

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Zemědělská fakulta

Katedra agroekologie – sekce agrochemie a pedologie

Studijní program: **M 4101 ZEMĚDĚLSKÉ INŽENÝRSTVÍ**

Studijní obor: **PROVOZNĚ PODNIKATELSKÝ OBOR**



VLIV ELICITORŮ NA OBSAH ÚČINNÝCH LÁTEK V HEŘMÁNKU PRAVÉM (MATRICARIA RECUTITA L.)

Vedoucí diplomové práce:

Prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.

Autor:

Šalát František

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Jméno a příjmení: František Š a l á t

Studijní program: 4101T Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Provozně podnikatelský obor

Název tématu: Studium vlivu elicitorů na obsah některých účinných látek v heřmánku lékařském (*Chamomilla recutita* L. Rauschert)

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :
(v zásadách pro vypracování uveďte cíl práce a metodický postup)

Cílem práce je studium účinku elicitorů na stimulatory rostlinné imunity ve smyslu ovlivnění obsahu účinných látek v heřmánku lékařském *Chamomilla recutita* L. Rauschert syn. heřmánek pravý *Matricaria chamomilla* L.

1. Proveďte literární rešerši: a) Vliv stimulatorů rostlinné imunity na obsah účinných látek
b) Botanická charakteristika, způsob pěstování, agrotechnika, hnojení heřmánku lékařského
c) Chemické složení a účinné látky rostliny heřmánku lékařského
2. Popište metody ke stanovení některých účinných látek v heřmánku lékařském
3. Proveďte vybranou metodu (metody) stanovení některých účinných látek v heřmánku lékařském z pohledu studia působení elicitorů.
4. Vypracujte technologický návrh pro pěstování této rostliny na ploše 1-5 ha včetně jednoduché analytické kontroly jakosti produktu a ekonomické kalkulace.
5. Diplomovou práci vypracujte v souladu s materiálem „Obecné zásady pro vypracování diplomové práce“

Rozsah grafických prací: dle potřeby po dohodě s vedoucím práce

Rozsah průvodní zprávy: cca 50 stran

Seznam odborné literatury:

Tyl. M. (1986): Heřmánek lékařský. Léčivé rostliny. 39 s.

Jakovlevic M. et al. (2000): Influence of selenium on the yield and quality of chamomile [*Chamomilla recutita* (L.) Raush. Rostlinná výroba 46:(3), 123-126

Franz C., Holz J., Kirsch C (1983): Influence of nitrogen, phosphorus and potassium fertilization on camomile (*Chamomilla recutita* (L) Rauschert, syn. *Matricaria chamomilla*

(L). Effect on the Essential oil. Gartenbauwissenschaft 48:(1) 17-22

Repcak M., Imrich J., Franekova M. (2001): Umbelliferone, a stress metabolite of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert. Journal of plant physiology 158:(8) 1085-1087

Fahlen A. et al. (1997): Effects of light-temperature regimes on plant growth and essential oil yield of selected aromatic plants. J. of the Sci of food and Agriculture 73:(1) 111-119

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

Konzultant: Martin Grbavčić SEVA Flora Valtice s.r.o.

Datum zadání diplomové práce: 8.3. 2004

Termín odevzdání diplomové práce: 30. 4. 2006

L.S.

Prof. Ing. Rostislav Ledvina, CSc.
Vedoucí katedry

Doc. Ing. Magdaléna Hrabánková, CSc.
Děkan

V Českých Budějovicích dne 8. 3.

2004

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „**Vliv elicitorů na obsah účinných látek v Heřmánku pravém (*Matricaria recutita L.*)**“ vypracoval samostatně na základě vlastních zjištění a materiálů, které uvádím v seznamu literatury.

V Českých Budějovicích, 26. října 2007

.....

Podpis

Tímto bych rád poděkoval svému školiteli panu Prof. Ing. Stanislavu Kuželovi, CSc. za metodické vedení, trpělivost, nadhled a podporu, které mi prokazoval během zpracování této diplomové práce. Také děkuji panu Ing. Milanu Kobesovi, Ph.D. za čas a pomoc, které mi věnoval při statistickém zpracování dat.

OBSAH:

1.	Úvod	str. 11
2.	Literární rešerše	str. 12
2.1.	Heřmánek pravý [(<i>Matricaria recutita</i> L.) Rauschert]	str. 12
2.1.1.	Zařazení	str. 12
2.1.2.	Nomenklaturická a taxonomická poznámka	str. 12
2.1.3.	Popis	str. 13
2.1.4.	Výskyt	str. 14
2.1.5.	Farmaceutické využití heřmánku	str. 14
2.1.6.	Účinné látky	str. 15
2.1.7.	Použití a léčivé účinky	str. 16
2.1.8.	Nároky na půdu a podnebí	str. 18
2.1.9.	Kultivace a ochrana heřmánkových kultur	str. 19
2.1.10.	Sklizeň a třídění heřmánku	str. 20
2.1.11.	Sušení a expedice drogy	str. 21
2.1.12.	Cena sušené drogy	str. 23
2.2.	Elicitory	str. 24
2.2.1.	Elicitory obecně	str. 24
2.2.2.	Elicitace homogenáty mikroorganismů	str. 25
2.2.3.	Elicitace organickými činidly	str. 27
2.2.4.	Elicitace anorganickými činidly	str. 29
3.	Cíle a metodika práce	str. 31
3.1.	Cíl práce	str. 31
3.2.	Metodika vypracování práce	str. 31
4.	Agrotechnika	str. 32
4.1.	Charakteristika stanoviště	str. 32
4.2.	Příprava pozemku	str. 32
4.3.	Setí	str. 33

4.4.	Ošetřování porostu	str. 33
4.5.	Postřik elicitory	str. 34
4.6.	Sběr	str. 35
4.7.	Sušení	str. 37
5.	Příprava extraktů	str. 38
5.1.	Homogenizace	str. 38
5.2.	Vážení	str. 38
5.3.	Extrakce	str. 39
6.	Měření	str. 40
6.1.	Princip	str. 40
6.2.	Přístroje a pomůcky	str. 40
6.3.	Chemikálie a roztoky	str. 41
6.4.	Metodika	str. 41
6.5.	Tabulky a grafy	str. 42
7.	Výsledky	str. 48
7.1.	Tabulky	str. 48
7.2.	Grafy	str. 52
7.3.	Vyhodnocení	str. 54
8.	Diskuze	str. 60
9.	Závěr	str. 63
10.	Summary	str. 65
11.	Seznam použité literatury	str. 66

1. Úvod

Současná vyspělá společnost si již začala uvědomovat důležitost trvale udržitelného hospodaření s půdou, což je naprosto nejhůře obnovitelný element na naší planetě, současně však s tímto trendem jde ruku v ruce snaha minimalizovat vstupy a maximalizovat výstupy z pěstovaných plodin a zisky z toho plynoucí. Tyto důvody jednoznačně určují směr, kterým se moderní zemědělství musí ubírat. A je naprosto zřejmé, že věda musí do naší nedaleké budoucnosti přijít s efektivním řešením, alespoň části těchto problémů. Dá se předpokládat, že právě studium elicitorů a jejich elicitačního vlivu na rostliny je jednou z cest, kterou je nutno podrobit důkladnému zkoumání.

Elicitory jsou cizorodé látky – stresory nebo také aktivátory imunitní reakce rostlin, tato uměle vyvolaná imunitní reakce rostliny může vést ke zvýšení výnosu jednotlivých výnosových prvků, k podpoře efektivnějšího ukládání látek v rostlině, podpoření imunity a odolnosti rostlin proti nemocem, ale i zvýšené tvorbě sekundárních metabolitů, což je předmětem této práce. Avšak práce s elicitory je velice složitá, neboť při volbě nevhodného elicitoru či nedodržení optimálních aplikačních dávek, přičemž obojí je v současné době předmětem intenzivního výzkumu po celém světě, může dojít k nežádoucím efektům od snížení výnosů či obsahu požadovaných látek, přes sníženou imunitu a náchylnost k chorobám až k mutagenním změnám či dokonce odumření rostliny. Elicitory skýtají další nebezpečí, kterými je například toxicita pro opylovače či nebezpečná kumulace použité elicitační látky a její následná neodbouratelnost z rostliny, což může být velice nebezpečné pro cílového konzumenta.

V rámci medicínského, farmaceutického a v neposlední řadě i kosmetického průmyslu je v dnešní době zvýšený zájem o bylinné preparáty s vysokým obsahem specificky účinných látek. A právě zde se otevírá prostor k využití elicitorů a odhalení jejich doposud skrytého potenciálu, neboť tyto typy průmyslu jsou ochotny zaplatit za získání technologií vedoucích k produkci kvalitních rostlinných preparátů s vysokým obsahem účinných látek, které jsou jedněmi ze základních surovin při výrobě léčiv, potravinových doplňků, kosmetiky či parfémů.

2. Literární rešerše

2.1. Heřmánek pravý [*(Matricaria recutita L.) Rauschert*]

2.1.1. Zařazení

Čeľad': Asteraceae – hvězdicovité (složnokvěté)

Heřmánek lékařský [*(Chamomilla recutita L.) Rauschert*] (syn: heřmánek pravý, *Matricaria chamomilla L.*) je z typických představitelů rozsáhlé čeledi hvězdicovitých (*Asteraceae*). Rod *Chamomilla* zahrnuje dva druhy, z nichž má prokázanou farmaceutickou hodnotu jen heřmánek lékařský. Tento je u nás reprezentován odrůdou Bohemia, uznanou v roce 1952 a druhou povolenou odrůdou u nás je Bona (Jirásek, et. al. 1986).

Druhým druhem rodu *Chamomilla* je heřmánek vonný (*Chamomilla suaveolens Pursh, Rydb.*) (syn. *Matricaria discoides DC*) bez prokázané farmaceutické hodnoty. Snadno rozeznatelný od heřmánku lékařského - chybějící bílé jazykovité květy.

Čeľad' hvězdicovitých obsahuje ještě několik zástupců rodů heřmánku podobných, z nichž pěstitelské potíže může způsobit rmen rolní (*Anthemis arvensis L.*), zaplevelující kultury heřmánku. Od heřmánku se liší přibližně dvojnásobnou velikostí úborů (20 - 40 mm), svítivě bílými jazykovitými květy a diskovitým, plným, páchnoucím úborem. V porostu většinou heřmánek přerůstá a kvete s časovým předstihem.

Dalším podobným druhem z téže čeledi je heřmánkovec nevonný [*Matricaria perforata Mérat; syn. Tripleurospermum maritimum (L.) Sch., Bip.*] s úbory velkými jako rmen, ale bez vůně a zápachu, se silně a vysoko až pod úbory olistěnou lodyhou.

Ve stejné čeledi se nachází jiná léčivá rostlina - rmenec sličný [*Chamaemelum nobile (L.) Anthemis nobilis L.*]. Záměna s heřmánkem je však prakticky nemožná pro poléhavý charakter lodyhy, odlišně tvořené úbory i velice omezený výskyt. (Tyl, 1986)

2.1.2. Nomenklaturická a taxonomická poznámka

U různých autorů je tento druh pojímán různě široce a podstatným způsobem se liší i používání preferovaného jména. Publikace *Květena České republiky* pojímá druh široce a preferuje jméno *M. chamomilla*; k tomuto názoru se připojuje také autorka rozsáhlé studie o taxonomii heřmánku Wendy L. Applequistová (*Taxon* 51 (4), s. 757-761, 2003). Naproti tomu databáze *Flora Europaea* preferuje modernější jméno *Chamomilla recutita*. (WIKIPEDIA 2007)

2.1.4. Výskyt

Heřmánek je rozšířen v Evropě a v Asii, v Severní Americe a v Austrálii. Je skromný na půdu a stanoviště, takže ho nalézáme od nížin až do podhůří. S oblibou na výživných a dusíkatých hlinitých půdách.

Stanoviště: Roste jako plevel u cest, na rumišťích, úhorech, jetelištích, ale také se pěstuje na poli jako kulturní rostlina pro průmyslové zpracování. (Blessing 1999)

2.1.5. Farmaceutické využití heřmánku

Sušený květ heřmánku lékařského (Flos chamomillae) je prastarou léčivou drogou známou již ve starém Egyptě, Řecku i Římě. Ze zakladatelských lékařsko-biologických děl Hippokratových, Pliniových, Dioscoridových a Galenových přešly starověké poznatky do středověkých herbářů arabských a evropských. Z neznámějšího středověkého latinského herbáře Petra Ondřeje Matthioliho byl po kritickém překladu Tadeáše Hájka z Hájku poprvé vydán herbář český z roku 1562. (Tyl 1986)

S rozvojem chemie se začínají od počátku 20. století zkoumat jednotlivé složky heřmánkového květu. Systematicky je především zkoumána heřmánková silice. V jejím výzkumu zaujímalo Československo v 50. a 60. letech 20 století významné místo. Na Slovensku je heřmánek nejpopulárnější a nejpoužívanější léčivou bylinou. (Salamon 1992)

Současná medicína považuje za prokazatelně účinné především některé složky heřmánkové silice (chamazulen, (-) *a*-bisabolol, B-farnesen), dále kumariny a apigenin. Tyto látky, obsažené v heřmánkových úborech vykazují především účinek protizánětlivý, desinfekční, protikřečový. Na popsáných vlastnostech jsou založeny léčivé čaje, kapky, masti, ústní voda a další léčiva. Mimo farmaceutickou oblast je heřmánek používán v kosmetice a potravinářství. (Jirásek, et al. 1986)

Z poznatku, že nositelem užitkových vlastností je pouze heřmánkový květ, vyplývá snaha produkovat co nejvíce květů s krátkými stonky a bez dalších příměsí. Základ nakupované drogy mají tvořit květy heřmánku se stonky do délky 2 cm. Avšak při ruční i strojní sklizni vznikají různé jakostní třídy podle množství jednotlivých podílů. V suché droze se nejčastěji vyskytují drobné trubkovité květy uvolněné z úborů, při dozrálém porostu pak ještě nažkovitá semena. Tento podíl (prosev) propadává sítem o velikosti ok 2 * 2 mm. Heřmánkové květy, které mají stonky delší než 2 cm, tvoří další dva rozdílné podíly podle délky stonku. Květy se stonky a listy 2-

4 cm a květy se stonky a listy delšími než 4 cm. Kuželovitá, 3-8 mm vysoká lůžka jsou stavební částí úboru zbaveného trubkovitých a jazykovitých květů. (Tyl 1986)

Úbory, které mají dosud nevyvinuté bílé jazykovité květy (poupata), smějí být v droze obsaženy také jen v omezené míře. Totéž platí o plevlech nebo jejich částech a mrtvém hmyzu. Zcela minimálně se připouští příměsi anorganické. S tím koresponduje nejvýše povolené procento popela nerozpustného v roztoku HCl. Nakupovaná suchá droga nesmí svou vlhkostí překročit stanovené procento a musí odpovídat také obsahem silice. Všechny tyto požadavky a omezující podmínky jsou vyjádřeny v Oborové normě ON 86 6211 a její nákupní variantě. Norma upravuje kritéria pro nákup a kvalitu suché drogy ve čtyřech jakostních třídách. Mimo tyto třídy je ještě nakupován samotný prosev, dále květní droga s vyšším podílem dlouhých stonků, než stanoví norma pro IV. třídu (výsevky) a kvetoucí usušené nadzemní části rostliny (květní nať). (Tyl 1986)

Tab. 1.: ON 86 62 11 pro zařazení heřmánku do kvalitativních tříd				
	I.	II.	III.	IV.
Podíl	nejvýše %			
vydrolené úbory (prosev)	30	45	55	70
(nákupní norma)	8	16	30	40
úbory se stonky delšími 2 cm a listy	7	10	15	20
z toho úbory se stonky delšími 4 cm	1	2	3	4
lysá lůžka a nevyvinuté úbory	5	8	12	16
(nákupní norma)	ojediněle			
cizí organické příměsi	2	4	6	8
anorganické příměsi	0,5	1	1,5	2
ztráta sušením (vlhkost)	14	14	14	14
popel	13	14	15	16
z toho popel nerozpust. v HCl	4	5	6	7
obsah silice	0,4	0,4	0,3	0,3

(Zdroj: Tyl M.)

2.1.6. Účinné látky

Heřmánkové květy obsahují především - *Modrá silice, chamazulen, bisabolol a éterické oleje s bisabolem, spiroétery, farnesen, matricin, polyacetylenové sloučeniny, flavonové glykosidy, natricin, azulén, glukosidy apigenin a luteolin, rutin, kumarin, cholin a hyperosid, hořčiny, gumu, vosk, tuk.* (Tomko 1999)

Tab. 2.: Obsahové látky		<u>Flavonoidy</u>
Silice - obsahuje značné množství látek, především terpenických, které dávají rostlině typickou vůni. Deriváty kyseliny benzoové mají antipyretické účinky.		apigenin
		luteolin
		kvercetin
		kvercetrin
Terpeny		
α -bisabolol	geraniol	Glykosidy
apigenin	guajazulen	apigenin-7-(6"O-acetyl)glukosid
azulen	chamazulen	apigenin-7-glukosid
β -karyophylen	chamomillol	apigenin-7-rutinosid
bisabolen	karyofylen	sitosterol-glukosid
bisabolol	kemferol	luteolin-7-glukosid
borneol	levonenol	luteoloin-7-rhamnoglukosid
trans- α -farnesen	matricin	kvercetin-3-O-galaktosid
trans- β -farnesen	matrikarin	kvercetin-7-glukosid
farnesol	thujon	
		Sacharidy
Kumariny	Aromatické kyseliny	fruktosa
kyselina kumarová	kyselina salicylová	glukosa
umbeliferon	kyselina 2,4-dihydroxybenzoová	rhamnosa
herniarin	kyselina 2,5-dihydroxybenzoová	xylosa
kumarin	kyselina 3,4-dihydroxyskořicová	
	kyselina 4-methoxybenzoová	Vitaminy
Steroidy	kyselina kávová	kyselina L-askorbová - vitamin C
sitosterol		niacin
stigmasterol		thiamin

(Zdroj: WIKIPEDIA)

2.1.7. Použití a léčivé účinky

Heřmánek má hojivý a regenerační účinek. Působí protizánětlivě a dezinfekčně, uvolňuje křeče (spazmolytikum) a zvyšuje pocení (diaforetikum). Heřmánku se hojně využívá i v kosmetice, masti s chamazulénem urychlují hojení a zamezují tvorbu jizev, koupele se užívají při ošetření vlasové pokožky a zesvětlení vlasů. (Šalátová 2006)

Tab. 3.: Možnosti využití heřmánku	
Čaj (nálev):	Užívá se při nadýmání (karminativum), při střevních poruchách a kolikách, žaludečních poruchách a kolikách nachlazení, bronchiálním kataru, kašli, nespavosti, zánětu nadvarlat, záduše, bolestivé menstruaci, děložní křeči, poruchách nebo vynechání menstruace, návalech krve, křečích trávicího traktu, průjmových onemocněních, zánětech močových cest a ulehčuje stolici. Heřmánek má dobrý vliv na celkový nervový systém.
Zevně:	V obkladech a koupelích při kožních vyrážkách, hemeroidech, ošetřování spálenin, revmatickém otoku, různých zánětech, bolestech břicha, bolestech ledvin, bolestech močového měchýře, žlučových kamenech, na špatně se hojící rány, na vymývání očí při očních zánětech, zánětu spojivek, snižuje bolest a brání tvoření jizev. Ke kloktání při zánětech a jiných nemocech dutiny ústní, chronických zánětech mandlí a hrtanu.
Olej:	Vtírá se do kůže při křečích, neuralgiích, loupání v končetinách a kolice žlučových kaménků, používá se jako kosmetický prostředek.
Inhalace:	Při rýmě kataru vedlejších dutin.
Mast:	Při léčbě hemeroidů (zlaté žíly) a používá jako kosmetický prostředek.
Olej pro neslyšící:	V heřmánkovém oleji pražíme mořskou cibuli a ještě teplou ji kapeme do ucha postiženému, potom mu občas kapeme do ucha teplý heřmánkový olej.
Obklad na bolavé oči:	Jednu lžičku heřmánku uvaříme v mléce. Teplý obklad pokládáme na zavřené oči a ty se zakrátko vyléčí.
Heřmánkový likér:	Proti chronickému revmatizmu 75g kořínků heřmánku pravého rozemeleme na prášek, prosejeme a zalijeme 1 litrem dobré žitné pálenky. Necháme 14 dní vyluhovat, přefiltrujeme a užíváme 3 * denně po 10 kapkách (ne více!)
Žaludeční čaj:	30g puškvorce (oddenek), 10g heřmánku (květ), 10g kmínu (plod), 40g máty peprné (list) a 10g pelyňku (nať). 2 lžičky směsi na ¼ l vody. Přelijeme vařící vodou a necháme 15 minut stát. Užíváme 1 - 2 šálky denně.

(Zdroj: Janča, et. al. 1995; Šalátová 2006)

2.1.8. Nároky na půdu a podnebí

Přirozené rozšíření heřmánku v celém mírném zeměpisném pásu svědčí o jeho plastičnosti. V ČR je pěstován ve všech zemědělských výrobních oblastech s výjimkou oblasti horské. Z hlediska druhu půdy nejsou prozatím dostatečně ověřeny výsledky na půdách výslovně písčitých. Z hlediska potřebného množství srážek je třeba zvažovat vždy variantu podzimního nebo jarního výsevu. Obecně se snižujícím se množstvím srážek během vegetace je třeba více využívat ozimých nebo časně jarních výsevů (do konce března). Za nízké srážky je zde považován roční průměr pod 550 mm. S tím, že produktem je heřmánkový květ, souvisí mimořádný význam expozice toho kterého konkrétního honu. Lépe, než na úplné rovině, je pěstovat heřmánek na mírném svahu s jižní, jihovýchodní nebo jihozápadní expozicí, případně ještě expozicí východní. Pochopitelně však musíme zvažovat další pěstitelské faktory jako je bezpečná dostupnost pro mechanizaci, nebezpečí rozfoukání osiva větrem, nebezpečí splavení srážkami apod. (Jirásek, et al. 1986)

Vzhledem k dosavadním zkušenostem s dosahovanými výnosy se nejlépe osvědčilo pěstování heřmánku v oblastech bramborářského výrobního typu. To také souvisí s ekonomickou relací při dosahování výše tržní produkce vzhledem k jiným masově pěstovaným zemědělským plodinám.

Nejobvyklejší předplodinou bývají ozimé nebo jarní obiloviny. Ty umožňují každý termín výsevu a zanechávají dobře zpracovatelnou půdu pro potřeby předset'ové přípravy k heřmánku, jistým rizikem však je šíření nebezpečného plevelu chundelky metlice, zvláště v podzimních výsevech heřmánku. Zásoba živin v půdě po obilovinách bývá přiměřená potřebám heřmánku. Zásobní hnojení průmyslovými hnojivy se potom provádí před setím nejčastěji v poměru N : P : K: cca 1 : 1,2 : 1,6 (např. 40 : 50 : 70 kg čistých živin na ha). Hnojené okopaniny jsou dobrou předplodinou jen na živinami chudších půdách. Tam totiž nehrozí nebezpečí přehnojení dusíkem, na které heřmánek reaguje přebujelým růstem vedoucím k poléhání, bohatým olistěním a nižším nasazením květů.

Méně vhodnými před plodinami jsou víceleté pícniny pro těžkou zpracovatelnost půdy v předset'ové přípravě zvláště k ozimým výsevům heřmánku.

