

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



Vliv přírodních extraktů na růst a obranyschopnost rostlin

Bakalářská práce

Anna Šrámková

Vedoucí práce: Ing. Jan Kazda, CSc.

Praha 2012

Ráda bych poděkovala Ing. Janu Kazdovi, CSc. za podporu při výběru tématu práce, paní Ireně Kubečkové a Sonje Mandíkové za pomoc a praktické rady při realizaci pokusů a RNDr. Václavu Šrámkovi za technické rady při zpracovávání dat ve statistickém programu.

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Vliv přírodních extraktů na růst a obranyschopnost rostlin vypracovala samostatně a použila jsem pouze prameny, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze dne:

podpis autora práce

Souhrn

Bakalářská práce zkoumala účinky přírodních extraktů z vrby bílé (*Salix alba* L.), břízy bělokoré (*Betula pendula* L.), kopřivy dvoudomé (*Urtica dioica* L.) a tymiánu obecného (*Thymus vulgaris* L.) v různých kombinacích na růst a obranyschopnost vybraných druhů rostlin.

V první části pokusu jsme zkoumali vliv extraktů na růst rostlin. Extrakty jsme aplikovali postřikem na list a nárůst biomasy jsme měřili nárůstem sušiny ve vztahu ke kontrolní skupině.

Jako modelové druhy rostlin byly vybrány hrách, fazole, rajčata, okurky, kedlubny, oves a ředkvičky. Na základě screeningového testu a z hlediska celkové koncepce práce, byly pro další experimenty vybrány extrakt z kopřivy dvoudomé a kůry vrby bílé v poměru 1 : 1, jehož účinnost byla prokázána, a extrakt z tymiánu obecného. Tyto dva extrakty byly dále zkoušeny ve čtyřech koncentracích na hrachu, ovsu a rajčatech.

Ve druhé části pokusu byl zkoumán vliv 5% extraktu z tymiánu obecného na plodnost mšice kyjatky hrachové (*Acyrtosiphon pisum* Harris, 1776). Byl sledován stav populace mšic na rostlinách hrachu v průběhu 9 dnů. Srovnávána byla varianta bez postřiku, s postřikem jeden den před nasazením nymf mšice a s postřikem jeden den po nasazení nymf mšice. K nejvýznamnějšímu snížení stavu parentální populace došlo pouze u varianty s postřikem po nasazení škůdce (88% mortalita do 24 hodin od postřiku). Vliv extraktu na plodnost ale experiment neprokázal, rozdíl v nárůstu filiální generace mezi variantami byl dán pouze početností jedinců parentální generace, kteří se dožili plodného věku.

Ke statistické analýze dat všech částí experimentu byla použita jednovýběrová analýza rozptylu ANOVA a test Tukey HSD 95 %. K hodnocení populace kyjatky hrachové byla dále použita analýza lineární regrese.

Klíčová slova: Rostlinné extrakty, růst, *Thymus vulgaris* L., *Salix alba* L., *Urtica dioica* L., *Betula pendula* L., plodnost, *Acyrtosiphon pisum*.

Summary

The aim of the bachelor thesis was to examine the effects of natural extracts obtained from white willow (*Salix alba* L.), silver birch (*Betula pendula* L.), nettle (*Urtica dioica* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) in various combinations on growth and immunity of selected plant species.

In the first part of the experiment, the efficacy of plant extracts on the growth of plants was examined. Plant extracts were sprayed directly on leaves of model plants. The increase in biomass was derived from the increase in dry matter weight of the treated plants compared to the control group. As model plant species were selected peas, beans, tomatoes, cucumbers, turnips, oats and radish.

Based on the screening test and the overall concept of the thesis, combined 1 : 1 nettle and willow bark extract (whose efficacy has been proved) and thyme extract were chosen for the further stages of experiment where they were tested in four concentrations on peas, oats and tomatoes.

In the second part of the experiment, the impact of thyme extract at 5 % concentration on the fecundity of pea aphid (*Acyrtosiphon pisum* Harris, 1776) was observed. The population of aphids on pea plants has been observed during 9 days. Variant with no treatment (control), variant with treatment one day before the deployment of aphid nymphs on plants and variant with treatment one day after the deployment of aphid nymphs were compared. The most significant decrease in parental population was found in the variant with treatment one day after the deployment of the pest (88 % mortality within 24 hours after the treatment). The impact of thyme extract on fecundity has not been proved. It was found that the difference of increase in filial population among variants was given by the number of insects in the parental generation that have grown into the fertile age.

For the statistical analysis of data from all parts of the experiment the one – way analysis of variance ANOVA and Tukey HSD 95 % test were used. For the evaluation of the population of pea aphid linear regression analysis was applied.

Key words: plant extracts, growth, *Thymus vulgaris* L., *Salix alba* L., *Urtica dioica* L., *Betula pendula* L., fecundity, *Acyrtosiphon pisum*.

Obsah

1	Úvod.....	7
2	Cíl práce.....	8
3	Literární rešerše	9
3.1	Přírozené způsoby ochrany rostlin.....	9
3.2	Přírodní extrakty využívané v ochraně rostlin.....	10
3.2.1	Historie.....	10
3.2.2	Současnost v České republice.....	11
3.3	Získávání extraktů.....	11
3.4	Původ účinnosti přírodních extraktů.....	11
3.4.1	Sekundární metabolismus rostlin.....	11
3.4.2	Rostlinné hormony.....	13
3.5	Působení přírodních extraktů a způsoby aplikace.....	14
3.6	Zkoumané rostliny a jejich sekundární metabolity jako zdroj bioaktivních látek v ochraně rostlin.....	15
3.6.1	Bříza bělokorá (<i>Betula pendula</i> L.), Betulaceae.....	15
3.6.2	Kopřiva dvoudomá (<i>Urtica dioica</i> L.), Urticaceae.....	15
3.6.3	Tymián obecný (<i>Thymus vulgaris</i> L.), Lamiaceae	16
3.6.4	Vrba bílá (<i>Salix alba</i> L.), Salicaceae	17
3.7	Škůdce kyjatka hrachová (<i>Acyrtosiphon pisum</i> Harris, 1776), Hemiptera, Aphididae.....	19
4	Materiály a metodiky.....	22
4.1	Použitý materiál	22
4.1.1	Rostlinný materiál.....	22
4.1.2	Modelové rostliny	23
4.1.3	Pokusný živočišný materiál	24
4.2	Biologické testy	24
4.2.1	Vliv extraktů na růst rostlin	24
4.2.2	Účinnost koncentrací vybraných extraktů	25
4.2.3	Vliv vybraného extraktu na plodnost kyjatky hrachové	25
5	Výsledky	27
5.1	Výsledky testu Účinnosti extraktů na růst rostlin 4.2.1	27
5.2	Výsledky testu Účinnosti koncentrací vybraných extraktů 4.2.2	30

5.2.1	Výsledky testu Vlivu vybraného extraktu na plodnost kyjatky hrachové 4.2.3 ...	31
6	Diskuse.....	39
6.1	Všeobecně.....	39
6.2	Účinnost extraktů na růst.....	39
6.2.1	Účinnost extraktu č. 1 z kopřivy dvoudomé a vrby bílé.....	39
6.2.2	Účinnost extraktu č. 4 z kopřivy dvoudomé a břízy bělokoré.....	40
6.3	Účinnost koncentrací vybraných extraktů.....	40
6.4	Vliv extraktu č. 3 z tymiánu obecného na plodnost kyjatky hrachové.....	41
7	Závěr.....	45
8	Bibliografie.....	46
9	Přílohy.....	50
9.1	Obrazová dokumentace experimentu.....	50
9.2	Seznam tabulek a grafů.....	53
9.3	Seznam obrazových příloh.....	55

1 Úvod

Konvenční zemědělství, intenzivní zemědělství s využitím umělých hnojiv a chemických prostředků na ochranu rostlin, přineslo obrovské zvýšení výnosů, ale také znečištění životního prostředí, ohrožení půdy erozí, její vyčerpání, zdevastování krajiny a nekvalitní potraviny. Naopak ekologické zemědělství je způsob hospodaření kombinující nové poznatky s tisíciletými zkušenostmi našich předků, bez používání umělých hnojiv, chemických přípravků, postřiků, hormonů a umělých látek, zatěžujících životní prostředí a kontaminujících potravní řetězce (Věchet et al., 2010). Je známo, že kulturní plodiny během procesu šlechtění do značné míry ztratily schopnost vytvářet látky obranného charakteru a bránit se tak proti patogenům a škůdcům (Pavela, 2006). Nejzranitelnější moment pro rostlinu představuje období vzházení, které je současně i obdobím největšího ohrožení výnosu (Kolenčík, 2011). Proto je i z hospodářského hlediska významné v tomto období eliminovat patogenní činitele a přírodními prostředky rostlinu posílit v jejím růstu.

Ekologické zemědělství, které se snaží využívat především přípravků na rostlinné bázi, tak může spatřovat velkou perspektivu v současném výzkumu v oblasti farmakobotaniky, interdisciplinárním oboru navazujícím na tradiční znalosti účinků drog. Farmakobotanika vychází z klasické botaniky, především z jejího fylogenetického systému, do kterého implementuje poznatky z rostlinné biochemie a fytochemie a ve výzkumu vychází vstříc požadavkům farmacie. Přestože fyziologický princip účinku většiny studovaných bioaktivních látek není dosud zcela jasný, samotný účinek těchto látek je nezpochybnitelný (Jahodář, 2006).

Farmakobotanika se zaměřuje především na využití sekundárních rostlinných metabolitů ve farmacii, její poznatky jsou ale využívány i v mnoha dalších odvětvích včetně agrobiologie a výzkumu přírodních prostředků na ochranu rostlin. To určuje i směr této práce. Na základě předešlých studií biologicky aktivních látek byly vybrány k dalšímu zkoumání čtyři rostlinné druhy mírného pásma (*Salix alba* L., *Betula pendula* L., *Urtica dioica* L. a *Thymus vulgaris* L.) s potenciálem využití v ochraně rostlin v systému ekologického a integrovaného zemědělství nebo v zahrádkářství šetrném k přírodě.

Tato práce shrnuje určité hypotézy na základě již existujících poznatků tohoto mladého oboru a zejména uvádí výsledky vlastního výzkumu účinku vybraných extraktů a srovnává je s již publikovanými výsledky.

2 Cíl práce

Vitalita rostlin může být ovlivněna různými biotickými a abiotickými faktory. Především počáteční schopnost růstu rostlin je důležitá pro přizpůsobení se podmínkám prostředí, čímž mají rostliny lepší schopnost odolávat stresům způsobeným jak abiotickými faktory, tak chorobami a škůdci.

Je známé, že některé léčivé rostliny obsahují látky, které mohou jak povzbudit rychlost růstu, tak elicitovat syntézu látek obranného charakteru. Cílem práce je u vybraných rostlinných extraktů zjistit jejich vliv na vybrané růstové charakteristiky modelových druhů rostlin a pro extrakty, které budou vykazovat největší účinek, dále vliv na obranyschopnost rostlin vůči modelovým druhům škůdců.

3 Literární rešerše

3.1 Přírozené způsoby ochrany rostlin

Jak již bylo nastíněno v úvodu, přírozená ochrana rostlin je reakcí na negativní dopady užívání chemických prostředků ochrany v systému konvenčního zemědělství. Jedná se o celý systém opatření, který je dnes využíván v ekologickém a do značné míry i v tzv. integrovaném zemědělství. V obou systémech není cílem škůdce zcela vyhubit, ale pouze snažit se omezit jeho výskyt tak, aby nepřesáhl ekonomický práh škodlivosti (Kazda et al., 2007). Důraz je tedy kladen na prevenci. Snažit se agrotechnickými opatřeními neustále vytvářet takové podmínky, které by zamezovaly rozvinutí chorob a škůdců a podporovaly nastavení autoregulačních schopností agroekosystému (Šarapatka a Urban, 2006).

Rostliny vytvářejí látky obranného charakteru ve stresových situacích. V přírodních ekosystémech vystavovány pravidelnému stresu, který udržuje rostlinu v podstatě v neustálé pohotovosti stálou vysokou hladinou těchto obranných sekundárních metabolitů. Proto se v nešlechtěných formách vyšších rostlin nachází vyšší množství těchto sekundárních metabolitů. Přežití rostliny současně pomůže ekosystém sám, neboť v něm stresor méně často přesáhne mez, kterou by rostlina neunesla (Kocourek, 2000).

Procesem šlechtění kulturních plodin byla tato schopnost rostlin do značné míry snížena, neboť rostliny nebyly šlechtěny na všestrannou rezistenci, ale především na výnos (Pavela, 2006). V nevyváženém agroekosystému navíc škůdce často přesahuje pro rostliny udržitelný práh, a porosty tudíž vyžadují zásah agronoma.

Ekologické zemědělství často používá starší, méně prošlechtěné odrůdy, které sice dávají menší výnosy, dobře ale odolávají stresům (Šarapatka a Urban, 2006). Z druhé strany usiluje také o do takové míry vyvážený ekosystém, který by pokud možno předešel přemnožení škůdců, se kterým by se porost nevyrovnal (Fidler et al., 2008). To je ovšem v agroekosystému velmi obtížné, a proto je zapotřebí uplatňovat různé metody ochrany rostlin.

Součástí ochrany rostlin je také používání rostlinných extraktů s různými účinky. Existují extrakty insekticidní, repelentní, antifeedantní (protipožerové), extrakty použitelné jako stimulatory růstu a další. Jejich výhodou oproti syntetickým prostředkům ochrany je absence vzniku rezistence v populaci cílových organismů. Rezistence se v populaci nevytvoří pro složitou chemickou povahu rostlinných extraktů, jejichž účinek závisí na interakci jednotlivých složek. Rezistence se v populacích škůdce zpravidla vytváří na jednu konkrétní látku, což je důvod vzniku rezistence k jednosložkovým přípravkům (ať už syntetickým nebo

přírodním) (Feng et Isman, 1998). Druhou předností těchto přípravků je jejich ekologická bezpečnost, protože se zpravidla v prostředí rychle rozkládají (Pavela, 2006).

Jejich účinnost ovšem stejně jako u syntetických pesticidů závisí na správném načasování aplikace (Hnízdil, 2011).

3.2 Přírodní extrakty využívané v ochraně rostlin

3.2.1 Historie

Rostlinné extrakty sloužící k ochraně rostlin, tak jak je známe dnes, se používaly už před dvěma tisíci lety ve Staré Číně, Egyptě, Řecku a Indii. V Evropě a Severní Americe máme záznamy o používání rostlinných insekticidů z poloviny 19. století (Isman, 2006). Tyto insekticidy, které byly většinou Američany a Evropany převzaty z tradičních kultur Amerik a Asie, nazýváme insekticidy první generace. Nejprve byly vyráběny podomácku, postupně ale získaly komerční podobu. Mezi nejznámější insekticidy první generace patří extrakt z tabáku (*Nicotiana rustica* L.), rotenon (pocházející z rodu kožnatců, *Derris*), Pyrethrum (z rostlin rodu *Chrysanthemum* a *Pyrethrum*). Velmi se také rozšířily běžné rostlinné oleje jako slunečnicový, ve Středomoří olivový, v USA arašídový (Pavela, 2006).

