickými lékaři. Léčivé účinky *Echinacey* se využívali při léčbě *Akne vulgaris* a hnisavých zánětech podkožních tkání a také v gynekologii. Popularita této léčivky se postupně snižovala vlivem rozšiřování antibiotik.

3.1.2. Charakteristika *Echinacea purpurea* (L.) MOENCH

Jméno *Echinacea*, odvozené od řeckého „echinos“ - ježek, se vztahuje na pichlavé zaoblené plody (KOHOUTOVÁ, V., 1999).

Rod *Echinacea* z čeledi *Asteraceae* (hvězdicovité) zahrnuje asi 40 druhů. Jsou to vytrvalé a kvetoucí byliny. V zahradách se pěstují kříženci a variety tohoto rodu jako okrasné rostliny (JANČA, J., ZENTRICH, J.A., 1996).

Z farmaceutického hlediska jsou nejvýznamnější druhy *Echinacea angustifolia* DC. a *Echinacea purpurea* (L.) MOENCH (obě diploidní, n = 11) a také *Echinacea pallida* (NUTT.) NUTT. (tetraploidní, n = 22) (HARNISCHFLEGER, G., STOLZE, H., 1983).

Nejvíce zastoupená je *Echinacea purpurea* (L.) MOENCH (třapatka nachová), která se úspěšně pěstuje jako léčivá rostlina nejen v Americe, ale i v Evropě a v Austrálii. Kromě tohoto druhu se pěstuje v menší míře i *Echinacea angustifolia* DC. (třapatka úzkolistá) a v nevýznamném sestupném zastoupení pak *Echinacea pallida* NUTT. (třapatka bledá), *Echinacea simulata* McGREGOR, *Echinacea paradoxa* (NORTON) BRITTON, *Echinacea tennesseensis* (BEADLE) SMALL, *Echinacea laevigata, Echinacea sanguinea* NUTT., *Echinacea atrorubens* NUTT. a *Echinacea gloriosa* (BAUER, R., WAGNER, H., 1990).

Pro rostliny rodu *Echinacea* se používá v zahraničí celá řada lidových názvů jako například Rudbeckie, Purple Coneflower, Kansas Snakeroot atd. V České republice je *Echinacea purpurea* častěji známá pod názvem Rudbeckie – třapatka nachová. (JANČA, J., ZENTRICH, J.A., 1996)

Je to vytrvalá rostlina vysoká 60–180 cm. Kořenový systém je tvořen hustým pletencem světle hnědých svazčitých kořenů, který zasahuje do hloubky 20 cm (foto č. 1). Z kořene vyrůstá vzpřímená, silná a rozvětvená drsná lodyha. Lodyžní listy jsou zpravidla vstřícné, ale ojediněle mohou být střídavé. Spodní listy jsou dvou- až pětinervové, oválné a dlouze řapíkaté. Horní listy jsou vejčité až vejčito-kopinaté. Mají až 25 cm dlouhý řapík. Čepel je dlouhá až 20 cm, široká 15 cm a mírně zašpičatělá. Květy mají v průměru 15–20 mm a rozkvétají v červenci a v srpnu. Barva květních jazýčků je růžová až

Foto č. 1

karmínová (foto č. 2). Trubkovité středové květy jsou vyklenuté, hnědé, s přečnívajícími tvrdě pichlavými plevkami. Plodem je ochmýřená nažka se zakrnělým chmýrem, která po uschnutí z rostliny opadává (foto č. 3) (KUŽEL, S., et al., 2006).

Foto č. 2

Foto č. 3

3.1.3. Ekologie

Rod *Echinacea* obsahuje především mesofyty, které mají střední až vyšší nároky na zásobení vodou. Pouze některé druhy přizpůsobené k nedostatku vody mohou přežít delší vysušení půdy. *Echinacea* se vyskytuje jednak v bezlesích, často antropogenně podmíněných formacích horských oblastí (okrajová společenstva lesů, příkopy u cest, holoseče), jednak v suchých prériích nížin. V Apalačských horách na východě USA byla objevena stanoviště některých druhů ležící v nadmořské výšce přes 1500 m. *Echinacea purpurea* s jejími velkoplošnými a na vodu bohatými listy a jemně rozvětveným kořenovým systémem reprezentuje typ polostinných rostlin s vysokými nároky na vodní zásobení (BAUER, R., WAGNER, H., 1990).

3.1.4. Agrotechnika pěstování, hnojení a ošetřování

Půdní podmínky

Echinacea purpurea je sucho a mrazuodolná rostlina. Z hlediska půdních podmínek jí vyhovuje půda s pH mezi 6 – 8. Na Novém Zélandě se úspěšně pěstovala také

při pH 5,5 – 6,0. Z toho vyplývá, že je to rostlina adaptabilní. (CROP AND FOOD RESEARCH, 2006).

Důležitá je půdní struktura. Pro pěstování rostlin rodu *Echinacea* doporučuje BAUER, R., WAGNER, H., 1990 půdy lehčí až středně těžké, drobivé a dostatečně humózní. Půda nesmí být kamenitá, protože hlavní výnosovou částí je kořen. Ten musí být při sklizni, co nejméně poškozený, aby nedocházelo k výnosovým ztrátám. Půda musí být dostatečně vlhká a neměla by zadržovat vodu. Měla by být prostá kořenů plevelů, jejichž pozdější likvidace je náročná. Pro pěstování rostlin *Echinacea*, které zůstávají na pozemku dva až tři roky, je důležité zvolit vhodný pozemek z hlediska půdní struktury s dostatečnou půdní sílou. U druhů pěstovaných pro farmaceutické účely a na výrobu potravních doplňků by měl být zvolený pozemek bez nežádoucích zbytkových reziduí v půdě. Z hlediska osevního postupu se tato rostlina zařazuje po okopaninách a obilovinách, kde působí jako přerušovač obilného sledu.

Zpracování půdy pro pěstování této léčivky začíná po sklizni předplodiny kvalitní a včasnou podmítkou. Poté je důležité ošetření podmítky. Na podzim by měla následovat hluboká orba (25–30 cm), která zapraví posklizňové zbytky. Na jaře je nutné provést předseťovou přípravu půdy před výsadbou předpěstovaných sazenic. Povrch pozemku je nutné srovnat a také aplikovat průmyslová hnojiva. Němečtí pěstitelé používají 100-200 kg dusíku/ha v několika aplikacích a dále pak před sázením 100 kg fosforu/ha (např. superfosfát) a 250 kg draslíku/ha (např. draselná sůl) (CROP AND FOOD RESEARCH, 2006). BOMME, U., 1987 doporučuje následující optimální složení průmyslových hnojiv: 150–180 kg dusíku/ha, 70–100 kg fosfátu (P_2O_5)/ha a 220–250 kg draslíku (K_2O)/ha.

Pro maximální výtěžek účinných látek rostliny *Echinacea purpurea* je nutné hnojit extrémně vysokými dávkami minerálního dusíku, bez ohledu na druh hnojiva, nehnojit organicky a zvláště je vyloučeno zelené hnojení (KOLÁŘ, L., et al., 1998).

Zakládání porostů

Při zakládání porostu se může osivo sít přímo do půdy, nebo vysazovat malé rostlinky na pole. V prvním případě se osivo vysévá do řádků přesnými secími stroji. V tomto případě se musí znát klíčivost semen, aby byla dosažena požadovaná hustota porostu, který je konkurenceschopný proti plevelům (KUŽEL, S., et al., 2004).

Někteří autoři považují za ideální postup předpěstování *Echinacey* ve skleníku od poloviny února nebo v pařeništi začátkem dubna. Substrát výsadby by měl obsahovat málo solí, jelikož *Echinacea* na ně citlivě reaguje. Osvědčilo se také použití tufu (KUŽEL, S., et al., 2006).

Podle amerických pokusů je zřejmé, že osivo potřebuje 2–3 měsíce v chladných a vlhkých podmínkách k přerušení dormance. Nicméně pokusy na Novém Zélandu s evropským osivem neprokázaly v 80–90 % žádné požadavky na nižší teploty při klíčení během 3–5 týdnů po zasetí. V USA se semena vysévají v řádcích vzdálených 30–40 cm a jednotlivé rostliny jsou v řádku 30 cm od sebe. Tato tento způsob pěstování zaručuje hustotu porostu 8–11 rostlin/m^2 (CROP AND FOOD RESEARCH, 2006).

Pro předpěstování je nejvhodnější skleník. Před výsadbou by měly sazenice projít čtrnáctidenní fází otužování bez teplot pod 0 °C a s dostatkem světla. Pro klíčení jsou ideální teploty mezi 20–25 °C, později 16 °C přes den a 12 °C přes noc (BOMME, U., 1987). FOSTER, S., 1985 doporučuje před klíčením vícetýdenní stratifikaci semen. Při víceleté kultivaci na lehčích půdách lze vysívat přímo na volnou půdu v polovině dubna.

Podle BARNICKELA, I., 1985 světlo nehraje při klíčení žádnou roli, stejně jako působení nízkých teplot na semena. Naproti tomu zaznamenal pozitivní vliv na rychlost klíčení působením teploty 25 ºC.

K podobným výsledkům dospěli i jiní autoři, kteří se rovněž zabývali pokusy s klíčením a výsadbou *Echinacey purpurey*. Zjistili, že světlo je při klíčení nezbytné, kdežto ošetření vodou nebo roztokem giberelinu (GA3) se jevilo jako neúčinné. Rovněž stratifikovaná semena, vysetá do půdy ve skleníku, neklíčila lépe. Naproti tomu při podzimním vysetí se výrazně zvýšila rychlost vzejití semen. Obecně rychlost vzejití semen ve skleníku byla vyšší než na volném prostranství, proto se doporučuje vysazovat sazenice ze skleníku. Pouze u rostliny *Echinacea purpurea* byly na rozdíl od ostatních třapatek dosaženy uspokojivé výsledky i s přímým vysetím do volné půdy (SMITH-JOCHUM, C., ALBRECHT, M., L., 1988).

Ošetřování porostu

Největším problémem při pěstování *Echinacey purpurey* je zaplevelování. Již při výběru pozemku pro pěstování této rostliny musí být vybrán takový, na kterém nebylo v předplodině velké zastoupení plevelů. Také při předseťové přípravě půdy musí

být tyto plevele likvidovány. Na Novém Zélandu probíhali pokusy v aplikaci herbicidů na porosty *Echinacey*. Rostliny tolerovaly pendimethalin (Stomp 330E), oryzalin (Surflan flo), a kombinaci oryzalinu a chlorprophamu (Surflan flo/Chloro-ipc) a také terbacil (Sinbar), diuron (Direx nebo Karmex), a chlorpropham (Chloro-ipc). Dosud ovšem ani zde není žádný herbicid povolený (CROP AND FOOD RESEARCH, 2006).

KUCHARSKI, W., 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.

Nejvíce se při likvidaci plevelů uplatňuje mechanická kultivace. Na malých plochách lze uplatnit ruční kultivaci, ale ta je náročná a nákladná. Na větších plochách se využívá meziřádková kultivace mechanizací, která se provádí podle potřeby v prvním i následujícím roce pěstování. Při mechanické kultivaci se nejenom odstraňují plevele, ale také se zlepšuje provzdušněnost půdy (KUŽEL, S., et al., 2006).

Nejčastějšími původci onemocnění byly *Alternaria alternata* a spála. Byly úspěšně vyzkoušeny fungicidy Dithane M-45, Penncozeb 80 WP (3 g/kg osiva), Dithane 75 WG, Penncozeb 75 WG (3-5 g/kg) a Dithane 455 SC či Penncozeb 455 SC (KUCHARSKI, W., 1997).

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., 1997).

Sklizeň

Sklizeň kvetoucí natě lze provádět od prvního roku pěstování. *Echinacea purpurea* kvete v prvním roce v říjnu, od druhého roku v srpnu. V prvním roce výsevu by se měla nať sklízet, když se na hlavních květenstvích otevře první věnec květních trubic, zatímco v druhém roce sklizeň nastane, až když se otevře první věnec květních trubic u většiny vedlejších květenství (BOMME, U., 1986).

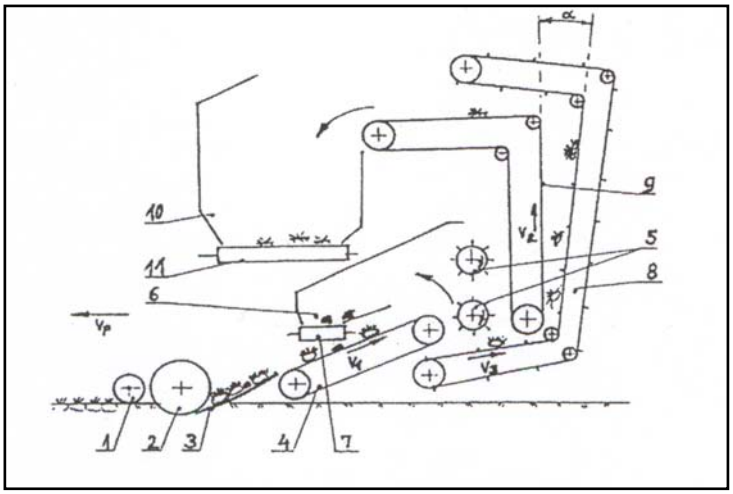
V této fázi obsahuje rostlina nejvíce účinných látek. Nadzemní hmotu (dle způsobu využití) lze sklízet na větších pozemcích mechanizačními prostředky např. řezačkou

s následným odvozem sklizené hmoty. Pro dělenou sklizeň listů a květů zatím není vyřešená technologie, která by umožňovala separaci těchto jednotlivých částí. Oddělenou sklizeň lze zatím provádět jen ručně. Existují však i postupy, kdy se nadzemní hmota nevyužívá a rozdrcuje se mulčovací frézou (KUŽEL, S., et al., 2006).

Kořeny lze sklízet také od prvního roku, od konce října do začátku listopadu. Výnosy čerstvých kořenů rostliny *Echinacea purpurea* jsou v prvním roce 8,7-11 t/ha při sušinovém poměru EV = 3,9 a od druhého roku 14,5-16 t/ha při EV = 2,6. Výnos čerstvé natě je podstatně vyšší, lze sklidit 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).

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 *Echinacey purpurey* lze použít stroj (obrázek č. 1). Hlavní části jsou: vyorávací ústrojí, oddělovač kamenů, separátor zeminy a zásobník kořenů (ANGELOVIČ, M., 2002).

Obrázek č. 1



Legenda: 1-kopírovací kolo, 2-kotoučová krojidla, 3-vyorávací radlice, 4-vrhací a prosévací dopravník, 5 - odhazovací bubny kamenů, 6 - zásobník kamenů, 7 - dopravník kamenů, 8,9-separátor zeminy, 8-prstový dopravník, 9-plnící dopravník, 10-zásobník kořenů, 11-vyprazdňovací zásobník

Posklizňové ošetření

Sušení natě by mělo být provedeno ve vzdušných resp. tepelných sušících zařízeních při teplotách maximálně do 45 ºC, jinak by docházelo ke ztrátám účinných látek. Čerstvá droga obsahuje asi 23 % sušené hmoty. Sušení kořenů, které se sklízejí při likvidaci pěstebních ploch, většinou ve 3., méně ve 4. roce, se po odpovídajícím čištění provádí v sušících zařízeních při teplotách do 50 ºC. Výnos kořenů je určen stářím a vývojem rostlin (KUCHARSKI, W., 1997).

Posklizňová úprava kořene spočívá v jeho důkladném proprání vodou v bubnové (příloha č. 1) či jiné pračce a bezpodmínečně nutné je následné sušení aktivní ventilací případně s předehřátým vzduchem (příloha č. 2), jinak dochází v několika hodinách k plesnivění skládky kořenů (KUŽEL, S., et al., 2006). Strojní čištění a sušení působí vzhledem k jemnému větvení kořenů problémy, proto se doporučuje rozřezat kořeny na 5-10 cm velké kousky (BAUER, R., WAGNER, H., 1990).

3.2. Obsahové látky rostlin rodu *Echinacea*

První všeobecné chemické výzkumy *Echinacey* provedl Sayre po roce 1890. V roce 1891 zjistil Lloyd v *Echinacea angustifolia* omezené množství bezbarvých alkaloidů, cukrů a bezbarvé, kyselé organické substance, které se vyznačovaly ostrou chutí. Dnes víme, že se jednalo o „alkaloid" betain nebo o stopy pyrrolizidin alkaloidů tussilaginu a isotussilaginu, zatímco kyselé organické sloučeniny lze zařadit do skupiny alkylamidů. Jednotlivé izolace látek z druhů rodu *Echinacea* neprobíhaly chronologicky, ale podle jednotlivých skupin látek (BAUER, R., WAGNER, H., 1990).

HEYL, F. W., STALEY, J. F., 1914 zjistili, že v kořenech obou druhů se vyskytuje zásobní polysacharid inulin a jemu podobné látky – pentosany, redukující monosacharidy a dále pryskyřice a silice. Identifikovali v lipofilní frakci z kořenů obou druhů rostlin kyselinu olejovou, linolovou, palmitovou a tři fytosteroly (β-sitosterol, β-sitosterol-3-β-D-glukosid a stigmasterol). V kořenové hmotě zjistili výskyt další jiné látky jako např. triglycerid výše uvedených mastných kyselin, levulosy, tříslovin, fenolických kyselin, betainu, enzymy, minerální látky aj.

Chemické látky obsažené v rostlinách rodu *Echinacea* se dají dle BAUERA, R., WAGNERA, H., 1990 rozdělit do následujících skupin:

1. polysacharid I obsahující arabinosu, xylosu, galaktosu, glukosu a 4-O-ethylglukuronovou kyselinu polysacharid II (arabinorhamnogalaktický) obsahující rhamnosu, arabinosu, galaktosu echinacosid (glykosid nalezený v *Echinacea angustifolia* koncentrace v kořenu asi 1 %) echinacin B, kyselina cichorová, betain, inulin, inuloid, fruktosa, sacharosa, xylosa, neidentifikované glykosidy, kyselina glukuronová, deriváty kyseliny kávové
2. esenciální olej obsahující onkolytickou látku – 1,8 pentadekadien echinacen (izobutylamid, tvořící 0,01 % sušeného kořene *Echinacea angustifolia* a 0,001

% alifatické sesquiterpeny, mastné kyseliny s vyšším počtem dvojných vazeb, polyacetylenové sloučeniny**,** terpenické uhlovodíky, ketoalkeny

3. 6,9 % proteinů v sušených kořenech *Echinacea angustifolia* a 5,3 % v *Echinacea purpurea.*
4. vitamín C, E, A
5. měď, draslík, železo, síra, zinek
6. tanin, enzymy, pryskyřice, flavonoidy, silice, třísloviny

Jednotlivé druhy rodu *Echinacea* mají jiné složení, ale podobný účinek. Proto se odborníci přilonili k názoru, že léčivý účinek je dílem celého komplexu látek (KOLÁŘ, L., et al., 1998)

Třapatky obsahují celou řadu látek s léčebnými účinky. Preparáty z třapatky se nejčastěji používají při onemocnění horních cest dýchacích a při chřipce. Na imunostimulačních účincích se podílí celý komplex látek jak polárních, tak lipofilních. Jsou to např. deriváty kyseliny kávové (kyselina kaftarová, chlorogenová, cichorová), echinakosid, verbakosid, polysacharidy, glykosidy kvercinu, pryskyřice, silice, polyeny, alkylamidy (VRCHOTOVÁ, N., et al., 2002).

3.2.1. Deriváty kyseliny kávové

Deriváty kyseliny kávové jsou jednou z nosných složek, jimž je přičítán léčivý účinek *Echinacey* (KUŽEL, S., et al., 2006). 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 kyselina cichorová. Z druhů rodu *Echinacea* byl izolován i její metylester a mono- a di-metyléter. V kořenech *Echinacey purpurey* byly objeveny další 4 látky s fenylpropanovou součástí molekuly. Jde o estery kyseliny skořicové se seskviterpenickými alkoholy typu guajanu a germakrenu. Stimulují imunitní odpověď organismu (ŠÍCHA, J., HUBÍK, J., DUŠEK, J., 1989).

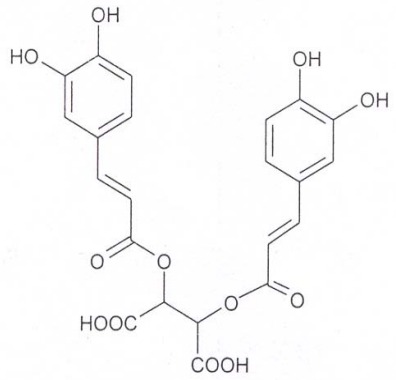
Mezi deriváty kyseliny kávové patří rovněž kyselina chlorogenová a echinakosid, které mají esterifikovanou cukernou složku. Echinakosid obsahují pouze někteří zástupci rodu *Echinacea* (např. *Echinacea angustifolia* a *Echinacea pallida*). Tato sloučenina je složena ze dvou molekul glukózy, po jedné molekule rhamnózy, kávové kyseliny a pyrobrenzkatechinolethanolu. Sloučenina vykazovala slabé antibiotické

účinky proti zlatému stafylokoku a proti streptokokům. *Echinacea purpurea* echinakosid neobsahuje (BAUER, R., WAGNER, H., 1990).

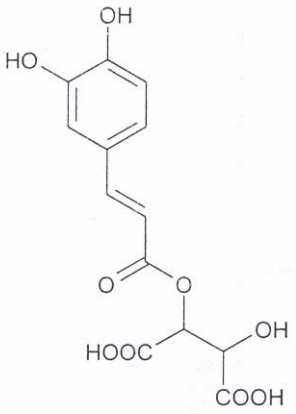
Z listů rostliny *Echinacea purpurea* byla izolována kyselina cichorienová. Pochází především z listů a kořenů *Echinacey purpurey* (1,2 % - 3,1 %, resp. 0,6 % - 2,1 %), zatímco její celkový obsah v listech a stonku je nižší. *Echinacea angustifolia* vykazuje jen stopová množství této kyseliny (BAUER, R., WAGNER, H., 1990).

Kyselina cichorová a kaftarová (další deriváty kyseliny kávové) jsou hlavní složkou kořene a nadzemní části rostliny *Echinacea purpurea*. Obsah kyseliny cichorové v kořenech třapatky dosahuje až 20 mg v 1 g sušiny. Rozdíl v obsahu kyseliny cichorové v různých genetických liniích *Echinacea purpurea* může být až čtyřnásobný (VRCHOTOVÁ, N., et al., 2002).

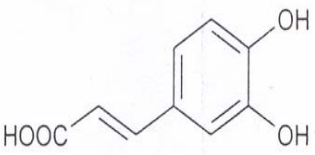
Obrázek č. 2: Schématické vzorce sledovaných účinných látek.



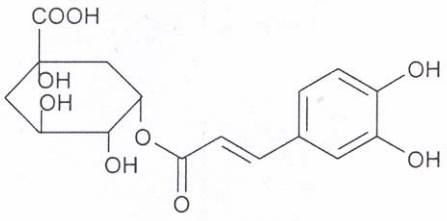
kyselina cichorová



kyselina kaftarová



kyselina kávová



kyselina chlorogenová

3.2.2. Flavonoidy

Z natě *Echinacey purpurey* byly izolovány tyto flavonoidy: quercetin, quercetin-7-glykosid, kafrol-3-monoglykosid, kafrol-3-rutinosid, quercetin-3-glykosid, rutin, quercetin-3-robinobiosid, quercetin-3-xylosylgalaktosid nebo quercetin-3-galaktosylxylosid, stejně tak 2 diglykosidy isorhamnetinu. Stanovení obsahu flavonoidů v listech provedené podle metody Christa a Müllera určilo u *Echinacey purpurey* obsah 0,48 %, počítáno pro quercetin (MALONGA-MAKOSI, J. P., 1983).

3.2.3. Éterické oleje

Echinacea purpurea dále obsahuje éterické oleje, neboli silice. HEINZER, F., et al., 1988 uvádí, že *Echinacea* obsahuje v kořenech maximálně 0,2 % oleje, zatímco v květech a listech bylo nalezeno 0,6 % oleje. V éterickém oleji z kořenů *Echinacey purpurey* identifikovali „jako hlavní komponentu“ nejprve sloučeniny typu dodeca-2,4-dien-l-yl-isovaleratu, stejně jako kyselinu palmitovou a linolenovou. Jako další sloučeninu nalezli v kořenech *Echinacea purpurey* germakren D, který byl prokázán Bohlmannem a Hoffmannem vedle vanilinu a methylesteru kyseliny p-hydroxyskořicové i v nadzemních částech (BOHLMANN, F., HOFFMANN, H., 1983).

BOS, R., HEINZER, F., BAUER, R., 1988 nalezli v éterickém oleji nadzemních částí rostliny *Echinacea purpurea* borneol, bornylacetat, pentadeca-8-en-2-on, germakren D, karyofylen, karyofylenoxid, a kyselinu palmitovou.

Podle BECKERA, H., 1982 obsahuje kořen *Echinacey purpurey* 0,72 % silice. Silice z kořenů byla získána buď destilací s vodní parou nebo extrakcí do nepolárních rozpouštědel. Silice z *Echinacey purpurey* 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 %), myrceen (1,17 %), limonen (0,32 %), cymol (0,12 %) a stopy thujanu, humulenu a karyofylenoxidu.

3.2.4. Polyacetyleny

Obsah polyacetylenů je pro rostliny rodu *Asteraceae* typický. SCHULTE, K. E., RÜCKER, G., PERLICK, J., 1967 izolovali z kořenů sloučeniny polyacetylénového

typu. Jako celkové množství polyacetylenů v kořenech stanovili 2 mg (počítáno pro materiál sušený na vzduchu). Obsah v nadzemních částech byl ještě nižší. Jak v čerstvých, tak i v sušených kořenech bylo nalezeno poměrně velké množství těchto sloučenin (0,2 %). Ve směsi identifikovali 13 sloučenin, z nichž má největší podíl 1-tridecen-3,5,7,9,11-pentain a pentikaepoxid. WAGNER, H., et al., 1985 izolovali 1,11-tridekadien-3,5,7,9-tetrain, kterému je spolu s 1-tridecen-3,5,7,9,11-pentain připisován silný baktericidní a fungicidní účinek.

V nati byly nalezeny pouze 4 sloučeniny ze 13, které se vyskytují v kořenech. Jejich koncentrace je velmi nízká. Výjimkou je jedna doposud neidentifikovaná látka z úboru *Echinacey purpurey.* Polyacetylénové sloučeniny jsou poměrně nestálé, při dlouhodobém skladování se rozkládají (ŠÍCHA, J., HUBÍK, J., DUŠEK, J., 1989).

3.2.5. Alkylamidy

Alkylamidy jsou skupina látek, se kterými se v rostlinné říši setkáváme jen velmi zřídka. Jejich zdokumentovaný obsah je doposud omezen jen na rody *Piperaceae*, *Aristolochiaceae, Rutaceae* a *Asteraceae.* O obsahu alkylamidů v druzích rodu *Echinacea* referoval poprvé Jacobson v roce 1954 (BAUER, R., WAGNER, H., 1990).

Z rostliny *Echinacea 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 (BOHLMANN, F., DALLWITZ, K., 1974).

Podle KAMÍRA, P., 1991 obsahuje *Echinacea purpurea* sloučeninu nazvanou echinacein. Chemicky se jedná o N-isobutylamid kyseliny 2-*trans*-6-*cis*-8,10-*trans*-dodekatetraenové. Je to látka, která má insekticidní účinky, zvyšuje přirozené obranné síly organismu a má příznivý účinek na kloubová pouzdra.

3.2.6.Alkaloidy

Echinacea purpurea obsahuje pyrrolysidinové 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 extrakčních přípravcích nemůže projevit jejich toxicita (RÖDER, E., et al., 1984).

Tussilagin a isotussilagin byly poprvé izolovány z podbělu lékařského *(Tussilago farfara)* (BAUER, R., WAGNER, H., 1990).

3.2.7. Polysacharidy

První výzkum polysacharidů z rostlin rodu *Echinacea* pochází od HEYLA et al., 1914, kteří stanovili pro kořen *Echinacea angustifolia* obsah inulínu na 5,9 % (BAUER, R., WAGNER, H., 1990). Z terapeutického hlediska jsou polysacharidy významné. Mají imunostimulační účinky (KUŽEL, S., et al., 2006).

BONADEO, I., BOTTAZZI, G., LAVAZZA, M., 1971 izolovali z rostlin *Echinacea angustifolia* a *Echinacea purpurea* pseudokrystalickou látku s velmi nízkou toxicitou. Čištěný produkt byl nazván echinacin B. Jde o směsný polysacharid, jehož farmakologicky účinnou složku tvoří kyselý mukopolysacharid. Má imunostimulační účinky a působí jako inhibitor hyaluronidázy.

WAGNER, H., PROKSCH, A., 1981 izolovali z nadzemních částí rostliny *Echinacea 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 heteroxylan 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 a 500.000 – 750.000.

3.2.8. Ostatní látky

HEYL, F. W., STALEY, J. F., 1914 uvádí následující složení kořenů rostliny *Echinacea purpurea*: vlhkost 10,18 %, škrob chybí, pentosany 15,6 %, bílkoviny 5,17–5,31 %, popeloviny 6,93 % a surová vlákna 29,51–29,65 %.

V alkoholovém extraktu *Echinacey purpurey* byla nalezena pryskyřice, sacharoza a redukovaný cukr (BAUER, R., WAGNER, H., 1990). V čerstvých listech *Echinacey purpurey* bylo nalezeno 0,214 % vitamínu C (přepočítáno na suchou hmotnost) (GÜNTHER, E., HEEGER, F. E., ROSENTHAL, C., 1952).

Vedle těchto látek, jejichž struktura byla objasněna, existuje ještě celá řada sloučenin, které nemají zcela prozkoumanou a popsanou strukturu. KELLER, H., 1955 uvádí dvě neidentifikované látky z extraktu z nati *Echinacea* (bez udání druhu), které označil jako faktor A a faktor B. První má účinky podobné kortikoidům, druhý působí jako inhibitor hyaluronidázy (ŠÍCHA, J., HUBÍK, J., DUŠEK, J., 1989).

3.3. Farmaceutické využití rostlin rodu *Echinacea*

Druhy rodu *Echinacea* jsou používány od pradávna v severoamerické tradiční medicíně. Kořeny těchto druhů používali Indiáni proti řadě chorob, mimo jiné i proti hadímu uštknutí a na špatně se hojící hnisavé rány. Na přelomu 19. a 20. století se dostávají tyto rostliny i do evropské medicíny. Na rozdíl od jiných drog však byly zřídka používány ve formě čaje, ale mnohem častěji jako součást tinktur, extraktů nebo jako šťáva získaná lisováním z čerstvých rostlin (ŠÍCHA, J., HUBÍK, J., DUŠEK, J., 1989).

Rostlina je využívána celá. Podle dosavadních výzkumů i praktických zkušeností se nejúčinnější drogou jeví kořen (*Radix Echinacey*), potom květ a nakonec list (*Flos et Folium Echinacey*). Kořen je sbírán přednostně na podzim po odkvětu rostliny, květ a list během květu. Nejúčinnější je čerstvý kořen (JANČA, J., ZENTRICH, J.A., 1996). Užívá se ve formě výluhu v alkoholu (tinktury) nebo mastí (KAMÍR, P., 1991).

