

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



**Možnosti elicítace terpenických látek z vybraných druhů
aromatických rostlin**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Michaela Broženská

Obor studia: Rostlinolékařství

Vedoucí práce: Ing. Jan Kazda, CSc.

Konzultant: Ing. Roman Pavela, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Možnosti elicitace terpenických látek z vybraných druhů aromatických rostlin" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 12.4.2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala mému vedoucímu práce Ing. Janu Kazdovi, CSc za profesionální vedení práce a cenné rady. Největší poděkování patří odbornému konzultantovi této práce Ing. Romanu Pavelovi, Ph.D. za odborný přístup, nenahraditelné zkušenosti a trpělivost při psaní práce. Vždy mi správně poradil a věnoval mi svůj čas. V neposlední řadě děkuji technickým pracovnícům Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Praze Ruzyni Ireně Kubečkové a Lence Slámové za sběr, postřik a péči o aromatické rostliny, a Soně Mandíkové a Ivetě Slaninové za pomoc při biologických testech a péči o testovaný hmyz. Tato práce vznikla díky řešení projektu podporovaného Ministerstvem zemědělství ČR, projekt č. QJ1510160.

Možnosti elicítace terpenických látek z vybraných druhů aromatických rostlin

Souhrn

Terpenické látky jsou hlavní složkou esenciálních olejů, které se získávají z aromatických rostlin. Terpeny se dělí do sedmi skupin, z čehož pouze monoterpeny, seskviterpeny a diterpeny se objevují v esenciálních olejích. Pro tuto práci byly vybrány aromatické rostliny *Thymus vulgaris* L., *Foeniculum vulgare* Mill. a *Mentha spicata* L., které pochází ze Středozeří a běžně se využívají v lékařství, potravinářství a kosmetice. Jejich využití v zemědělství je zatím minoritní, nicméně v poslední době je na vzestupu.

Jedním z cílů diplomové práce bylo zjistit účinnost elicitačního přípravku, smíchaného z přijatelných živin a kyseliny salicylové, na kvantitativní a kvalitativní obsah esenciálních olejů. Elicitační přípravek byl aplikován postřikem v počátku kvetení (BBCH 61) na aromatické rostliny *T. vulgaris*, *F. vulgare* a *M. spicata*. U *T. vulgaris* se zvýšila výtěžnost o 34,14 % v porovnání s kontrolou při druhém odběru, u *F. vulgare* o 26,13 % v porovnání s kontrolou ve třetím odběru a u *M. spicata* o 25,91 % v porovnání s kontrolou při pátém odběru. Na základě těchto výsledků byly stanoveny optimální termíny pro aplikaci elicitačního přípravku. V kvalitativním obsahu byl statisticky velmi významný rozdíl u 4-cymenu, který v elicítované variantě vzrostl o 4,27 % od kontroly u *T. vulgaris*. Rozdíl byl zaznamenán i u thymolu v *T. vulgaris* a α -pinenu u *F. vulgare*. Oba komponenty poklesly v elicítované variantě v porovnání s kontrolou.

Kvantitativní a kvalitativní změny v obsahu esenciálních olejů neměli vliv na insekticidní účinnost. Akutní toxicita byla dosažena u larev *Spodoptera littoralis* a *Culex quinquefasciatus* i *Musca domestica*. Nejnižší odhady hodnot LD₅₀ (LC₅₀) a LD₉₀ (LC₉₀) byly zaznamenány u aplikace esenciálního oleje získaného z *T. vulgaris*.

Všechny cíle stanoveny na začátku experimentu byly splněny a hypotéza, že elicitační přípravky aplikované na aromatické rostliny mají vliv na zvýšení obsahu silic s insekticidní účinností se potvrdila. Na základě této práce je možné vytvořit metodiku pro pěstování aromatických rostlin s vysokým obsahem esenciálních olejů a aplikovat elicitační přípravek do běžné pěstitelské praxe.

Klíčová slova: elicítace, botanické insekticidy, esenciální oleje, insekticidní účinnost, aromatické rostliny

Possibilities of terpene compounds elicitation in selected species of aromatic plants

Summary

Terpenes are main constituent of essential oils, which are gained from aromatic plants. Terpenes are sorted to seven groups but only monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes we can find in essential oils. *Thymus vulgaris* L., *Foeniculum vulgare* Mill and *Mentha spicata* L. only were chosen for this dissertation. These plants come from The Mediterranean and are commonly used in medicine, food processing and cosmetics. Their application in agriculture is minority yet but is on the increase recently.

One of a target of the dissertation was find efficacy of elicitor, mixed from NPK manure and salicylic acid, on quantitative and qualitative essential oils content. Elicitor was applied by spraying on aromatic plants *T. vulgaris*, *F. vulgare* and *M. spicata* at the beginning of blooming (BBCH 61). Yield increase by 34,14 % in *T. vulgaris* case comparison with check on the second collecting, by 26,13 % in *F. vulgare* case comparison with check on the third collecting and by 25,91 % in *M. spicata* comparison with check on the fifth collecting. Optimal periods for application of elicitor were set base on these results. Difference at 4-cymene, which rise by 4,27 % in elicitate variante from last check in *T. vulgaris*, was statistically very significant. The difference was found in Thymol at *T. vulgaris* and in α -Pinen at *F. vulgare*. Both components decreased in elicitate variant comparison to check.

Quantitative and qualitative changes in content of essential oils weren't influence on insecticide efficiency. Acute toxicity was achieved in nymphs of *Spondoptera littoralis* and *Culex quinquefasciatus* and *Musca domestica*. The lowest values estimates LD₅₀ (LC₅₀) and LD₉₀ (LC₉₀) were registered in application of essential oils gained from *T. vulgaris*.

All targets set in beginning of experiment were achieved and hypothesis, that elicitors applied on aromatic plant have influence on decrease content of oils with insecticidal efficiency was proved. We can make methodology for growing of aromatic plant with high essential oils content base on this dissertation and apply elicitor to common growing practice.

Keywords: elicitation, botanical insecticide, essential oils, insecticidal activity, aromatic plants.

Obsah

1. Úvod	8
2. Cíl práce	9
3. Esenciální oleje.....	10
3.1. Terpeny.....	10
3.1.1. Biosyntéza terpenů	12
3.1.2. Hemiterpeny	12
3.1.3. Monoterpeny	13
3.1.4. Seskviterpeny	15
3.1.5. Diterpeny	16
3.2. Kvantitativní a kvalitativní obsah terpenických látek v aromatických rostlinách	17
3.2.1. Vnitřní faktory	17
3.2.2. Vnější faktory	18
3.2.3. Sklizňová a posklizňová úprava.....	19
3.3. Získávání esenciálních olejů z aromatických rostlin.....	20
3.4. Využití esenciálních olejů.....	21
3.5. Zemědělské využití esenciálních olejů	22
4. Aromatické rostliny	25
4.1. <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	26
4.1.1. Popis	27
4.1.2. Pěstování.....	28
4.1.3. Využití.....	29
4.2. <i>Mentha spicata</i> L.....	31
4.2.1. Popis	32
4.2.2. Pěstování.....	33
4.2.3. Využití.....	34
4.3. <i>Thymus vulgaris</i> L.....	35
4.3.1. Popis	35
4.3.2. Pěstování.....	36
4.3.3. Využití.....	37
5. Materiál a metody.....	40
5.1. Založení experimentu	40
5.2. Aplikace elicitálních přípravků na testované aromatické rostliny	41
5.3. Odběr a příprava vzorků	41
5.4. Kvantitativní analýza esenciálních olejů	41
5.5. Kvalitativní analýza EO	42

5.6. Biologické testy	42
5.6.1. Hmyz	42
5.6.2. Akutní toxicita	44
5.7. Statistická analýza.....	44
6. Výsledky	45
6.1. Kvantitativní analýza	45
6.2. Kvalitativní analýza	49
6.3. Insekticidní účinnost esenciálních olejů	52
7. Diskuse	54
8. Závěr	58
9. Seznam literatury.....	59
10. Seznam použitých zkratk.....	76
11. Přílohy	77

3

1. Úvod

Terpenické látky doprovázejí člověka téměř každý den. Přivonět si ke květině, okořenit stravu nebo použít kosmetické výrobky je přirozené. Ne každý si uvědomuje nespočet účinků, které terpenické látky mají. Tvoří výraznou součást esenciálních olejů, které se vyskytují v aromatických rostlinách.

Aromatické rostliny a bylinky obecně zažívají u drobných pěstitelů renesanci. Lidé si začínají uvědomovat, že je lepší spolehnout se na metody prověřené staletími než na umělé látky používané necelé století. Často jsou aromatické rostliny pěstovány v bytě na kuchyňských oknech, na balkóně, ale jsou budovány i venkovní bylinkové zahrádky. v médiích se stále častěji vyskytují pořady a články o těchto rostlinách a povědomí o nich stále roste.

Možnosti využití aromatických rostlin je nepřeberné. Využívají se v gastronomii, kosmetice, v lidovém léčitelství i moderním lékařství a v zemědělství. Je s nimi spojeno několik věd ať už mladých, tak historicky významných. Z těch novějších lze jmenovat například gemmoterapii nebo ethnobotaniku.

Ve středověku se dědila z generace na generaci služba „rozsévačky bylin“ u královského dvora spojena s aromatickými rostlinami. Cílem této služby u dvora bylo v průvodu anglických monarchů rozhazovat sušené byliny. Už v té době se předpokládala jejich biologická aktivita proti infekcím a hmyzu.

V současné době jsou tyto účinky ve výzkumu. Předpoklad, že mají terpenické látky účinek proti chorobám a škůdcům měl však základ ve fyziologii rostlin. Tyto sekundární metabolity rostlina aktivně využívá ke své obraně. Proto se vědci snaží tyto látky získat a zkoušet strategii aromatických rostlin na zemědělských komoditách. V některých případech se prokázalo působení směsi terpenických látek účinnější než samostatné terpeny, proto se zkoumají i esenciální oleje. Nejhodnotnější předností esenciálních olejů v ochraně rostlin je jejich ekologická nezávadnost. Vždyť se jedná o látky, které se v přírodě běžně vyskytují.

Většina aromatických rostlin má svou domovinu ve Středomoří. V našich podmínkách tedy nedosahují takové kvality jako ve své domovině a výtěžnost esenciálních olejů je nižší nebo se musí zvyšovat agronomickými zásahy. Tím se však zhoršuje ekonomika pěstování a technologická náročnost, ale výkupní ceny jsou většinou nízké. V České republice má pěstování bylinek dlouholetou tradici, nicméně v současnosti je tato komodita spíše minoritní a druhově omezená. Často se pěstují v systému ekologického pěstování. Import bylin z ostatních zemí stále převyšuje export.

2. Cíl práce

Cílem této práce bylo zjistit účinnost vybraného elicitálního přípravku na kvantitativní a kvalitativní změny v obsahu esenciálních olejů pro vybrané plodiny aromatické rostliny *Foeniculum vulgare*, *Mentha spicata* a *Thymus vulgaris*. Zároveň byl zjištěn vliv elicitace na změny v insekticidní účinnosti esenciálních olejů získaných z rostlin s významně pozměněným kvantitativním obsahem esenciálních olejů. Na základě výsledků byla, v rámci pěstební technologie vybraných aromatických rostlin, navržena optimální doba aplikace elicitálního přípravku pro jednotlivé druhy aromatických rostlin tak, aby bylo možné získat nejvyšší výnos esenciálních olejů, jakožto účinných látek potenciálních botanických pesticidů.

3. Esenciální oleje

Esenciální oleje jsou přírodní, těkavé, často bezbarvé látky, které se rozpouští v organických rozpouštědlech. Jejich hustota je zpravidla nižší než hustota vody. Vyskytují se v rostlinách jako sekundární metabolity a vyznačují se především nezaměnitelnou a intenzivní vůní (Bakkali et al., 2008).

Rostliny je syntetizují a ukládají do různých sekundárních struktur, například glandulárních trichomů, sekrečních a epidermálních buněk a pryskyřičných kanálků (Pavela and Benelli, 2016). Skládají se z 20-60 organických komponentů, převážně z monoterpenů, seskviterpenů a aromatických sloučenin typu fenolů, alkoholů a aldehydů (Bakkali et al., 2008). Vždy jedna až tři látky jsou zastoupeny majoritně a podle nich se esenciální olej charakterizuje (Pavela, 2016).

3.1. Terpeny

Terpeny tvoří velmi obsáhlou a pestrou skupinu přírodních látek. Tyto látky jsou odvozeny od molekuly 2-methyl-1,3-butadienu, triviálním názvem isopren, od kterého získaly pojmenování isoprenoidy, mezi něž se terpeny řadí spolu se steroidy. Čisté terpeny se skládají z uhlíku a vodíku. Pokud se ve sloučenině navíc objevuje kyslík, mění se jejich pojmenování na terpenoidy. Terpenoidy zahrnují alkoholy, aldehydy, estery, fenoly, ketony, oxidy, peroxidy a další organické sloučeniny (Spilková et al., 2016).

V přírodě se objevuje více než 25 000 terpenů, jen zlomek z nich je prozkoumán z chemického a funkčního hlediska (Gershenzon and Dudareva, 2007). Rozdělují se do sedmi skupin, podle počtu izoprenových jednotek. Nejjednodušší jsou hemiterpeny s jednou izoprenovou jednotkou, a tedy pěti uhlíky. Následují monoterpeny s deseti uhlíky, seskviterpeny s patnácti uhlíky, diterpeny s dvaceti uhlíky, triterpeny s třiceti uhlíky, tetraterpeny s čtyřiceti uhlíky a polyterpeny s velkým počtem uhlíků.

Esenciální oleje obsahují monoterpeny, seskviterpeny a v minimálním množství diterpeny (Pavela, 2011). Tyto skupiny budou podrobně probrány v dalších podkapitolách. Triterpeny, tetraterpeny a polyterpeny jsou na esenciální oleje příliš složité. Monoterpeny a seskviterpeny se objevují hlavně v pletivech rostlin a zřídka v živočišných tkáních. Zbytek je možné nalézt v živočišných tkáních ve větším množství (Musilová et al., 2012).

Triterpeny, stejně jako diterpeny jsou netěkavé látky. Jejich částečným odbouráním se tvoří steroidy, zejména cholesterol (Pavela, 2011). Velmi důležitým triterpenem je skvalen, prekurzor velkého množství terpenů. Vyskytuje se v dýňových semenech, v olivovém oleji

a v oleji ze žraločích jater (Ryan et al., 2007). Zahrnují také saponiny, které jsou obsaženy v rostlinách čeledi *Scrophulariaceae*, *Liliaceae*, *Ranunculaceae* a dalších (Jahodář et al., 2004). Jejich hlavní vlastností je schopnost tvořit mýdlové materiály (Szakiel et al., 2005). Mezi triterpenoidy se dále řadí kyselina ursolová, která je vedena jako rostlinný jed, ale pro lidský organismus má prospěšné účinky. Bylo prokázáno, že dokáže inhibovat růst nádorů, ale ve vyšších dávkách může růst buněk podněcovat. Stejně účinky má i izomer této kyseliny kyselina oleanolová. V Číně se obě kyseliny používají k léčbě jaterních onemocnění. Také byly dokázány jejich protizánětlivé účinky (Liu, 1995). Ursolová kyselina byla izolována například z *Glechoma hederacea* a *Rosmarinus officinalis* (Dzubak et al., 2006). Kyselina oleanová se vyskytuje ve více než 1620 druzích rostlin (Fukushima et al., 2011, Liu et al., 1995). Čistá se nachází v listech *Olea europaea*, ale v různých formách je i v dalších rostlinách, dokonce i aromatických (Szakiel et al., 2005).

Některé triterpenoidy se dají použít pro ochranu rostlin, ať už preventivně, tak kurativně. Velkou biologickou aktivitu v tomto směru vykazuje skupina limonoidů zahrnující 300 členů. Nejvíce limonoidů je v rostlinách *Azadirachta indica*, *Melia azedarach*, *Khaya sp.*, *Cedrela sp.*, *Sandoricum koejape* a *Trichilia sp.* (Roy and Saraf, 2006). Účinky limonoidů spočívají v negativním působení na patogeny. Omezují růst hmyzu, působí na svlékací hormon ekdyson, odpuzují hmyz, mají larvicidní účinky a antifeedantní účinky (Braga et al., 2005, Schaaf et al., 2000, Roy and Saraf, 2006, Ruscoe, 1972).

Nejdůležitějšími tetraterpeny jsou karotenoidy, které se dělí na karoteny a deriváty karotenů – xanthofyly. Patří mezi polyefinové metabolity, které jsou odvozené od kyseliny mevalonové. Téměř všechny karotenoidy mají acyklickou strukturu nebo jsou zakončeny cyklem se šesti uhlíky. Karotenoidy jsou součástí rostlin, bakterií, hub a některých živočichů. Zapojují se do základních procesů organismů. U rostlin jednoznačně do fotosyntézy a u živočichů do schopnosti vidět. Na rozdíl od rostlin nejsou živočichové schopni karotenoidy syntetizovat. V listech rostlin je vždy možné identifikovat tyto karotenoidy: β -karoten, lutein, violaxanthin a neoxanthin (Seigler, 1998). Některé se však objevují i v plodech, jako například lykopen charakteristický pro zralá rajčata. Dodává jim červenou barvu (Dewick, 2001).

Polyterpeny, nejsložitější nenasycené terpeny, vznikají polymerizací izoprenu. Největší význam mají technický, jelikož se mezi ně řadí kaučuk a gutaperča. Polyterpeny se vyskytují v tisících druzích rostlin, ale pouze v některých se dají technicky využít. Tvoří se v mléčnicích, z čehož vyplývá, že jsou součástí rostlin čeledi *Euphorbiaceae*, *Asteraceae*, *Asclepiadaceae* a dalších (Nováček, 2008).

3.1.1. Biosyntéza terpenů

Biosyntéza terpenů (stejně jako všech sekundárních metabolitů) je úzce spojena s primárními metabolity a jde při ní o velmi složité reakce. Profesor Breithmaier (2006) popisuje syntézu terpenů v několika krocích. Celý děj začíná reakcí acetyl-Co a a acetoacetyl-Co A, při které vznikne β -hydroxy- β -methylglutaryl-CoA.

Dále dochází k enzymatické redukci za přítomnosti NADPH + H a vody. Touto redukcí je poskytována kyselina mevalonová, prekurzor isoprenů. Činností ATP se kyselina mevalonová přemění na difosfát kyseliny mevalonové. Ten následně dehydrogenuje a dekarboxyluje na IPP. Díky izomeráze a skupině SH vzniká i izomer isopentenylidifosfátu DMAPP. Tímto dějem vzniknou prekurzory seskviterpenů a triterpenů a nazývá se mevalonová cesta (Dvořáková et al., 2011). Dříve bylo známo, že probíhá v cytosolu buněk. V posledních letech se však uvažuje o tom, že tato cesta může probíhat i v endoplasmatickém retikulu a peroxisomu (Pulido et al., 2012, Simkin et al., 2011). Dříve byla považována mevalonová cesta za jedinou možnou cestu vzniku terpenových prekurzorů.

Prekurzory však mohou vzniknout i pyruvátovou cestou, někdy také nazývanou Rohmerova cesta. Tato cesta probíhá v plastidech a byla objevena v minulém století. Prekurzory isopentenylidifosfátu (IPP) jsou v tomto případě pyruvát a GAP (Rohmer et al., 1993). Isopentenylidifosfát neizomeruje, ale vzniká odděleně od dimethylallyldifosfátu. Takto vzniklými prekurzory se syntetizují monoterpeny, diterpeny a tetraterpeny (Dvořáková et al., 2011).