Druhá generace rostlinných přípravků na ochranu rostlin vznikala již jako alternativa moderních chemických přípravků, jejichž výroba byla započata v polovině 30. let 20. století (Isman, 2006). Kladen byl proto důraz na jejich environmentální bezpečnost, možnost standardizace a srovnatelnou účinnost se syntetickými přípravky. Výzkum rostlinných insekticidů druhé generace byl velmi podporován v USA, které se ve svém výzkumu obrátily zejména k tradičnímu indickému zemědělství. Asi nejslavnějším insekticidem této generace je Azadirachtin ze semen rostliny *Azadirachta indica* A. Juss., známý také jako Neem. Na bázi azadirachtinu je stále vyráběna celá řada rostlinných insekticidů (Pavela, 2006).

V posledních zhruba patnácti letech se začíná pozornost evropského výzkumu soustřeďovat na zde rostoucí a často velmi rozšířené aromatické i jiné léčivé rostliny. Výzkum účinných látek se opírá o etnobotaniku a farmakobotaniku, která zpracovává tradiční vědění o léčivých rostlinách a hledá látky uplatnitelné v moderní farmacii a kosmetice. Jak uvádí Pavela (2009a), lidové lékařství na území dnešní České republiky je kulturně velmi svébytné, protože na rozdíl od Západní a Jižní Evropy nepřišlo do styku s arabskou kulturou a byly zde do velké míry zachovány původní slovanské tradice. V 16. století zde bylo vydáno několik herbářů, které jsou dodnes cenným pramenem pro studium účinků drog. Pavela (2009a) uvádí v soupisu s názvem „Rostliny užívané v lidové medicíně na území České

republiky“ 283 druhů rostlin, 22 druhů hub a 1 druh lišejníku, tvořících jen 55 % léčivých rostlin užívaných na našem území. Potenciál pro studium bioaktivních látek, které by mohly najít využití i v ochraně rostlin, je tedy velký. Tato skutečnost je poněkud v kontrastu se současným stavem trhu s rostlinnými přípravky v České republice.

3.2.2 Současnost v České republice

Sortiment rostlinných přípravků na ochranu rostlin na českém trhu je v současnosti velmi omezený. Registraci nových přípravků ztěžuje dlouhotrvající proces ověřování účinnosti a environmentální bezpečnosti, přičemž schválení registrace, které provádí Státní rostlinolékařská správa, není dopředu jisté. Finančně je tedy registrace velmi náročná a její výsledek nejasný. Z tohoto důvodu je zde z českých přípravků v současné době dostupný pouze jeden insekticid na bázi azadirachtinu a několik přípravků na bázi rostlinných olejů, zejména řepkového. Dále je zde v prodeji několik zahraničních přípravků na bázi pyrethrinů a olejů (Samsonová, 2008; SRS, 2012).

3.3 Získávání extraktů

Extraktů se získávají z čerstvých nebo sušených rostlin různými postupy. Mezi nejběžnější tradiční postupy získávání účinných látek z drog patří (Zídek, 1992):

- **Macerát:** droga se máčí po dobu 3 dnů ve studené vodě, poté se scedí. Nesmí projít kvasným procesem.
- **Nálev:** droga se louhuje ve studené nebo teplé vodě po dobu nejméně 24 hodin.
- **Odvar:** doporučuje se drogu nejprve máčet v teplé vodě po dobu 24 hodin a poté 20 minut povařit. Následně se nádoba zakryje víkem a odvar se nechá vychladnout.
- **Kvasný vodný výluh:** čerstvá droga se udusá na dně nádoby a v poměru 1:10 se zalije vodou. Nádoba se zakryje víkem a obsah se nechá kvasit po dobu 3 týdnů.

V současném komerčním získávání extraktů se používají moderní laboratorní způsoby extrakce, jejichž cílem je zvýšit efektivitu získávání látek např. za působení vysokého tlaku a nízké teploty. Takovou metodou je např. **superkritická extrakce**, která je považována za velmi perspektivní i pro svou environmentální bezpečnost (Handa et al., 2008).

3.4 Původ účinnosti přírodních extraktů

3.4.1 Sekundární metabolismus rostlin

Přestože množství látek izolovaných z živých organismů je obrovské, existují určité látky a biologické reakce, které jsou pro všechny organismy společné, např. syntéza a rozklad

uhlovodíků, mastných kyselin, bílkovin a nukleových kyselin. Tyto reakce jsou označovány jako primární metabolické reakce a jejich produkty jako primární metabolity (Gao, 1998).

Primární metabolity slouží jako výchozí látky sekundárního metabolismu. Biogeneze sekundárních metabolitů se sice odvíjí pouze z několika málo primárních metabolitů (Jahodář, 2006), avšak cest, kterými přeměna na rozličné sekundární metabolity vede, je velmi mnoho stejně jako výsledných produktů (Gao, 1998).

Sekundární metabolity jsou rostlinami kumulovány díky stavbě buněk i těla (souboru vakuol, buněčné stěně, plastidům, plazmodezmám, idioblastům, mléčnicím, intercelulárám a žláznatým trichomům) (Jahodář, 2006) a předpokládá se, že většina těchto látek, (jichž je dnes známo asi 100 000) hraje roli v obranném mechanismu rostliny, který se utvářel během milionů let soužití rostlin s nepřátelskými organismy (Kocourek, 2000; Mazid et al., 2010). Mezi nepřátelské organismy rostlin patří zejména fytofágové (savci, hmyz), dále patogenní původci chorob (houby, viry, bakterie atd.) a kompetitivní organismy (konkurenční rostliny) (Kocourek, 2000; Jahodář, 2006; Mazid et al., 2011). Role sekundárních metabolitů v obranné reakci rostliny je různá, některé přímo toxicky působí na cílové organismy, jiné sehrávají úlohu komunikačních látek (Kocourek, 2000).

Sekundární metabolity nalezneme ve všech vyšších rostlinách, tyto látky jsou spojovány s vysokou diferenciací pletiv. Je pravidlem, že v daném taxonu dominuje jedna skupina chemicky příbuzných látek, provázena minoritními sloučeninami (Jahodář, 2006; Mazid et al., 2011). Komplex sekundárních metabolitů obsažených v rostlině se mění v závislosti na její ontogenezi, typu orgánu i podmínkách, ve kterých se rostlina nachází (Jahodář, 2006; Hudaib and Aburjai, 2007). Jednotlivé složky se mohou vyskytovat v aktivní formě, aktivovat se po poranění či infekci nebo vznikat *de novo* (Jahodář, 2006; Kefeli et Kalevitch, 2003).

Vyslovují se názory o zcela účelové biogenezi právě daného typu látky ve vztahu k jejímu působení na určitý typ patogenu, predátora, opylovače, invazivního rostlinného druhu nebo k ochraně před fyzikálním jevem (Kocourek, 2000). Čím dál více argumentů dokládá teorii o formování chemické struktury alelochemikálií tak, aby mohly napodobit struktury endogenních substrátů (hormonů, neurotransmiterů a jiných ligandů) u požeračů, mikrobů apod. a následně je negativně ovlivnit (Jahodář, 2006).

Sekundární metabolity nejsou však jen ochrannými látkami, často mají i úlohu atraktantu (vonné monoterpeny, karotenoidy). Někdy struktura molekuly metabolitu umožní splnit obojí funkci (Jahodář, 2006).

Ve vícestranné biologické aktivitě sekundárních metabolitů s vyšším počtem funkčních skupin spočívá také jejich potenciál v přírodní ochraně rostlin (Isman, 2006).

Sekundární metabolity rostlin můžeme dělit do tří velkých skupin: terpeny, fenoly a látky obsahující dusík nebo síru (Mazid et al., 2011).

Terpeny jsou nejpočetnější skupinou, tvoří se z acetylkoenzymu A v biosyntéze sekundárního metabolismu. Skládají se ze dvou a více pětiuhlíkatých isoprenových jednotek (Jahodář, 2006; Mazid et al., 2011). Většina terpenů se na ochraně podílí jako toxiny a antifeedanty působící na fytofágní hmyz a savce. Mezi terpeny patří např. monoterpeny, seskviterpeny, diterpeny, triterpeny a polyterpeny (Mazid et al., 2011).

Fenoly jsou velmi různorodou skupinou látek obsahujících aromatické jádro fenolu s funkční hydroxylovou skupinou. Podílejí se na ochraně rostliny proti hmyzím škůdcům, hádátkům, bakteriím, houbám, i na ochraně proti abiotickému stresu způsobenému zářením. Řadí se sem např. kumarin, furano-kumariny, lignin, flavonoidy, isoflavonoidy a taniny (Mazid et al., 2011).

Látky obsahující síru. Mezi důležité skupiny patří fytoalexiny, defensiny a allinin – látky spojované s obrannou reakcí rostlin proti mikrobiálním patogenům (Mazid et al., 2011).

Látky obsahující dusík. Do této skupiny patří alkaloidy, kyanogenní glykosidy a nebilkovinné aminokyseliny. Tyto látky mají různorodé působení a uplatňují se v obraně rostliny proti býložravcům. Některé jsou toxické pro člověka (Mazid et al., 2011).

3.4.2 Rostlinné hormony

Reakce primárního a sekundárního metabolismu by se nemohly dít bez účasti rostlinných hormonů, tzv. fytohormonů. Role fytohormonů spočívá ve zprostředkovávání informací rostlině o okolním prostředí (Procházka et al., 2008). Fytohormony rozvádějí tyto informace ve formě chemického signálu k jednotlivým buňkám a rostlinným orgánům. V porovnání s živočišnými hormony jsou méně specializované, což znamená, že jeden fytohormon sehrává úlohu v mnoha životních funkcích rostliny. Navíc regulace jednotlivých pochodů růstu a vývoje se děje za součinnosti všech nebo alespoň většiny fytohormonů. Interakce různých skupin fytohormonů v průběhu růstu a vývoje je obecným rysem hormonální regulace u rostlin (Kefeli et Kalevitch, 2003).

Fytohormony jsou v rostlinách přítomny v malých množstvích a účinkují již v koncentracích 10^{-8} až 10^{-6} M. Koncentrace hormonu může být rozhodující pro jeho účinek buď stimulačním nebo naopak inhibičním směrem. Přítomnost hormonů v místě jejich účinku je dána jejich biosyntézou, rozkladem nebo jinou aktivací a také transportem vodivými pletivy, apoplastem a symplastem. Jejich působení v buňce je podmíněno vazbou na receptor. Vytvoření komplexu hormon-receptor spouští řetěz biochemických změn, který představuje

přenos signálu v buňce. V jádře regulují expresi genů, v cytoplasmě vyvolávají uvolnění vápenatých iontů a aktivaci enzymů závislých na přítomnosti vápníku (Procházka et al., 2008).

Je známo, že kořeny a nejmladší listy stimulují růst ostatních částí rostliny, kdežto dospělé listy a zásobní orgány zpravidla růst ostatních částí brzdí. Stimulační růstové vlivy jsou spojeny zejména s gibereliny, cytokyniny a nízkými koncentracemi auxinu, zábranné (inhibiční) vlivy hlavně s abscisiny, ethylenem a vyššími koncentracemi auxinu (Procházka et al., 1998).

Dvě důležitá fakta zmíněná v předešlém odstavci hrají významnou roli ve sledování účinku sekundárních metabolitů využitelných v ochraně rostlin. Prvním faktorem, který velmi ovlivňuje účinek získaného extraktu ze studované rostliny, je právě aktuální obsah a rozmístění účinných látek v těle rostliny v okamžiku sběru. Ten určí koncentraci účinných látek v rostlinném extraktu. A koncentrace účinných látek ve výsledném roztoku je zásadní pro směr působení těchto látek, který je většinou v nižších koncentracích stimulační a ve vyšších naopak inhibiční. Tyto faktory jsou dále komentovány v Diskusi v kapitole 6.

3.5 Působení přírodních extraktů a způsoby aplikace

Kabíček a Kazda (1997) dělí přípravky podle typu působení následovně:

- **Systemové** – látka proniká do rostlinných pletiv a je rozváděna po těle rostliny i do jejích neošetřených částí. Buď „otraví“ rostlinné šťávy v rostlině, nebo vyvolá tvorbu chemických látek, které rostlinu chrání. Určitou dobu po aplikaci jsou chráněny i nové přírůstky, které narostly až po postřiku. Postřikem nemusí být zasažena celá rostlina. Používají se především u škůdců s bodavě sacím ústním ústrojím.
- **Kontaktní** – látka neproniká do pletiv rostliny, ale zůstává na povrchu. Při aplikaci je nutno postříkat rostliny i ze spodní strany listů. Tyto přípravky se používají především proti škůdcům poškozujícím rostliny žírem.
- **Fumigační** – účinná látka proniká ve formě plynu do těla živočicha. Používají se především v uzavřených prostorech (skleníky, sklady).

3.6 Zkoumané rostliny a jejich sekundární metabolity jako zdroj bioaktivních látek v ochraně rostlin

3.6.1 Bříza bělokorá (*Betula pendula* L.), Betulaceae

3.6.1.1 Botanický popis

Jednodomý, až 20 m vysoký strom, méně často i keř, s korunou kuželovitou, zašpičatělou, často i nepravidelně rozložitou; mladší větvičky jsou převislé (na rozdíl od příbuzné břízy pýřité (*Betula pubescens* L.). Kmen zprvu leskle bílý, později postupně přechází v černou hluboce brázditou borku. Mladé větvičky velice drsné, pryskyřičnatě bradavičnaté. Listy trojboce srdčité, jemně špičaté, 3 - 7 cm dlouhé (Krüssmann, 1978). Samčí i samičí květy má ve visutých jehnědách a plody jsou dvoukřídlé nažky přisedající po třech ke třem srostlým listenům (Novák a Skalický, 2009). Kvete od dubna do června.

3.6.1.2 Areál rozšíření a stanoviště

Původní taxon mírného a chladného pásu Euroasie; u nás od začátku poledové doby tvoří významné porosty (Novák a Skalický, 2009). V současnosti je rozšířena po celé severní a střední Evropě včetně Islandu (Krüssmann, 1978).

Nenáročná na půdu i na klima, vyšší požadavky má na světlo (Novák a Skalický, 2009). Roste především na suchých a písčitých půdách (Krüssmann, 1978). Při zalesňování se využívá jako krycí dřevina, vysazuje se na neplodných půdách, na haldách, výsypkách apod.