Léčebné účinky jsou rozmanité. Při zevní aplikaci droga účinně hojí rány a zranění. Její hlavní poslání však lze spatřovat v tom, že poměrně výrazně zvyšuje imunitu, vykazuje i značnou aktivitu antibiotickou, a to nejen proti bakteriím, ale i proti některým virům. Osvědčila se i při žilní nedostatečnosti – hemeroidech, křečových žilách, bércovém vředu, kdy je ovšem třeba ji aplikovat vnitřně i zevně. Tlumí vnímání bolesti a působí jako afrodisiakum (JANČA, J., ZENTRICH, J.A., 1996).

Protivirové působení je především profylaktické, protože do předem ošetřených zdravých buněk nemohou viry proniknout. Preventivně je droga využívána zejména pro zvyšování imunity organismu při chřipkových epidemiích apod (ZENTRICH, J.A., 1991). Schopnost mírně zvyšovat tělesnou teplotu je vhodná při léčbě některých alergických potíží a při bezteplotně probíhajících chorobách. Droga má také účinky protizánětlivé. Kombinace uvedených účinků z drogy vytváří dobré antirevmatikum,

vhodné zejména pro podávání ve směsích, další využití je zejména v urologii a gynekologii. Aplikována zevně, pomáhá droga hojit staré a nehojící se rány, omrzliny, kožní záněty a obávané proleženiny (ZENTRICH, J.A., 1991). Dále se používá proti všem lymfatickým potížím, proti septickým procesům, mastitidě, hnisání, růži, nefritidě a problémům podobného charakteru (JANČA, J., ZENTRICH, J.A., 1996).

Mnoho odborníků varuje před užíváním *Echinacey* u lidí s poruchami autoimunity, roztroušenou sklerózou, nebo jinými vážným onemocněním, jako je tuberkulóza, AIDS, nebo leukémie (GRAEDON, J., 1999).

3.4. Využití rostlin rodu *Echinacea* ve výživě hospodářských zvířat

Studie, kterou udělali HERMANN, J., et al., 2003 na univerzitě v Iowě, nepodpořila zprávy o antivirovém působení rostliny *Echinacea purpurea*, o její podpoře imunitního systému a stimulaci růstu u odstavených selat. V rámci hledání alternativ k antibiotickým stimulátorům růstu se zkoušela i aplikace rostlinných preparátů. *In vitro* bylo zjištěno, že extrakty z *Echinacea* vykazují nespecifické imunostimulační vlastnosti, včetně zvýšené fagocytózy, zvýšené produkce cytokinů a likvidace buněčné aktivity. Odborníci předpokládali, že by *Echinacea* mohla zvýšit odolnost proti virovým nemocím prasat, jako je porcinní reprodukční a respiratorní syndrom (PRRSV) a účastnit se na likvidaci sekundárních bakteriálních infekcí. Dosud provedené pokusy s rostlinami rodu *Echinacea in vivo* přinesly rozporné výsledky. Zatím se žádná výzkumná práce nezabývala imunostimulačním vlivem této rostliny na prasata a je také málo informací o jejím působení jako stimulátoru růstu u prasat. Studie provedena na univerzitě v Iowě nepodpořila některé příznivé výsledky z aplikace *Echinacey* a odborníci doporučují provést další sledování a ověření účinku této rostliny proti ostatním prasečím patogenům.

V Německu prověřovali možnost pozitivního ovlivnění zdravotního stavu a užitkovosti prasat extraktem *Echinacey*. Zde v interdisciplinárním experimentu testoval expertní tým vědců na 12 prasnicích a jejich potomcích, jak ovlivňuje extrakt z třapatky zdravotní stav, užitkovost a imunitní odpověď. Testovaný extrakt (lisovaná šťáva) byl přidáván do krmiva prasnicím v období březosti a laktace. Velikost vrhů a ani hmotnost selat ve vrhu nebyly nijak ovlivněny, ale v porovnání s kontrolními selaty byl

u pokusných zaznamenán zlepšený růst díky stabilnějším přírůstkům hmotnosti. Od 49. dne života se již jednalo o intenzivnější tělesný růst u potomstva testovaných prasnic. Rozdíl v hmotnosti od začátku výkrmu činil 5 % a udržel se až do konce výkrmového období. Zda jde zlepšený růst na vrub vyššího příjmu krmiva nebo lepší konverze krmiva nebylo v rámci tohoto pokusu zjišťováno. Vedle zlepšeného růstu byla u selat indikována podstatně nižší frekvence terapeutických zákroků. Jednalo se zpravidla o léčbu průjmů, nosního výtoku a onemocnění kloubů. S nižší nemocností souvisí zlepšení imunitního stavu zvířat. Prasnicím a selatům byly odebrány vzorky krve a analyzovány na obsah imunoglobulinu G (IgG) a C-reaktivního proteinu (CRP). Jak u prasnic (21. den post partum), tak i u selat (7. den po porodu) z pokusné skupiny byly prokázány podstatně vyšší koncentrace IgG a nižší obsah CRP, indikující přítomnost zánětlivých procesů v organismu. Zjevně přijala selata s kolostrálním mlékem vyšší množství protilátek, což vedlo k posílení obranyschopnosti organismu a pozitivně zapůsobilo na jejich vývoj. Analýza kvality jatečného trupu prováděná ve 187. dnu prokázala u zvířat z pokusné skupiny zvýšení hmotnosti jatečného trupu o 3,5 % v porovnání s kontrolní skupinou. Podíl kosterní svaloviny a plocha kotlety byly nižší, výška hřbetního špeku naopak vyšší. V kvalitě masa nebyly zaznamenány žádné prokazatelné rozdíly. Tyto první výsledky naznačily, že podávání extraktu z třapatky březím a kojícím prasnicím stimulovalo jejich imunitní systém, což vedlo k vytvoření příznivější výchozí pozice pro odchov a výkrm jejich potomstva. Ke komplexnějšímu posouzení vlivu *Echinacey* na růst prasat bude zapotřebí provést ještě řadu dalších výzkumů (NEHASILOVÁ, D., 2004).

Na vysoké škole zemědělské ve Varšavě zjišťovali vliv plodiny *Echinacea purpurea* na imunitní reakci krav v období porodu. Polští vědci sledovali působení přídavku *Echinacea purpurea* v krmných dávkách dojnic; zjišťovali jeho protizánětlivý účinek, vliv na imunitu krav a narozených telat a na výskyt zánětu mléčné žlázy. Po 3týdenní aplikaci moučky z *Echinacea purpurea* byla měsíc od začátku aplikace zjištěna v séru krav zvýšená hladina imunoglobulinů. Výsledek naznačuje, že biologicky aktivní látky obsažené v plodině stimulují humorální imunitu krav. Dalším výzkumem je potřeba stanovit optimální hladinu aktivní látky pro stimulaci imunitní reakce krav v období okolo porodu (SCHNEIDEROVÁ, P., 2005).

Stále vyšší zájem výrobců i konzumentů kozího mléka je dán jeho vysokou stravitelnosti, nízkou alergicitou a příznivým chemickým složením, podobnějším lidskému mléku než je složení kravského mléka. Hlavním problémem ve výrobě kozího

mléka je dodržování hygienických standardů především pro počet somatických buněk. Kozí mléko může obsahovat, vzhledem k odlišnému způsobu sekrece, mnohem větší počet somatických buněk než kravské mléko. Mnoho výrobců z různých zemí není schopno dodržovat limity pro počet somatických buněk v mléce. Programy na zvyšování hygienické kvality mléka nejsou zcela účinné především v případě kozího mléka. U kozích produktů brzdí zlepšování kvality nedostatek specifických kriterií pro rozlišení původu ze zdravých nebo nemocných zvířat. Vyloučení antibiotik z výživy hospodářských zvířat vede ke hledání jejich alternativ; jednou z možností náhrady antibiotik je podpoření vlastního obranného systému organismu. Zvýšení produkce laktoferinu mléčnou žlázou je ověřovaná strategie pro zlepšení zdravotního stavu mléčné žlázy a kvality mléka. Laktoferin má antibakteriální, antivirové, antiplísňové, antikarcinogenní a imunostimulační vlastnosti. Pokus provedený v Polsku měl ověřit možnost zvyšování produkce laktoferinu a zlepšení zdravotního stavu mléčné žlázy stimulací vlastního obranného systému koz pomocí preparátu Echinapur. Přípravek obsahuje výtažek z rostliny *Echinacea purpurea*, která aktivuje imunitní systém. Aplikace výtažku z *Echinacey purpurey* přechodně snížila obsah mléčného proteinu a zvýšila produkci mléka. Došlo k podstatnému zvýšení obsahu mléčného laktoferinu a ke snížení počtu somatických buněk a počtu bakterií (SCHNEIDEROVÁ, P., 2004)

3.5. Metody stanovení účinných látek

Ke stanovení jednotlivých účinných látek rostliny *Echinacea purpurea* je možné použít přesné analytické postupy, jako je HPLC, nebo GLC. Existuje i jednodušší TLC metoda, kdy se skvrny účinných látek přenesou na papír, skvrny se vystřihnou a podle hmotnosti semikvantitativně vyhodnotí. Pro dané účely tato primitivní, ale rychlá a spolehlivá metoda, určená pro provoz lékárenských laboratoří, plně vyhovuje (KUŽEL, S. et al. 2004).

3.5.1. Chromatografie na tenké vrstvě (TLC)

TLC je kapalinovou chromatografií v plošném uspořádání. Patří mezi nejjednodušší a nejrozšířenější chromatografickou metodu. Stacionární fáze je na tenké vrstvě

podstatně méně než v chromatografické koloně, proto analýza na tenkých vrstvách může být velmi rychlá (GARAJ, J., BUSTIN, D., HLADKÝ, Z., 1987). Stacionární fázi tvoří tenká vrstva nanesená na vhodnou podložku z inertního materiálu (sklo, kovové fólie). Vrstvy jsou buď volně sypané, nebo nanášené za mokra a vysušené (jsou kompaktnější). Podle povahy procesu je sorbentem oxid hlinitý nebo silikagel, popř. celulosměsi. Mobilní fází jsou vhodná rozpouštědla nebo jejich směsi (HUBÁČEK, J., et al., 1988).

Dělení směsi látek probíhá na základě kapilárního nasávání rozpouštědla stacionární fází, protože deska je svou dolní hranou ponořena do eluční soustavy v chromatografické nádobě. Přitom se uplatňují podle povahy sorbentu a složení mobilní fáze všechny známé principy chromatografického dělení a to buď každý sám nebo ve vzájemné kombinaci (OPLETAL, L., DRAŠAR, P., 1994). Dělené látky a obvykle i mobilní fáze neopouštějí chromatografické lože a po detekci se získá tzv. vnitřní chromatogram. Na něm je pak možno porovnáním se současně dělenými látkami známého složení (standardy) určit kvalitu látek ve vzorku anebo při použití speciálních postupů a zařízení stanovit i množství rozdělených látek (CHMEL, K., et al., 1987).

3.5.2. Vysokoúčinná 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 a možnost velmi přesné temperace. HPLC je jednou z nejdokonalejších metod. Naopak nevýhodou je velmi vysoká cena komerčních přístrojů – HPLC chromatografů. Používá se k dělení složitých směsí velmi příbuzných látek (SKLENÁK, L., 2003).

Při kapalinové chromatografii se látky dělí ve dvoufázovém dělicím systému na základě adsorpce, výměny iontů, fyzikální distribuce látek mezi kapalnou mobilní a s ní nemísitelnou kapalnou stacionární fází, nebo na principu pronikání molekul z mobilní fáze do pórů tuhých částic, které mají funkci molekulového síta. Celý děj se odehrává ve speciálně konstruovaných trubicích, nazývaných kolony. HPLC pracuje

s úzkými ocelovými, skleněnými nebo křemennými kolonami, které obsahují nosné částice (<10 μm) se stacionární fází (ŠTERN, P., 2007).

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., BUSTIN, D., HLADKÝ, Z., 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 (pásy), které postupně opouštějí soustavu (kolonu) ve formě tzv. eluátu, což je roztok složky v mobilní fázi. Koncentrace složky v příslušných podílech eluátu 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 eluát 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 eluátu po opuštění kolony detektorem, je třeba eluát 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 (HUBÁČEK, J., et al., 1988). Na výstupu z kolony je připojen detektor UV-VIS, fluorimetrický, detektor diodového pole, popřípadě i elektrochemický detektor. Jako detektor lze také použít hmotnostní spektometr, což je analyticky vynikající, ale technicky i finančně velmi náročné řešení (ŠTERN, P., 2007). 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 (GARAJ, J., BUSTIN, D., HLADKÝ, Z., 1987).

3.5.3. Plynová chromatografie (GLC)

Plynová chromatografie je separační metoda umožňující identifikaci a stanovení nejen plynů, ale všech látek, které lze definovaným způsobem převést v páry tj. kapaliny nebo tuhé látky (derivatizace, pyrolýza). Je to metoda, která při separaci plynů a par využívá rozdělení složek mezi dvě heterogenní fáze, stacionární a mobilní,

přičemž mobilní fází je plyn. Plynovou chromatografií je možné analyzovat plyny, kapaliny a tuhé látky. Vyžaduje se však, aby se tuhé látky při pracovní teplotě alespoň částečně vypařovaly a nerozkládaly se. Stacionární fází je nejčastěji kapalina zakotvená na inertním nosiči, méně často povrchově aktivní adsorbent (GARAJ, J., BUSTIN, D., HLADKÝ, Z., 1987).

Z tlakové lahve přechází nosný plyn čistícím zařízením do regulátoru tlaku. Vzorek se dávkuje do proudu nosného plynu dávkovačem a spolu s nosným plynem vstupuje do kolony. V chromatografické koloně se vzorek rozdělí na složky, které jsou nosným plynem postupně vymývány do detektoru, jehož signál se po zpracování zapíše zapisovačem a vyhodnotí integrátorem. Dávkovač, kolona a detektor se vyhřívají na požadovanou teplotu regulátorem teploty v termostatu. Činnost chromatografu řídí mikroprocesor. Jako nosné plyny se v praxi nejčastěji používají: žárovkový dusík, elektrolytický vodík, helium a argon. Dávkovače vzorku jsou umístěny těsně před kolonou. Plyny se mohou dávkovat injekčními mikrostříkačkami nebo dávkovacími ventily. Kapaliny a roztoky se dávkují injekčními stříkačkami propíchnutím těsnění ze silikonu a nadávkováním vzorku do vyhřátého dávkovacího prostoru, ze kterého se páry nosným plynem přivedou na začátek kolony. Na dávkování tuhých látek jsou konstruovány speciální dávkovače. Nejčastěji se však dávkují jako roztoky v prchavých rozpouštědlech injekčními mikrostříkačkami (GARAJ, J., BUSTIN, D., HLADKÝ, Z., 1987).

GLC má řadu předností, její použití je však omezeno bodem varu složek či jejich těkavých derivátů na max. 400 °C (ale většinou méně) s ohledem na vlastnosti dostupných stacionárních fází (HUBÁČEK, J., et al., 1988).

3.6. Stres

Stres je slovo, které se v současné době skloňuje ve všech pádech a v obecném povědomí se týká hlavně člověka a živočichů. Stres však postihuje také rostliny a téma „rostlina a stres“ je předmětem vědeckého bádání. V současnosti je stres u rostlin zkoumán z různých hledisek, od velkých ekosystémů až po biologické regulace rostliny na molekulární úrovni (BLÁHA, L., 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 (KUŽEL, S., et al., 2004).

V definování stresu existují mezi vědeckými odborníky rozpory. KOVALČIK, K., KOVALČIKOVÁ, M., 1974 vysvětlují stres následovně: „Pojmem stres rozumíme stav ve kterém se nachází živý systém při mobilizování obranných nebo nápravných zařízení, kterými odpovídá na nespecifické stimuly z prostředí. Příčina, která stres vyvolala se nazývá stresor.“

Postupem času byla tato definice různými autory mnohokrát obměňována a zpřesňována. Například BLÁHA, L., et al., 2003 definuje stres rostliny jako stav, navozený nepříznivými faktory prostředí, přesahující jejich běžnou úroveň, které u rostliny vyvolají tzv. „poplachovou“ odpověď jako reakci na stávající podmínky.

PULKRÁBEK, J., et al., 2005 ve svém článku označují pod pojmem stres odchylky od optima vyvolávající napětí, neboli zátěž vznikající v důsledku nadměrného působení faktorů prostředí nad úroveň, která přesahuje fylogeneticky zakódované požadavky rostliny.

3.6.1. Stresory

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, L., et al., 2003).

3.6.2. Elicitace a imunita

V odborné literatuře a metodikách využívání stimulátorů – stresorů je označováno jako tzv. metoda elicitace, 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,F., MISAWA, M., 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, představující 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 a další.

Elicitory užité při kultivaci rostlin *in vitro* ve farmaceutickém průmyslu nebo i na menších zemědělských plochách mohou být organického i anorganického původu jak uvedli TŮMOVÁ, L., DUŠEK, J., 2000. Optimální koncentraci stejného elicitoru u různých kultur *in vitro* v případě jeho pozitivního působení nelze zevšeobecnit a je specifická mimo jiné pro tu kterou kulturu a dobu elicitace. Účinnost elicitace také záleží na mnoha faktorech, které často působí synergicky, jako jsou stáří kultury, koncentrace elicitoru a v jakých časových periodách byl elicitor podáván. Velice důležitou podmínkou je, aby elicitor nesnižoval životaschopnost kultury, proto se obecně užívají nižší koncentrace elicitorů.

KOLÁŘ L., et. al., 1998 dokázali, že výsledky elicitace jsou významně ovlivněny i výživou rostlin (příloha č. 3).

HNILIČKA F., et al., 2003 ve své práci elicitory rozděluje do dvou skupin, a to na exogenní elicitory a endogenní elicitory. Exogenní elicitory, které vznikají

činností patogena a jedná se o jeho metabolity. Z chemického hlediska do této skupiny řadíme např. některé polysacharidy, specifické enzymy a peptidy. Endogenní elicitory se uvolňují z narušovaných buněčných stěn obou organizmů. Mezi ně patří oligomery chitinu, oligoglukany a glykoproteiny uvolňované hydrolýzou buněčné stěny patogenních hub či oligogalakturonany uvolňované z buněčné stěny napadené buňky.

Vedle mechanické obrany si vytvořily rostliny i obranu chemickou, jejímž základem je vytvoření řady sekundárních metabolitů, od chemicky jednoduchých (kyselina šťavelová či kyanid) až po chemicky složitější látky, jako jsou např. glykosidy, alkaloidy, apod. Uvedené sekundární metabolity mohou působit bud' odpudivě nebo až toxicky na býložravce. V rostlině se tyto látky nevytvářejí ve stejném množství. Uvedené alkaloidy, glykosidy uvolňující kyanovodík, glukosinoláty a mnoho dalších, se v rostlině vyskytují v malém množství, ale jsou pro živočichy velice toxické. Tento obranný mechanismus byl prokázán např. u jetele plazivého *(Trifolium repens),* který při napadení pletiva uvolňuje kyanovodík. Tato schopnost tvorby kyanovodíku závisí na dvou párech alel, je tedy geneticky podmíněna. Rostliny, kterým chybí buď glykosid či enzym, případně obojí jsou požírány slimáky a hlemýždi. Kyanogenní formy jsou sice nakousnuty, ale poté zanechány. (HNILIČKA F., et al., 2003)

3.6.3. Abiotické elicitory

a) Fyzikální faktory

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 zabývali HNILIČKOVÁ, H., HNILIČKA, F., 2003, když zjišťovali vliv tohoto stresoru na intenzitu fotosyntézy a transpirace na rostliny rajčete jedlého (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Autory byl založen pokus s několika odrůdami rajčete vždy ve dvou variantách. U kontrolní varianty vycházela zálivka z 31 % objemu půdní vlhkosti, což je hodnota vodního potenciálu – 0,12 MPa, při pH 7,0. Velikost zálivky činila 130 ml na nádobu (to se rovná dávce 10 $l.m^{-2}$). U stresované varianty byla zálivka omezena na dobu 27 dnů. Zálivka byla snížena na úroveň 17 % objemu půdní vlhkosti, což odpovídá hodnotě vodního potenciálu – 1,28 MPa. Závlaha byla uskutečněna vždy po dosažení bodu vadnutí a vlhkost půdy byla nižší i po zálivce. Po uplynutí 27 dnů stresu, byla zálivka obnovena na úroveň kontrolní varianty. Z výsledků vyplývá, že

u stresovaných rostlin byla nejvyšší hodnota intezity fotosyntézy dosažena u všech odrůd dříve než u kontrolních variant. Z toho vyplývá, že stresované rostliny zkracují vegetaci, a že vodní stres snižuje intenzitu fotosyntézy. Mezi jednotlivými odrůdami nebyl zjištěn průkazný rozdíl. Průměrný pokles intenzity transpirace při působení stresu ve sledovaném období byl 12,8 – 33,8 %.

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, L., et al., 2003).

STAZSKOVÁ, L., TÁBORSKÝ, J., 2005 sledovali ve své práci jednu z možných obranných reakcí jarní pšenice odrůdy Sandra a sice změny v metabolismu prolinu, konkrétně změnu aktivity glutamátkinasy a obsahu chlorofylu jako odezvu na působení nízkých teplot. Prolin (pyrrolidin-2-karboxylová kyselina) je jednou z aminokyselin, které se podílí na vytváření odolnosti rostlin, a to nejen vůči nízkým teplotám. Pokus byl umístěn ve skleníku a pšenice byla pěstována v nádobách. Průměrné denní teploty během pěstování byly 20 °C/15 °C. Po dosažení stádia 13 DC byl zahájen pokus, ve kterém byla varianta kontrolní (14 hodin tma, umístění v laboratoři při teplotě 20 °C) a 2 varianty stresované (14 hodin tma, při teplotě 5 °C a druhá při teplotě 10 °C). Byla stanovena aktivita glutamátkinasy a obsah chlorofylu *a* i *b*. Obě sledované nízké teploty zvyšovaly aktivitu glutamátkinasy. Při teplotě 5 °C vzrostla aktivita glutamátkinasy o 59,5 % a při 10 °C o 11,4 % oproti kontrolní variantě, která byla kultivována při teplotě 20 °C. Z těchto výsledků je zřejmé, že snižující se teplota působí na enzym aktivačně. Se zvýšením aktivity glutamátkinasy souvisí i nárůst obsahu prolinu. Obsah chlorofylu byl měřen spektorofotometricky při vlnových délkách 644 a 633 nm. Z výsledků tohoto měření je zřejmé, že při 5 °C dosáhl obsah chlorofylu *a* 76,5 % a chlorofylu *b* 71,7 % hodnot kontrolní varianty. U druhé stresované varianty při teplotě 10 °C byl obsah chlorofylu *a* 94,6 % a chlorofylu *b* 91,7 % hodnot kontrolní varianty. Je tedy zřejmé, že vlivem nízkých teplot došlo k poklesu obsahu chlorofylu, což může vést až ke snížení intenzity fotosyntézy.

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, L., et al., 2003).

V pokusu ORSÁK, M., DUDJAK, J., LACHMAN, J., 2003 zjišťovali vliv UV a γ-záření na fenolické látky na dvou odrůdách ječmene jarního (*Hordeum* sp.). Byly použity odrůdy Krona a Kompact. Pro UV záření byla použita UV lampa o $\lambda = 351$ nm (suma dávky ozáření 0, 24, 48 a 72 hodin). Zdrojem γ-záření byl izotop ^{60}Co (celková dávka 0, 10, 20 a 40 Gy). Byl sledován vliv záření na změnu obsahu celkových polyfenolů, změny v obsahu kumarinů a látek typu resorcinolu, fluoroglucinolu a katecholu. Z výsledků tohoto pokusu byla zjištěna statisticky průkazná závislost obsahu resorcinolu, fluoroglucinolu a katecholu na dávce a na růstové fázi rostliny. Odrůdy reagují různě na různou dávku u obou druhů záření. Oba druhy záření u ječmenů snižují obsah resorcinolu, fluoroglucinolu a katecholu, u naklíčených rostlin u odrůdy Kompakt došlo k nárůstu látek typu resorcinolu, fluoroglucinolu a katecholu. UV záření zvyšuje obsah celkových fenolických látek. Obě odrůdy reagovaly na ozáření různou změnou obsahu celkových polyfenolů. Během růstu i záření docházelo ke kvantitavním i kvalitativním změnám v obsahu fenolických kyselin a kumarinů.

Z atmosférických jevů na rostlinu nepůsobí pouze sluneční záření, ale také obsah a koncentrace látek v ovzduší a ozón. Škodlivé látky se do ovzduší dostávájí nejenom z přirozených zdrojů, jako jsou např. přirozené požáry savan, lesů, vulkanická činnost sopek, ale také průmyslovou činností člověk. Činností člověka se do atmosféty dostávají především oxidy síry, dusíku a dříve používané freony (BLÁHA, L., 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. Tento jev pozoroval KOLÁŘ, L., 1982 u jetele lučního a vlčího bobu mnoholistého, kde došlo ke zvýšení produkce fytoestrogenu genisteinu. Také v další práci KOLÁŘ, L., et al., 1998 prokázal, že při šestinásobném

přebytku dusíku v poměru k draslíku a dalším živinám v rostlině *Echinacea purpurea* produkuje rostlina o 60 % účinných látek více, než při harmonickém poměru živin.

b) Anorganická činidla

Z abiotických stresorů se pro experimenty velmi často využívá látek chemicky čistých prvků, anebo jejich jednoduchých sloučenin obvykle aplikovaných ve vodném roztoku o velmi nízké koncentraci (PEXÍDR, R., 2004).

V práci FEDJUK, K., HEJTMÁNKOVÁ, A., DUDJAK, J., 2003 sledovali vliv kadmia jako stresoru na fotosyntetický aparát rostlin. Těžké kovy jsou cizorodé látky, které nejsou v biologických systémech degradovány a značně ovlivňují rostliny. Jedním z hlavních mechanismů obrany rostlin vůči stresu těžkých kovů je syntéza metalothioneinů. Tyto toxické kovy inhibují fotosyntetické procesy a tím ovlivňují produkci rostlinné hmoty, z čehož vyplývá i výnos kulturních plodin. V pokusu byla použita nižší rostlina (termofilní sinice *Synechococcus elongatus*) a vyšší rostlina (ječmen jarní, odrůda Kompakt). Sinice byla kultivována ve třech variantách živného média: 1) bez přídavku kadmia, 2) s přídavkem kadmia o koncentraci 10^{-5} mol/l a 3) s přídavkem kadmia o koncentraci 10^{-6} mol/l. Ječmen jarní byl kultivován v řízeném klimaboxu ve dvou variantách živného média: 1) kontrolní varianta – bez přídavku kadmia, 2) s přídavkem kadmia o koncentraci 10^{-6} mol/l. Živné roztoky pro jednotlivé varianty obsahovaly stejný obsah ostatních živin, kromě kadmia. Základní živiny byly dodány ve formě poloviční Knopova živného roztoku, který je vhodný pro ječmen jarní. Mikroelementy byly dodány fomou poloviční Shiveova roztoku. Extrakty byly stanoveny spektrofotometricky. Skutečný obsah kadmia v sinici a ječmeni jarním byl stanoven metodou ETA – AAS. Z výsledků vyplývá, že zvyšující se koncentrace kadmia snižovala hodnotu pH. Obsah chlorofylu *a* byl měřen spektofometricky při vlnové délce 665,2 a 730 nm. Největší množství chlorofylu *a* obsahovala kontrolní varianta. Z výsledků měření celkového množství chlorofylu *a*, xantofylů a karotenů vyplývá, že zvyšující se obsah kadmia vede ke snížení množství jednotlivých pigmentů. Největší obsah chlofylu *a*, xantofylů a karotenů vykazuje dle výsledků varianta kontrolní. U ječmene jarního bylo měřeno množství chlorofylu *a* i *b*, karotenů a xantofylů. Z výsledků lze odvodit, že kadmium jako stresor snižuje obsah

fotosyntetických pigmentů. U karotenů a xantofylů, není tendence úbytku pigmentů v korelaci s přídavkem kadmia tak výrazná, jako v případě chlorofylu *a* a chlorofylu *b*.

V následujícím pokusu TŮMOVÁ, L., BLAŽKOVÁ, R., 2002b sledovaly vliv abiotického elicitoru $CrCl_3$ na produkci flavonoidů v kalusové a suspenzní kultuře *Ononis arvensis L.* po 12, 24, 48, 72 a 168 hodinové aplikaci. Testovaný elicitor ovlivňoval pozitivně tvorbu flavonoidů. Statisticky významný nárůst produkce flavonoidů u kalusové kultury byl zaznamenán při použití roztoku $CrCl_3$ v koncentraci c_1 po 24, 48, 72 a 168 hodinách, u koncentrace c_2 po 24, 48 a 72 hodinách a u koncentrace c_3 po 12, 24 a 48 hodinách. U suspenzní kultury statisticky významně zvyšovaly produkci flavonoidů koncentrace c_1 po 12 a 72 hodinách, koncentrace c_2 po 12, 24, 48 a 72 hodinách a koncentrace c_3 po 12, 24, 48 a 72 hodinách. Maximální zvýšení tvorby flavonoidů o 98 % nastalo v kalusové kultuře po elicitaci roztokem chloridu chromitého v koncentraci c_3 po 48 hodinách aplikace a v suspenzní kultuře po elicitaci $CrCl_3$ o koncentraci c_2 po 12 hodinách o 100 %.

V experimentu WOO, D., et al., 1994 přidávali dusičnan lanthanitý ve fixní koncentraci 5,8 mM do média během různých růstových fází buněčné kultury tisu (*Taxus yunnanensis)* - ve střední exponencionální fázi růstu (12 dní stará kultura), pozdně exponencionální fáze (16 dní stará kultura) a v časně stacionární fázi (20 dní stará kultura). U 28 dní staré kultury byla vyhodnocena hustota buněk a obsah taxolu. Přidání lanthanu 12. a 16. den (střední a pozdní exponencionální fáze růstu) zvýšilo intracelulární produkcí taxolu celkový objemový výtěžek taxolu. Časnější přidání lanthanité soli průkazně omezilo růst kultury, ale zvýšilo uvolnění taxolu do média, způsobeného lýzou buněčných stěn. Nejvyšší celkový výtěžek taxolu byl zjištěn u 28 dní staré kultury, 3,8x vyšší oproti kontrole, intracelulární produkce se zvýšila 4,lx oproti kontrole. Kultura ošetřená 5,8 mM dusičnanem lanthanitým během střední exponencionální fáze růstu vykazuje rapidní vzrůst hladiny lanthanu. Biologická funkce lanthanu jako elicitoru spočívá v blokaci vápníkového kanálu v buněčné membráně. Lanthanitý ion inhibuje vtok vápenatých iontů do buňky.

Odpovědi rostliny na jiné elicitory uvádí GELLI, A., BLUMWALD, E., 1997. Jestliže ion lanthanu ovlivňuje hladinu vápenatých iontů v buňce, ovlivňuje tak signální transdukční dráhu v rostlině, v níž vápenaté ionty hrají ústřední roli - takto je zřejmě inhibována odpověď rostlinou na jiné elicitory, na čemž se shodli NISHI, A., 1994, EBEL, J., MITHOFER, A., 1998, NÜRNBERGER, T., 1999.

c) Organická činidla

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 elicitaci testovaných kultur pěstovaných *in vitro* nebo *in vivo*.