Sloučeniny IPP a DMAPP spolu reagují, konkrétně se elektrofilní allylická skupina CH_2 ze sloučeniny DMAPP spojí s nukleofilní methylenovou skupinou z isopentenylidifosfátu systémem „hlava – pata“ a vznikne geranylpyrofosfát. Z tohoto monoterpenu se odvozují další monoterpeny. Reakcí geranylpyrofosfátu s další jednotkou IPP vzniká farnesyldifosfát, z něhož se odvozují seskviterpeny a reakcí další jednotky s farnesyldifosfátem vznikne geranylgeranylidifosfát, prekurzor pro diterpeny (Breithmaier, 2006).

3.1.2. Hemiterpeny

Tyto nejjednodušší terpeny s jednou izoprenovou jednotkou se v přírodě vyskytují sporadicky (Briemann, 1999). Loomis a Croteau tuto skutečnost přisuzují dřívějším studiím, které jsou dnes již vyvrácené. Ve svém článku představují objevy některých hemiterpenů ve dřevě, kapradinách a jiných vyšších rostlinách (Loomis and Croteau, 1980). Je nutné podotknout, že v přírodě se vyskytující hemiterpeny nejsou čisté. Jediným biogenetickým

hemiterpenem je isopren, pro jehož vznik je zapotřebí světlo a fotosynteticky fixovaný oxid uhličitý.

Nejvýznamnějšími hemiterpeny jsou isopentenylidifosfát a dimethylallyldifosfát, jelikož díky nim vznikají další skupiny terpenů. Isopentenylidifosfát je považován za aktivní formu isoprenu.

Za zmínku stojí i kyselina isovalerová, což je velmi nepříjemně zapáchající hemiterpen. Tato kyselina se hojně vyskytuje jak v rostlinách, tak u živočichů. Isovalerová kyselina se strukturním názvem 3 - methylbutanová, představuje hlavní složku květů sukulentu *Senecio articulatus*. Její obsah se v květu rostlin mění v závislosti na denní době a stáří květu. Největší obsah nalezneme v květech čerstvě otevřených za denního světla (Kite a Smith, 1997). Co se týče živočichů, byla tato kyselina identifikována u bakterie *Staphylococcus epidermidis*, která se běžně vyskytuje v kožní mikroflóře člověka i zvířat. Tato bakterie bývá také spojována s vytvářením zápachu nohou, jelikož používá isovalerovou kyselinu k redukcí leucinu. Ten je běžně přítomný v lidském potu (Ara et al., 2006).

Většina isoprenových sloučenin je spojena s deriváty acetylkoenzymu A, které vznikají katabolismem leucinu a isoleucinu. Z těchto sloučenin lze jmenovat kyselinu tiglovou a její izomer kyselinu angelikovou. Angeliková kyselina se vyskytuje v rostlinách rodu *Angelica*. Mezi hemiterpeny lze zahrnout i aminokyselinu valin, rozvětvený monosacharid Apiosu, kyselinu furoovou a další (Loomis and Croteau, 1980).

3.1.3. Monoterpeny

Tato skupina terpenů se hojně vyskytuje ve všech rostlinných orgánech. Dají se nalézt jak v bylinách, tak i stromech. Jsou součástí esenciálních olejů a vyznačují se charakteristickou vůní, které rostliny využívají jako atraktanty pro přilákání opylovačů (Dvořáková et al., 2011). Za běžných podmínek jsou monoterpeny značně těkavé látky (Nováček, 2008).

Monoterpeny produkují hlavně rostliny (Musilová et al., 2012), ale nalezneme je i u živočichů v podobě iridiodů, monoterpenů s cyklickým kruhem. Iridoidem je například anisomorphal nebo chrysomeridial. Hmyz je využívá většinou na obranu, poněvadž se vyznačují hořkou chutí. Někdy jsou však nápomocné při komunikaci (Oldhama et al., 1996).

Některé rostliny používají monoterpeny ke své ochraně před škůdci. U býložravců bylo prokázáno, že se při konzumaci některým rostlinám vyhýbají. Konkrétně je tomu tak u některých druhů rodu *Artemisia*, které obsahují neurotoxické látky thujony. Hmyzí škůdci napadají oslabené rostliny, které produkují monoterpenů méně. Rostlina se útoku škůdců brání

jiným složením monoterpenů nebo jejich zvýšenou produkcí. Jestliže jsou monoterpeny uvolňovány z pryskyřičných buněk, je zvýšení monoterpenů okamžité, pokud se produkce zvyšuje jako reakce na napadení, je zvýšení do několika hodin (Dvořáková et al., 2011).

Díky negativnímu působení monoterpenů na škůdce rostlin se v posledních letech začalo psát o využití terpenů pro ochranu rostlin. Konkrétně se využívají monoterpeny limonen, geraniol, linalool, kafr a thymol. Tyto látky působí na hmyz různým způsobem. Většinou se jedná o narušení fyziologických a biochemických procesů, což může vést k inhibici růstu nebo narušení vývoje (Dvořáková et al., 2011).

Parazitické rostliny dokáží díky monoterpenům najít vhodnou hostitelskou rostlinu, která dané terpeny produkuje (Kegge and Pieric, 2010). V tomto případě mají pro rostliny spíše negativní dopad. Mohou však sloužit jako komunikační prostředek mezi rostlinami. Napadená rostlina začne produkovat látky s monoterpeny a rostliny v blízkém okolí zaznamenají jak ze vzduchu, tak z půdy zvýšenou koncentraci terpenů. Díky tomu jsou schopny se začít bránit dříve, než se parazit vyskytne (Preston et al., 2001).

V roce 1997 byla publikována studie o účinnosti monoterpenů při léčbě rakoviny. Použity byly limonen a perillyl alkohol. Jejich účinky jsou přisuzovány tomu, že inhibují syntézu ubiquinonu a přeměnu lanosterolu na cholesterol. Tím se docílí větší energie pro buňky a lepší modifikaci buněčných struktur. Navíc méně ubiquinonu znamená, že volné radikály jsou méně detoxikovány. Perillyl alkohol byl v pokusech účinnější i v menších dávkách než limonen (Gould, 1997). Problémem však je, že se v přírodě vyskytuje ve velmi malém množství. Naštěstí se zrodila metoda, jak vytvořit perillyl alkohol z limonenu za pomoci bakterií rodu *Mycobacterium* (van Beilen et al., 2005). Perillyl alkohol se přirozeně vyskytuje v třešních, mátle, kmínu, šalvěji, celeru, levanduli, brusinkách a v liliovém oleji (Chen et al., 2015).

Již zmíněný limonen je prekurzorem vzniku perillyl alkoholu a mnoha dalších terpenů. Patří mezi hojně se vyskytující monoterpeny v rostlinách. Syntéza limonenu probíhá s prekurzorem geranyldifosfátem. Limonen se dříve často získával z vedlejšího produktu pomerančové šťávy, ale v dnešní době je lepší využít dužinu jako biopalivo (Hyatt et al., 2007). Alonso-Gutierrez a jeho tým pracovali na způsobu, jak získat limonen a jeho deriváty pomocí bakterie *Escherichia coli* (Alonso-Gutierrez et al., 2013).

Limonen snadno oxiduje na vzduchu a vzniklé produkty bývají často zdrojem alergií. V přírodě se vyskytující forma limonenu se často využívá při výrobě parfémů, jelikož má příjemnou vůni po pomerančích (Matura et al., 2006). Není tedy překvapením, že je v pomerančovém oleji zastoupen z 94,5 % (Högnadóttir and Rouseff, 2003). Dále lze limonen nalézt ve všech citrusových plodech a dalších druzích ovoce a zeleniny, v aromatických

rostlinách z čehož největší obsah v mátě pepřné. Tím však výčet všech rostlin obsahujících limonen zdaleka nekončí.

Monoterpen, obdobný limonenu, perillartin se vyznačuje sladkou chutí. Vedou se diskuse, jestli je perillartin 350x sladší než sacharóza (Lapčák et al., 2007), nebo dokonce 2000x sladší než sacharóza (Johnson and Yotka, 2000). Využití této vlastnosti brání hořká chuť látky. Běžně se vyskytuje v rostlině z čeledi *Lamiaceae* rodu *Perrila*.

Stejně jako limonen je i významným prekurzorem ostatních terpenů geraniol. Stejně jak limonen je jeho prekurzorem geranyl difosfát, ale má acyklickou strukturu (Wise and Croteau, 1999). Geraniol je významnou složkou esenciálních olejů. Lze ho naléznout v květech růží, v eukalyptu, v ovoci a zelenině a v řadě aromatických rostlin jako je třeba bazalka. Má dokonce i živočišný původ – *Apis mellifera* L., 1758 (Apidae), si touto látkou označuje svůj úl a květy bohaté na pyl (Ray and Ferneyhough, 1997).

3.1.4. Seskviterpeny

Stejně jako monoterpeny jsou i seskviterpeny součástí esenciálních olejů. V těchto biologicky aktivních látkách je seskviterpenů nejvíce, méně už pak u hmyzu a jiných živočichů. Jedná se o těkavé látky (Nováček, 2008).

Na jejich syntéze se většinou podílí farnesyl difosfát, jehož prekurzory jsou isopentenylidifosfát a dimethylallyldifosfát vzniklé mevalonátovou cestou. V posledních letech se však vědci zaměřili na možnost, že vznik seskviterpenů je reálný i Rohnovou cestou. Tato skutečnost se prokázala v květech *Antirrhinum majus* kde se tvořil nerolidol (Dudareva et al., 2005).

Základním acyklickým seskviterpenem je farnesol. Vzniká defosforylací farnesylpyrofosfátu. Podílí se na růstu a diferenciaci buněk, jelikož řídí produkci ubiquinonu a cholesterolu. Svou roli zastává v lidském těle, a to v tkáních jako je vaskulární hladký sval a v mozku (Roullet et al., 1999). V rostlinách zastává funkci zavírání průduchů. Jelikož se běžně používá do deodorantů, dá se přepokládat antibakteriální aktivita (Haustein et al., 1993). U hmyzu byl identifikován mezi prvními juvenoidy (Hoffmann and Lorenz, 1998).

Nejvýraznější skupinou jsou bicyklické seskviterpeny, u kterých byla prokázána silná antibakteriální a antifungální aktivita a často jsou toxické pro hmyz, háďátka, měkkýše a ryby. Tyto skutečnosti představují velkou příležitost pro organismy, které tyto látky obsahují, jelikož se mohou lépe bránit nepřítelům (Gershenson and Dudareva, 2007).

Seskviterpen laktony, se řadí mezi cyklické seskviterpeny s hořkou chutí. Zde jsou uvedeny díky pozitivním vlivům na lidský organismus. U seskviterpenového laktonu heleninu

byly prokázány protizánětlivé účinky, protože modulují některé procesy ovlivňující zánět – shlukování krevních destiček, uvolňování serotoninu, inhibice aktivace transkripčního faktoru NF- κ B a další. Helenin je obsažen v rostlinách rodu *Arnica*, které se běžně používají v lidovém léčitelství k léčbě hematomů, povrchovým zánětům kůže, podvrtnutím a dalším podobným onemocněním (Lyß et al., 1998).

Existují však také fakta, že seskviterpenové laktony jsou pro člověka toxické a způsobují různé dermatitidy. Stejně jako bicyklické seskviterpeny mají antifungální a antimikrobiální efekt. Navíc jsou antibakteriální a působí také jako regulátory růstu rostlin (Picman, 1986). Látky z této skupiny jsou charakteristické pro čeled' *Asteraceae*, ale vyskytují se i v ostatních krytosemenných a nahosemenných rostlinách.

3.1.5. Diterpeny

Zpravidla se jedná o netěkavé látky, které se v přírodě převážně vyskytují jako cyklické. Ty se dále dělí na bicyklické, tricyklické, tetracyklické a makrocyclické (Hanson, 2004). Acyklické diterpeny se v přírodě vyskytují jen ve formě geranyl linalolu v esenciálních olejích a fytolu, který je ve všech zelených rostlinách (Pavela, 2011).

Jak již bylo řečeno, biosyntéza probíhá díky kyselině mevalonové v cytosolu buněk a geranyl-geranyl pyrofosfát. Podle způsobu cyklizace se tvoří dané skupiny.

První cyklická skupina bicyklická, v sobě zahrnuje další podskupiny. Za nejvýznamnější lze považovat labdony a klerodany (Peters, 2010). Labdony se využívají pro svou biologickou aktivitu spíše ve zdravotnictví, kde potlačují velké množství nemocí. Z těch nejčastějších možno jmenovat zánět močových cest a středního ucha způsobené bakterií *Pseudomonas aeruginosa*, leišmaniózy způsobené prvokem rodu *Leishmania* v tropických oblastech a moučnivku v ústech způsobenou houbou *Candida albica* (Singh et al., 1999).

Však druhá z jmenovaných skupin má potencionální uplatnění v ochraně rostlin. Ve výzkumu byl prokázán antifeedantní účinek proti hmyzu. Největší potenciál v tomto směru měla bylina *Ajuga chamaepitys*. Její izoláty byly použity na hmyzí druh *Spodoptera littoralis* (Belles et al., 1985). V Indii byl učiněn pokus, který dokázal insekticidní účinky klerodanů. Izolovány byly z byliny *Clerodendron infortunatum* a topikálně aplikovány na *Helicoverpa armigera*, běžného škůdce bavlníku a v České republice slunečnice. Dvě ze tří izolovaných látek (klerodine a 15-methoxy-14,15-dihydroklerodin) měli dokonce lepší účinky než hlavní složka komerčně prodávaného oleje z *Azadirachta indica* (Abbaszadeh et al., 2014).

Kaurany, tetracyklické diterpeny se dají identifikovat v nepřeberném množství rostlinných druhů. Do této skupiny se řadí kyselina kauronová, přítomná v rostlinách *Mikania*

glomerata (Vilegas et al., 1997), *Copaifera langsdorffii* (Costa-Lotufo et al., 2002, Cavalcanti et al., 2006, Paiva et al., 2002), *Wedelia paludosa* (Bresciana et al., 2004, Burger et al., 2005) a dalších. Kyselina vzniká jako meziprodukt při syntéze giberelinů a jiných diterpenů. Jejich velký potenciál tkví ve fungicidních, insekticidních a moluskocidních účincích. Některé působí jako růstové regulátory (García et al., 2007).

3.2. Kvantitativní a kvalitativní obsah terpenických látek v aromatických rostlinách

Na kvantitativní a kvalitativní obsah terpenů má vliv celá řada faktorů. Tyto faktory se rozdělují na vnitřní, vnější a sklizňové a posklizňové úpravy. Vnitřní faktory jsou geneticky podmíněné vlastnosti aromatických rostlin. Mezi ně se řadí chemotyp, množství biomasy, maximální obsah esenciálních olejů atd.

Vnější faktory sama rostlina nedokáže ovlivnit. V těchto faktorech je plně závislá. Patří sem klimaticko-pedologické podmínky a agronomické faktory. Klimaticko-pedologické podmínky zahrnují množství dostupné vody, složení půdy, klimatické podmínky a další. Agronomické zásahy ovlivňuje převážně člověk a patří sem termín výsevu a výsadby, množství dodaných živin atd. Sklizňové a posklizňové úpravy podléhají technologiím každého pěstitele.

3.2.1. Vnitřní faktory

Že každá aromatická rostlina obsahuje jiné terpenické látky je známo už po staletí. Je to logické, jelikož se dají rozeznávat nejen podle morfologických znaků, ale i podle vůně a chuti. Časté jsou však i rozdíly na úrovni rodu. Dobrým příkladem je rod *Mentha*, kde kříženec (*Mentha aquatica* x *M. spicata*) *Mentha x piperita* obsahuje mentol (7–48 %), menton (20–46 %), menthyl acetat (3–10 %), mentofuran (1–17 %) a 1,8-cineol (3–6 %) (Moghtader, 2013, Baeshen, 2014). Obě rodičovské rostliny mají složení odlišné. *Mentha spicata* menthol neobsahuje a hlavními složkami jsou karvon (56,6 %) a limonen (27,3 %). Složení esenciálního oleje *Mentha aquatica* je především mentofuran (51,26–58,59 %), limonen (5,94–12,06 %), trans- β -ocimen (5,59–6,10 %), ledol (3,01–4,06 %) a β -caryophyllen (2,9–3,5 %).

U druhu *Thymus vulgaris* rozlišujeme různé chemotypy, které rozdělují *T. vulgaris* obecný podle majoritně obsažených látek (viz kapitola 4.3.1.).

Stejně tak je to i u *Ocimum basilicum* a dalších bylin. S různými chemotypy se lze setkat i u dřevin jako například *Lippia alba*. U *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* byly zkoumány tři chemotypy, které však byly pojmenovány podle dvou majoritních látek a to: karnekrol/thymol s vyšším zastoupením karnekrolu (21,89), thymol/ α -terpineol s majoritním

zastoupením thymolu (26,75 %) a linalyl – acetát/linalool, kde bylo nejnižší zastoupení terpenoidů ze všech tří chemotypů (91,80 %) (De Martino et al., 2009).

3.2.2. Vnější faktory

Během roku byl u *Pelargonium species* zaznamenán trend ve složení terpenoidů vztahující se k ročnímu období. V měsících letních se v rostlině objevovalo terpenů nejvíce. Zimní období bylo štědré na geranioly a jejich estery a podzimní měsíce neměli žádné výrazné preference terpenoidů (Rao et al., 1996).

Pro získání maximálního množství terpenických látek se předpokládá dobrá znalost rostliny. Je totiž vhodné vědět, která rostlinná část obsahuje terpeny v nejvyšším kvantitativním obsahu. Semena bohatá na terpenické látky mají aromatické rostliny *Foeniculum vulgare*, *Pimpinella anisum*, *Anethum graveolens*, *Coriandrum sativum* a další. Nať se sbírá u druhů *Thymus vulgaris*, *Marrubium vulgare*, *Mellisa officinalis*, *Salvia officinalis* a jiných. Některé rostliny si své terpenické látky shromažďují v kořenech nebo v přeměnách kořene. To jsou byliny jako například *Pimpinella saxifraga* a *Valeriana officinalis* (Hruška, 2011).

Frekvence závlivky ovlivňuje ve větší či menší míře obsah terpenů v rostlině. U petržele byl tento fakt sledován u tří různých odrůd (plocholistá, kadeřavá a tuřínová). Jako nejlepší pro zvýšení terpenických látek vyšla hladina deficitu vody 45-60 % u všech tří odrůd. Tuřínová odrůda reagovala na vodní deficit nejméně (Petropoulos et al., 2008). Podobné výsledky byly zaznamenány i u jiných druhů aromatických rostlin. *Matricaria chamomila* však zaznamenala mírnou citlivost k suchu. Delší intervaly nedostatku vláhy než 4 dny snižují množství terpenů (Razmjoo et al., 2008).

U byliny *Matricaria chamomila* byla prokázána citlivost k zasolení. Čím vyšší je množství zasolení, tím nižší je obsah terpenů. Množství esenciálních olejů kleslo z 1 % na 0,29 %. Tato souvislost se dá vysvětlit množstvím chloridu sodného, který je pro rostlinu toxický (Razmjoo et al., 2008).

Ostatní látky v půdě se také podílejí na transformaci terpenů. V kapitolách o jednotlivých aromatických rostlinách jsou zdůrazněny aspekty výživy rostlin na obsah esenciálních olejů, a tedy i terpenických látek. V zásadě platí, že optimální výživa přispívá k vyššímu obsahu terpenů.

Tak jako u ovoce nebo u polních plodin, musí pěstitel dobře odhadnout dobu sklizně. U aromatických rostlin je to stejné. Pokud se sklizeň uspěchá, nedosáhnou esenciální oleje patřičné kvality a ani kvantity. Termín sklizně ovlivňuje část rostliny, která obsahuje nejvíce terpenických látek. U rostlin, kde se terpenické látky získávají z natě, je optimální doba sklizně

převážně v době květu (Badi et al., 2004). Pokud se však získávají ze semen, je nutné dobu sklizně posunout až na dobu tvorby semen.