S poměrně slušnými výsledky se v praxi setkáváme při pěstování heřmánku v prvním roce po melioračních zásazích a na rekultivovaných půdách. (Tyl 1986)

Sporné zůstává pěstování heřmánku po více let na téže ploše. Nelze tak

dosáhnout špičkových výnosů a je jisté riziko zaplevelení odolnými plevely. Naproti tomu se však snižují vlastní náklady na 1 kg produkce. (Foster 2000)

Příprava půdy spočívá ve všech případech v orbě, pečlivém usmykovaní a uvláčení. Nehrudovitý pozemek musí být před setím řádně utužen. Ideální by bylo pečlivě utužit řádek nebo pás jen tam, kam je osivo vyséváno. To by mělo zvláštní význam na těžších slévaných půdách pro možnost pozdějších kultivačních zásahů.

Doba výsevu se řídí vláhovými poměry, před plodinou i ohledy na pracovní zvládnutí sklizně. Při podzimních výsevech (od konce srpna do začátku října) dbáme především vláhových poměrů a kapacit pro sklizeň. Doporučujeme 30 - 70% ploch vysévat na podzim, protože tyto výsevy přinášejí největší výnosovou jistotu. Dříve doporučené zimní výsevy na sněh se už prakticky neprovádějí. (Tyl 1986)

Jarní výsevy provádíme včas, nejlépe do 15. dubna s ohledem na využití půdních zásob vláhy ke vzcházení. (Blessing 1999)

Vyséváme na dobře utužený (uválený) povrch, protože osivo vzchází pouze na světle. Podle klíčivosti osiva vyséváme 1 až 2 kg*ha-1. Vyséváme secím strojem pro výsev drobných semen do řádků 30 – 45 cm, nebo do pásů, jejichž středy jsou vzdáleny 60 cm. Tam, kde nemáme jistotu rovnoměrného výsevu tak malého množství osiva, mícháme osivo s krupičkou až do čtyřnásobku hmotnosti osiva. K pásovému výsevu se používá jednoduchých adaptérů secích botek. Pásový výsev výrazně zvyšuje výnosy až o 50%. Setí na široko do záhonů 200 cm je zvláštním případem setí, který bývá používán v extenzivnějších kulturách, jako je výsev v sadových meziřadích apod. Vylučuje pak ovšem jakoukoliv mechanickou kultivaci. (Tyl 1986)

2.1.9. Kultivace a ochrana heřmánkových kultur

Zásahy během vegetace mají dva důležité cíle. Úpravu podmínek pro zdárný vývoj kultury až do sklizně a prostorové uspořádání porostu pro mechanizovanou sklizeň. (Tyl 1986)

Kultivačními a ochrannými zásahy chceme především bránit vzniku zaplevelení, rozvoji škůdců a kornatění půdy. Podle stavu porostu a půdy je nezbytné zvažovat zásahy kultivační (mechanické) nebo chemické, či jejich kombinaci. Meziřádková kultivace je nutná, vzešlo-li mimo vyseté řádky rozváté nebo vyplavené osivo. Meziřádkové zaplevelení odstraňujeme nejlépe rotačními plečkami. Plečky s pasivním pracovním náradím jsou použitelné jen na neslévavých půdách, na kterých se netvoří

půdní škraloup. Jejich výhodou je volná nastavitelnost plečkovacích radliček na rámu stroje. Řidší zaplevelení uvnitř řádků můžeme na menších plochách vyřešit ručním vytrháním; v ostatních případech pak použijeme herbicid na dvouděložné plevele. Herbicidy se ošetřují ozimé i jarní porosty heřmánku vždy na jaře, když porost dosáhl alespoň 3 cm výšky. (Tyl 1986)

Škody na heřmánkových porostech mohou také způsobovat živočišní škůdci, z nichž nejnebezpečnější jsou mšice maková, slívová a bodláková (Salamon 1992). Při jejich přemnožení aplikujeme insekticidy. Insekticidy hubí současně i další, méně významné škůdce heřmánku jako třásněnky, ploštice, klopušky, křísy a mouchy vrtule. Ochranná lhůta při použití insekticidů je minimálně 7 dnů před sklizní heřmánkových květů. (Tyl 1986)

2.1.10. Sklizeň a třídění heřmánku

Sběr (ruční zpracování):

Menší část pěstitelských ploch je stále sklizena ručními hřebeny. Tato namáhavá a zdlouhavá práce poskytuje většinou drogu vyšší jakostní třídy (a tím i vyšší průměrné realizační ceny), avšak těžko lze dnes v zemědělském podniku očekávat takové rezervy pracovních sil. Výkony při ruční sklizni jsou asi 10 kg čerstvého květu za hodinu sběru. (Tyl 1986)

Květ se sbírá za suchého počasí 3. až 5. den po rozvití květních úborů, to znamená, že sbíráme květy vyvinuté, ale nepřekvetlé. Maximální výtěžek silice dává v době plného rozvinutí. Květní stopky by neměly být delší než 2 cm. Suší se rychle ve stínu, umělá teplota by neměla překročit 40°C. Lehce se drolí. Má velmi příjemný kořenitý pach a poněkud nahořklou chuť. (Tomko 1999)

Sbíraná část: Květ (Flos chamomillae vulgaris)

Období sběru: květen až září

Sesychací poměr: je 5 : 1.

Sklizeň (mechanické zpracování):

Správná doba počátku sklizně má mimořádný význam pro dosažení vysokých výnosů i pro kvalitativní složení sklizené drogy. Z obou hledisek je nezbytné započít se sklizní v době, kdy asi 20% úborů rozložilo bílé, jazykovité květy. První sklizeň

(zvláště pak její počátek) má být správně před sklizní, připravující teprve kvantitativně hlavní druhou a případně další sklizně. Počátek první sklizně u ozimých výsevů přichází v úvahu podle vývoje jarních teplot a srážek již od přelomu května a června. Druhá sklizeň může po první sklizni za optimálních podmínek následovat již za 10 dnů. Porosty vyseté na jaře přicházejí do sklizně později než ozimé, ale časový rozdíl může podle vývoje počasí být také jen 2 - 3 týdny. (Tyl 1986)

Nekombinujeme ruční a strojní sklizeň. V případě nezbytnosti je však možné po strojní sklizni sklízet dále ručně. Nelze však po ruční sklizni sklízet strojně. (Salamon 1992)

Sklízí v jedné vodorovné rovině většina úborů soustavou hřebenů připevněných na liště.

Obvykle se dosahuje 2 - 3 sklizní. Při optimálním vývoji počasí a mírném přihnojení dusíkatými hnojivy mezi sklizněmi (např. 20 kg čistých živin N ve formě snadno přístupného ledku vápenatého) je možné dosáhnout 4 i 5 sklizní, především u jarních výsevů. (Tyl 1986)

Porost vysetý najednou je také ve stejný čas rovnoměrně nakvetlý. Za předpokladu, že zvolíme optimální čas pro nástup do sklizně, můžeme očekávat, že máme k dispozici nejvýše 12 za sebou jdoucích dnů ke sklizni takového porostu. Kdyby se sklizeň kteréhokoliv porostu protáhla déle, jsou ztráty na kvalitě i na výnosu příští sklizně jisté. Z toho plyne, jak klíčovou pozornost musíme věnovat nástupu do sklizně a maximálnímu využití každého dne. (Tomko 1999)

Pohyb stroje a výšku česání musíme pečlivě přizpůsobit stavu porostu. Hloubku ponoření hřebenů do porostu určujeme především podle množství dlouhých vytrhávaných stonků. Vlhkost porostu za rosy, deště nebo po dešti znemožňuje strojní sklizeň tímto sklizečem. Opakovanou sklizeň provádíme stejným směrem jako sklizeň předchozí. Otrhaný květní materiál je citlivý na zacházení. Nesmí být mechanicky pomačkán, nesmí být uložen ve vrstvě vyšší než 15 cm déle než 2 - 3 hodiny. Odvoz tedy musí být plynulý vhodnými kontejnery nebo vleky. (Tyl 1986)

Při průměrném výnosu 400 kg suché drogy z 1 ha musíme tedy sklidit minimálně 2000 kg čerstvé drogy. Toto množství je nerovnoměrně rozděleno většinou mezi 2. a 3. sklizeň. Z toho 1. sklizeň představuje 25 - 50% celkového množství, ostatní pak připadá na 2., případně 3. sklizeň. Špičkových provozních výnosů kolem 800kg suché drogy z 1 ha nelze dosáhnout jen z jedné až dvou sklizní. Je třeba tří i více sklizní a procentické rozdělení množství bývá pak 30%, 50%, 20%. (Tyl 1986)

Získaný očesaný květní materiál, který bychom bez dalších úprav usušili, by nesplňoval požadavky prakticky žádné kvalitativní třídy podle ON 86 6211. (Jirásek, et al. 1986)

Je směsí všech podílů, přičemž nejdůležitější podíl květů se stonky do 2 cm je zde zastoupen z 25 - 65 %. Jde tedy o co nejlepší rozdělení jednotlivých podílů tak, abychom získali co největší procento vyšších kvalitativních tříd. Tuto operaci provádíme např. stacionární třídíčkou heřmánku.

Se sklizeným čerstvým květním materiálem zbytečně nemanipulujeme. Nikde jej neskladujeme a snažíme se, aby cesta od sklizně ke třídění byla přímá, rychlá a plynulá. Očesaný květní materiál vytrídíme vždy v den sklizně. Materiál přivezený z pole vkládáme do násypky třídíčky nebo předseparátoru rovnoměrně a v množství odpovídajícím nominálnímu výkonu soustrojí. Čím více obsahuje květní materiál podílu s dlouhými stonky a příměsmi, tím pozvolnější musí být vkládání. (Tyl 1986)

U drobnějších pěstitelů se ještě můžeme setkávat s tříděním ručními sítí s oky 10 – 12 mm, zasazenými do dřevěného rámu o velikosti 2 * 1 m. Na těchto sítích volně zavěšených provádíme ručně separaci na dva podíly, přičemž propad by měl odpovídat první kvalitativní třídě. (Salamon 1992)

2.1.11. Sušení a expedice drogy

Po vytrídění heřmánek neprodleně sušíme nejčastěji na otevřených roštových sušárnách se zdroji teplého vzduchu. Rošt pokrýváme silonovým molinem a čerstvý heřmánek vrstvíme rovnoměrně. Na jednom roštu sušíme jednu kvalitativní třídu kvůli homogenitě sušeného materiálu. Kontrolujeme, zda sušení probíhá rovnoměrně po celé ploše roštu. Sušíme vzduchem ohřátým nepřímým ohřevem. Teplota vzduchu vstupujícího do sušeného květního materiálu nesmí v žádném případě přestoupit 45°C, při konstantní regulaci nastavujeme nejvýše na 40°C. Výška vrstvy sušeného heřmánku se řídí především celkovým množstvím vzduchu procházejícího heřmánkem. Při hodnotách kolem 1000 m³/hod/m² můžeme vrstvit čerstvý květní materiál až do 1 m. Obvykle množství sušeného heřmánku přizpůsobujeme denní sklizni. (Tyl 1986)

Denní cyklus znamená přetřídít, navrstvit, usušit a zabalit dané množství nejdéle za 24 hodin. (Tomko 1999)

K sušení heřmánku lze také použít pásové sušárny, při drobné produkci heřmánku se setkáme se sušením přirozeným teplem na různých lískách.

Usušená droga může obsahovat nejvíce 14 % vody. (Salamon 1992) Sušit však musíme poněkud pod tuto mezní hranici, protože heřmánková droga je hygroskopická a během skladování přijímá z okolí vlhkost. Přesoušet však drogu na obsah vody pod 10 % je plýtvání energií a zhoršování kvality vyšším procentem prosevu. (Tyl 1986)

Obaly (papírové pytle nebo kartónové kontejnery). Pokud je droga balena ihned po usušení, obaly pak ještě několik hodin neuzavíráme, protože droga musí před uzavřením být spolehlivě zchlazena. Drogu skladujeme v suchu a chráníme před veškerým poškozením. V celém procesu od sklizně po expedici se maximálně snažíme vyvarovat každé nadbytečné manipulace s drogu. (Tyl 1986)

Heřmánková droga je farmaceutickou surovinou, proto musejí producent i odběratel mít na zřeteli zvýšenou zodpovědnost za bezvadnou kvalitu drogy. (Tomko 1999)

Konzervace heřmánkové drogy sušením je ekonomicky nejnákladnější položka celého pěstování. Náklady na sušení představují až 40% veškerých vynaložených prostředků na produkci drogy. Sušit teplým vzduchem se proto vyplácí jen první až třetí kvalitativní třídu. U čtvrté kvalitativní třídy, odsevků a květní nati je sušení teplým vzduchem nerentabilní. K jejich sušení stačí použít větší plochy jednoduchých roštů trvale provětrávaných venkovním vzduchem. (Tyl 1986)

2.1.12. Cena sušené drogy

Cena sušeného květu heřmánku se na světových trzích pohybuje v rozmezí 1.000 – 16.000 USD za tunu, což je v přepočtu asi 19.000 – 300.000 Kč za jednu tunu. Cena závisí na kvalitě a čistotě produktu. (Blessing 1999)

Na internetu je též možno sehnat heřmánek pěstovaný čistě organicky a velice vysoké kvality, co do obsahu biologicky aktivních látek. Tento se dá pořídit za asi 62USD (\pm 1.150Kč za kilogram).

2.2. Elicitory

2.2.1. Elicitory obecně

Termín *elicitor* se začal užívat teprve v posledních desetiletích. Metoda elicítace se vyvinula v souvislosti s rozvojem kultivace rostlin *in vitro*. Jedná se o metodu, která využívá schopnosti rostlin reagovat na různá agens řadou reakcí, na jejichž konci nastává zvýšená tvorba sekundárních metabolitů (DiCosmo, Misawa 1985), které představují suroviny pro farmaceutický a kosmetický průmysl.

Rostlinné buňky se brání stresovým faktorům vnějšího prostředí. Při stresu dochází k uvolňování elicitorů z buněčných stěn rostlin a následně k vytvoření fytoalexinů (nízkomolekulárních látek), představujících obrannou reakci rostliny. Sekundární metabolity se mohou tvořit v rostlině jako součást obranné reakce rostliny na přítomnost patogenu. Fytoalexiny představují jednu z možností iniciace genové aktivity za vzniku určitých enzymů, které katalyzují vytváření sekundárních metabolitů. Patří sem např. flavonoidy, isoflavonoidy, steroidy, terpeny, stilbeny atd.

Elicitory užívané při kultivaci rostlin ve farmaceutickém průmyslu *in vitro* nebo i na menších zemědělských plochách mohou být anorganické i organické (Tůmová, Dušek 2000). V současnosti se také experimentuje s organogenními elicitory, kde se používají kompletní homogenáty inaktivovaných kultur mikroorganismů případně jejich frakce.

Elicitory a elicítace se také zkoumají nejen na rostlinách a jejich buněčných tkáních *in vitro* či přímo na pozemcích s pokusnými porosty, ale dnes se pracuje na výzkumech elicitorů, které jsou produkovány hmyzem, zejména pak se věda zajímá o opylovače a u motýlů (*Lepidoptera*) pak i o jejich housenky. Zkoumá se jejich vliv na rostliny, ale zároveň se také zkoumá vliv použitých elicitorů z hlediska bezpečnosti a neškodnosti pro tento klíčový prvek v oblasti pěstování rostlin, jímž opylovači beze sporu jsou.

Další oblastí kde se provádí výzkum o účinnosti elicítace a jejího možného použití je moderní medicína. Vědci si uvědomili možnosti plynoucí z elicítace a vědí, že budou-li jejich výzkumy a pokusy úspěšně fungovat, mohou nalézt účinnou léčbu na nejednu civilizační chorobu včetně rakoviny.

O těchto výzkumech hovoří mnoho odkazů na vědecké práce, týkajících se tématu *elicitorů* a *elicítace* na stránkách serveru Web Of Science.

2.2.2. Elicitace homogenáty mikroorganismů

Vliv elicitorů na produkci flavonoidů byl testován v mnoha pokusech. Marineli a kol. (1994) prokázali vliv homogenátu z usmrcených buněk z *Escherichia coli* a *Aspergillus terreus* na produkci flavonoidů v kultuře *Ononis arvensis* L.. Uvedené elicitory zvyšovaly akumulaci flavonoidů zejména po 24 hod nebo po 48 hod elicitace. Při použití elicitoru - usmrcených buněk *Pseudomonas aeruginosa* v různých koncentracích* u kalusové kultury došlo:

1. koncentrace po 24hod elicitaci ke snížení obsahu flavonoidů v porovnání s kontrolní skupinou. Naopak po 48hod nastalo zvýšení obsahu flavonoidů. Po 7 dnech elicitace obsah flavonoidů opět poklesl pod úroveň kontrolní skupiny.
2. koncentrace byl v kalusové kultuře po 24hod zaznamenán nižší obsah flavonoidů než v kontrolní skupině, avšak po 48hod licitace produkce flavonoidů převýšila kontrolní skupinu a po 7 dnech elicitace dosáhla maxima.
3. koncentrace byl ke kalusové kultuře po 24 hodinové elicitaci obsah flavonoidů nepatrně nižší než u kontroly, ale po 48 hodinách došlo ještě k většímu poklesu. Ani po 7 dnech elicitace nedošlo k převýšení obsahu flavonoidů získaných u kontrolní skupiny.

U suspenzní kultury při použití:

1. koncentrace došlo k výraznému nárůstu obsahu flavonoidů po 48 hodinách. Ostatní hodnoty obsahu flavonoidů byly nižší než u kontrolních skupin.
2. koncentrace způsobila postupné snižování produkce flavonoidů v suspenzní kultuře. Produkce flavonoidů zjištěná po 24hod elicitaci byla sice nejvyšší, ale statisticky nevýznamná v porovnání s kontrolou.
3. koncentrace dokázala převýšit obsah flavonoidů nad úroveň kontrolních skupin, a to ve všech časových intervalech. Nejvyšší obsah flavonoidů byl naměřen po 7 dnech elicitace.

* v 1. konc. 1 g buněčného materiálu byl dán do 100 ml odměrné baňky, která byla po značku doplněna destilkou a 2. konc., která se připravila odpipetováním 1 ml suspenze z 1. konc. do 100 ml odměrné baňky a po značku doplněn destilovanou vodou a 3. konc. byla připravena odpipetováním 1 ml suspenze z 2. konc. do 100 ml odměrné baňky a destilovanou vodou po značku.

Při hodnocení všech dosažených výsledků lze říci, že u kalusových kultur vyvolal maximální produkci elicitor 2. koncentrace po 24 hodinách elicítace. Tato hodnota byla vyšší o 83% vzhledem ke kontrole.

Podobně působila elicítace i u kultury *Ononis arvensis* elicítované pomocí *Aspergillus terreus* (Tůmová et al., 1996).

Zvýšená produkce flavonoidů po 24 a 48 hodinách elicítace byla také zjištěna u tkáňové kultury *Ononis arvensis* po aplikaci elicítoru z *Escherichia coli* (Tůmová et al., 1996). Rozdíl byl však v tom, že obsah flavonoidů nedosáhl maxima po 7 dnech elicítace.

K obdobným výsledkům dospěli Marineli a kol. (1994), sledující produkci fytoalexinů v kultuře mrkve (*Daucus carota*) po elicítaci buněčnou frakcí *Phytophthora megasperma*, zároveň sledovali vliv tohoto elicítoru na aktivitu klíčových enzymů pro syntézu flavonoidů. V obou případech bylo zjištěno, že hladina fytoalexinů i aktivita enzymů byla nejvyšší po 50 hodinách elicítace.

Zvýšená produkce sekundárních metabolitů po delší než týdenní elicítaci buněčnými stěnami kvasinek byla zaznamenána u cibulek hvězdníku zahradního - *Hippeastrum hortorum* (Wink, Lehmann, 1996). Po aplikaci elicítoru se tvorba červeného pigmentu zvyšovala a dosáhla maxima po 9-12 dnech elicítace.

Podobných výsledků bylo také dosaženo u buněčné kultury Routy vonné - *Ruta graveolens*, u které byl sledován vliv elicítoru *Rhodotorilla rubra* na indukci biosyntézy furanokumarinů (Bohlmann, Eilert, 1995). Bylo zjištěno, že s délkou elicítace se snižuje indukce biosyntetických enzymů, a tím i produkce furanokumarinů.

Metoda elicítace se také zkoušela na produkci thiarubrinu A v kultuře vlasových kořenů rostliny *Ambrosia artemesifolia*. Thiarubrin A je biologicky aktivní látka s fungicidními, antibakteriálními a antivirovými vlastnostmi (Fischer, Quijano, 1985; Ellis et al., 1995). Jeho vysoký výtěžek je získáván z kořenové kultury *Ambrosia artemesifolia* a řadí se do skupiny sekundárních látek zvaných polyacetyleny, které jsou odvozeny od mastných kyselin.

Účinnost elicítace závisí na mnoha faktorech, které často působí synergicky, jako jsou věk kultury, koncentrace elicítoru a v jakých časových periodách byl elicitor podáván. Velice důležitou podmínkou je, aby elicitor nesnižoval životaschopnost kultury, proto se obecně užívají nižší koncentrace elicítorů.

Metoda elicítace může pomoci objasnit i některé kroky v biosyntéze sekundárních metabolitů. Je důležité znát výchozí látky pro biosyntézu, což jsou

převážně deriváty mastných kyselin s konjugovanými vazbami a jednotlivé meziprodukty biosyntetických drah. Metoda elicitace úspěšně zvýšila hladiny jednotlivých látek figurujících v biosynthese polyacetylenů; např.: syntéza polyacetylenů fenylheptatrynu byla indukována v kalusové kultuře *Bidens pilosa* za elicitace filtrátem houbové kultury *Phytium aphanideratum* (DiCosmo et al., 1982). Hladina některých polyacetylenů v kořenové kultuře *Bidens sulphureus* stoupla až 20x při přidání filtrátu houbové kultury *Phytium aphanidermatum* a *Phytophthora drechsleri* (Allen, Thomas, 1971).

Buitelaar a kol. (1992) zvýšili produkci thiofenu kulturou vlasových kořenů *Tagetes patilla* užitím myceliálních extraktů *Phytophthora magasperma*, *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum* a *Fusarium oxysporum*.

Mukundan a Hjortso (1990) zvýšili akumulaci thiofenu v kultuře vlasových kořenů *Tagetes patula* užitím patogenních i nepatogenních skupin hub. Účinným elicitorem při zvýšení akumulace thiofenu v kultuře vlasových kořínků *Tagetes patula* se ukázal vanadyl sulfát (Hjortso, Mukundan, 1994).

Li a kol. (2003) prokázali, že kvasinkový homogenát a současné užití kyseliny salicylové způsobují vzrůst hladiny kyseliny abscisové a pokles obsahu gibberelinu a auxinu v buněčné kultuře *Salvia miltiorrhiza*, čímž byla inhibována proliferace této buněčné kultury.

2.2.3. Elicitace organickými činidly

K organické elicitaci se používají často samotné organické látky, jako například kyselina linolová v experimentu, při němž byl posouzen její vliv na produkci sekundárních metabolitů (Tůmová, Dušek, 2000). Kyselina linolová je po chemické stránce cis,cis-9,12-oktadekadienová kyselina, která patří do skupiny vyšších mastných kyselin. Tato kyselina byla použita, protože vyvolává akumulaci fytoalexinů (isoflavonoidů) v listech *Phaseolus vulgaris*, podobně těm, které byly dosaženy po elicitaci avirulentním kmenem *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolica*. Maximální množství akumulovaných fytoalexinů se projevilo při 1,6mM koncentraci arachidonové a linolové kyseliny.