3.6.1.3 Všeobecné využití a využití v lékařství

V kosmetice se používá tzv. březová voda, destilací dřeva a borky se získává tzv. březový dehet (Novák a Skalický, 2009).

Ve farmacii se používají listy, ze kterých se připravuje nálev, odvar nebo sirup.

Působí jako diuretikum, antirevmatikum a diaforetikum (Pavela, 2009a).

3.6.1.4 Účinné látky

V listech je obsaženo velké množství fenolických látek, zejména saponinů a flavonoidů (Jahodář, 2006; Atanasova et Ribarova, 2009).

3.6.2 Kopřiva dvoudomá (*Urtica dioica* L.), Urticaceae

3.6.2.1 Botanický popis

Urtica dioica je vytrvalá, dvoudomá, až 1,5 m vysoká bylina pokrytá žahavými chlupy. (Novák a Skalický, 2006). Lodyhy jsou čtyřhranné, listy široce vejčité až kopinaté, pilovité. Květy vzácně jednodomé, spíše dvoudomé. Plodem jsou nažky (Jahodář, 2009).

3.6.2.2 Areál rozšíření a stanoviště

Původně je bylinou lužních lesů, druhotně se rozšířila zejména na stanoviště bohatá dusíkem (nitrofilní druh). Běžně roste jako zahradní plevel, na rumišťích, u lidských obydlí, v křovinách apod. (Novák a Skalický, 2006).

3.6.2.3 Všeobecné využití a využití v lékařství

V kosmetice se používá extrakt z listů zejména ve vlasových přípravcích.

K farmaceutickým účelům slouží jak listy (nať), tak podzemní orgány. Z rostliny se připravuje čaj, odvar, nálev a sirup. Vnitřně se podává jako tonikum, antirevmatikum, hemostatikum, antidiabetikum, diuretikum, prostatikum, dále k léčení dermatitid, chřipek a nachlazení, nálev se používá k čištění krve. Zevně se přikládají obklady např. k hojení vyrážky. (Jahodář, 2006; Pavela, 2009a).

3.6.2.4 Účinné látky

Žahavé trichomy obsahují histamin, acetylcholin, kyselinu mravenčí. Rostlina poskytuje chlorofyl, flavonoidy, v oddencích se nacházejí fytosteroly (Jahodář, 2006).

3.6.3 Tymián obecný (*Thymus vulgaris* L.), Lamiaceae

3.6.3.1 Botanický popis

Tymián obecný je vonný víceletý polokeř, obvykle 15 - 50cm vysoký. Mladé listy jsou na spodní straně chlupaté, s lesknoucími se olejnatými žlázami na povrchu obou stran, ale zvláště na svrchní straně. Květy levandulové barvy rostou v řídkých přeslenech, tvořících hrozny na větvičkách nebo útvary ve tvaru kulaté hlavy (Small, 2006).

3.6.3.2 Areál rozšíření a stanoviště

Zástupce rodu *Thymus* nalezneme v celé Euroasii (Jahodář, 2006). Konkrétně *Thymus vulgaris* L. k nám byl zavlečen z evropské části západního Středomoří (Novák a Skalický, 2009). Tento druh nejlépe prospívá na lehkých písčitých nebo hlinitopísčitých půdách (Small, 2009)

3.6.3.3 Všeobecné využití a využití v lékařství

Tymián obecný jako většina druhů čeledi Lamiaceae je využíván především ve farmacii, kosmetice a v gastronomii (Cheers, 2007). Lékopisnou surovinou je zaprvé nať (Thymi herba), z níž se připravuje nálev, odvar a výluh a zadruhé silice (Thymi etheroleum), která se používá jako tinktura (Jahodář, 2006; Pavela, 2009a).

Slouží jako spasmolitikum, diaforetikum, diuretikum, expektorans, antipyretikum, tonikum a stomachikum (Pavela, 2009a).

3.6.3.4 Účinné látky

Monoterpeny p-cymen, γ -terpinen, monoterpenické fenoly thymol a karvakrol (Gao, 1998; Hudaib and Aburjai, 2007; Pavela, 2009b)

3.6.3.5 Biologická aktivita hlavních účinných látek a jejich potenciál v ochraně rostlin

Biologická aktivita je dána především obsahem **thymolu** a **karvakrolu**, které se tvoří biologickou přeměnou z primárního metabolitu acetylkoenzymu A (Jahodář, 2006) přes γ -terpinen a posléze p-cymen (Gao, 1998).

Thymol a karvakrol mají významné antibakteriální a antimykotické účinky (Gao, 1998). Antibakteriální až baktericidní působení těchto fenolů spočívá ve zvýšení propustnosti plazmatické membrány bakteriální buňky, která může skončit až její lýzou (Nguefack et al., 2004; Cristani et al., 2007; Xu et al., 2008). Jak uvádějí Hudaib a Aburjai (2007) i Gao (1998), jak obsah silice v rostlině, tak obsah jednotlivých látek v silici se velmi liší v závislosti na pěstebních podmínkách (půdní podmínky, klima, nadmořská výška) a době sklizně. Účinnost extraktů z tymiánu obecného se tedy může velmi lišit. Jak ukazuje studie García-García et al. (2011), sám o sobě vykazuje nejvyšší baktericidní účinek karvakrol, a to v koncentraci 150 mg.kg^{-1} oproti 250 mg.kg^{-1} v případě thymolu, Xu et al. (2008) uvádí jako průměrnou nejnižší účinnou koncentraci 200 mg.kg^{-1} pro obě látky. Při společném výskytu, jak je tomu v extraktu z tymiánu, je důležité jejich poměrné množství. García-García et al. uvádějí pro nejvyšší baktericidní účinek 75 mg.kg^{-1} karvakrolu a $62,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ thymolu. Vysoké koncentrace těchto dvou fenolických látek činí z tymiánu jednu z nejvýznamnějších drog z hlediska antibakteriální aktivity (Nguefack et al., 2004).

Další významnou vlastností je antioxidační aktivita tymiánu. Jak ukazují studie Viuda-Martos et al. (2009) a Gramza-Michalowska et al. (2011), tymián vykazuje v porovnání s dalšími drogami s vysokým antioxidačním účinkem nejvyšší schopnost inhibice peroxidace lipidů.

V ochraně rostlin se tymiánová silice využívá pro své insekticidní a repelentní účinky.

3.6.4 Vrba bílá (*Salix alba* L.), Salicaceae

3.6.4.1 Botanický popis

Salix je velmi rozsáhlý rod, u nás, zvláště na vlhkých místech, se vyskytuje kolem 25 druhů. Vrba bílá je velmi rychle rostoucí 6-25 m vysoký strom s velmi rozvětvenou korunou a

štíhlým kmenem. Borka je podélně rozpukaná, ale ani ve stáří se neodlupuje. Mladší větévky jsou převislé, olivově hnědé a zmlada hedvábitě chlupaté. Listy jsou kopinaté 6-10 cm dlouhé, uprostřed nejširší, jemně pilovité, zašpičatělé k oběma koncům, nejprve oboustranně přilehle hedvábně chlupaté a později na líci skoro lysé, ne rubu modrozelené a hedvábné. Palisty úzce kopinaté a opadavé. Květy jsou dvoudomé složené v jehnědách na krátkých olistěných větévkách (Krüssmann, 1978). Kvete v dubnu a v červnu.

3.6.4.2 Areál rozšíření a stanoviště

Vrba bílá je rozšířena v Evropě a západní a severní Asii. Roste převážně ve vlhkých nížinách, lužních lesích, vlhkých údolích pahorkatin až horského pásma (Krüssmann, 1978).

3.6.4.3 Účinné látky

Vrbová kůra obsahuje zejména fenolické sloučeniny: flavonoidy (z nichž 1 – 4 % flavanony), fenolové glykosidy a fenolické kyseliny (1 – 11 % v závislosti na druhu stromu, stáří a podmínkách stanoviště). Salicin (glykosid kyseliny salicylové) se vyskytuje jak společně se salikortinem a jeho benzylovými deriváty (tremulacinem a populinem), tak s glykosidy s aglykonem C₆ – C₃ (triandrinem a vimalinem). Deriváty salikortinového typu jsou termolabilní a pokud se droga suší za vysoké teploty, částečně se přemění na salicin (Bruneton, 1999).

3.6.4.4 Všeobecné využití a využití v lékařství

Vrbová kůra má silné antiflogistické účinky přičítané kyselině salicylové (Bruneton, 1999). Účinnou látkou průmyslového aspirinu je derivát kyseliny salicylové, kyselina acetylsalicylová.

3.6.4.5 Biologická aktivita hlavních účinných látek a jejich potenciál v ochraně rostlin

Jak bylo zmíněno, biologická aktivita vrby bílé je dána především aktivitou **kyseliny salicylové**. Její biosyntéza může probíhat dvěma cestami z kyseliny skořicové, která vzniká ze šikimátu, produktu primárního metabolismu a je předstupněm k tvorbě fenolických látek v sekundárním metabolismu (Hayat et Ahmad, 2007).

Dvě cesty biosyntézy k. salicylové z k. skořicové:

- Hydroxylací kyseliny benzoové na pozici C-2
- Hydroxylací kyseliny skořicové na kyselinu o-kumarovou a její následnou dekarboxylací na kyselinu salicylovou

Kyselina salicylová se dále může v organismu metabolizovat na velké množství různých derivátů (Jahodář, 2006).

Svou funkcí ve fyziologii rostliny se řadí mezi hormony a je jí přisuzováno mnoho regulačních rolí v rostlinném metabolismu. Má vliv na růst a vývoj rostlin, transpiraci, příjem a transport iontů, indukuje změny ve stavbě listů a chloroplastů. Je také považována za mediační signál v obraně rostliny proti patogenům. Nevyskytuje se pouze v rodu *Salix*, podle něhož byla pojmenována, ale celkem v 36 botanických druzích různých čeledí (Hayat et Ahmad, 2007).

V ochraně rostlin se používá například jako růstový stimulátor (Hayat et Ahmad, 2007).

3.7 Škůdce kyjatka hrachová (*Acyrtosiphon pisum* Harris, 1776), Hemiptera, Aphididae

Čeď mšicovitých (Aphididae) zahrnuje vůbec nejčastěji se vyskytující škůdce na všech pěstovaných rostlinách. Jen na území České republiky jich žije asi 670 druhů. (Kazda, 2009). Výzkum rostlinných přípravků na ochranu rostlin proti mšicím je tudíž z hospodářského hlediska velmi významný.

Mšice dosahují obvykle velikosti 1-3 mm, mají jemné tělo a na zadečku obvykle jeden pár dutých trubicovitých útvarů sifunkul, jimiž v případě ohrožení vylučují výstražné látky (Kazda et al., 2007). Křídla jsou blanitá a průsvitná, zadní pár je menší. Jak uvádějí Gordh a Headrick (2001), okřídlení se ale objevuje pouze ve velmi početných populacích, okřídlení bývají například jedinci vyhledávající nové živné rostliny (Kazda, 2006). Zbarvení mšic je různé, každý druh mšice vytváří během sezóny morfologicky odlišné typy samic, které se často liší i zbarvením (Sandström, J. 1995; Kazda et al., 2007), což velmi ztěžuje identifikaci druhů (Kazda et al., 2007). Nymfy se svým zevnějškem podobají dospělcům (Kazda, 2009)

Populaci mšic tvoří od jara do podzimu pouze samičky, které se rozmnožují partenogeneticky (samooplozením) a jsou živorodé. Na podzim se v populaci objevují samičky, které dávají vzniknout podzimní pohlavní generaci. Tyto samičky jsou okřídlené a odlétají na zimní hostitelskou rostlinu, často ovocnou dřevinu. Tam se opět partenogeneticky rozmnoží a porodí velké bezkřídle samičky. Tyto bezkřídle samičky porodí okřídlené samečky. Samečci se spáří s velkými bezkřídlymi samicemi, které nakladou na zimní hostitelskou rostlinu vajíčka. Před zimou tato dospělá generace hyne (Gordh et Headrick, 2001; Kazda et al. 2007).

Rodozměna je součástí evolučně vytvořené strategie přežití, která mšicím umožňuje velmi rychlé rozmnožování (Kazda et al., 2007). Vysoká rychlost populačního růstu je dána partenogenezí a živorodostí samic. Tento způsob rozmnožování velmi zkracuje generační interval (Gordh et Headrick, 2001). Vývoj jedné generace mšic může trvat v závislosti na

teplotě 10 – 15 dní. Některé druhy mohou mít i ve volné přírodě během roku více než 20 generací (Kazda et al., 2007).

Mšice mají bodavě savé ústní ústrojí a na rostlinách škodí sáním. Sají rostlinné šťávy z vodivých pletiv především na nadzemních orgánech. Odnímají tak z rostlin značné množství tekutin. Během sání mohou do rostliny uvolňovat viry – původce virových chorob rostlin. Sání způsobuje deformace rostlinných pletiv, často provázené změnou barvy. Některé druhy mšic vyvolávají tvorbu hálek. Mšice vylučují medovici, jíž se živí mravenci. Mravenci proto často doprovázejí populace mšic a chrání je před jejich přirozenými nepřáteli (Kazda et al., 2007).



Obr.1: Kyjatka hrachová na listu hrachu.

Foto zhotoveno v rámci pokusu 4.2.3. Autor: Jiří Eckstein.

Kyjatka hrachová je druh mšice škodící na bobovitých rostlinách (Fabaceae), zejména na hrachu, poškozují ale i čočku, vikev, jetel luční, vojtěšku a fazol (Sandström, 1995; Kazda, 2006). Objevuje se také na okrasných rostlinách (Kazda, 2006).

Patří k největším mšicím, délka těla kyjatky hrachové se pohybuje mezi 3 až 5 mm (Kazda, 2009). Má zelenou barvu, okřídlené samičky růžovou až hnědavou (Sandström, 1995; Kazda, 2009).

Dospělci a nymfy škodí sáním ve velkých koloniích na vrcholcích rostlin, listech, výhonech a květenstvích od května do konce září. Sání způsobuje deformace a žloutnutí pletiv a opad mladých plůdků (Kazda, 2009).

Kyjatka hrachová má 15 – 20 generací do roka. Délka života se pohybuje mezi 20 – 40 dny (Legrand et Barbarosa, 2000). Sandström (1995) uvádí jako zimní hostitelské rostliny kyjatky hrachové jetel luční a vojtěšku, ovšem toto je dáno podmínkami konkrétního agroekosystému.



Obr. 2: Samička kyjatky hrachové rodící nymfu.

Foto zhotoveno v rámci pokusu 4.2.3. Autor: Jiří Eckstein.

V roce 2010 byl přečten genom kyjatky hrachové a bylo zjištěno, že tento hmyz žije v symbiotickém a oboustranně životně důležitém vztahu s bakterií *Buchnera aphidicola*, na níž je závislý jak z hlediska výživy, protože bakterie mšici syntetizuje neesenciální aminokyseliny, tak z hlediska reprodukce (Shigenobu et al., 2000; Petr, J., 2010).