Jeden experiment se zabýval využitím kyseliny linolové, chemické stránce cis, cis-9,12-oktadekadienová kyselina, která patří do skupiny vyšších mastných kyselin. Tuto kyselinu použili BOSTOCK, R. M., KUC, J. A., LAINE, R. A., 1981 jako potenciální elicitor z toho důvodu, že vyvolává akumulaci fytoalexinů (isoflavonoidů) v listech *Phaseolus vulgaris,* podobné těm, které byly dosaženy po elicitaci avirulentním kmenem *Pseudomonas syringae* pvo *phaseolica.* Maximální množství akumulovaných fytoalexinů se projevilo jako odpověď na 1,6 mM koncentraci arachidonové a linolové kyseliny. Všechny polynasycené 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 zjistěny v houbových extraktech patogenu *Phytophtora infestans.*

Při porovnávání dosažených hodnot v závislosti na koncentraci elicitoru byl nejvyšší obsah flavonoidů zaznamenán v kultuře vystavené kyselině 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, R., REICHLING, J., 1989).

Při hodnocení produkce flavonoidů v čase během elicitace kyselinou linolovou, vysledovali TŮMOVÁ, L., DUŠEK, J., 2000, že u většiny pokusných koncentrací je obsah flavonoidů nejvyšší 24 hod po aplikaci elicitoru a poté klesá (u konc. 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.

CONCONI, A., et al., 1996 prokázali, že množství kyseliny linolové a linolenové v rostlinách rajčete *(Lycopersicum esculentum)* vzrůstalo během 1 – 2 hodin, když byly listy mechanicky poraněny. Vzrůst koreloval s časným průběhem akumulace kyseliny jasmínové. Tento krátký časový úsek je vysvětlován tím, že vyšší mastné kyseliny jsou potenciálními toxickými látkami pro membrány, a je možné, že může docházet i k aktivaci mechanismu, který způsobuje rychlou redukci hladin těchto metabolitů. Samotný methyl jasmonát aktivoval expresi fenylpropanových genů a akumulaci furanokumarinových fytoalexinů v buňkách petržele *(Petroselinum crispum*) potvrdili ELLARD-IVEY, M., DOUGLAS, C. J., 1996.

V případě IGNATOV, A., et al., 1996 elicitací DHBP (dihydrobenzophenanthridine oxidáza) v buněčných kulturách *Sanguinaria canadensis* zjistili, že methyl jasmonát a acetylsalicylová kyselina jsou lepšími aktivátory dihydrobenzophenanthridine oxidázy než jasmonová kyselina a tudíž mohou hrát úlohu u *Sanguinaria canadensis* při obraně proti patogenům.

Podobně i FITS, L., MEMELINK, J., 2000 zaznamenali hromadění terpenoid-indol-alkaloidů v C*atharanthus roseus* indukovaných stresovým hormonem jasmonátem.

Také v dalším experimentu TŮMOVÁ L., BARTÁKOVÁ M., ZABLOUDILOVÁ J., 2003 testovaly vliv kyseliny jodoctové ve 4 různých koncentracích na produkci flavonoidů v kalusové a suspenzní kultuře *Ononis arvensis L*. Elicitor byl v kontaktu s kulturou po dobu 6; 24; 48; 72 a 168 hodin. Z dosažených výsledků vyplývá statisticky významný nárůst obsahu flavonoidů v suspenzní kultuře oproti kontrole při použití všech testovaných koncentrací elicitoru, a to po 6; 24; 48 a 72 hodinové elicitaci. Maximální zvýšení produkce flavonoidů v suspenzní kultuře nastalo při použití kyseliny jodoctové v koncentraci 1 mg/l, a to o 586 %. U kalusové kultury došlo k maximálnímu zvýšení tvorby flavonoidů při použití kyseliny jodoctové v koncentraci 10 mg/1 a po 24 hodinách elicitace, obsah flavonoidů byl zvýšen o 529 % oproti kontrole.

V kalusové kultuře *Silybum marianum* byl testován vliv abiotického elicitoru (5-brom-2-hydroxyfenyl) amid 5 terc. butyl-6-chlorpyrazin-2-karboxylové kyseliny

na produkci flavonolignanů. Hlavními obsahovými látkami *Silybum marianum* je skupina flavonolignanů komplexně nazývaná jako silymarin. Extrakty z tého rostliny se používají zejména k léčbě jaterních onemocnění, droga se používá jako chologogum, choleretikum, při žloutence, posthepatickém syndromu, akutních a chronických zánětech jater. Kalusová kultura byla kultivována na mediu Murashigeho a Skooga s obsahem α-NAA 10 mg/l jako růstového regulátoru.. Ke kalusovým kulturám byl přidán 1 ml elicitoru ve 4 různých koncentracích (c_1 – 100 mg/l; $2{,}59.10^{-4}$ mol/l); (c_2 – 10 mg/l; $2{,}59.10^{-5}$ mol/l); (c_3 – 1,0 mg/l; $2{,}59.10^{-6}$ mol/l); (c_4 – 0,1 mg/l; $2{,}59.10^{-7}$ mol/l). Elicitace probíhala 12, 24, 48, 72 a 168 hodin. Po uplynutí této doby byly kultury odebrány a usušeny za laboratorní teploty. Kontrolní vzorky byly odebrány po 24 a 168 hodin. Největší obsah flavonolignanů v kalusové kultuře byl zjištěn po 24 hodinách po aplikaci elicitoru s označením koncentraci c_1 ($2{,}59.10^{-4}$ mol/l), nárůst v obsahu činil 1039 %. Statisticky významná produkce byla zaznamenána po 12 a 24 hodinové elicitaci při použití elicitoru v koncentraci c_1,c_2 a c_3. Dále u koncentrace c_2, c_3, c_4 po 48 hodinové elicitaci, u koncentrace c_4 též po 72 hodinové elicitaci. (TŮMOVÁ, L., et al., 2005).

VLAŠÍNOVÁ H. et al., 2006 studovali reakce embryogenních kultur klanopraška čínské (*Schizandra chinensis*) na změny somatických embryí indukovaných stresovým působením kyseliny abscisové a polyetylenglykolu. Studovali také obsah lignanů pod vlivem světla s lignany produkovanými ve tmě. Následně bylo zjištěno, že obě uvedené látky i kultivace na světle vedly ke zvýšení produkce lignanů. Lignany slouží rostlině k zajištění obrany vůči široké škále biotických i abiotických stresů. Tyto obranné reakce jsou spojeny i s kumulací polyamidů. Byly zjištěny rozdíly v produkci jednotlivých lignanů v závislosti na koncentraci i typu polyamidů. Hladina lignanů rostla pod vlivem kyseliny abscisové a polyetylenglykolu, zvláště se výrazně projevil vliv světla na produkci hlavních lignanů, především deoxyschizandrinu. Polyamidy v koncentraci od 300 – 500 μM zvyšovaly hladinu lignanů v kultuře a kultura na ně reagovala hnědnutím pletiv. Hnědnoucí pletiva vykazovala zvláště vysoké hladiny lignanů, což koresponduje s tím, že jak polyaminy, tak i lignany hrají roli v obranné reakci rostliny.

Účinky derivátů pyrazin-2-karboxylových kyselin byly sledovány také u kultury *Ononis arvensis* L. *in vitro*. Exogenně aplikovaná 4-hydroxyanilid 6-chlor-5-terc. butylpyzin-2-karboxylová kyselina (c_1= 0,1 mg/l) zvýšila produkci flavonoidů v této

kultuře o 976 % oproti kontrole po 48 hodinové elicitaci. Statisticky významný nárůst tvorby flavonoidů byl pozorován i po 12, 24, a 168 hodinové elicitaci (TŮMOVÁ, L., OSTROŽLÍK, P., 2002a).

3.6.4. Biotické elicitory

Biotické faktory jsou vlastně živé organismy, které obývají určité životní prostředí a vstupují do různých vztahů s ostatními organizmy a prostředím. Ovlivňují se v rámci jednoho druhu i mezidruhově a svými životními aktivitami mění i neživé prostředí, které osidlují. Jsou-li účinky určitých organizmů na jiné organizmy negativní, pak hovoříme 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, F., 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. K uvedení příkladu biotických elicitací uvádím části z některých vědeckých prací a výzkumů, které se touto problematikou zabývají.

MARINELI, F., RONCHI, V. N., SALVADOR, P., 1994 sledovali ve své práci produkci fytoalexinů v kultuře *Daucus carota* po elicitaci buněčnou frakcí *Phytophtora megasperma.* Zaměřili se také na vliv tohoto elicitoru na aktivitu klíčových enzymů pro syntézu flavonoidů. Z výsledků je zřejmé, že množství fytoalexinů i aktivita enzymů byla nejvyšší po 50 hodinách elicitace.

KAŠPAROVÁ, M., SIATKA, T., 1999 sledovali vliv biotického elicitoru *Pseudomonas aeruginosa* ve formě homogenátu a vodní suspenze mrtvých buněk na produkci anthracenových derivátů tkáňovou kulturou *Rheum palmatum* L. různého stáří a původu. Kultura byla kultivována na médiu podle Murashigeho a Skooga s přídavkem 10 $mg.1^{-1}$ kyseliny α-naftyloctové. Maximální obsah anthracenových derivátů, zjištěný fotometrickým stanovením podle ČSL 4, byl prokázán u osmileté kultury (1,027 %) po 6 hodinové elicitaci vodní suspenzí mrtvých buněk *Pseudomonas aeruginosa* (1,7 mg sušiny/1 ml roztoku). Kultura nově odvozená z kořene intaktní rostliny *Rheum palmatum* L. reagovala na elicitaci citlivěji než kultura odvozená ze semene, obsah anthracenových derivátů byl však nižší než u osmileté kultury.

Další průkazné výsledky využití fungální elicitace tentokráte s *Penicillium* sp., pro zvýšení tvorby a sekreci alkaloidů catharanthinu a ajmalicinu v *Cathanranthus*

roseus (respektive ve dvou poddruzích a to *Catharanthus roseus* cvs. Little Linda and Little Delicata), získali SIM, S., et al., 1994. V kombinaci s adsorpcí *in-situ* prokázali, že došlo k zvýšení obsahu catharanthinu a ajmalicinu až o 20 a 70 % a adsorpce *in-situ* s následnou fungální elicitací měla synergický účinek na produkci a sekreci indol alkaloidů.

Využití fungálního elicitoru využila BALAŽOVÁ, A., et al., 2002 u máku setého *Papaver somniferum* L., který je stále zdrojem morfinových alkaloidů, jejichž tvorba se váže na intaktní rostlinu. *In vitro* kultury máku morfiny netvoří, jejich hlavním alkaloidem je sanguinarín. Elicitace suspenzních kultur máku fungálním elicitorem vedla k devítinásobnému zvýšení obsahu sangunarínu v nich. Elicitací se zvýšila i specifická aktivita polyfenoloxidázy (PPO), která byla třikrát vyšší v elicitovaných než v neelicitovaných suspenzních kulturách. Nativní elektroforézou se v suspenzních kulturách máku identifikovali dvě izoformy PPO (Mr 63 kDa, 41 kDa), přičemž elicitace neměla vliv na jejich počet. Jednostupňovou afinitní purifikací PPO na sloupci Phenyl-Sepharose CL-4B se specifická aktivita enzymu zvýšila 14-krát.

LI, G. J., WANG, S. C., XIA, K., 2003 prokázali, že kvasinkový homogenát se současným užitím kyseliny salicylové způsobuje růst hladiny kyseliny abscisové a pokles obsahu giberelinů a auxinů v buněčné kultuře *Salvia miltiorrhiza*.

Zvýšená produkce sekundárních metabolitů po delší než 7 denní elicitaci buněčnými stěnami kvasinek byla zaznamenána u cibulek *Hippeastrum hortorum* (hvězdníku zahradního). Po aplikaci elicitoru se tvorba červeného pigmentu zvyšovala a dosáhla maxima po 9 – 12 dnech elicitace (WINK, M., LEHMANN, P., 1996).

Podobných výsledků dosáhli BOHLMANN, J., EILERT, U., 1995 u buněčné kultury *Ruta graveolens* (routy vonné), u které byl sledován vliv elicitoru *Rhodotorula rubra* na indukci biosynthesy furanokumarinů. Bylo zjištěno, že s délkou elicitace se snižuje indukce biosyntetických enzymů, a tím i produkce furanokumarinů.

KAŠPAROVÁ, M., SIATKA, T., 2001 sledovali vliv 6, 12, 24, 48, 72 a 168 hodinového působení čtyř koncentrací biotického elicitoru chitosanu na produkci anthracenových derivátů kalusovou a suspenzní kulturou *Rheum palmatum* L. Kultura byla kultivována na médiu podle Murashigeho a Skooga s přídavkem 10 $mg.l^{-1}$ kyseliny α-naftyloctové. Pozitivní ovlivnění produkce vyvolala zejména elicitace suspenzní kultury. Maximální obsah anthracenových derivátů (1,181 %), zjištěný fotometrickým stanovením podle ČSL 4, byl prokázán po 24 hodinovém působení roztoku chitosanu o koncentraci 1 mg/30 ml média. Na rozdíl od suspenzní kultury

prokázali, že byla produkce anthracenových derivátů v kalusové kultuře ovlivněna elicitací jen minimálně.

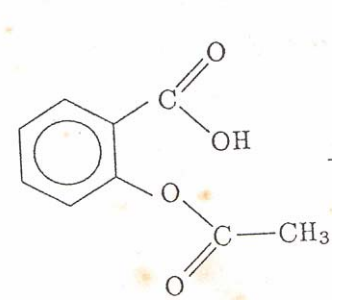
3.6.5. Kyselina acetylsalicylová – jako elicitor

Podle historických záznamů už Hippocrates předepisoval svým pacientům kůru a listy z vrby (*Salix*) ke zmírnění bolesti a horečky. Účinek byl připisován příbuzné látce-salicinu, na který je vrba bohatá.

Základní informace o acetylsalicylové kyselině (ASA), která byla u této práce využita k foliární aplikaci za účelem ověření účinku stimulátoru rostlinné imunity ve formě vodného roztoku podle zadání v předepsaných 3 různých koncentracích.

Jedná se o 2–acetoxybenzoovou kyselinu ($C_9H_8O_4$, $M_r = 180,160$)

Obrázek č. 3: Schématický vzorec kyseliny acetylsalicylové.



První syntéza ASA byla uskutečněna v roce 1879 a přestože od jejího prvního léčebného použití uplynulo více jak 100 let, je i nadále tato látka předmětem zájmu medicinální praxe a výzkumu. Stabilní formu ASA syntetizoval německý chemik Felix Hoffmann u Bayerů v Leverkusenu. Později byla účinná látka nazvána aspirinem spojením "a" jako zkratky acetyl, dále částice "spir" ze slova spirea, tj. jména rostliny, která byla zdrojem salicinu a nový název léku dostal koncovku "in", po léta pro medikamenty oblíbenou. Acetylsalicylová kyselina se neužívá pouze pro zmírnění bolesti či horečky, ale také jako prevence tvorby krevních sraženin - prevence ucpání tepen, tj. tedy i proti vzniku infarktu myokardu (snížení agregability destiček) nebo mozkové mrtvice (KUŽEL, S., et al., 2004).

V posledních letech se rozšiřuje používání kyseliny acetylsalicylové jako elicitoru na hospodářské plodiny. Například BERGMANN, H., LEINHOS, V., MACHELETT,

B., 1994 experimentálně ověřovali aplikaci ASA ve vodném roztoku (0,2-2 mg/rostlina nebo 1 - 2 kg/ha) na rostliny (ječmen, brambory, cukrovky), kdy se významně zvýšil výnos a efektivita využití vody (například v ječmenu až o 20 % a v cukrovce o 10 %). Účinek aplikace ASA byl porovnatelný s šesti ošetřeními fytohormonem kyselinou abscisovou (ABA). V nestresových podmínkách se ASA chovala jako antitranspirant a zvyšovala osmotický tlak (n). Nicméně po následujícím suchém období byla v ošetřených rostlinách zvýšená hodnota (n) menší než v neošetřených (50%).

Účinek acetylsalicylové kyseliny, tentokráte na sekundární metabolismus suspenzní kultury *Catharanthus roseus*, zjišťovali také (GODOY-HERNÁNDEZ, G., LOYOLA-VARGAS, V. M., 1997), kdy přídavkem různých koncentrací (0,5 - 20 mM) acetylsalicylové kyseliny do zmíněné kultury zjistili zvýšení celkových alkaloidů o 505 %, 1587 % fenolických látek, 612 % furanokumarinu a 1476 % anthokyaninu. Dosaženými výsledky naznačili, že acetylsalicylová kyselina může působit jako nový elicitor na tvorbu metabolitů v buněčné kultuře *Catharanthus roseus*.

GROENEWALD, E. G., VAN DER WESTHUIZEN, A. J., 1998 však v dalším experimentem zjistili, že kyselina acetylsalicylová, která byla aplikována na kotyledony krátkodenních rostlin *Pharbitis nil* (před 16-h temnostní fází), inhibuje kvetení až z 90% - je převedena na kyselinu salicylovou a v menším rozsahu na 2,5 dihydroxybenzoovou kyselinu v kotyledonech během l6-h temnostní fáze. Výsledky pak potvrzují, že kyseliny salicylová a 2,5 dihydroxybenzoová jsou odpovědné za inhibici kvetení a také inhibují biosyntézu prostaglandinů.

Pro tuto práci byla použita k experimentálnímu ověření laboratorně připravená čistá kyselina acetylsalicylová rozpuštěná ve vodném roztoku ve stanovených koncentracích označovaných jako dávka nízká, střední a vysoká.

4. METODIKA – VLASTNÍ POKUS

Podle zadání práce byl ověřován účinek foliární aplikace kyseliny acetylsalicylové na stimulátory rostlinné imunity ve smyslu zvýšení obsahu účinných látek v léčivé rostlině *Echinacea purpurea*. K tomuto úkolu jsem zajistil v letech 2002 až 2004 maloparcelkový experiment se třemi různými koncentracemi acetylsalicylové kyseliny a kontrolou vždy minimálně ve čtyřech opakováních. Ze získaných vzorků takto pěstovaných rostlin rodu *Echinacea* byly provedeny analýzy obsahu vybraných účinných látek (kyseliny kávové, kaftarové, cichorové a chlorogenové) metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie HPLC (high-performance liquid chromatography) a provedeno vlastní vyhodnocení dosažených výsledků.

4.1. Pěstování rostlin a aplikace elicitoru

Foto č. 4

Maloparcelkový experiment byl zajištěn na pěstební ploše v k.ú. Protivín, okres Písek. Lokalita se nachází v nadmořské výšce 378 m.n.m.. Na přesně rozměřeném pokusném pozemku byly počátkem měsíce dubna roku 2002 založeny pokusné parcely s rostlinami *Echinacea purpurea* (foto č. 4) celkem o rozloze 64 m^2. V pokuse byly založeny vždy 4 parcely (tři pokusné a jedna kontrolní), každá o výměře 4 m^2 ve čtyřech opakováních. Pro výsadbu byla přepěstována sadba v sadbovačích (foto č. 5). Výsev semen do sadbovačů byl proveden dne 22. března 2002. Sadbovače byly umístěny do foliovníku k urychlení vzcházení semen. Výsadba balíčkované sadby byla provedena 28. dubna téhož roku do přesného sponu 25 x 25 cm při hustotě 16 rostlin/m^2. Tato hustota porostu se osvědčila. Po vytvoření listové růžice došlo k významnému zastínění půdy a tím došlo k potlačení v další etapě růstu plevelných rostlin. (foto č. 6).

Foto č. 5

Foto č. 6

V průběhu vegetace byly odebrány půdní vzorky ke stanovení půdní charakteristiky na pokusném pozemku. U odebraných vzorků půdy bylo stanoveno:

- Výměnná půdní reakce ve výluhu 1 M KCl pH_{KCl} 6,8 což je půda neutrální (HORÁČEK, J., LEDVINA, R., KOUBALÍKOVÁ, J., 1994).
- Obsah celkového uhlíku C_{ox} = 3,4 % což je obsah vysoký. Důvodem takto vysokého obsahu je zřejmě to, že se jedná o hnědou půdu kyselou hnojenou poměrně vysokými dávkami hnoje a kompostu.
- Frakcionace humusových látek (LEDVINA, R., et al. 1988). Byly stanoveny humusové látky (HL = 16,1 mg/g), fulvokyseliny (FK = 8,9 mg/g) a huminové kyseliny (HK = 7,9 mg/g). Poměr HK:FK je 0,97
- Stanovení obsahu minerálních forem dusíku pomocí iontově selektivních elektrod. Množství dusičnanového ($N\text{-}NO_3$ = 3,2 mg/kg) a amonného dusíku ($N\text{-}NH_4$ = 1,2 mg/kg) s následným stanovením a výpočtem minerálního (N_{min} = 4,4 mg/kg) a mineralizovatelného dusíku (N_{miner} = 7,9 mg/kg).
- Stanovení obsahu základních živin v půdě tabulka č.1.

Tabulka č. 1: Obsah základních živin v půdě

Průměrný obsah živin v půdě				
N	P mg/kg	K mg/kg	Mg mg/kg	Ca mg/kg
0,22 %	627	189	328	5197

Z uvedeného vyplývá, že půda je poměrně velmi dobře zásobena živinami i bez anorganického hnojení. Po celou dobu pokusu nebylo prováděno žádné přihnojování. Z agrotechnických opatření se provádělo pouze mechanické okopávání, pletí a zálivka. Vlastní ošetřování porostů elicitorem ASA bylo provedeno zádovým postřikovačem typu Gardena (foto č. 7).

Foto č. 7

Foliární aplikace elicitoru byla provedena podle metodiky ve třech různých dávkách nízké, střední a vysoké ve čtrnáctidenních intervalech. První aplikace proběhla 9.6.2002, tedy v období těsně před květem, v množství vždy 1 litr/1 m^2 roztoku elicitoru o požadované koncentraci, druhé ošetření bylo provedeno dne 23.6.2002 a třetí aplikace dne 7.7.2002.

Ošetřování porostu v letech 2003 a 2004 probíhalo podle stejných zásad jako v prvním roce pěstování. Foliární aplikace elicitoru v druhém roce pěstování byla provedena podle stejné metodiky ve třech různých dávkách nízké, střední a vysoké ve čtrnáctidenních intervalech. První aplikace proběhla 2.6.2003, tedy v období těsně před květem, v množství vždy 1 litr/1 m^2 roztoku elicitoru o požadované koncentraci, druhé ošetření bylo provedeno dne 16.6.2003 a třetí aplikace dne 30.6.2003. Ve druhém roce pěstování byla provedena i čtvrtá aplikace dne 14.7. 2003.

Aplikace elicitoru postřikem na list ve třetím roce pěstování byla opět provedena ve třech různých dávkách nízké, střední a vysoké ve čtrnáctidenních intervalech. První aplikace proběhla 11.6.2004, tedy v období těsně před květem, v množství 1 litr/1 m^2 roztoku elicitoru o požadované koncentraci, druhé ošetření bylo provedeno dne 25.6.2004 a třetí aplikace dne 8.7.2004. čtvrtá aplikace elicitoru byla realizována dne 22.7.2004. Po celou dobu pěstování byly plevele v porost *Echinacey* ručně likvidovány.

Průběh počasí v letech 2002 - 2004 v regionu je charakterizován v přílohách č. 46, 47, 48 převzatých od ČHMÚ z meteorologické stanice v Českých Budějovicích.

4.2. Sklizeň rostlin a příprava extraktu

Dne 6. srpna 2002 proběhla sklizeň vzorků celých rostlin(nadzemní části a kořenů) odděleně z každé parcelky vždy 4 rostliny z plochy 0,25 m^2. Rostliny byly vyjmuty, výškově změřeny, zváženy, byly spočítány odnože, počty květů a listů (příloha č. 5). Tyto hodnoty pak posloužily ke stanovení výnosu rostlin, se kterým bylo následně kalkulováno v kapitole ekonomické zhodnocení pěstování této léčivky. Kořeny byly pečlivě omyty vodou a následně zbaveny vody. Sušení natě a kořenů proběhlo při teplotě do 40 °C v sušárně. Po zvážení hmotnosti sušiny byly odebrané vzorky kořenů a nadzemních částí rostlin podle jednotlivých partií rozšrotovány v nožovém šrotovníku (foto č. 8) a připraveny pro provedení extrakce. V roce 2003 proběhla sklizeň vzorků dne 15.8.2003 a ve třetím roce dne 22.8.2004. Vzorky se zpracovaly stejným způsobem jako v roce 2002. V přílohách č. 6 a 7 jsou uvedeny výnosy jednotlivých částí rostlin v letech 2003 a 2004, které byly zjištěny stejně jako v roce 2002.

Foto č. 8

Podle VRCHOTOVÉ, N., et al., 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 experimentu byl odebrán vzorek kvartací z rozemletého vysušeného kořenového a nadzemního pokusného materiálu k rozboru o hmotnosti 2 g. Vzorek byl promísen s 20 ml 96 % ethanolu a ponechán extrahovat při pokojové teplotě 168 hodin. Po této době byla směs doplněná 20 ml destilované vody a opět ponechána extrahovat dalších 168 hodin. Po provedené extrakci byla směs 2x zfiltrována a připravena k následnému rozboru metodou HPLC (high-performance liquid chromatography).

4.3. Analýza vzorků

Extrakty rostlinných vzorků byly analyzovány pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (foto č. 9). Vzor chromatogramu třapatky nachové je znázorněn v příloze č. 4. Jako mobilní fáze byla užita směs acetonitrilu a vody s přídavkem kyseliny trifluoroctové (TFA). Mobilní fáze A: 5 % acetonitril + 0,15 % TFA; mobilní fáze B: 80 % acetonitril + 0,15 % TFA. Gradient: 0 % B – 50 % B, 50 min. Průtok mobilní fáze byl 0,250 ml/min. Detekce probíhala v rozmezí 190-600 nm, záznam a vyhodnocení bylo provedeno při $\lambda = 330$ nm. Data byla analyzována softwarem HP Chem Station (Hewlet Packard). Standardy byly připraveny v 50% methanolu. Množství kyseliny cichorové bylo počítáno podle kalibrační křivky pro kyselinu kaftarovou (ŠPIČKA, J., et al., 2003).

Foto č. 9

5. VYHODNOCENÍ

Z usušených vzorků byly provedeny rozbory metodou HPLC. V kořenu i nadzemní části byly sledovány tyto čtyři látky: kyseliny kaftarová, kyselina cichorová, kyselina chlorogenová a kyselina kávová. Obsah jednotlivých sledovaných látek je uveden v tabulkách v příloze č. 8 – 31. Dosažené výsledky jsou procenticky vyjádřeny graficky. Grafy č. 1, 2, 3, 8, 9, 10 vyjadřují vliv jednotlivých koncentrací elicitoru na obsah sledovaných látek v kořenu a v nadzemní části v jednotlivých letech. Grafy 4, 5, 6, 7, 11, 12, 13, 14 zachycují vliv jednotlivých koncentrací elicitoru na obsah sledovaných látek v kořenu a nadzemní hmotě v porovnání let 2002 – 2004. Zpracoval jsem grafy vlivu jednotlivých koncentrací elicitoru na výnos jednotlivých částí rostliny v jednotlivých letech (grafy č. 15, 16, 17). Tabulky k těmto grafům jsou uvedeny v příloze č. 32, 33, 34.

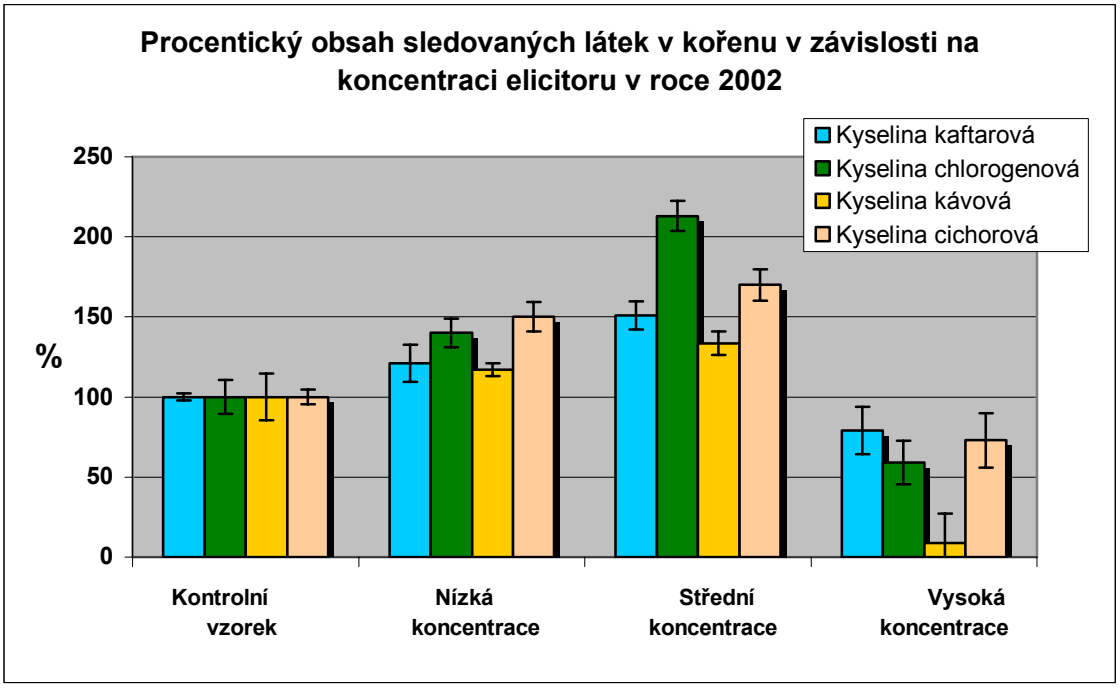
Výsledky obsahu jednotlivých sledovaných látek byly statisticky zpracovány pomocí programů Microsoft Excel a STATISTICA 6.0 a vyhodnoceny (zpracování výsledků v programu STATISTICA 6.0. je uvedeno v příloze č. 35 - 42).

Dále byly statisticky vyhodnoceny výsledky výnosů jednotlivých částí nadzemní hmoty a kořenů v jednotlivých letech také pomocí programu Microsoft Excel a STATISTICA 6.0 (příloha č. 43, 44, 45).