Všechny polynasyčené mastné kyseliny eicosapentaenové a eicosatetraenové (arachidonové) kyseliny byly nejefektivnějšími elicitory tvorby seskviterpenických fytoalexinů, které byly zjištěny v houbových extraktech patogenu *Phytophthora infestans*

(Bostock et al., 1981).

Bloch et al. (1984) také používali kyselinu arachidonovou, eicosapentaenovou a linolovou ke kulturám z čeledí Solanaceae, Convolvulaceae, Fabaceae a Apiaceae. Působením těchto elicitorů byly produkovány seskviterpenické fytoalexiny v rajčeti (rishitin a lubimin) a v pepřovníku (capsidiol). Účinek kyseliny linolové je spojován se strukturální podobností s kyselinou γ -linolenovou, prekurzorem kyseliny jasmínové, jejíž methylester (fytohormon) je druhým poslem v reakci rostlin na stresový podnět. Indukuje aktivaci genů, které kódují mRNA enzymů katalyzujících biosyntesu fytoalexinů (Longland et al., 1998).

Při hodnocení produkce flavonoidů v čase během elicítace kyselinou linolovou, lze vysledovat, že u většiny pokusných koncentrací je obsah flavonoidů nejvyšší 24hod po aplikaci elicitoru a poté klesá (u konc. 0,01; 0,10; 0,20 a 1,0mg/ml. U koncentrací 0,02 a 2,0mg/ml je maximální produkce po 48 hodinové elicítaci).

Při porovnávání dosažených hodnot v závislosti na koncentraci elicitoru byl nejvyšší obsah flavonoidů zaznamenán v kultuře vystavené působení kyseliny linolové o koncentraci 2,0mg/ml a 1,0mg/ml (Tůmová, Dušek, 2000). Při srovnání produkce flavonoidů u elicítovaných kultur s kontrolními lze konstatovat, že elicítované kultury vykazovaly vyšší obsah flavonoidů, zejména po 24 hodinách (koncentrace 0,01; 0,20 a 1,0mg/ml), po 48hod byla produkce vůči kontrolním vzorkům většinou nižší (s výjimkou koncentrace 1,0 a 2,0mg/ml). Po 7 dnech působením kyseliny linolové měly všechny kontrolní kultury vyšší obsah flavonoidů než kultury elicítované. Nejvyšší nárůst tvorby flavonoidů byl zaznamenán při použití elicitoru o koncentraci 2,0mg/ml a o době působení 48hod a to o 118%. Při 24 hodinovém působení elicitoru o koncentraci 1,0mg/ml došlo ke zvýšení produkce flavonoidů o 94%. Je zřejmé, že po dosažení maximální produkce flavonoidů dochází ke snižování jejich obsahu. Snižování obsahu flavonoidů je pravděpodobně způsobeno jejich metabolizací. (Beiderbeck, Reichling, 1989).

Předpokládá se, že společným jmenovatelem všech složek, které vykazují elicitační aktivitu, je to, že ve vysokých koncentracích způsobují poškození a smrt buněk. Elicítace může být tedy vyvolána toxickými účinky mastných kyselin na buněčné stěny rostlin.

Při elicítaci tkáňové kultury *Rheum palmatum* měla nejvyšší odezvu v biosyntese anthracenových derivátů koncentrace kyseliny linolové 1mg/ml. Při této koncentraci došlo k více než 100% nárůstu obsahu sledované skupiny metabolitů v

časovém intervalu 12 hodin po aplikaci elicitoru.

Pokusy s kyselinou linolovou prokázaly, že volba této látky jako potenciálního elicitoru byla správná. Důvodem tohoto tvrzení jsou hodnoty obsahů anthracenových derivátů a flavonoidů, které byly dosaženy po elicitaci touto kyselinou.

2.2.4. Elicitace anorganickými činidly

Je prokázáno, že stimulace tvorby obranných látek, které jsou v určité vazbě na tvorbě farmakologicky účinných látek, lze dosáhnout hnojením s neharmonickým poměrem živin (Pašek, 1997). Tento jev pozoroval u jetele lučního a vlčího bobu mnoholistého Kolář (1981, 1982), u těchto rostlin došlo k zvýšení produkce fytoestrogenu genisteinu. Až o 60% účinných látek více vyprodukovaly rostliny *E. purpurea*, když byly hnojeny neharmonickým poměrem živin, tj. šestinásobným přebytkem minerálního dusíku k draslíku a dalším živinám (Kužel et al., 1998).

Příkladem anorganické elicitace je stimulace produkce taxolu v suspenzní kultuře *Taxus yunnanensis* trojmocným iontem lanthanu, který se v zemské kůře vyskytuje velmi vzácně (Woo et al., 1994). Taxol je diterpenoid vyskytující se v kůře tisu a je to význačná droga při léčbě rakoviny vaječníku a prsu.

Při podávání dusičnanu lanthanitého byly provedeny dva experimenty. V prvním experimentu byl lanthan do média podáván nepřetržitě po 32 dní v různých koncentracích (Woo et al., 2000). Při aplikaci koncentrace 2,3 a 5,8mM dusičnanu lanthanitého se zkrátila počáteční lag-fáze růstu a průměrná rychlost růstu buněk v kultuře mírně vzrostla, ačkoliv maximální hustota buněk v kultuře byla o něco nižší ve srovnání s kontrolou. Zdá se, že lanthanitý ion v těchto koncentracích v určité časové periodě stimuluje buněčný růst. Při vyšších koncentracích dusičnanu lanthanitého v mediu 23,1 a 46,2mM, byl buněčný růst zřetelně inhibován, protože vyšší koncentrace kovových iontů jsou pro rostlinu toxické.

Nejvyššího celkového výtěžku taxolu, dvojnásobného oproti kontrole, bylo dosaženo při koncentraci dusičnanu lanthanitého 5,8mM v kultuře staré 28 dní. Velikost sekrece taxolu buňkou úměrně stoupá se zvyšující se koncentrací lanthanu přidaného do média. Taxolu uvolněného do média bylo 28% při koncentraci lanthanu 2,3mM a 40% při koncentraci 5,8mM, v kontrolní kultuře to bylo jen 10% (Pooviah, Leopold, 1976; Vangronsveld, Clijsters, 1994).

V druhém experimentu byl dusičnan lanthanitý ve fixní koncentraci 5,8mM

přidáván do média během různých růstových fází buněčné kultury - ve střední exponencionální fázi růstu (12 dní stará kultura), pozdně exponenciální 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 produkci 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, 3,8 krát vyšší oproti kontrole, intracelulární produkce se zvýšila 4,1 krát oproti kontrole. Kultura ošetřená 5,8mM dusičnanem lanthanitým během střední exponencionální fáze růstu vykazuje rapidní vzrůst hladiny lanthanu. Elicitace lanthanitým iontem (5,8mM) byla provedena i u jiných druhů tisů, např. u *Taxus chinensis marv.* I zde došlo průkazně k mírné stimulaci syntézy taxolu, ale oproti buněčné kultuře *Taxus yunnanensis* je nárůst hladiny taxolu podstatně menší. Z toho lze usoudit, že vliv lanthanidů na sekundární metabolismus je druhově specifický a závislý na typu buňky. Biologická funkce lanthanu jako elicitoru spočívá v blokaci vápníkového kanálu v buněčné membráně. Lanthanitý ion inhibuje vtok vápenatých iontů do buňky a odpovědi rostliny na jiné elicitory (Ebel et al., 1998; Gelli, Blumwald, 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 i inhibována odpověď rostlinou na jiné elicitory (Nishi, 1994; Ebel, Mithöfer, 1998; Nurnberger, 1999).

Podobné elicitace vlastnosti vykazují i jiné vzácné kovové prvky, např. trojmocný ion europia dodaného do kalusové kultury *Rheum palmatum* (Lu et al, 1998) a trojmocný ion ytterbia v kalusové kultuře jiné čínské rostliny *Coptis chinensis*. V nižších koncentracích podporují nárůst kultury, ve vyšších ho inhibují.

Vliv na hladinu flavonoidů byl prokázán u chloridu kademnatého, síranu měďnatého, chloridu rtuťnatého, dusičnanu olovnatého, síranu manganatého (Dušek et al., 1997).

3. Cíle a metodika práce

3.1. Cíl práce

Cílem této práce je zjištění vlivu foliární aplikace elicitoru ve třech koncentracích (nízká, střední, vysoká) na polní kulturu Heřmánku pravého [*Chamomilla recutita* L.) *Rauschert*] a následné analýzy sušené květní drogy, za účelem stanovení změn v obsahu účinných látek u kultur Heřmánku pravého [*Chamomilla recutita* L.) *Rauschert*] na které byl elicitor použit v porovnání se slepým pokusem (polní kultura, na níž nebylo použito elicitorů) a vyhodnocení vlivu koncentrace elicitoru na obsah sledovaných látek.

Druhotným cílem této práce je nalezení využití elicitorů v zemědělské praxi. Hlavním cílem bude snaha prokázat schopnosti elicitorů ovlivnit obsah některých důležitých látek v rostlinách a tím i její využitelnost v praxi.

3.2. Metodika vypracování práce

Metodika této práce vychází ze zadání a stanovených cílů. Ve své práci jsem postupoval dle následující metodiky:

- studium literárních pramenů, zaměřených na uvedenou problematiku
- zpracování agrotechniky pěstování heřmánku
 - vypěstování vlastní polní kultury Heřmánku pravého
 - obhospodařování vlastní polní kultury
 - aplikace elicitoru v několika koncentracích
 - opakovaná sklizeň
 - sušení a skladování květů *Chamomilla recutita*
- extrakce látek ze sušené drogy do roztoku
- analýza vzorků SPEKTROFOTOMETRICKOU metodou
- statistické vyhodnocení výsledků
- shrnutí zjištěných výsledků
- závěrečné vyhodnocení výsledků a doporučení pro praxi

Pro vypracování práce byly využity programy:

- Microsoft® Word 2007
- Microsoft® Excel 2007
- STATISTIKA 6 Cz

4. Agrotechnika

4.1. Charakteristika stanoviště

Tab. 4.: Charakteristika pozemku	
KRAJ	Jihočeský
MÍSTO	Školní zemědělský podnik JU v ČB
VÝROBNÍ TYP	bramborářský
NADMOŘSKÁ VÝŠKA	380 m n.m.
PŮDNÍ TYP	kambizem pseudo-glejová (hnědá půda oglejná)
PŮDNÍ DRUH	písčitohlinitý
SKELETOVITOST	0
EXPOZICE	0
pH	6,4
KLIMATICKÝ REGION	MT4 - mírně teplá oblast, okrsek - mírně teplý, vlhký
ROČNÍ PRŮMĚRNÁ TEPLOTA VZDUCHU	7,8°C
ROČNÍ PRŮMĚRNÝ ÚHRN SRÁŽEK	620 mm

4.2. Příprava pozemku

Na školním pozemku ZF JU mi byla přidělena pěstební plocha, tato byla na mírném svahu natočeném na východ, na níž jsem mohl uskutečnit své pokusy s pěstováním Heřmánku pravého [*Chamomilla recutita L.) Rauschert*] v polních podmínkách.

Nejprve bylo zapotřebí vyměřit příslušnou plochu, určit délku řádků, jejich počet a vzdálenost jednotlivých řádků od sebe.

Při pokusu byl použit jeden elicitor (kyselina acetylsalicylová = ASA) ve třech různých koncentracích a probíhala i tzv. slepá varianta pokusu, při níž nebyl použit žádný elicitor. Každá varianta probíhala ve čtyřech opakováních.

Výsev probíhal do řádků širokých 10cm a dlouhých 10m. Mezi jednotlivými variantami byl rozestup o šířce 0,5 m a šířka meziřádku činila 1m. Vedle sebe i za sebou byly umístěny vždy 4 varianty (byla použita struktura pokusu 4 x 4). Dále bylo vytvořeno okrajové „ochranné“ pásmo oddělující náš pokus od ostatních pokusů, které

probíhaly na stejném pozemku, a to v šířce 2,5 m z každé strany. Celkem jsem na pozemku zabral svým pokusem plochu přibližně 8,5 m * 46,5 m, tj. necelých 400 m².

Jakmile byla plocha vyměřena, započala příprava pozemku k setí. V první řadě byl povrch pozemku ošetřen proti plevelům. První postřik byl proveden za použití totálního herbicidu RoundUp již v první polovině listopadu roku 2003. Druhý postřik byl proveden až 14 dní po jarní úpravě povrchu pozemku, která proběhla v druhé polovině března 2004, přičemž stejný postup byl použit i v následujícím roce (2004 / 2005). K této úpravě byl použit traktor školního zemědělského podniku. Na druhý postřik byl taktéž použit totální herbicid RoundUp.

4.3. Setí

Setí bylo provedeno ručně bez použití mechanizace a proběhlo první rok 16.4.2004 a druhý rok proběhlo setí 29.3.2005. Výsevek činil 100 g na celý pokus v každém roce.

Před setím bylo nejprve vykolíkováno „ochranné pásmo“, po té byly vykolíkovány jednotlivé řádky. Následně byly mezi kolíky jednotlivých řádků napnuty provázky, podle nichž byly vytvořeny motyčkou do půdy řádky asi 5 cm hluboké. Tento způsob tvorby řádků sloužil také jako ochrana semen před nepříznivými vlivy, neboť semena Heřmánku pravého [*Chamomilla recutita* L.) Rauschert] klíčí pouze na světle.

K setí byl použit 1kg semen Heřmánku pravého [*Chamomilla recutita* L.) Rauschert] odrůdy Bohemia, která je jedinou uznanou odrůdou v ČR.

Po té, co byla celá plocha oseta, bylo přistoupeno k poslední fázi související se setím a to k rozprostření netkané bílé textilie po povrchu parcelky. Tímto způsobem byly zabezpečeny klíčícím semenům a následně i vzházejícím rostlinkám Heřmánku optimální vlhkostní a tepelné podmínky nutné pro jejich úspěšné přežití.

4.4. Ošetřování porostu

Po 5 týdnech byla odstraněna netkaná textilie z řádků. Tehdy bylo zjištěno silné zaplevelení hlavně v meziřádcích a to i přes veškerou snahu zničit na pozemku plevele. Daleko více znepokojující bylo však to, že veliký podíl mezi plevely zaujímal Přeslička rolní (*Equisetum arvense* L.), což je houževnatá trvalka s „nevyhubitelnými“ podzemními oddenky (Bremnessová 2003).

Pomocí ručních kultivátorů byla většina meziřádkových plevelů vytrhána či poškozena natolik, že již nečinila větší potíže při pěstování, avšak s přesličkou nebylo jednoduché se vypořádat, hlavní potíže činila přímo v řádcích kde svým množstvím a odolností vytvářela nepříjemné konkurenční prostředí křehkým rostlinám heřmánku. Jedinou účinnou metodou bylo ruční vytrhání jednotlivých rostlin i s co možná největšími částmi kořenů, což byl jediný účinnější způsob jejího odstranění.

Průběžně byl kontrolován stav porostu, vzrůst a již zmíněné zaplevelení. Koncem května bylo provedeno prosvětlení porostu, neboť byl na některých místech přehoustlý.

Po posledním sběru byl celý porost pokosen a zbytky rostlin odstraněny z pozemku, který byl následně zařazen do podzimní přípravy půdy v režii školního zemědělského podniku.

4.5. Postřik elicitory

Na porost byla foliárně aplikována synteticky v laboratoři připravená kyselina acetylsalicylová. Kyselina acetylsalicylová byla použita jako elicitor. Foliární aplikace byla provedena ve formě vodného roztoku ve třech různých koncentracích (nízká, střední a vysoká koncentrace).

K postřiku byl použit ruční postřikovač na záda o objemu 12 litrů s teleskopickou rozstřikovací tyčí s nastavitelnou kovovou tryskou umožňující velký akční rádius od firmy GARDENA (viz. Foto č. 1.).

Postřiky byly prováděny vždy za bezvětrného počasí, což bylo základní podmínkou k dosažení úspěšného postřiku, neboť v opačném případě by elicitor použitý k postřiku jednoho řádku mohl ovlivnit i rostliny v řádku vedlejším (nehledě na ochranná pásma), což bylo naprosto nepřijatelné, neboť by se mohl nakumulovat účinek elicitoru a zkreslit výsledek.

Foto 1.: Postřikovač firmy GARDENA



V roce 2004 jsem provedl celkem dva postřiky elicitory, a to vždy 7-14 dní před plánovaným sběrem. První postřik proběhnul 14. července 2004 a druhý postřik byl proveden 25. srpna 2004.

V roce 2005 byly elicitory aplikovány rovněž dvakrát. První aplikace elicitorů proběhla 7. července 2005 a podruhé byly elicitory aplikovány 15. srpna.

4.6. Sběr

Sběr heřmánku probíhal vždy 7 - 14 dní po elicítaci rostlin, neboť byl závislý na vhodném počasí. Bylo zapotřebí sběr ve dnech beze srážek.

Sběr byliny probíhal ručně, přičemž bylo vyzkoušeno jak česání ručním hřebenem (viz Foto č. 2. a Foto č. 3.), tak čistě ruční sběr. Vzhledem k tomu, že při sběru pomocí hřebenu bylo následně nezbytné provést časově náročné přebrání sebraných květů, což tento způsob sběru učinilo pro naše účely časově nepřijatelným, byl sběr čistě ručně zvolen jako vhodnější. Jedním z hlavních benefitů tohoto sběru bylo mimo jiné to, že jsem mohl naprosto cíleně sbírat jen květy v plném květu (optimální zralosti), vyhnout se překvetlým i nerozkvetlým květním úborům a sbírat květy tak, aby délka stonku nepřesáhla 0,5 cm (požadavky vzhledem ke kvalitě drogy).

Po prvním sběru bylo nutno stimulovat u sledovaných rostlin tvorbu nových květů pro další sběr. K tomuto účelu byl využit česací hřeben, jímž byly sčesány na rostlinách zbylé květy.

V roce 2004 byly provedeny dva sběry, přičemž první byl proveden 22. července, druhý sběr se uskutečnil 3. září.

V roce 2005 se uskutečnily dva kompletní sběry, stejně jako v předešlém roce a navíc byl uskutečněn třetí částečný sběr, který obsahoval po jednom vzorku z každé

Foto 2.: Ruční česací hřeben



Foto 3.: Česání ručním hřebenem



sledované varianty. První sběr proběhnul 14. července, druhý sběr následoval 23. srpna. Poslední částečný sběr byl proveden 17. září.

Foto 4.: Heřmánek pravý [(Chamomilla recutita L.) Rauschert] před sběrem květů



Foto 5.: Heřmánek pravý [(Chamomilla recutita L.) Rauschert] květ



4.7. Sušení

Květy heřmánku byly při sběru uloženy do papírových pytlíků a ještě téhož dne rozloženy k sušení na půdě rodinného domu, která splňovala veškerá kritéria pro sušení. Což znamená zejména sucho, teplo, stín (požadavky vzhledem ke kvalitě drogy).

Sušení probíhalo na papíře v tenké vrstvě po dobu 7-14 dní, a to podle průběhu počasí a zejména venkovních teplot. Každý den byl sušící se materiál zkontrolován, aby se předešlo nebezpečí znehodnocení květní drogy plísní, hnilobou či jakýmkoli jiným činitelem, ať již biologickým, mechanickým nebo fyzikálním.

Usušená květní droga byla v rámci vizuální kontroly, zbavena příměsí a nečistot, zabalena do papírových pytlíků a uložena na suché a temné místo, aby nedošlo k jejímu znehodnocení. Protože analýzy všech vzorků probíhaly současně za obě sledovaná období (rok 2004 a 2005), byla skladovací doba v případě vzorků z roku 2004 delší než rok, proto bylo zajištění optimálních skladovacích podmínek důležité k zachování kvality sušené drogy a obsahu látek v ní uchovaných.

Po té, co byly usušeny a připraveny všechny vzorky, přistoupil jsem k jejich transportu do laboratoře a jejich následnému zpracování a analýze.

5. Příprava extraktů

5.1. Homogenizace

Jednotlivé vzorky byly rozemlety vysokootáčkovým mlýnkem od firmy *FRITSCH*. Konkrétně na zařízení nesoucím označení PULVERISETTE 14.

Použito bylo síto s velikostí oka 0,5 mm. Díky tomu jsme dosáhli dokonale zhomogenizovaného, najemno rozemletého prášku, který byl následně použit k výrobě extraktu.

5.2. Vážení

Vážení proběhlo na analytických vahách firmy *METTLER TOLEDO* na modelu s označením AB204.

Navážka jednotlivých vzorků činila $2\text{g} \pm 0,0005\text{g}$ (viz. Tab. č. 5.)

Tab. 5.: Navážka vzorků v gramech [číslo vzorku (vz.) / (kc.) koncentrace elicitoru]								
2004	vz./kc.	navážka	vz./kc.	navážka	vz./kc.	navážka	vz./kc.	navážka
1. sběr	37 / N	2,0002	38 / S	2,0000	39 / V	2,0003	40 / K	2,0004
	42 / N	2,0002	43 / S	2,0002	44 / V	2,0001	41 / K	2,0001
	47 / N	2,0000	48 / S	2,0002	45 / V	2,0003	46 / K	2,0002
	52 / N	2,0005	49 / S	2,0004	50 / V	2,0003	51 / K	2,0003
2004	vz./kc.	navážka	vz./kc.	navážka	vz./kc.	navážka	vz./kc.	navážka
2. sběr	53 / N	2,0002	54 / S	2,0000	55 / V	2,0001	56 / K	2,0003
	58 / N	2,0001	59 / S	2,0002	60 / V	2,0003	57 / K	2,0004
	63 / N	2,0000	64 / S	2,0000	61 / V	2,0004	62 / K	2,0001
	68 / N	2,0003	65 / S	2,0000	66 / V	2,0002	67 / K	2,0001
2005	vz./kc.	navážka	vz./kc.	navážka	vz./kc.	navážka	vz./kc.	navážka
1 sběr	1 / N	2,0001	2 / S	2,0001	3 / V	2,0000	4 / K	2,0000
	6 / N	2,0002	7 / S	2,0001	8 / V	2,0002	5 / K	2,0001
	11 / N	2,0001	12 / S	2,0000	9 / V	2,0000	10 / K	2,0001
	16 / N	2,0001	13 / S	2,0002	14 / V	2,0000	15 / K	2,0000
2005	vz./kc.	navážka	vz./kc.	navážka	Vz./kc.	navážka	vz./kc.	navážka
2. sběr	17 / N	2,0001	18 / S	2,0001	19 / V	2,0000	20 / K	2,0000
	22 / N	2,0002	23 / S	2,0000	24 / V	2,0000	21 / K	2,0001
	27 / N	2,0000	28 / S	2,0002	25 / V	2,0001	26 / K	2,0002
	32 / N	2,0002	29 / S	2,0001	30 / V	2,0001	31 / K	2,0000
2005	vz./kc.	navážka	vz./kc.	navážka	vz./kc.	navážka	vz./kc.	navážka
3. sběr	36 / N	2,0000	35 / S	2,0001	34 / V	2,0002	33 / K	2,0002

5.3. Extrakce

Byla zvolena metoda, kdy se jednotlivé navážky vzorku sušené drogy třepaly na třepačce ve 20 ml 96% etanolu. Po 24 hodinách bylo přidáno 20 ml redestilované vody a opět se vzorky nechaly 24 hodin třepat. Po té byly vzorky přefiltrovány a převedeny do 50 ml baněk a po rysku doplněny roztokem (odpovídajícím podmínkám extrakce), který byl v poměru **1:1** /redestilovaná voda a 96% etanol/.