4 Materiály a metodiky

4.1 Použitý materiál

4.1.1 Rostlinný materiál

K výrobě rostlinných extraktů byly vybrány následující rostliny:

- Kopřiva dvoudomá, *Urtica dioica* L., Urticaceae. Nať byla sebrána ve volné přírodě a usušena v laboratoři entomologického oddělení VÚRV, v.v.i. při 40 °C.
- Vrba bílá, *Salix alba* L., Salicaceae. Kůra byla sebrána se stromů rostoucích ve volné přírodě a usušena v laboratoři entomologického oddělení VÚRV, v.v.i. při 40 °C.
- Bříza bělokorá, *Betula pendula* L., Betulaceae. Listy byly sebrány se stromů rostoucích ve volné přírodě a poté usušeny v laboratoři entomologického oddělení VÚRV, v.v.i. při 40 °C.
- Tymián obecný, *Thymus vulgaris* L., Lamiaceae. Nať byla sebrána na pěstebních plochách entomologického oddělení VÚRV, v.v.i. v Praze 6 – Ruzyni. Poté byla usušena v laboratoři entomologického oddělení VÚRV, v.v.i. při 40 °C.

Po usušení byl rostlinný materiál rozemlet. Extrakce rozemletého materiálu probíhala po dobu 3 dnů v poměru 1 : 10 (čerstvá droga : voda), poté byly maceráty filtrovány a filtráty stabilizovány stabilizačním činidlem.

Extrakcí byly získány tyto extrakty:

- Extrakt **A** z kopřivy dvoudomé.
- Extrakt **B** z vrby bílé.
- Extrakt **C** z břízy bělokoré.
- Extrakt **D** z tymiánu obecného.

Z extraktů byly následně namíchány následující směsi:

- **Extrakt č. 1:** extrakty **A** a **B** v poměru **1 : 1**.
- **Extrakt č. 2:** extrakty **A**, **B** a **C** v poměru **1 : 1 : 1**
- **Extrakt č. 3:** extrakt **D**
- **Extrakt č. 4:** extrakt **A** a **C** v poměru **1 : 1**

4.1.2 Modelové rostliny

4.1.2.1 Charakteristika pěstebního prostředí

Rostliny byly pěstovány v pokusném skleníku oddělení entomologie Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i., v Praze 6 – Ruzyni. Teplota ve skleníku byla $25 \pm 5^\circ\text{C}$ a relativní vzdušná vlhkost 60 – 75 %. Všechny rostliny byly pěstovány v plastových květináčích o průměru 7 cm. Jako substrát byl použit Substrát pro zelené bylinky a koření od firmy AGRO CS a.s. obsahující rašelinu, vyzrálý kůrový kompost, písek a jíl. Výrobce neuvádí obsah živin v substrátu. Rostliny byly pěstovány v 6 opakováních. Byly zalévány dvakrát týdně.

4.1.2.2 Oves setý (*Avena sativa* L.), Poaceae

Obilky ovsa byly vysévány po deseti kusech do květináče. Jednalo se o osivo odrůdy Saul^{PO} od firmy Selgen, a.s. Před zahájením experimentu se rostliny nacházely ve fázi BBCH 10.

4.1.2.3 Hrách setý (*Pisum sativum* L.), Fabaceae

Pro pokus bylo použito osivo odrůdy Zekon od firmy Selgen, a.s. Semena byla vysévána po pěti kusech do květináče. Před zahájením experimentu se rostliny nacházely ve fázi BBCH 10.

4.1.2.4 Rajče jedlé (*Solanum lycopersicum* L.), Solanaceae

Semena se předpěstovávala a sazenice se následně přepichovaly po jedné rostlině do plastových květináčů. Byla použita odrůda Start S F1 rajčete tyčkového od firmy Semo a .s. Před zahájením experimentu se rostliny nacházely ve fázi BBCH 10.

4.1.2.5 Okurka setá (*Cucumis sativus* L.), Cucurbitaceae

Semena byla vysévána do květináče po pěti kusech. Byla použita odrůda Formule F1 okurky salátové od firmy Semo a .s. Před zahájením experimentu se rostliny nacházely ve fázi BBCH 10.

4.1.2.6 Ředkev setá ředkvička (*Raphanus sativus* var. *radicula* L.), Brassicaceae

Semena byla vysévána po pěti kusech do květináče. Bylo použito osivo odrůdy Prima od firmy Semo a .s. Před zahájením experimentu se rostliny nacházely ve fázi BBCH 10.

4.1.2.7 Fazol obecný (*Phaseolus vulgaris* L.), Fabaceae

Byla použita semena fazolu obecného keříčkového Maxidor od firmy Semo a.s. a vysévána do květináče po pěti kusech. Před zahájením experimentu se rostliny nacházely ve fázi BBCH 10.

4.1.2.8 Brukev zelná – kedluben (*Brassica oleracea* var. *Gongylodes* L.), Brassicaceae

Semena byla vysévána do květináče po pěti kusech, bylo použito osivo odrůdy Dvorana od firmy Semo a .s. Před zahájením experimentu se rostliny nacházely ve fázi BBCH 10.

4.1.3 Pokusný živočišný materiál

4.1.3.1 Kyjatka hrachová (*Acyrtosiphon pisum*), Hemiptera, Aphididae

Škůdce *Acyrtosiphon pisum* byl namnožen v laboratorních chovech entomologického oddělení VÚRV, v.v.i. v Praze 6 – Ruzyni. Samice škůdce byly chovány v plastových krabičkách opatřených plastovou sítí na rostlinách hrachu (*Pisum sativum* L.) při teplotě $25 \pm 1^\circ \text{C}$, fotoperiodě L 16 : D 8 a relativní vzdušné vlhkosti 70%.

Dospělé samice *Acyrtosiphon pisum* byly použity v pokusu 4.2.3.

4.2 Biologické testy

Pokusy byly realizovány od listopadu 2010 do června 2011 v entomologickém oddělení Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i. v Praze 6 – Ruzyni. Pokusy 4.2.1, 4.2.2 a 4.2.3 probíhaly v pokusném skleníku entomologického oddělení, kde se teplota pohybovala v hodnotách $25 \pm 5^\circ \text{C}$ a relativní vzdušná vlhkost v hodnotách 60 – 75 %. Pokus 4.2.4 byl realizován v laboratoři entomologického oddělení při teplotě $25 \pm 1^\circ \text{C}$, fotoperiodě L 16 : D 8 a relativní vzdušné vlhkosti 70%.

4.2.1 Vliv extraktů na růst rostlin

Vliv extraktů na růst rostlin byl zjištěn na rostlinách ovsa setého (*Avena sativa* L.) odrůdy Saul^{PO}, rajčete jedlého tyčkového (*Solanum lycopersicum* L.) odrůdy Start S F1, okurky seté (*Cucumis sativus* L.) odrůdy Formule F1, ředkve seté ředkvičky (*Raphanus sativus* var. *radicula* L.) odrůdy Prima, fazolu obecného keříčkového (*Phaseolus vulgaris* L.) odrůdy Maxidor a brukve zelné – kedlubnu (*Brassica oleracea* var. *Gongylodes* L.) odrůdy Dvorana.

Rostliny v růstové fázi děložních listů BBCH 10 byly ošetřeny extrakty v koncentraci 5 ml zásobního roztoku na 1 l vody z extraktů č. 1, č. 2, č. 3 a č. 4. Aplikace extraktů byla provedena ručním rozprašovačem. Následně byla aplikace opakována ještě dvakrát vždy

v intervalu 1 týdne. Po 20 dnech kultivace byly odštířeny nadzemní části rostlin a po jednotlivých květináčích označeny, usušeny při teplotě 105 ° C a zváženy.

Pro každý rostlinný druh byla zjištěna průměrná hmotnost sušiny u každé varianty a směrodatná odchylka. Dále byla pro každý rostlinný druh provedena analýza rozptylu ANOVA ($p < 0,05$) (Statistica, 1997), která testovala vliv varianty na hmotnosti sušiny. U rostlinných druhů, kde byl prokázán statisticky významný rozdíl působení různých extraktů, byl dále proveden test Tukey HSD ($p < 0,05$) ke zhodnocení, která konkrétní ošetřovaná varianta vykazovala statisticky významně odlišná data ve srovnání s kontrolou.

4.2.2 Účinnost koncentrací vybraných extraktů

Na základě výsledků pokusu 4.2.1 a po zvážení perspektivnosti extraktů pro další experimenty (zejména zkoumání insekticidních účinků), byly pro pokus 4.2.2 vybrány extrakty č. 1 (kopřiva dvoudomá, vrba bílá 1 : 1) a č. 3 (tymián obecný). Byla zjištěna jejich účinnost ve 4 zvolených koncentracích, a to 1 ml zásobního roztoku na 1 l vody, 5 ml zásobního roztoku na 1 l vody, 10 ml zásobního roztoku na 1 l vody a 15 ml zásobního roztoku na 1 l vody. Jako modelové rostliny byla vybrána rajčata jedlá tyčková (*Solanum lycopersicum* L.) odrůdy Start S F1, oves setý (*Avena sativa* L.) odrůdy Saul^{PO} a hrách setý (*Pisum sativum* L.) odrůdy Zekon.

Rostliny byly ošetřeny ve fázi děložních listů BBCH 10. Aplikace byla provedena ručním rozprašovačem. Po 7 dnech byla aplikace opakována. Po 16 dnech kultivace byly odštířeny nadzemní části rostlin a po jednotlivých květináčích označeny, usušeny při teplotě 105 ° C a zváženy.

V rámci souborů jednotlivých rostlinných druhů byla zjištěna průměrná hmotnost sušiny jednotlivých variant a směrodatná odchylka v programu Statistica (1997). Tento program byl dále použit pro jednovýběrovou analýzu rozptylu (ANOVA) hmotností variant v rámci souborů rostlinných druhů. U souborů, kde byl zjištěn statisticky významný vliv extraktu, byl dále proveden test Tukey HSD 95 %, ke zhodnocení, která konkrétní koncentrační varianta vykazovala statisticky významně odlišná data ve srovnání s kontrolou.

4.2.3 Vliv vybraného extraktu na plodnost kyjaty hrachové

Na základě pokusu 4.2.2 byl vybrán extrakt č. 3 (tymián obecný) v koncentraci 5 ml zásobního roztoku na 1 l vody pro zjištění vlivu na plodnost kyjaty hrachové (*Acyrtosiphon pisum*). Pokus byl proveden na rostlinách hrachu setého (*Pisum sativum* L.) odrůdy Zekon. Vliv extraktu na plodnost kyjaty hrachové byl zkoumán ve 2 variantách lišících se

okamžikem aplikace extraktu. U obou variant byla aplikace provedena ručním rozprašovačem. Kromě ošetřovaných variant byl sledován kontrolní vzorek (rostliny bez ošetření extraktem). Pokus byl realizován v 10 opakováních v každé variantě i kontrole.

U varianty 1 byl extrakt aplikován jeden den před nasazením škůdce ve fázi prvního pravého listu BBCH 11.

0. den experimentu byl škůdce introdukovan na rostliny obou variant a na kontrolní variantu v počtu 5 mladých nymf na rostlinu, celkem 20 nymf na květináč čítající 4 rostliny. V době introdukce škůdce se rostliny nacházely ve fázi BBCH 11.

U Varianty 2 byl extrakt aplikován 1. den , tj. až po introdukci škůdce.

U obou variant a kontroly bylo provedeno opakované sčítání populace škůdce na rostlinách, a to vždy zvlášť jedinců P1 a F1 generace. Sčítání bylo provedeno 2., 5. a 8. den experimentu.

U každé varianty byl spočítán průměrný počet jedinců v kategorii (P1, F1) v každý den sčítání. K průměrnému počtu jedinců byla vypočítána směrodatná odchylka. V programu Statistica (1997) byla nejprve provedena jednovýběrová analýza rozptylu ANOVA k ověření statistické významnosti rozdílu mezi průměrnými počty jedinců P1 a F1 generace v jednotlivých dnech sčítání, a to pro každou variantu zvlášť. Následně byl proveden test Tukey HSD na hladině 5 % ke zjištění statistické významnosti rozdílu průměrného počtu jedinců P1 a F1 generace v různých dnech sčítání v rámci každé varianty.

Poté byla zkoumána rychlost vymírání parentální generace u jednotlivých variant metodou lineární regrese (Statistica, 1997), jako lineární závislost počtu jedinců na pořadovém dni pokusu.

Dále byla z průměrného počtu jedinců P1 a F1 generace u jednotlivých variant ze sčítání 5. a 8. dne pokusu vypočítána průměrná plodnost samic jednotlivých variant pro tyto dny experimentu. Plodnost byla vypočítána podílem průměrného počtu jedinců F1 generace ku průměrnému počtu jedinců P1 generace.

5 Výsledky

5.1 Výsledky testu Účinnosti extraktů na růst rostlin 4.2.1

V pokusu byla zjišťována účinnost extraktů na růst u 6 druhů modelových rostlin.

V Tabulce 1 jsou uvedeny průměrné hmotnosti sušiny pro každý rostlinný druh u jednotlivých variant pokusu odpovídajících číslům použitých extraktů 1 – 4. Pro každou hodnotu průměrné hmotnosti sušiny je uvedena směrodatná odchylka (SD).

Tabulka 1. Účinnost extraktů na růst rostlin.
Průměrná hmotnost sušiny a směrodatná odchylka.

Varianta	Průměrná hmotnost sušiny [mg]					
	±SD					
	Fazole	Rajčata	Okurky	Kedlubny	Oves	Ředkvičky
1	516,8 ± 96,6	572,3 ±141,7	233,0 ±41,4	124,0 ±35,1	260,0 ±32,3	1008,2 ±334,2
2	394,3 ± 90,5	547,0 ±271,6	341,8 ±33,7	100,5 ±31,4	164,5 ±28,4	753,7 ±121,0
3	475,7 ± 50,7	833,9 ±91,8	351,5 ±39,4	124,3 ±6,2	202,3 ±41,2	971,2 ±93,3
4	421,2 ± 112,0	733,8 ±230,6	369,0 ±58,1	125,2 ±44,4	246,2 ±39,4	1008,3 ±198,3
Kontrola	422,2 ± 44,8	684,2 ±238,9	351,3 ±53,9	102,2 ±19,9	162,7 ±38,0	959,7 ±136,9

Tabulka 2. Statistická významnost p rozdílu průměrů sušin mezi variantami každého modelového rostlinného druhu (ANOVA).