Vliv jednotlivých koncentrací elicitoru na obsah sledovaných látek v kořenu v jednotlivých letech

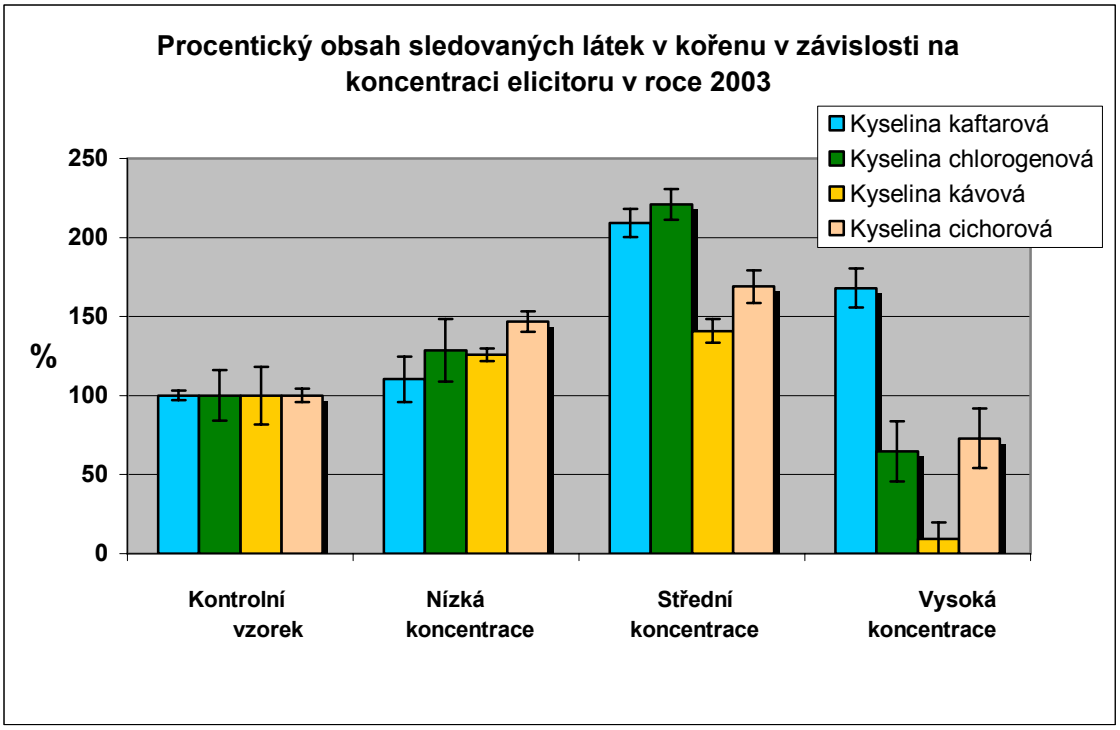
V roce 2002 došlo po aplikaci elicitoru ASA v nízké koncentraci k nárůstu obsahu všech sledovaných účinných látek. Nejvíce došlo ke zvýšení obsahu oproti kontrolnímu vzorku u kyseliny cichorové o 50 %, kyseliny chlorogenové o 40 %, kyseliny kaftarové o 21 % a nejméně u kyseliny kávové o 17 %. Po aplikaci elicitoru ASA ve střední koncentraci došlo opět ke zvýšení obsahu všech sledovaných látek. U kyseliny chlorogenové došlo ke zvýšení o 113 %, u kyseliny cichorové o 70 %, u kyseliny kaftarové o 51 %, u kyseliny kávové došlo opět k nejnižšímu nárůstu obsahu o 34 % oproti kontrolnímu vzorku. Po aplikaci elicitoru ASA ve vysoké koncentraci došlo u všech sledovaných látek ke snížení jejich obsahu. Největšímu poklesu oproti kontrolnímu vzorku došlo u kyseliny kávové o 91 %. U kyseliny chlorogenové došlo ke snížení o 41 %, u kyseliny cichorové o 27 % a u kyseliny kaftarové o 21 % oproti kontrolnímu vzorku. V tomto roce došlo k největšímu zvýšení obsahu u kyseliny chlorogenové po aplikaci elicitoru ASA ve střední koncentraci. Tato střední koncentrace působila na zvýšení všech sledovaných látek a došlo také k jejich největšímu nárůstu.

Graf č. 1:



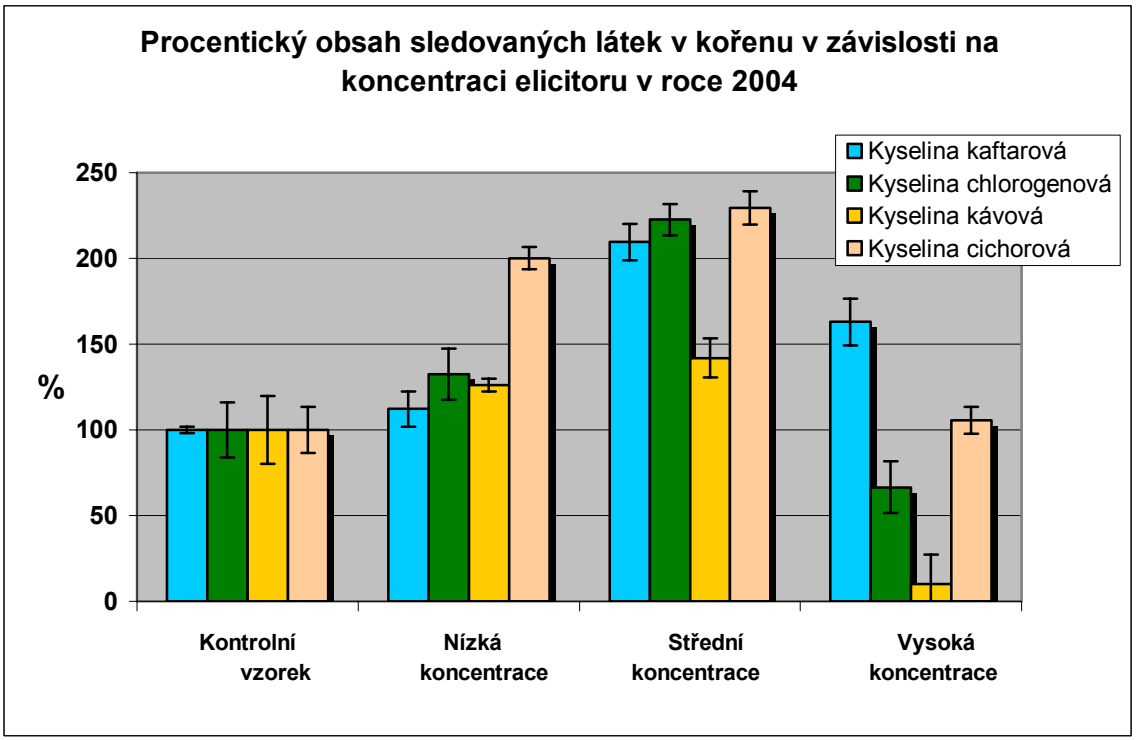
V roce 2003 se po aplikaci elicitoru ASA v nízké koncentraci zvýšil obsah všech sledovaných látek. Nejvíce u kyseliny cichorové o 47 %, u kyseliny chlorogenové o 29 % a kyseliny kávové o 26 %. Nejnižší zvýšení bylo prokázáno u kyseliny kaftarové o 10 % oproti kontrolnímu vzorku. Po aplikaci střední koncentrace elicitoru ASA došlo opět ke zvýšení obsahu všech sledovaných látek. Koncentrace kyseliny kaftarové se zvýšila o 109 %, kyseliny chlorogenové o 121 % a kyseliny cichorové o 69 %. Obsah kyseliny kávové se zvýšil nejméně, a to o 41 %. Aplikací vysoké koncentrace elicitoru ASA došlo kromě kyseliny kaftarové ke snížení obsahu všech účinných látek. Ke zvýšení u kyseliny kaftarové došlo o 68 %. Obsah ostatních kyselin se snížil, u kyseliny cichorové o 27 %, kyseliny chlorogenové o 35 % a u kyseliny kávové došlo ke snížení až o 91 % oproti kontrolnímu vzorku. V tomto roce došlo k největšímu zvýšení obsahu u kyseliny chlorogenové po aplikaci střední koncentrace elicitoru ASA. Tato střední koncentrace působila na zvýšení všech sledovaných látek a došlo také k jejich největšímu nárůstu. Naopak při aplikaci vysoké koncentrace elicitoru došlo pouze u kyseliny kaftarové ke zvýšení jejího obsahu. Obsah ostatních sledovaných látek se snížil.

Graf č. 2:



V roce 2004 po aplikaci elicitoru ASA v nízké koncentraci došlo ke zvýšení obsahu všech sledovaných látek oproti kontrolnímu vzorku. Nejvíce se zvýšil obsah kyseliny cichorové o 100 %, dále kyseliny chlorogenové o 33 %, kyseliny kávové o 26 % a nejmenší nárůst obsahu byl prokázán u kyseliny kaftarové o 12 %. Po aplikaci elicitoru ve střední koncentraci došlo opět k nárůstu obsahu všech sledovaných látek oproti kontrolnímu vzorku. K nejvýraznějšímu nárůstu koncentrace došlo u kyseliny cichorové o 130 %, poté u kyseliny chlorogenové o 123 %. Obsah kyseliny kaftarové se zvýšil o 110 % a kyseliny kávové o 42 % oproti kontrolnímu vzorku. Po aplikaci elicitoru ve vysoké koncentraci došlo u koncentrací dvou látek k jejich nárůstu a u dvou k poklesu. Obsah kyseliny kaftarové se zvýšil o 63 % a kyseliny cichorové o 6 %. K poklesu došlo u kyseliny chlorogenové o 33 % a u kyseliny kávové až o 90 % oproti kontrolnímu vzorku. V tomto roce se nejvíce zvýšila koncentrace kyseliny cichorové po aplikaci elicitoru ASA ve střední koncentraci. K nejvyššímu poklesu obsahu ze sledovaných látek došlo u kyseliny kávové po aplikaci elicitoru ve vysoké koncentraci.

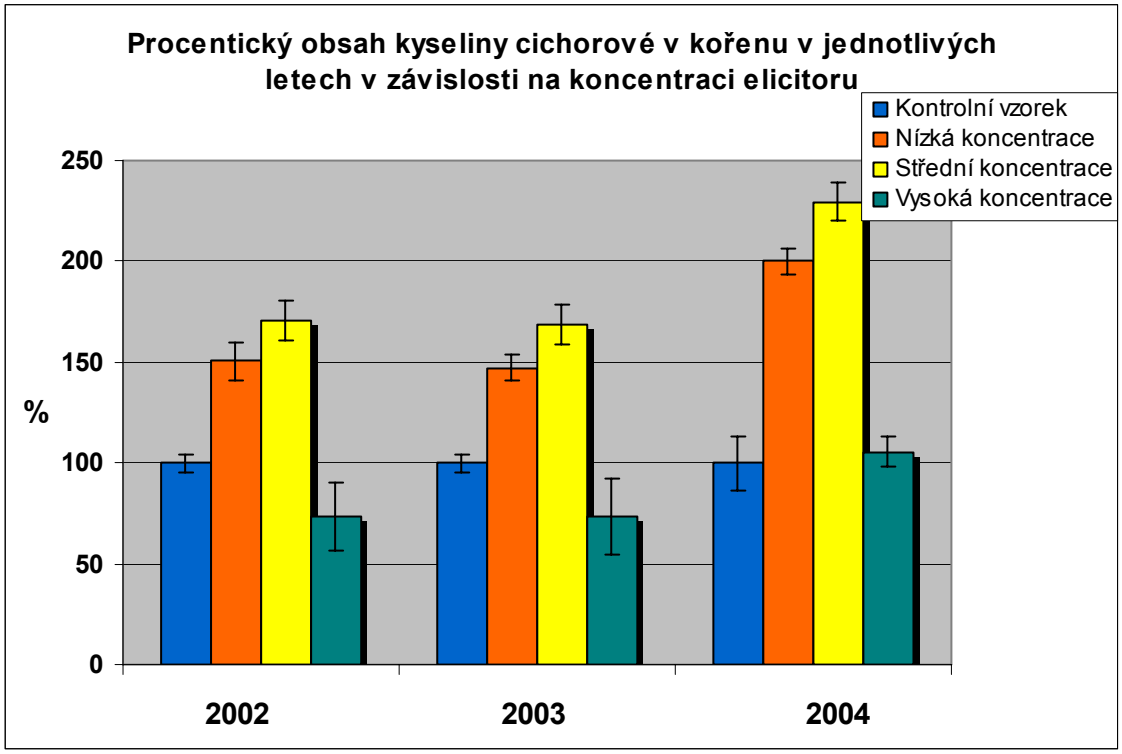
Graf č. 3:



Vliv jednotlivých koncentrací elicitoru na sledované látky v kořenu v porovnání let 2002 - 2004

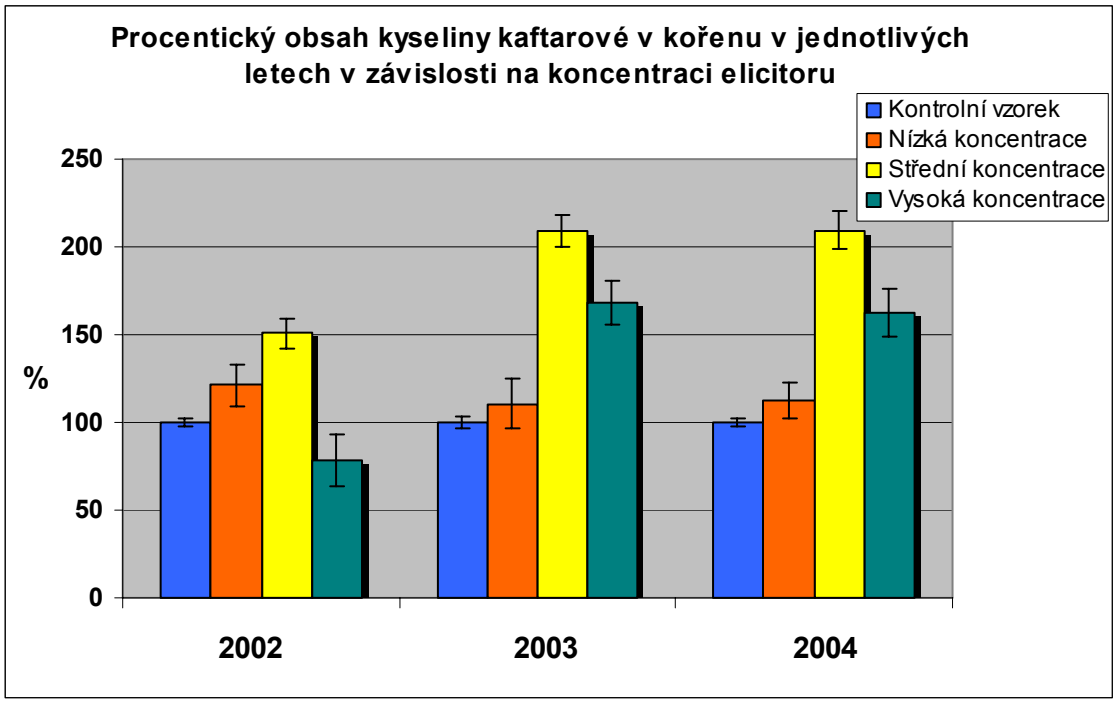
Z grafu č. 4 je zřejmé, že největší vliv na zvýšení koncentrace kyseliny cichorové v kořenu během sledovaných let měla střední koncentrace elicitoru ASA. Nízká koncentrace elicitoru působila také na zvýšení obsahu kyseliny cichorové, ale ne v takové míře jako střední koncentrace. Vysoká koncentrace elicitoru působila během všech tří let na snížení obsahu této sledované látky.

Graf č. 4



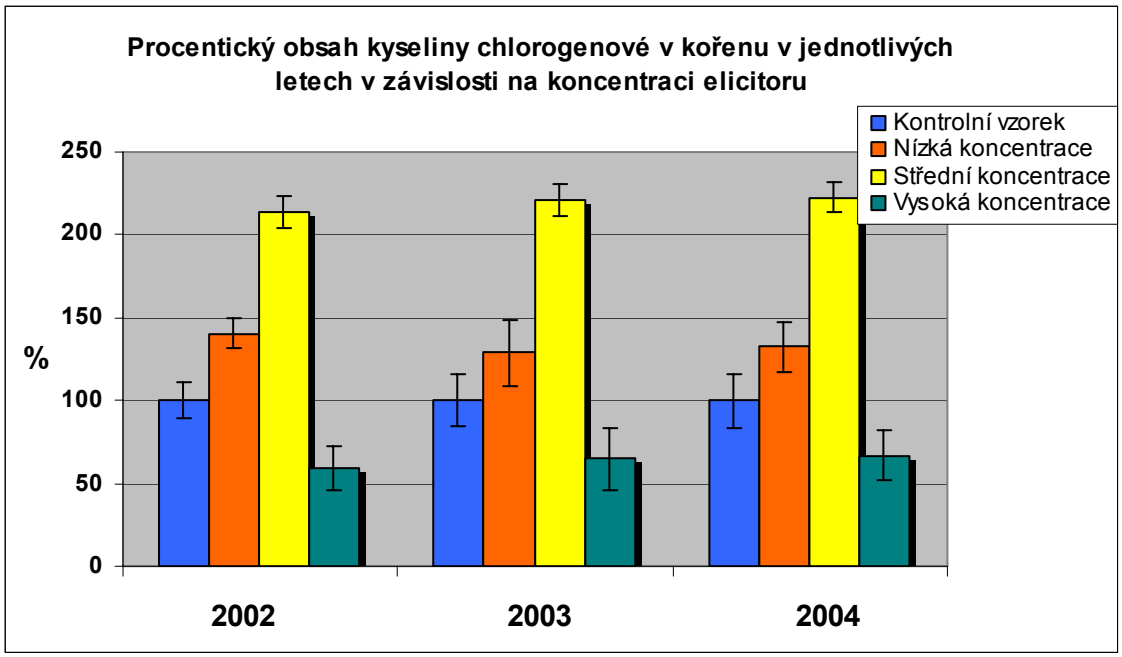
Největší vliv na zvýšení koncentrace kyseliny kaftarové v kořenu měla střední koncentrace elicitoru ASA. Také vysoká koncentrace elicitoru měla vliv na zvýšení obsahu této kyseliny, kromě roku 2002. Nízká koncentrace neměla tak velký vliv na zvýšení obsahu sledované látky.

Graf č. 5:



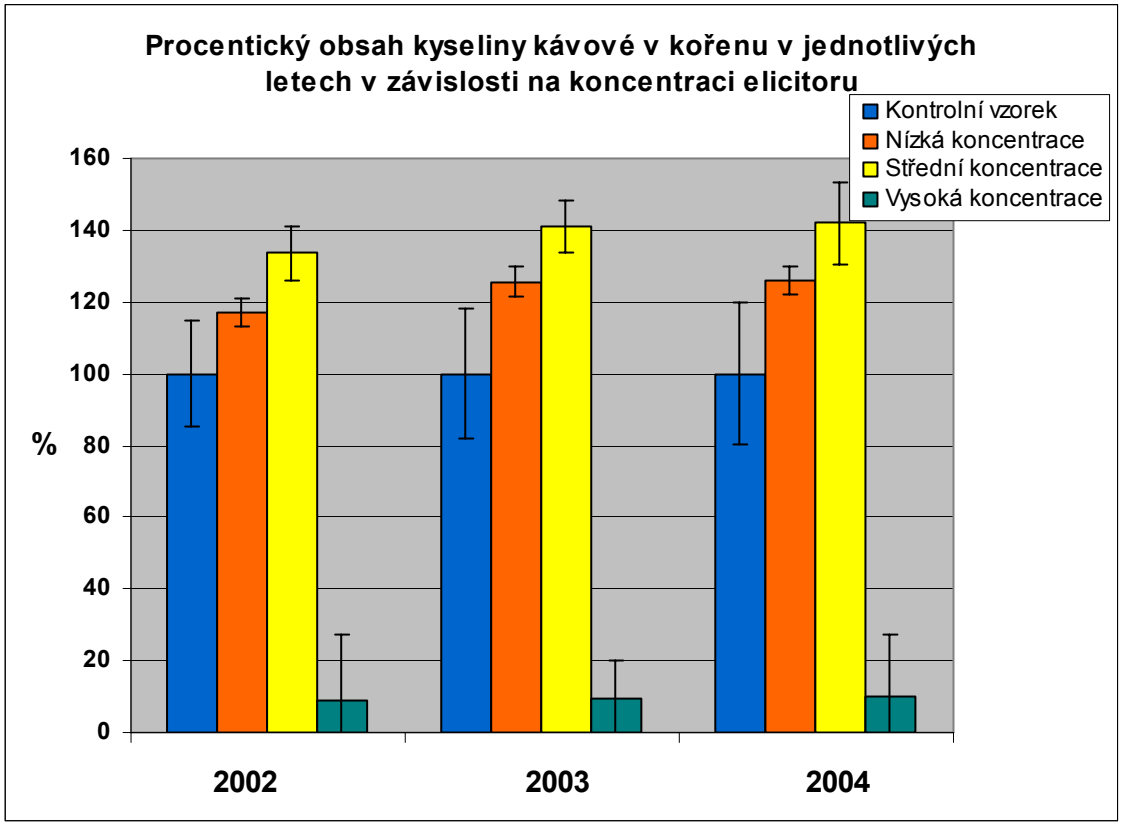
Na obsah kyseliny chlorogenové v kořenu měla největší vliv střední dávka elicitoru ASA ve všech třech sledovaných letech. Koncentrace sledované látky byla více než o 100 % vyšší oproti kontrolnímu vzorku. Nízká dávka elicitoru způsobila také zvýšení obsahu této kyseliny, ale ne tak výrazně jako dávka střední. Vysoká dávka elicitoru měla za následek snížení obsahu kyseliny chlorogenové téměř na polovinu hodnot kontrolního vzorku a to ve všech třech letech.

Graf č. 6:



Také u kyseliny kávové měla střední dávka elicitoru ASA největší vliv na obsah této sledované látky v kořenu. Koncentrace kyseliny byla vyšší téměř o 40 % než u kontrolního vzorku. Nízká koncentrace měla také za následek zvýšení obsahu kyseliny kávové, ale pouze o 20 %. Vysoká dávka elicitoru snížila obsah kyseliny kávové až na 10 % obsahu u kontrolního vzorku ve všech letech.

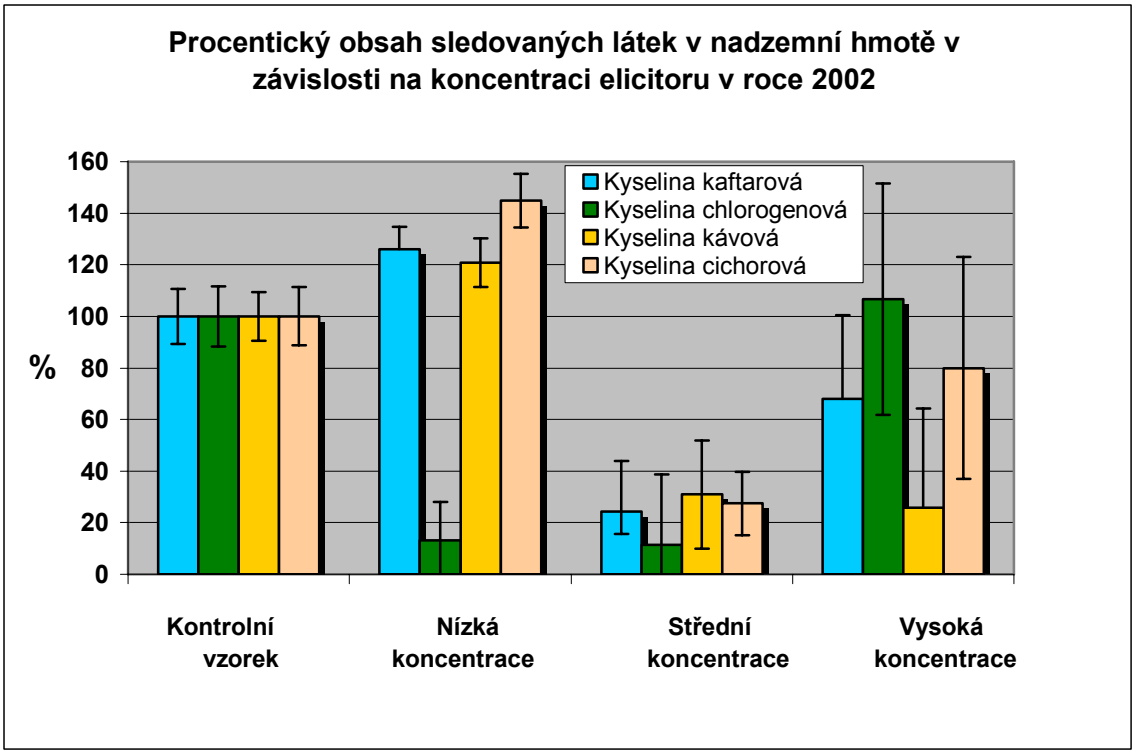
Graf č. 7:



Vliv jednotlivých koncentrací elicitoru na obsah sledovaných látek v nadzemní hmotě v jednotlivých letech

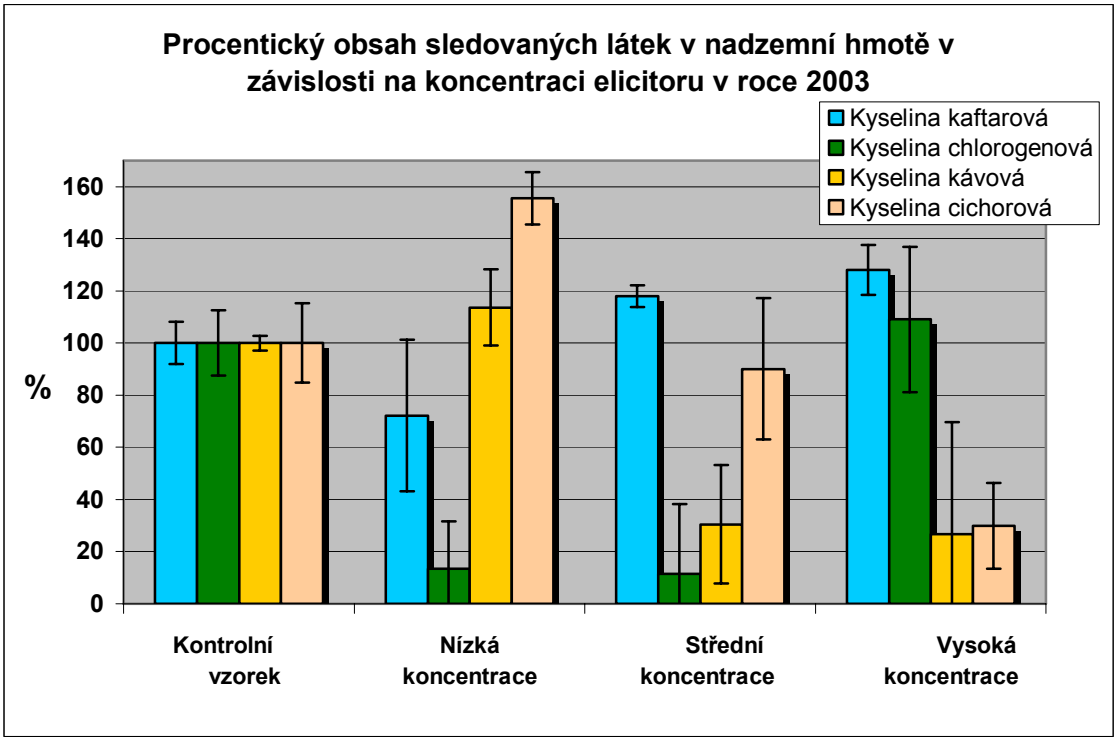
V roce 2002 došlo po aplikaci elicitoru ASA v nízké koncentraci u třech látek k jejich nárůstu a u jedné k poklesu oproti kontrolnímu vzorku. Ke zvýšení koncentrace došlo u kyseliny cichorové o 45 %, u kyseliny kaftarové o 26 % a u kyseliny kávové o 21 %. Obsah kyseliny chlorogenové se po aplikaci elicitoru snížil o 87 %. Po aplikaci elicitoru ve střední koncentraci se obsah všech sledovaných látek výrazně snížil oproti kontrolnímu vzorku. K největšímu poklesu došlo u kyseliny chlorogenové a to o 89 %, pak u kyseliny kaftarové o 76 %. Následuje kyselina cichorová, jejíž obsah se snížil o 73 %. Nejméně se snížil obsah kyseliny kávové a to o 69 %. Po aplikaci elicitoru ve vysoké koncentraci došlo ke zvýšení obsahu pouze u jedné sledované látky a to u kyseliny chlorogenové. Její obsah se zvýšil pouze o 7 %. Obsah ostatních kyselin se snížil oproti kontrolnímu vzorku. K poklesu došlo u kyseliny cichorové o 20 %, u kyseliny kaftarové o 32 % a k největšímu poklesu obsahu došlo u kyseliny kávové a to o 74 %. V tomto roce se nejvíce zvýšil obsah kyseliny cichorové po aplikaci elicitoru v nízké koncentraci.

Graf č. 8 :



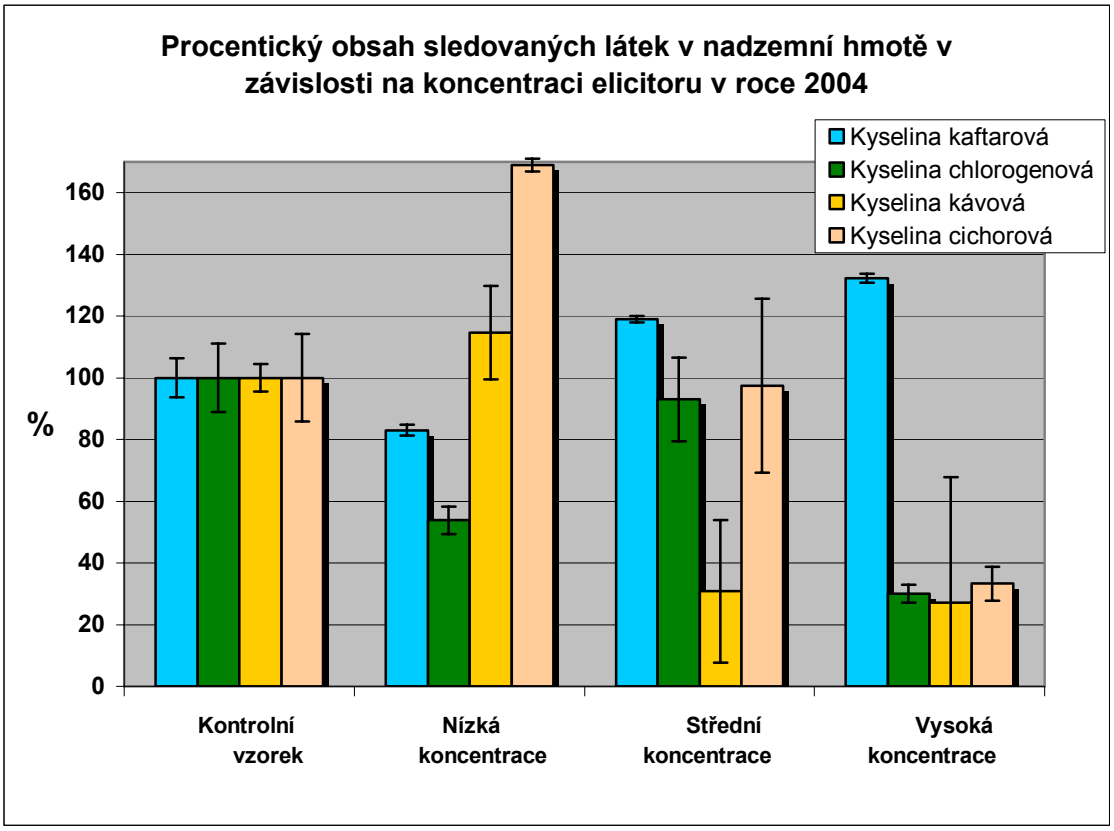
V roce 2003 došlo po aplikaci elicitoru ASA v nízké koncentrac i k nárůstu i k poklesu obsahu dvou sledovaných látek oproti kontrolnímu vzorku. Zvýšil se obsah kyseliny cichorové o 55 % a kyseliny kávové o 21 %. Látky, u kterých došlo ke snížení obsahu, byly kyselina chlorogenová a kyselina kaftarová. U kyseliny chlorogenové se obsah snížil o 87 % a u kyseliny kaftarové o 28 %. Po aplikaci elicitoru ve střední koncentraci nastalo zvýšení obsahu pouze u kyseliny kaftarové a to o 18 % oproti kontrolnímu vzorku. Obsah ostatních látek se snížil. Nejvíce se snížil obsah kyseliny chlorogenové o 89 %, pak obsah kyseliny kávové o 69 %. Nejméně se snížil obsah kyseliny cichorové a o to 10 %. Po aplikaci elicitoru ve vysoké koncentraci nastalo zvýšení obsahu kyseliny kaftarové o 28 % a kyseliny chlorogenové o 7 %. Obsah dalších sledovaných látek se snížil. Ke snížení došlo u kyseliny cichorové o 70 % a u kyseliny kávové o 74 %. V tomto roce se nejvíce zvýšil obsah kyseliny cichorové po aplikaci nízké dávky elicitoru. Naopak k největšímu poklesu obsahu sledovaných látek došlo u kyseliny chlorogenové po aplikaci elicitoru v nízké a střední koncentraci.