Po promíchání takto připravených výluhů, byly baňky uloženy na dobu 7 dnů do chladničky. Po 7 dnech bylo z baněk odebráno za pomoci stříkačky 5 ml vzorku a přefiltrováno přes filtrační papír do epruvet. Takto připravené vzorky byly temperovány na pokojovou teplotu 24 hodin, po kterých následovala spektrofotometrická analýza.

6. Měření

6.1. Princip

Zvolená metoda je založena na spektrofotometrickém měření barevných produktů reakce hydroxylových skupin fenolických sloučenin s činidlem Folin – Ciocalteu .

6.2. Přístroje a pomůcky

Spektrální fotometr SPEKOL 11 [Carl Zeiss, Jena] (viz. Foto 3.); dvě 10 mm kyvety; pipety [Transferpette] v rozsahu 0,1 – 0,5 ml a 0,5 – 5 ml (viz. Foto 4. – 6.); odměrné baňky 50 ml; stříčka na redestilovanou vodu; analytické váhy [METTLER TOLEDO – AB204] (viz Foto 9. - 10.).

Foto 5.: SPEKOL 11



Foto 6.: Pipety



Foto 7.: Pipeta
Transferpette fix



Foto 8.: Pipety
Transferpette S



Foto 9. - 10.: Analytické váhy
METTLER TOLLEDO - AB204



6.3. Chemikálie a roztoky

Tanin a z něho za použití analytických vah vyrobený standardní roztok (50 mg taninu ve 100 ml roztoku). Dalším krokem se stala příprava filtrovaného 20% roztok Na_2CO_3 . Jako reagent jsem použil Folin - Ciocalteu činidlo. V neposlední řadě nesmíme zapomenout ani na redestilovanou vodu.

6.4. Metodika

Nejprve bylo důležité vytvořit kalibrační řadu, která byla připravena ze standardního roztoku taninu. Postupně bylo ze standardního roztoku taninu odpipetováno do 50 ml odměrných baněk 0 ml; 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml roztoku. Následně bylo do odměrných baněk přidáno přibližně 20ml destilované vody, po čemž následovalo přidání 1 ml Folin – Ciocalteu činidla. Vzniklý roztok byl promíchán a po 3 minutách bylo přidáno 5 ml 20% roztoku Na_2CO_3 , obsah baněk byl opět promíchán a doplněn destilovanou vodou po značku. Po 30 minutách byla změřena intenzita zbarvení v 10 mm kyvetě při 700 nm proti slepému vzorku (s nulovým obsahem taninu).

V průběhu 30 minut před měřením kalibrační křivky byly obdobným způsobem připraveny jednotlivé vzorky, s tím rozdílem, že na místo taninu byly použity vyextrahované vzorky. Ty byly připraveny ve dvou různých koncentracích. Jednalo se o 0,1 ml a 0,3 ml extraktu.

6.5. Tabulky a grafy

V následujících tabulkách (Tab. č. 6. – 13.) jsou shrnuty výsledky absorbance získané z měření spektrofotometrickou metodou na přístroji SPEKOL 11 při 700nm proti slepému vzorku. Toto měření bylo provedeno ve dvou opakováních, přičemž při prvním bylo použito 0,1 ml vzorku a při druhém měření jsem použil 0,3 ml vzorku.

Druhé měření za použití vyššího množství vzorku mělo za úkol potvrdit trend prvního měření a to z důvodu vyloučení chyby lidského faktoru při přípravě vzorků k měření.

Na každé stránce jsou umístěny dvě přehledné tabulky. Každá tabulka obsahuje data z jednoho roku, přičemž se obě vztahují ke koncentraci elicitoru.

<i>Tab. 6.: Absorbance</i>	Nízká koncentrace elicitoru (2004)			
	vz. č.	parc. č.	0,1 ml	0,3 ml
1. sběr (22.7.2004) 1. postřik (14.7.2004)	37	1	0,138	0,438
	42	6	0,140	0,442
	47	11	0,144	0,451
	52	16	0,133	0,433
2. sběr (3.9.2004) 2. postřik (25.8.2004)	53	1	0,150	0,459
	58	6	0,148	0,452
	63	11	0,166	0,482
	68	16	0,161	0,475
	Ø		0,1475	0,4540

<i>Tab. 7. Absorbance</i>	Nízká koncentrace elicitoru (2005)			
	vz. č.	parc. č.	0,1 ml	0,3 ml
1. sběr (14.7.2005) 1. postřik (7.7.2005)	1	1	0,133	0,435
	6	6	0,131	0,420
	11	11	0,146	0,407
	16	16	0,156	0,447
2. sběr (23.8.2005) 2. postřik (15.8.2005)	17	1	0,152	0,455
	22	6	0,150	0,446
	27	11	0,188	0,540
	32	16	0,159	0,452
3. sběr (17.9.2005)	36	16	0,129	0,406
	Ø		0,1493	0,4453

V tabulce č. 6. je u vzorku č. 27. názorně vidět nezbytnost kontroly měření, neboť tento vzorek v prvním měření vykázal oproti ostatním vzorkům hodnotu vyšší o více než 22% (vzhledem k průměru dalších tří vzorků), to by mohlo znamenat chybu při přípravě, avšak následné měření chybu vylučuje (tab. 7.), neboť i zde nastal významný výkyv a to o necelých 20% (oproti průměru), čímž byla chyba při přípravě vyloučena.

Tab. 8. <i>Absorbance</i>	Střední koncentrace elicitoru (2004)			
	vz. č.	parc. č.	0,1 ml	0,3 ml
1. sběr (22.7.2004)	38	2	0,142	0,436
	43	7	0,131	0,430
1. postřik (14.7.2004)	48	12	0,136	0,425
	49	13	0,128	0,412
2. sběr (3.9.2004)	54	2	0,164	0,478
	59	7	0,175	0,495
2. postřik (25.8.2004)	64	12	0,168	0,483
	65	13	0,161	0,460
	ø		0,1506	0,4524

Tab. 9. <i>Absorbance</i>	Střední koncentrace elicitoru (2005)			
	vz. č.	parc. č.	0,1 ml	0,3 ml
1. sběr (14.7.2005)	2	2	0,131	0,426
	7	7	0,151	0,444
1. postřik (7.7.2005)	12	12	0,129	0,390
	13	13	0,123	0,411
2. sběr (23.8.2005)	18	2	0,178	0,491
	23	7	0,172	0,483
2. postřik (15.8.2005)	28	12	0,176	0,477
	29	13	0,167	0,452
3. sběr (17.9.2005)	35	12	0,144	0,438
	ø		0,1523	0,4458

<i>Tab. 10.</i> <i>Absorbance</i>	Vysoká koncentrace elicitoru (2004)			
	vz. č.	parc. č.	0,1 ml	0,3 ml
1. sběr (22.7.2004)	39	3	0,134	0,422
	44	8	0,128	0,413
1. postřik (14.7.2004)	45	9	0,137	0,429
	50	14	0,133	0,423
2. sběr (3.9.2004)	55	3	0,160	0,466
	60	8	0,166	0,473
2. postřik (25.8.2004)	61	9	0,170	0,484
	66	14	0,156	0,449
	ø		0,1480	0,4449

<i>Tab. 11.</i> <i>Absorbance</i>	Vysoká koncentrace elicitoru (2005)			
	vz. č.	parc. č.	0,1 ml	0,3 ml
1. sběr (14.7.2005)	3	3	0,126	0,417
	8	8	0,135	0,420
1. postřik (7.7.2005)	9	9	0,140	0,435
	14	14	0,128	0,408
2. sběr (23.8.2005)	19	3	0,168	0,462
	24	8	0,173	0,500
2. postřik (15.8.2005)	25	9	0,157	0,449
	30	14	0,143	0,433
3. sběr (17.9.2005)	34	8	0,125	0,412
	ø		0,1439	0,4373

<i>Tab. 12.</i> <i>Absorbance</i>	Kontrola bez použití elicitoru (2004)			
	vz. č.	parc. č.	0,1 ml	0,3 ml
1. sběr (22.7.2004)	40	4	0,155	0,469
	41	5	0,142	0,445
1. postřik (14.7.2004)	46	10	0,135	0,421
	51	15	0,146	0,420
2. sběr (3.9.2004)	56	4	0,168	0,489
	57	5	0,159	0,468
2. postřik (25.8.2004)	62	10	0,166	0,482
	67	15	0,144	0,456
	∅		0,1519	0,4563

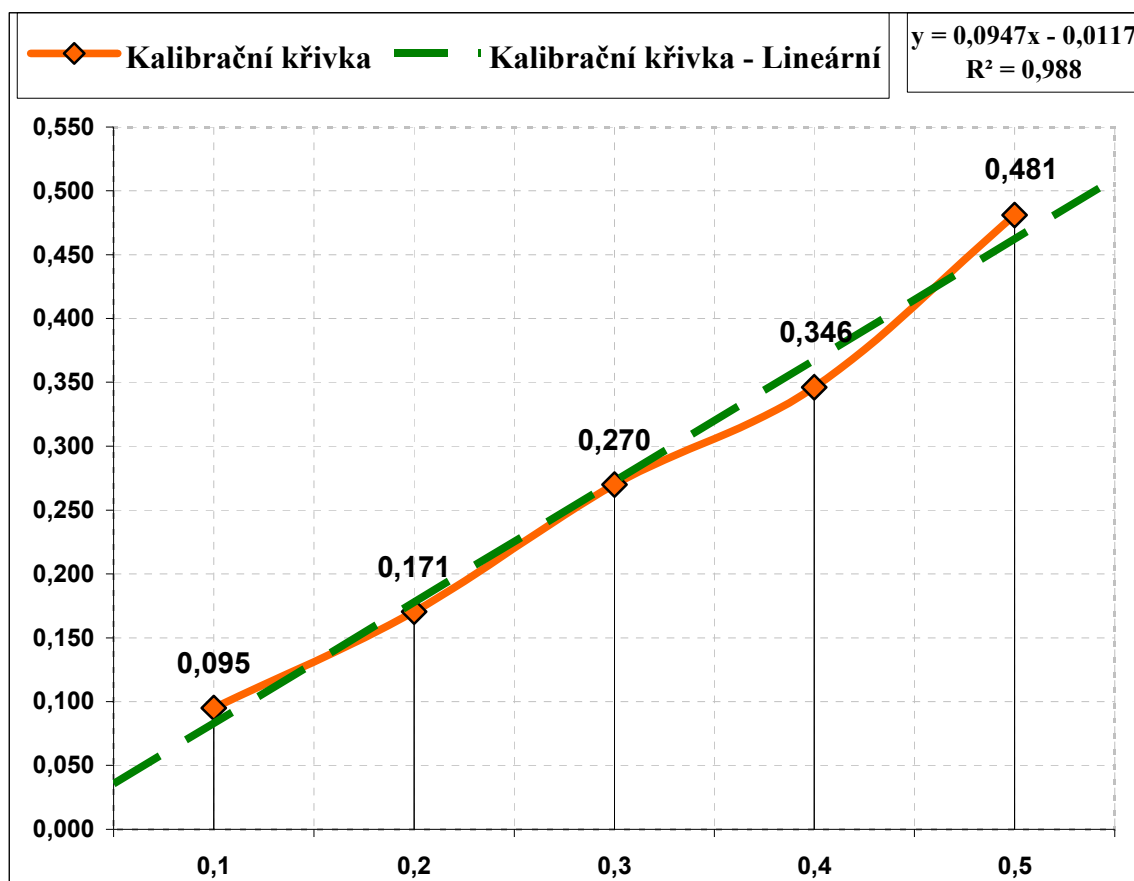
<i>Tab. 13.</i> <i>Absorbance</i>	Kontrola bez použití elicitoru (2005)			
	vz. č.	parc. č.	0,1 ml	0,3 ml
1. sběr (14.7.2005)	4	4	0,162	0,471
	5	5	0,140	0,435
1. postřik (7.7.2005)	10	10	0,124	0,394
	15	15	0,150	0,435
2. sběr (23.8.2005)	20	4	0,165	0,514
	21	5	0,161	0,493
2. postřik (15.8.2005)	26	10	0,170	0,481
	31	15	0,141	0,438
3. sběr (17.9.2005)	33	4	0,132	0,421
	∅		0,1494	0,4536

Vzhledem k tomu, že v některých případech došlo u měření druhých sad vzorků k překročení rozsahu kalibrační řady, nebyly tyto zjištěné výsledky použity ke statistickému zpracování.

Tab. 14.: Kalibrační křivka	Množství standardního roztoku taninu (ml)				
	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Absorbance	0,095	0,171	0,270	0,346	0,481

V tabulce č. 14. jsou zaznamenány hodnoty absorbance standardní kalibrační řady, které jsou vyneseny v Grafu č. 1., který je zároveň reprezentován Lineární kalibrační křivkou rovnicí, ta je dána rovnicí nacházející se v pravém horním rohu grafu.

Graf 1.: Kalibrační křivka



Podle této kalibrační křivky byly přepočteny absorbance naměřené u jednotlivých vzorků a následně převedeny na skutečné množství flavonoidů v sušené květní droze Heřmánku lékařského.

7. Výsledky

7.1. Tabulky

Tab. 15.: <i>Množství flavonoidů v sušené květní droze (rok 2004)</i>	Nízká koncentrace elicitoru			
	Vzorek č.	Parcelka	Flavonoidy [mg/g]	
1. sběr (22.7.2004)	37	1	39,519	
	42	6	40,047	
	1. postřik (14.7.2004)	47	11	41,103
		52	16	38,200
2. sběr (13.8.2004)	53	1	42,687	
	58	6	42,159	
	2. postřik (5.8.2004)	63	11	46,911
		68	16	45,591
	Ø		42,027	

Tab. 16.: <i>Množství flavonoidů v sušené květní droze (2004)</i>	Střední koncentrace elicitoru			
	Vzorek č.	Parcelka	Flavonoidy [mg/g]	
1. sběr (22.7.2004)	38	2	40,575	
	43	7	37,672	
	1. postřik (14.7.2004)	48	12	38,992
		49	13	36,880
2. sběr (13.8.2004)	54	2	46,383	
	59	7	49,287	
	2. postřik (5.8.2004)	64	12	47,439
		65	13	45,591
	Ø		42,852	

Tab. 17.: <i>Množství flavonoidů v sušené květní droze (rok 2004)</i>	Vysoká koncentrace elicitoru		
	Vzorek č.	Parcelka	Flavonoidy [mg/g]
1. sběr (22.7.2004) 1. postřik (14.7.2004)	39	3	38,464
	44	8	36,880
	45	9	39,255
	50	12	38,200
2. sběr (13.8.2004) 2. postřik (5.8.2004)	55	3	45,327
	60	8	46,911
	61	9	47,967
	66	14	44,271
	Ø		42,159

Tab. 18.: <i>Množství flavonoidů v sušené květní droze (rok 2004)</i>	Kontrola – bez použití elicitoru		
	Vzorek č.	Parcelka	Flavonoidy [mg/g]
1. sběr (22.7.2004) 1. postřik (14.7.2004)	40	4	44,007
	41	5	40,575
	46	10	38,728
	1	15	41,631
2. sběr (13.8.2004) 2. postřik (5.8.2004)	56	4	47,439
	57	5	45,063
	62	10	46,911
	67	15	41,103
	Ø		43,182

Tab. 19.: <i>Množství flavonoidů v sušené květní droze (rok 2005)</i>	Nízká koncentrace elicitoru		
	Vzorek č.	Parcelka	Flavonoidy [mg/g]
1. sběr (14.7.2005) 1. postřik (7.7.2005)	1	1	38,200
	6	6	37,672
	11	11	41,631
	16	16	44,271
2. sběr (3.9.2005) 2. postřik (25.8.2005)	17	1	43,215
	22	6	42,687
	27	11	52,719
	32	16	45,063
3. sběr (28.9.2005)	36	16	37,144
	Ø		42,511

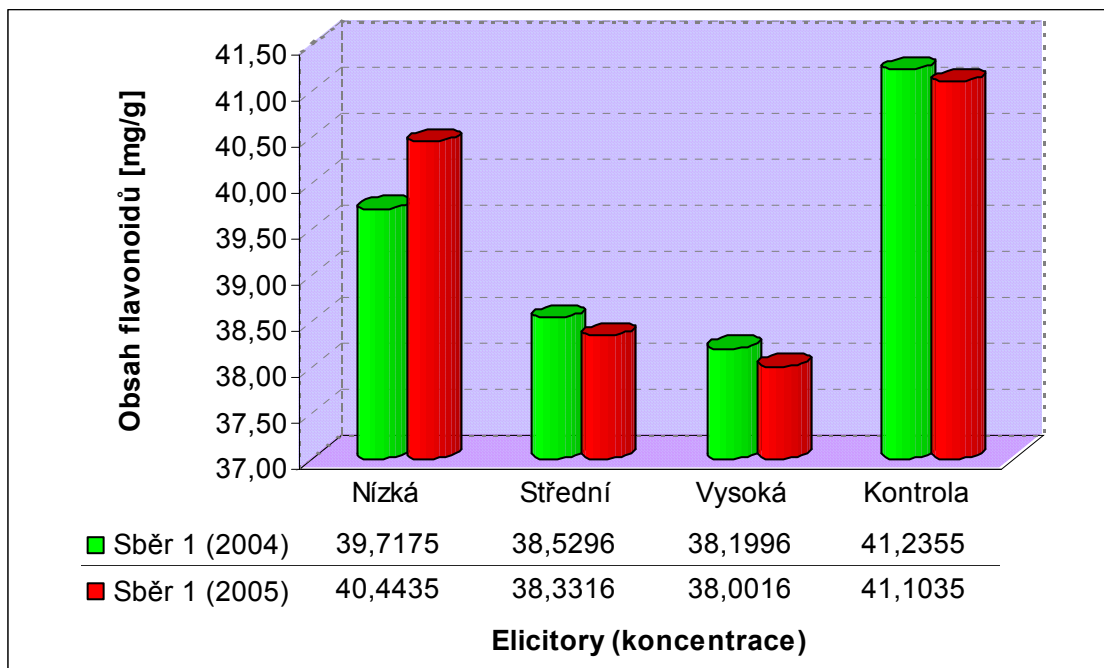
Tab. 20.: <i>Množství flavonoidů v sušené květní droze (rok 2005)</i>	Střední koncentrace elicitoru		
	Vzorek č.	Parcelka	Flavonoidy [mg/g]
1. sběr (14.7.2005) 1. postřik (7.7.2005)	2	2	37,672
	7	7	42,951
	12	12	37,142
	13	13	35,560
2. sběr (3.9.2005) 2. postřik (25.8.2005)	18	2	50,079
	23	7	48,495
	28	12	49,551
	29	13	47,175
3. sběr (28.9.2005)	35	12	41,103
	Ø		43,303

Tab. 21.: <i>Množství flavonoidů v sušené květní droze (rok 2005)</i>	Vysoká koncentrace elicitoru		
	Číslo vzorku	Parcelka	Flavonoidy [mg/g]
1. sběr (14.7.2005) 1. postřik (7.7.2005)	3	3	36,352
	8	8	38,728
	9	9	40,047
	14	14	36,880
2. sběr (3.9.2005) 2. postřik (25.8.2005)	19	3	47,439
	24	8	48,759
	25	9	44,535
	30	14	40,839
3. sběr (28.9.2005)	34	8	36,088
	Ø		41,074

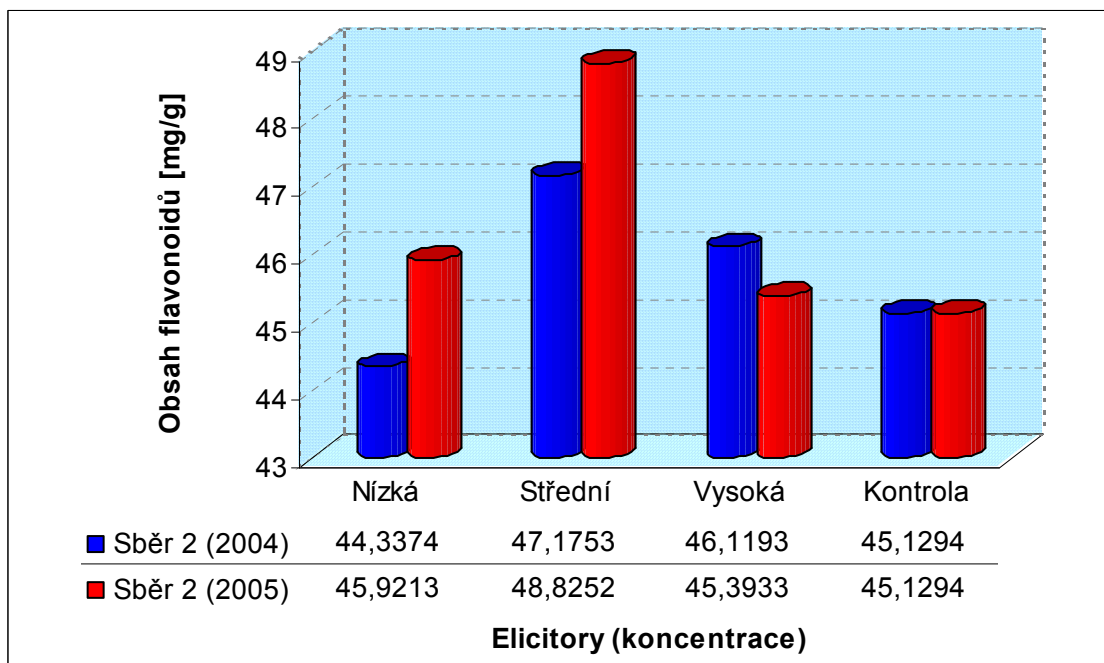
Tab. 22.: <i>Množství flavonoidů v sušené květní droze (rok 2005)</i>	Kontrola – bez použití elicitoru		
	Vzorek č.	Parcelka	Flavonoidy [mg/g]
1. sběr (14.7.2005) 1. postřik (7.7.2005)	4	4	45,855
	5	5	40,047
	10	10	35,824
	15	15	42,687
2. sběr (3.9.2005) 2. postřik (25.8.2005)	20	4	46,647
	21	5	45,591
	26	10	47,967
	31	15	40,311
3. sběr (28.9.2005)	33	4	37,936
	Ø		42,541

7.2. Grafy

Graf 2.: Obsah flavonoidů v sušené květní droze – porovnání 1 sběr (rok 2004; 2005)

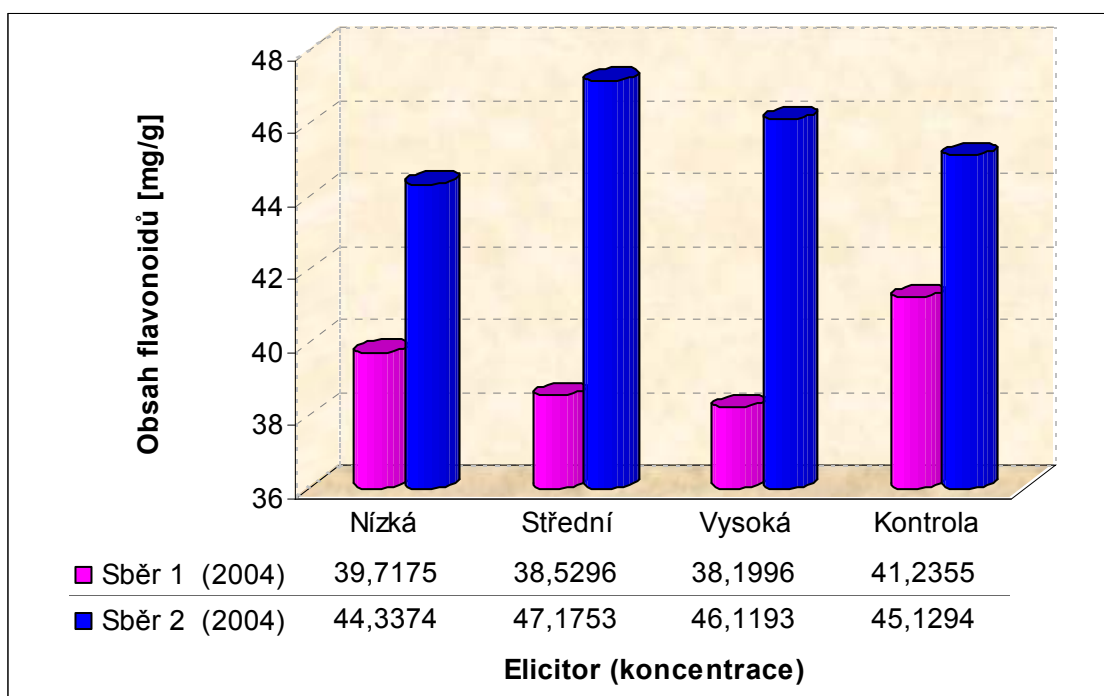


Graf 3.: Obsah flavonoidů v sušené květní droze – porovnání 2 sběr (rok 2004; 2005)