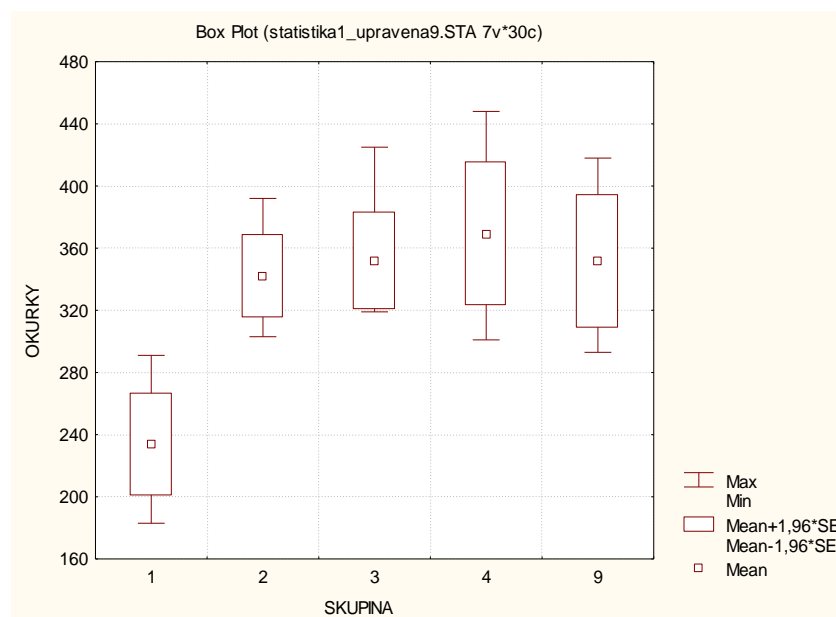
Varianta	Fazole	Rajčata	Okurky	Kedlubny	Oves	Ředkvičky
p, p<0,05*	0, 110	0, 132	0, 006*	0, 400	0,000*	0, 168

Statisticky významný rozdíl účinnosti extraktů na růst byl prokázán pouze u okurek a ovsa.

U těchto dvou druhů byl dále proveden test Tukey HSD ($p < 0,05$), jímž bylo zjištěno, pro které konkrétní varianty se hmotnosti sušiny statisticky významně liší od kontroly (viz následující Graf 1 s Tabulkou 3 pro okurky a Graf 2 s Tabulkou 4 pro oves).

Účinnost extraktů na růst: okurky

Graf 1. Účinnost extraktů na růst. Okurky.
Průměrné hmotnosti sušiny a interval $\pm 1,96$ SE průměru.



Skupiny 1 – 4 odpovídají číslům použitých extraktů. Skupina 9 značí kontrolu.

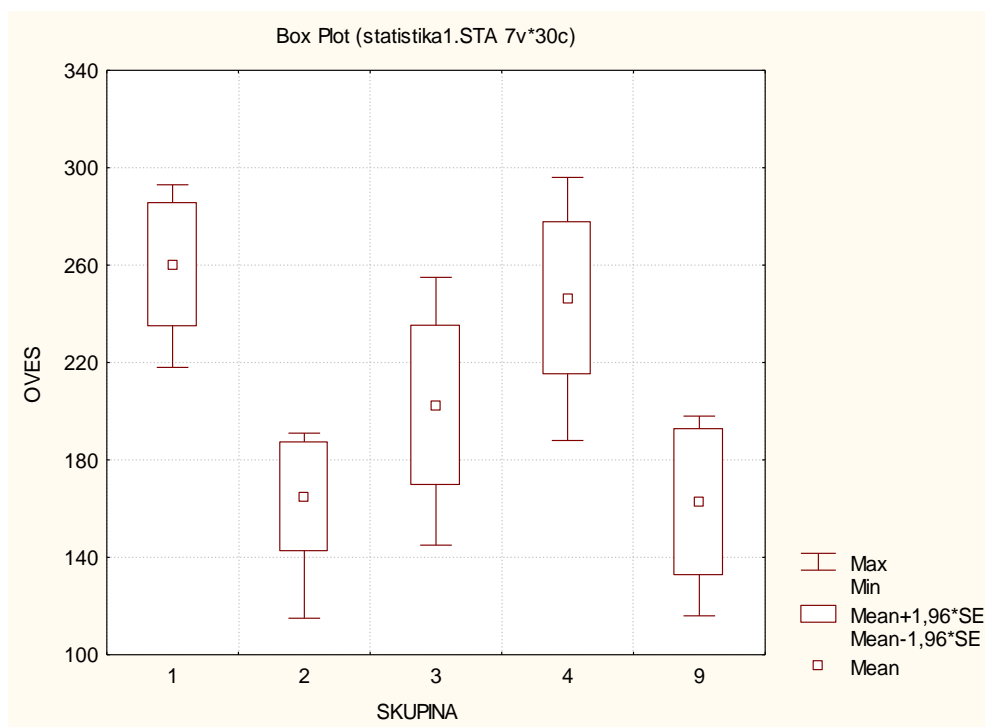
Tabulka 3. Účinnost extraktů na růst. Okurky.
Statistická významnost rozdílu hmotnosti sušiny mezi variantou a kontrolou.

Varianta	1	2	3	4
$p, p < 0,05$ *	0,002 *	0,996	1,000	0,963

Tukeyho test HSD ($p < 0,05$) vyhodnotil rozdíly průměrné hmotnosti sušiny mezi ošetřovanou variantou a kontrolou jako statisticky významné pouze u varianty 1, ošetřené extraktem č. 1 z kopřivy dvoudomé a vrby bílé v poměru 1 : 1. Průměrná hmotnost sušiny varianty 1 odpovídala 72,4 % průměrné hmotnosti kontroly. Varianta 1 tudíž vykazovala 27,6% snížení hmotnosti oproti kontrole.

Účinnost extraktů na růst: oves

Graf 2. Účinnost extraktů na růst. Oves.
Průměrné hmotnosti sušiny a interval $\pm 1,96$ SE průměru.



Skupiny 1 – 4 odpovídají číslům použitých extraktů. Skupina 9 značí kontrolu.

Tabulka 4. Účinnost extraktů na růst. Oves.

Statistická významnost rozdílu hmotnosti sušiny mezi variantou a kontrolou.

Varianta	1	2	3	4
p, $p < 0,05$	0,009 *	0,999	0,344	0,004 *

U ovsa byla testem Tukey HSD ($p < 0,05$) prokázána statisticky významná odlišnost průměrné hmotnosti sušiny varianty oproti kontrole u varianty 1, ošetřované roztokem č. 1 z kopřivy dvoudomé a vrby bílé v poměru 1 : 1 a u varianty 4, ošetřované extraktem č. 4 z kopřivy dvoudomé a břízy bělokoré v poměru 1 : 1.

U varianty 1 bylo procento navýšení průměrné hmotnosti sušiny oproti kontrole 59,8 %.

U varianty 4 bylo procento navýšení průměrné hmotnosti sušiny oproti kontrole 62,4 %.

Účinnost extraktů

V pokusu účinnosti extraktů na růst rostlin 4.2.1 byla prokázána účinnost extraktů č. 1 (kopřiva dvoudomá: vrba bílá, 1 : 1) a č. 4 (kopřiva dvoudomá: bříza bělokorá, 1 : 1).

Účinky extraktů č. 2 a č. 3 nebyly statisticky významné.

U extraktu č. 1 byl prokázán vliv na růst u okurek a ovsu. U okurek byly zjištěny inhibiční účinky extraktu, sušina poklesla o 27,6 % ve vztahu ke kontrole. U ovsu vyvolal extrakt naopak účinky stimulační, sušina narostla o 59,8 % ve vztahu ke kontrole.

Vliv extraktu č. 4 byl prokázán pouze u ovsu, kde bylo zjištěno navýšení sušiny ve vztahu ke kontrole o 62,4 %.

5.2 Výsledky testu Účinnosti koncentrací vybraných extraktů 4.2.2

Pro pokus byl vybrán extrakt č. 1 vykazující v testu Vlivu extraktu na růst rostlin 4.2.1 nejvyšší účinnost a dále extrakt č. 3, jehož účinnost nebyla statisticky prokázána, ale byl vybrán pro potenciál uplatnění v ochraně rostlin před škůdci, které mělo být zkoumáno ve druhé části experimentů této práce.

Byl zjištěn vliv koncentrací vybraných extraktů na růst rostlin. V následujících tabulkách jsou ke dvěma vybraným extraktům uvedeny průměrné hmotnosti sušiny modelových druhů rostlin a směrodatné odchylky. Dále je zde pro každý rostlinný druh metodou analýzy rozptylu ANOVA otestována shodnost průměrů hmotností sušin při různých koncentracích a je zde uvedena zjištěná hladina významnosti p .

Účinnost koncentrací extraktu č. 1 (kopřiva dvoudomá : vrba bílá, 1 : 1)

Tabulka 5. Test účinnosti koncentrací.

Průměrné hmotnosti sušiny variant a směrodatné odchylky.

Koncentrace	Průměrná hmotnost sušiny [mg] ± SD		
	Oves	Hrách	Rajčata
0,01 %	101,3 ± 31,2	309,1 ± 94,6	56,7 ± 21,1
0,05 %	84,9 ± 12,4	296,4 ± 72,4	43,4 ± 19,1
0,1 %	85,3 ± 22,1	664,3 ± 95,8	54,3 ± 28,3
0,15 %	73,1 ± 30,8	358,9 ± 105,7	62,7 ± 30,6
Kontrola	84,0 ± 16,9	340,9 ± 102,8	30,2 ± 13,7

Tabulka 6. Statistická významnost p vlivu koncentrace extraktu č.1 na hmotnost sušiny.

	Oves	Hrách	Rajčata
p, p < 0,05 *	0,118	0,267	0,395

Analýza rozptylu ($p < 0,05$) neprokázala účinnost extraktu č. 1 na růst modelových druhů rostlin ve sledovaných koncentracích u žádného sledovaného druhu.

Účinnost koncentrací extraktu č. 3 (tymián obecný)

Tabulka 7. Test účinnosti koncentrací.

Průměrné hmotnosti sušiny variant a směrodatné odchyly.

Koncentrace	Průměrná hmotnost sušiny [mg] ± SD		
	Oves	Hrách	Rajčata
0,01 %	108,1 ± 24,6	343,1 ± 80,6	46,8 ± 23,2
0,05 %	104,1 ± 21,6	367,8 ± 91,1	57,0 ± 21,6
0,1 %	97,2 ± 10,8	352,9 ± 79,7	43,4 ± 19,0
0,15 %	104,3 ± 32,8	325,2 ± 119,4	55,7 ± 22,3
Kontrola	84,0 ± 16,9	340,9 ± 102,8	30,2 ± 13,7

Tabulka 8. Statistická významnost p vlivu koncentrace extraktu č.3 na hmotnost sušiny.

	Oves	Hrách	Rajčata
p, p < 0,05 *	0,779	0,782	0,425

Analýza rozptylu ($p < 0,05$) neprokázala účinnost extraktu č. 3 na růst modelových druhů rostlin ve sledovaných koncentracích u žádného sledovaného druhu.

5.2.1 Výsledky testu Vlivu vybraného extraktu na plodnost kyjatky hrachové 4.2.3

Pro pokus byl vybrán škůdce kyjatka hrachová (*Acyrtosiphon pisum*) a byl zjištěn vliv extraktu č. 3 (tymián obecný) na jeho plodnost. Experiment byl realizován ve dvou variantách lišících se termínem aplikace extraktu. Ve Variantě 1 byl extrakt aplikován den před nasazením škůdce, ve Variantě 2 den po introdukci. Škůdce byl introdukován na rostliny hrachu setého 0.den pokusu v počtu 20 mladých nymf na květináč. 0. den je tedy považován za počáteční den pokusu a od 0. dne jsou počítány další pořadové dny pokusu 1., 2. atd. až 8. den pokusu, kdy byl pokus ukončen.

Pro zjištění plodnosti škůdce byly sledovány počty jedinců introdukované parentální generace (označované také P1) a jejich potomků, filiální generace (F1), v intervalu 3 dnů od 0. dne, kdy byl škůdce na rostliny nasazen, do 8. dne, kdy bylo provedeno závěrečné sčítání a pokus ukončen.

V Tabulce 9 jsou zaneseny průměrné počty jedinců: počet všech jedinců, počet jedinců P1 generace, počet jedinců F1 generace a směrodatné odchylky pro jednotlivé varianty pokusu během 4 sčítání populace mšice na rostlinách.

Tabulka 9. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjatky hrachové (*Acyrtosiphon pisum*). Průměrný počet jedinců parentální a filiální generace a směrodatná odchylka. Varianta 1, Varianta 2, Kontrola.

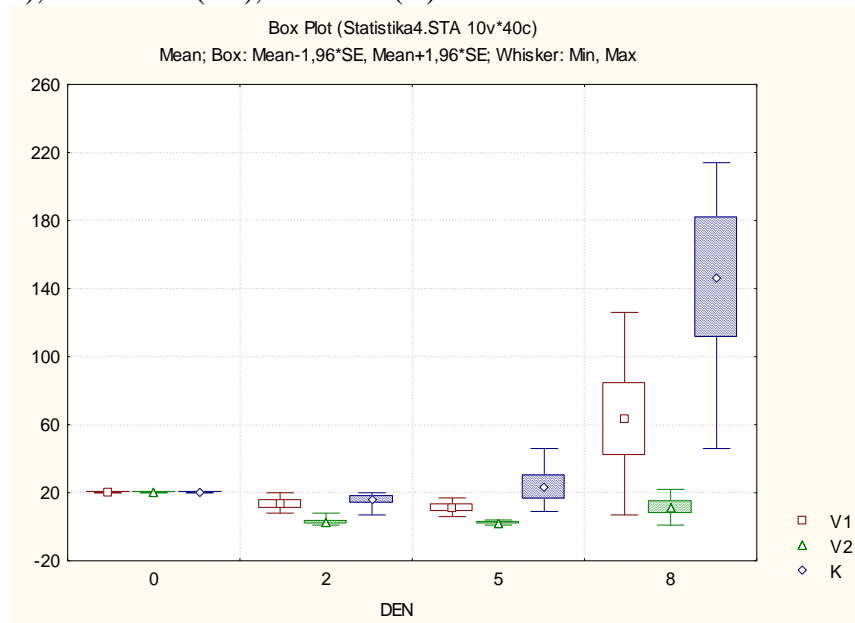
Průměrný počet jedinců ± SD						
Den	V1		V1P		V1F	
0.	20,0	± 0,0	20,0	± 0,0	0,0	± 0,0
2.	13,3	± 4,3	13,3	± 4,3	0,0	± 0,0
5.	11,0	± 4,1	10,3	± 4,2	0,7	± 1,3
8.	63,3	± 34,9	7,2	± 3,9	56,1	± 31,9
Den	V2		V2P		V2F	
0.	20,0	± 0,0	20,0	± 0,0	0,0	± 0,0
2.	2,4	± 2,2	2,4	± 2,2	0,0	± 0,0
5.	2,1	± 1,4	1,8	± 1,2	0,3	± 0,9
8.	11,2	± 6,6	1,8	± 1,2	9,4	± 6,5
Den	K		KP		KF	
0.	20,0	± 0,0	20,0	± 0,0	0,0	± 0,0
2.	16,1	± 4,1	16,1	± 4,1	0,0	± 0,0
5.	23,0	± 11,8	15,0	± 4,4	8,0	± 11,4
8.	146,3	± 57,4	11,5	± 4,8	134,8	± 54,7

V1, V2, K – průměrný počet všech jedinců varianty.