Graf č. 9:



V roce 2004 došlo po aplikaci elicitoru ASA v nízké koncentraci ke zvýšení obsahu kyseliny cichorové o 69 % a kyseliny kávové o 15 % oproti kontrolnímu vzorku. Obsah ostatních dvou sledovaných látek se snížil. Pokles nastal u obsahu kyseliny chlorogenové o 46 % a u kyseliny kaftarové o 17 %. Po aplikaci elicitoru ve střední koncentraci se zvýšil obsah pouze u kyseliny kaftarové o 19 % oproti kontrolnímu vzorku. Obsah ostatních třech sledovaných látek se snížil. K největšímu poklesu došlo u obsahu kyseliny kávové o 69 %, pak u kyseliny chlorogenové o 7 %. Nejméně se snížil obsah kyseliny cichorové o 3 %. Po aplikaci elicitoru ve vysoké koncentraci se zvýšil obsah pouze u kyseliny kaftarové o 32 % oproti kontrolnímu vzorku. Obsah ostatních třech látek se snížil. Obsah se snížil u kyseliny kávové o 73 %, u kyseliny chlorogenové o 70 % a pak u kyseliny cichorové o 67 %. V tomto roce se nejvíce zvýšil obsah kyseliny cichorové po aplikaci nízké koncentrace elicitoru. Naopak k největšímu poklesu došlo u obsahu kyseliny kávové po aplikaci elicitoru ve vysoké koncentraci.

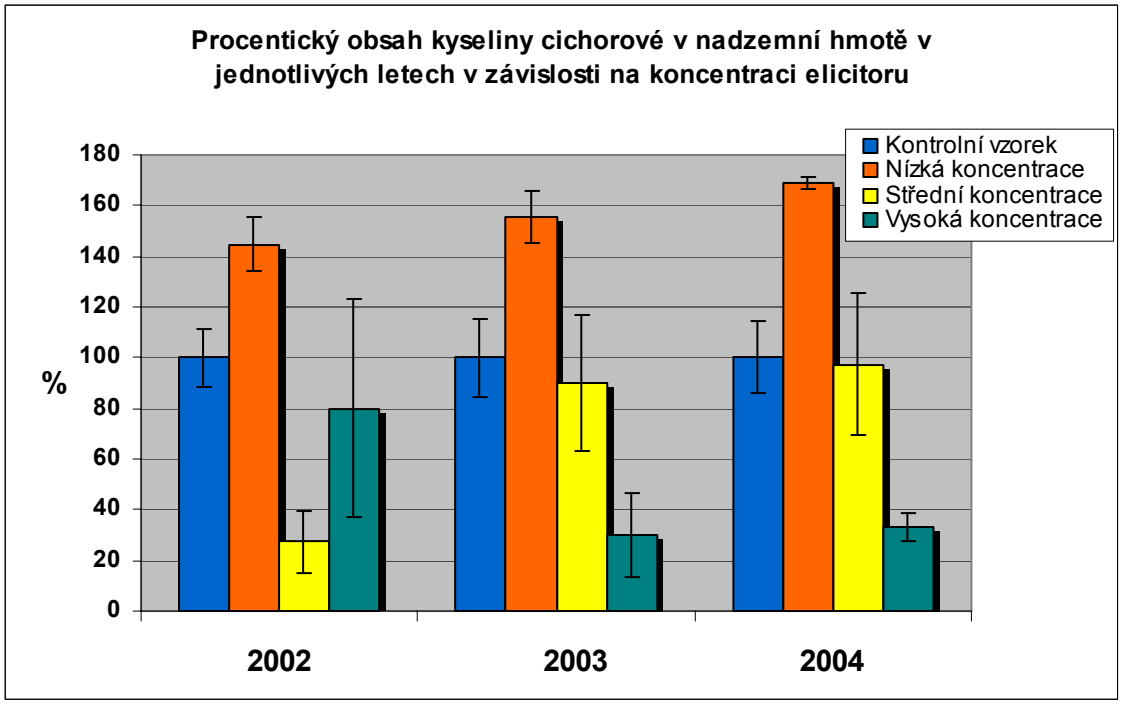
Graf č. 10:



Vliv jednotlivých koncentrací elicitoru na sledované látky v nadzemní hmotě v porovnání let 2002 – 2004.

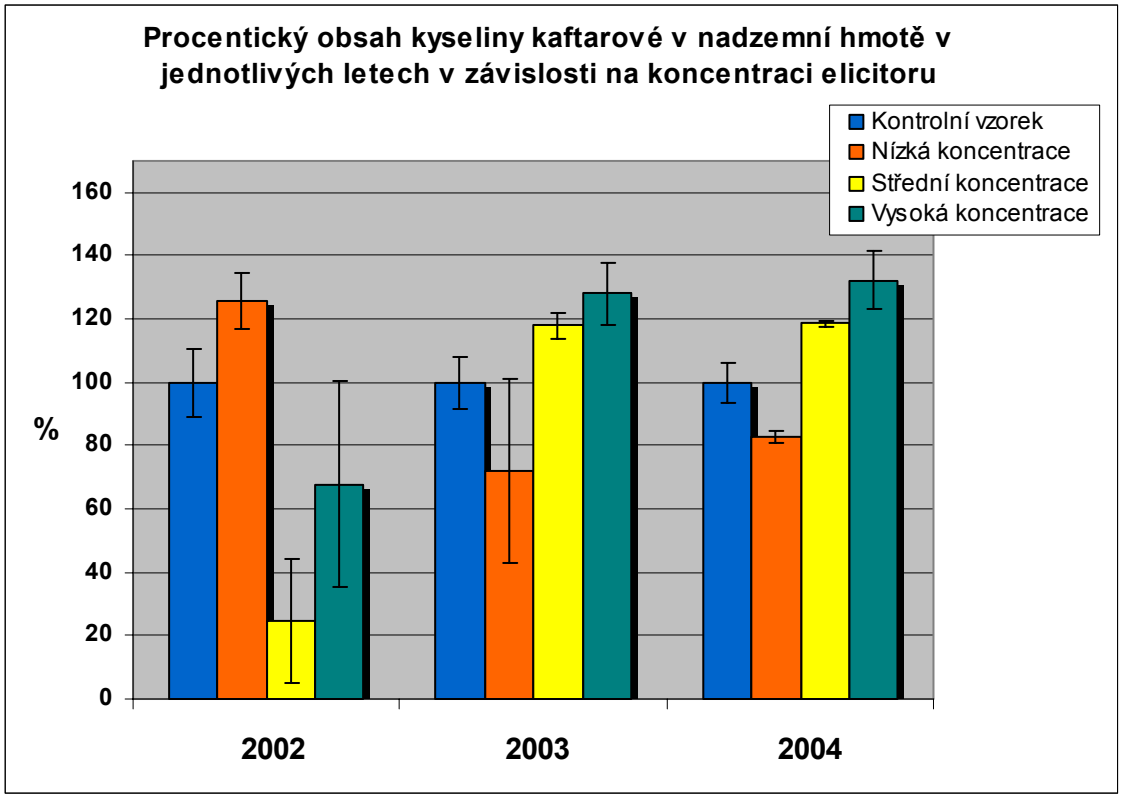
Největší vliv na zvýšení obsahu kyseliny cichorové v nadzemní hmotě, během všech tří sledovaných let, měla nízká koncentrace elicitoru ASA. Střední a vysoká koncentrace způsobily snížení obsahu této kyseliny během sledovaných let. Střední koncentrace elicitoru snížila obsah sledované kyseliny v roce 2002 více než o polovinu než vysoká koncentrace. V roce 2003 a 2004 tomu však bylo naopak. Vysoká koncentrace elicitoru způsobila snížení obsahu kyseliny cichorové více než na poloviční hodnotu obsahu aplikace střední koncentrace.

Graf č. 11:



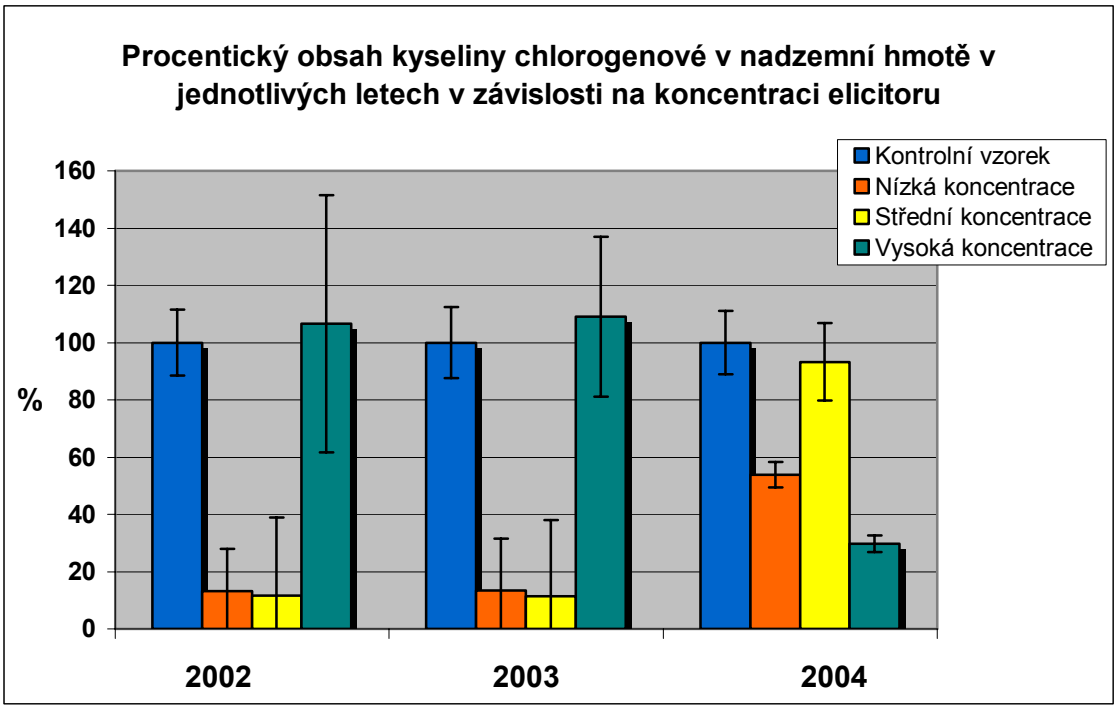
Největší vliv na zvýšení koncentrace kyseliny kaftarové v nadzemní hmotě měla vysoká koncentrace elicitoru, kromě roku 2002, když se obsah snížil na 68 % hodnoty kontrolního vzorku. Také střední koncentrace elicitoru měla vliv na zvýšení obsahu této kyseliny, kromě roku 2002. Nízká koncentrace měla vliv na zvýšení obsahu sledované látky pouze v roce 2002.

Graf č. 12:



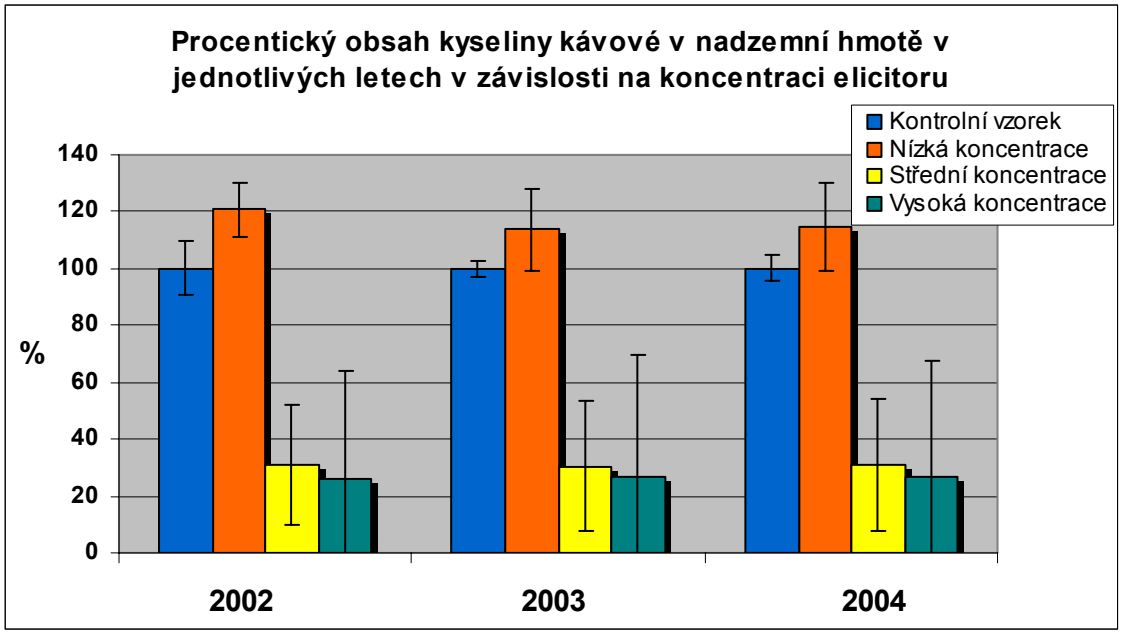
Vliv elicitoru ASA na kyselinu chlorogenovou v nadzemní hmotě během sledovaných let byl minimální. Pouze vysoká koncentrace elicitoru zvýšila obsah této kyseliny, zvýšení bylo jen v roce 2002 a 2003. Obsah se zvýšil pouze o 7 – 9 %. Ostatní koncentrace elicitoru snížily obsah kyseliny chlorogenové. Největší snížení této látky bylo v roce 2002 a 2003 při aplikaci nízké a střední koncentrace elicitoru.

Graf č. 13:



Na zvýšení obsahu kyseliny kávové v nadzemní hmotě měla vliv pouze nízká koncentrace elicitoru ASA. Během všech tří sledovaných let zvýšila tato koncentrace obsah této kyseliny od 14 do 21 % oproti kontrolnímu vzorku. Ostatní koncentrace elicitoru měly za následek snížení obsahu kyseliny kávové na hodnoty okolo 26 % původní hodnoty kontrolního vzorku.

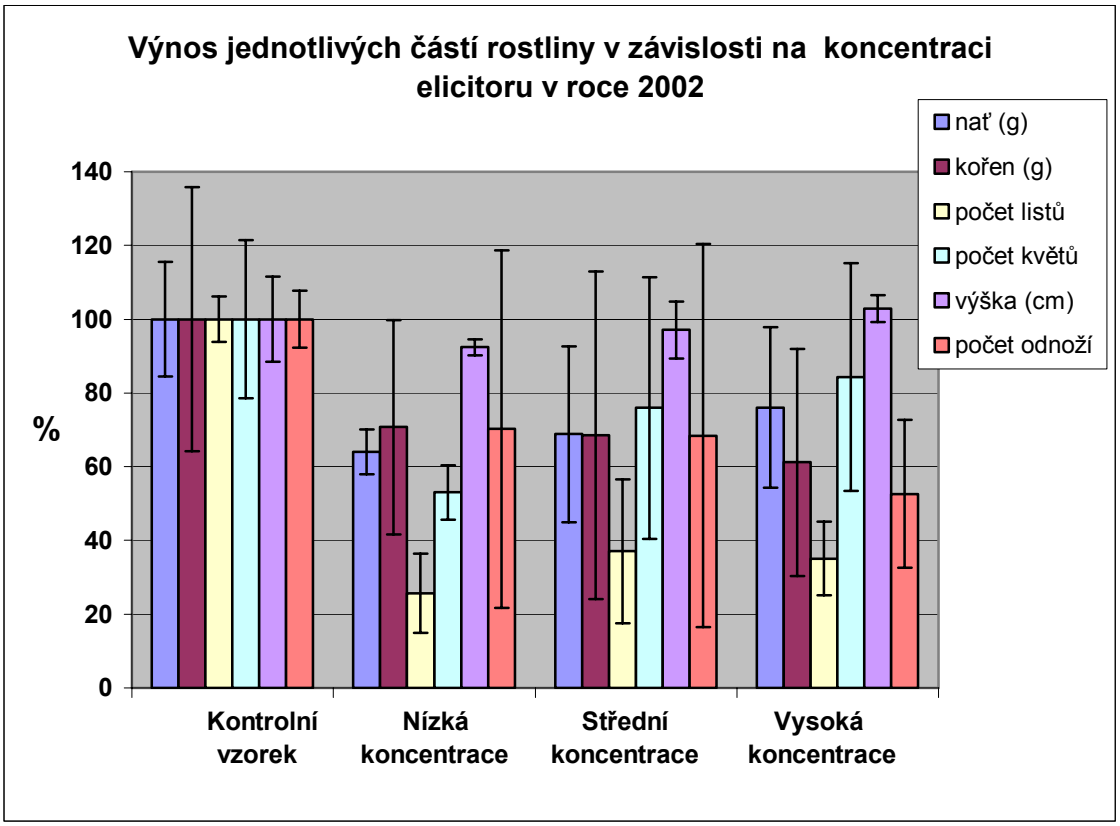
Graf č. 14:



Vliv jednotlivých koncentrací elicitoru na výnos jednotlivých částí rostliny v roce 2002

V roce 2002 došlo po aplikaci všech koncentrací elicitoru ASA ke snížení výnosu všech sledovaných částí rostlin oproti kontrolnímu vzorku. Pouze po aplikaci vysoké koncentrace elicitoru došlo k nepatrnému nárůstu průměrné výšky rostlin, a to pouze o 2 %, což je zanedbatelné. Nejvíce se snížil počet listů po aplikaci nízké koncentrace, když došlo k poklesu o více než 70 %.

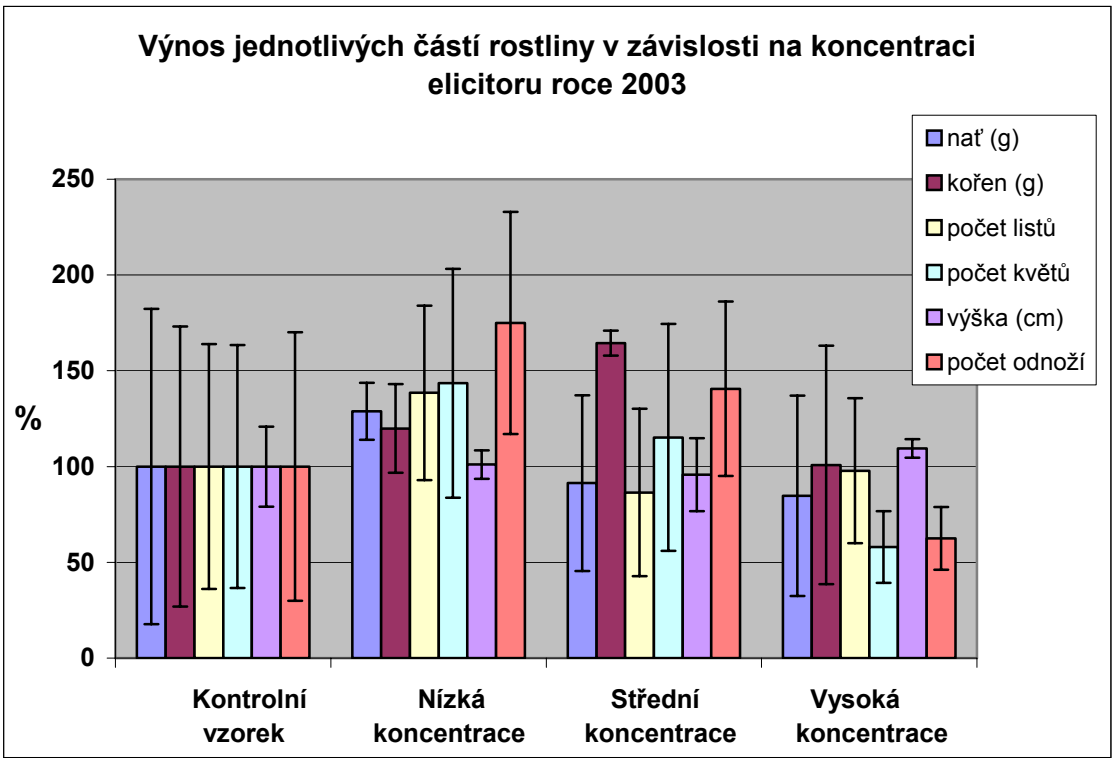
Graf č. 15:



Vliv jednotlivých koncentrací elicitoru na výnos jednotlivých částí rostliny v roce 2003

V roce 2003 došlo po aplikaci elicitoru ASA v nízké koncentraci ke zvýšení všech sledovaných částí rostliny v porovnání s kontrolním vzorkem, kromě průměrné výšky, která se téměř nezměnila. K největšímu zvýšení došlo u počtu odnoží, který se zvýšil o 75 %. Po aplikaci elicitoru ve střední koncentraci došlo ke zvýšení výnosu pouze u kořenu, počtu květů a počtu odnoží. Po aplikaci vysoké koncentrace elicitoru nastalo zvýšení výnosu pouze u průměrné výšky rostlin a to o 9 %.

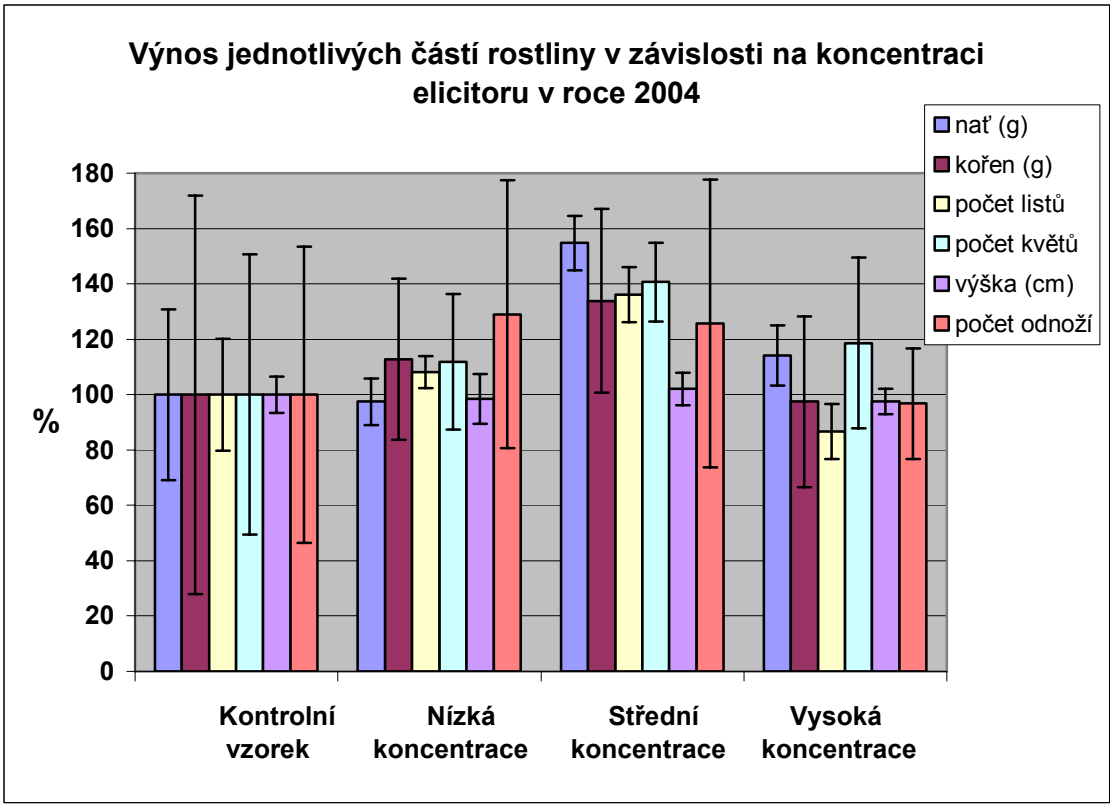
Graf č. 16:



Vliv jednotlivých koncentrací elicitoru na výnos jednotlivých částí rostliny v roce 2004

Po aplikaci elicitoru ASA v nízké koncentraci došlo v roce 2004 ke zvýšení výnosu oproti kontrolnímu vzorku u kořenu, počtu listů, počtu květů počtu odnoží. Nejvíce se zvýšil počet odnoží, a to o 29 %, pak výnos kořenu o 13 %, a nejméně počet listů o 8 %. Po aplikaci elicitoru ve střední koncentraci došlo v tomto roce ke zvýšení všech sledovaných částí rostliny. Nejvíce se zvýšil výnos nati o 55 % a nejméně se zvýšila výška rostlin, a to o 2 %. Po aplikaci vysoké koncentrace elicitoru se zvýšil výnos pouze u nati a počtu květů. Výnos ostatních částí rostlin se snížil.

Graf č. 17:



6. DISKUSE

Používání elicitoru kyseliny acetylsalicylové při pěstování léčivých rostlin a zvyšování tímto způsobem obsah farmakologicky účinných látek v rostlinách je doposud málo prozkoumáno. V odborné literatuře se s použitím ASA setkáváme pouze u rostlin pěstovaných *in vitro* a v ojedinělém případě u hospodářsky významných plodin, při sledování, které provedli BERGMANN, H., LEINHOS, V., MACHELETT, B., 1994. Autoři experimentálně ověřovali aplikaci ASA ve vodném roztoku (0,2 - 2 mg/rostlina nebo 1 - 2 kg/ha) na rostliny (ječmen, brambory, cukrovky), kdy se významně zvýšil výnos a efektivita využití vody (například u ječmene až 20 % a v cukrovce 10 %). Z maloparcelkového pokusu vedeného v letech 2002 – 2004 se statisticky průkazné zvýšení výnosů jednotlivých částí rostlin *Echinacea purpurea* projevilo pouze u natě a počtu listů v roce 2002 a v roce 2004. Zvýšení výnosů je spíše ovlivněno půdními podmínkami a průběhem počasí během vegetační doby rostliny.

Střední koncentrace kyseliny acetylsalicylové se v pokusech jeví, z hlediska účinných látek v kořenu, jako optimální. Což se projevilo zvýšením všech sledovaných kyselin. Největší nárůst byl zaznamenán u obsahu kyseliny chlorogenové. Při vysoké koncentraci kyseliny acetylsalicylové již dochází ke snížení obsahu účinných látek oproti střední a nízké koncentraci. V porovnání s průměrnými hodnotami, které stanovili ve své práci VRCHOTOVÁ, N., et al., 2002 došlo v kořenové hmotě u rostlin *Echinacea purpurea* k statisticky průkazným změnám obsahu sledovaných látek a to po aplikaci střední dávky elicitoru ASA. Podle výsledků došlo ke zvýšení všech sledovaných látek a to nejvíce u kyseliny chlorogenové, dále cichorové a zvýšení bylo prokázáno také u kyseliny kaftarové. Nejnižší nárůst obsahu byl zaznamenán u kyseliny kávové. Nejmenší nárůst kyseliny kávové se shoduje s výsledky získanými v maloparcelkovém pokusu a uvedenými v mé diplomové práci.

Provedeným experimentem byl potvrzen vliv elicitoru kyseliny acetylsalicylové na tvorbu sekundárních metabolitů ve sledované rostlině *Echinacea purpurea*. Po aplikaci elicitorů se měnil obsah sledovaných účinných látek v kořenu i nadzemní hmotě této léčivky. Pro největší nárůst účinných látek v kořenu se jeví statisticky

průkazně střední koncentrace elicitoru ASA. Tuto dávku elicitoru ovšem nelze doporučit pro ostatní léčivé rostliny, ze kterých bychom chtěli získat účinné látky z kořenu. Protože jak uvedli TŮMOVÁ, L., DUŠEK, J., 2000, optimální koncentraci stejného elicitoru u různých kultur *in vitro* v případě jeho pozitivního působení nelze zevšeobecnit a je specifická mimo jiné pro tu kterou kulturu a dobu elicitace. Účinnost elicitace také záleží na mnoha faktorech, které často působí synergicky, jako jsou stáří kultury, koncentrace elicitoru a v jakých časových periodách byl elicitor podáván.

V této práci je u kontrolních vzorků zjištěna průměrná koncentrace kyseliny cichorové v kořenech rostliny *Echinacea purpurea* 26341 μg/g suché hmoty a obsah kyseliny kaftarové 5791 μg/g suché hmoty. V nadzemní části rostliny u kontrolních vzorků je průměrný obsah kyseliny cichorové 17690 μg/g suché hmoty a obsah kyseliny kaftarové 10738 μg/g suché hmoty. LUKÁŠ, D., 2003 uvádí ve své práci průměrnou koncentraci kyseliny cichorové v kořenech rostliny *Echinacea purpurea* 13123 μg/g suché hmoty a 2043 μg/g suché hmoty u kyseliny kaftarové. V nadzemní hmotě uvádí průměrný obsah kyseliny cichorové 17502 μg/g suché hmoty a obsah kyseliny kaftarové 4990 μg/g suché hmoty. VRCHOTOVÁ, N., et al., 2002 uvádí průměrný obsah kyseliny cichorové v methanol-vodném extraktu z kořene *Echinacea purpurea* 16055 μg/g suché hmoty a obsah kyseliny kaftarové 3904 μg/g suché hmoty. Výtěžnost účinných látek záleží na mnoha faktorech jako je např. rok sklizeň, způsob sklizně, doba a podmínky skladování a způsob sušení.

Obsah kyseliny cichorové v kořenech třapatky dosahoval od 21,2 – 28,9 mg v 1 g suché hmoty v kontrolním vzorku bez ošetření elicitory. Po ošetření elicitory v nízké a střední dávce se obsah této kyseliny zvýšil na 42,5 – 49,2 mg v 1 g suché hmoty. Jak uvádí VRCHOTOVÁ, N., et al., 2002 je obsah kyseliny cichorové v kořenu až 20 mg v 1 g sušiny. Z výsledku je zřejmé, že i v kořenech rostliny neošetřované elicitory byl obsah kyseliny cichorové vyšší než uvádí VRCHOTOVÁ, N., et al., 2002. Obsah sledovaných látek závisí na půdních a klimatických podmínkách. Také zdravotní stav porostu může ovlivňovat obsah látek.

Jak uvedli KOLÁŘ, L., et al., 1998 je nutné pro maximální výtěžek účinných látek z rostliny *Echinacea purpurea* hnojit extrémně vysokými dávkami minerálního dusíku,

bez ohledu na druh hnojiva, nehnojit organicky a zvláště je vyloučeno zelené hnojení. V maloparcelkovém pokusu nebylo před výsadbou hnojeno organickými hnojivy ani nebylo na tomto pozemku pěstováno zelené hnojení. Během všech tří let nebyl pokus přihnojován průmyslovými hnojivy. Porost nebyl během vedení pokusu chemicky ošetřován, aby tato opatření neovlivňovala výsledky obsahu sledovaných látek po aplikaci různých dávek elicitoru. Proto v této práci není posuzován vliv hnojení kvalitu a množství produkce.

Ve své práci KOLÁŘ a kol. 1998 prokázali, že při šestinásobném přebytku dusíku v poměru k draslíku a dalším živinám rostlina *Echinacea purpurea* produkuje o 60 % účinných látek více než při harmonickém poměru živin. Podle rozboru živin z maloparcelkového pokusu byla zásobenost N_{min} velmi nízká a doporučovaný poměr mezi N_{min} : K nebyl zajištěn a proto je možné předpokládat, že se do zjištěných výsledků projevil minimálně.