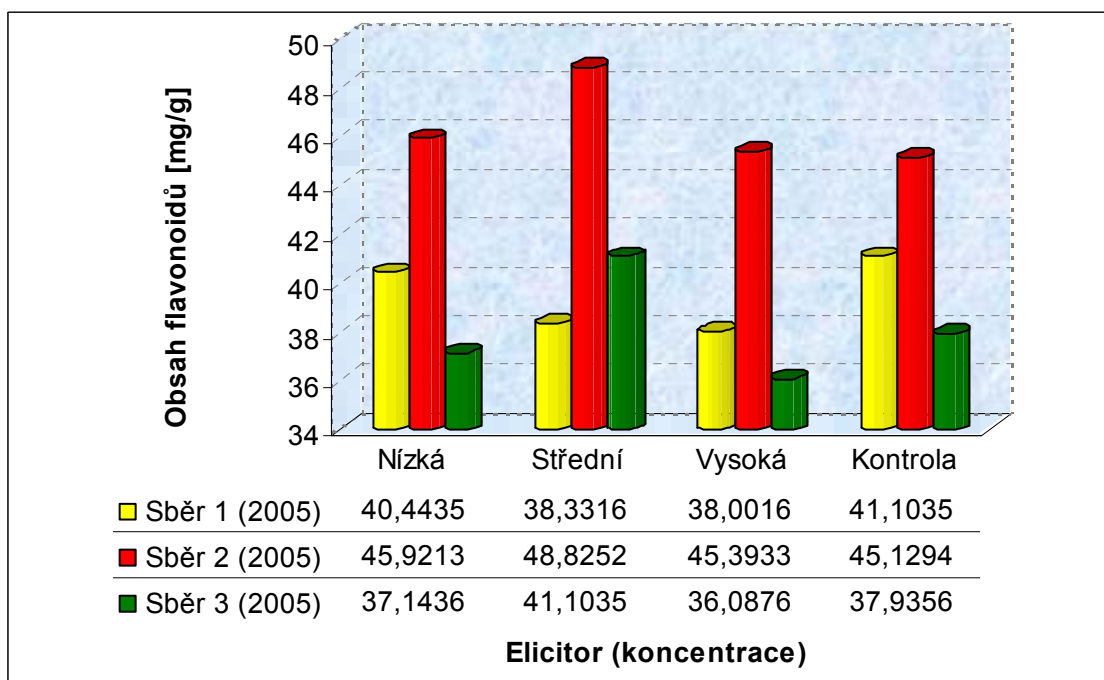


Tyto dva grafy naznačují, že vliv ročníku není rozhodujícím faktorem, který ovlivňuje obsah účinných látek v Heřmánku pravém. V případě druhých sběrů je patrný výraznější vliv na obsah flavonoidů, než je tomu u sběrů prvních, přičemž kontrolní vzorky zůstávají v obou případech až nezvykle vyrovnané.

Graf 4.: Obsah flavonoidů v sušené květní droze – porovnání sběrů za rok 2004



Graf 5.: Obsah flavonoidů v sušené květní droze – porovnání sběrů za rok 2005



Při porovnání jednotlivých sběrů je jasně patrné, že tyto významně ovlivňují obsah flavonoidů v květech Heřmánku pravého.

7.3. Vyhodnocení

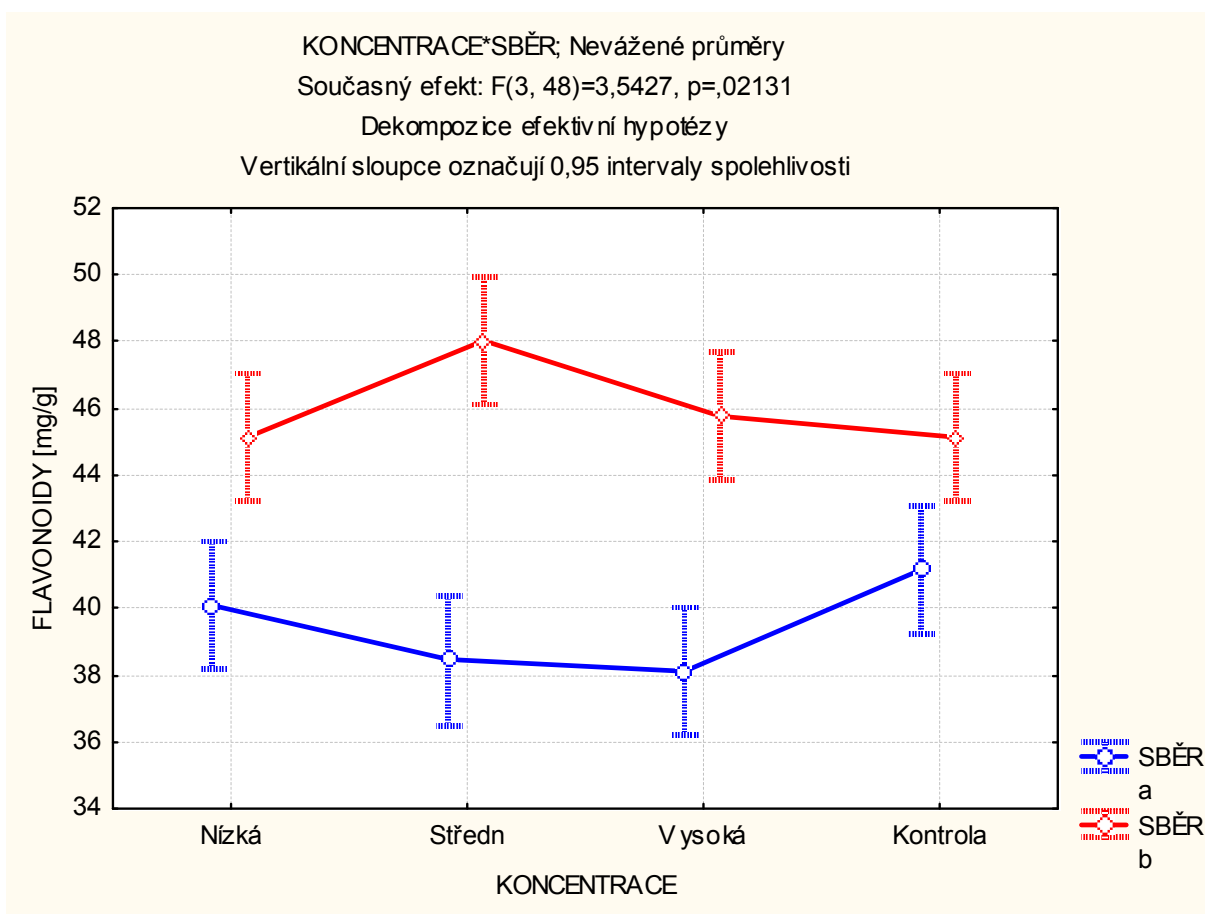
Tab. 23.: Výsledky pro sběry a – b					
Jednorozměrné testy významnosti pro FLAVONOIDY [mg/g]					
Sigma-omezená parametrizace					
Dekompozice efektivní hypotézy					
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
rok	1,8	1	1,8	0,25	0,617992
koncentrace	17,1	3	5,7	0,79	0,508098
sběr	688,2	1	688,2	94,73	0,000000
rok*koncentrace	6,5	3	2,2	0,30	0,826996
rok*sběr	1,3	1	1,3	0,18	0,670204
koncentrace*sběr	77,2	3	25,7	3,54	0,021315
rok*koncentrace*sběr	3,1	3	1,0	0,14	0,933760
chyba	348,7	48	7,3		

Tab. 24.: Výsledky pro sběry a – c					
Jednorozměrné testy významnosti pro FLAVONOIDY [mg/g]					
Sigma-omezená parametrizace					
Dekompozice efektivní hypotézy					
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
sběr	688,2312	1	688,2312	94,73270	0,000000
rok*sběr	1,3339	1	1,3339	0,18361	0,670204
koncentrace*sběr	77,2128	3	25,7376	3,54269	0,021315
rok*koncentrace*sběr	3,1133	3	1,0378	0,14284	0,933760
chyba	348,7190	48	7,2650		

Jak je z výsledků patrné, tak obsah flavonoidů skutečně není statisticky významně ovlivněn ročníkem. Sběr je faktor, který převážně ovlivňuje obsah účinných látek v heřmánku.

Ovšem pokud využijeme více faktorových analýz je zřejmé, že je zde i rozdíl v obsahu flavonoidů způsobený koncentrací použitého elicitoru.

Graf 6.: Vliv sběru a koncentrace elicitoru na obsah flavonoidů (sběr a – b)



Tab. 25.: LSD test - Koncentrace * Sběr (a – b)

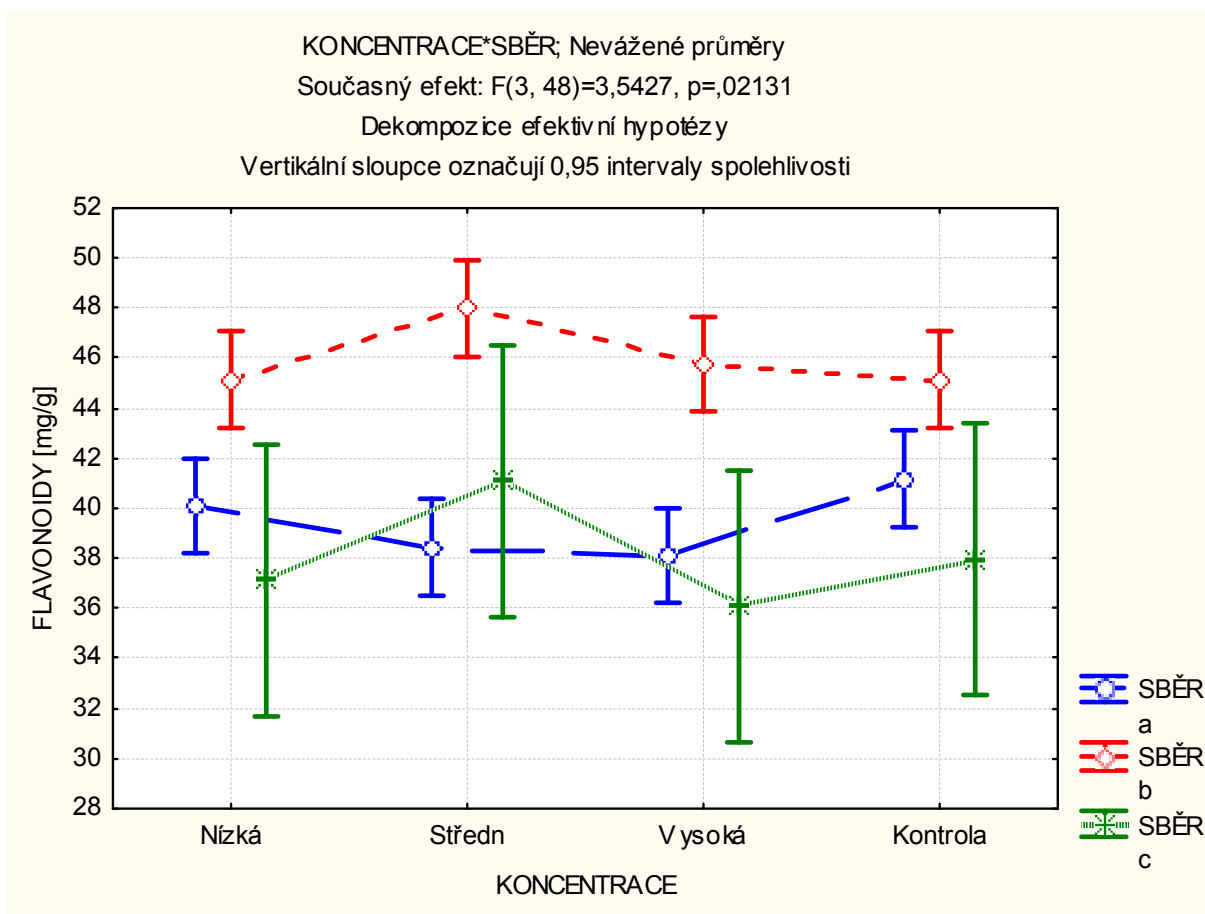
LSD test; proměnná FLAVONOIDY [mg/g]

Pravděpodobnosti pro post-hoc testy

Chyba: meziskup. PČ = 7,2650, sv = 48,000

	Konc.	Sběr	{1} 40,081	{2} 45,129	{3} 38,431	{4} 48,000	{5} 38,101	{6} 45,756	{7} 41,169	{8} 45,129
{1}	Nízká	a		0,0005	0,2268	0,0000	0,1483	0,0001	0,4231	0,0005
{2}	Nízká	b	0,0005		0,0000	0,0383	0,0000	0,6439	0,0051	1,0000
{3}	Střední	a	0,2268	0,0000		0,0000	0,8076	0,0000	0,0477	0,0000
{4}	Střední	b	0,0000	0,0383	0,0000		0,0000	0,1024	0,0000	0,0383
{5}	Vysoká	a	0,1483	0,0000	0,8076	0,0000		0,0000	0,0273	0,0000
{6}	Vysoká	b	0,0001	0,6439	0,0000	0,1024	0,0000		0,0014	0,6439
{7}	Kontrola	a	0,4231	0,0051	0,0477	0,0000	0,0273	0,0014		0,0051
{8}	Kontrola	b	0,0005	1,0000	0,0000	0,0383	0,0000	0,6439	0,0051	

Graf 7.: Vliv sběru a koncentrace elicitoru na obsah flavonoidů (sběr a – c)



Tab. 26.a: LSD test - Koncentrace * Sběr (a – c)

LSD test; proměnná FLAVONOIDY [mg/g]

Pravděpodobnosti pro post-hoc testy

Chyba: meziskup. PČ = 7,2650, sv = 48,000

	Konc.	SBĚR	{1} 40,081	{2} 45,129	{3} 37,144	{4} 38,431	{5} 48,000	{6} 41,103
{1}	Nizká	a		0,000	0,309	0,227	0,000	0,722
{2}	Nizká	b	0,000		0,007	0,000	0,038	0,166
{3}	Nizká	c	0,309	0,007		0,655	0,000	0,304
{4}	Střední	a	0,227	0,000	0,655		0,000	0,354
{5}	Střední	b	0,000	0,038	0,000	0,000		0,020
{6}	Střední	c	0,722	0,166	0,304	0,354	0,020	
{7}	Vysoká	a	0,148	0,000	0,739	0,808	0,000	0,299
{8}	Vysoká	b	0,000	0,644	0,004	0,000	0,102	0,110
{9}	Vysoká	c	0,169	0,003	0,783	0,417	0,000	0,194
{10}	Kontrola	a	0,423	0,005	0,166	0,048	0,000	0,982
{11}	Kontrola	b	0,000	1,000	0,007	0,000	0,038	0,166
{12}	Kontrola	c	0,457	0,015	0,836	0,863	0,001	0,410

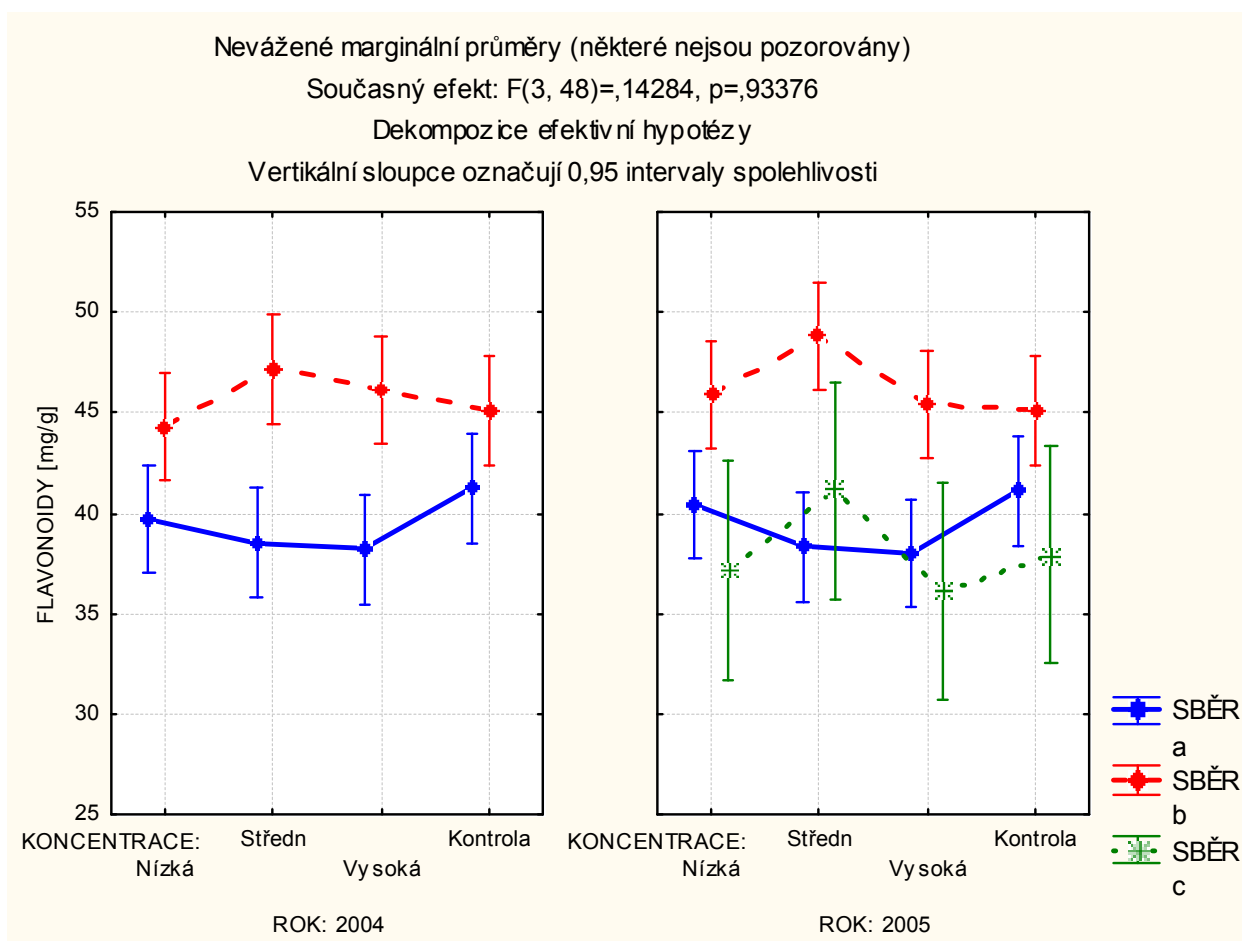
Tab. 26.b: LSD test - Koncentrace * Sběr (a – c)								
LSD test; proměnná FLAVONOIDY [mg/g]								
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy								
Chyba: meziskup. PČ = 7,2650, sv = 48,000								
	Konc.	SBĚR	{7} 38,101	{8} 45,756	{9} 36,088	{10} 41,169	{11} 45,129	{12} 37,936
{1}	Nízká	a	0,148	0,000	0,169	0,423	0,000	0,457
{2}	Nízká	b	0,000	0,644	0,003	0,005	1,000	0,015
{3}	Nízká	c	0,739	0,004	0,783	0,166	0,007	0,836
{4}	Střední	a	0,808	0,000	0,417	0,048	0,000	0,863
{5}	Střední	b	0,000	0,102	0,000	0,000	0,038	0,001
{6}	Střední	c	0,299	0,110	0,194	0,982	0,166	0,410
{7}	Vysoká	a	0,148	0,000	0,485	0,027	0,000	0,954
{8}	Vysoká	b	0,000	0,644	0,001	0,001	0,644	0,009
{9}	Vysoká	c	0,485	0,001	0,783	0,082	0,003	0,630
{10}	Kontrola	a	0,027	0,001	0,082	0,423	0,005	0,264
{11}	Kontrola	b	0,000	0,644	0,003	0,005	1,000	0,015
{12}	Kontrola	c	0,954	0,009	0,630	0,264	0,015	0,836

Z tabulek 25. – 26.(a, b) a grafů 2. – 3. a grafů 6. – 8. je vidět vliv koncentrace na obsah flavonoidů v heřmánku. Jak je patrné z Grafu 2. – 3., dochází po prvním postřiku ke statisticky významnému snížení obsahu flavonoidů v kultuře po aplikaci střední a vysoké koncentrace elicitoru oproti kontrolní kultuře. Po druhé aplikaci došlo k zásadnímu obratu, ve všech kulturách, na které byly elicitory použity došlo ke statisticky významnému nárůstu množství flavonoidů. Přičemž tento nárůst byl nejmarkantnější u rostlin po aplikaci střední koncentrace elicitoru a to o 22,44% (27,45%) ve druhém sběru oproti prvnímu v roce 2004 (2005). Kontrolní kultura měla mezi sběrový nárůst 9,44% (9,78%) v roce 2004 (2005).

Porovnáme-li výsledky měření vzorků z druhého sběru kultury po dvou elicitačních středně koncentrovaným elicitem oproti kontrolnímu vzorku z druhého sběru zjistíme, že došlo k nárůstu o 4,53% (8,19%) v roce 2004 (2005).

Pro názornost ještě doplňme, že u třetího sběru došlo sice ve všech případech k poklesu množství flavonoidů oproti prvnímu i druhému sběru, kromě jediné výjimky a to vzorků, na něž byl aplikován elicitor ve střední koncentraci (viz graf 5. a graf 7.)