Foeniculum vulgare obsahuje v semenech okolo 5 % esenciálního oleje, což je nejvíce ze všech částí rostliny. Z natě se v polovině července, získá jen okolo 1 % esenciálního oleje. Ve výzkumu se zjistilo, že se obsah éterických olejů mění i v rámci let. V roce 2013 se vyzolovalo ze semen 4,99 % esenciálního oleje a o rok později o 0,14 % méně. Semena obsahovala nejvíce trans - anetholu (59,97 % v roce 2013 a 63,23 % v roce 2014) ze všech rostlinných částí. Obsah trans – anetholu v čerstvé a suché nati se příliš nelišil. Vysoké zastoupení měl v semenech také fenchon (25,04 % v prvním roce, 21,42 % v druhém roce). Téměř srovnatelné množství bylo naměřeno v čerstvé nati v první sklizni (18,5 % v roce 2014). V nati se jako třetí nejhojnější vyskytoval felandren při první sklizni a p-anisaldehyd při druhé sklizni. Obě tyto sloučeniny měli v semenech zanedbatelný podíl (Pavela et al., 2016).

Při zkoumání tohoto aspektu u *Coriandrum sativum* se zjistilo, že sklizeň v plné zralosti přináší největší výtěžnost semen, co se týče esenciálních olejů. V průběhu dozrávání se velmi výrazně měnilo složení terpenů. V mléčné zralosti semen bylo nejvíce monoterpenických esterů a hlavní složkou se stal geranyl acetát. Ve střední zralosti už se projeví změny a majoritním terpenem byl linalool. Linalool vzrostl od mléčné zralosti o 65,37 % a zvýšilo se tak i zastoupení monoterpenických alkoholů. Obsah monoterpenických esterů klesl o 45,37 % na 0.9 % (Msaada et al., 2007).

3.2.3. Sklizňová a posklizňová úprava

Před zpracováním aromatických rostlin se většinou nenechávají v čerstvém stavu, ale podléhají různým způsobům sušení. Při studii vlivu sušení na obsah esenciálního oleje u rostliny *Laurus nobilis* se zjistilo, že nejlepší na výtěžnost oleje je sušení běžným ovzduším za teploty okolo 22 °C. Nejméně výhodné bylo v tomto směru sušení v mikrovlnné troubě při 500 W. Zajímavé bylo, že se na změně kvantitativního obsahu nepodílela jen teplota sušení, ale i jeho způsob. Při stejné teplotě sušení, ale odlišné technice sušení byla výtěžnost odlišná. Obecně však lze říci, že při teplotě nad 45 °C se snižuje výtěžnost esenciálního oleje, a tedy i obsah terpenických látek (Sellami et al., 2011).

Nejen že se měnila kvantita esenciálního oleje, ale zároveň i kvalita. V případě sušení vzorků mikrovlnou troubou se zachoval větší počet terpenických látek, ale zásadně se snížil obsah některých majoritních terpenů. Při sušení na vzduchu část terpenů emitovalo, ale u ostatních nebyla ztráta tak razantní. Sušením jsou nejvíce ovlivněny okysličené monoterpeny, jelikož mají vazbu na vodu obsaženou v rostlině (Sellami et al., 2011).

Na kvalitu a kvantitu terpenických látek má také vliv metoda izolace esenciálních olejů. Nejrozšířenější metodou je destilace vodní parou. Často se využívá jak při výzkumné činnosti, tak pro průmyslovou výrobu (Germann and Germann, 2012). Tento způsob je však poměrně zdlouhavý. Proto je snaha zavést destilační metody s kratší dobou extrakce.

Takovou metodou by mohla být metoda mikrovlnné destilace. Ta za 30 minut dokáže vyizolovat srovnatelné (dokonce i větší) množství esenciálních olejů jako při destilaci vodní parou za 4 hodiny 30 minut. Zastoupení jednotlivých terpenů se může zdát překážkou. V případě destilace bazalkového oleje byl při mikrovlnné destilaci majoritní složkou eugenol a u destilace vodní parou linalool (Lucchesi et al., 2004).

3.3. Získávání esenciálních olejů z aromatických rostlin

Pro to, aby se daly esenciální oleje použít, musí se izolovat z aromatických rostlin. Způsobů izolace je velké množství a jak již bylo napsáno v předchozí kapitole, je důležitá z hlediska kvantity a kvality esenciálního oleje a terpenů v nich obsažených.

Nejpoužívanější metodou je destilace vodní parou. Touto metodou se získá 93 % esenciálního oleje. K destilaci jsou zapotřebí nejméně čtyři komponenty, a to chladič, vyvíječ páry, nádoba na rostlinný materiál a nádoba na odchyt esenciálního oleje. Za vyvíjení tepla se tvoří pára, která se vhná k rostlinnému materiálu a tím se uvolní kapky silice. Tyto silice spolu s párou procházejí chladicí trubicí a sráží se. Esenciální olej zůstává plavat na hladině vody v nádobce na odchyt esenciálního oleje.

Délka destilace závisí na aromatické rostlině, která je destilována. Například z *Rosmarinus officinale* se vydestiluje EO za 30 minut, z čehož 80 % oleje se získá za 10 minut. Jako první se odizoluje 1,8-cineol po 5 minutách. Po 10 minutách se objevuje kafr, borneol a α -terpineol. Po 30 minutách se vydestiluje jen zlomek látek (Boutekedjiret et al., 2003). EO z *Pogostemon cablin* se destiluje 120 minut (Donelian et al., 2009) a *Origanum onites* až 3 hodiny (Ozel and Kaymaz, 2004).

Méně častěji se používá hydrodestilace, někdy též známá jako prostá destilace. Tato destilace trvá déle než destilace předchozí (Boutekedjiret et al., 2003). Probíhá tak, že se voda spolu s rostlinným materiálem zahřívá a esenciální oleje se odpařují a při průchodu chladicí trubicí opět kondenzují a zůstávají na vodní hladině. Za pomoci odtokového kohoutku se esenciální olej odchytí do nádoby.

V posledních letech se uplatňuje destilace za pomoci mikrovlnné trouby nazývaná mikrovlnná extrakce bez rozpouštědel (obr. č. 1) v tomto případě se rostlinný materiál ohřívá v mikrovlnné troubě o výkonu 1000 W. Jedná se o suchou destilaci. Ve srovnání

s hydrodestilací je tato metoda rychlejší se stejnou kvalitou a kvantitou EO (Lucchesi et al., 2004).

Superkritická fluidní extrakce (SFE) se také využívá k získávání EO. Principem této metody je získání silice z rostlinného materiálu pomocí rozpouštědla v kritickém stavu. Do kritického stavu se dostanou rozpouštědla za zvýšeného tlaku a teploty a mají tak schopnost rozpouštět látky. V 90 % případů je rozpouštědlem CO₂, jelikož má nízkou kritickou teplotu a nízký tlak. Zároveň se snadno vyvazuje ze vzniklého produktu. Pro výrobu EO se uplatňuje teplota 40-50 °C (Pourmortazavi and Hajimirsadeghi, 2007). Ve srovnání s mikrovlnou destilací bez rozpouštědel a hydrodestilací se tato technika nezdá být velmi účinná. Při izolaci esenciálních olejů z *Lippia alba* byla úspěšnější pouze při získávání seskviterpenů. U monoterpenů byl obsah až o 10 % nižší (Stashenko et al., 2004).

Účinnou metodou extrakce esenciálních olejů je extrakce za přítomnosti organických rozpouštědel. Při této metodě je důležitá znalost chemikálií, aby bylo možné zvolit správné rozpouštědlo. U esenciálních olejů s antioxidační aktivitou je vhodným rozpouštědlem vodný roztok s ethanolem, methanolem, acetonem nebo ethylacetátem (Sultana et al., 2009). Dále se používá hexan nebo petroléter. Nevýhodou této techniky jsou příměsi v podobě rostlinných vosků v konečné extrakci esenciálních olejů.

Zastaralou, ale v parfumernictví stále používanou technikou je tzv. enfleutáž. Izolace esenciálních olejů se v tomto případě uskutečňuje díky živočišným tukům. Na dvě skleněné desky se rozetře tuk a vloží se mezi ně květy. Ty se každý den vyměňují za čerstvé, dokud není tuk plně nasycen (Eltz et al., 2007).

3.4. Využití esenciálních olejů

EO patří mezi rostlinné komunikační látky, které rostliny využívají k přilákání vhodných opylovačů tím, že emitují vonné látky do ovzduší a hmyz díky tomu nalezne neopylenou rostlinu lépe. Stejně tak však může rostlina i odpuzovat nežádoucí hmyz nebo jiné herbivory (Isman et al., 2007). Své uplatnění mají i při alelopatii. Například *Tagetes minuta* s vysokým obsahem limonenu (66,8 %) má inhibiční účinky na růst kořenů a na klíčivost semen *Zea mays* (Scrivanti et al., 2003).

Lidé esenciální oleje používali již ve středověku. Byly známy jejich léčivé účinky a přidávaly se do jídel a parfémů. Ve 20. století se jejich využití omezilo jen na parfumernictví, kosmetiku a potravinová aroma. V medicíně o ně poklesl zájem (Edris, 2007). V současnosti jsou esenciální oleje používány v různých odvětvích, jelikož mají bohatou biologickou aktivitu.

Nejhojněji v kosmetice, potravinářství a v některých odvětví lékařství. Uplatnění v zemědělství je spíše otázka posledních několika let.

V kosmetice se uplatňuje jako příměsi různých přípravků, tak i samostatně. Mohou se inhalovat, masírovat do pokožky nebo volně rozptýlit po místnosti. Mají protizánětlivé účinky, pečují o pokožku a zlepšují kvalitu vlasů. Proto se přidávají do krémů, kondicionérů, šamponů a deodorantů. Oblíbenými přísadami do kosmetických výrobků je heřmánkový olej (protizánětlivé účinky, léčba lupenky a akné, bělení stařeckých skvrn), levandulový olej (antibakteriální a antifungální účinky, léčba popálenin a bodnutí hmyzem) a tea tree olej (protizánětlivé, antibakteriální, antivirové a antifungální účinky) (Aburjai and Natsheh, 2003).

Pro své aroma se logicky uplatňují jako příměsi do potravin. To však není jejich jediná přednost v tomto odvětví. V posledních letech je snaha o náhradu syntetických látek a snížení obsahu solí v potravinách. V tomto boji se nabízejí právě esenciální oleje jako jejich náhrada, co se týče bezpečí potravin, jelikož mají antivirové, antibakteriální, antifungální a antiradikálové účinky (Burt, 2004). Problémem jsou v toto směru vysoké dávky, které musí být do potravin dodány, aby se dosáhlo požadovaných konzervačních účinků. Vysoké dávky esenciálních olejů mohou negativně ovlivnit lidské zdraví (Hyldgaard et al., 2012). Při testování jedenácti běžně používaných esenciálních olejů v potravinářství se jako nejučinnější projevil olej z *Cymbopogon citratus* známý také jako Lemon grass. Olej měl velmi dobrou antimikrobiální aktivitu a schopnost neutralizoval volné radikály (Sacchetti et al., 2005).

Aromaterapie je způsob medicíny, kde se využívají převážně esenciální oleje. Údajně je známo okolo 7000 různých EO (Cooke and Ernst, 2000). Aplikují se na kůži v kombinaci s mastnými oleji, inhalují se nebo se užívají zevně. Orální užití je však velmi ojedinělé. Předností těchto látek je působení na psychiku člověka (Germann and Germann, 2013).

V lidové léčitelství se EO využívají v podobě aromatických rostlin. V běžné medicíně se prokázala účinnost těchto olejů v léčbě rakoviny, kardiovaskulárních onemocnění, cukrovce a dalších onemocnění. Samozřejmě jsou účinné i při virových a bakteriálních onemocnění (Edris, 2007). Některé EO se zdají být dobrými antioxidanty a váží volné radikály. Je to například tymiánový olej, bazalkový olej, skořicový olej a oreganový olej (Tomaino et al., 2005).

3.5. Zemědělské využití esenciálních olejů

S rozvojem intenzivního zemědělství se zvýšila spotřeba pesticidních látek, které obsahují jedovaté sloučeniny. Před zavedením integrované ochrany rostlin se pesticidy aplikovaly paušálně bez diagnostiky a často neefektivně. Tak se v přírodě začala hromadit

rezidua. V posledních letech začaly přibývat poznatky o nebezpečí zemědělství pro životní prostředí a dopad pesticidů na zdraví člověka, zvířat a vod, nehledě na rizika vzniku rezistence škodlivých činitelů na účinné látky. Každoroční škody zasahují celosvětově do 100 miliard \$ (Koul et al., 2008). Proto započala snaha o využití tzv. botanických pesticidů.

K účinným látkám botanických pesticidů se mimo jiné řadí také esenciální oleje získávané ze všech rostlinných orgánů aromatických rostlin za pomoci různých metod (destilace vodní parou, superkritická fluidní extrakce, extrakce organickými rozpouštědly, ...). Využit se však dají i bez izolace, použitím celé rostliny (Isman, 2000). Esenciální oleje se skládají z velké části z terpenických látek, které vykazují významnou biologickou aktivitu (Bakkali et al., 2008).

Známé jsou antivirové, baktericidní, fungicidní, nematocidní, akaricidní a insekticidní účinky esenciálních olejů, které lze s úspěchem využít také k cílené ochraně proti škodlivým činitelům. U hmyzu účinkují na vajíčka, larvy i dospělé. Fungují jako repelenty, fumiganty, antifeedanty a nervové jedy. Stejně jako chemické přípravky na ochranu rostlin, tak i u esenciálních olejů záleží na složení. Podle rostliny, ze které jsou oleje získané, se odvozují jejich účinky (Isman, 2000).

Esenciální oleje rychle těkají do ovzduší, což je jak jejich výhoda, tak nevýhoda. Výhoda je, že při aplikaci na rostlinu se sníží ochranná lhůta, naopak nevýhodou je opakovaná aplikace pro dosažení požadované účinnosti. Podle svých vlastností se dají zařadit do botanických pesticidů druhé generace, což jsou látky selektivní, přátelské k přirozeným nepřítelům a univerzální (Pavela, 2011).

Nejvíce používaným botanickým pesticidem druhé generace je nejspíše takzvaný Neem olej získaný ze semen rostliny *Azadirachta indica*. Zároveň je to jeden z nejdéle používaných botanických pesticidů. Olej se používá i v medicíně více než 2000 let (Biswas et al., 2002). Má řadu biologicky aktivních látek. Ze semen se vyzoluje 40 % olejů a Indie, jako největší producent, tohoto oleje vytěží 80 000 tun za rok (Borgan et al., 1987). Jeho největší potenciál je v insekticidních účincích. Nejsou však vyloučena ani fungicidní a antibakteriální účinky (Natarajan et al., 2003).

Esenciálních olejů již získaných z rostlin je nepřehledné množství a podobně tak i jejich využití. V začátcích byly používány tyto oleje spíše v domácnostech v podobě celých sušených aromatických rostlin z čeledi Myrthaceae a Lamiaceae. Takto použité měly spíše repelentní účinek (Isman, 2000). Své uplatnění našly jak na poli u rostoucích plodin, tak i u skladovaných komodit. Možná je i kombinace s komerčními pesticidy k posílení jejich účinku (Isman et al., 2011).

Z těch, co se dají získat z rostlin vypěstovaných v České republice lze jmenovat například bazalkový olej, který se používá proti skladištním škůdcům (Keita et al., 2001) a některým polyfágním patogenům houbového původu (Daferera et al., 2003). O dalším použití esenciálních olejů v ochraně rostlin se píše v kapitolách 4.1.3., 4.2.3. a 4.3.3.

Jelikož jsou esenciální oleje sekundární metabolity rostlin a ty mohou sloužit k obraně, je nutné na ně pohlížet i jako na případnou hrozbu. Některé esenciální oleje vyvolávají alergickou reakci, projevující se dermatitidami (Bleasel et al., 2002). Terpeny v éterických olejích patří často do skupiny rostlinných jedů. Monoterpen menthol, hojně se vyskytující v rodu *Mentha*, se například nedoporučuje pro děti a těhotné ženy (Germann and Germann, 2013). Zpravidla jsou však esenciální oleje pro savce netoxické a LD50 je u hlodavců stanoven mezi 800–5000 mg/kg (Isman, 2000). Koncentrace těchto olejů a obsah čisté látky v nich je tak nízká, že jejich použití jako přípravků na ochranu rostlin není nebezpečné.

Nevýhodou používání EO v ochraně rostlin se může stát toxicita k parazitoidům. Bylo prokázáno, že EO z *Alpinia conchigera* byl více toxický k parazitoidu *Anisopteromalus calandrea* než k parazitům, proti kterým se ve skladech používá. Navíc delší doba působení fumigačně aplikovaných EO snižovala účinnou dávku. Stejný účinek byl dosažen i u esenciálních olejů z *Curcuma zedoaria* a *Zingiber zerumbet*, které však na parazity (*Sitophilus zeamais* a *Tribolium castaneum*) ve skladech neúčinkovaly (Suthisut et al., 2011).

Náchylný byl i parazitoid *Dinarmus basalis* k esenciálním olejům získaných z rostlin *Cymbopogon schoenanthus* a *Ocimum basilicum*. Jeho náchylnost byla vyšší než jeho hostitele *Callosobruchus maculatus*. Účinnost esenciálních olejů byla vyšší při přítomnosti skladované komodity *Vigna unguiculata*. To může vést k předpokladu, že semena pohlcují esenciální oleje (Ketoh et al., 2002).

Akaricidní účinky EO se využívají i ve včelařství. Bylo prokázáno, že přibližně 150 různých esenciálních olejů účinkuje proti *Varoa destructor*. Účinnost nebyla dokázána pouze v laboratorních podmínkách, ale u některých EO i v podmínkách polních. Problémem však byla neselektivnost ke včelám (Ruffinengo et al., 2005). Velmi účinný byl v ochraně proti roztoči *Thymus vulgaris* a hlavní složka jeho esenciálního oleje thymol. Navíc složky EO nebyly zachyceny v medu (Imdorf et al., 1999).

4. Aromatické rostliny

Toto označení nemá doposud jasnou definici. Slovo aromatické pochází z řeckého *aromaticos*, což znamená kořenitý (Germann and Germann, 2013). Jak už z názvu vyplývá, aromatické rostliny jsou takové rostliny, které obsahují aroma. Aroma však neznamená jen vůni, ale i chuť. Chuť a vůně je jedním z rozlišovacích znaků jednotlivých rostlin. Příčinou aroma jsou esenciální oleje (někdy nazývané éterické), které se v aromatických rostlinách hojně vyskytují. Dále se v nich objevují hořčiny, alkaloidy a slizy (Kolektiv autorů, 2013).

V populárně naučné literatuře je možné se často setkat s označením bylinky a obvyklé je i prolínání s názvem kořeninové nebo léčivé rostliny. Léčivý účinek dodávají bylinám biologicky aktivní látky, především již zmíněné esenciální oleje.

Rosmarinus officinalis, známá středomořská bylina, má v průměru výtěžnost esenciálního oleje okolo 1 %. Výtěžnost je odvozena od způsobu a místa pěstování. Hlavními komponenty EO jsou monoterpeny, z nichž největší zastoupení má α -pinen, 1,8-cineol a kafr. Procentické zastoupení těchto monoterpenů je velmi odlišné. Ve své domovině měl rozmarýn největší zastoupení α -pinenu (19,09 - 25,82 %) a obsah 1,8-cineolu byl zanedbatelný (Angioni et al., 2004). Naproti tomu v Japonsku byl 1,8-cineol (48,3 %) výrazně dominantní (Hori and Komatsu, 1997). Dále má vysoké zastoupení alkohol borneol (14,18 - 18,08 %) a ester bornylacetát (7,55 - 14,90 %). Seskviterpeny jsou v této bylině v nepatrném množství (Angioni et al., 2004).