Z maloparcelkového pokusu se ve 2. roce pěstování sklidilo v přepočtu na 1 ha 13,8 t čerstvých kořenů. V průměru za tři roky se sklidilo v přepočtu na 1 ha 48,7 t čerstvé natě. Jak uvádí BOMME, U., 1986 jsou výnosy čerstvých kořenů ve 2. roce pěstování 14,5-16 t/ha a výnosy čerstvé natě od 2. roku pěstování 27-55 t/ha. Výnosy uvedené v této diplomové se přibližně shodují s uvedenými výnosy. Výnosy jednotlivých částí rostliny v jednotlivých letech jsou ovlivněny půdními podmínkami a průběhem počasí v daném roce.

7. EKONOMICKÉ ZHODNOCENÍ

Pěstování rostliny *Echinacea purpurea* je v České republice závislé na výkupu zpracovateli. V ČR není mnoho zpracovatelů, proto je pro pěstitele dosti složité tuto surovinu prodat. Je možnost vyprodukovanou surovinu prodat do zahraničí, kde jsou ceny za výkup této léčivky vyšší než v ČR. V současné době je nabídka této léčivky českými zemědělci velmi nízká. V roce 1993 se ve světě ceny pohybovaly v rozsahu od 20 - 60 $/kg sušeného kořenu v závislosti na stupni zpracování a cena za list se pohybovala od 8 - 25 $/kg (CROP AND FOOD RESEARCH, 2006). V ekonomické bilanci jsem použil ceny poskytnuté firmou Biogena CB spol . s r . o., se sídlem v Ostravě. Nať nakupují ze zahraničí v ceně 1,5 - 2,5 Euro za kg. Nákupní cena řezaného kořenu se pohybuje okolo 3,6 Euro za kg. Nákup je realizován z Německa z důvodu nedostatečného množství suroviny na trhu v ČR. Firma Leros s.r.o. také vykupuje tuto léčivku. Výkupní cena kořene je 280 – 300 Kč za kg a nadzemní hmotu vykupují za 80 – 150 Kč za kg podle kvality suroviny.

Ekonomická bilance pěstování rostlin *Echinacea purpurea*, byla provedena na základě normativů jednotlivých pracovních operací, jež jsou uvedeny v publikacích Normativy pro zemědělskou a potravinářskou výrobu a Normativy zemědělských výrobních technologií vydané v roce 2006 a na základě výnosů dosažených v maloparcelkovém experimentu. V práci byla provedena kalkulace nákladů a výnosů na pěstování nadzemní hmoty a kořenů. Nadzemní hmota byla sklizena v 1. i 2. roce pěstování a kořeny byly sklizeny při zrušení porostu ve 2. roce pěstování. Po odečtení vypočítaných nákladů od předpokládaných výnosů z prodeje nadzemní hmoty a kořenů může být dosaženo zisku až 2 226 585 Kč z hektaru, nutno počítat za dva vegetační roky pěstování. Z této ekonomické bilance se jeví pěstování této léčivky velice rentabilní. Zisk dokládám i následnou jednoduchou ekonomickou kalkulací nákladů v následujícím textu a v tabulkách č. 2, 3, 4, 5 a vypěstování nadzemní hmoty a kořenů z 1 ha.

Do následné bilance jsem použil výnosy dosažené v maloparcelkovém pokusu. Hodnotu výnosu nadzemní hmoty a kořenů jsem použil průměrný výnos za 3 roky pěstování bez použití elicitorů (kontrolní vzorek). Výnosy jednotlivých částí rostliny jsou uvedeny v příloze č. 5, 6, 7.

Náklady:

Tabulka č. 2: Náklady na pracovní výkony v 1. roce pěstování:

Pracovní operace	Cena v Kč/ha	Počet provedení za 1 rok	Náklady Kč/ha
Podmítka	540	1	540
Rozmetání prům. hnojiv	310	1	310
Hluboká orba	1500	1	1500
Předseťová příprava	500	1	500
Založení porostu vč.osiva	42000*	1	42000
Meziřádková kultivace	450	5	2250
Rozmetání prům. hnojiv	280	2	560
Sklizeň natě (řezačka)	2500	1	2500
Celkem			**50160**

*pozn. autora: uvedená cena představuje náklady na osivo, předpěstování v sadbovačích s následným vysazením na pole.

Tabulka č. 3: Náklady na hnojiva v 1. roce pěstování:

Hnojivo	Cena v Kč/t	Dávka v t/ha	Náklady v Kč/ha
Ledek amonný s vápencem 27,5 %	5400	0,2	1080
Superfosfát 18 %, granulovaný	4800	0,15	720
Draselná sůl 60 %, granulovaná	5700	0,22	1254
Celkem			**3054**

Tabulka č. 4: Náklady na pracovní operace ve 2. roce pěstování:

Pracovní operace	Cena v Kč/ha	Počet provedení za 1 rok	Náklady Kč/ha
Rozmetání prům. hnojiv	280	2	560
Meziřádková kultivace	450	4	1800
Sklizeň natě (řezačka)	2500	1	2500
Sklizeň kořenů (vyorávač)	12500	1	12500
Celkem			**17360**

Tabulka č. 5: Náklady na hnojiva ve 2. roce pěstování:

Hnojivo	Cena v Kč/t	Dávka v t/ha	Náklady v Kč/ha
Ledek amonný s vápencem 27,5 %	5400	0,2	1080
Superfosfát 18 %, granulovaný	4800	0,15	720
Draselná sůl 60 %, granulovaná	5700	0,22	1254
Celkem			**3054**

Náklady na posklizňové úpravy natě v 1. a 2. roce pěstování:

- výnos zelené hmoty nadzemní části z 0,25 m^2: 1,217 kg
- výnos zelené hmoty nadzemní části z 1 m^2: 1,217 * 4 = 4,868 kg
- výnos zelené hmoty nadzemní části z 1 ha: 48680 kg = 48,68 t

- výnos nadzemní části po usušení z 0,25 m^2: 0,467 kg
- výnos nadzemní části po usušení z 1 m^2: 1,868 kg
- výnos nadzemní části po usušení z 1 ha: 18680 kg = 18,68 t

- při sušení je potřeba odstranit 61,6 % vlhkosti

Výpočet celkových nákladů na usušení natě z 1 ha v 1. roce pěstování:

70 Kč * 61,6 % * 18,68 t = **80 548 Kč**

Náklady na sušení natě jsou v 1. i 2. roce pěstování stejné:

80 548 Kč * 2 = **161 096 Kč**

Náklady na posklizňové úpravy kořenů v 2. roce pěstování:

- výnos nesušeného kořenu z 0,25 m^2: 0,344 kg
- výnos nesušeného kořenu z 1 m^2: 0,257 * 4 = 1,376 kg
- výnos nesušeného kořenu z 1 ha: 13760 kg = 13,760 t

- výnos usušeného kořenu z 0,25 m^2: 0,115 kg
- výnos usušeného kořenu z 1 m^2: 0,46 kg
- výnos usušeného kořenu z 1 ha: 4600 kg = 4,6 t

- při sušení je potřeba odstranit 66,6 % vlhkosti

Výpočet celkových nákladů na mytí kořenů:

- celkové náklady na mytí 1 t kořenů = 1875 Kč
- výnos nesušeného kořenu z 1 ha: 13 760 kg = 13,760 t

1875 Kč * 13,76 t = **25 800 Kč**

Výpočet celkových nákladů na sušení kořenu z 1 ha:

75 Kč * 66,6 % * 13,76 t = **68 731 Kč**

Výnosy:

Výnos z prodeje natě při ceně 2 € za kg usušené natě za dva roky pěstování:

1. rok pěstování: 18680 kg * 2 € * 28 Kč = **1 046 080 Kč**
2. rok pěstování: 18680 kg * 2 € * 28 Kč = **1 046 080 Kč**

Výnos z prodeje kořenu při ceně 3,6 € za kg usušeného kořenu:

4600 kg * 3,6 € * 28 Kč = **463 680 Kč**

(kurz eura se pohyboval dle burzovních zpráv ke dni 28.2.2007 okolo 28 Kč.)

Zisk:

Náklady na pracovní operace a posklizňové úpravy za dva roky pěstování:

50 160 + 3054 + 17 360 + 3054 + 161 096 + 25 800 + 68 731 = **329 255 Kč**

Výnosy z prodeje natě v 1. a 2. roce pěstování a z prodeje kořenů ve 2. roce pěstování:

1 046 080 + 1 046 080 + 463 680 = **2 555 840 Kč**

Zisk z 1 ha za 2 roky pěstování:

2 555 840 – 329 255 = **2 226 585 Kč**

8. ZÁVĚR

Cílem práce bylo pěstovat vybranou léčivou rostlinu při dosažení maximální produkce vybraných účinných látek. Jako modelová rostlina byla zvolena *Echinacea purpurea*. Tato rostlina byla pěstována v přesném maloparcelkovém pokusu. Foliární aplikace elicitoru kyseliny acetylsalicylové (ASA) se prováděla ve čtrnáctidenních intervalech ve třech různých koncentracích – nízké, střední a vysoké s cílem ovlivnění obsahu sledovaných biologicky aktivních látek. Etanolové extrakty rostlinných vzorků byly analyzovány pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Sledovány byly obsahy látek flavonoidního charakteru kyseliny kávové, kaftarové, cichorové a chlorogenové.

V práci byl prokázán odlišný vliv elicitorů na obsah sledovaných látek v jednotlivých částech rostliny. U nati je efekt elicitorů méně průkazný. Je výrazněji ovlivněn ročníkem. Nízká koncentrace elicitoru zvyšuje v nati obsah kyseliny kávové a cichorové. Obsah kyseliny kaftarové se téměř nemění a kyseliny chlorogenové je oproti kontrole snížen. Střední a vysoká koncentrace elicitoru obsah účinných látek spíše snižuje, často i dosti výrazně, což je ovšem kompenzováno nárůstem obsahu účinných látek v kořenu. Protože kořen je hlavní částí rostliny pro farmaceutické či jiné využití, jeví se toto jako žádoucí.

Nízkou a především střední koncentrací kyseliny acetylsalicylové je obsah účinných látek v kořenu rostliny *Echinacea purpurea* statisticky průkazně zvýšen. Při vysoké koncentraci kyseliny acetylsalicylové již dochází ke snížení obsahu účinných látek oproti střední a nízké koncentraci. Projevuje se zde pravděpodobně negativní vliv vysokého stresu, způsobený neoptimální dávkou elicitoru, zejména u obsahu kyseliny kávové. Střední koncentrace kyseliny acetylsalicylové se v tomto pokusu jeví, z hlediska účinných látek v kořenu, jako optimální. To se projevilo zvýšením všech sledovaných látek, největší nárůst byl zaznamenán u obsahu kyseliny chlorogenové. Trendy změn obsahu sledovaných látek jsou prakticky totožné v průběhu všech tří sledovaných let. Relativní zvýšení či snížení obsahů účinných látek je v některých letech statisticky průkazné. Průkaznost je ovlivněna průběhem počasí daného roku.

Účinkem elicitace se mění vzájemný poměr účinných látek, především přibývá kyseliny kaftarové, cichorové a chlorogenové oproti metabolickému meziproduktu kyseliny kávové.

Působení koncentrace elicitoru na výnos jednotlivých částí rostliny je statisticky průkazné pouze u výnosu nati a počtu listů v letech 2002 a 2004. Výnos nadzemní hmoty a kořenu je ovlivněn především průběhem ročníku a půdními podmínkami.

Dosažené výsledky bude nutné ověřit dalším sledováním v provozní praxi na větších plochách s cílem dosažení vyššího výnosu a maximální výtěžnosti farmakologicky účinných látek. V současné době se v České republice tato rostlina nevykupuje podle obsahu účinných látek. Vyšší obsahy účinných látek v sušině umožní získání extraktu potřebné kvality zpracováním menšího objemu biomasy.

9. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

1. ANGELOVIČ, M. Návrh stroje na sběr kořenů léčivých rostlin. In: Technika v procesech trvale udržitelného hospodaření a produkce bezpečných potravin [online]. Brno: MZLU, 2002. [cit.2007-02-24]. Dostupné na internetu: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=&ch=&typ=1&val=9164>

2. BALAŽOVÁ, A., BILKA, F., BLANÁRIKOVÁ, V., PŠENAK, M. Zmeny obsahu sanguinarinu a aktivity polyfenoloxidázy vplyvom fungálneho elicitora v suspenzných kultúrach maku siateho *Papaver somniferum* L. Československá farmacie, 2002, roč. 51, č. 4, s. 182 – 185.

3. BARNICKEL, 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.

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. Gegen Schlangenbiß und Grippe – Verwendung und Inhaltsstoffe von *Echinacea angustifolia* und *Echinacea purpurea*, Dtsch. Apoth. Ztg., 1982, no. 122, p. 2320 – 2323. 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.

6. BEIDERBECK, R., REICHLING, J. Pflanzenkulturen in Forschung und Praxis. Teil V/2. Biologie, 1989, vol. 5, p. 453 – 464.

7. BERGMANN, H., LEINHOS, V., MACHELETT, B. Increase of stress resistance in crop plants by using phenolic compounds. (International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance, International Society for Horticultural Science). Acta Hortic, 1994, vol. 1, p. 390 – 397.

8. BLÁHA, L., BOCKOVÁ, R., HNILIČKA, F., HNILIČKOVÁ, H., HOLUBEC, V., MÖLLEROVÁ, J., ŠTOLCOVÁ, J., ZIEGLEROVÁ, J. Rostlina a stres. 1. vyd. Praha: VÚRV, 2003. 156 s. ISBN 80-86555-32-1.

9. BOHLMANN, F., DALLWITZ, K. Notice on the biogenesis of polyiamides (*Echinacea purpurea*). Chem. Ber., 1974, vol. 107, no. 6, p. 2120 – 2122.

10. BOHLMANN, F., HOFFMANN, H. Further Amides from *Echinacea purpurea*. Phytochemistry, 1983, vol. 22, p. 1173 – 1175.

11. BOHLMANN, J., EILERT, U. Elicitor induction of furanocoumarin biosynthetic pathway in cell cultures of *Ruta graveolens*. Plant. Cell Tis. Org. Culture, 1995, p. 155 – 161.

12. BOMME, U. Anbau-, Erntezeiten und Sorten-versuche mit Sonenhut (*Echinacea angustifolia* C und *Echinacea purpurea* Moench). Versuchsergebnisse Heil- und Gewürzpflanzen 1985-1986. Freising: Bayerische Landesanst für Bodenkult und Pflanzenbau, 1986, p. 41-96.

13. BOMME, U. Sonnenhut – Pflanze mit Marktchancen? Die Landwirwirtschaftliche Zeitschrift, 1987, vol. 38, p. 384 – 386.

14. BONADEO, I., BOTTAZZI, G., LAVAZZA, M. Echinacina B. Polysaccharide attivo dell´ *Echinacea*, Riv. Ital. Essenze – Profumi – Piante officin. – Aromi – Saponi – Cosmetici – Aerosol, 1971, 53, p. 281 – 295.

15. BOS, R., HEINZER, F., BAUER, R. Volatile Constituents of the Leaves of *Echinacea purpurea, E. pallida, E. angustifolia*. Poster auf dem 19. International Symposium on Essential Oils and Other Natural Substrates, Zürich, 7.-10. 9. 1988.

16. BOSTOCK, R. M., KUC, J. A., LAINE, R. A. Eicosapentanoic and arachidonic acids from *Phytophtora infestans* elicit fungitoxic sesquiterpens in potato. Science, 1981, vol. 12, p. 67 – 69.

17. CONCONI, A. A., MIQUEL, M., BROWSE, J. A. RYAN, C. A. Intracellular levels of free linoleic and linolenic acids increase in tomato leaves in response to wounding. Plant. Physilogy, 1996, vol. 112, no. 3, p. 797.

18. CROP AND FOOD RESEARCH [online][cit. 2006-09-26]. Dostupné na internetu: <http://www.crop.cri.nz/psp/broadshe/echinace.htm>

19. DICOSMO,F., MISAWA, M. Eliciting secondary metabolism in plant cell cultures. Trends. Biotechnol., 1985, vol. 3, p. 318 – 322.

20. DIXON, W. J. Ann. Math. Stat. 22, 1951, p. 68 – 78.

21. DUCHO, P a kol. Mechanizácia a automatizácia živočišnej výroby. 1. vyd. Bratislava: Príroda, 1990. 480 s. ISBN 80-07-00264-2.

22. EBEL, J., MITHOFER, A. Early events in the elicitation of plant defense. Planta, 1998, vol. 206, p. 335-348.

23. ELLARD-IVEY, M., DOUGLAS, C. J. Role of jasmonic acid in elicitor and woundinucible expression of defense genes in parsley and transgenic tobbaco. Plant Physilogy, 1996, vol. 112, no. 1, p. 183.

24. FEDJUK, K., HEJTMÁNKOVÁ, A., DUDJAK, J. Vliv působení kadmia na množství fotosyntetických pigmentů vybraného druhu sinice a ječmene jarního. Sborník ze semináře „Vliv biotických a abiotických stresorů na vlastnosti rostlin.“, Praha: VÚRV, ČZU, 8. 10. 2003. s. nepřiřazeny ISBN 80-86555-27-5.

25. van der FITS, L., MEMELINK, J. ORCAS, a jasmonate-responsive transcriptional regulator of plant primary and secondary metabolism. Science, 2000, no. 289, p. 295 – 297.

26. FOSTER, S., *Echinacea* – The Purple Coneflowers, American Horticulturist, 1985, No. 8, p. 14 - 17, 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.

27. GARAJ, J., BUSTIN, D., HLADKÝ, Z. Analytická chémia. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1987. 740 s.

28. GELLI, A., BLUMWALD, E. Hyperpolarization-activated Ca-permeable channels in the plasma membrane of tomato cells. J. Membrane Biol., 1997, vol. 155, p. 35-45.

29. GODOY-HERNÁNDEZ,G., LOYOLA-VARGAS, V. M. Effect of acetylsalicyclic acid on secondary metabolism of *Catharanthus roseus* tumor suspension cultures. Plant Cell Reports, 1997, vol. 16, no. 5, p. 287 – 290.

30. GRAEDON, J. The People´s Pharmacy Guide to Home and Herbal Remedies. 1. ed. New York: St. Martin´s Press, 1999. 428 p.

31. GROENEWALD, E. G., VAN DER WESTHUIZEN, A. J. The metabolism of inhibitor of flowering and prostaglandin biosynthesis, acetylsalicylic acid, in Pharbitis nil cotyledons. Biol. Plant., 1998, vol. 41, no. 3, p. 475 – 479.

32. GÜNTHER, E., HEEGER, F. E., ROSENTHAL, C. Der Vitamin-C-Gehalt der in Deutschland hauptsächlich angebauten Heil- und Gewürzpflanzen in kritisch-eperimenteller Betrachtung, Pharmazie, 1952, vol. 7, p. 24-50, 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.

33. HARNISCHFLEGER, G., STOLZE, H. Bewährte Wirksubstanzen aus Naturstoffen, Sonnenhut. Bad Homburg/Melsungen: Notamed Verlag, 1983, 170 p. 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.

34. HEINZER, F., CHAVANNE, M., MEUSY, J. P., MAITRE, H. P., GIGER, E., BAUMANN, T. W. Ein Beitrag zur Klassifizierung der therapeutisch verwendeten Arten der Gattung *Echinacea*. Pharm. Acta. Helv., 1988, vol. 63, p. 132-136.

35. HERMANN, J., R., HONEYMAN, M., S., ZIMMERMANN, J., J., THACKER, B., J., HOLDEN, P., J., CHANG, C., C. Effect of dietary *Echinacea purpurea* on viremia and performance inporcine reproductive and respiratory syndrome virus-infected nursery pigs, J. Anim. Sci., 2003, no. 81, p. 2139-2144.

36. HEYL, F. W., STALEY, J. F. Analyses of Two *Echinacea* Roots, Am. J. Pharm., 1914, no. 86, p. 450 – 455. 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.

37. 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.“ Praha: VÚRV, ČZU, 8. 10. 2003. s. 156 - 170 ISBN 80-86555-27-5.

38. HNILIČKOVÁ, H., HNILIČKA, F. Vliv vodního stresu na intenzitu fotosyntézy a transpirace rostlin rajčete jedlého. Sborník ze semináře „Vliv biotických a abiotických stresorů na vlastnosti rostlin.“ Praha: VÚRV, ČZU, 8. 10. 2003. s. 176 - 180 ISBN 80-86555-27-5.

39. HORÁČEK, J., LEDVINA, R., KOUBALÍKOVÁ, J. Geologie a půdoznalství (Cvičení pro I. ročník studia). 1. vyd. České Budějovice: ZF JU, 1994. 110 s. ISBN 80-7040-106-0.

40. HUBÁČEK, J., aj. Chemie pro vysoké školy zemědělské. 1. vyd. Praha: SZN, 1988. 767 s.

41. CHMEL, K., CVAK, Z., DĚDEK, M., GAJDŮŠKOVÁ, V. Chromatografie na tenké vrstvě a její využití pro průkaz cizorodých látek v potravinářství a zemědělství. 1. vyd. Praha: VÚPP, 1987. 172 s.

42. IGNATOV A., CLARK W.G., CLINE, S.D., PSENAK, M., KRUEGER, R.J., COSCIA, C.J., Elicitation of dihydrobenzophenanthridine oxidase in *Sanguinaria canadensis* cell cultures. Phytochemistry, 1996, vol. 43, no 6, p. 1141–1144.

43. JANČA, J., ZENTRICH, J.A. Herbář léčivých rostlin 4. díl.1.vyd. Praha: Eminent, 1996. 287 s. ISBN 80-85876-20-5.

44. KAMÍR, P. Bylinář – rostlinné stimulátory fyzických a duševních sil. 1. vyd. Brno: Littera, 1991. 125 s. ISBN 80-900327-1-0.

45. KAŠPAROVÁ, M., SIATKA, T. Produkce anthracenových derivátů elicitovanou tkáňovou kulturou *Rheum palmatum* L. Československá farmacie, 1999, roč. 48, č. 6., s. 256 – 261.

46. KAŠPAROVÁ, M., SIATKA, T. Vliv chitosanu na produkci anthracenových derivátů v tkáňové kultuře *Rheum palmatum* L. Československá farmacie, 2001, roč. 50, č. 5, s. 249 – 253.

47. KAVKA, M., a kol. Normativy pro zemědělskou a potravinářskou výrobu. Praha: ÚZPI Praha, 2006. 400 s. ISBN 80-7271-163-6.

48. KAVKA, M., a kol. Normativy zemědělských výrobních technologií. Praha: ÚZPI Praha, 2006. 376 s. ISBN 80-7271-164-4.

49. KELLER, H.: Patent Chemie Grünenthal, DBP 930674 KI 30h, 1955. 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.

50. KOHOUTOVÁ, V. Echinamax [online]. Finclub plus, a.s., 2003. [cit. 2006-09-29]. Dostupné na internetu: <http://www.finclub.cz/web/katalogv.nsf/0/c7674fe668c74d934125683b0057038f?OpenDocument>

51. KOLÁŘ, L. Vliv přijatých živin na tvorbu genisteinu v jeteli lučním. Rostlinná výroba, 1982, roč. 28, č. 8, s. 1 – 12.

52. KOLÁŘ, L., LEDVINA, R., KUŽEL, S., PAŠEK, J. Vliv nadbytku dusíku ve výživě *Echinacea purpurea* (L.) Moench na tvorbu jejích účinných látek. Rostlinná výroba, 1998, roč. 44, č. 11, s. 489 – 495.

53. KOVALČIK, K., KOVALČIKOVÁ, M. Adaptácia a stres v chove hospodárskych zvierat. 1. vyd. Bratislava: Príroda, 1974. 195 s.

54. KUCHARSKI, W., A. Anbatechnologie und Pflanzenschutz von *Echinacea purpurea* (L.) Moench. Drogenreport, 1997, vol.16, no. 10, p. 33-36.

55. KUŽEL, S., KOLÁŘ, L., TŘÍSKA, J., CÍGLER, P., HRUBÝ, M., ŠPIČKA, J., VRCHOTOVÁ, N., VYDRA, J. Technologie pěstování rostlin *Echinacea purpurea* a *Schizandra chinensis* a extrakce účinných látek. Závěrečná zpráva Výzkumného úkolu ME 704. České Budějovice: ZF JU, 2004. 117 s.

56. KUŽEL, S., KOLÁŘ, L., ŠTINDL, P., SILOVSKÁ, Š. Technologie pěstování a malotechnologie zpracování léčivky *Echinacea purpurea* na extrakt s požadovanými prvky jakosti GMP/GHP a HACCP a jeho návrhu certifikace, Vědecká monografie, České Budějovice: ZF JU, 2006, 93 s.

57. LEDVINA, R., VÁCHAL, J., HORÁČEK, J., DRBAL, K. Pedologie (Návody pro cvičení specializovaného studia pedobiotechnologie). 1. vyd. Praha: VŠZ Praha, 1988. 128 s. Učební texty vysokých škol. VŠZ Praha, fakulta agronomická v Českých Budějovicích.

58. LI, G. J., WANG, S. C., XIA, K. Effect of yeast elicitor and salycilic acid on the fluctuation of phytohormones in Ti-transformated *Salvia miltiorrhiza* cell cultures. Plant Growth Regul., 2003, vol. 39, p. 27 – 32.

59. LUKÁŠ, D. Vliv elicitorů na produkci kyseliny kaftarové a kyseliny cichorové v třapatce nachové – *Echinacea purpurea* L. (Moench). [Magisterská práce], České Budějovice: BF JU, 2003, 38 s.

60. MALONGA-MAKOSI, J.-P. Untersuchung der Flavonoide von *Echinacea angustifolia* DC. und *Echinacea purpurea* MOENCH. [Dissertation], Heidelberg, 1983. 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.

61. MARINELI, F., RONCHI, V. N., SALVADOR, P. Elicitor induction of enzyme activities and 6-methoxymellein production in carrot cell-susoenzion culture. Phytochemistry, 1994, vol. 35, p. 1457-1460.

62. NEHASILOVÁ, D. Extrakt z třapatky nachové zlepšuje imunitu prasat. [online]. Vydáno 17.3.2004 [cit.2007-02-10]. Dostupné na internetu: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=119&ch=1&typ=1&val=24208>

63. NISHI, A. Effect of elicitors on the production of secondary metabolites. In: Ryu, D. D. Y., Furusaki, S. Adv. Plant Biotechnol. Elsevier Sci. BV, 1994, p. 135-151.

64. NÜRNBERGER, T. Signal transduction in plant defence. Cell. Mol. Life. Sci. 1999, vol. 55, p. 167 – 182 .

65. OPLETAL, L., DRAŠAR, P. Fytochemické metody 1. Izolace obsahových látek (laboratorní technika). 1. vyd. Praha: Karolinum, 1994. 142 s. ISBN 80-7066-912-8.

66. ORSÁK, M., DUDJAK, J., LACHMAN, J. Fenolický komplex ječmene (*Hordeum* sp.) pod vlivem UV a γ-záření. Sborník ze semináře „Vliv biotických a abiotických stresorů na vlastnosti rostlin.“ Praha: VÚRV, ČZU, 8. 10. 2003. s. nepřiřazeny ISBN 80-86555-27-5.

67. PEXÍDR, R. Vliv kyseliny acetylsalicylové na obsah účinných látek ve vybraných léčivkách. [Diplomová práce], České Budějovice: ZF JU, 2004, 58 s.

68. PROCHÁZKA, B., a kol. Mechanizácia rostlinnej výroby. 1. vyd. Bratislava: Príroda, 1986. 527 s.

69. PULKRÁBEK, J., JOZEFYOVÁ, L., URBAN, J., ŠROLLER, J. Stresové faktory při pěstování cukrovky. AGRO, 2005, roč. 10, č. 6, s. 67 – 69.

70. RÖDER, E., WIEDENFELD, H., HILLE, T., BRITZ-KIRSTGEN, R. Pyrrolizidine in *Echinacea angustifolia* DC. und *Echinacea purpurea* MOENCH - Isolierung und Analytik. Deutsche Apotheker Zeitung, 1984, vol.124, p. 2316-2318.

71. SCHNEIDEROVÁ, P. Kozí mléko a produkce laktoferinu. [online]. Vydáno 14.5.2004 [cit.2007-02-10] Dostupné na internetu: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=119&ch=1&typ=1&val=26249>

72. SCHNEIDEROVÁ, P. Vliv *Echinacea purpurea* na imunitu krav. [online]. Vydáno 14.4.2005 [cit.2007-02-10]. Dostupné na internetu: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=119&ch=1&typ=1&val=34799>

73. SCHULTE, K. E., RÜCKER, G., PERLICK, J. Das Vorkommen von Polyacetylen-Verbindungen in *Echinacea purpurea* MOENCH und *Echinacea angustifolia* DC. Arzneimittel Forsch, 1967, vol.17, p. 825-829.

74. SIM, S. J., CHANG, H. N., LIU, J. R., JUNG, K. H. Production and secretion of indole alkaloids in hairy root cultures of *Catharanthus roseus* - effects of in-situ adsorption, fungal elicitation and permeabilization. Journal of fermentation and bioengineering, 1994, vol. 78, no. 3, p. 229 – 234.

75. SKLENÁK, L. Experimentální metody biofyziky. Učební texty KFY PřF OU. 1. vyd. Ostrava: Ostravská univerzita, 2003. 61 s. ISBN 80-7042-899-6.

76. SMITH-JOCHUM, C., ALBRECHT, M., L. Transplanting or Seeding in Raised Beds Aids Field Establishment of Some Echinacea Species. Hort Science, 1988, vol. 23, p. 1004 – 1005.

77. STAZSKOVÁ, L., TÁBORSKÝ, J. Vliv chladového stresu na metabolismus prolinu pšenice. Sborník ze semináře „Vliv biotických a abiotických stresorů na vlastnosti rostlin.“ Praha: VÚRV, ČZU, 11. 5. 2005, s. 287 – 290 ISBN 80-86555-63-1.

78. ŠÍCHA, J., HUBÍK, J., DUŠEK, J. Obsahové látky rodu *Echinacea* potencionální antivirotika a imunostimulancia. Československá farmacie, 1989, roč. 38, č. 9, s. 424 – 428.

79. ŠPIČKA, J., VRCHOTOVÁ, N., TŘÍSKA, J., KUŽEL, S., CÍGLER, P., HRUBÝ, M., VYDRA, J. Comparison of the HPLC analytical methods for the determination of the phenolics in plants of *Echinacea purpurea* L. (Moench).15th International Conference „Chromatographic methods and human health“, 10. – 13.11. 2003, Piešťany, Slovenská republika.

80. ŠTERN, P. Základy instrumentální analýzy v klinické biochemii [online]. [cit.2007-02-21]. Dostupné na internetu: <http://www1.lf1.cuni.cz/~kocna/biochem/text11.htm>

81. TŮMOVÁ, L., DUŠEK, J. Vliv kyseliny linolové na produkci sekundárních metabolitů. Československá farmacie, 2000, roč. 49, č. 2, s. 78 – 81.

82. TŮMOVÁ, L., OSTROŽLÍK, P. *Ononis arvensis* in vitro-abiotická elicitace. Československá farmacie, 2002a, roč. 51, s. 173 – 176.