Graf 8.: Vliv sběru a koncentrace elicitoru na obsah flavonoidů v jednotlivých letech



Tab. 24.: LSD test - Sběr

proměnná FLAVONOIDY [mg/g]

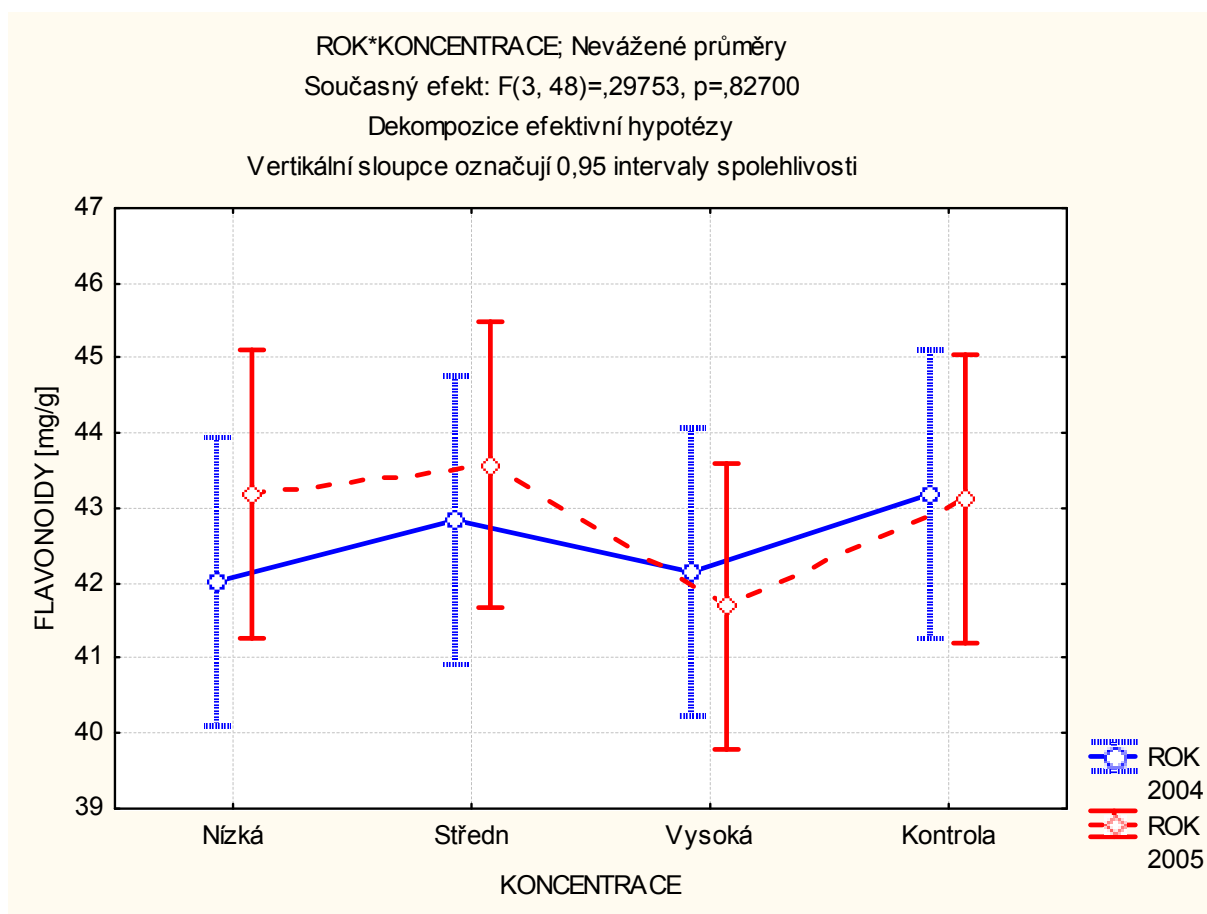
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy

Chyba: meziskup. PČ = 7,2650, sv = 48,000

	Sběr	{1ø} 39,445	{2ø} 46,004	{3ø} 38,068
{1}	a		0,000000	0,339970
{2}	b	0,000000		0,000001
{3}	c	0,339970	0,000001	

Tímto Fischerovo LSD testem byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi prvním (třetím) sběrem oproti druhému sběru heřmánku.

Graf 9.: Vliv koncentrace elicitoru a ročníku na obsah flavonoidů



Tento graf potvrzuje neprůkaznost vlivu ročníku na obsah účinných látek v heřmánku.

8. Diskuze

Používání elicitoru kyseliny acetylsalicylové při pěstování léčivých rostlin a zvyšování tímto způsobem obsahu 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 provedl Bergmann H., et al., 1994. Autoři experimentálně ověřovali aplikaci ASA ve vodném roztoku (0,2 - 2 mg/rostlina nebo 1 - 2 kg/ha) na rostliny (ječmen, brambory, cukrovka), kdy se významně zvýšil výnos a efektivita využití vody (například u ječmene až 20 % a u cukrovky 10 %).

Provedeným experimentem byl potvrzen vliv elicitoru kyseliny acetylsalicylové na tvorbu sekundárních metabolitů ve sledované rostlině *Chamomilla recutita*. Po aplikaci elicitorů se měnil obsah sledovaných účinných látek v květech této léčivky. Použitý elicitor - kyselina acetylsalicylová v nízké koncentraci ovlivňuje statisticky nevýznamně obsah flavonoidů v heřmánku, a to nejprve snížením množství účinných látek v rostlině (po jednom postřiku v prvním sběru) a následně dochází k nárůstu obsahu flavonoidů (po druhém postřiku a to ve druhém sběru). Při použití vysoké koncentrace elicitoru dochází ke statisticky významnému ovlivnění obsahu flavonoidů a to nejprve snížením množství účinných látek v rostlině (po jednom postřiku v prvním sběru) a následně dochází k nárůstu obsahu flavonoidů (po druhém postřiku a to ve druhém sběru). Nejvýznamněji se jeví foliární elicítace kyselinou acetylsalicylovou ve střední koncentraci, neboť zde došlo při prvním sběru ke statisticky významnému poklesu obsahu účinných látek, ale ve druhém sběru po dvou provedených postřicích dosáhly rostliny heřmánku maximálního množství flavonoidů ve květech a navíc se tento trend potvrdil i kontrolním třetím sběrem, který prokázal sice pokles oproti druhému sběru, ale dosáhl hodnoty z prvního sběru kontrolní skupiny.

Podobných výsledků dosáhl Šrámek (2007) ve své diplomové práci, kde prokázal výrazné zvýšení obsahu látek flavonoidního charakteru (kyselina kávová, kaftarová, cichorová a chlorogenová) v kořenové a listové hmotě rostliny *Echinacea purpurea* (Třapatka nachová) a prokázal vhodnost kyseliny acetylsalicylové k elicítaci této byliny, zejména po aplikaci kyseliny acetylsalicylové ve střední koncentraci.

Tůmová, Dušek (2000) namítají, že určitou konkrétní dávku elicitoru z jednoho pokusu nelze doporučit pro ostatní léčivé rostliny. To koresponduje částečně i s naším

případem, kdy při získávání účinných látek z květů *Chamomilla recutita* došlo po první elicitaci ke statisticky významnému poklesu obsahu flavonoidů. Tůmová (1999) uvádí, že optimální koncentraci stejného elicitoru u různých kultur *in vitro* v případě jeho pozitivního působení nelze zevšeobecnit. Koncentrace je specifická mimo jiné pro tu kterou kulturu (rostlinu) a dobu elicitace. Účinnost elicitace záleží na mnoha faktorech, které často působí synergicky či antagonisticky. Mohou to být v případě *in vitro* např. stáří kultury, koncentrace elicitoru a časové periody podání elicitoru. V případě rostlin pěstovaných *in vivo* i způsob pěstování, termín postřiku (růstová fáze rostliny), počet postřiků, časové intervaly mezi postřiky, ale také ročník, vliv sucha a další faktory.

Provedený experiment prokázal také neuspokojivý vliv vysoké koncentrace elicitoru v souladu s diplomovou prací Šrámka (2007), který pozoroval vyloženě negativní vliv kyseliny acetylsalicylové ve vysoké koncentraci na obsah účinných látek v třapatce.

Tento pokus odhalil významný pokles obsahu flavonoidů po první elicitaci kyselinou acetylsalicylovou a následně zvýšení obsahu účinných látek oproti prvnímu sběru, ale jen střední koncentrace elicitoru statisticky významně překročila kontrolní vzorek. Při střední a vysoké koncentraci kyseliny acetylsalicylové bylo pozorováno snížení obsahu účinných látek oproti kontrole i proti nízké koncentraci v prvním sběru. Projevil se zde pravděpodobně negativní vliv vysokého stresu, způsobený neoptimální dávkou elicitoru. V případě střední koncentrace kyseliny acetylsalicylové došlo pravděpodobně nejdříve k utlumení tvorby sekundárních metabolitů, které rostlina nahradila pravděpodobně zvýšenou růstovou činností a po provedení druhé elicitace se již plně aktivovaly obranné mechanismy rostliny vedoucí k produkci účinných látek. Nebo se nabízí i další možné vysvětlení a to zejména to, že elicitor působil na rostlinu stimulačně-inhibičním efektem, kdy došlo ke zvýšení jiných, námi nesledovaných látek a poklesu těch námi sledovaných.

Což potvrzují i výsledky Šrámka (2007), kterých dosáhl roku 2004 při pokusu s elicitací Třapatky nachové. V roce 2004 došlo po aplikaci elicitoru (kyselina acetylsalicylová) 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 %.

Mezi jednotlivými sběry byl sledován statisticky významný rozdíl, který koreluje i s rozložením výnosu do jednotlivých sběrů, kde Tyl M. (1986) tvrdí, že při průměrném výnosu 400 kg suché drogy z 1ha musíme sklídit minimálně 2000 kg čerstvé drogy. Toto množství je nerovnoměrně rozděleno většinou mezi 2. a 3. sklizeň. Z toho 1. sklizeň představuje 25 - 50% celkového množství, ostatní pak připadá na 2., případně 3. sklizeň. Špičkových provozních výnosů kolem 800 kg suché drogy z 1 ha nelze dosáhnout jen z jedné až dvou sklizní. Je třeba tří i více sklizní a procentické rozdělení množství bývá pak 30%, 50%, 20%.

Trendy změn obsahu sledovaných látek jsou prakticky totožné v průběhu obou sledovaných let. Relativní zvýšení či snížení obsahů účinných látek je statisticky neprůkazné. Výkyvy vlivem ročníku bývají způsobeny zpravidla průběhem počasí daného roku a pravděpodobně i obdobím ve kterém byl sběr květů uskutečněn.

Dosažené výsledky bude nutné ověřit dalším sledováním a analýzou obsahu jednotlivých komponent (např. apigenin, matricin, chamazulen atd.)

V současné době se v České republice tato rostlina nevykupuje podle obsahu účinných látek. Vyšší obsahy účinných látek v sušině, ale umožní získání extraktu potřebné kvality zpracováním menšího objemu biomasy.

9. Závěr

V práci byl splněn stanovený cíl, tj. vypěstovat vybranou léčivou rostlinu a provést testování elicitálního vlivu kyseliny acetylsalicylové. Jako modelová rostlina byla zvolena rostlina Heřmánku lékařského [*Chamomilla recutita L.) Rauschert*].

Rostlina byla pěstována v přesném maloparcelkovém pokusu. Byla použita foliární aplikace kyseliny acetylsalicylové. Postřiky byly prováděny 7-14 dní před sběrem květů ve třech různých koncentracích – nízké, střední a vysoké s cílem ovlivnit obsah biologicky aktivních látek.

Etanolové extrakty rostlinných vzorků byly analyzovány pomocí spektrofotometrické metody na přístroji SPEKOL 11 [Carl Zeiss, Jena]. Sledován byl obsah látek flavonoidního charakteru (suma flavonoidů).

Po první elicitaci se snížil oproti kontrole obsah flavonoidů ve všech případech. Po druhé aplikaci elicitorů nastal obrat a bylo dosaženo vyšších výnosů než u kontroly, avšak statisticky významně se nárůst obsahu flavonoidů projevil pouze u střední koncentrace elicitoru (kyseliny acetylsalicylové).

Nejvhodněji se bezesporu jeví aplikace kyseliny acetylsalicylové ve střední koncentraci, neboť její opakovaná foliární aplikace na porost sledované léčivky [*Chamomilla recutita L.) Rauschert*] prokázala významný stimulační vliv na rostliny ve druhém a třetím sběru. Vhodnost elicitace heřmánku střední koncentrací elicitoru je zapotřebí podrobit dalším pokusům. Zejména pak je důležité prozkoumat její vliv na další skupiny látek obsažené v heřmánku a zjistit, zda a jaký je její vliv na jejich obsah v droze. Dále by bylo zajímavé podrobit zkoumání i třetí, případně i čtvrtý sběr květů po aplikaci elicitorů, stejně tak jako i množství elicitálních postřiků, jejich rozložení v průběhu vegetace a optimalizaci doby mezi elicitací a sběrem květů.

Ze získaných výsledků se nedá jednoznačně určit, zda je kyselina acetylsalicylová vhodným elicitem, který by se mohl v budoucnu stát hojně využívanou „pomocnou látkou“ v zemědělské praxi, vzhledem k neprůkaznému ekonomickému přínosu nebyl vypracován technologický návrh pěstování ani ekonomická kalkulace.

Jedná se však bezesporu o látku s velice zajímavými vlastnostmi, která dokáže skutečně pozitivně ovlivnit obsah některých biologicky účinných látek obsažených

v sušené květní droze rostliny Heřmánku lékařského [*Chamomilla recutita L.) Rauschert*] a zároveň je chemicky nenáročná na přípravu.

Vycházejí z výsledků práce:

Hypotéza 1. - Kyselina acetylsalicylová je vhodným elicitorem ve sledovaných koncentracích a při použitém způsobu aplikace k elicitaci Heřmánku lékařského [*Chamomilla recutita L.) Rauschert*] - na základě získaných údajů **zamítám**.

Hypotéza 2. – Různé koncentrace kyseliny acetylsalicylové nemají stejný vliv (mají různý vliv) na obsah flavonoidů v Heřmánku lékařském [*Chamomilla recutita L.) Rauschert*] – na základě získaných údajů **potvrzují**.

10. Summary

This work is focused to prove effect of elicitors as stimulators of plant immunity on amount of biologically effective compounds in plant *Matricaria recutita*. For two years the field culture of *Matricaria recutita* was grown. As elicitor was used *Acetylsalicylic acid* (ASA) in different dose of elicitor (low, medium, high, neutral). Concentration of selected biological active substances in floss of *Matricaria recutita* plant was measured to prove the elicitation of the leaf application of elicitors.

Ethanol plant samples were analyzed by a spectral photometric method with SPEKOL 11 [Carl Zeiss, Jena] device. The amount of substances with flavonoid character (*sum of flavonoids*), which are specific biologically effective compounds, was measured.

The sum of flavonoids was decreased after first elicitation by elicitor in analyzed samples compared to neutral samples in all cases. The second elicitation seemed to be a turning point. Low and high doses of elicitor were the cause of increase of flavonoids but did not prove the positive effect of ASA to plant with statistical significance. Medium dose of elicitor was the cause of statistical significant increase of flavonoids concentration in floss of *Matricaria recutita*. The same effect as in the second analysis was observed in third control analysis.

Potential of ASA as elicitor with positive impact to plant *Matricaria recutita* in medium dose needs to be approved by follow-up works. These works should focus on other groups of biologically active compounds (e.g. terpenoids, coumarines, steroids, aromatic acids, etc.), frequencies between elicitor applications or number of elicitations. Other possibility is to analyze the samples for the content of individual chemical substances (e.g. matricin, natricin, chamazulen, bisabol, etc.) with high precious methods like HPLC.

Potential financial benefits as a result of elicitor application need to be proved by these following works too.

Key words: **elicitor; flavonoids; *Acetylsalicylic acid* (ASA); biologically effective compounds; *Matricaria recutita* L.**

11. Seznam použité literatury

1. **Allen, E., Thomas, C. (1971):** Time course of safenol accumulation in resistant and susceptible safflower infected with *Phytophthora drechsleri*. Phytoalexins.
2. **Beiderbeck, R., Reichling, J. (1989):** Pflanzenkulturen in Forschung und Praxis. Teil V/2. Biologie 5, p. 453-464
3. **Bergmann, H., Leinhos, V., Machelett, B. (1994):** 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 Horti, vol. 1, p. 390 – 397.
4. **Blessing, P. [online] (1999):** *Matricaria recutita* (German Chamomile) Dostupný na World Wide Web: < <http://www.newcrops.uq.edu.au/newslett/ncn11166.htm> >
5. **Bloch, C. B., De Vitt, P. J. M., Kuc, J. A. (1984):** Elicitation of phytoalexins by arachidonic and eicosapentanoic acids: a host survey. *Physiol. Plant. Pathol.* 25, p. 199-208
6. **Bohlmann, J., Eilert, U. (1995):** Elicitor induction of furanocoumarin biosynthetic pathway in cell cultures of *Rllta graveolens*. *Plant. Cell Tis. Org. Culture*, p. 155-161
7. **Bostock, R. M., Kuc, J. A., Laine, R. A. (1981):** Eicosapentanoic and arachidonic acids from *Phytophthora infestans* elicit fungitoxic sesquiterpens in potato. *Science* 12, p. 67-69
8. **Bremnessová, L. (2003):** Bylinář - Zdraví, krása a radost. FORTUNA PRINT, Praha, vol. 5., p. 286. ISBN 80-85873-00-1
9. **Buitelaar R.M., Cesario M.T., Tramper J. (1992):** Elicitation of thiophene production by hairy roots of *Tagetes patula*. *Enzyme and Microbial technology*, 14, 1, p. 2-7.
10. **DiCosmo, F., Misawa, M. (1985):** Eliciting secondary metabolism in plant cell cultures. *Trends. Biotechnol.* 3, p. 318-322
11. **DiCosmo, F., Norton, R., Towers, G. H. N. (1982):** Fungal culture-filtrate elicits aromatic polyacetylenes in plant tissue culture. *Naturwissenschaften* 69, p. 550-551
12. **Dušek, J. et al. (1997):** Studium faktorů ovlivňujících biosynthesu terapeuticky významných metabolitů v kulturách in vitro. Závěrečná zpráva grantu 193/1997/Bb-BIO/FaF

13. **Ebel, J., Mithöfer, A. (1998):** Early events in the elicitation of plant defense. *Planta* 206, p. 335-348
14. **Ellis, S. M., Balza, F., Constabel, P., Hudson, J. B., Towers, G. H. N. (1995):** Thiarrubines: novel dithiacyclohexadine polyene photosensitizers from higher plants. In: Heitz, J. R., Downum, K. R.: Light activated pest control. American Chemical Society, p. 164-178
15. **Fischer, N. H., Quijano, L. (1985):** Allelopathic agents from common weeds. *Amaranthus palmeri*, *Ambrosia artemisiifolia* and related weeds. In: Thompson, A. C, The Chemistry of Allelopathy. American Chemical Society, Washington, DC, p. 134147
16. **Foster, S. (2000):** Chamomile - *Matricaria recutita*, Dostupný na World Wide Web: <<http://www.stevenfoster.com/education/monograph/chamomile.html>>
17. **Gelli, A. Blumwald, E., (1997):** Secondary inorganic ion transport at the tonoplast. Advantages in Botanical research incorporating advantages in plant pathology, 25, 401-417.
18. **Hjortso, M., Mukundan, U. (1990):** Effect of fungal elicitors on thiophene production in hairy root cultures of *Tagetes patula*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, p. 145-147
19. **Hjortso, M., Mukundan, U. (1994):** Genetic transformation in *Tagetes* species (marigolds) for thiophene contents. In: Bajaj, Y P. S.: Biotechnology in agriculture and forestry. *Plant Protoplasts and Genetic Engineering* 29, p. 365-382
20. **Janča J., Zentrich J. A. (1995):** Herbář léčivých rostlin DÍL 2., EMINENT: Praha, vol. 1., p. 287, ISBN: 80-85876-04-3
21. **Jirásek, V., Starý, F. (1986):** Atlas léčivých rostlin. Mladá, J., Severa, F., Praha: SPN 1986, ISBN 6-82-33/1, 368 p.
22. **Kolář, L. (1982):** Vliv přijatých živin na tvorbu genisteinu v jeteli lučním. *Rostl. Výroba* 28, p. 1-18
23. **Kolář, L. (1982):** Estrogenní genistein v jeteli lučním. 1. a 2. sdělení. In: Sbor. PEF VSZ Praha, České Budějovice, 1982, p. 1-12 (1), p. 1-18 (2)
24. **Kužel, S., Kolář, L., Ledvina, R., Pašek, J. (1998):** Vliv nadbytku dusíku ve výživě *Echinacea purpurea* (L.) Moench na tvorbu jejích účinných látek. *Rostl. výr.* 44, 1998, p. 489-495

25. **Li, G. J., Wang, S. C., Xia, K., et al. (2003):** *Effect of yeast elicitor and salicylic acid on the fluctuation of phytohormones in Ti-transformed *Salvia miltiorrhiza* cell cultures.* Plant Growth Regul. 39, p. 27-32
26. **Longland, A. C., Slusarenko, A. J., Friend, J. (1998):** Arachidonic and linoleic acid elicit isoflavonoid phytoalexin accumulation in *Phaseolus vulgaris* (French bean). J. Phytopathology 120, p. 289-297
27. **Lu, P., Lu, K.: Zheng, J., Guo. D. (1998):** *Effect on rare earth elements on the growth cycle of *Coptis chinensis*.* 1. Beijing Medical Univ. 30, p. 389-391
28. **Marineli, F., Ronchi, V. N., Salvador, P. (1994):** Elicitor induction of enzyme activities and 6-methoxymellein production in carrot cell-suspension culture. Phytochemistry 35, p. 1457-1460
29. **Nishi, A. (1994):** *Effect of elicitors on the production of secondary metabolites.* In: Ryu, D. D. Y, Furusaki, S.: Adv. Plant Biotechnol. Elsevier Sci. BV, p. 135-151
30. **Nürberger, T. (1999):** Signal transduction in plant defense. Cell. Mol. Life. Sci 55, p. 167-182
31. **Pašek, J. (1997):** Návrh výroby imunogenního sirupu z fyziologicky účinné látky *Echinacea purpurea* (L.) Moench., Diplomová práce, ZF JU, České Budějovice, p. 69
32. **Pooviah, B. V., Leopold, A.C. (1976):** Effects of inorganic salts on tissue permeability. Plant Physiol. 58, p. 182-185
33. **Salamon, I. (1992):** Production of Chamomile in Slovakia. *The Herb, Spice and Medicinal Plant Digest* 1992, 10(1): p 1-4.
34. **Šalátová, M. (2006)** *Osobní sdělení*
35. **Šrámek, J. (2007):** Léčivé rostliny, jejich hnojení a ošetření elicitory s cílem maximální produkce některých účinných látek., Diplomová práce, ZF JU, České Budějovice, 86 p.
36. **Tomko, J. (1999):** Farmakognózia – Učebnica pre Farmaceutické fakulty, Martin: Osveta, vol. 3., p. 75-77, 176, 182-184, 305-307, ISBN: 80-8063-014-3
37. **Tůmová, L. (1999):** Vliv elicitoru z *Pseudomonas aeruginosa* na produkci flavonoidů kulturou jehlice rolní - *Ononis arvensis* L. in vitro. Čes. a Slov. Farm. 48, No. 6, p. 262-264
38. **Tůmová, L., Dušek, J. (2000):** Vliv kyseliny linolové na produkci sekundárních metabolitů. Čes. A Slov. Farm. 49, No. 2, p. 78-81

39. **Tůmová, L., Šnajdrová H., Tůma, J. (1996):** Ovlivnění produkce flavonoidů v kultuře *Ononis arvensis* L. in vitro elicitací *Aspergillus terreus*. Čes. a Slov. Farm. 45, No. 6, p. 305-309
40. **Tyl, M. (1986):** Heřmánek lékařský - Agrotechnika velkovýrobní produkce heřmánku lékařského, jako účelovou publikaci vydal r. 1986 n. p. Léčivé rostliny, Tisk MTZ 31 Gottwaldov, NEPRODEJNÉ, 37 p.
41. **Vangronsveld, J., Clijsters, H. (1994):** Toxic effects of metals. In: Farago, M. E.: Plants and the Chemical Elements, VCH Verlagsgesellschaft GmbH, Weinheim, p. 149-177
42. **WIKIPEDIA 2007:** Heřmánek pravý. Dostupný na World Wide Web: <http://cs.wikipedia.org/wiki/He%C5%99m%C3%A1nek_prav%C3%BD>
43. **Wink, M., Lehmann, P. (1996):** Wounding- and elicitor- induced formation of coloured chalcones and flavans (as phytoalexins) in *Hippeastrum x hortorum*. Botanical Acta 109, p. 415-421
44. **Woo, D. D. L., Miao, S. Y. P., Pelayo, J. C., Woolf, A. S. (1994):** Taxol inhibits progression of congenital polycystic kidney disease. Nature 368, p. 750-753
45. **Woo, J., Wang, Ch., Mei, X. (2000):** Stimulation of taxol production and excretion in *Taxus* spp cell cultures by rare earth chemical lanthanum. J. Biotechnol. 85, p. 67-73