V1P, V2P, KP - průměrný počet jedinců parentální generace

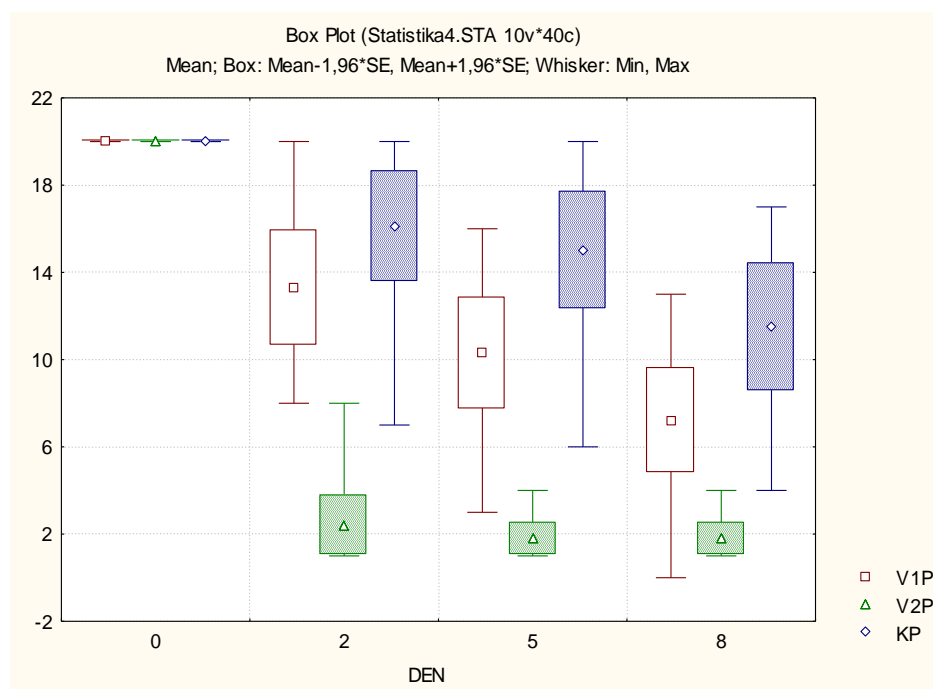
V1F, V2F, KF - průměrný počet jedinců filiální generace

Graf 3. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjatyky hrachové (*Acyrtosiphon pisum*). Průměrný celkový počet všech jedinců (P1+F1) a interval $\pm 1,96$ SE průměrů. Varianta 1 (V1), Varianta 2 (V2), Kontrola (K).



Graf 3 naznačuje vliv varianty pokusu na počty jedinců v jednotlivých dnech sčítání. Detailněji se vývojem populace kyjatyky hrachové u jednotlivých variant zabýváme dále při odděleném zkoumání počtu jedinců parentální a filiální generace .

Graf 4. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjaty hrachové (*Acyrtosiphon pisum*). Průměrný počet jedinců P1 generace a interval $\pm 1,96$ SE průměru. Varianta 1 (V1P), Varianta 2 (V2P), Kontrola (KP).



Graf 4 ukazuje vývoj počtu jedinců parentální generace škůdce. Varianta 1 (postřik před introdukcí škůdce) je svým průběhem po prvotním poklesu z 20 na průměr 13,3 jedinců velmi podobná Kontrole. Pokles jedinců P1 generace v absolutních počtech je u Varianty 1 i u Kontroly v devítidenním časovém intervalu trvání experimentu pozvolný a svým průběhem lineární.

U Varianty 2 (aplikace extraktu na rostliny s již introdukovaným škůdce) byl zaznamenán pokles velmi razantní, a to již do 2 dnů. Populace rychle klesla z počátečních 20 jedinců na prakticky konstantní úroveň, a to na průměr 2,4 jedince 2.dne, ze kterého dále poklesla jen mírně na průměr 1,8 jedinců v 8.den ukončení pokusu (Tabulka 9). Další testy u Varianty 2 provedeny nebyly (hledaná lineární závislost počtu jedinců na dnu experimentu by zde byla artefaktem, jak je vidět z Grafu 4).

Závislost počtu parentálních jedinců na čase (na dnech) byla u Varianty 1 a Kontroly detailněji zkoumána metodou lineární regrese procházející pevným bodem (0,20) (Tabulka 10).

Tabulka 10. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjatky hrachové (*Acyrtosiphon pisum*). Průběh vymírání P1 generace u Varianty 1 a Kontroly.

Lineární regrese pro VIP: $N = 20 - 1,76 \times \text{den}$

N=40	B	SD of B	t (39)	p	Lower 95 %	Upper 95 %
Den	-1,77	0,13	-13,93	0,0000	-2,02	-1,51

Lineární regrese pro KP: $N = 20 - 1,08 \times \text{den}$

N=40	B	SD of B	t (39)	p	Lower 95 %	Upper 95 %
Den	-1,08	0,13	-8,70	0,0000	-1,34	-0,83

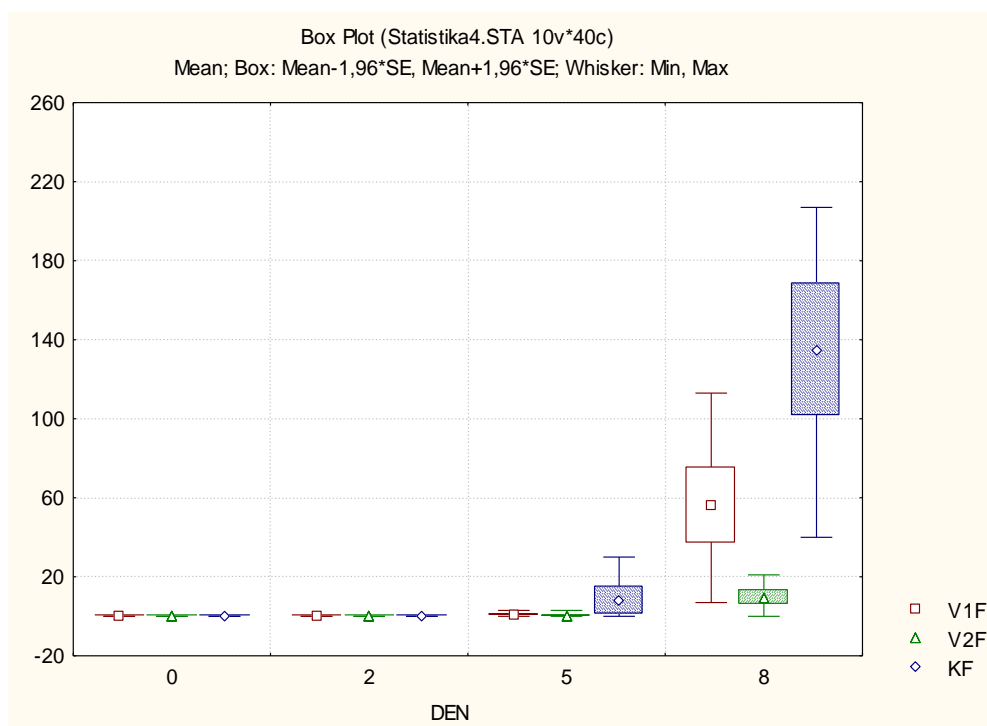
Zjištěné koeficienty $-1,76$ u Varianty 1 a $1,08$ u Kontroly jsou významně nenulové na hladině $0,0\%$ a navíc, z jejich 95% intervalů spolehlivosti vyplývá, že jsou navzájem rozdílné.

Tyto koeficienty představují průměrnou rychlost vymírání P1 generace v průběhu devíti dnů trvání pokusu. Rychlost vymírání je počet uhynulých jedinců P1 generace za den.

Rychlost vymírání $1,76/\text{den}$ ve Variantě 1 - s aplikací extraktu na rostliny před introdukcí škůdce - tedy byla významně vyšší, než u rostlin neošetřených, kde byla $1,08/\text{den}$.

Dále byl analyzován vývoj počtu jedinců filiální generace na počtu jedinců parentální generace. Vývoj počtu jedinců parentální generace určuje nárůst filiální generace u jednotlivých variant (Graf 5).

Graf 5. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjatky hrachové (*Acyrtosiphon pisum*). Průměrný počet jedinců F1 generace a interval $\pm 1,96$ SE průměru. Varianta 1 (V1F), Varianta 2 (V2F), Kontrola (KF).



Z grafu 5 a úvodní Tabulky 9 můžeme sledovat nárůst filiální generace u jednotlivých variant pokusu. U všech tří variant se první přírůstky F1 generace objevily 5. dne pokusu, kdy první samice P1 generace dosáhly plodného věku. V kontrole bylo napočítáno v průměru 8 nymf generace F1, ve Variantě 1 0,7 nymfy a ve Variantě 2 0,3 nymfy. To odpovídá počtu samic P1 generace, kterých bylo 5. den pokusu v průměru 15 v květináčích kontrolní varianty, 10,3 u Varianty 1 a 1,8 u Varianty 2.

8. den pokusu bylo napočítáno v kontrole průměrně 134,8 nymf F1 generace, ve Variantě 1 56,1 nymf a ve Variantě 2 9,4 nymf. Četnost filiální generace opět odráží četnost generace parentální. V kontrolní variantě se nacházelo 8. den v průměru 11,5 jedinců P1 generace, ve Variantě 1 7,2 jedinců a ve Variantě 2 pouze 1,8 jedince.

Z uvedených počtů vyplývá, že nárůst F1 generace u jednotlivých variant byl dán počtem samic P1 generace, které se dožily plodného věku. Nejnižší nárůst byl zaznamenán

u Varianty 2, kdy se na rostlinách 5.den pokusu, kdy začaly samice plodit, vyskytovalo v průměru pouze 2,4 samice.

Plodnost samic u jednotlivých variant nicméně ukázal až podíl průměrného počtu jedinců F1 a P1 generace ze sčítání 5. a 8. dne experimentu, kdy samice již plodily. Tento podíl vyjadřuje průměrný počet nymf F1 generace na 1 samici P1 generace. Průměrné počty jedinců a jejich podíl udávající plodnost jsou zaneseny v následující Tabulce 9.

Tabulka 11. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjatyky hrachové.

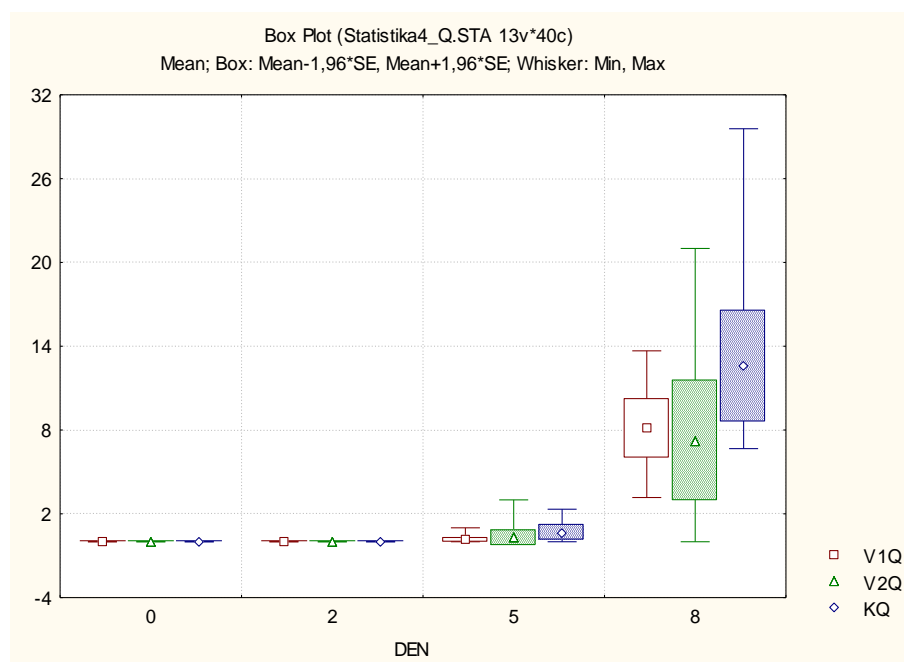
Průměrný počet jedinců F1 a P1 generace a plodnost daná podílem počtu jedinců F1 a P1 generace. Plodnost vyjadřuje průměrný počet nymf F1 generace na 1 samici P1 generace.

Varianta		Den					
		5.			8.		
		V1	V2	Kontrola	V1	V2	Kontrola
Počet jedinců ± SD	F1	0,7	0,3	8,0	56,1	9,4	134,8
		±	±	±	±	±	±
		1,3	0,9	11,4	31,9	6,5	54,7
	P1	10,3	1,8	15,0	7,2	1,8	11,5
		±	±	±	±	±	±
		4,2	1,2	4,4	3,9	1,2	4,8
	Plodnost (F1:P1)	0,1	0,3	0,6	8,1	7,2	12,6
		±	±	±	±	±	±
		0,3	0,9	0,9	3,5	7,0	6,5

Graf 6. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjatyky hrachové.

Plodnost Q a interval $\pm 1,96$ SE průměru.

Varianta 1 (V1Q), Varianta 2 (V2Q), Kontrola (KQ).



Vlivu extraktu z tymiánu na plodnost byl ověřen analýzou rozptylu ANOVA a jak naznačil i Graf 6, byl zjištěn jako statisticky nevýznamný (Tabulka 12).

Tabulka 12. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjatky hrachové (*Acyrtosiphon pisum*). Výsledek analýzy rozptylu vlivu varianty na plodnost Q 5. a 8. den experimentu.

Q	p, p<0,05 *
Den 5.	0,3475
Den 8.	0,1130

Tímto jsme tedy došli k závěru, že extrakt č. 3 z tymiánu obecného neměl vliv na plodnost jedinců parentální generace kyjatky hrachové. Měl vliv pouze na počet jedinců generace P1, který dále zakládal možný nárůst generace F1. Průměrná plodnost tří variant experimentu byla 8. dne 9,3 nymf generace F1 na 1 samici generace P1.