Hlavní složkou EO rostliny *Salvia officinalis* je cis-thujon, který se v oleji vyskytuje v rozmezí od 18 do 43 % (ISO 9909). V některé literatuře se procentické zastoupení tohoto monoterpenu uvádí až do 65 % (Kintzios, 2000). V *S. officinalis* má také zastoupení kafr (4,5 - 24,5 %), α -humulen (0 - 12 %), 1,8-cineol (5,5 - 13 %) a další monoterpeny (ISO 9909). Výtěžnost EO ze šalvěje lékařské se pohybuje kolem 2 % (Chalchat et al., 1998).

Uplatnění aromatických rostlin je v potravinářství, zemědělství, kosmetice a dalších odvětvích. V posledních letech se rozšířil výzkum aromatických rostlin v odvětví výroby pesticidů. Již v předchozích kapitolách byly popisovány účinky, které mají terpeny na patogeny a škůdce. Jelikož jsou součástí aromatických rostlin, tak přenášejí tuto vlastnost i na ně. Atraktivní je také pěstování aromatických rostlin pro použití v čerstvém stavu na tzv. zelené koření. Konečný spotřebitel je dostane hrnkované nebo řezané. Pro toto upotřebení se nejčastěji využívá *Levisticum officinale*, *Origanum majorana*, *Rosmarinus officinalis*, *Mentha x piperita* atd. (Příbylová et al., 2014).

V České republice se rozloha ploch s léčivými, aromatickými a kořeninovými rostlinami (dále jen LAKR) mění. V roce 2011 byly pěstovány na 8 588 ha. V následujícím roce to bylo o 6 % méně. Výnos se pohybuje okolo 0,82 t/ha. Některé plochy podléhají režimu ekologické produkce. Na světovém trhu se obchoduje s okolo 2 500 druhy LAKR a 4 000 druhů je ohroženo. Nejvíce LAKR pochází z asijských a amerických zemí (Buchtová a Tošovská, 2012).

V roce 2013 a 2014 zaznamenaly plochy LAKR významný pokles (Příbylová et al., 2014) a v roce 2015 poklesly plochy na 5 177 ha. U těchto zemědělských komodit se snižuje i hektarový výnos. Od roku 2014 poklesl výnos o 8 %. Nicméně v roce 2013 byl výnos 0,67 t/ha, z čehož vyplývá, že je dosti proměnlivý. Snižování ploch se připisuje náročnosti LAKR na pěstování a ekonomiku. Navíc se výkupní cena pohybuje nízko (Příbylová et al., 2014).

V minulosti až do roku 2008 byly pěstovány převážně kořeninové a aromatické rostliny. V současnosti je podíl téměř vyrovnaný s mírnou převahou léčivých rostlin. K nejpěstovanějším léčivým rostlinám v České republice patří *Silybum marianum*. Z kořeninových rostlin je 90 % ploch oseto *Carum carvi*. Vysoký podíl na produkci mají i aromatické rostliny *Foeniculum vulgare*, *Coriandrum sativum*, *Matricaria chamomilla* (Kolektiv autorů, 2015).

Od roku 1998 významně poklesly pěstební plochy s *Matricaria chamomilla*. Do roku 2001 to bylo o 60 ha (Buchtová a Drašnarová, 2003). Až do roku 2012 se tyto plochy velmi nezměnily, ale poptávka po heřmánku je nedostatečná (Buchtová a Tošovská, 2012).

4.1. *Foeniculum vulgare* Mill.

Vytrvalá rostlina patřící do čeledi *Apiaceae* (miříkovité nebo mrkvovité). Svě jméno získal od Římanů a znamená seno. Vůně *F. vulgare* údajně připomíná vůni sena (Singh and Panda, 2005). V řečtině se *F. vulgare* řekne marathon, což má dvě vysvětlení. První vypovídá o bitvě o Marathón, která se uskutečnila v roce 490 př. n. l. na poli plném *F. vulgare*. Druhé vysvětlení popisuje sochu Pheidippide, který v ruce drží snítku *F. vulgare*. Tento athénský atlet uběhl 150 mil, aby sehnal pomoc. Později se na olympijských hrách pořádal běh na 42,195 km, což představuje vzdálenost mezi městy Marathonem a Athénami (Small, 2006).

Poprvé pojmenoval tuto rostlinu anglický zahradník a botanik Philip Miller, a to v roce 1768. V předchozích letech byl fenykl zařazen do rodu *Anethum*, která zahrnuje i bylinu *Anethum graveolens*, tedy kopr vonný. Carlo Allionni stejnou rostlinu pojmenoval a popsal

v roce 1785 druhovým názvem *officinale*. Oba názvy jsou však do dnešní doby používány, i když druhový název *officinale* v naší zemi méně.

F. vulgare pochází ze Středozeří, ale pěstuje se téměř na celém světě. Řadí se mezi devět posvátných anglosaských bylin. V Austrálii a na Novém Zélandu se považuje za invazní druh rostliny (Clevely and Richmondová, 2007).

4.1.1. Popis

Foeniculum vulgare je vytrvalá někdy dvouletá rostlina, ale v některých zemích se pěstuje jen jako jednoletá. Její výhodou je zimuvzdornost. Habitus rostliny se velmi podobá kopru vonnému. Dorůstá do výšky 0,5 – 1,8 m. V některé literatuře se uvádí výška až 2 metry (Germann and Germann, 2013, Small, 2006). Celá rostlina má šedavý nádech (Clevely and Richmondová, 2007).

Rozvětvený kořen dobře kotví rostlinu v zemi. Lodyha fenyklu je kulatá, štíhlá uvnitř dutá, modře ojíněná s bílými podélnými pruhy. Lodyha se rozvětjuje na kratší a užší články, které vyrůstají v paždí listů. K lodyze přisedají listy ztlustlým řapíkem obaleným pochvou. Samotné listy jsou několikanásobně zpeřené, až 40 cm dlouhé a jednotlivé části mají filiformní (nitkovitý) charakter, tlusté asi 0,5 mm (Badgujar et al., 2014). Mladé listy jsou jasně zelené a vzprímené, později tmavnou a převisají.

Na konci lodyhy se v červenci a srpnu objevují květenství, složené okolíky. Počet okolíčků se mění a nedá se říct přesný počet. Nicméně se pohybuje okolo 13 až 20. Kvítky v květenství mají pět okvětních plátků, které se stácejí směrem dolů. Kvítky jsou žlutavé, oboupohlavné, obaly a obalíčky chybí. V celém květenství je 20 až 50 kvítků a sedí na krátkých stopkách (Azeez, 2008).

Na konci srpna až v září se po opylení květy mění na malé vejčité až podlouhlé dvounažky 5-12 mm dlouhé (Germann and Germann, 2013) a 1,5-2 mm široké, tupě zakončené (Badgujar et al., 2014). Dvounažka obsahuje dvě semena ukrytá v merikarpech (Small, 2006). Obal plodu má silná žebra po třech až pěti linkách.

Z chemického hlediska se ve *F. vulgare* objevují trísloviny, flavonoidy, kumariny, mastné kyseliny, fenolpropanoidy, glykosidy a saponiny (He and Huang, 2011). Hlavně semena, ale i ostatní části *F. vulgare* obsahují esenciální oleje. Majoritní látkou oleje je anethol, který se na obsahu podílí až 80 % (Tognolini et al., 2007). Terpeny, které zodpovídají za charakteristickou vůni *F. vulgare*, jsou estragol, fenchon, trans-anisol a 1-okten-3-ol. Ostatní složky esenciálního oleje mají minoritní zastoupení (He and Huang, 2011). Odrůda *Foeniculum*

vulgare subsp. *vulgare* var. *vulgare* má složení odlišné. Majoritními složkami jsou fenchon a α -penten. Anethol vystupuje v minimálních hodnotách (Napoli et al., 2010).

4.1.2. Pěstování

Správné pěstování má vliv na kvalitu rostliny a s tím i na esenciální olej, který se z rostliny využívá. Řada odborníků se zabývá způsoby pěstování *F. vulgare*, aby dokázaly zvýšit obsah a kvalitu olejů.

F. vulgare se pěstuje především v Indii, Německu, Francii, Rusku, Rumunsku, Itálii, Japonsku, USA a Argentině. V posledních letech dokonce zaznamenalo pěstování fenylku mírný nárůst hlavně v Indii (Azeez, 2008).

Náročnost *F. vulgare* na půdu je minimální. Prospívá skoro v každé úrodné půdě, ale nejlepší jsou dobře propustné se zásaditějším pH. Dobře však snáší rozpětí od 4,8 do 8,2 hodnot pH (Small, 2006). Aby se rostlině vyvinulo velké množství listů, potřebuje lehkou, propustnou půdu (Clevly and Richmondová, 2007).

Běžné podmínky jsou pro *F. vulgare* nastaveny v mírném pásmu. *F. vulgare* je mrazuvzdorný, ale některé jeho odrůdy zimu nepřežívají. Nejpriznivější teplota pro růst rostliny se pohybuje mezi 7 a 32 °C (Rosengarten, 1969). Přímé sluneční světlo zajistí rostlině optimální světelné nároky, ale dokáže přežít i v mírném polostínu. Při suchých měsících je vhodné rostlinu zalévat, ale nesnáší přemokření půdy (Small, 2006) Nedoporučují se stanoviště blízko kopru vonného (*Anethum graveolens*, *Apiaceae*), jelikož při vzájemném opylení tvoří semena, která dávají bezcenné hybridy (Clevly and Richmondová, 2007).

U *F. vulgare* jsou známy dva způsoby rozmnožování. Buď vysetím semen, anebo dělením trsů již vzrostlých rostlin. Dělení trsů je vhodné provádět na jaře. Není to však příliš častý způsob množení, jelikož získáme malý počet rostlin a tímto způsobem se snadno přenášejí případní patogeni (Small, 2006).

Semenem se *F. vulgare* rozmnožuje velmi snadno. Pokud se *F. vulgare* pěstuje jako dvouletka, musí se výsev provést v první polovině července, aby rostliny nestihly vyběhnout do květu před přezimováním. Tento termín výsevu je vhodný i pro víceleté pěstování, které je běžné při pěstování na semeno (Small, 2006). Jiný autor doporučuje výsev v polovině října, aby se zajistil vysoký výnos esenciálních olejů (Ayub et al., 2008). V literatuře se totiž uvádí, že výtěžnost semen stoupá s přibývajícím věkem rostliny a největší je ve třetím roce (Small, 2006). Při přezimování jsou možné ztráty. Nicméně rostliny, které zimu přežijí, jsou silnější (Rashed Mohassel et al., 2009).

Nejběžnější je výsev přímo na stanoviště do sponu 30 - 35 cm. V některé literatuře se doporučuje až 50 cm. Čím větší je spon mezi rostlinami, tím více je na rostlině okolíků a semen (Falzari et al., 2005). Navíc také stoupá výtěžnost esenciálních olejů ze semen. Ve výzkumu se jako nejlepší projevil spon 30x40 cm (Falzari et al., 2006).

Na kvalitu esenciálních olejů a jejich složení má vliv i množství živin v půdě. V osevním postupu se zařazuje do druhé pěstební trati. Způsobem hnojení se dá ovlivnit procentuální zastoupení některých terpenů.

Na růst rostliny má vliv hlavně zastoupení dusíku a fosforu. Přihnojení dusíkem 100 kg/ha zaručí dostatečně vysoké rostliny, ale na druhou stranu se zpozdí kvetení. Fosfor a dusík mají i příznivý vliv na kvalitu a výtěžnost semen. Při aplikaci 75 kg N/ha a 50 kg P₂O₅ mají semena po sklizni větší výtěžnost olejů. 100 kg dusíku/ ha už výtěžnost semen snižuje (Raj and Thakral, 2011).

Hnojením organickými hnojivy nemá velký vliv na celkový obsah esenciálních olejů, ale druhy organických hnojiv mají zásadní vliv na obsah jednotlivých terpenů. Například obsah anetholu se zvýší při použití jakéhokoli organického nebo biologického hnojiva, ale rostliny hnojené vermikompostem s aplikací bakterie *Pseudomonas putida* zaznamenaly nejvyšší nárůst. Opačný efekt mělo toto hnojivo na obsah limonenu. Jeho obsah se snížil dokonce o 58 % od kontrolního vzorku (Mahfouz and Sharaf-Eldin, 2007).

Termín sklizně se odvozuje od způsobu použití rostliny. Pokud se využívají listy, tak je sklizeň možná téměř celé vegetační období. Semena se dají sklízet podle termínu výsevu od září do října (Small, 2006). Z jednoho hektaru je možné sklídit 1,5 t suché drogy (Hruška, 2011).

F. vulgare může být hostitelskou rostlinou některých chorob a škůdců. Ochrana proti nim se však dělá jen zřídka, jelikož nezpůsobují tak závažné hospodářské škody. Z těch nejzávažnějších lze jmenovat molice a mšice. Na rostlině je možné naleznout také krásnou housenku motýla *Papilio machaon* Linnaeus, 1758 (Papilionidae), který dokáže velmi rychle listy rostliny zkonzumovat. Tyto housenky jsou v ČR spíše vzácné (Small, 2006). Vůně a chuť *F. vulgare* přitahuje slimáky a hlemýždě (Wong, 2011).

4.1.3. Využití

F. vulgare zaznamenává uplatnění v celé řadě odvětví. Z historického hlediska je fenykl zatížen spoustou polopravd a mýtů. Například ve starých řeckých bájích se píše, že Prométheus dokázal díky stonku *F. vulgare* ukrást bohům oheň. Odborníci se však domnívají, že se nejednalo o *F. vulgare*, ale o ločidlo (*Ferula assa-foetida*), kterému se také říká „gigantický fenykl“ (Small, 2006). Pokud by se vyjmenovávala ta nejdůležitější odvětví,

nesměla by chybět gastronomie, farmacie, kosmetika a zemědělství. Řada lidí si pěstuje *F. vulgare* na zahradě jako okrasnou rostlinu nebo častěji jako užitkovou rostlinu.

V některých světových kuchyních jako je indická a provensálská má *F. vulgare* nezastupitelnou roli. V gastronomii se využívají doslova všechny části. Dokonce i pyl, který je velmi cenný a využívá se zejména v italské kuchyni jako dochucovadlo (Galloway, 2007). Stejně se využívají i sušená semena, která připomínají anýz. Bulvy některých odrůd fenyklu se používají jako příloha. Známa je také fenyklová polévka, v poslední době hodně oblíbená v některých salátériích (Azeez, 2008). Sušená lodyha se drtí a tvoří součást provensálského koření. Mladé výhonky se vaří a dochucují některá jídla. Výborně se hodí například k rybám. V neposlední řadě je *F. vulgare* oblíbená příchutí bylinných likérů (Clevly and Richmondová, 2007), bonbónů proti kašli, a dokonce i zmrzlin (Small, 2006).

V medicíně se používá jak v tradiční, tak v moderní. Staří Číňané a Indové používali *F. vulgare* na hadí uštknutí. Dodnes se v čínské lidové medicíně využívá na různá onemocnění, jako jsou žaludeční potíže, revmatismus a zimnici (He and Huang, 2011). Na žaludeční potíže se používá i v jiných lidových léčitelstvích. Běžně se vaří fenyklový čaj proti nadýmání, žaludečním kolikám a nechutenství (Hruška, 2011). Ženám se *F. vulgare* doporučoval pro podpoření laktace. V tureckém lidovém léčitelství se semena používala jako uklidňující prostředek a uspávací lék (Baytop, 1999).

V moderní medicíně je znám *F. vulgare* pro své hepatoprotektivní účinky (Rabeh and Aboraya, 2014), antispasmatické (protikřečové), antioxidantní a antifungální účinky (Azeez, 2008). V posledních letech se esenciálnímu oleji připisují i protinádorové účinky, jelikož obsahuje velké množství anetholu (Anand et al., 2008). Vodné i acetonové extrakty ze semen *F. vulgare* vykazují stejnou antibakteriální aktivitu. Oba tyto extrakty byly testovány na celé řadě bakterií, které způsobují nemoci lidí. Z těch nejběžnějších lze jmenovat *Staphylococcus aureus*, *Escheveria coli*, *Salmonella sp.* a *Pseudomonas aeruginosa* (Kaur and Arora, 2009).

Jelikož se *F. vulgare* vyznačuje velkým množstvím biologicky aktivních látek, nabízí se jeho použití v ochraně rostlin. Nicméně v zemědělské praxi není prozatím použití *F. vulgare* časté, jelikož je minimum registrovaných přípravků. V registru přípravku je zapsán přípravek HF-Mycol registrovaný však jen jako pomocná látka k navození a posílení odolnosti rostlin. Navíc je jeho použití možné jen na okrasné, ovocné a zeleninu.

Ve výzkumu se provádí testy jak na škůdce, tak na patogeny. V jednom z výzkumu se vyzolovaly majoritní monoterpeny z *F. vulgare* a aplikovaly se na filtrační papír. Při aplikaci 0,168 mg estragolu/cm² na filtrační papír umístěný k druhu *Sitophilus oryzae* (pilous rýžový) byla 91 % úmrtnost během jednoho dne. O procento menší účinnost měl anethol

a fenchol na *Callosobrochus chinensis* (zrnokaz čínský). Anethol měl 100 % účinnost na druh *Lasioderma serricorne* (červotoč tabákový) a o při aplikaci 0,105 mg/cm² (Kim and Ahn, 2001).

Pokud jde o fungicidní účinky, tak se prokázaly u *Sclerotinia sclerotiorum* (Soylu et al., 2007), *Candida albicans* (Pai et al., 2010), *Alternarie alternata* a *Fusarium oxysporum* (Özcan et al., 2006), což jsou velmi častí původci chorob hospodářských rostlin. V pokusech se však také projevíly stimulační účinky extraktu z květů *F. vulgare* na *Rhizoctonia solani* (Özcan et al., 2006).

4.2. *Mentha spicata* L.

Rod *Mentha* zahrnuje 18 druhů, z čehož jedenáct se považuje za australské endemity (Small, 2006), a 11 hybridů (Lawrence, 2006). Jiný autor uvádí, že existuje dokonce 3000 druhů máty (Lawrence, 2006). Druh *Mentha spicata* se považuje za kulturní rostlinu. Tento kříženec s plodnými semeny vznikl křížením druhu *Mentha longifolia* s *Mentha suaveolens*. Díky ní vzniklo několik nových kříženců z čehož nejdůležitějším druhem je nejspíš *Mentha x piperita* (Podlech, 2002). V některých publikacích se označuje jako *Mentha viridis*.

Svou domovinu má *M. spicata* ve Středozeří. Téměř plevelná se zdá být v Řecku, kde se vyskytuje její divoká forma (Kokkini and Vokou, 1989). Mátu klasnatou lze najít nejen v zahradních centrech a zahradách, ale i podél cest, na loukách a na zanedbaných polích (Small, 2006).

Své jméno získala máta klasnatá podle tvaru květenství a listů. Jméno rodu je odvozeno z řecké mytologie. Minthe byla vodní víla, do které se údajně zamiloval bůh podsvětí Hádes. Jeho žárlivá manželka Persefona však Minthe proměnila v obyčejnou, nevýznamnou květinu. Hádes této rostlině alespoň přisoudil nezaměnitelnou vůni, aby si na Minthe vzpomněl pokaždé, když si k rostlině přičichne (Ambrose et al., 2016). Matka Persefony Demeter vzala navíc rostlině všechna semena (Bertrand, 2014). Je však také možné, že toto označení pochází ze zapomenutého jazyka Středozeří používaného před 4000 lety (Small, 2006).