83. TŮMOVÁ, L., BLAŽKOVÁ, R. Vliv tvorby flavonoidů v kultuře *Ononis arvensis* in vitro působením $CrCl_3$. Československá farmacie, 2002b, roč. 51, č. 1, s. 44 – 46.

84. TŮMOVÁ L., BARTÁKOVÁ M., ZABLOUDILOVÁ J. Kyselina jodooctová jako potencionální elicitor zvýšené tvorby flavonoidů v kultuře *Ononis arvensis* L. in vitro. Československá farmacie, 2003, roč. 52, č. 4, s. 189 –192.

85. TŮMOVÁ, L., GALLOVÁ, K., TŮMA, J., DUŠEK, J. *Silybum marianum* in vitro-abiotická elicitace. Sborník ze semináře „Vliv biotických a abiotických stresorů na vlastnosti rostlin.“Praha: VÚRV, ČZU, 11. 5. 2005, s. 323 – 326 ISBN 80-86555-63-1.

86. VLAŠÍNOVÁ, H., SMÍŠKOVÁ, A., SLANINA, J., BŘEZINOVÁ, L., HAVEL, L. Vliv stresu na produkci lignanů v embryogenní kultuře Klanopraškyčínské (*Schizandra chinensis*). Sborník příspěvků ze semináře „Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2006“. Praha: VÚRV, ČZU, 2006, s. 123 – 126 ISBN 80-213-1484-2.

87. VRCHOTOVÁ, N., KUŽEL, S., TŘÍSKA, J., KOLÁŘ, L., TOTUŠEK, J. Extrakce a analýza fenolických látek z třapatky nachové (*Echinacea purpurea* (L.) Moench), Chemické Listy, 2002, roč. 96, č. 7, s. 636 – 639.

88. WAGNER, H., PROKSH, A. Z. Angew. Phytother. 2, 1981, vol. 5. 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.

89. WAGNER, H., PROKSH, A., RIESS-MAURER, I., VOLLMAR, A., ODENTHAL, S., STUPPNER, H., JURCIC, K., LE TURDU, M., FANG, I. N. Immunstimulierend wirkende Polysaccharide (Heteroglykane) aus höheren Pflanzen. Arzneim.-Forsch., 1985, 35, p. 1069-1075.

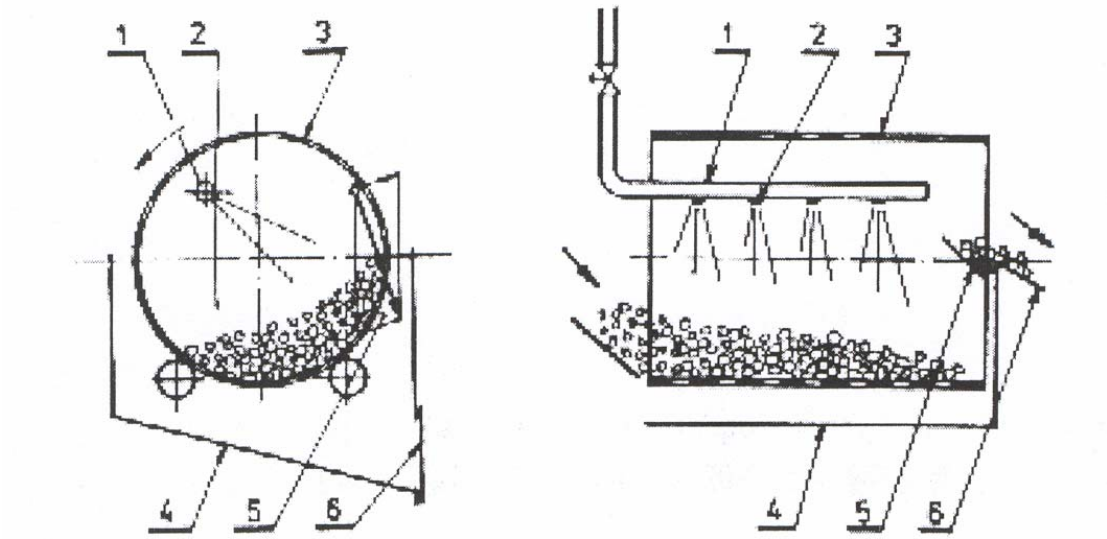
90. WINK, M., LEHMANN, P. Wounding- and elicitor- induced formation of coloured chalcones and flavans (as phytoalexins) in *Hippeastrum hortorum*. Botanical Acta, 1996, vol. 109, p. 412 – 421.

91. WOO, D. D. L., MIAO, S. Y. P., PELAYO, J. C., WOOLF, A. S. Taxol inhibits progression of congenital polycistic kidney disease. Nature 368, 1994, p. 750-753.

92. ZENTRICH, J.A. Byliny v prevenci. 1.vyd. Olomouc: Fontána, 1991. 331 s. ISBN 80-00205-0-X.

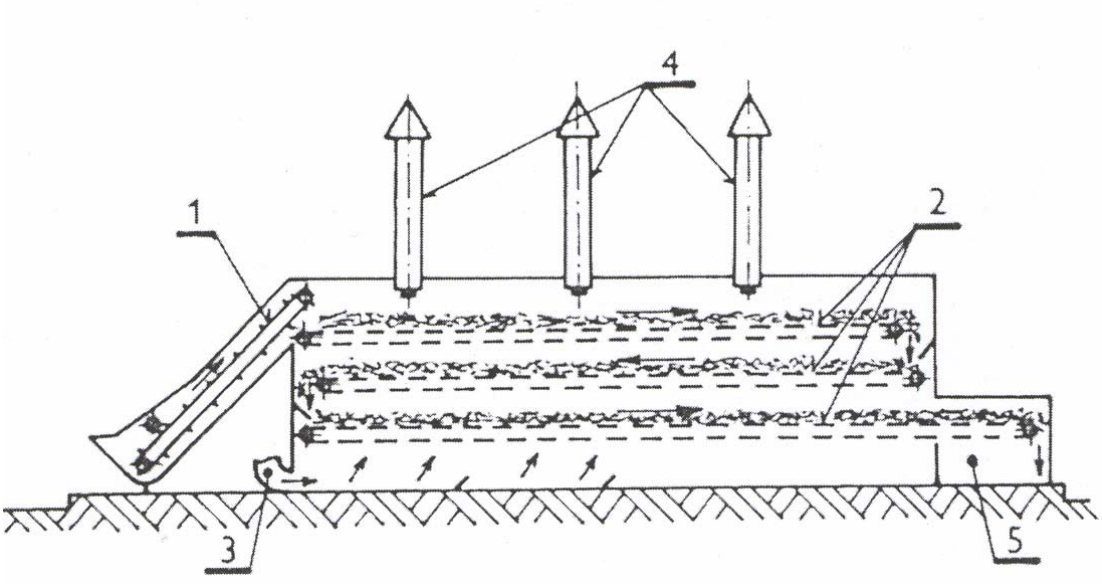
10. PŘÍLOHY

Příloha č. 1: Bubnová pračka



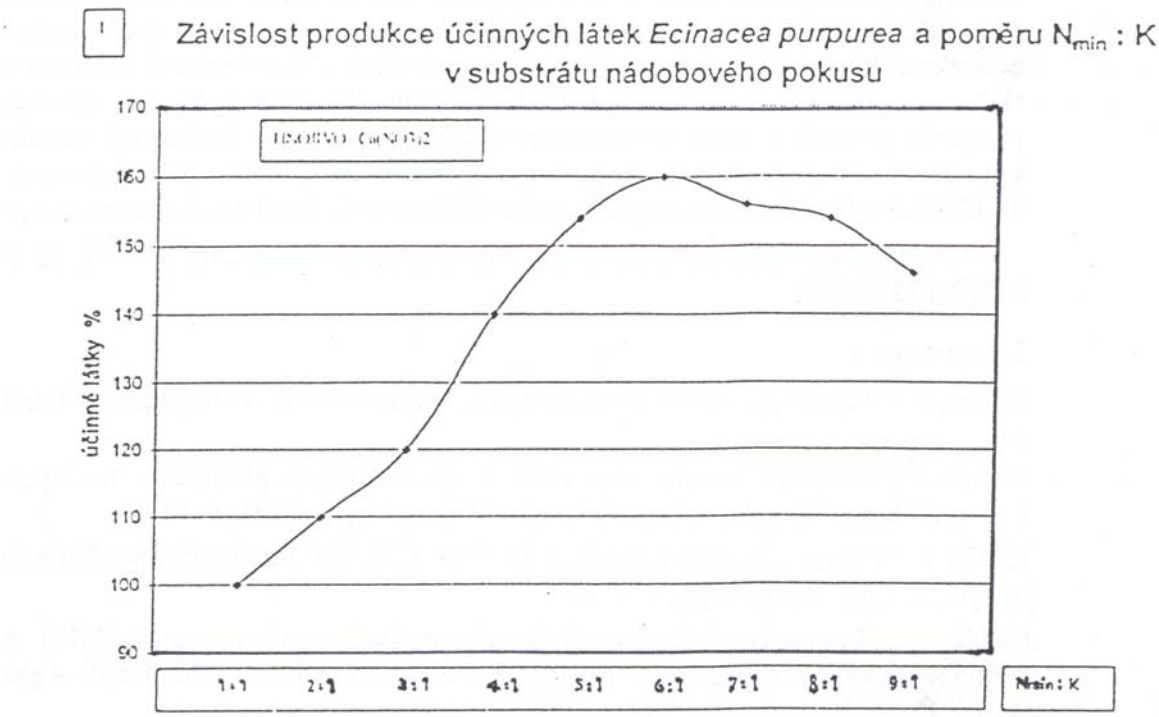
Legenda: 1 - přívod vody do bubnu, 2 – trysky, 3 – roštový buben, 4 – vana, 5 – vynášecí lopatky, 6 – skluzová plocha pro výpad materiálu (dle DUCHA, P., et al., 1990)

Příloha č. 2: Pásová sušárna

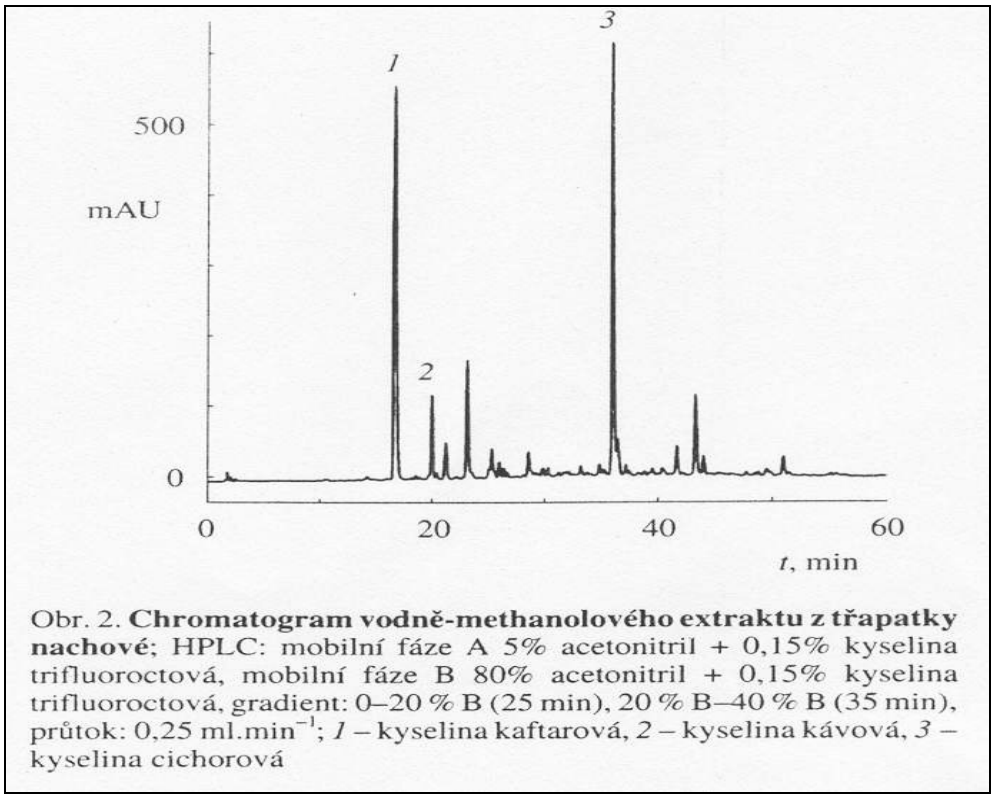


Legenda: 1 – plnící dopravník, 2 – sušící dopravníky, 3 – vstup horkého vzduchu, 4 – odsávací ventilátory, 5 – výpad usušeného materiálu (dle PROCHÁZKY, B., et al., 1986)

Příloha č. 3: Grafické znázornění závislosti (dle KOLÁŘ L., et. al., 1998)



Příloha č. 4: Vzor chromatogramu třapatky nachové. (dle VRCHOTOVÁ, N., et al., 2002)



Obr. 2. **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. 5: Výnos rostliny *Echinacea purpurea* v roce 2002 z plochy 0,25 m^2.

		zelená hmota						po usušení	
	počet rostlin	nať (g)	kořen (g)	počet listů	počet květů	výška cm	počet odnoží	nať (g)	kořen (g)
kontrola	**4**	**1545**	**438**	**553**	**83**	**105**	**57**		
	1	403	145	134	26	103	14		
	2	385	81	129	15	86	13		
	3	462	151	152	24	114	16		
	4	295	61	138	18	117	14		
								561	139
nízká koncentrace	**4**	**989**	**310**	**142**	**56**	**103**	**40**		
	1	252	42	33	12	95	9		
	2	226	75	37	11	100	5		
	3	268	92	41	23	96	18		
	4	243	101	31	10	121	8		
								374	112
střední koncentrace	**4**	**1064**	**300**	**205**	**63**	**103**	**39**		
	1	351	123	52	22	104	8		
	2	191	32	36	13	90	11		
	3	301	84	53	20	112	17		
	4	221	61	64	8	102	3		
								407	102
vysoká koncentrace	**4**	**1174**	**268**	**194**	**70**	**108**	**30**		
	1	326	91	56	26	112	10		
	2	292	82	49	16	111	6		
	3	192	39	43	11	102	7		
	4	364	56	46	17	107	7		
								429	87
Celkem		4772	1316	1094	272		77	1771	440

Příloha č. 6: Výnos rostliny *Echinacea purpurea* v roce 2003 z plochy 0,25 m^2.

		zelená hmota						po usušení	
	počet rostlin	nať (g)	kořen (g)	počet listů	počet květů	výška cm	počet odnoží	nať (g)	kořen (g)
kontrola	**4**	**832**	**257**	**317**	**46**	**95**	**32**		
	1	220	84	101	16	113	15		
	2	480	132	152	21	110	12		
	3	30	19	36	3	63	3		
	4	102	22	28	6	94	2		
								352	92
nízká koncentrace	**4**	**1436**	**308**	**439**	**66**	**96**	**56**		
	1	632	103	194	30	104	24		
	2	271	53	64	11	100	12		
	3	315	79	86	21	95	18		
	4	218	73	95	4	85	2		
								565	103
střední koncentrace	**4**	**760**	**355**	**274**	**53**	**91**	**45**		
	1	292	112	102	22	109	17		
	2	261	109	92	20	107	15		
	3	108	38	52	7	79	9		
	4	99	96	28	4	69	4		
								321	123
vysoká koncentrace	**4**	**705**	**259**	**310**	**38**	**104**	**33**		
	1	324	108	122	18	104	18		
	2	82	11	42	8	102	4		
	3	180	99	82	5	112	5		
	4	119	41	64	7	98	6		
								318	99
Celkem		4772	1316	1094	272		77	1771	440

Příloha č. 7: Výnos rostliny *Echinacea purpurea* v roce 2004 z plochy 0,25 m^2.

		zelená hmota						po usušení	
	počet rostlin	nať (g)	kořen (g)	počet listů	počet květů	výška cm	počet odnoží	nať (g)	kořen (g)
kontrola	**4**	**1275**	**338**	**335**	**63**	**105**	**37**		
	1	453	135	134	26	103	14		
	2	225	21	48	8	117	4		
	3	302	98	72	17	102	9		
	4	225	21	48	8	117	4		
								487	113
nízká koncentrace	**4**	**1174**	**310**	**242**	**66**	**108**	**40**		
	1	282	42	58	12	101	9		
	2	261	75	57	16	115	5		
	3	328	92	61	23	96	18		
	4	303	101	66	15	120	8		
								445	106
střední koncentrace	**4**	**1865**	**368**	**305**	**83**	**112**	**39**		
	1	502	143	72	22	114	8		
	2	391	63	66	18	107	11		
	3	504	85	83	25	122	17		
	4	468	77	84	18	105	3		
								748	126
vysoká koncentrace	**4**	**1375**	**268**	**194**	**70**	**107**	**30**		
	1	326	91	56	26	112	10		
	2	392	82	49	16	111	6		
	3	293	39	43	11	100	7		
	4	364	56	46	17	105	7		
								546	95
Celkem		**5689**	**1284**	**1076**	**282**		**148**	**2226**	**440**

Pozn.: Tučně u výšky je označená průměrná hodnota naměřených hodnot a u ostatních položek se jedná o celkový počet či množství.

Příloha č. 8: Množství kyseliny kaftarové v nadzemní hmotě v roce 2002.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny kaftarové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny kaftarové	SMODCH
1. 2. 3. 4.	Kontrolní vzorek	9485,92 10502,47 12663,65 11389,71	11010,44	100	1168,24
5. 6. 7. 8.	Nízká koncentrace	15238,91 13918,94 11917,61 14418,54	13873,50	126	1223,62
9 10. 11. 12.	Střední koncentrace	2106,74 2386,10 2736,56 3513,85	2685,81	24	527,58
13. 14. 15. 16.	Vysoká koncentrace	10943,20 4487,18 8346,13 6106,19	7470,67	68	2428,37

Příloha č. 9: Množství kyseliny kaftarové v nadzemní hmotě v roce 2003.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny kaftarové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny kaftarové	SMODCH
1. 2. 3. 4.	Kontrolní vzorek	9435,92 10542,47 11663,47 11389,71	10757,90	100	867,94
5. 6. 7. 8.	Nízká koncentrace	10934,12 4887,18 8646,13 6606,16	7768,40	72	2260,78
9 10. 11. 12.	Střední koncentrace	12106,74 12386,10 12736,56 13513,85	12685,81	118	527,58
13. 14. 15. 16.	Vysoká koncentrace	15382,91 13819,98 11719,62 14148,54	13767,76	128	1318,27

Příloha č. 10: Množství kyseliny kaftarové v nadzemní hmotě v roce 2004.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny kaftarové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny kaftarové	SMODCH
1. 2. 3. 4.	Kontrolní vzorek	9424,23 10634,73 10453,49 11265,13	10444,40	100	661,56
5. 6. 7. 8.	Nízká koncentrace	- 8487,69 8864,27 8646,55	8666,17	83	154,36
9 10. 11. 12.	Střední koncentrace	12231,02 12356,20 12543,56 -	12376,92	119	128,43
13. 14. 15. 16.	Vysoká koncentrace	15238,92 13918,73 11734,61 14381,56	13818,46	132	1292,99

Příloha č. 11: Množství kyseliny cichorové v nadzemní hmotě v roce 2002.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny cichorové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny cichorové	SMODCH
1. 2. 3. 4.	Kontrolní vzorek	16221,47 17415,72 21835,05 18860,61	18583,21	100	2097,16
5. 6. 7. 8.	Nízká koncentrace	30687,80 26907,78 22773,44 27281,46	26912,62	145	2807,17
9 10. 11. 12.	Střední koncentrace	4537,97 4991,48 4739,99 6157,75	5106,80	27	627,68
13. 14. 15. 16.	Vysoká koncentrace	22336,95 7216,43 19940,31 9968,09	14865,45	80	6404,47

Příloha č. 12: Množství kyseliny cichorové v nadzemní hmotě v roce 2003.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny cichorové v µg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v µg/g suché hmoty	% množství kyseliny cichorové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	15321,47	17320,71	100	2626,47
2.		14715,72			
3.		21385,05			
4.		17860,61			
5.	Nízká koncentrace	30587,80	26927,87	155	2698,40
6.		22973,44			
7.		26917,78			
8.		27232,46			
9	Střední koncentrace	21336,95	15615,45	90	4221,72
10.		12216,43			
11.		17940,31			
12.		10968,09			
13.	Vysoká koncentrace	4357,97	5186,80	30	856,07
14.		4797,48			
15.		4973,99			
16.		6617,75			

Příloha č. 13: Množství kyseliny cichorové v nadzemní hmotě v roce 2004.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny cichorové v µg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v µg/g suché hmoty	% množství kyseliny cichorové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	13521,45	17165,19	100	2434,63
2.		17115,18			
3.		20355,30			
4.		17668,81			
5.	Nízká koncentrace	29875,76	29011,39	169	622,30
6.		-			
7.		28435,89			
8.		28722,53			
9	Střední koncentrace	23136,20	16730,18	97	4719,57
10.		14162,29			
11.		18940,33			
12.		10681,91			
13.	Vysoká koncentrace	6235,93	5713,84	33	311,46
14.		5477,77			
15.		5473,86			
16.		5667,79			

Příloha č. 14: Množství kyseliny kávové v nadzemní hmotě v roce 2002.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny kávové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny kávové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	328,71	384,78	100	36,68
2.		388,66			
3.		431,61			
4.		390,13			
5.	Nízká koncentrace	514,80	464,71	121	43,83
6.		483,30			
7.		395,23			
8.		465,50			
9	Střední koncentrace	90,65	119,12	31	25,07
10.		103,63			
11.		125,38			
12.		156,85			
13.	Vysoká koncentrace	147,17	99,09	26	38,12
14.		53,62			
15.		124,53			
16.		71,05			

Příloha č. 15: Množství kyseliny kávové v nadzemní hmotě v roce 2003.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny kávové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny kávové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	382,71	394,93	100	11,65
2.		388,26			
3.		413,61			
4.		395,13			
5.	Nízká koncentrace	541,80	448,96	114	64,89
6.		438,30			
7.		359,23			
8.		456,50			
9	Střední koncentrace	93,65	120,62	31	27,25
10.		107,63			
11.		115,38			
12.		165,85			
13.	Vysoká koncentrace	174,17	105,14	27	45,33
14.		53,82			
15.		114,53			
16.		78,05			

Příloha č. 16: Množství kyseliny kávové v nadzemní hmotě v roce 2004.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny kávové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny kávové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	379,79	392,09	100	17,65
2.		391,91			
3.		420,87			
4.		375,77			
5.	Nízká koncentrace	547,69	449,50	115	68,31
6.		439,94			
7.		355,17			
8.		455,21			
9	Střední koncentrace	73,65	120,72	31	27,94
10.		127,56			
11.		135,78			
12.		145,89			
13.	Vysoká koncentrace	58,24	106,10	27	43,19
14.		172,02			
15.		115,27			
16.		78,86			

Příloha č. 17: Množství kyseliny chlorogenové v nadzemní hmotě v roce 2002.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny chlorogenové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny chloroge-nové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	41,83	50,34	100	5,84
2.		53,45			
3.		48,57			
4.		57,50			
5.	Nízká koncentrace	8,18	6,63	13	0,98
6.		6,78			
7.		5,73			
8.		5,83			
9	Střední koncentrace	5,34	5,69	11	1,56
10.		4,33			
11.		4,78			
12.		8,30			
13.	Vysoká koncentrace	89,26	53,66	107	24,10
14.		26,69			
15.		61,40			
16.		37,29			

Příloha č. 18: Množství kyseliny chlorogenové v nadzemní hmotě v roce 2003.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny chlorogenové v µg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v µg/g suché hmoty	% množství kyseliny chloroge-nové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	40,88	49,65	100	6,20
2.		52,45			
3.		47,57			
4.		57,70			
5.	Nízká koncentrace	8,62	6,68	13	1,21
6.		5,73			
7.		6,78			
8.		5,58			
9	Střední koncentrace	4,33	5,74	12	1,52
10.		5,34			
11.		4,98			
12.		8,30			
13.	Vysoká koncentrace	79,26	54,16	109	15,12
14.		46,69			
15.		51,40			
16.		39,29			

Příloha č. 19: Množství kyseliny chlorogenové v nadzemní hmotě v roce 2004.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny chlorogenové v µg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v µg/g suché hmoty	% množství kyseliny chloroge-nové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	40,77	49,59	100	5,49
2.		52,42			
3.		49,69			
4.		55,49			
5.	Nízká koncentrace	28,67	26,71	54	1,21
6.		25,86			
7.		26,70			
8.		25,59			
9	Střední koncentrace	-	46,27	93	6,27
10.		46,94			
11.		53,59			
12.		38,27			
13.	Vysoká koncentrace	14,39	14,76	30	0,43
14.		15,36			
15.		14,53			
16.		-			

Příloha č. 20: Množství kyseliny kaftarové v kořenu v roce 2002.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny kaftarové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny kaftarové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	-	7070,33	100	147,67
2.		7218,72			
3.		6868,88			
4.		7123,38			
5.	Nízká koncentrace	10173,97	8559,67	121	998,96
6.		8597,65			
7.		7831,63			
8.		7635,43			
9	Střední koncentrace	10008,50	10652,10	151	940,24
10.		10839,96			
11.		12101,20			
12.		9658,74			
13.	Vysoká koncentrace	6620,16	5551,69	79	828,01
14.		4303,93			
15.		5523,37			
16.		5759,28			

Příloha č. 21: Množství kyseliny kaftarové v kořenu v roce 2003.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny kaftarové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny kaftarové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	4918,97	5150,85	100	154,76
2.		5218,72			
3.		5342,34			
4.		5123,38			
5.	Nízká koncentrace	6820,16	5683,94	110	812,89
6.		4603,93			
7.		5352,37			
8.		5959,28			
9	Střední koncentrace	10088,50	10771,61	209	954,97
10.		10839,96			
11.		12301,20			
12.		9856,77			
13.	Vysoká koncentrace	10243,98	8653,67	168	1060,32
14.		8975,63			
15.		7831,63			
16.		7563,43			

Příloha č. 22: Množství kyseliny kaftarové v kořenu v roce 2004.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny kaftarové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny kaftarové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	5416,64	5285,56	100	98,97
2.		5168,98			
3.		5342,76			
4.		5213,87			
5.	Nízká koncentrace	6876,64	5931,10	112	603,09
6.		5615,25			
7.		5253,75			
8.		5978,77			
9	Střední koncentrace	11882,03	11077,98	210	1171,70
10.		10739,97			
11.		12365,20			
12.		9324,74			
13.	Vysoká koncentrace	10430,97	8609,44	163	1163,81
14.		8759,69			
15.		7881,66			
16.		7365,42			

Příloha č. 23: Množství kyseliny cichorové v kořenu v roce 2002.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny cichorové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny cichorové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	-	28908,86	100	1347,59
2.		29754,07			
3.		27006,99			
4.		29965,51			
5.	Nízká koncentrace	49600,60	43481,50	150	4041,80
6.		44554,37			
7.		39791,31			
8.		39979,71			
9	Střední koncentrace	44369,76	49211,73	170	4857,09
10.		53017,60			
11.		55016,53			
12.		44443,04			
13.	Vysoká koncentrace	25163,61	21243,68	73	3601,29
14.		15416,56			
15.		21590,05			
16.		22804,49			

Příloha č. 24: Množství kyseliny cichorové v kořenu v roce 2003.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny cichorové v µg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v µg/g suché hmoty	% množství kyseliny cichorové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	-	28875,86	100	1243,74
2.		27116,99			
3.		29745,07			
4.		29765,51			
5.	Nízká koncentrace	46612,60	42528,00	147	2774,82
6.		43554,37			
7.		39971,31			
8.		39973,71			
9	Střední koncentrace	41693,76	48691,23	169	5046,86
10.		50317,60			
11.		55610,53			
12.		47143,04			
13.	Vysoká koncentrace	25361,61	21072,93	73	3980,28
14.		14561,56			
15.		21950,05			
16.		22418,49			

Příloha č. 25: Množství kyseliny cichorové v kořenu v roce 2004.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny cichorové v µg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v µg/g suché hmoty	% množství kyseliny cichorové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	17379,00	21237,14	100	2845,45
2.		23293,95			
3.		19724,46			
4.		24551,13			
5.	Nízká koncentrace	43612,58	42497,79	200	2792,94
6.		46557,44			
7.		39697,25			
8.		40123,89			
9	Střední koncentrace	40936,78	48740,14	230	4739,78
10.		51031,07			
11.		53561,27			
12.		49431,42			
13.	Vysoká koncentrace	23536,13	22425,34	80	1763,45
14.		19786,23			
15.		21950,05			
16.		24428,94			

Příloha č. 26: Množství kyseliny kávové v kořenu v roce 2002.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny kávové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny kávové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	482,56	637,75	100	93,53
2.		672,31			
3.		663,13			
4.		733,00			
5.	Nízká koncentrace	754,81	745,91	117	29,47
6.		728,64			
7.		710,96			
8.		789,21			
9	Střední koncentrace	796,69	851,65	134	62,59
10.		894,87			
11.		930,71			
12.		784,33			
13.	Vysoká koncentrace	68,39	56,07	9	10,33
14.		39,79			
15.		56,96			
16.		59,16			

Příloha č. 27: Množství kyseliny kávové v kořenu v roce 2003.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny kávové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny kávové	SMODCH
1.	Kontrolní vzorek	428,56	606,11	100	110,49
2.		627,31			
3.		636,13			
4.		732,43			
5.	Nízká koncentrace	745,81	761,66	126	30,68
6.		782,64			
7.		719,96			
8.		798,21			
9	Střední koncentrace	796,01	854,38	141	63,50
10.		895,15			
11.		937,01			
12.		789,33			
13.	Vysoká koncentrace	66,39	56,82	9	6,02
14.		49,79			
15.		54,96			
16.		56,16			

Příloha č. 28: Množství kyseliny kávové v kořenu v roce 2004.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny kávové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny kávové	SMODCH
1. 2. 3. 4.	Kontrolní vzorek	412,29 633,06 623,27 745,31	603,48	100	120,35
5. 6. 7. 8.	Nízká koncentrace	738,50 779,49 727,74 797,14	760,72	126	28,55
9 10. 11. 12.	Střední koncentrace	696,53 897,54 953,54 878,58	856,55	142	96,41
13. 14. 15. 16.	Vysoká koncentrace	76,53 47,89 58,89 56,36	59,92	10	10,42

Příloha č. 29: Množství kyseliny chlorogenové v kořenu v roce 2002.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny chlorogenové v μg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v μg/g suché hmoty	% množství kyseliny chloroge-nové	SMODCH
1. 2. 3. 4.	Kontrolní vzorek	8,26 9,39 7,63 7,07	8,09	100	0,86
5. 6. 7. 8.	Nízká koncentrace	12,81 10,41 10,86 -	11,36	140	1,04
9 10. 11. 12.	Střední koncentrace	18,49 19,17 16,17 15,23	17,26	213	1,62
13. 14. 15. 16.	Vysoká koncentrace	5,72 4,76 3,90 4,80	4,79	59	0,64

Příloha č. 30: Množství kyseliny chlorogenové v kořenu v roce 2003.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny chlorogenové v µg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v µg/g suché hmoty	% množství kyseliny chloroge-nové	SMODCH
1. 2. 3. 4.	Kontrolní vzorek	8,42 9,89 6,63 7,07	8,00	100	1,27
5. 6. 7. 8.	Nízká koncentrace	12,79 10,71 10,56 7,11	10,29	129	2,04
9 10. 11. 12.	Střední koncentrace	18,88 19,82 16,32 15,73	17,69	221	1,71
13. 14. 15. 16.	Vysoká koncentrace	5,87 6,38 3,90 4,58	5,18	65	0,99

Příloha č. 31: Množství kyseliny chlorogenové v kořenu v roce 2004.