6 Diskuse

6.1 Všeobecně

V práci byl zkoumán potenciál vybraných rostlinných extraktů v ochraně rostlin. V první části pokusů byl sledován vliv těchto extraktů na růst modelových rostlin v rané fázi růstu. Ve druhé části práce byl zjišťován vliv vybraného extraktu na plodnost kyjatky hrachové (*Acyrtosiphon pisum*). Předmětem práce bylo tedy zjištění vícestranného účinku konkrétních rostlinných extraktů v ochraně rostlin.

Mechanismus účinku extraktů je velmi složitý, vícestranná účinnost může být dána působením různých látek obsažených v extraktu, někdy ale může mít více účinků i jedna látka s více funkčními skupinami (Jahodář, 2006). Významnou roli hraje také interakce obsažených látek mezi sebou (Kefeli et Kalevitch, 2003). Účinky bioaktivních látek námi vybraných rostlin byly již zkoumány ve farmakologii, výzkum jejich působení na rostliny je ale až na výjimky v začátcích. Nebudeme se zde pokoušet o podrobnější vysvětlení působení vybraných extraktů a spíše uvedeme přehled výsledků jednotlivých pokusů a tam, kde byly realizovány podobné výzkumy, zmíníme se o jejich závěrech.

6.2 Účinnost extraktů na růst

6.2.1 Účinnost extraktu č. 1 z kopřivy dvoudomé a vrby bílé

Extrakt z kůry vrby bílé obsahuje z biologicky aktivních látek zejména flavonoidy, fenolové glykosidy a fenolické kyseliny. Za nejvýznamnější účinnou látku v souvislosti s účinkem na růst rostlin je považována fenolická kyselina salicylová, jejíž fyziologickou úlohu v rostlině již zkoumala celá řada experimentů. Kyselina salicylová se řadí k rostlinným hormonům a v koncentracích od 10^{-5} do 10^{-8} M působí stimulačně, ve vyšších inhibičně (Hayat et Ahmad, 2007). Ve sborníku editorů Hayat a Ahmad (2007), který se věnuje čistě této organické kyselině, jsou uvedeny výsledky pokusů účinnosti kyseliny salicylové na výnos několika druhů plodové a kořenové zeleniny a stimulační vliv této kyseliny na růst je zde srovnáván s účinkem hnojiv.

K účinku bioaktivních látek kopřivy dvoudomé na růst rostlin nebyly v literatuře nalezeny závěry uplatnitelné v této práci, podrobnější výzkum tedy pravděpodobně nebyl dosud realizován. Vysoká biologická aktivita extraktu z kopřivy je ale nepochybná vzhledem k širokému využití ve farmacii, kosmetice atd. Kopřiva obsahuje například významné flavonoidy a fytosteroly (Jahodář, 2006).

V našem screeningovém testu Účinnosti extraktů na růst rostlin byla statisticky doložena účinnost extraktu č. 1 z kopřivy dvoudomé a vrby bílé v poměru 1 : 1 a koncentraci 0,5 %. Účinnost byla prokázána u okurek a ovsu, při čemž u každého rostlinného druhu vykazoval extrakt naprosto rozdílné účinky. Zatímco u okurek bylo zjištěno téměř 28% snížení hmotnosti sušiny ošetřovaných rostlin oproti kontrole, u ovsu měl extrakt vliv stimulační, sušina narostla o necelých 60 %.

Z výsledků pokusu je patrné, že důležitou roli v působení extraktu sehrává sama rostlina, která byla extraktem ošetřena. Látky obsažené v extraktu, které se vstřebávají do rostlinných pletiv, poté interagují s produkty aktivního rostlinného metabolismu. Teprve tyto interakce vyvolávají v důsledku stimulační nebo inhibiční účinky na růst (Hayat et Ahmad, 2007; Mazid et al., 2011). Pokud bychom měli uvažovat na příkladu kyseliny salicylové, o níž je známo nejvíce informací, koncentrace této kyseliny v rostlině před jejím ošetřením (kyselina salicylová se nenachází pouze v rodu *Salix*, ale i v mnoha jiných druzích kulturních rostlin) by mohla například navýšit koncentraci této látky vstřebanou v extraktu, což by následně mohlo změnit směr účinky na růst. Toto je ale samozřejmě jen dílčí hypotéza, protože v mechanismu působení extraktu v rostlině hraje roli velké množství faktorů.

6.2.2 Účinnost extraktu č. 4 z kopřivy dvoudomé a břízy bělokoré

Druhým extraktem, jehož účinky se statisticky potvrdily, byl extrakt č. 4 z kopřivy dvoudomé a břízy bělokoré v poměru 1:1 v koncentraci 0,5 %. Zde byl vliv na růst významný pouze u ovsu, kde sušina narostla v porovnání s kontrolou o více než 62 %.

U extraktu z listů břízy není známa látka hormonální povahy, extrakt obsahuje ale mnoho látek s ověřeným biologickým účinkem zejména ze skupiny saponinů a flavonoidů (Jahodář, 2006).

Test Účinnosti extraktů na růst rostlin tedy poukázal na velmi rozdílné účinky extraktů v závislosti na rostlinném druhu. K možnému uplatnění těchto extraktů by bylo zapotřebí zkoumat dále jejich účinky na jednotlivé kulturní rostliny.

6.3 Účinnost koncentrací vybraných extraktů

Druhým experimentem zkoumajícím vliv extraktů na růst rostlin byl test Účinnosti koncentrací vybraných extraktů (4.2.2). Jak bylo diskutováno výše, koncentrace účinných látek může mít rozhodující význam pro účinek extraktu, určité látky hormonální povahy

působí například v nižších koncentracích na růst stimulačně a ve vyšších již inhibičně (Kefeli et Kalevitch, 2003).

Pro tento experiment byl vybrán extrakt č. 1 (kopřiva dvoudomá a vrba bílá 1 : 1) a extrakt č. 3 (tymián obecný). Extrakt č. 1 byl zvolen na základě výsledků screeningového testu, extrakt č. 3 zejména pro potenciál uplatnění v ochraně rostlin před škůdci, které mělo být zkoumáno ve druhé části experimentů této práce. Účinnost koncentrací dvou vybraných roztoků ale nebyla statisticky prokázána. Ke zjištění účinnosti by bylo třeba realizovat pokus znovu a ve více opakováních.

Ověření neúčinnější koncentrace je nicméně nutné pro možné uplatnění extraktů v ochraně rostlin. Dále by bylo třeba provést analýzy chemického složení zkoumaných extraktů, aby mohl být standardizován obsah účinných látek v přípravku. Je ovšem jasné, že se jedná o velmi složitý proces, protože obsah jednotlivých látek není ve výchozích rostlinách nikdy naprosto shodný. Na obsahu látek v rostlině se totiž podílí mnoho faktorů jako klima, nadmořská výška, půdní podmínky. Velmi důležitá je doba sběru (Gao, 1998; Hudaib et Aburjai, 2007). Standardizace obsahu účinných látek je tedy u rostlinných extraktů obtížná.

6.4 Vliv extraktu č. 3 z tymiánu obecného na plodnost kyjatky hrachové

Náplní druhé části práce bylo zjištění vlivu extraktu č. 3 z tymiánu obecného na plodnost kyjatky hrachové (*Acyrtosiphon pisum*). Pokus byl realizován ve dvou variantách lišících se způsobem aplikace extraktu. Plodnost kyjatky byla sledována na rostlinách hrachu ošetřených jeden den před introdukcí škůdce a na rostlinách ošetřených až jeden den po introdukci škůdce a počet jedinců na ošetřovaných variantách byl srovnáván s kontrolou, která zůstala bez ošetření.

Z výsledků experimentu vyplývá, že extrakt působí účinně pouze při aplikaci až po detekci výskytu škůdce. Ve variantě s aplikací extraktu po introdukci škůdce se průměrný počet mšic v den ukončení pokusu nacházel pod počátečním prahem, zatímco u varianty s aplikací před nasazením byl počáteční počet třikrát převyššen a u kontrolní varianty byl převyššen osmkrát.

U Varianty 2 s postřikem po nasazení škůdce nastal razantní pokles populace během jednoho dne od aplikace extraktu a to na desetinu původního počtu. Tento pokles nelze přisuzovat mechanickému působení postřiku na škůdce, neboť jedinci, kteří během postřiku nebo po postřiku z rostlin spadli nebo slezli, se na rostliny opět vrátili.

Prokazatelný vliv zde má extrakt z tymiánu. Tymiónová silice obsahuje dva významné monoterpenické fenoly thymol, karvakrol a monoterpeny γ -terpinen a p-cymen, jejichž vysoká biologická aktivita je doložena mnoha výzkumy (Gao, 1998; Hudaib and Aburjai, 2007; Pavela, 2009). Byly prokázány účinky insekticidní (Isman, 2001; Pavela, 2009b, 2011), repelentní (Pavela, 2009b, 2011), antimykotické (Gao, 1998; Omidbeygi, 2007) a antibakteriální (Nguefack et al., 2004; Cristani et al., 2007; Xu et al., 2008). Insekticidní aktivita byla prokázána jak kontaktním (Isman, 2001; Pavela, 2009b, 2011), tak fumigačním působením (Aslan, 2004).

V případě akutní mortality Varianty 2 sehrálo pravděpodobně hlavní úlohu kontaktní působení extraktu, neboť při aplikaci byla přímo zasažena těla škůdce. Insekticidní účinky kontaktního působení tymiónové silice byly dosud ověřeny několika výzkumy, zmiňme například prokázanou akutní toxicitu u blýskáčka řepkového (*Melighetes aeneus*) (Pavela, 2011), larvy komára *Culex quinquefasciatus* (Pavela, 2009b) a larvy *Spodoptera littura* (Isman et al., 2001). U zmíněných experimentů byl hmyz vystavován různým dávkám silice a mortalita byla sledována po 24 hodinách. Tato doba byla rozhodující i u Varianty 2, kde došlo k zásadnímu úhynu během 24 hodin od aplikace extraktu, a to z 20 na 2,4 jedince, což odpovídá 88% mortalitě. Je možné, že se k akutnímu toxickému účinku přičetl i efekt repelentní, kdy účinné látky na škůdce působily z povrchu rostlin nebo po vstřebání z rostliny samé (ať už látky vstřebané nebo sekundární metabolity syntetizované v rostlině po aplikaci extraktu).

Spíše repelentní účinek (na rozdíl od evidentně insekticidního ve Variantě 2) měl extrakt u Varianty 1, kde byl extrakt aplikován již jeden den před introdukcí škůdce. V této variantě populace během prvních třech dní klesla z 20 jedinců 0. dne na průměrných 13,3 jedinců 2.dne. Tento pokles byl vyhodnocen jako statisticky významně rozdílný od Kontroly, kde se 2. dne nacházelo v průměru 16,1 jedinců. Prokázal se zde tudíž vliv extraktu na pokles populace. Varianta 1 se od Kontroly lišila i průměrnou rychlostí vymírání introdukované parentální generace během devíti dnů trvání experimentu. Zatímco u Varianty 1 byla rychlost vymírání 1,76 jedince za den, u Kontroly pouze 1,08 za den. Aplikace extraktu u Varianty 1 nezpůsobila tedy pouze počáteční pokles početnosti parentální generace, ale ovlivnila i rychlost jejího vymírání v následujících dnech až do ukončení pokusu.

Jak bylo již předesláno, v případě Varianty 1 způsobily pokles populace pravděpodobně repelentní účinky tymiónové silice, které jsou dnes také ověřeny mnoha experimenty. Hori (1998) došel ve svém pokusu s repelentními účinky rozmarýnové silice na mšici broskvoňovou (*Myzus persicae* Sulzer, 1776) k závěru, že mšice si vybírají hostitelské

rostliny na základě detekce těkavých látek, které se z rostliny uvolňují. Repeletní účinky tymiánové silice byly zjištěny např. u blýskáčka řepkového (*Meligethes aeneus* Fabricius, 1775) (Pavela, 2011).

Otázkou je, proč tyto terpeny mšice odpuzují. Nabízí se zde domněnka, že mšice vnímá v souvislosti s touto látkou ohrožení života, a proto odmítá sít na rostlinách extraktem ošetřených. Je možné, že v tomto chování mšice hraje roli vysoká antibakteriální aktivita výše vyjmenovaných terpenů. Tyto látky lyzují cytoplazmatickou membránu bakterií, vnikají do bakteriální buňky, ovlivňují její metabolismus a následně způsobují buněčnou smrt (Nguefack et al., 2004; Cristani et al., 2007; Xu et al., 2008). V rámci čtení genomu kyjatky hrachové, které bylo dokončeno v roce 2010, byl objeven životně důležitý symbiotický vztah této mšice s bakterií *Buchnera aphidicola*, na niž je mšice závislá jak z hlediska výživy, tak z hlediska reprodukce (Shigenobu et al., 2000; Petr, J., 2010). Proto nepovažujeme souvislost mezi antibakteriální aktivitou tymiánové silice a jejím repeletním (i insekticidním) účinkem za zcela bezpředmětnou.

Také není možno zcela vyloučit možnost syntézy obranných látek v rostlinách hrachu, kterou by tymiánová silice podnítila po vstřebání do pletiv. Účinnými látkami tymiánové silice jsou převážně fenoly, které mívají v rostlinách zpravidla systémový účinek (Hayat et Ahmad, 2007).

Důležitým závěrem tedy je, že extrakt z tymiánu obecného způsobil jak vysokou akutní mortalitu (Varianta 2), tak měl vliv na snížení populační hustoty v dlouhodobějším časovém měřítku (Varianta 1). Dostatečný účinek měla ale pouze aplikace u Varianty 2 (po introdukci škůdce), kde došlo k tak velkému úbytku parentální generace, že se škůdce do 8.dne, kdy byl pokus ukončen, namnožil pouze na polovinu původního počtu.

Druhým sledovaným aspektem účinnosti extraktu z tymiánu byl vliv na samotnou plodnost kyjatky hrachové, vyjádřenou počtem jedinců filiální generace na 1 samici parentální generace. Průměrný počet nymf na 1 samici byl v den ukončení experimentu 9,3 nymf F1 generace na 1 samici P1 generace. ANOVA neprokázala významný rozdíl v plodnosti mezi Variantou 1, 2 a Kontrolou, čímž jsme došli k závěru, že aplikace extraktu č. 3 z tymiánu obecného pravděpodobně neměla vliv na plodnost. Toto tvrzení ovšem nemůžeme pokládat za obecně platné, vztahuje se pouze k námi použitému extraktu, jeho způsobu aplikace, rozsahu a délce experimentu. Není vyloučené, že vyšší počet opakování a jiným způsobem získaný a aplikovaný extrakt by dospěly k jinému výsledku. Existují výzkumy, které prokazují účinnost esenciálního oleje z tymiánu na plodnost mšic (Görür et al., 2008).

V případě experimentu 2.4.3. je ale závěr takový, že rozdíl v nárůstu populace byl dán pravděpodobně počtem samic, které se dožily plodného věku. A tento počet samic parentální generace byl proměnnou, kterou aplikace extraktu ovlivnila v obou variantách pokusu, ale pouze v případě Varianty 2 s postřikem až po introdukci škůdce ji ovlivnila významným způsobem.