Tato *M. spicata* se dá v rámci rodu *Mentha* zařadit do skupiny 'Spicateae', jelikož má špičaté nebo též klasnaté květenství. Spolu s ní jsou v této skupině zařazeny také *Mentha x piperita*, *Mentha longifolia* nebo *Mentha suaveolens*. Existuje také skupina, která rozděluje rod *Mentha* podle majoritních monoterpenů, které obsahují. V tomto případě se *Mentha spicata* zařazuje do skupiny karvonové cesty. Zajímavé je, že její potomek *M. x piperita* se řadí do skupiny mentolové cesty (Šarić-Kundalić et al., 2009).

M. spicata je pěstována na celém světě, ale asi nejvíce v USA, Rusku, Japonsku a v Německu. Komerčně je máta klasnatá velmi významná. Více prodávaným druhem už je jen máta peprná, potomek *M. spicata*. Odhaduje se, že ročně se prodá okolo 800 t vyzolované silice máty klasnaté (Lawrence, 1992). O dvanáct let později bylo uvedeno, že je světová spotřeba mátových esenciálních olejů stanovena na 7,5 t (Telci et al., 2004), což je obrovský rozdíl.

4.2.1. Popis

Vzpřímeně rostoucí vytrvalá bylina s charakteristickou vůní dorůstá do výšky 30 – 100 cm. V zemi má dlouhé oddenky, kterými se snadno rozrůstá. Lodyha má hranatý tvar a bohatě se větví (Small, 2006). Na rozdíl od máty peprné (*Mentha x piperita*) jsou k lodyze listy připojeny pouze krátkým řapíkem (Clevely and Richmondová, 2007). Dalo by se konstatovat, že jsou listy k lodyze téměř přisedlé (Small, 2006).

Jednotlivé listy jsou jasně zelené nebo našedlé, oválné, ostře špičaté s výraznou žilnatinou (Clevely and Richmondová, 2007). Dosahují velikosti 5-9 cm a mají pilovitý okraj. Na rubové straně mohou, ale nemusí být větvené i nevětvené chloupky (Brickell et al., 2008). Celé listy jsou prostoupené vonnými silicemi.

Květy jsou hustě uspořádané do válcovitého lichoklasu dlouhého až 11 cm. Samotné kvítky mají velikost okolo 3 mm a vyskytují se v růžových, světle fialových a bílých barvách (Brickell et al., 2008). Objevují se od července až do září a často jsou sterilní. Plodem je tvrdka hnědé barvy velká necelý centimetr (Kokkini and Vokou, 1989).

Máta klasnatá je bohatá na esenciální oleje, ve kterých je velké množství látek terpenické povahy. Hlavní složku oleje tvoří vždy karvon, ale další složky jsou ve studiích rozdílně. *Mentha spicata* rostoucí v severozápadních Himalájích obsahuje od 49,62 % do 76,65 % (Chauhan et al. 2009). Někdy se jako další významná složka uvádí menthon (Soković et al., 2009), ale častěji limonen (Chauhan et al., 2009, Aggarwal, 2002). Za zmínku rovněž stojí 1,8-cineol, trans-karveol, menthol.

Dále je v rostlině obsaženo okolo třiceti terpenů, z čehož určité procento zabírají i seskviterpeny a diterpeny fytyl. Ze seskviterpenů lze jmenovat například α -humulen, jasminen-E a trans-caryophyllen (Znimi, 2011).

4.2.2. Pěstování

M. spicata se považuje za nenáročnou zimuvzdornou rostlinu. Velmi často se chová spíše jako plevel, jelikož se rychle rozšiřuje svými podzemními oddenky. Nároky na pěstování se shodují s jeho potomkem *Mentha x piperita*.

Půda by měla být výživná a dostatečně vlhká. Často bývá *M. spicata* nalézána v blízkosti vodních toků a kořeny mohou zasahovat i přímo do vody. Stojatá voda však rostlině neprospívá (Small, 2006). Tento druh máty však dobře snáší i méně vlhké půdy (Abbas, 2009). Ideálním stanovištěm jsou písčitohlinité půdy s dostatkem živin. Zároveň by půda měla být dostatečně hluboká nebo dobře hnojená. Nejvýhodnější je neutrální pH, ale dobře zvládá rozmezí od 4,5 do 7,5 (Small, 2006).

Ideální je pro rostlinu plné slunce, ale snáší i polostín. Přistínění se však negativně projeví na obsahu biologicky aktivních látek, zejména silic. Rostlina začíná růst za teploty 7 °C, a roste až do teploty 27 °C. optimální je však 17 °C. Pro tvorbu silic je také důležitý dlouhý den, tedy 15 hodin světla (Small, 2006).

Bylo prokázáno, že hnojení dusíkatými a fosforečnými hnojivy významně ovlivňuje růst biomasy a výtěžnost oleje. Fosfor navíc přispívá k většímu větvení rostlin, což rostlině zlepšuje kompenzační schopnost. Jako nejlepší se ukázalo hnojení 100 kg dusíku na hektar a 150 kg P₂O₅ na hektar za rok. Po takovémto hnojení se zvýšil obsah chlorofylu a sušiny navýšil se počet větví i listů, celá rostlina byla vyšší a vyšší byl i výnos sklizené hmoty (Abbas, 2009).

Ze semene se *M. spicata* rozmnožuje minimálně. Často se totiž kříží a vzniká nevyrovnaná sadba. Navíc se semena na rostlině málo tvoří a klíčivost je nízká (Kokkini and Vokou, 1989). Lepším způsobem rozmnožování je dělení oddenků brzy z jara po rozmrznutí půdy. Vysazují se na vzdálenost 30 až 50 cm. Na jednom stanovišti by se měli pěstovat 4-5 let, později ztrácí produkční hodnotu (Small, 2006).

Pro správné složení silicí je důležité správně načasovat sklizeň. Ideální dobou se jeví období, kdy je 10 % porostu v květu. Pro jistotu je možné udělat předsklizňové vzorkování pro zjištění optimálního obsahu silic. Sklizeň probíhá ráno po oschnutí rosy (Anonymous, 2012). Někdy se povede provést i dvě sklizeň za sezónu, ale druhá sklizeň je v zásadě chudší než první. Výnos máty sahá k hodnotám okolo 42 t/ha (Small, 2006).

Mátu klasnatou v průběhu vegetace napadají různé housenky motýlů, mšice, svilušky, nosatcovití a mandelinkovití brouci. Největším škůdcem je mandelinka mátová (*Chrysolina herbacea*), která minuje v listech. Z chorob se jeví jako nejvážnější rez mátová (původce *Puccinia menthae*), která deformuje výhony a poškozují listy. Identifikuje se na základě

žlutých až rezavých kupek výtrusů na listech. Ty snižují asimilační plochu a zároveň také obsah silic (Anonymous, 2012). Téměř pravidelně se objevuje septotioza máty (původce *Septoria menthicola*). Drobné nekrotické skvrny snižují asimilační plochu.

4.2.3. Využití

M. spicata je považována za velmi oblíbenou bylinu, a tento druh za nejoblíbenějších z rodu *Mentha*. I když toto tvrzení je sporné, jelikož většina lidí si spíše vzpomene na mátu peprnou (*Mentha x piperita*). Máta klasnatá je nejméně štiplavý druh (Clevely and Richmondová, 2007). Ve starověku byla velmi ceněna a v některých zemích dokonce sloužila jako platidlo. (Grieve).

V křesťanství představuje *M. spicata* symbol zrady a podvodů. Údajně prozradila úkryt Marie a Ježíška. Ve starověkém Řecku se věřilo, že *M. spicata* povzbuzuje milostné city a snižuje odvahu, proto se zakazovala její konzumace vojákům. Také se traduje, že máta klasnatá dodává klidný spánek (Bertrand, 2014).

Používá se do nejrůznějších nápojů, ať už alkoholických, tak nealkoholických, do cukrovinek a ostatních pokrmů. Dodává jim svěžít, příjemnou a nezaměnitelnou chuť. Nepostradatelný je v tradičním libanonském salátu Tabouleh s bulgurem, zeleninou a směsí bylinek. Oblíbená je také v omáčce k pečenému jehněčímu (Small, 2006).

Nejen kvůli aromatu jsou výtažky z máty používány do zubních past a ústních vod pro lepší regeneraci dásní a svěží dech. Ve voňavkářství byla používána již ve starověkých Aténách, kde bylo zvykem na každou část těla dávat jinou vůni a *M. spicata* patřila na rameno. Staří Izraelité vykládali podlahy synagog větvičkami máty a po sešlápnutí se uvolňovala příjemná vůně. Často je součástí čichacích solí a regeneračních krémů na popraskané ruce (Grieve).

V medicíně se používá proti zánětům průdušek, nevolnostem, rýmě, kašli, střevním kolikám, poruchám trávení a při horečkách (Starburck, 2001). Bylina má účinné antimikrobiální účinky. Růst kožních mykóz však inhibuje pouze omezeně (Adam et al., 1998). Patří také mezi antioxidanty, jelikož obsahuje polyfenolické látky (Kanatt et al., 2007). Jelikož neobsahuje mentol, jeho účinky nejsou tak vysoké jako u ostatních druhů rostlin rodu *Mentha*. Užívá se jako čaj, tinktura nebo v podobě éterických olejů. Při nachlazení se inhaluje (Schönfelder and Schönfelder, 2010).

Potenciál má také v ochraně rostlin, dokonce se v některých zemích již používá (Koul et al., 2008). Karvon, obsažený v esenciálním oleji máty, inhibuje růst bakterií, hub a repelentně působí i na hmyz. Vyzkoušen byl proti mouše domácí, kde se repelentní účinky potvrdili.

Úspěšnost zaznamenal olej z máty i proti brouku *Callosobrochus maculatus*. Projevil se jako dobrý ovicid, dokonce účinnější než ostatní druhy máty (Raja et al., 2001).

4.3. *Thymus vulgaris* L.

Tymián obecný, lidovým názvem dymián se řadí mezi vytrvalé rostliny do čeledi *Lamiaceae*. Lidé ho někdy nazývají mateřídouška, i když tento název přísluší spíše druhu *Thymus serpyllum*. Své rodové jméno získal *T. vulgaris* z řeckého slova *thumos*, což v překladu znamená síla nebo odvaha. Ve starověkém Řecku se věřilo, že *T. vulgaris* dodává odvahu a pomáhá při nesmělosti. Mladé dívky dokonce vyšívaly rytířům tymiánové ratolesti na šátky (Small, 2006). K rodu *Thymus* se v historii chybně řadily rostliny z rodu *Satureja* (Stahl-Biskup and Sáez, 2002).

Vědecké jméno pro něj sestavil sám Carl Linné, i když v knize *Hordus Cliffortianus*, ve které tento druh popisoval, ho nazývá jako *Thymus erectus*. Správný název získal až o 11 let později v knize *Hortus Upsaliensis* (Stahl-Biskup and Sáez, 2002).

T. vulgaris patří mezi historicky významné rostliny. Lidé v dávných dobách věřili v různé mýty spojené s touto bylinou. Záhony s *T. vulgaris* považovali za domov trpaslíků. Svobodné dívky nosily *T. vulgaris* zapletený ve vlasech, aby dali vědět mládencům, že jsou svobodné a připravené do manželství (Kublick, 1990).

Ve volné přírodě se v České republice nenachází, ale ve své domovině, v jižní Evropě, roste hojně podél středozemního moře (Hruška, 2011).

4.3.1. Popis

Rostlina byla poprvé popsána ve středověku německou mystičkou a přírodovědkyní Hildegardou z Bingemu (Hauschild, 2011). Tymián obecný má polokeřovitý charakter a dorůstá do výšky 30 cm (Podlech, 2002). Někteří autoři dokládají výšku do 50 cm (Small, 2006, Wenzer, 2014). Celá rostlina má celistvý, kompaktní charakter. Stonky jsou hranaté u báze rostliny dřevnaté, vystoupavé nebo vzpřímené (Clevely and Richmondová, 2007).

Eliptické až čárkovité listy rostou na větévkách přeslenitě. Ze spodní strany jsou šedavě zelené, mírně ochmýřené. Okraje listu se silně prohýbají směrem dolů (Hruška, 2011). Ze spodu i z vrchu listu se nacházejí žláznaté trichomy plné éterických olejů. Svrchní strana listu je světleji zelená než spodní (Clevely and Richmondová, 2007).

Květy se objevují od května až do října (Podlech, 2002). Hlavní období květu se však připisuje červnu. Jednotlivé květy vyrůstají z paždí listů a jsou uspořádány do kulovitých lichopřeslenů po 3 až 6. Kalich a koruna jsou pyskaté. Horní pysk kalichu a koruny je větší,

trojzubý, spodní menší dvojjzubý. Oba pysky mají žlásky. Dvě ze čtyř tyčinek v květu zakrňují, semeník vyrůstá do dvojklané blizny (Hruška, 2011). Barva květů přechází od růžové až po fialovou (Podlech, 2002). Někdy mohou být modrofialové (Wenzer, 2014) nebo bílé (Clevely and Richmondová, 2007).

Po odkvětu se na rostlině objevují semena. Velmi malé tvrdky uspořádané po čtyřech a využívají se hlavně k rozmnožování (Hruška, 2011).

Jak již bylo řečeno, listy prostupují žláznaté trichomy s éterickými oleji, které rostlina využívá k strategii přežívání. Primárními složkami tymiánových esenciálních olejů je thymol a karnekrol. V menší míře pak linalool, terpinen-4-ol, borneol, 1,8-cineol a γ -terpinen (Stahl-Biskup, 1991). Složení se však mění v závislosti na odrůdě, průběhu počasí a stanovištních podmínkách. Například při analýze esenciálních olejů z *T. vulgaris* rostoucím ve východním Maroku se primární terpeny ve vysokých koncentracích nezobrazily. Byl identifikován kafr (38,54%), kamfen (17,19%), α -pinen (9,35%), 1,8-cineol (5,44%), borneol (4,91%), β -pinen (3,90%) a další (Imelouane et al., 2009).

F. vulgare má několik chemotypů. Nejčastěji se uvádí šest, ale v některé literatuře je jich až devět (Stewart, 2005). Jednotlivé chemotypy jsou pojmenovány podle majoritně zastoupeného terpenu. Rozlišují se chemotypy: CT thymol, CT geraniol, CT α -terpineol, CT thuyanol, CT carvacrol a CT linalool (Thompson et al., 2003). Existují také CT 1,8 cineol, CT p-cymen a CT phenol (Stewart, 2005).

4.3.2. Pěstování

T. vulgaris bývá označován jako bylina chudého muže, jelikož dobře prospívá v chudých půdách. Nejlépe mu vyhovuje lehká, dobře propustná, písčité nebo hlinitopísčité půda (Kublick, 1990). Rostlina prosperuje spíše v alkaličtějším pH v rozmezí od 4,5 do 8. V těžkých a zamokřených půdách ztrácí *T. vulgaris* aroma a zkracuje se mu životnost (Small, 2006). Do truhlíků se doporučuje smíchat dva díly zahradnického substrátu s jedním dílem kompostu a jedním dílem písku (Rechtová, 2015).

Stanoviště by mělo být slunné a chráněné před prudkými větry (Hruška, 2011). Rostlina je mrazuvzdorná, ale na nepůvodním stanovišti může namrzat, proto je vhodná zimní příkrývka. Optimální teplota pro růst je 16 °C, ale roste v rozmezí od 4 do 28 °C (Small, 2006).

Rozmnožování tymiánu je možné více způsoby. Semem se získá nejvíce rostlin, ale klíčení se musí věnovat pozornost, nejlépe předpěstovat sadbu ve vytápěném prostoru. Semena jsou velmi malá a obtížně se vysévá na konečnou vzdálenost. Klíčí obvykle po 8 dnech (Small, 2006). Nejvýhodnějším způsobem rozmnožování je řízkování polovyzrálých výhonů

od července do srpna (Rechtová, 2015). Tímto způsobem se dobře rozmnožují i různé kultivary, které si tak zachovávají své původní vlastnosti. Řízky se mohou pěstovat pod folií nebo na venkovním záhonu. Píchají se do půdy na vzdálenost 20 cm (Hruška, 2011). Zahrádkáři a malopěstitelé rozmnožují *T. vulgaris* dělením kořenů, hřížením nebo kopčením (Small, 2006).

Konečná vzdálenost rostlin od sebe má vliv na obsah esenciálních olejů. Nejvíce thymolu obsahují rostliny ve sponu 45x50 cm, ale z komerčního hlediska je nejlepší pěstovat rostliny ve sponu 15x50 cm, jelikož se získá více sušiny, oleje a thymolu na jednotku plochy (Badi et al., 2004). Spon se však řídí dostatkem vody nebo případným zavlažováním. Pokud se předpokládá suchý rok a ve výsadbách není provedena zálivka, spon by měl být větší (Khazaie et al., 2008).

O požadavcích na hnojení se vedou mezi odborníky debaty. Jedna ze studií uvádí, že dodávání dusíku nemá zásadní vliv na obsah terpenických látek (Baranauskienė et al., 2003). Jiný z autorů uvádí, že nejlepším hnojivem pro *T. vulgaris* je kravský hnůj a močovina. Zvýší se jak sušina, tak i obsah čerstvé hmoty (Palada et al., 1995). Z ekonomického hlediska je nejspíš nejlepší nehnojit průmyslovými hnojivy.

Sklizeň *T. vulgaris* se v příznivých letech provádí i dvakrát ročně. Optimální doba odběru je v počátcích nakvétání (Badi et al., 2004). V komerční produkci je sklizeň prováděna v období květu za pomoci kombajnů. Výnos se pohybuje v příznivých letech kolem 1,1-2,2 t/ha (Small, 2006). U malopěstitelů se sklizeň provádí průběžně celý rok (Rechtová, 2015). Výsadbu je vhodné obnovit jedenkrát za 4 roky, jelikož se zhoršuje kvalita sklizeného materiálu (Clevely and Richmondová, 2007).

Se škůdci a chorobami nemívá *T. vulgaris* problém (Rechtová, 2015, Brickell et al., 2008). Sám se podílí na ochraně proti nim na ostatních rostlinách.

4.3.3. Využití

Používání *T. vulgaris* má dlouhou historii. Využívá se jak rostlina samotná, tak její olej. První zápis je znám ze Sumeru, kde bylo před tisíci lety zapsáno na kamennou destičku doporučení lékaře k užívání semen *T. vulgaris* spolu se semeny šafránu a piva (Small, 2006). Římští vojáci se koupali ve vodě s *T. vulgaris*, jelikož se domnívali, že jim to dodá odvalu. Vůně *T. vulgaris* byla známa také z chrámu, jelikož se používal do kadidel k vykuřování těchto staveb (Basch et al., 2004). Na některých sakrálních obrazech se ježíš zobrazuje na slámě z *T. vulgaris*.

Řada evropských kuchyní se bez *T. vulgaris* neobejde. Používá se jako koření v sušeném i čerstvém stavu. Dodává pokrmům hořkosladkou (Small, 2006), silně aromatickou chuť, která

se vařením neztrácí (Rechtová, 2015). Velmi vhodný je ke zvěřině a rybám. Používá se však do řady dalších i národních pokrmů. Používá se také ve směsích s jinými bylinkami. Ve Francii bylo zvykem krmit králíky před porážkou právě *T. vulgaris*, aby jejich maso dostalo správnou chuť (Small, 2006). Používá se též do bylinných likérů a bonbonů. V neposlední řadě své uplatnění získává v konzervaci masa (Rechtová, 2015).