Vzorek číslo	Koncentrace elicitoru	Obsah kyseliny chlorogenové v µg/g suché hmoty	Aritmetický prům.v µg/g suché hmoty	% množství kyseliny chloroge-nové	SMODCH
1. 2. 3. 4.	Kontrolní vzorek	8,38 9,94 6,51 7,23	8,02	100	1,30
5. 6. 7. 8.	Nízká koncentrace	11,61 12,26 10,51 8,11	10,62	133	1,58
9 10. 11. 12.	Střední koncentrace	19,19 19,67 16,75 15,79	17,85	223	1,62
13. 14. 15. 16.	Vysoká koncentrace	5,82 6,35 4,91 4,25	5,33	67	0,81

Pozn. Dle DIXONA, W. J., 1951 byla data, která nejsou v příloze č. 8 - 31 u obsahu kyselin v μg/g suché hmoty vyplněna a jsou proškrtlá, podrobena sledování na odlehlost pomocí Dixonova testu a byla vyhodnocena jako data odlehlá.

Příloha č. 32: Výnos jednotlivých částí rostlin v neusušeném stavu v roce 2002 z plochy 0,25 m^2 a výpočet aritmetického průměru a SMODCH.

Koncentrace elicitoru	Část rostliny	Počet rostlin				Aritmetický průměr	%	SMODCH
		1.	2.	3.	4.			
Kontrolní vzorek	nať (cm)	403	385	462	295	386,3	100	59,89
	kořen (g)	145	81	151	61	109,5	100	32,20
	počet listů	134	129	152	138	138,3	100	8,55
	počet květů	26	15	24	18	20,8	100	4,44
	výška (cm)	103	86	114	117	105	100	12,14
	počet odnoží	14	13	16	14	14,3	100	1,09
Nízká koncentrace	nať (cm)	252	226	268	243	247,3	64	15,19
	kořen (g)	42	75	92	101	77,5	71	22,52
	počet listů	33	37	41	31	35,5	26	3,84
	počet květů	12	11	-	10	11	53	0,82
	výška (cm)	95	100	96	-	97	92	2,16
	počet odnoží	9	5	18	8	10	70	4,85
Střední koncentrace	nať (cm)	351	191	301	221	266	69	63,44
	kořen (g)	123	32	84	61	75	68	33,28
	počet listů	52	36	53	64	51,3	37	9,98
	počet květů	22	13	20	8	15,8	76	5,58
	výška (cm)	104	90	112	102	102	97	7,87
	počet odnoží	8	11	17	3	9,8	68	5,07
Vysoká koncentrace	nať (cm)	326	292	192	364	293,5	76	63,89
	kořen (g)	91	82	39	56	67	61	20,65
	počet listů	56	49	43	46	48,5	35	4,82
	počet květů	26	16	11	17	17,5	84	5,41
	výška (cm)	112	111	102	107	108	102	3,94
	počet odnoží	10	6	7	7	7,5	53	1,5

Příloha č. 33 : Výnos jednotlivých částí rostliny v neusušeném stavu v roce 2003 z plochy 0,25 m^2 a výpočet aritmetického průměru a SMODCH.

Koncentrace elicitoru	Část rostliny	Rostlina				Aritmetický průměr	%	SMODCH
		1.	2.	3.	4.			
Kontrolní vzorek	nať (cm)	220	480	30	102	208	100	171,06
	kořen (g)	84	132	19	22	64,3	100	46,94
	počet listů	101	152	36	28	79,3	100	50,65
	počet květů	16	21	3	6	11,5	100	7,30
	výška (cm)	113	110	63	94	95	100	19,84
	počet odnoží	15	12	3	2	8	100	5,61
Nízká koncentrace	nať (cm)	-	271	315	218	268	129	39,66
	kořen (g)	103	53	79	73	77	120	17,83
	počet listů	194	64	86	95	109,8	138	49,93
	počet květů	30	11	21	4	16,5	143	9,86
	výška (cm)	104	100	95	85	96	101	7,11
	počet odnoží	24	12	18	2	14	175	8,12
Střední koncentrace	nať (cm)	293	261	108	99	190	91	87,25
	kořen (g)	112	109	-	96	105,7	164	6,94
	počet listů	102	92	52	28	68,5	86	29,94
	počet květů	22	20	7	4	13,3	115	7,85
	výška (cm)	109	107	79	69	91	96	17,38
	počet odnoží	17	15	9	4	11,3	141	5,12
Vysoká koncentrace	nať (cm)	324	82	180	119	176,3	85	92,20
	kořen (g)	108	11	99	41	64,8	101	40,30
	počet listů	122	42	82	64	77,5	98	29,34
	počet květů	-	8	5	7	6,67	58	1,25
	výška (cm)	104	102	112	98	104	109	5,09
	počet odnoží	-	4	5	6	5	63	0,82

Příloha č. 34 : Výnos jednotlivých částí rostliny v neusušeném stavu v roce 2004 z plochy 0,25 m^2 a výpočet aritmetického průměru a SMODCH.

Koncentrace elicitoru	Část rostliny	Počet rostlin				Aritmetický průměr	%	SMODCH
		1.	2.	3.	4.			
Kontrolní vzorek	nať (cm)	453	225	302	225	301,3	100	93,08
	kořen (g)	135	21	98	21	68,8	100	49,51
	počet listů	-	48	72	48	56	100	11,31
	počet květů	26	8	17	8	14,8	100	7,46
	výška (cm)	103	117	102	117	109,8	100	7,26
	počet odnoží	14	4	9	4	7,8	100	4,15
Nízká koncentrace	nať (cm)	282	261	328	303	293,5	97	24,84
	kořen (g)	42	75	92	101	77,5	113	22,52
	počet listů	58	57	61	66	60,5	108	3,5
	počet květů	12	16	23	15	16,5	112	4,03
	výška (cm)	101	115	96	120	108	98	9,82
	počet odnoží	9	5	18	8	10	129	4,85
Střední koncentrace	nať (cm)	502	391	504	468	446,3	155	45,74
	kořen (g)	143	63	85	77	92	134	30,48
	počet listů	72	66	83	84	76,3	136	7,56
	počet květů	22	18	25	18	20,8	141	2,95
	výška (cm)	114	107	122	105	112	102	6,67
	počet odnoží	8	11	17	3	9,8	126	5,07
Vysoká koncentrace	nať (cm)	326	392	293	364	343,8	114	37,51
	kořen (g)	91	82	39	56	67	97	20,65
	počet listů	56	49	43	46	48,5	87	4,82
	počet květů	26	16	11	17	17,5	119	5,41
	výška (cm)	112	111	100	105	107	97	4,85
	počet odnoží	10	6	7	7	7,5	97	1,5

Pozn. Dle DIXONA, 1951 byla data, která nejsou u výnosů jednotlivých částí rostliny vyplněna a jsou proškrtlá, podrobena sledování na odlehlost pomocí Dixonova testu a byla vyhodnocena jako data odlehlá.

Příloha č. 35 : Statistické vyhodnocení obsahu kyseliny kaftarové v kořenu

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	7070,32667	32707,9985	3
B	8559,67	1,33E+06	4
C	10652,1	1,18E+06	4
D	5551,685	914142,93	4

F = 19,84966
p = 9,567E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	5150,8525	31932,5641	4
B	5683,935	881056,09	4
C	10771,6075	1,22E+06	4
D	8653,6675	1,50E+06	4

F = 30,62712
p = 6,61398E-6

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	5285,5625	13061,3863	4
B	5931,1025	484960,855	4
C	11077,985	1,83E+06	4
D	8609,435	1,81E+06	4

F = 27,33916
p = 1,19651E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. kaftarové oproti kontrole – porovnání mezi roky při nízké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	121,0647	266,1676	4
B	110,3494	332,0817	4
C	112,2133	173,5898	4

F = 0,50954
p = 0,61712

At the 0,1 level,the means are NOT significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. kaftarové oproti kontrole – porovnání mezi roky při střední koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	150,6593	235,7927	4
B	209,1228	458,3124	4
C	209,5895	655,2229	4

F = 10,21393
p = 0,00484

At the 0,05 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. kaftarové oproti kontrole – porovnání mezi roky při vysoké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	78,52093	182,8667	4
B	168,0046	565,0067	4
C	162,8859	646,4262	4

F = 21,73272
p = 3,58642E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	7070,327	32708	3
B	8559,67	1,33E+06	4

F = 4,68629
p = 0,08269

At the 0,1 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	7070,327	32708	3
B	10652,1	1,18E+06	4

F = 30,53205
p = 0,00266

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	7070,327	32708	3
B	5551,685	914142,9	4

F = 7,04029
p = 0,04524

At the 0,05 level,the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	5150,853	31932,56	4
B	5683,935	881056,1	4

F = 1,24504
p = 0,30719

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	5150,853	31932,56	4
B	10771,61	1,22E+06	4

F = 101,26773
p = 5,58757E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	5150,853	31932,56	4
B	8653,668	1,50E+06	4

F = 32,05732
p = 0,0013

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	5285,563	13061,39	4
B	5931,103	484960,9	4

F = 3,34701
p = 0,11707

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	5285,563	13061,39	4
B	11077,99	1,83E+06	4

F = 72,79814
p = 1,4209E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	5285,563	13061,39	4
B	8609,435	1,81E+06	4

F = 24,29504
p = 0,00263

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Příloha č. 36: Statistické vyhodnocení obsahu kyseliny cichorové v kořenu

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	28908,8567	2,72E+06	3
B	43481,4975	2,15E+07	4
C	49211,7325	3,15E+07	4
D	21243,6775	1,73E+07	4

F = 32,96684
p = 8,58028E-6

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	28875,8567	2,32E+06	3
B	42527,9975	1,03E+07	4
C	48691,2325	3,40E+07	4
D	21072,9275	2,11E+07	4

F = 33,92893
p = 7,44894E-6

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	21237,135	1,08E+07	4
B	42497,79	1,04E+07	4
C	48740,135	3,00E+07	4
D	22425,3375	4,15E+06	4

F = 56,52395
p = 2,37347E-7

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. cichorové oproti kontrole – porovnání mezi roky při nízké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	150,4089	257,1607	4
B	147,2787	123,1226	4
C	200,1108	230,6049	4

F = 17,2578
p = 8,32126E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. cichorové oproti kontrole – porovnání mezi roky při střední koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	170,2306	376,3828	4
B	168,6226	407,2975	4
C	229,5043	664,1447	4

F = 9,97707
p = 0,0052

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. cichorové oproti kontrole – porovnání mezi roky při vysoké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	73,48502	206,9163	4
B	72,97767	253,3362	4
C	105,5949	91,93372	4

F = 7,58871
p = 0,01172

At the 0,05 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	28908,86	2,72E+06	3
B	43481,5	2,15E+07	4

F = 26,03233
p = 0,00376

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	28908,86	2,72E+06	3
B	49211,73	3,15E+07	4

F = 35,39805
p = 0,00192

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	28908,86	2,72E+06	3
B	21243,68	1,73E+07	4

F = 8,7852
p = 0,03137

At the 0,05 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	28875,86	2,32E+06	3
B	42528	1,03E+07	4

F = 45,07879
p = 0,00111

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	28875,86	2,32E+06	3
B	48691,23	3,40E+07	4

F = 31,59445
p = 0,00247

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	28875,86	2,32E+06	3
B	21072,93	2,11E+07	4

F = 7,6734
p = 0,03936

At the 0,05 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	21237,14	1,08E+07	4
B	42497,79	1,04E+07	4

F = 85,30152
p = 9,09649E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	21237,14	1,08E+07	4
B	48740,14	3,00E+07	4

F = 74,2503
p = 1,34441E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	21237,14	1,08E+07	4
B	22425,34	4,15E+06	4

F = 0,37795
p = 0,56128

At the 0,10 level, the means are NOT significantly different.

Příloha č. 37: Statistické vyhodnocení obsahu kyseliny chlorogenové v kořenu

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	8,0875	0,99029	4
B	11,36	1,6275	3
C	17,265	3,48997	4
D	4,795	0,55263	4

F = 67,56793
p = 2,2625E-7

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	8,0025	2,16343	4
B	10,2925	5,53723	4
C	17,6875	3,89049	4
D	5,1825	1,30482	4

F = 35,58414
p = 2,98404E-6

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	8,015	2,24003	4
B	10,6225	3,32729	4
C	17,85	3,52053	4
D	5,3325	0,87442	4

F = 46,52625
p = 6,97025E-7

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. chlorogenové oproti kontrole – porovnání mezi roky při nízké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	140,4828	247,66	3
B	128,6401	863,4671	4
C	132,5328	517,9452	4

F = 0,21036
p = 0,81464

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. chlorogenové oproti kontrole – porovnání mezi roky při střední koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	213,4985	532,7391	4
B	221,0553	607,2039	4
C	222,7074	548,0263	4

F = 0,17138
p = 0,84519

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. chlorogenové oproti kontrole – porovnání mezi roky při vysoké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	59,28366	84,87106	4
B	64,77996	204,5233	4
C	66,5315	136,118	4

F = 0,40332
p = 0,6796

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	8,0875	0,99029	4
B	11,36	1,6275	3

F = 14,74389
p = 0,01213

At the 0,05 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	8,0875	0,99029	4
B	17,265	3,48997	4

F = 75,1979
p = 1,29744E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	8,0875	0,99029	4
B	4,795	0,55263	4

F = 28,10391
p = 0,00183

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	8,0025	2,16343	4
B	10,2925	5,53723	4

F = 2,72398
p = 0,14994

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	8,0025	2,16343	4
B	17,6875	3,89049	4

F = 61,97589
p = 2,22416E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	8,0025	2,16343	4
B	5,1825	1,30482	4

F = 9,17166
p = 0,02314

At the 0,05 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	8,015	2,24003	4
B	10,6225	3,32729	4

F = 4,88497
p = 0,06912

At the 0,1 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	8,015	2,24003	4
B	17,85	3,52053	4

F = 67,16508
p = 1,77919E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	8,015	2,24003	4
B	5,3325	0,87442	4

F = 9,24181
p = 0,0228

At the 0,05 level, the means are significantly different.

Příloha č. 38: Statistické vyhodnocení obsahu kyseliny kávové v kořenu

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	637,75	11665,01	4
B	745,905	1157,952	4
C	851,65	5223,679	4
D	56,075	142,387	4

F = 111,11339
p = 5,08503E-9

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	606,1075	16277,13	4
B	761,655	1255,392	4
C	854,375	5376,156	4
D	56,825	48,3003	4

F = 88,80446
p = 1,84513E-8

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	603,4825	19312	4
B	760,7175	1086,713	4
C	856,5475	12392,99	4
D	59,9175	144,7825	4

F = 61,49822
p = 1,48102E-7

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. kávové oproti kontrole – porovnání mezi roky při nízké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	116,9593	28,47278	4
B	125,6635	34,1801	4
C	126,0546	29,83908	4

F = 3,43037
p = 0,0781

At the 0,1 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. kávové oproti kontrole – porovnání mezi roky při střední koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	133,5401	128,4344	4
B	140,9612	146,3498	4
C	141,9341	340,288	4

F = 0,41127
p = 0,67466

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. kávové oproti kontrole – porovnání mezi roky při vysoké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	8,79246	3,50015	4
B	9,37519	1,31411	4
C	9,92862	3,97545	4

F = 0,44068
p = 0,65677

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	637,75	11665,01	4
B	745,905	1157,952	4

F = 3,64892
p = 0,10468

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	637,75	11665,01	4
B	851,65	5223,679	4

F = 10,83641
p = 0,01658

At the 0,05 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	637,75	11665,01	4
B	56,075	142,387	4

F = 114,62162
p = 3,92013E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	606,1075	16277,13	4
B	761,655	1255,392	4

F = 5,52003
p = 0,0571

At the 0,1 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	606,1075	16277,13	4
B	854,375	5376,156	4

F = 11,38612
p = 0,01496

At the 0,05 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	606,1075	16277,13	4
B	56,825	48,3003	4

F = 73,92425
p = 1,3611E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	603,4825	19312	4
B	760,7175	1086,713	4

F = 4,84792
p = 0,06993

At the 0,1 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	603,4825	19312	4
B	856,5475	12392,99	4

F = 8,07973
p = 0,02947

At the 0,05 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	603,4825	19312	4
B	59,9175	144,7825	4

F = 60,74241
p = 2,35132E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Příloha č. 39: Statistické vyhodnocení obsahu kyseliny kaftarové v nadzemní hmotě

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	11010,44	1,82E+06	4
B	13873,5	2,00E+06	4
C	2685,813	371124,7	4
D	7470,675	7,86E+06	4

F = 30,88093
p = 6,33296E-6

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	10444,4	583550,9	4
B	8666,17	35741,83	3
C	12376,93	24742,51	3
D	13818,46	2,23E+06	4

F = 20,37217
p = 1,39814E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	10757,89	1,00E+06	4
B	7768,398	6,81E+06	4
C	12685,81	371124,7	4
D	13767,76	2,32E+06	4

F = 10,53946
p = 0,00111

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. kaftarové oproti kontrole – porovnání mezi roky při nízké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	126,0031	164,6727	4
B	72,21111	588,8434	4
C	82,97436	3,2765	3

F = 11,21259
p = 0,00478

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. kaftarové oproti kontrole – porovnání mezi roky při střední koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	24,39333	30,61333	4
B	117,921	32,06751	4
C	118,503	2,26819	3

F = 464,96614
p = 5,29266E-9

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. kaftarové oproti kontrole – porovnání mezi roky při vysoké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	67,8508	648,5728	4
B	127,9782	200,2121	4
C	132,305	204,3437	4

F = 14,79091
p = 0,00143

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	11010,44	1,82E+06	4
B	13873,5	2,00E+06	4

F = 8,59228
p = 0,02624

At the 0,05 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	11010,44	1,82E+06	4
B	2685,813	371124,7	4

F = 126,52573
p = 2,95065E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	11010,44	1,82E+06	4
B	7470,675	7,86E+06	4

F = 5,17639
p = 0,06322

At the 0,1 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	10757,89	1,00E+06	4
B	7768,398	6,81E+06	4

F = 4,57184
p = 0,07634

At the 0,1 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	10757,89	1,00E+06	4
B	12685,81	371124,7	4

F = 10,80839
p = 0,01666

At the 0,05 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	10757,89	1,00E+06	4
B	13767,76	2,32E+06	4

F = 10,90981
p = 0,01635

At the 0,05 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	10444,4	583550,9	4
B	12376,93	24742,51	3

F = 17,78282
p = 0,00835

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	10444,4	583550,9	4
B	8666,17	35741,83	3

F = 14,87462
p = 0,01192

At the 0,05 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	10444,4	583550,9	4
B	13818,46	2,23E+06	4

F = 16,19016
p = 0,00693

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Příloha č. 40: Statistické vyhodnocení obsahu kyseliny cichorové v nadzemní hmotě

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	18583,21	5,86E+06	4
B	26912,62	1,05E+07	4
C	5106,798	525303,9	4
D	14865,45	5,47E+07	4

F = 18,26564
p = 9,06684E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	17320,71	9,20E+06	4
B	26927,87	9,71E+06	4
C	15615,45	2,38E+07	4
D	5186,798	977145,1	4

F = 29,07666
p = 8,68376E-6

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	17165,19	7,90E+06	4
B	29011,39	580887,9	3
C	16730,18	2,97E+07	4
D	5713,838	129339,3	4

F = 30,03299
p = 1,35249E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys.cichorové oproti kontrole – porovnání mezi roky při nízké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	144,8222	304,2528	4
B	155,4663	323,6083	4
C	169,013	19,71494	3

F = 2,08711
p = 0,18646

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys.cichorové oproti kontrole – porovnání mezi roky při střední koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	27,4807	15,21137	4
B	90,15476	792,113	4
C	97,46579	1007,969	4

F = 9,78288
p = 0,00553

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys.cichorové oproti kontrole – porovnání mezi roky při vysoké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	79,99395	1583,668	4
B	29,94563	32,57068	4
C	33,28736	4,38969	4

F = 5,79714
p = 0,02411

At the 0,05 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	18583,21	5,86E+06	4
B	26912,62	1,05E+07	4

F = 16,95165
p = 0,00624

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	18583,21	5,86E+06	4
B	5106,798	525303,9	4

F = 113,69706
p = 4,01228E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	18583,21	5,86E+06	4
B	14865,45	5,47E+07	4

F = 0,91303
p = 0,37621

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	17320,71	9,20E+06	4
B	26927,87	9,71E+06	4

F = 19,52739
p = 0,00448

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	17320,71	9,20E+06	4
B	15615,45	2,38E+07	4

F = 0,35289
p = 0,57418

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	17320,71	9,20E+06	4
B	5186,798	977145,1	4

F = 57,88039
p = 2,68612E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	17165,19	7,90E+06	4
B	29011,39	580887,9	3

F = 48,36253
p = 9,44776E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	17165,19	7,90E+06	4
B	16730,18	2,97E+07	4

F = 0,02013
p = 0,89182

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	17165,19	7,90E+06	4
B	5713,838	129339,3	4

F = 65,30059
p = 1,92411E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Příloha č. 41: Statistické vyhodnocení obsahu kyseliny chlorogenové v nadzemní hmotě

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	50,3375	45,49689	4
B	6,63	1,29167	4
C	5,6875	3,20409	4
D	53,66	774,2085	4

F = 13,63596
p = 3,58273E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	49,65	51,29393	4
B	6,6775	1,96202	4
C	5,7375	3,09309	4
D	54,16	304,8485	4

F = 30,99133
p = 6,21508E-6

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	49,5925	40,20709	4
B	26,705	1,9395	4
C	54,18	289,8271	4
D	14,76	0,2749	3

F = 13,66751
p = 4,97976E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. chlorogenové oproti kontrole – porovnání mezi roky při nízké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	13,17247	5,06953	4
B	13,45243	7,92879	4
C	53,84887	7,88602	4

F = 314,73541
p = 4,68766E-9

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. chlorogenové oproti kontrole – porovnání mezi roky při střední koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	11,29781	12,68762	4
B	11,55534	12,58827	4
C	93,29368	239,9579	3

F = 105,25118
p = 1,79695E-6

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. chlorogenové oproti kontrole – porovnání mezi roky při vysoké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	106,6055	3055,306	4
B	109,0887	1236,686	4
C	29,76256	1,11775	3

F = 4,13576
p = 0,05843

At the 0,1 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	50,3375	45,49689	4
B	6,63	1,29167	4

F = 163,31733
p = 1,40947E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	50,3375	45,49689	4
B	5,6875	3,20409	4

F = 163,74392
p = 1,39883E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	50,3375	45,49689	4
B	53,66	774,2085	4

F = 0,05387
p = 0,82418

At the 0,10 level, the means are NOT significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	49,65	51,29393	4
B	6,6775	1,96202	4

F = 138,6989
p = 2,26349E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	49,65	51,29393	4
B	5,7375	3,09309	4

F = 141,82115
p = 2,12235E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	49,65	51,29393	4
B	54,16	304,8485	4

F = 0,22845
p = 0,64959

At the 0,10 level, the means are NOT significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	49,5925	40,20709	4
B	26,705	1,9395	4

F = 49,71578
p = 4,07135E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	49,5925	40,20709	4
B	46,26667	59,01563	3

F = 0,39727
p = 0,55618

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	49,5925	40,20709	4
B	14,76	0,2749	3

F = 85,82692
p = 2,46322E-4

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Příloha č. 42: Statistické vyhodnocení obsahu kyseliny kávové v nadzemní hmotě

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	384,7775	1793,524	4
B	464,7075	2560,897	4
C	119,1275	837,7404	4
D	99,0925	1937,547	4

F = 77,0627
p = 4,14288E-8

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	394,9275	180,9332	4
B	448,9575	5613,742	4
C	120,6275	989,7771	4
D	105,1425	2740,308	4

F = 54,36836
p = 2,94714E-7

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	392,085	415,3177	4
B	449,5025	6221,141	4
C	120,72	1040,901	4
D	106,0975	2487,377	4

F = 50,49658
p = 4,439E-7

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. kávové oproti kontrole – porovnání mezi roky při nízké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	120,7724	172,9685	4
B	113,6804	359,9233	4
C	114,6442	404,678	4

F = 0,18939
p = 0,83068

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. kávové oproti kontrole – porovnání mezi roky při střední koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	30,9591	56,58408	4
B	30,54324	63,45819	4
C	30,78924	67,7094	4

F = 0,00279
p = 0,99721

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Relativní nárůst obsahu kys. kávové oproti kontrole – porovnání mezi roky při vysoké koncentraci elicitoru

Data	Mean	Variance	N
A	25,7532	130,8611	4
B	26,62325	175,6925	4
C	27,05982	161,801	4

F = 0,01134
p = 0,98874

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	384,7775	1793,524	4
B	464,7075	2560,897	4

F = 5,8688
p = 0,05168

At the 0,1 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	384,7775	1793,524	4
B	119,1275	837,7404	4

F = 107,27912
p = 4,73887E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2002

Data	Mean	Variance	N
A	384,7775	1793,524	4
B	99,0925	1937,547	4

F = 87,49865
p = 8,46499E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	394,9275	180,9332	4
B	448,9575	5613,742	4

F = 2,01512
p = 0,20554

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	394,9275	180,9332	4
B	448,9575	5613,742	4

F = 2,01512
p = 0,20554

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Efekt nízké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	392,085	415,3177	4
B	449,5025	6221,141	4

F = 1,98707
p = 0,20832

At the 0,1 level, the means are NOT significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	394,9275	180,9332	4
B	120,6275	989,7771	4

F = 257,07637
p = 3,73945E-6

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt střední koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	392,085	415,3177	4
B	120,72	1040,901	4

F = 202,27446
p = 7,55343E-6

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2003

Data	Mean	Variance	N
A	394,9275	180,9332	4
B	105,1425	2740,308	4

F = 114,98585
p = 3,8846E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Efekt vysoké koncentrace elicitoru v roce 2004

Data	Mean	Variance	N
A	392,085	415,3177	4
B	106,0975	2487,377	4

F = 112,70746
p = 4,11413E-5

At the 0,01 level, the means are significantly different.

Příloha č. 43: Vliv koncentrace elicitoru na výnos jednotlivých částí rostlin v roce 2002

Vliv koncentrace elicitoru na výnos natě v roce 2002.

Data	Mean	Variance	N
A	386,25	4782,25	4
B	247,25	307,5833	4
C	266	5366,667	4
D	293,5	5443,667	4

F = 3.82642
p = 0.03912

At the 0.05 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru na výnos kořenu v roce 2002.

Data	Mean	Variance	N
A	109,5	2049	4
B	77,5	676,3333	4
C	75	1476,667	4
D	67	568,6667	4

F = 1.17412
p = 0.36034

At the 0.05 level, the means are NOT significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru na počet listů v roce 2002.

Data	Mean	Variance	N
A	138,25	97,58333	4
B	35,5	19,66667	4
C	51,25	132,9167	4
D	48,5	31	4

F = 126.17072
p = 2.43634E-9

At the 0.05 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru na počet květů v roce 2002.

Data	Mean	Variance	N
A	20,75	26,25	4
B	11	1	3
C	15,75	41,58333	4
D	17,5	39	4

F = 1.92258
p = 0.18444

At the 0.05 level, the means are NOT significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru na výšku rostlin v roce 2002.

Data	Mean	Variance	N
A	105	196,6667	4
B	97	7	3
C	102	82,66667	4
D	108	20,66667	4

F = 0.90503
p = 0.46973

At the 0.05 level, the means are NOT significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru na počet odnoží v roce 2002.

Data	Mean	Variance	N
A	14,25	1,58333	4
B	10	31,33333	4
C	9,75	34,25	4
D	7,5	3	4

F = 1.80998
p = 0.19896

At the 0.05 level, the means are NOT significantly different.

Příloha č. 44: Vliv koncentrace elicitoru na výnos jednotlivých částí rostlin v roce 2003

Vliv koncentrace elicitoru na výnos natě v roce 2003.

Data	Mean	Variance	N
A	208	39016	4
B	268	2359	3
C	190	10150	4
D	176,25	11334,92	4

F = 0.31709
p = 0.81285

At the 0.05 level, the means are NOT significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru na počet květů v roce 2003.

Data	Mean	Variance	N
A	11,5	71	4
B	16,5	129,6667	4
C	13,25	82,25	4
D	6,66667	2,33333	3

F = 0.73863
p = 0.55074

At the 0.05 level, the means are NOT significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru na výnos kořenu v roce 2003.

Data	Mean	Variance	N
A	64,25	2937,583	4
B	77	424	4
C	105,6667	72,33333	3
D	64,75	2165,583	4

F = 0.81171
p = 0.51358

At the 0.05 level, the means are NOT significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru na výšku rostlin v roce 2003.

Data	Mean	Variance	N
A	95	524,6667	4
B	96	67,33333	4
C	91	402,6667	4
D	104	34,66667	4

F = 0.46114
p = 0.71457

At the 0.05 level, the means are NOT significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru na počet listů v roce 2003.

Data	Mean	Variance	N
A	79,25	3420,917	4
B	109,75	3324,25	4
C	68,5	1195,667	4
D	77,5	1147,667	4

F = 0.56797
p = 0.64659

At the 0.05 level, the means are NOT significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru na počet odnoží v roce 2003.

Data	Mean	Variance	N
A	8	42	4
B	14	88	4
C	11,25	34,91667	4
D	5	1	3

F = 1.18827
p = 0.35895

At the 0.05 level, the means are NOT significantly different.

Příloha č. 45: Vliv koncentrace elicitoru na výnos jednotlivých částí rostlin v roce 2004

Vliv koncentrace elicitoru na výnos natě v roce 2004.

Data	Mean	Variance	N
A	301,25	11552,25	4
B	293,5	823	4
C	466,25	2789,583	4
D	343,75	1876,25	4

F = 5.98281
p = 0.00983

At the 0.05 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru na počet květů v roce 2004.

Data	Mean	Variance	N
A	14,75	74,25	4
B	16,5	21,66667	4
C	20,75	11,58333	4
D	17,5	39	4

F = 0.69397
p = 0.57322

At the 0.05 level, the means are NOT significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru na výnos kořenu v roce 2004.

Data	Mean	Variance	N
A	68,75	3268,25	4
B	77,5	676,3333	4
C	92	1238,667	4
D	67	568,6667	4

F = 0.36294
p = 0.78097

At the 0.05 level, the means are NOT significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru na výšku rostlin v roce 2004.

Data	Mean	Variance	N
A	109,75	70,25	4
B	108	128,6667	4
C	112	59,33333	4
D	107	31,33333	4

F = 0.26561
p = 0.84889

At the 0.05 level, the means are NOT significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru na počet listů v roce 2004.

Data	Mean	Variance	N
A	56	192	3
B	60,5	16,33333	4
C	76,25	76,25	4
D	48,5	31	4

F = 7.91315
p = 0.00432

At the 0.05 level, the means are significantly different.

Vliv koncentrace elicitoru na počet odnoží v roce 2004.

Data	Mean	Variance	N
A	7,75	22,91667	4
B	10	31,33333	4
C	9,75	34,25	4
D	7,5	3	4

F = 0.29872
p = 0.8257

At the 0.05 level, the means are NOT significantly different.