Extrakt č. 3 z tymiánu obecného by mohl nalézt uplatnění v ochraně rostlin jako prostředek k potlačení populace kyjatky hrachové po její detekci na rostlinách. Současně má tento extrakt i jistý stimulační vliv na růst rostlin, k prokázání účinnosti by ale bylo třeba realizovat další experimenty ve více opakováních a na více druzích hospodářských plodin, neboť jak se ukázalo v pokusu 4.2.1 Účinnosti extraktů na růst rostlin, rostlinné extrakty nemají stejný účinek na všechny rostlinné druhy.

7 Závěr

Práce prokázala účinnost extraktu z kopřivy dvoudomé a vrby bílé (1 : 1) a extraktu z kopřivy dvoudomé a břízy bělokoré (1 : 1) na růst rostlin.

U extraktu z kopřivy a vrby byly zjištěny jak inhibiční, tak stimulační účinky.

Inhibiční účinky se prokázaly u okurek, kde sušina ošetřovaných rostlin poklesla o 27,6 % ve vztahu ke kontrole.

Významné stimulační účinky byly zjištěny u ovsa, kde se sušina ošetřovaných rostlin navýšila o 59,7 % ve vztahu ke kontrole.

Extrakt z kopřivy a břízy vykázal rovněž vysoké stimulační účinky na růst ovsa. Sušina se navýšila o 62,4 % ve vztahu ke kontrole.

Dále práce zjistila vliv extraktu z tymiánu obecného na početnost populace kyjatky hrachové (*Acyrtosiphon pisum*) na rostlinách hrachu setého. Při aplikaci jeden den po introdukci škůdce na rostliny extrakt způsobil 88% mortalitu do 24 hodin od aplikace, v jejímž důsledku byl značně omezen další možný nárůst populace.

Vliv extraktu na plodnost *Acyrtosiphon pisum* nebyl prokázán.

Z experimentu nebylo možno zjistit vliv extraktu na syntézu obranných látek u ošetřovaných rostlin, jak bylo původním záměrem práce.

Pro uplatnitelnost studovaných extraktů v ochraně rostlin by bylo třeba experimenty zopakovat na širší škále hospodářských rostlin, protože jak bylo zjištěno v této práci, vykazují extrakty naprosto odlišné účinky v závislosti na rostlinném druhu. Následovala by standardizace obsahu látek účinných koncentrací.

Experiment vlivu extraktu z tymiánu obecného na plodnost kyjatky hrachové by také vyžadoval vyšší počet opakování v laboratorních i v polních podmínkách.

8 Bibliografie

Anděl, J. 1978. Matematická statistika. SNTL. Praha. 346 s.

Atanasova, M., Ribarova, F. 2009. Phénols et flavonoïdes totaux dans les extraits secs des feuilles des bouleaux argentés bulgares (*Betula pendula*). Revue de Génie Industriel. 4. 21 - 25.

Bruneton, J. 1999. Pharmacognosy. Lavoisier. Paris. 1119 p. ISBN: 1898298637.

Feng, R., Isman, M. B. 1995. Selection for resistance to azadirachtin in the green peach aphid, *Myzus persicae*. Cellular and Molecular Life Sciences. 51 (8). 831 - 833.

Fiedler, A. K., Landis, D. A., Wratten S. D. 2008. Maximizing ecosystem services from conservation biological control: The role of habitat management. Biological control. 45. 254 – 271.

Gao, X. 1998. Selection of plant material based on variation of secondary metabolites. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala. 52 p. ISBN: 14016249.

García-García, R., López-Malo, A., Palou, E. 2011. Bactericidal Action of Binary and Ternary Mixtures of Carvacrol, Thymol, and Eugenol against *Listeria innocua*. Journal of Food Science. 76 (2). 95-100.

Gordh, G., Headrick, D. eds. 2001. A Dictionary of Entomology. CABI Publishing. New York. 1032 p. ISBN: 0851992919.

Görür, G., Abdullah, M. I., Işık, M. 2008. Insecticidal activity of the *Thymus*, *Veronica* and *Agrimonia*'s essential oils against the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae*. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica. 43 (1). 201 – 208.

Gramza-Michalowska, A., Sidor, A., Hes, M. 2011. Herb Extract Influence on the Oxidative Stability of Selected Lipids. Journal of Food Biochemistry. 35 (6). 1723-1736.

Handa, S., Khanuja, S., Longo, G., Rakesh, D. eds. 2008. Extraction technologies for aromatic and medicinal plants [online]. International center for science and high technology. Trieste. [cit. 2012-03-03]. Dostupné z www.unido.org .

- Hayat, S., Ahmad, A. eds. 2007. Salicylic Acid: A Plant Hormone. Springer. Dordrecht. 401 p. ISBN: 1402051832.
- Hnízdil, M. 2011. Co přinese „udržitelné používání pesticidů“ českým zemědělcům? Agromanuál. 6 (1). 22-23.
- Hori, M. 1998. Repellency of rosemary oil against *Myzus persicae* in a laboratory and in a screenhouse. Journal Of Chemical Ecology. 24 (9).1425 – 1432.
- Hudaib, M., Aburjai, T. 2007. Volatile components of *Thymus vulgaris* L. from wild-growing and cultivated plants in Jordan. Flavour and Fragrance Journal. 22(1). 322 - 327.
- Cheers, G. (ed.). 2007. Botanika. Slovart. Praha.1020 s. ISBN: 9783833150180.
- Isman, M. B. 2006. Botanical Insecticides, Deterrents, and Repellents in Modern Agriculture and an Increasingly Regulated World. Annual Review of Entomology. 51. 45-66.
- Jahodář, L. 2006. Farmakobotanika - semenné rostliny. Nakladatelství Karolinum. Praha. 258 s. ISBN: 8024612259.
- Kabíček, J., Kazda, J. 1997. Ochrana rostlin proti živočišným škůdcům. Institut výchovy a vzdělávání Mze ČR. Praha. 47 s. ISBN: 807105125X.
- Kazda, J. 2009. Mšice-hojní škůdci na zahrádce. Zahrádkář. 41 (6). 40-41.
- Kazda, J., Prokinová, E., Ryšánek, P. 2007. Škůdci a choroby rostlin - Domácí rostlinolékař. Knižní Klub. Praha. 288 s. ISBN: 9788024218861.
- Kefeli, V.I., Kalevitch, M.V. 2003. Natural Growth Inhibitors and Phytohormones in Plants and Environment. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. 323 p. ISBN: 1402010699.
- Kocourek, F. 2000. Vzájemné vztahy mezi rostlinami a škůdci – Jak se rostliny hmyzu brání a co je rezistence. Agro. 5 (8). 23-27.
- Kolenčík, P. 2011. Vyrovnaný počáteční vývoj = základ profitability. Agromanuál. 6 (2). 59.
- Krüssmann, G. 1978. Evropské dřeviny. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 187 s.
- Mazid, M., Khan, T., Mohammad, F. 2011. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. Biology and Medicine. 3 (2). 232 – 249.

- Nguefack, J., Budde, B.B., Jakobsen, M. 2004. Five essential oils from aromatic plants of Cameroon: their antibacterial activity and ability to permeabilize the cytoplasmic membrane of *Listeria innocua* examined by flow cytometry. *Letters in Applied Microbiology*. 39. 395–400.
- Novák, J., Skalický, M. 2009. *Botanika*. Powerprint. Praha. 336 s. ISBN: 9788090401150.
- Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z., Naghdibadi, H. 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control*. 18 (12). 1518-1523.
- Pavela, R. 2006. *Rostlinné insekticidy – Hubíme hmyz bez chemie*. Grada. Praha. 80 s. ISBN: 8024710196.
- Pavela, R. 2009a. The plants Used in Folk Medicine in Czech Republic. *Recent Progress in Medicinal Plants*. 25. 292-345.
- Pavela, R. 2009b. Larvicidal property of essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say (*Diptera: Culicidae*). *Industrial Crops and Products*. 30. 311-315.
- Pavela, R. 2011. Insecticidal and repellent activity of selected essential oils against of the pollen beetle, *Meligethes aeneus* (Fabricius) adults. *Industrial Crops and Products*. 34. 888 – 892.
- Petr, J. Přečtená kyjatka hrachová. ČR Leonardo, rubrika Příroda. [on line]. 2.3.2010 [cit. 2012–03-30]. Dostupné z <http://www.rozhlas.cz/leonardo/priroda/zprava/701817>.
- Procházka, S., Macháčková, I., Krekule, J., Šebánek, J. eds. 1998. *Fyziologie rostlin*. Praha. Academia. 484 s. ISBN: 8020005862.
- Samsonová, P. ed. 2008. *Přípravky na ochranu rostlin registrované v ČR, které je možné použít v ekologickém zemědělství, II. aktualizované vydání*. Bioinstitut. Olomouc. ISBN: 9788087080139.
- Sandström, J. 1995. Host adaptation in the pea aphid - temporal changes and nutrition. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala. 51 p. ISBN: 9157649243.

- Shigenobu, S., Watanabe, H., Hattori, M., Sakaki, Y., Ishikawa, H. 2000. Genome sequence of the endocellular bacterial symbiont of aphids *Buchnera* sp. APS. Nature. 407. 81 – 86.
- Small, E. 2006. Velká kniha koření, bylin a aromatických rostlin. Volvox Globator. Praha. 1021 s. ISBN: 8072074628.
- SRS. 2012. Registr přípravků na ochranu rostlin. [online][cit.13. 3. 2012], dostupné z: <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx>
- Šarapatka, B., Urban, J. 2006. Ekologické zemědělství v praxi. PRO-BIO. Šumperk. 502 s. ISBN: 9788090358300.
- Věchet, L. a kol. 2010. Biologická ochrana a indukovaná rezistence rostlin k chorobám a škůdcům. VÚRV. Praha. 35 s. ISBN: 9788074270482.
- Viuda-Martos, M., Ruiz Navajas, Y., Sánchez Zapata, E., Fernández-López, J., Pérez-Alvarez, J.A. 2009. Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. Flavour and Fragrance Journal. 25(1). 13-19.
- Xu, J., Zhou, F., Ji, B.-P., Pei, R.-S., Xu, N. 2008. The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. Letters in Applied Microbiology. 47(3). 174-179.
- Zídek, T. 1992. Nechemická ochrana rostlin. Zemědělské nakladatelství Brázda. Praha. 112 s. ISBN: 8020902376.

9 Přílohy

9.1 Obrazová dokumentace experimentu



Obr. 3: Rostliny ovsa setého (*Avena sativa* L.) ve fázi BBCH 10 při 1. aplikaci extraktu v pokusu 4.2.2. Autor: Anna Šrámková.



Obr.4: Rostliny hrachu setého (*Pisum sativum* L.) ve fázi BBCH 10 při 1. aplikaci extraktu v pokusu 4.2.2. Autor: Anna Šrámková.



Obr. 5: Nasazování čerstvých nymf kyjaty hrachové (*Acyrtosiphon pisum*) na rostliny hrachu (*Pisum sativum* L.) ve fázi růstu BBCH 11 v pokusu 4.2.3. Autor: Irena Kubečková.

9.2 Seznam tabulek a grafů

Tabulka 1. Účinnost extraktů na růst rostlin.

Tabulka 2. Statistická významnost p rozdílu průměrů sušin mezi variantami každého modelového rostlinného druhu (ANOVA).

Tabulka 3. Účinnost extraktů na růst. Okurky.
Statistická významnost rozdílu hmotnosti sušiny mezi variantou a kontrolou.

Tabulka 4. Účinnost extraktů na růst. Oves.
Statistická významnost rozdílu hmotnosti sušiny mezi variantou a kontrolou.

Tabulka 5. Test účinnosti koncentrací.
Průměrné hmotnosti sušiny variant a směrodatné odchylky.

Tabulka 6. Statistická významnost p vlivu koncentrace extraktu č.1 na hmotnost sušiny.

Tabulka 7. Test účinnosti koncentrací.
Průměrné hmotnosti sušiny variant a směrodatné odchylky.

Tabulka 8. Statistická významnost p vlivu koncentrace extraktu č.3 na hmotnost sušiny.

Tabulka 9. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjatky hrachové (*Acyrtosiphon pisum*).
Průměrný počet jedinců parentální a filiální generace a směrodatná odchylka.

Tabulka 10. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjatky hrachové (*Acyrtosiphon pisum*).
Průběh vymírání P1 generace u Varianty 1 a Kontroly.

Tabulka 11. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjatky hrachové.
Průměrný počet jedinců F1 a P1 generace a plodnost daná podílem počtu jedinců F1 a P1 generace.

Tabulka 12. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjatky hrachové (*Acyrtosiphon pisum*).
Výsledek analýzy rozptylu vlivu varianty na plodnost Q 5. a 8. den experimentu.

Graf 1. Účinnost extraktů na růst. Okurky.

Průměrné hmotnosti sušiny a interval $\pm 1,96$ SE průměru.

Graf 2. Účinnost extraktů na růst. Oves.

Průměrné hmotnosti sušiny a interval $\pm 1,96$ SE průměru.

Graf 3. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjatky hrachové (*Acyrtosiphon pisum*).

Průměrný celkový počet všech jedinců (P1+F1) a interval $\pm 1,96$ SE průměru.

Graf 4. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjatky hrachové (*Acyrtosiphon pisum*).

Průměrný počet jedinců P1 generace a interval $\pm 1,96$ SE průměru.

Graf 5. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjatky hrachové (*Acyrtosiphon pisum*).

Průměrný počet jedinců F1 generace a interval $\pm 1,96$ SE průměru.

Graf 6. Vliv extraktu č. 3 na plodnost kyjatky hrachové.

Plodnost Q a interval $\pm 1,96$ SE průměru.

9.3 Seznam obrazových příloh

Obr.1: Kyjatka hrachová na listu hrachu. Pokus 4.2.3. Autor: Jiří Eckstein.

Obr. 2: Samička kyjatky hrachové rodící nymfu. Pokus 4.2.3. Autor: Jiří Eckstein.

Obr. 3: Rostliny ovsa setého (*Avena sativa* L.) ve fázi BBCH 10 při 1. aplikaci extraktu v pokusu 4.2.2. Autor: Anna Šrámková.

Obr.4: Rostliny hrachu setého (*Pisum sativum* L.) ve fázi BBCH 10 při 1. aplikaci extraktu v pokusu 4.2.2. Autor: Anna Šrámková.

Obr. 5: Nasazování čerstvých nymf kyjatky hrachové (*Acyrtosiphon pisum*) na rostliny hrachu (*Pisum sativum* L.) ve fázi růstu BBCH 11 v pokusu 4.2.3. Autor: Irena Kubečková.