Díky svým antibakteriálním, antivirovým, antimykotickým a antiseptickým účinkům má uplatnění nejen ve zdravotnictví. V lidovém léčitelství se používá na léčbu černého kašle, při chřipce, otocích a zažívacích obtížích. Při svalových křečích se tymiánový olej spolu s rozmarýnovým olejem a francovkou maže na postižená místa (Hruška, 2011). Tímto výčet uplatnění *T. vulgaris* v tradičním léčitelství rozhodně nekončí. Používání tymiánového oleje se nedoporučuje u dětí a těhotných žen, jelikož má i velké množství nežádoucích účinků. Bohaté uplatnění má tymiánový olej v aromaterapii, ale aplikace je určena pouze pro odborníky. Často se směšuje s borovicí limbou a citronem (Germann and Germann, 2013).

Tymiánové oleje vystupují z mýdel, ústních vod, zubních past, sirupů proti kašli a čistících prostředků. Specifické uplatnění má při balzamování mrtvol (Basch et al., 2004). V okrasném zahradnictví je velmi často vysazován do nádob, na okraje záhonů a do skalek v různých odrůdách.

V ochraně rostlin je využití bohaté. V zemědělské praxi se příliš nepoužívá, jelikož nejsou žádné registrované přípravky a postřiky z tymiánového oleje rychle emitují za slunečního světla. Uvádí se však, že jsou složkou fungicidních přípravků (Small, 2006). V registru přípravků na ochranu rostlin je zapsán tymiánový olej v kombinaci s jinými esenciálními oleji jako Insect-Stop a FUNGI-STOP, pomocné přípravky na zvýšení obranyschopnosti rostlin. Používají se na zeleninové a ovocné druhy rostlin.

V in vitro podmínkách byl thymol a esenciální olej z *T. vulgaris* účinný proti rodům hub *Aspergillus* a *Penicillium* (Šegvić Klarić et al., 2007). Tymianový olej má dobrý předpoklad pro ochranu jahod před *Botrytis cinerea* a *Rhizopus stolonifera*, patogeny napadající vyžralé a skladované druhy ovoce a zeleniny (Reddy et al., 1998). Aplikací tymiánového oleje se zkrátí ochranná lhůta, která při dozrávání jahod hraje důležitou roli.

Insekticidní účinky *T. vulgaris* jsou zatím ve fázi výzkumu. Účinná aplikace již byla zjištěna na larvy *Alphitobius diaperinus* (Szczebanik et al., 2012), *Culex quinquefasciatus* (Pavela et al., 2009), *Rhizopertha dominica* (Regnault-Roger, 1997) a dalších. U tohoto způsobu ochrany však velmi záleží na vývojovém stádiu hmyzu, dokonce u larev na instaru. Důležité je i složení oleje, převážně zastoupení majoritních složek. Prokazatelně je *T. vulgaris* repelentní pro

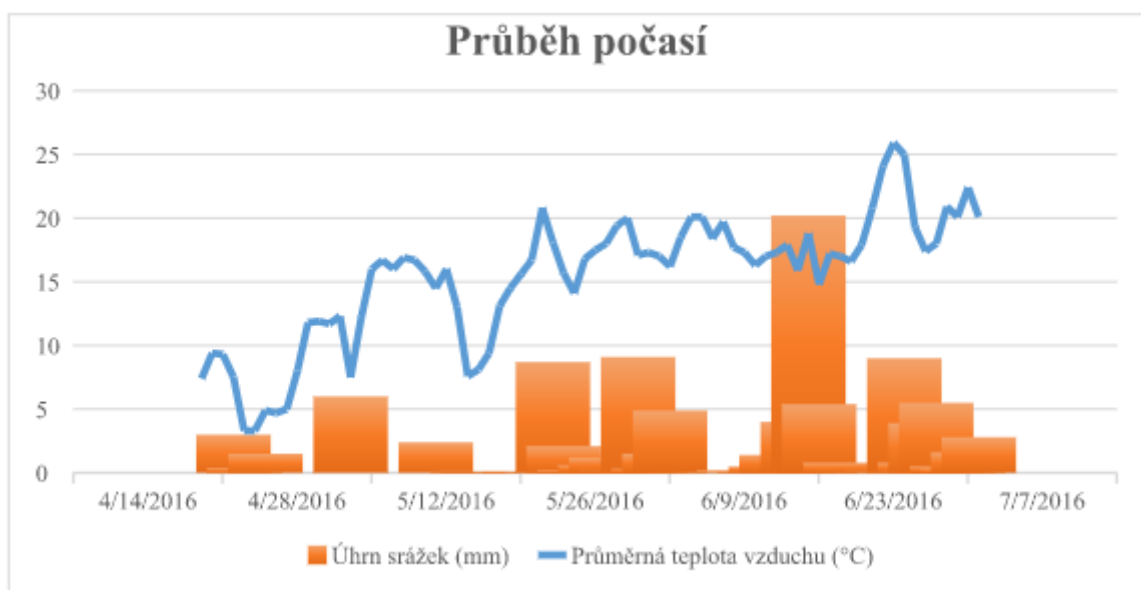
slimáky, hlísty, bělásky a mšice. Z toho důvodu se v zahrádkách využívá tymián jako lemová rostlina (Bruchter, 2012).

5. Materiál a metody

5.1. Založení experimentu

Celý experiment proběhl v jednom vegetačním období ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v. v. i v Praze Ruzyni na adrese Drnovská 507/73, 161 06 Praha 6 – Ruzyně, v katastrálním území 729710. Tato lokalita se nachází v mírném podnebném pásmu. Během experimentu byla zaznamenána průměrná denní teplota vzduchu a denní úhrn srážek (graf č. 1, v příloze tab. č. 1).

Graf č. 1: Průběh počasí v růstu a sběru rostlin



Na třech pozemcích byly pěstovány tři druhy rostlin. Pozemky měly jílovitou hlinitopísčitou půdu s pH 6, 9. Při půdním rozboru byly zjištěny hodnoty K (138 mg.kg^{-1}), N (118 mg.kg^{-1}) a P ($0,51 \text{ mg.kg}^{-1}$).

Testované rostliny byly *Foeniculum vulgare* Mill. v českém kultivaru 'Moravský', *Mentha spicata* L. a *Thymus vulgaris* L. ve švýcarském kultivaru 'Varico 2'. Před vysazením byly pozemky vyhnojeny 50 kg/ha N a $70 \text{ kg/ha P}_2\text{O}_5$. *F. vulgare* byl vysazen ve sponu $40 \times 40 \text{ cm}$, což odpovídá $62\,500$ rostlinám na ha, *M. spicata* do sponu $25 \times 25 \text{ cm}$ ($160\,000$ rostlin/ha) a *T. vulgaris* ve sponu $10 \times 20 \text{ cm}$ ($500\,000$ rostlin/ha). Všechny rostliny byly při experimentu ve věku 1 rok.

Jednotlivé pozemky byly rozděleny na osm stejně velkých políček, představující dvě varianty ve čtyřech opakování. První varianta byla kontrolní a druhá elicitovaná. Každé políčko bylo opatřeno plastovou jmenovkou. Pro *F. vulgare* byla použita značka F, pro *M. spicata* M a pro *T. vulgaris* T. Varianty byly očíslovány (obr. č. 2).

5.2. Aplikace elicitacních přípravků na testované aromatické rostliny

Elicitační přípravek byl připraven v podobě směsi přijatelných živin, konkrétně N v dávce 93 g.kg⁻¹, P₂O₅ v dávce 402 g.kg⁻¹ a K₂O v dávce 262 g.kg⁻¹, s kyselinou salicylovou v dávce 20 g.kg⁻¹. Aplikační dávka byla 10 g elicitacního přípravku na 1 litr vody.

Takto smíchaný přípravek byl aplikován ručním postřikovačem na testované rostliny v postříkaných variantách (obr. č. 3). Kontrolní varianty zůstaly bez zásahu. První aplikace byla provedena v počátku kvetení (BBCH 61) v dávce 60 ml/m². U *T. vulgaris* 30. 5., u *F. vulgare* 6. 6. a u *M. spicata* 20. 6. Ve stejný den před postřikem byly odebrány kontrolní vzorky.

5.3. Odběr a příprava vzorků

Vzorky byly odebírány 2, 4, 8, 10 a 12 dní po postřiku elicitacním přípravkem. Z *F. vulgare* se odebírala jářma listů ručně bez pomůcek. Z *T. vulgaris* a *M. spicata* byla zahradnickými nůžkami odstříhána nat'. Z každého vzorkového pole se náhodně vybralo deset rostlin, z kterých se odebraly vzorky rostlinného materiálu. U *F. vulgare* se odebíralo 150 listů, u *M. spicata* 100 lodyh a u *T. vulgaris* větévky z celých polokeřů přibližně v 1/2. Hmotnost vysušených vzorků by měl mít alespoň 100 g. Všechny vzorky byly sbírány do prodyšných pytlů z bílé netkané textilie o velikosti 50x130 cm.

Ihned po odběru byly vzorky vysušeny v sušárně při standardních podmínkách, což je při teplotě 38 – 40 °C, proudění vzduchu 5 m/s a za tmy. Délka sušení byla u každé byliny jiná. Nejdéle se sušil *F. vulgare* a nejkratší dobu *T. vulgaris*.

Po úplném vysušení bylin se v laboratoři vzorky připravily pro izolaci esenciálních olejů. *T. vulgaris* byl zbaven větévek, *M. spicata* lodyh a *F. vulgare* byl rozdrcen laboratorním elektrickým mixérem při rychlosti 18 000 otáček/min.

5.4. Kvantitativní analýza esenciálních olejů

Izolace byla provedena hydrodestilací. Hmotnost vzorků pro izolaci se pohybovala u *T. vulgaris* a *M. spicata* mezi 30 – 40 g, u *F. vulgare* okolo 50 g. Navážený vzorek byl převeden do destilační baňky a zalit 500 ml vody. Destilační baňka se dala na elektrický ohříváč baněk a do hrdla baňky se nasadil destilační přístroj zavěšený na držáku (viz obr. č. 4), opatřený chlazením. Destilační přístroj byl zavodněn a spustilo se chlazení. Po přípravě aparatury se spustil spodní i vrchní ohřev. Po přivedení k varu se spodní ohřev vypnul, a odpočítalo se 90 min. Po tuto dobu pronikaly páry esenciálních olejů přes destilační přístroj do druhého ramene a zkondenzovaly (obr. č. 5).

Po uplynutí této doby byl ohřívač zcela vypnut a 10 min se nechala destilace ustát. Pomocí kohoutku se odpustila tekutina určena k zavodnění tak, aby bylo možné odečíst hodnotu na stupnici a změřit tak výtěžnost EO. Změřená tekutina se odchytila do plastových zkumavek se šroubovacím uzávěrem o objemu 2 ml (obr. č. 6). Zkumavky byly opatřeny jmenovkou a uloženy do lednice s teplotou nastavenou na 4 °C.

5.5. Kvalitativní analýza EO

Esenciální olej byl pro účely kvalitativní analýzy odpipetován elektrickou pipetou do skleněné víálky se šroubovacím uzávěrem. Odpipetováno bylo 100 µl. Víálky byly opatřeny jmenovkou a poslány na kvalitativní analýzu (obr. č. 7).

Analýza byla provedena plynovou chromatografií s hmotnostním spektrometrem (GC-MS) v Ústavu výzkumu globální změny AV ČR, v. v. i. v Českých Budějovicích profesorem Ing. Janem Třískou CSc. Na tuto chromatografii byl použit Ultra plynový chromatograf Trace GC vybavený Restek křemičitými kapilárními komorami a spojený s hmotnostním selektivním detektorem ISQ. Jako nosný plyn bylo použito helium vstříkované do neděleného režimu rychlostí 1 ml/min. Teplota pece byla nastavena na 40 °C po dobu 5 minut, pak se teplota zvýšila na 150 °C při rychlosti 3 °C za minutu, následně na 250 °C rychlostí 10 °C/min, a nakonec 290 °C rychlostí 25 °C/min. Teplota 290 °C se držela po dobu 10 minut, přičemž teplota potrubí se držela na 250 °C a iontové zdroje na 200 °C.

Ze série deseti vzorků byly náhodně vybrány vzorky dva, které byly vyhotoveny ve třech opakování. Z výsledků těchto vzorků byla spočítána relativní směrodatná odchylka a na základě výsledku bylo určeno, že budou vzorky měřeny pouze jednou. Identifikované komponenty byly porovnány na základě hmotnostního spektra s autentickými standardy. Kvantitativní vyjádření bylo získáno poměrem plochy píku k celkové ploše píků v procentech.

5.6. Biologické testy

Pro zjištění insekticidní účinnosti jednotlivých variant EO z vybraných aromatických rostlin bylo nutné provést biologické testy. Na základě těchto testů byly zároveň porovnány rozdíly jednotlivých variant.

5.6.1. Hmyz

Všechny hmyzí druhy byly získány z laboratorního chovu Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v. v. i. v Praze.

Spodoptera littoralis Boisduval, 1833 (Lepidoptera) neboli blýskavka bavlníková je významný polyfágní škůdce subtropických oblastí Afriky, ale jeho výskyt byl zaznamenán i ve Středomoří a Číně (Nègre et al., 2006). V České republice je zapsán v seznamu karanténních organismů. Mezi hostitelské rostliny tohoto škůdce patří polní plodiny (například bavlník, pšenice, brambory, cukrová řepa a kukuřice), ovocné plodiny (švestky, granátová jablka, lesní jahody), zelenina (salát, chřest, zelí, rajčata, papriky, ...) i okrasné rostliny (karafiáty, hledíky, skočce, atd.). Larvy těchto motýlů způsobují škody žírem na listech, plodech a poupatech.

Pro tyto biologické testy byly použity larvy ze zavedené laboratorní kolonie s více než 20 generacemi. Výživa larev v chovu je prováděna umělou hmyzí výživou (zakoupenou z USA od firmy Stonefly industries). Larvy jsou chovány odděleně podle instarů. Dospělci jsou krmeni 10 % roztokem medu. Navíc jsou dospělci schopni samovolného rozmnožování a vajíčka kladou na filtrační papír ve sklenici. Pro pokus byly použity larvy 3. instaru (obr č. 8).

Culex quinquefasciatus Say, 1823 (Diptera), domácí v řadě tropických oblastí, přenáší celou řadu původců závažných chorob, které ohrožují zdraví lidí. Z těch nejzávažnějších onemocnění lze jmenovat encefalitidu, malárii, žlutou zimnici a lymfatickou filariózu (Gouge et al., 2001). Nejčastěji se vyskytuje v Indii, ale zastoupení má téměř na každém kontinentu (Subra, 1981). K rozmnožování potřebují samice krev savců. Larvy přežívají v znečištěných vodách, tedy v kanalizacích, poškozených septicích a zanedbaných bazénech (Gouge et al., 2001). Obě vývojová stádia se pohybují v blízkosti lidských obydlí.

Larvy byly krmeny psími suchary nebo suchým chlebem s kvasinkovým práškem v poměru 3:1. Dospělci byly udržovány na 10 % sacharóze a myší krvi, kterou potřebují ke svému rozmnožování. Pro biologické testy byly vybrány larvy 4. instaru (obr č. 9).

Musca domestica Linnaeus, 1758 (Diptera), kosmopolitní synantropní druh hmyzu a vektor až 30 původců chorob. Bakterie, viry, prvoky a houby přenášejí převážně na svých tarsech ze zvířete na zvíře nebo ze zvířete na člověka. Nejčastěji přenášení původci chorob jsou *Salmonella sp.*, *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori*, nemoci žaludku a střev. Samice kladou vajíčka do zkažené potravy, hnoje a jiných organických materiálů (Barin et al., 2010).

Z dospělců byly vybrány, za pomoci uspání zvýšeným obsahem CO₂, pouze samice 3 - 6 dní po vylíhnutí z kukly. Larvy mouchy domácí v laboratorních chovech byly krmeny směsí sterilizovaných otrub, vody a sušeného mléka. Dospělci byly chovány v železné kleci obalené průsvitnou tkaninou a vyživovány směsí vody, kondenzovaného a sušeného mléka.

Všechny testované hmyzí druhy byly po celou dobu biologických testů ve stejných podmínkách (cca 25 °C, 50 - 70 % relativní vzdušná vlhkost a světelných podmínkách dlouhého dne v poměru 16:8 světla a tmy).

5.6.2. Akutní toxicita

Akutní toxicita byla zjištěna mortalitou hmyzu měřenou po 24 hodinách. Pro tento test byly použity esenciální oleje z období nejvyšší výtěžnosti. EO získané z *T. vulgaris*, *M. spicata* a *F. vulgare* byly rozpuštěny v acetonu a vytvořila se koncentrační řada o pěti koncentracích. Všechny vzorky se promíchaly na elektrické třepače.

Celý experiment byl prováděn v plastových kulatých kelímcích s víčkem o objemu 100 ml pro larvy lesknice a v hranatých plastových miskách o objemu 150 ml pro mouchy. Do kelímků s larvami *S. littoralis* bylo přidáno jejich standardní krmění, k *M. domestica* pítka s vodou. V experimentu se *S. littoralis* bylo v každé variantě 10 larev, u *M. domestica* 20 jedinců. Každá varianta byla vyhotovena ve třech opakování. Připravené vzorky byly aplikovány na dorsum larev lesknice a dospělců much elektrickou pipetou v objemu 1 μ l. Na kontrolní vzorky byl použit čistý aceton. Vzorky byly opatřeny jmenovkou.

Larvy komárů byly testovány v souladu se standardními postupy WHO (1996) a upraveny podle potřeby daného experimentu (Pavela et al., 2016). Vybrané esenciální oleje byly rozpuštěny v tweenu a vytvořila se koncentrační řada. Roztoky se dále smíchaly s vodou v poměru 1:1 a protřepaly na elektrické třepače. Do kulatých plastových kelímků o objemu 100 ml byl vlit finální roztok. Každá varianta byla vyhotovena ve třech opakováních a opatřena jmenovkou. Do takto připravených variant bylo převedeno 20 larev komárů.

Po 24 hodinách byly vzorky vyhodnoceny. Jedinci bez známky pohybu byly považovány za mrtvé. Mrtví hmyz byl spočítán a zanesen do tabulky.

5.7. Statistická analýza

Výsledky extrakce a analýzy byly podrobeny Studentovu dvouvýběrovému T-testu. Pro účel výpočtu byl použit program Statistika 12. Data kvantitativní analýzy jsou uvedena v průměrných hodnotách se \pm směrodatnou odchylkou vypočtenou ze čtyř opakování. Data kvalitativní analýzy jsou uvedena v průměrných hodnotách ze tří opakování.

Při biologických testech bylo více než 20 % řízené úmrtnosti splněno a opakováno. Při dosažení řízené úmrtnosti 1 - 20 % byla úmrtnost korigována Abbottovou rovnicí (Abbott, 1925). LD₅₀ a LD₉₀ (respektive LC₅₀ a LC₉₀) byla vypočtena regresní rovnicí. Pro určení 95 % mezní hodnoty spolehlivosti (CI 95) byla použita Probitova analýza (Finney, 1971).