PŘÍLOHY:

PŘÍLOHA 1 - Secí zařízení:

PŘÍLOHA 2 - Sklízeč Heřmánku ST 1-003:

PŘÍLOHA 3 -Třídíčka s předseparátorem ST 1-004:

PŘÍLOHA 4 - Roštová sušárna léčivých rostlin:

PŘÍLOHA 5 - Účinné látky

PŘÍLOHA 6 - Mlýnek PULVERISETTE 14

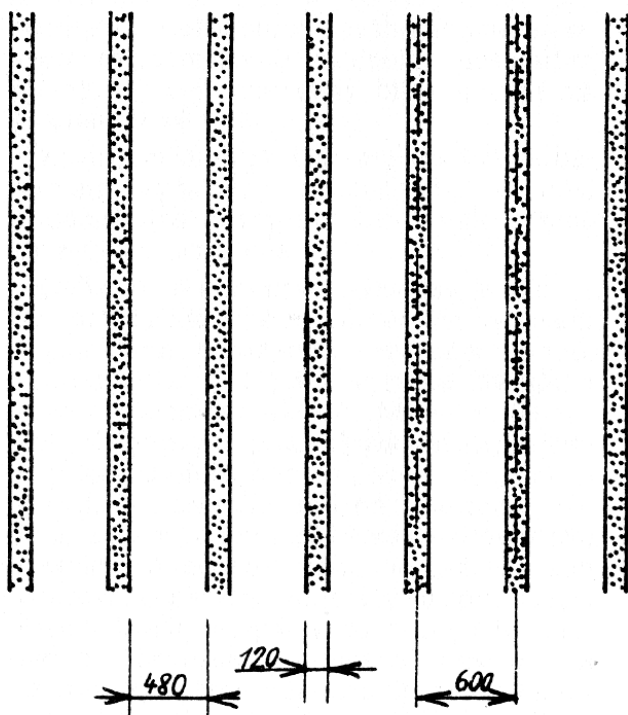
PŘÍLOHA 7 – Tanin

PŘÍLOHA 8 – SPEKOL 11 (technická specifikace)

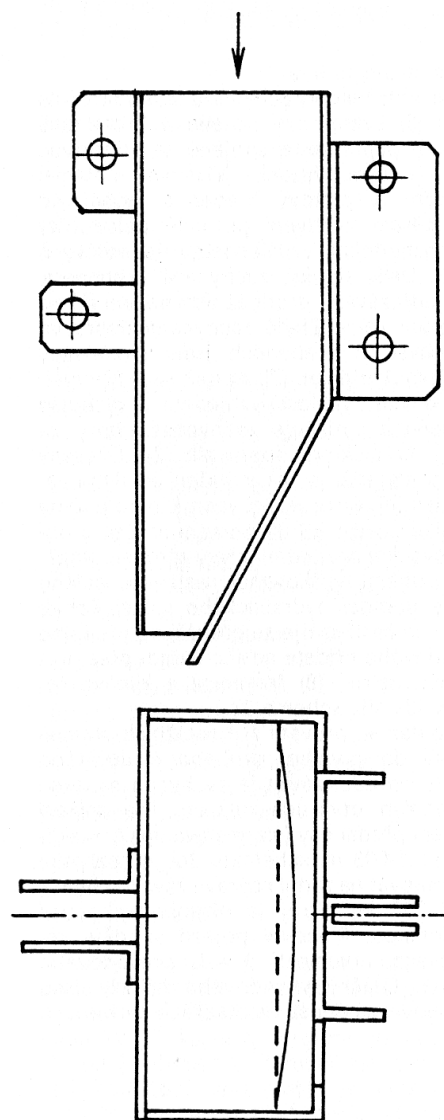
PŘÍLOHA 1 - Secí zařízení:

Pásový výsev heřmánku:

Podle schématu 1 b je adaptér proveden z plechu, je krabicovitýho obdélníkového průřezu 120 x 60 mm o výšce 210 mm. Ve spodní části je zkosen a šikmá stěna je mírně vypouklá. To umožňuje rovnoměrné rozmístění semen v přesném 120 mm širokém pásu. Do adaptéru jsou volně zavedeny 2 semenovody. Svými úchytkami je adaptér připevněn k spodnímu rámu secího stroje a nesen několik cm nad povrchem dobře připraveného pozemku. Pro secí stroj Saxonia A-761 je třeba 4 adaptéry, pro typ A-591/500 8 adaptéry.



1.a Setí do řádků



1.b Adaptér secí botky

PŘÍLOHA 2 - Sklízeč Heřmánku ST 1-003:

Popis stroje:

Podle přiloženého schématu 2 má stroj na rámu (5) symetricky nesené 4 hřebenové lišty (1) paprskovitě spojené se středovou hnací nosnou hřídelí. Vlastním česacím ústrojím je prstový hřeben s jednotným poloměrem zakřivení po celé délce lišty a konstantními vzdálenostmi jednotlivých prstů. Delší stonky, zachycené hřebenem, jsou odřezávány protiběžným nožem (6) na rotačním válci. Zbylé zachycené úboře ve vyčesávacích hřebenech jsou uvolňovány rotačním kartáčem (7). Kartáč se otáčí vyšší

obvodovou rychlostí vzhledem k rychlosti hřebenu a vytlačuje zachycené úbory na šikmý hrabičkový dopravník (2). Očesaný květ ní materiál je tak vynášen do dvou zásobníků (4). Stroj je uchycen k páteřovému nosníku nosiče RS 09 pomocí závěsu s odlehčovacími pružinami, který zároveň umožňuje změnu výškového nastavení celého stroje pomocí hydraulického válce. Pohyb hybných částí stroje se přenáší od předního vývodového hřídele nosiče nářadí přes převodové ústrojí (8) řemenice a klínové řemeny (3). (Viz schéma 2b.)

Montáž se provádí z montážních stojanů držáky do prvního, druhého a devátého otvoru odzadu, závěs je zachycen na dvou posledních otvorech odzadu. Pro snížení zařízení přední osy (viz sestava nosič + sklízeč ST 1-003 na schématu 3c) je nezbytné namontovat na zadní nápravu závaží o hmotnosti 280 kg. Stroj je obsluhován pouze traktoristou. Pracovní pojezd se děje redukovanou rychlostí 1.-3. převodového stupně. Otáčky vývodového hřídele jsou zařazeny v závislosti na otáčkách motoru.

Sklízeč zavěšený na nosiči se nesmí pohybovat na komunikacích 1.-3. třídy.

Nejdůležitější technické parametry		
ST 1-003:		
	Jednotka	
Výkon stroje	ha.h-1	0,10
Maximální rozměry		
- délka	mm	1957
- šířka	mm	2550
- výška	mm	1000
Hmotnost	kg	850
Svahová dostupnost		
se závažím	°max.	15
Boční statická stabilita	°max.	10

Vybrané náhradní díly k ST 1-003 jsou:

česací ústrojí kompletní
 česací hřeben
 rotační válec kompletní
 nůž rotačního válce
 řemenice převodová
 řemenice kuželové
 převodovky řemenice
 česacího ústrojí
 řemenice rotačního válce
 řemenice dopravníku
 záchytný kryt
 zásobník
 závěs kompletní

Nejdůležitější technické parametry soustrojí: Soustrojí ST 1-005 + AST 034

Výkon	t.h-1	0,25	Velikost ok	mm	22,4 x22,4
Maximální rozměry			separačního bubnu	nebo	25,0 x25,0
- délka	mm	4930		nebo	kombinovaná
- šířka	mm	2215	0 trubek horního		
- výška	mm	2800	válečkového separátoru	mm	20
Hmotnost	kg	1687	Mezera mezi válečky	mm	11
Ø separačního bubnu	mm	646	0 trubek spodního		
Počet otáček			válečkového separátoru	mm	20
separačního bubnu	ot.min-1	34-38	Mezera mezi válečky	mm	4,2

Při převzetí stroje a po celou délku jeho provozu je třeba dbát zachování rovnoměrnosti mezer mezi válečky. Válečky jsou povrchově upravovány zinkováním nebo komaxitem a při všech údržbách je třeba dbát na jejich čistotu

Schéma sklízeče heřmánku ST 1-003:

Schéma A :

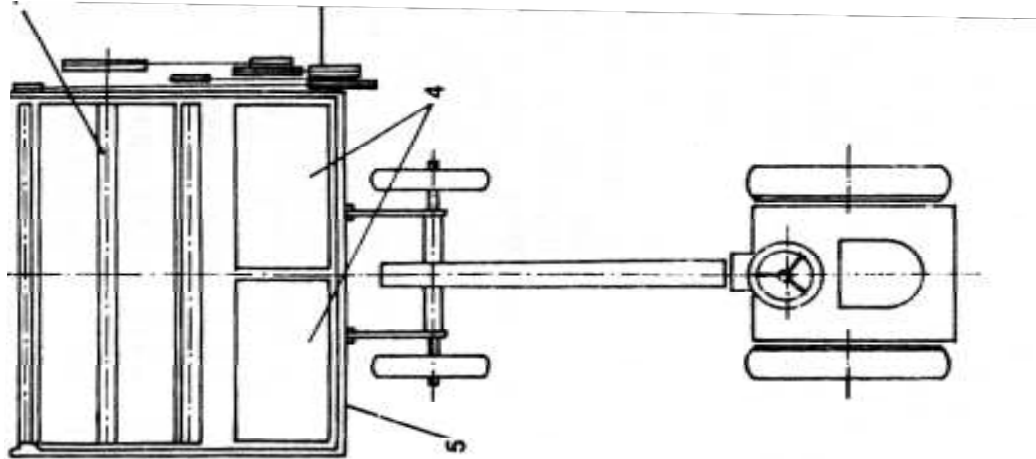


Schéma B :

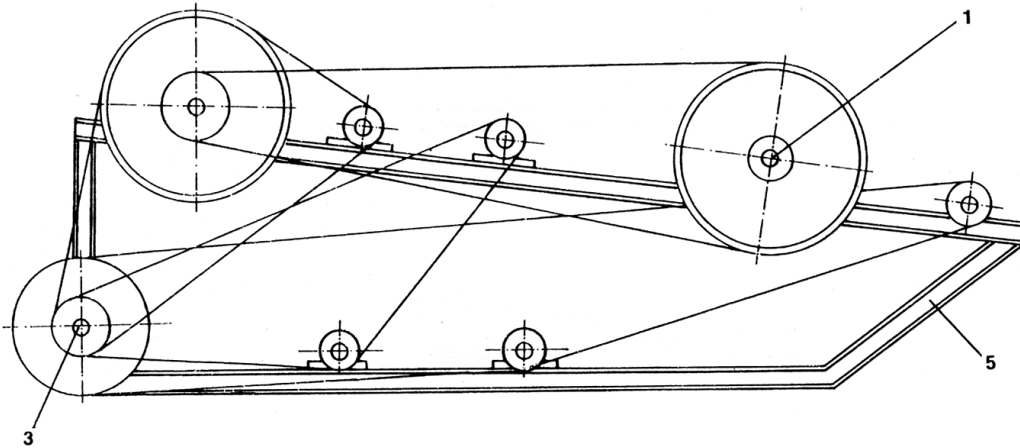
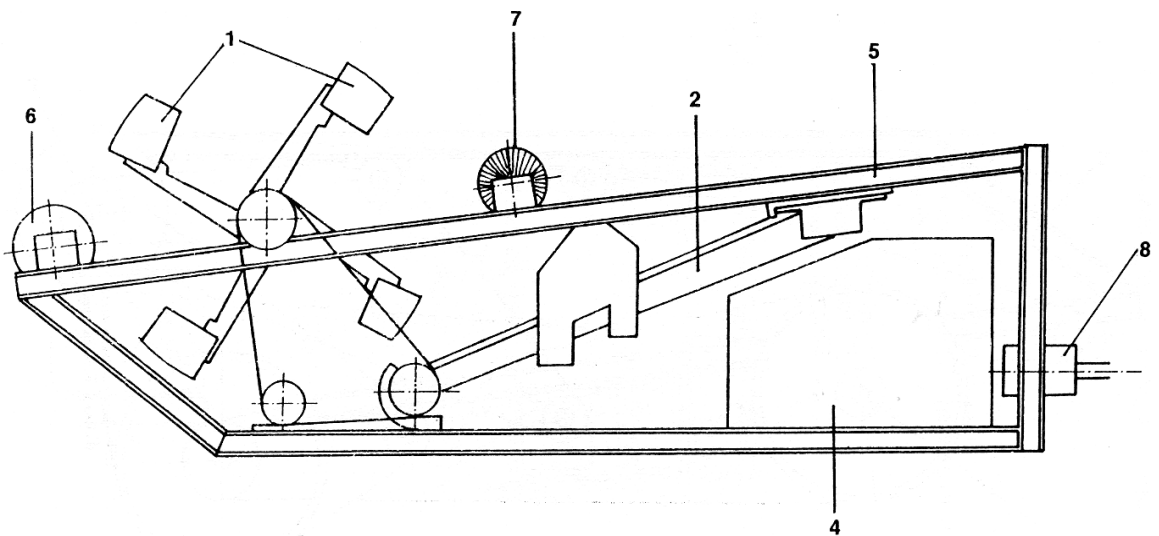


Schéma C :



Popis částí stroje:

1. Česací ústrojí se čtyřmi řadami hřebců,
2. Šikmý vynášecí dopravník,
3. Rozvod pohybu od převodové řemenice,
4. Zásobníky,
5. Rám stroje,
6. Rotační pohyblivý nůž,
7. Rotační kartáč,
8. Kuželová převodovka

PŘÍLOHA 3 -Třídíčka s předseparátorem ST 1-004:

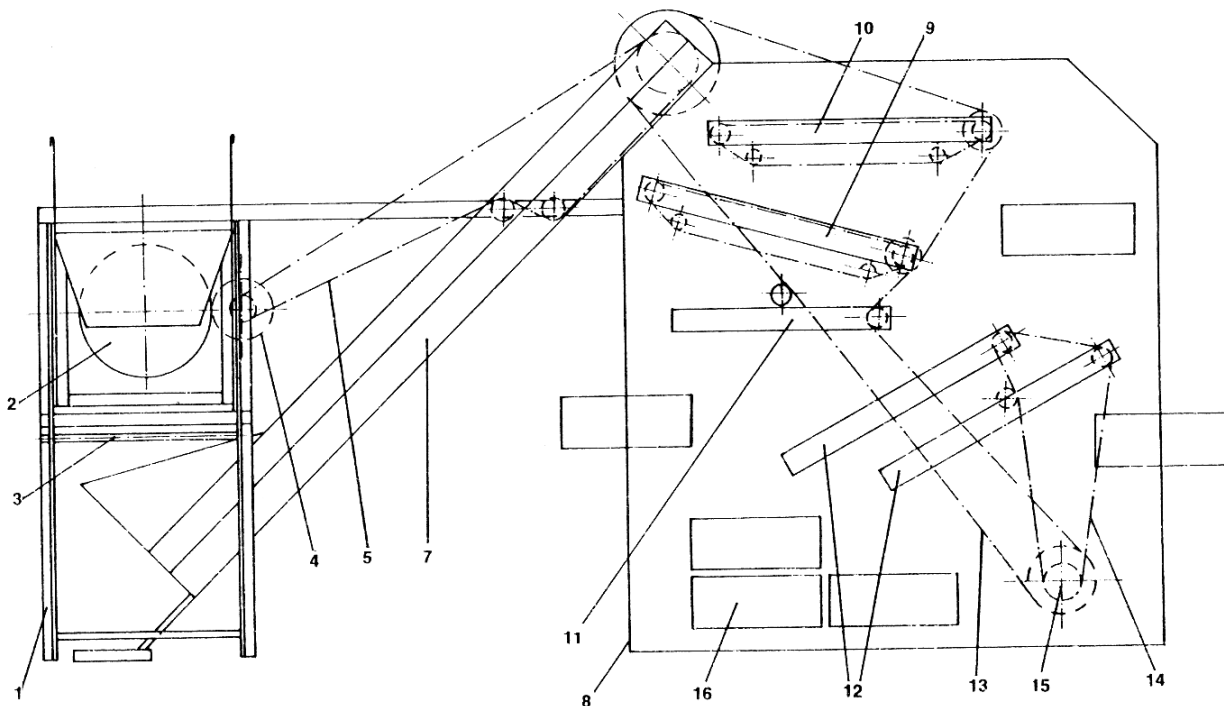
Na přiloženém schématu je většina funkčních částí třídíčky heřmánku včetně elektromotoru (15), umístěného v levém dolním rohu rámu (8) při pohledu od vynášecího dopravníku (7). Ten spolu s násypkou tvoří vstup květního materiálu na třídíčku. První rozdělení podílů nastává na horním rovném válečkovém separátoru (10) propadem všech podílů menších než 11 mm na spodní šikmý válečkový separátor (9) a přepadem všech větších podílů (tedy prakticky všech dlouhých příměsí) do zásobníku. Vynesený podíl odpovídá kategorii odsevky, případně květní nať. Podle množství a způsobu ukládání se v tomto podílu vyskytují také úbory se stonky do 2cm unášené na povrchu dlouhých příměsí. To je důsledek pasivního pohybu květního materiálu po válečkovém separátoru. Odstranit tyto relativní ztráty lze buď opakovaným přetříděním tohoto přepadu nebo vložením aktivního předtřídícího zařízení. Propad se na spodním šikmém válečkovém separátoru (9) znovu dělí na část propadu menší než 4,2 mm (všechny drobné příměsí včetně poupat) dopadající na sběrací dopravník (11) a vynášená do zásobníku. Toto je jediný doposud neupotřebitelný podíl - odpad. Druhá část přepadává na skloněný horní třídící dopravník (12), po kterém se úbory kutálejí podle délky svého stonku. Úhel jeho nastavení tedy určuje přímo kvalitu produktu v zásobnících (6). Při správném postupu zde získáváme 1. kvalitativní třídu. Totéž platí o spodním skloněném třídícím dopravníku s rozdílem mírného posunu kvality skulu k horší 2. jakosti. Přepad je tu tvořen převážně úbory se stonky delšími 4 cm.

Zárukou dobré funkce stroje je ustavení v přísně vodorovné poloze na pevné rovné podložce v zastřešeném prostoru s možností manipulace dopravními prostředky. Po připojení vynášecího dopravníku kontrolujeme oboustranné rovnoměrné napnutí všech čtyř gumotextilových pásů, a to i při chodu stroje. Pásky musí běžet volně, prostředkem bez nabíhání k některému okraji. Vedení řetězů je podle přiloženého schématu 3. Změny sklonu třídících dopravníků se mohou provádět za chodu stroje.

Ke zvýšení výkonu i kvality práce třídíčky heřmánku byl vyvinut jako separační předstupeň předseparátor heřmánku AST 034,

připojitelný k ST 1-005. jeho pohon je odvozen z rezervy výkonu elektromotoru třídíčky. Má samostatný rám (1). násypku (6). kterou je čerstvý květní materiál usměrňován do separačního bubnu (2). Kruhovým pohybem uvnitř skloněného válce propadá veškerý podíl menší než 25 mm (případně 22,4 mm). Přepadem jsou dlouhé příměsí popsány také výše jako přepad horního válečkového separátoru (10). Tím je odlehčeno výkonu třídíčky a zvyšuje se kvalita její práce.

Soustrojí ST 1-005 + AST 034 tvoří třídíčku heřmánku s předseparátorem ST 1-004. Toto soustrojí spolehlivě třídí každou směs podílů sklizeného čerstvého květního materiálu. Soustrojí je obsluhováno 2-3 zaškolenými pracovníky.



PŘÍLOHA 4 - Rošťová sušárna léčivých rostlin:

Schéma rošťové sušárny (údaje jsou v cm):

Schéma A :

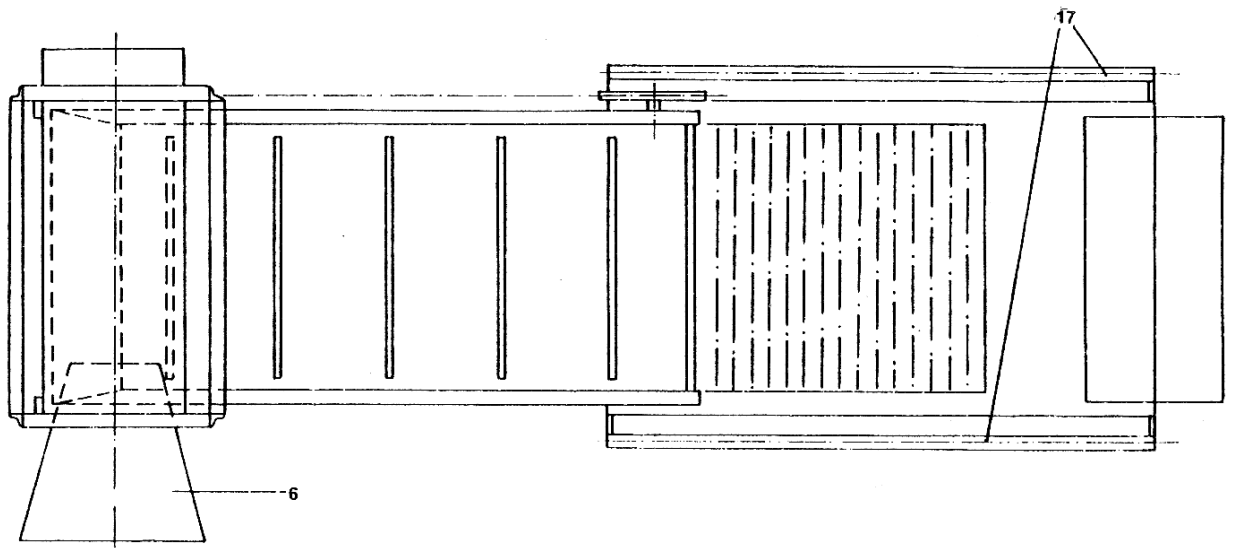


Schéma B :

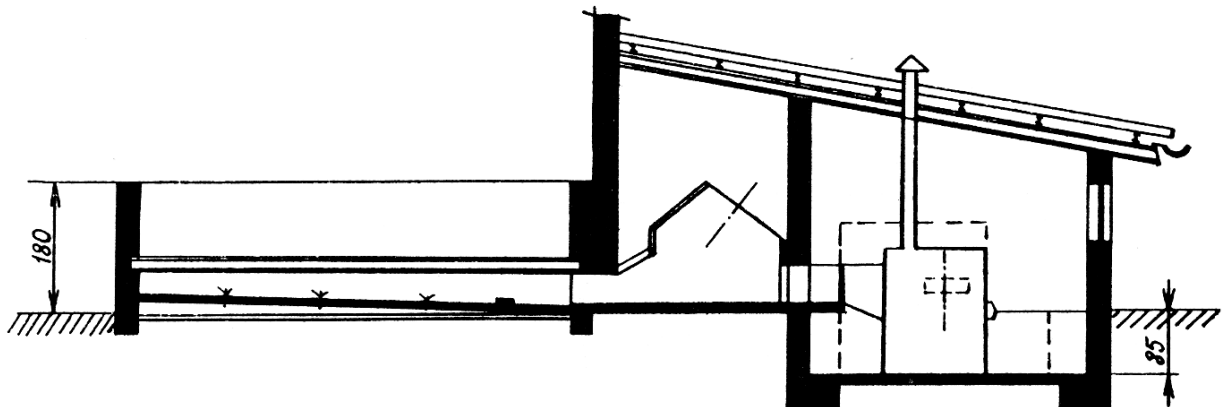


Schéma C:

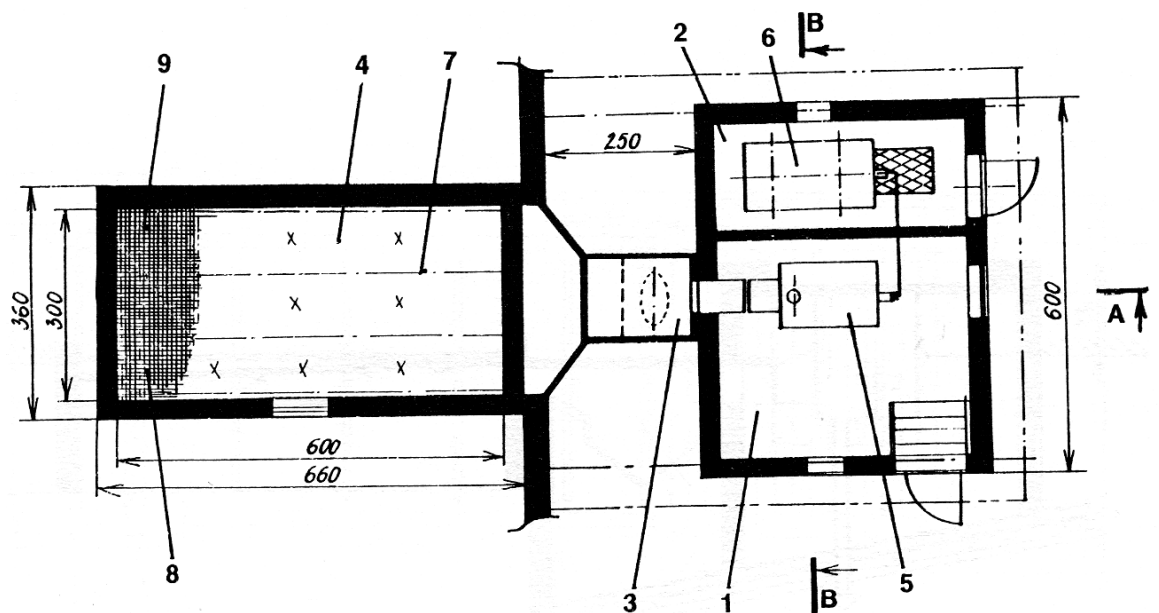
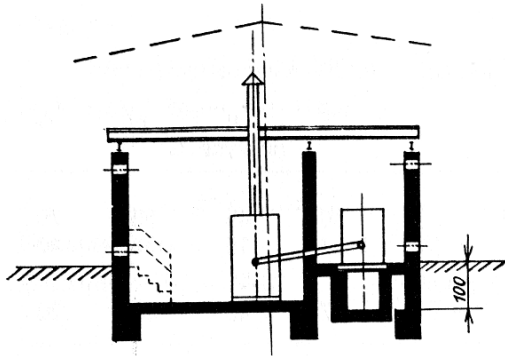


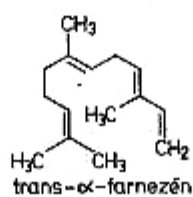
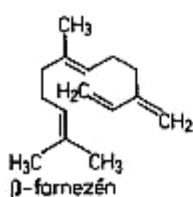
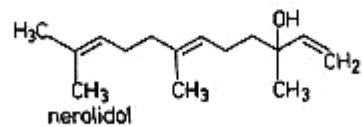
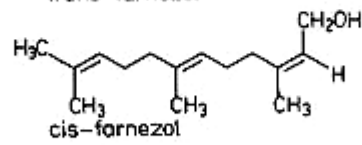
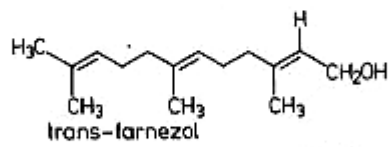
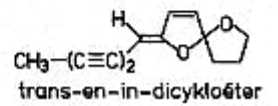
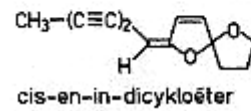
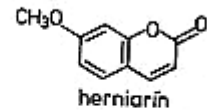
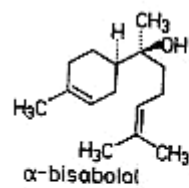
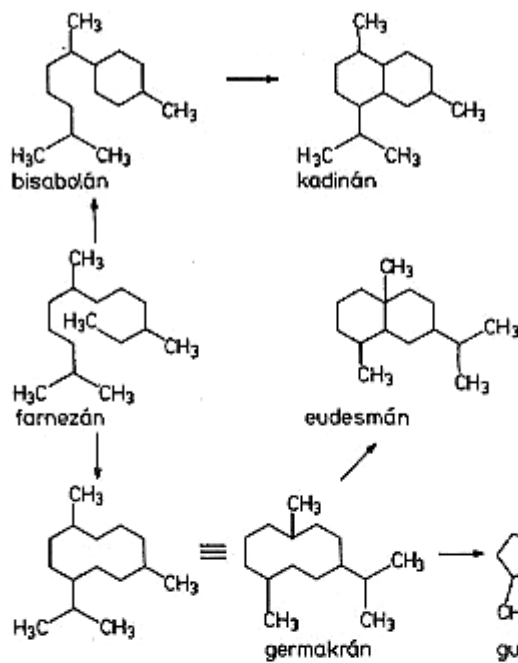
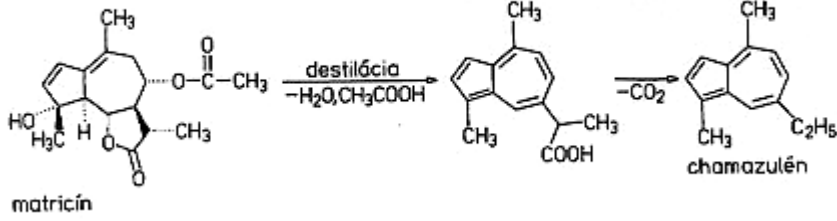
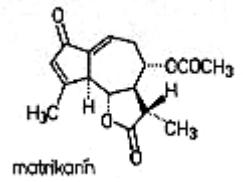
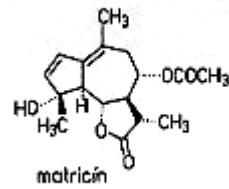
Schéma D:

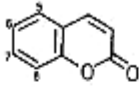


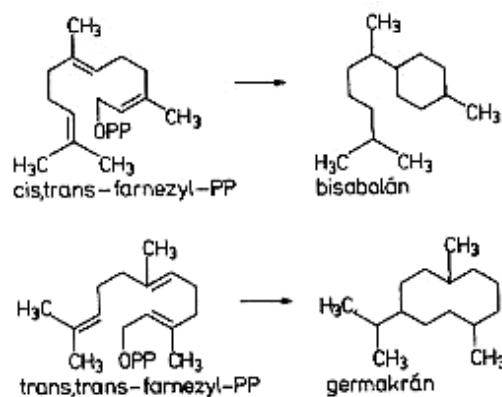
Popis schématu roštové sušárny:

1. místnost pro tepelný agregát
2. místnost pro nádrž s bezpečnostní jámkou
3. směšovací komora
4. sušící prostor
5. tepelný agregát stabilní
6. nádrž na palivo
7. I. profil pod rošty
8. pórorašt – desky 1×1 m
9. síto nad rošt

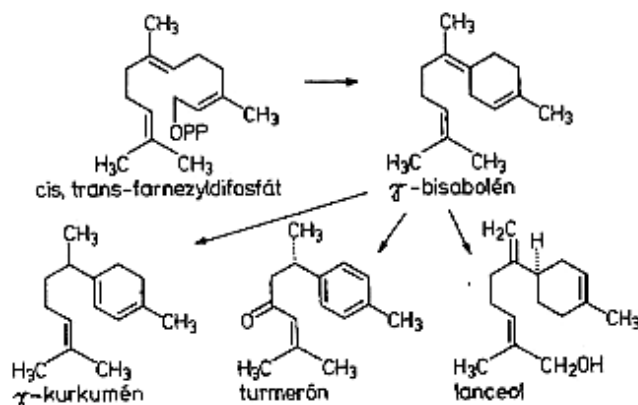
PŘÍLOHA 5 – Účinné látky



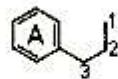
Látka	Substitúcia v polohe				Výskyt
	5	6	7	8	
Umbeliferón  kumarín	—	—	OH	—	<i>Atropa bella-donna</i> <i>Datura stramonium</i> <i>Archangelica officinalis</i> <i>Levisticum officinale</i> <i>Pimpinella anisum</i> <i>Pimpinella</i> sp. <i>Ferula</i> sp. <i>Chamomilla recutita</i>
Herniarín	—	—	O—CH ₃	—	<i>Herniaria</i> sp. <i>Lavandula</i> sp. <i>Chamomilla recutita</i>
Skimin	—	—	O—Glc	—	<i>Illicium verum</i> (droga: <i>Fructus anisi stellati</i>)
Dafnetín	—	—	OH	OH	<i>Daphne</i> sp. (<i>Cortex mezerei</i>)
Dafnín	—	—	O—Glc	OH	
Eskuletín	—	OH	OH	—	<i>Aesculus</i> sp. <i>Crataegus</i> sp. <i>Fraxinus</i> sp.
Eskulín	—	O—Glc	OH	—	výskyt ako eskuletín
Skopoletín	—	O—CH ₃	OH	—	<i>Avena sativa</i> (koreň) <i>Ipomoea</i> sp.
Skopolín	—	O—CH ₃	O—Glc	—	<i>Atropa bella-donna</i> <i>Nicotiana</i> sp. <i>Datura</i> sp.
Cichorín	—	OH	O—Glc	—	<i>Fraxinus</i> sp.
Fraxetín	—	O—CH ₃	OH	OH	<i>Fraxinus</i> sp.
Fraxín	—	O—CH ₃	OH	O—Glc	
Fraxidín	—	O—CH ₃	O—CH ₃	OH	
Izofraxidín	—	O—CH ₃	OH	O—CH ₃	
Fraxinol	O—CH ₃	OH	O—CH ₃	—	



Z cis, trans-farnezyľ-PP vzniká γ -bisabolén, jeden z najrozšírenejších seskviterpénov. Ďalšími reakciami sa z neho odvodzuje γ -kurkumén, turmerón a lanceol.



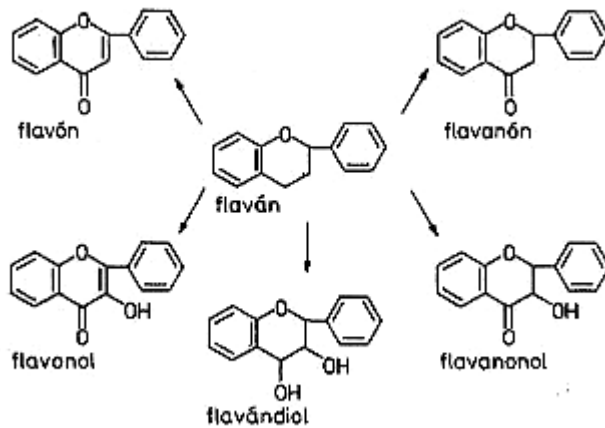
Flavonoidy jsou glykosidické látky většinou žluté, s chemickou strukturou vyjádřenou schematicky: C₆-C₃-C₆
a strukturně:



1...flavonoidy

Substituent B v poloze 2...isoflavonoidy

3...neoflavonoidy



FLAVÓNY		R	R'
Apigenín	—OH	—H	—H
Luteolín	—OH	—OH	—OH
Diosmetín	—OCH ₃	—OH	—OH
FLAVONOLY		R	R'
Galangín	—H	—H	—H
Kempferol	—OH	—H	—H
Kvercetin	—OH	—OH	—OH
Myricetin	—OH	—OH	—OH
FLAVANÓNY		R	R'
Naringenin	—OH	—H	—H
Eriodyktiol	—OH	—OH	—OH
Hesperetin	—OCH ₃	—OH	—OH
R	R'		
H;	H → kvercetin		
H;	galaktozyl → hyperozid		
H;	ramnozyl → kvercitrin		
OH;	digalaktozyl → miricetin digalaktozid		

PŘÍLOHA 6 - Mlýnek PULVERISETTE 14

Variable speed rotor mill PULVERISETTE 14

For grinding of medium-hard, tough materials and for sample preparation according to RoHS and WEEE (e.g. for detection of hexavalent chromium).

Areas of application

Soft substances such as plants, wood, roots, leaves, needles, spices, textiles, leather, chemicals, foodstuffs, grains, cellulose, chalk, kaolin, coal, soil (without stones). Medium-hard substances such as drugs, dragées, tablets, fertilisers, pellets, animal feed.

Temperature-sensitive samples can be comminuted because the fast, effective grinding reduces the thermal load on the grinding material. Difficult-to-grind samples such as styrene, polyester, synthetic resins, films, PVC, PP and PE can be made brittle, for instance through addition of liquid nitrogen, and then ground to analysis fineness. Furthermore, the Variable Speed Rotor Mill PULVERISETTE 14 is recommended for sample preparation according to RoHS and WEEE.

Method of operation

A rotor with moulded-on ribs spins at high speed to comminute the sample through collision forces. In addition, the sharp-edged teeth together with the inserted sieve cut the sample through shearing. In the last comminution stage, the sample is subject to friction between the rotor and sieve.

Features overview

- Changer system consisting of rotor, collecting vessel, sieve and labyrinth seal, completely removable and re-insertable without tools
- Regulated rotor speed (6,000-20,000 rpm)
- Optimal grinding chamber external cooling with extremely high air throughput
- Wear-free rotor of hardened stainless steel capable of accepting extreme loads
- Wear-free labyrinth seal between grinding chamber and drive motor
- High speed stability even under full load
- Conversion kit for iron-free grinding

Equipment

The standard equipment delivered with the variable speed rotor mill PULVERISETTE 14 includes a collecting vessel but no impact rotor or sieve ring.

Rotors and sieve rings are offered in various designs and materials and must be ordered as accessories.

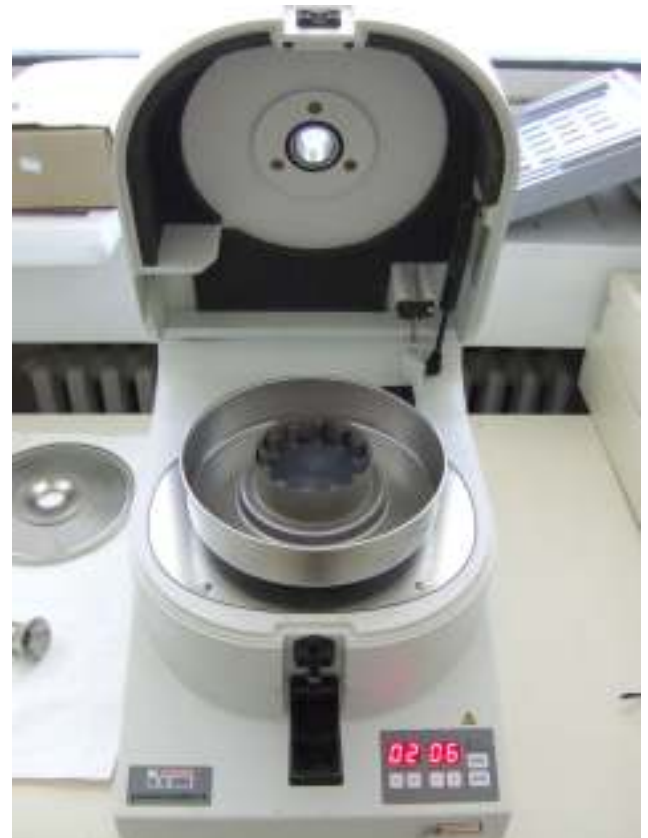
A TC-coated sieve ring with 0.25 mm trapezoidal perforation is also offered.

Technical data

Voltage/connection values:	100-120/200/240 V/1~ *
Frequency:	50-60 Hz *
Input Power:	1150 W *
Operating principle:	Impact
Grinding tools:	Impact rotor, pin insert, impact bar
Materials of the grinding tools:	Stainless steel, pure titanium, TiN-coated steel, TC-coated steel
Rotor speed:	6,000-20,000 rpm
Feeding:	Batch-wise/continuous
Max. input size: (depends on material)	10 mm
Min. sample quantity:	5-10 ml
Max. throughput quantity: (depends on material and sieve size)	5 l/h
Final fineness: (depends on sieve insert)	0.08-6 mm
Dimensions: (WxDxH)	Table unit 31x48x47 cm
Weight:	23 kg
*Voltage indicated by customer is set	

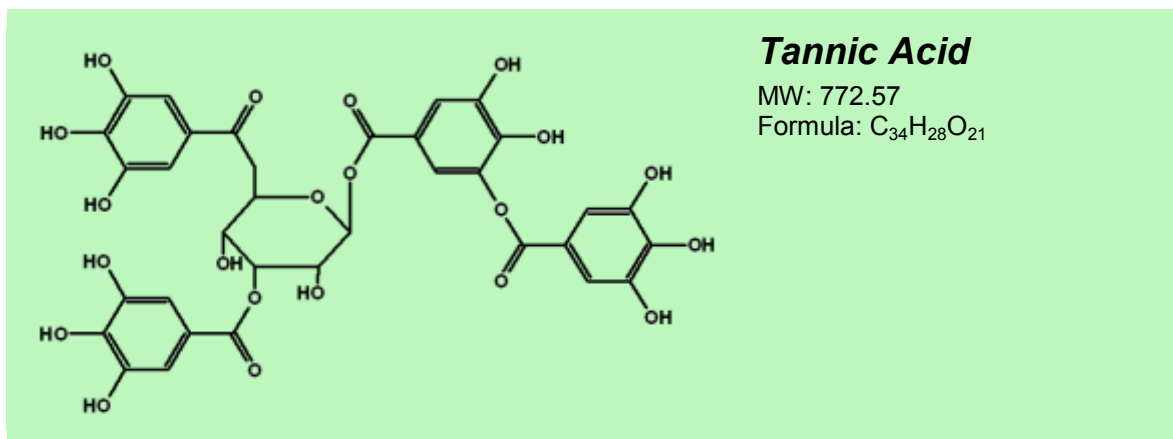
Suitable for the following material samples

Medium-hard, soft, brittle, fibrous





PŘÍLOHA 7 - Tanin



Phytochemical: Tannic Acid

Synonyms: Gallotanic acid, digallic acid, allotannin, tannimum.

Description: Tannic acid is a polymer of gallic acid molecules and glucose. In the example there are 3 gallic acid molecules, but normally there are about 8. Because there are different molecular structures for tannic acid it would have been better to speak about tannic acids (in plural). Tannic acid will hydrolyze into glucose and gallic or ellagic acid units. Tannic acid is odourless but has a very astringent taste. Pure tannic acid is a light yellowish and amorphous powder.

Distribution: Tea, nettle, wood, berries, Chinese galls. Oak wood is very rich in tannic acid. When wine is kept in oak kegs some tannic acid will migrate into the wine. High levels of tannic acid are found in some plant galls. These are formed by plants when they are infected by certain insects. These insects pierce the plant leaves and when the egg hatches out into a larva the plant produces a gall which surrounds the larva.

Action of Tannic Acid: Tannic acid has anti-bacterial, anti-enzymatic and astringent properties. Tannic acid has constricting action upon mucous tissues such as tongue and inside of mouth. The ingestion of tannic acid caused constipation and can be used to treat diarrhoea (in the absence of fever or inflammation). The anti-oxidant and anti-mutagenic properties of tannic acid are beneficial.

However, tannic acid should not be used continuously or in high quantities as it slows down the absorption of iron and possibly other trace minerals. A study by Afsana K et al entitled *Reducing effect of ingesting tannic acid on the absorption of iron, but not of zinc, copper and manganese by rats*, published by Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry (March 2004) concluded that the usual intake of polyphenols is relatively safe, but that a high intake by supplementation or by dietary habit of tannin affects only the iron level. Tannic acid can also reduce the effectiveness of digestive enzymes.

Externally, tannic acid is used to treat ulcers, toothache and wounds.

Facts about Tannic Acid:

Tannic acid is also used in many industrial applications. The best known is the tanning of leather. Tannic acid is sometimes used to clear wines. Tannic acid reacts with proteins in wine to form insoluble complexes which sediment or can be filtered.

(Zdroj: <http://www.phytochemicals.info/phytochemicals/tannic-acid.php>)

PŘÍLOHA 8 – SPEKOL 11 (technická specifikace)

TECHNISCHE DATEN SPEKOL 11

Anwendung:

Messung von Transmission, Extinktion, Fluoreszenz, Trübung, Remission, Titration, Konzentration, Enzymaktivitäten, Faktorberechnung bei Anwendung von Standardproben

Monochromator:

Präzisions-Beugungsgitter 651 Furchen/mm

Wellenlängenbereich: 340 bis 850 nm

Teilungsintervall der Wellenlängentrommel: 1 nm

Reproduzierbarkeit der Wellenlängeneinstellung: +/- 0,2 nm

Spektrale Bandbreite: 11 nm

Streulicht bei 340 nm: 0,5%

Strahlungsquelle:

Halogenlampe mit Justiersockel 6 V 20 VA

Strahlungsempfänger:

Vakuumphotозelle blauempfindlich 340-620 nm
Vakuumphotозelle rottempfindlich 620-850 nm

Mindestprobenvolumen (Meßansatz EKMI):

0,1 ml/cm Schichtdicke

max. Küvettenschichtdicke (Meßansatz EK 5):

5cm

Meßwertanzeige: digital, vierstellig

Faktoreingabe:

digital, vierstellig 0,001 bis 9999

Extinktionsmeilbereich: -2 bis +2

Konzentrationsanzeige: 0,000 bis 9999

Transmission (Fluoreszenz): 0,000 bis 9999

Photometrisches Rauschen:

*0,001 E bei E = 0 und mittlerer Verstärkung

Photometrische Richtigkeit:

*0,01 E bei E = 1, gemessen mit NBSGraufilterstandard

Kinetikmeßzeiten: 1-2-3-4-5 min

Änderung des Verstärkungsgrades:
automatisch

Nullpunkteinstellung:

automatisch für T = 0 und E = 0 nach Tastendruck

Ergänzungseinheiten:

- Stromversorgungseinheit für SEV und HgE/3 - SEV-Spannung 250 bis 1000 V
Lampengleichstrom 0,8 A stabilisiert mit Quecksilberhochdrucklampe HgE/3
- Photovervielfacher M 4 FC 250 mit Multialkalikatode (340 bis 800 nm)
- Kassette Drucksteuerung
- Thermostreitendrucker G-3407.501

Datenausgang

(mit Kassette Drucksteuerung):

IEC-Bus, Druckeranschluß für Streifendrucker G-3407.501 vom Funkwerk Erfurt

Spannungen: 110,127,220,240V umlötbar

Netzfrequenz: 50/60 Hz

Leistungsaufnahme SPEKOL 11: 90 VA

Leistungsaufnahme

Stromversorgungseinheit für 8EV und HgE/3: 130 VA

Abmessungen SPEKOL 11 mit Meßansatz:

340x460x350(BXTXH)

Masse SPEKOL 11: 18kg

Masse Stromversorgung für 8EV und HgE/3:
10,5 kg