6. Výsledky

6.1. Kvantitativní analýza

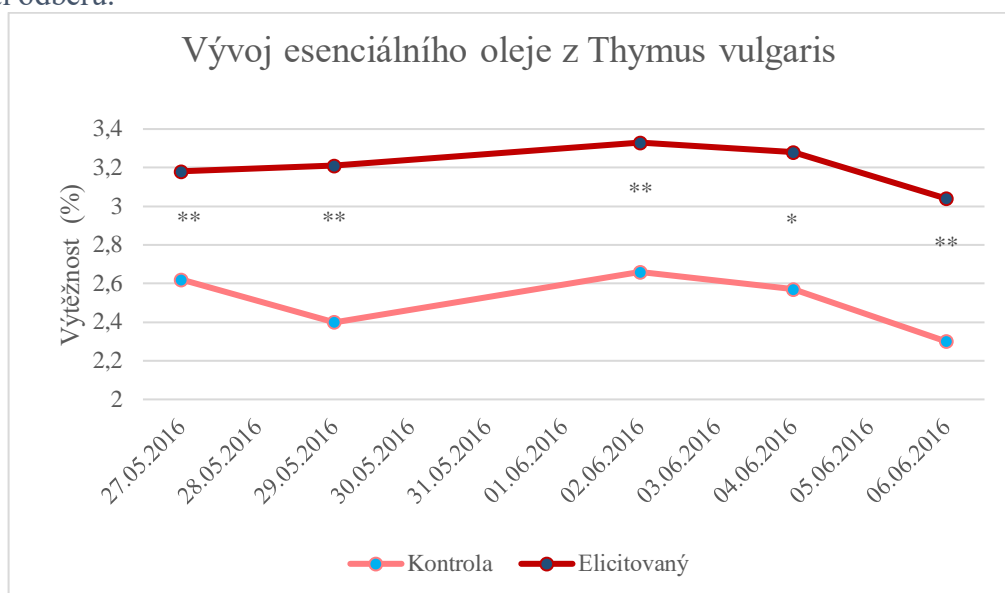
Z izolace esenciálních olejů pomocí hydrodestilace bylo zjištěno zvýšení kvalitativního a kvantitativního obsahu EO při aplikaci elicitálních přípravků (tab. č. 2, 3, 4). *T. vulgaris* vykázal nejvyšší průměrný nárůst EO v porovnání s kontrolním vzorkem při druhém odběru (34,14 %), i když hodnoty T-testu byly téměř vyrovnané (tab. 2). *F. vulgare* vykázal nejvyšší kvantitativní obsah EO při třetím odběru (26,13 %), který byl statisticky velmi významný (tab. č. 3), a *M. spicata* až při pátém odběru (25,91 %), kde byl rozdíl mezi elicitovaným a kontrolním vzorkem statisticky významný. Z těchto výsledků je patrná ideální doba odběru elicitovaných rostlin. Rozdíly mezi kontrolou a elicitovaným vzorkem byly u všech rostlin statisticky průkazné.

Tabulka č. 2: Kvantitativní analýza EO *T. vulgaris*

Datum sběru	Průměrná výtěžnost (%)		Nárůst (%)	Hladina významnosti $p < 0,05$	Výtěžnost EO z 1 kg sušiny (ml)	
	Kontrola	Elicitovaný			Kontrola	Elicitovaný
27.05.2016	2,62 ± 0,25	3,18 ± 0,13	21,46	0,01	26,16	31,77
29.05.2016	2,4 ± 0,08	3,21 ± 0,41	34,14	0,01	23,96	32,14
02.06.2016	2,66 ± 0,32	3,33 ± 0,1	25,25	0,01	26,62	33,34
04.06.2016	2,84±0,06	3,26± 0,21	14,5	0,02	28,45	32,52
06.06.2016	2,3 ± 0,29	3,04 ± 0,17	29,45	0,01	23,49	30,41

Nejpozitivnější vliv měla elicitace na *T. vulgaris*, jelikož se ve všech odběrech zaznamenala vyšší výtěžnost EO než u kontrolních vzorků. Nejvyšší výtěžnost EO byla u *T. vulgaris* v období třetího odběru (kontrola: 2,66 %, elicitovaný: 3,33 %), nicméně největší rozdíl mezi kontrolním vzorkem a elicitovaným byl v období druhého odběru. U třetího odběru se při přepočtu na 1 kg sušiny výtěžnost pohybuje okolo 33 ml. Vývoj výtěžnosti EO *Thymus vulgaris* byl zaznamenán v grafu č. 2

Graf č. 2: Vývoj průměrné výtěžnosti esenciálního oleje z *Thymus vulgaris* v průběhu pěti odběrů.



* hladina významnosti od 5 %

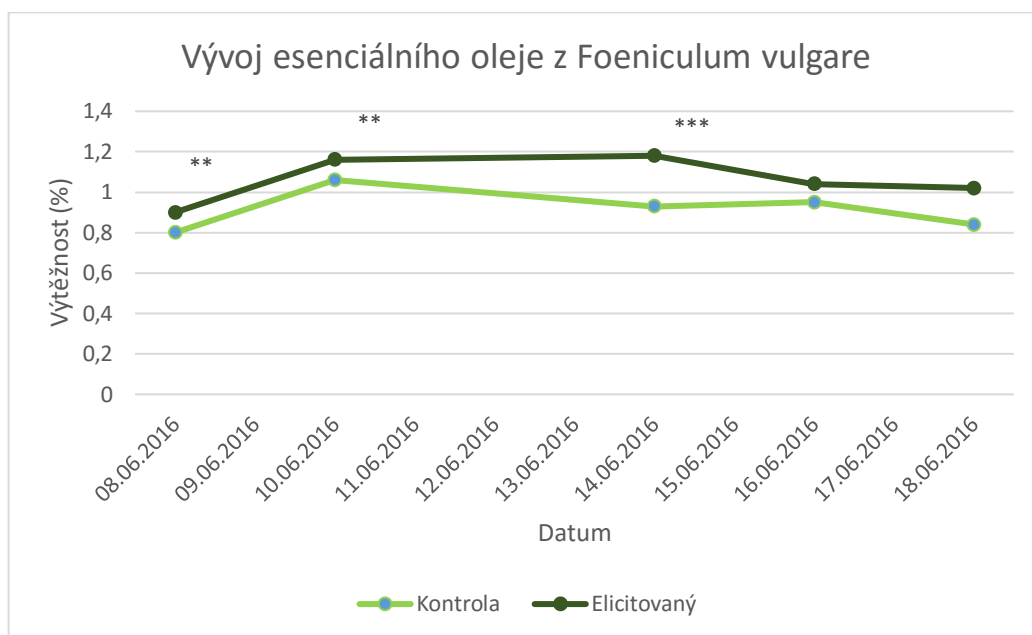
** hladina významnosti od 1 %.

U *F. vulgare* byla také zaznamenána při každém odběru vyšší výtěžnost EO u elicitovaného vzorku než u kontrolního (tab. č. 3). Efekt u třetího odběru byl velmi vysoký podle hodnoty hladiny významnosti, nicméně u posledních dvou odběrů nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi kontrolní a elicitovanou variantou. Ve třetím odběru byla zjištěna jak nejvyšší výtěžnost EO elicitovaného vzorku, tak i nejvyšší nárůst od vzorku kontrolního. Tento termín je tedy nejlepší pro sklizeň elicitovaných rostlin. Z 1 kg sušeného *F. vulgare* by se v případě nejvyšší průměrné výtěžnosti získalo 11,83 ml EO. Trend vývoje výtěžnosti esenciálního oleje z *Foeniculum vulgare* je znázorněn v grafu č. 3.

Tabulka č. 3: Kvantitativní analýza EO *F. vulgare*

Datum sběru	Průměrná výtěžnost (%)		Nárůst (%)	Hladina významnosti $p < 0,05$	Výtěžnost EO z 1 kg sušiny (ml)	
	Kontrola	Elicitovaný			Kontrola	Elicitovaný
08.06.2016	0,8 ± 0,07	0,9 ± 0,06	12,28	0,01	8,03	9,01
10.06.2016	1,06 ± 0,01	1,16 ± 0,04	9,65	0,01	10,6	11,63
14.06.2016	0,93 ± 0,06	1,18 ± 0,03	26,13	0,001	9,38	11,83
16.06.2016	0,95 ± 0,04	1,04 ± 0,09	9,54	0,16	9,51	10,41
18.06.2016	0,84 ± 0,09	1,02 ± 0,11	20,79	0,07	8,42	10,19

Graf č. 3: Vývoj průměrné výtěžnosti EO z *F. vulgare* v průběhu pěti odběrů.



** hladina významnosti od 1 %

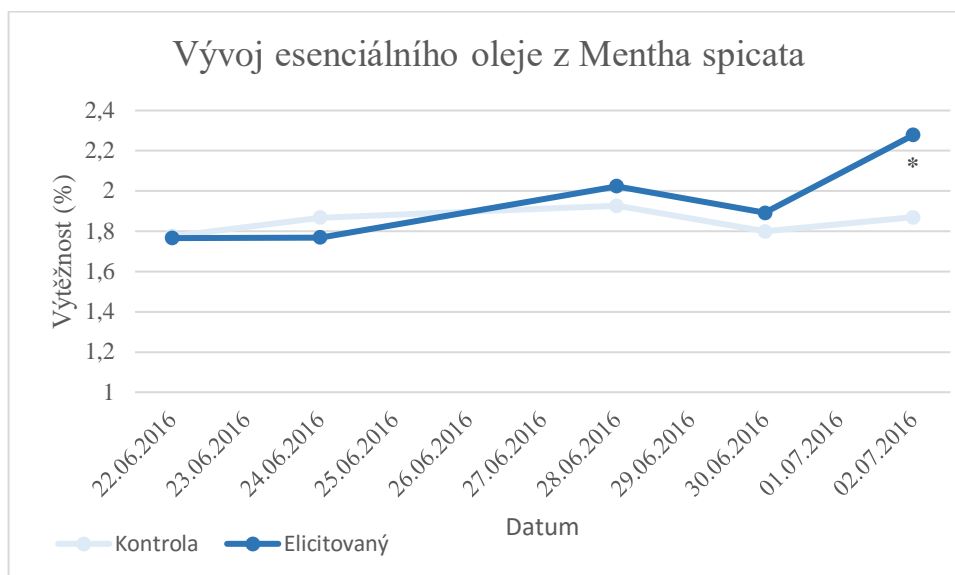
*** hladina významnosti od 0,1 %.

Aplikací elicitorů na *M. spicata* se projevil zpočátku negativní vliv na výtěžnost EO. V druhém odběru vykazovaly elicítované vzorky o 5,28 % nižší výtěžnost EO než kontrolní vzorky. Nicméně již v dalším odběru byl u *M. spicata* zaznamenán zvyšující se trend výtěžnosti EO elicítovaných vzorků (tab. č. 4, graf č. 4). Statisticky průkazný rozdíl mezi kontrolními a elicítovanými vzorky byl zaznamenán až při posledním odběru (nárůst výtěžnosti EO o 25,91 % v porovnání s kontrolou).

Tabulka č. 4: Kvantitativní analýza EO *M. spicata*

Datum sběru	Průměrná výtěžnost (%)		Nárůst (%)	Hladina významnosti $p < 0,05$	Výtěžnost EO z 1 kg sušiny (ml)	
	Kontrola	Elicitovaný			Kontrola	Elicitovaný
22.06.2016	1,78 ± 0,11	1,77 ± 0,17	-0,48	0,94	17,75	17,66
24.06.2016	1,87 ± 0,05	1,77 ± 0,11	-5,28	0,22	18,67	17,69
28.06.2016	1,93 ± 0,09	2,02 ± 0,03	5,05	0,13	19,27	20,24
30.06.2016	1,8 ± 0,04	1,89 ± 0,18	5,15	0,42	17,99	18,92
02.07.2016	1,87 ± 0,1	2,28 ± 0,2	25,91	0,01	18,1	22,78

Graf č. 4: Vývoj průměrné výtěžnosti EO z *M. spicata* v průběhu pěti odběrů.



* hladina významnosti od 5 %

6.2. Kvalitativní analýza

Tabulka č. 5: Kvalitativní analýza esenciálních olejů z *T. vulgaris*, *F. vulgare* a *M. spicata* zaznamenaná v procentech

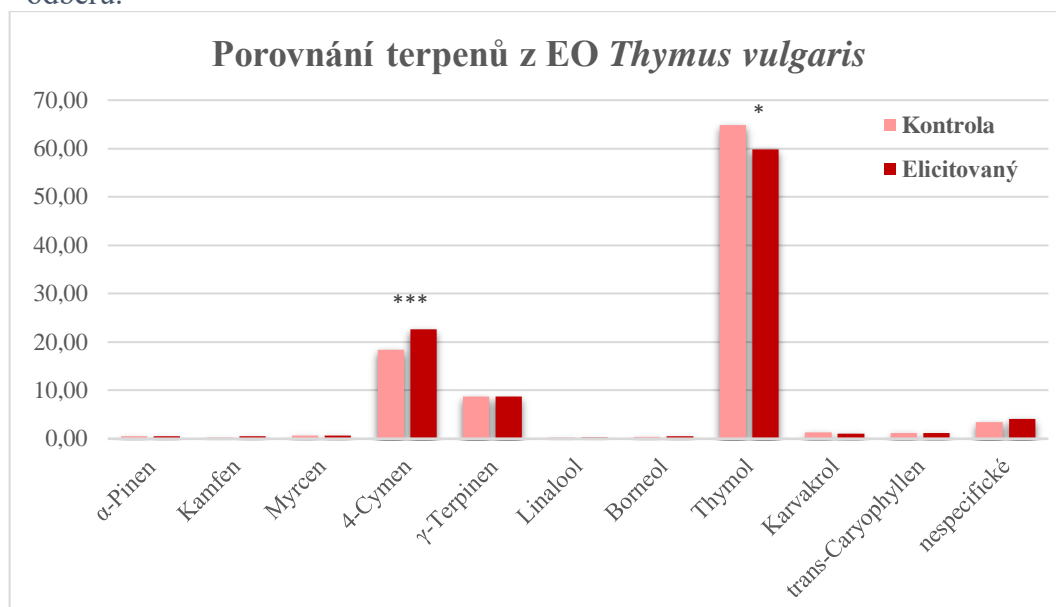
Terpeny	<i>T. vulgaris</i>		<i>F. vulgare</i>		<i>M. spicata</i>	
	Kontrola (%)	Elicitovaný (%)	Kontrola (%)	Elicitovaný (%)	Kontrola (%)	Elicitovaný (%)
4-cymen	18,43	22,69	0,25	0,89	-	-
α -fellandren	-	-	14,04	13,81	-	-
α -pinen	0,49	0,52	12,59	10,62	1,22	1,05
β -pinen	-	-	0,79	0,69	1,84	1,67
γ -terpinen	8,77	8,77	0,08	0,06	-	-
Borneol	0,35	0,56	-	-	-	-
Estragol	-	-	1,64	1,73	-	-
Eukalyptol	-	-	-	-	14,48	13,65
Fenchon	-	-	1,47	1,74	-	-
Kamfen	0,31	0,46	0,04	0,04	-	-
Karvakrol	1,36	1,07	-	-	-	-
Limonen	-	-	1,65	2,03	3,46	3,46
Linalool	0,25	0,25	-	-	-	-
Myrcen	0,59	0,59	0,62	0,59	6,89	7,24
piperiton oxid	-	-	-	-	66,98	64,81
Thymol	64,80	59,82	-	-	-	-
trans - anethol	-	-	66,12	67,07	-	-
trans-caryophyllen	1,21	1,14	-	-	2,88	4,14
celkem	96,56	95,86	99,30	99,27	97,75	96,01

Výsledky této analýzy byly zaneseny pro všechny tři aromatické rostliny do tabulky č. 5 a grafů č. 5, 6, 7. U *T. vulgaris* bylo identifikováno 96,56 % komponentů u kontroly a 95,86 % u elicitovaného vzorku. U *F. vulgare* se identifikovalo 99,3 % komponentů u kontroly a téměř stejné množství u elicitovaného vzorku. Kontrolní vzorky esenciálního oleje *M. spicata* byly identifikovány z 97,75 % a elicitované vzorky z 96,01 %. Komponentů zastoupených alespoň z 1 % bylo u *T. vulgaris* nalezeno pět u obou variant, u *F. vulgare* šest a u *M. spicata* sedm. Zbytek byl zastoupen v zanedbatelném množství.

Každá rostlina obsahovala jednu terpenickou látku v majoritním postavení, která obsahově výrazně převyšovala látky ostatní. U *T. vulgaris* thymol, u *F. vulgare* trans-anethol a u *M. spicata* piperiton oxid. Tyto majoritní látky se nacházely pouze v dané rostlině, v ostatních dvou nebyly identifikovány. Všechny tři látky byly v jednotlivých rostlinách zastoupeny z více než 60 %. U *T. vulgaris* a *M. spicata* se v elicitované variantě obsah majoritní látky snížil. U *T. vulgaris* bylo snížení statisticky významné ($p = 0,012$). U *F. vulgare* měla naopak elicitace pozitivní vliv na nárůst trans-anetholu, který však nebyl statisticky průkazný.

Ve druhém odběru vykazoval 4-cymen statisticky velmi významný rozdíl mezi elicitovaným a kontrolním vzorkem ($p = 0,001$ %). Jeho obsah vzrostl o 4,27 %. U ostatních komponentů, zastoupených z více než 1 % nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi elicitovanou a kontrolní variantou.

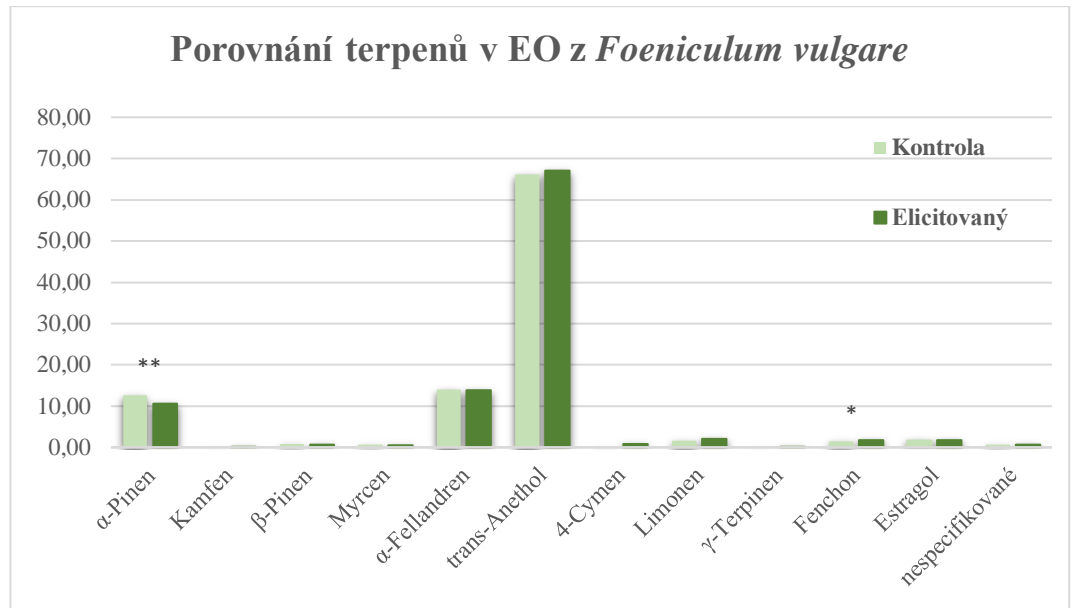
Graf č. 5: Porovnání jednotlivých komponentů v EO *T. vulgaris* získaného při druhém odběru.



* $p \leq 0,5$; *** $p \leq 0,001$

U EO *F. vulgare* byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi kontrolou a elicitovanou rostlinou v případě α -pinenu ($p = 0,003$ %) a fenchonu ($p = 0,029$ %). Zastoupení fenchonu se zvýšilo u elicitované rostliny, nicméně obsah α -pinenu u elicitované rostliny klesl téměř o 2 % v porovnání s kontrolou. Ostatní složky EO nevykázaly statisticky významný rozdíl při porovnání elicitovaného a kontrolního vzorku.

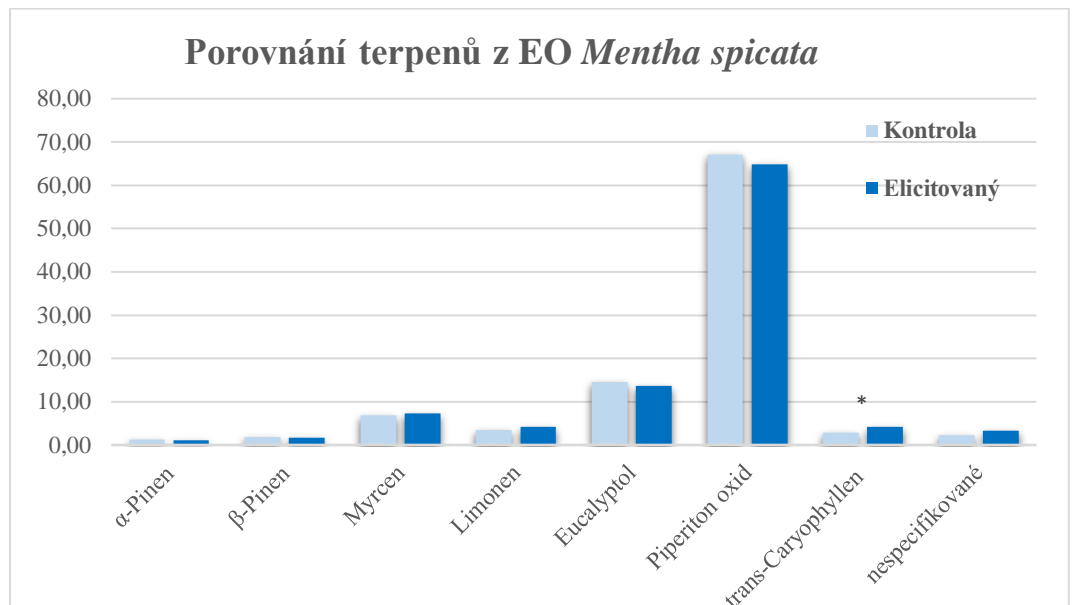
Graf č. 5: Porovnání jednotlivých komponentů v EO *F. vulgare* získaného při třetím odběru



* $p \leq 0,5$; ** $p \leq 0,01$

Kvalitativní složení EO *M. spicata* se u elicítované varianty změnilo nejméně v porovnání s kontrolou. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn pouze u trans-caryophyllenu ($p = 0,045$), který měl vyšší obsah u elicítované varianty o 1,26 % v porovnání s kontrolou.

Graf č. 2: Porovnání jednotlivých komponentů v EO *Mentha spicata* získaného při pátém odběru.



* $p \leq 0,5$

6.3. Insekticidní účinnost esenciálních olejů

Všechny tři esenciální oleje v obou variantách vykazaly akutní toxicitu u druhů *S. littoralis*, *C. quinquefasciatus* a *M. domestica*. Odhadnuté hodnoty LD₅₀ (LC₅₀) a LD₉₀ (LC₉₀) jsou uvedeny v tabulce č. 3. Ve většině případů vykazaly elicitované varianty nižší letální dávky EO v porovnání s kontrolní variantou. Statisticky však nebyl zjištěn rozdíl mezi elicitovaným vzorkem a kontrolou, jelikož se hodnoty CI95 překrývaly.

Nejúčinnější EO byl získán z elicitované varianty *T. vulgaris*, jelikož u všech hmyzích druhů byly účinné nižší dávky pro dosažení mortality larev nebo dospělců než u esenciálních olejů z ostatních dvou druhů rostlin. U *S. littoralis* byla odhadnuta LD₅₀ 12 µg/larvu a LD₉₀ 37 µg/larvu. U *C. quinquefasciatum* byly hodnoty LC₅₀ 19 µg/l a LC₉₀ 29 µg/l. Účinná dávka EO na dospělé *M. domestica* byla nejvyšší (LD₅₀ = 32 µg/dospělce, LD₉₀ = 56 µg/dospělce).

EO z elicitované varianty *F. vulgare* měl letální dávky vyšší než EO z *Thymus vulgaris*. Nejtoxicičtější byl tento EO pro *C. quinquefasciatum* (LC₅₀ = 33 µg/l, LC₉₀ = 45 µg/l). Nejnižší účinnost byla zaznamenána na dospělé *M. domestica*, kde byla hodnota LD₅₀ o 82 µg/dospělce větší než u *C. quinquefasciatum*, a u LD₉₀ to bylo dokonce o 208 µg/dospělce více.

EO z elicitované *Mentha spicata* měl nejvyšší odhady hodnot letálních dávek. Nejvyšší hodnota LD₅₀ a LD₉₀ byla potřebná pro *C. quinquefasciatum* (189 µg/l a 238 µg/l v daném pořadí), což bylo o 156 µg/l více v porovnání s elicitovaným *F. vulgare* a o 170 µg/l více v porovnání s elicitovaným *T. vulgaris*. Hodnoty letálních dávek u ostatních dvou druhů hmyzu byly téměř srovnatelné, i když u *S. littoralis* byla dávka nižší jak u LD₅₀ (126 µg/larvu), tak i u LD₉₀ (189 µg/larvu).

Tabulka č. 7: Letální dávky u jednotlivých esenciálních olejů z *Thymus vulgaris*, *Foeniculum vulgare* a *Mentha spicata*.

Rostlina	Varianta	<i>Spodoptera littoralis</i>			<i>Culex quinquefasciatus</i>			<i>Musca domestica</i>		
		LD50 (CI95) µg/larva	LD90 (CI95) µg/larva	Chi	LC50 (CI95) µl/l	LC90 (CI95) µl/l	Chi	LD50 (CI95) µg/dospělec	LD90 (CI95) µg/dospělec	Chi
<i>Thymus vulgaris</i>	ošetřené	12 (11-15)	37 (35-39)	0,879	19 (15-26)	29 (28-32)	0,245	32 (28-42)	56 (48-59)	0,989
	kontrola	15 (9-16)	39 (37-42)	0,237	21 (19-28)	32 (29-38)	2,353	33 (29-35)	59 (53-62)	1,252
<i>Foeniculum vulgare</i>	ošetřené	77 (76-81)	148 (145-153)	1,362	33 (29-35)	45 (42-51)	1,125	115 (112-118)	253 (248-276)	2,125
	kontrola	79 (77-93)	149 (146-151)	1,965	35 (32-38)	49 (48-56)	2,356	129 (118-136)	256 (242-268)	1,336
<i>Mentha spicata</i>	ošetřené	126 (124-127)	189 (187-202)	1,528	189 (183-196)	238 (218-246)	0,256	132 (129-138)	218 (207-221)	0,256
	kontrola	129 (127-132)	192 (189-212)	0,256	182 (172-196)	242 (231-296)	1,395	136 (135-142)	219 (211-235)	1,251

LD₅₀ a LD₉₀ (respektive LC₅₀ a LC₉₀) vyjadřuje dávku (koncentraci), která způsobí mortalitu 50 % a 90 % jedinců.

CI95 je 95 % interval spolehlivosti (aktivita silice se statisticky liší, pokud se hodnoty CI z 95 % nepřekrývají).

Chi je hodnota chí kvadrátu. Hladina významnosti je stanovena na 0,05.

7. Diskuse

V rámci této práce bylo vymezeno několik cílů. Jedním z nich bylo zjistit, zda má elicitální přípravek pozitivní vliv na kvantitativní obsah esenciálních olejů. Elicitace je proces aktivního vyvolání stresu v rostlině za účelem dosažení požadované chemické reakce a následného zvýšení určitých látek v rostlině (Gorelick and Bernstein, 2014). Tento cíl byl splněn. Pro elicitaci byla použita kyselina salicylová, která je řazena mezi abiotické elicitory.

Podobný experiment s elicitací za pomoci kyseliny salicylové prováděli odborníci v Egyptě s bazalkou (*Ocimum basilicum*) a majoránkou (*Majorana hortensis*). V tomto případě bylo u obou rostlin prokazatelně dokázáno, že elicitované rostliny mají výrazně vyšší výtěžnost esenciálního oleje. Zároveň se zvýšil obsah některých terpenických látek (Gharib, 2006). Podobných výzkumů na elicitaci aromatických rostlin je celá řada. Pokud je mi známo, v žádné z nich neměla elicitace negativní dopad na růst rostliny. Avšak složení rostliny se v některých pokusech změnilo. Při použití kyseliny jablečné v dávce 150 mg/l se u *Rosmarinus officinalis* zvýšil obsah 1,8-cineolu o 7,6 % od kontroly (Kazemi and Shirzadeh, 2012).

Elicitace v tomto experimentu byla prováděna stejně jako by byla provedena v běžné praxi. Existují však i jiné výzkumy, kde se provádí elicitace v laboratorních podmínkách. Například v jedné studii se *Thymus vulgaris* pěstoval v kultivační lahvi na Hoaglandovu mediu a elicitální přípravky byly doplňovány do media (Moses and Mukundan, 2013). Zde však nepůsobí žádné vlivy vnějšího prostředí a převod do praxe je složitější.

Běžná výtěžnost u *T. vulgaris* je mezi 1 a 1,3 %, a to jak u chemotypu thymol (Lee et al., 2005, Hudaib et al., 2002), tak u chemotypu kamfor (Imelouane et al., 2009). My jsme dosáhli výtěžnosti až 3,33 %. Vyšší výtěžnosti docílili ve Španělsku, kde hledali fenofázi s nejvyšší výtěžností. Výtěžnost se vyšplhala až na 4,73 % ve stejném období, kdy byla sklizeň prováděná i u nás. Z výzkumu ze Španělska vyplývá, že doba sklizně v začátku nakvétání je nejvhodnější (Jordán et al., 2006). V našich podmínkách připadá termín nakvétání na konec května a začátek června. Při sklizni v tomto termínu by mohla být možná i druhá sklizeň. Při předpokládaném výnosu 2 - 2,5 t/ha sušeného *T. vulgaris* by mohlo být izolováno téměř 66,7 l esenciálního oleje.

Výtěžnost EO by bylo možno zvýšit také technikou jejich izolace. V tomto experimentu byla použita hydrodestilace. Dawidowicz et al. doporučují použití tlakové kapalínové extrakce, která zvýšila výtěžnost o 33 % v porovnání s parní destilací (Dawidowicz et al., 2008).

Při použití asistované mikrovlnné hydro destilace se za kratší čas dosáhne stejné výtěžnosti jako u hydro destilace. Navíc je spotřebováno méně energie (Golmakani and Rezaei, 2008).

V jednom z výzkumů byla provedena stimulace *F. vulgare* inokulací hlízkových bakterií *Azobacter chroococcum*, *Azospirillum lipoferum* a *Bacillus megatherium*. Tyto bakterie měli za úkol navázat vzdušný dusík a vyživit jím *F. vulgare*. Kombinací všech tří druhů bakterií a přidáním 50 % doporučené dávky NPK se docílilo nejlepších výsledků, a to jak ve vzrůstu rostliny (151,44 – 155 cm), tak i v počtu větví (8,11) a výtěžnosti oleje (3,23 – 3,29 t/ha). Výsledky této varianty byly lepší i než prosté hnojení 100 % doporučenou dávkou NPK (Mahfouz and Sharaf-Eldin, 2007). V našich pokusech byla ale výška *F. vulgare* okolo 180 cm a při předpokládaném výnosu ze sušeného *F. vulgare* 33 t/ha (Pavela et al., 2016) byla výtěžnost oleje okolo 390 l/ha.

U *Mentha spicata* se ze začátku neprokázal nárůst výtěžnosti EO u elicítované varianty. Jak u *Foeniculum vulgare*, tak i u *Thymus vulgaris* byla výtěžnost elicítovaných variant nejvyšší ve 3. odběru. U *M. spicata* se nejvyšší výtěžnost naměřila až při posledním odběru. Je možné, že na výtěžnost oleje měly vliv jiné faktory (počasí, chyby při destilaci, ...).

Co se týče složení EO *M. spicata*, tak bylo překvapivé majoritní zastoupení piperiton oxidu. Častěji se totiž uvádí, že majoritní složkou *M. spicata* je karvon (Kokkini and Vokou, 1989). Ten však v tomto výzkumu nebyl detekován. V tomto experimentu byl tedy použit chemotyp piperiton oxid. Při mapování chemotypů v Řecku se objevilo pět chemotypů *M. spicata*, mimo jiné i chemotyp piperiton oxid. Výtěžnost EO se u tohoto chemotypu uvádí okolo 1,4 % (Kokkini and Vokou, 1989). V našem experimentu se podařilo dosáhnout výtěžnosti 1,76 - 2,28 %. S touto výtěžností a s předpokládaným výnosem 2 t/ha sušené byliny (Adel Mahmoodabad et al., 2014) je možno dosáhnout 35,3 – 45,6 l esenciálního oleje.

V mnoha studiích se pro zjištění chemického složení EO a insekticidní účinnosti *F. vulgare* využívají semena, nať pouze minimálně. Semena by totiž měli mít větší výtěžnost než nať (Souguir et al., 2013). V jednom z ruzyňských výzkumů však bylo dokázáno, že z čerstvé natě se dosáhne větší výtěžnosti EO na hektar než ze semen (Pavela et al., 2016). Sklizeň natě je také praktičtější z důvodu dlouhé vegetační doby *F. vulgare*. Sklizeň nati může probíhat dvakrát za vegetaci, ale dvě sklizně semen nejsou v podmínkách ČR možné.

V tomto experimentu se povedlo dokázat zvýšení výtěžnosti esenciálních olejů. Vliv na kvalitativní obsah esenciálních olejů nebyl tak významný, ale u EO *F. vulgare* se v období 4. odběru (16. června) naměřilo u elicítované varianty 85,14 % trans-anetholu, což bylo o 20,13 % více než u kontroly. V ostatních období bylo zjištěno okolo 65 % trans-anetholu, což je méně, než u výzkumu v Indii (Singh et al., 2006), kde nepoužili žádné elicitační přípravky, vzorky

odebraly z *F. vulgare* prodáváného v supermarketu v červenci a pro analýzu použili stejnou techniku jako my. Stejně tak se v jejich experimentu povedlo dosáhnout hydrodestilací vyšší výtěžnost (1,2 %). Nejspíše měli lepší pěstitelskou technologii, než byla použita v tomto experimentu. Dalšími majoritními látkami byly α -fellandren (14,04 % a 13,81 %) a α -pinen (12,59 % a 10,62 %). V semenech *F. vulgare* z Pákistánu vykazovaly majoritní podíl terpeny trans-anethol (68,1 %), fenchon (9,5 %), estragol (4,9 %) a limonen (4,5 %) (Anwar et al., 2009).

Při biologických testech se u EO získaného z *M. spicata* odhadly nejvyšší hodnoty LD₅₀ (LC₅₀) a LD₉₀ (LC₉₀). Odhadnuté hodnoty LC₅₀ a LC₉₀ u *C. quinquefasciatus* se pohybovaly okolo 189 μ g a 238 μ g. Pokus se stejným chemotypem byl prováděn na *C. pipiens*, kde byly letální koncentrace menší (LC₅₀=52,85 μ g/l, LC₉₀=79,06 μ g) (Koliopoulos et al., 2010).

S chemotypem bohatým na karvon byly prováděny biologické testy na *M. domestica* a *S. littoralis*. Rozdíl mezi oběma chemotypy byl markantní. V našem experimentu bylo LD₅₀ pro dospělé mouchy 132 – 136 μ g/dospělce. U karvonového chemotypu to bylo 21 μ g/dospělce, což je o 111 – 115 μ g/dospělce. *S. littoralis* mělo LD₅₀ u chemotypu karvon hodnotu 0,092 μ g/larvu při topikální aplikaci 2 μ l na larvu, což je o 125,9 - 128,9 μ g/larvu méně než u chemotypu piperiton oxid. Ve stejném experimentu se testovala i insekticidní účinnost na jiné škůdce, jako například *Tetranychus urticae* a *Tribolium castaneum* (Kumar et al., 2011).

V ruzyňských výzkumech se o devět let dříve testovaly insekticidní účinnosti různých aromatických rostlin proti *M. domestice*. Mezi nimi byly i *M. spicata* a *T. vulgaris* (Pavela, 2007). V těchto testech byla LD₅₀ u esenciálních olejů izolovaných z *T. vulgaris* o 14 μ g/dospělce menší než v našich testech. U EO z *M. spicata* už to bylo o 111 μ g/dospělce méně ve srovnání s našimi hodnotami.

U biologických testů prováděných na *S. littoralis* je častá aplikace EO získaných z aromatických rostlin v podobě fumigantů. Fumigační aplikací EO z natě *F. vulgare* se LC₅₀ odhaduje na 101,1 μ g/l. U EO získaného ze semen *F. vulgare* je LC₅₀ o 6 μ g/l menší než u předchozího EO (Souguir et al., 2013). Odhad hodnoty LC₅₀ EO získaného z *T. vulgaris* byl 22,9 μ g/l a u EO z *M. spicata* 46,2 μ g/l (Pavela, 2005).

Z výše uvedených hodnot je patrné, že EO získaný z *T. vulgaris* má největší potenciál jako účinná látka botanických pesticidů. Insekticidní účinnost je závislá na kvalitativním obsahu EO. Při srovnání chemotypů thymol, geraniol a linalool vykázal chemotyp s nejvyšším obsahem thymolu nejnížší hodnotu LC₅₀ na *C. quinquefasciatus* (32,9 mg/l). Následoval chemotyp geraniol (46,1 mg/l) a linalool (60,7 mg/l) (Pavela et al., 2009). V porovnání s našimi

výsledky jsou tyto hodnoty velmi vysoké, nicméně jak tyto, tak i naše výsledky dokazují, že thymol je jedna z nejúčinnějších látek proti hmyzu.

Jejich využití v ochraně rostlin je zatím minoritní, ale díky každoročně vzrůstajícímu počtu zakázaných účinných látek se zdají být esenciální oleje, získané z aromatických rostlin, vhodnou alternativou (Isman, 2000). V České republice jsou esenciální oleje stále ve vývoji a zlomek z nich je registrován do sekce pasivních pomocných přípravků. V zahraničí jsou však používané ve větším množství, používané jsou hlavně v některých rozvojových zemích (Dubey et al., 2008). V konvenčním zemědělství jsou zatím uživatelé skeptičtí (Koul et al., 2008) a nejspíš bude složité přesvědčit zastánce syntetických pesticidů ke změně.

Metoda elicitace uvedena v této práci není určena jen při pěstování aromatických rostlin pro výrobu botanických pesticidů. Měla by sloužit jako návod pro vytvoření metodiky pěstování aromatických rostlin využívaných pro jejich esenciální oleje. Z těchto rostlin pak mohou být získávány esenciální oleje do potravin, pro aromaterapii, ale stejně tak mohou být použity i pro výrobu léčiv. Důležité je, že se tato metoda dá aplikovat do běžné zemědělské praxe a z ekonomického hlediska je nenáročná. Přijatelné živiny používané v elicitacním přípravku jsou do půdy dodávány i v ostatních technologiích pěstování a cena kyseliny salicylové, aplikované v uvedeném doporučeném množství, při ceně 98 Kč za 100 g čisté kyseliny salicylové (<https://www.drhoffmann.cz>), je přibližně 117 Kč/ha.

8. Závěr

V rámci tohoto experimentu bylo zjištěno, že daný elicitální přípravek měl pozitivní vliv na kvantitativní obsah esenciálních olejů v aromatických rostlinách *Thymus vulgaris*, *Foeniculum vulgare* a *Mentha spicata*. Zároveň však nebyl významně změněn kvalitativní obsah esenciálních olejů v rostlinách, a tudíž se nezměnila jejich insekticidní účinnost. Letální dávky byly převážně nižší v porovnání s kontrolními variantami, nicméně žádná hodnota nebyla statisticky významná.

V rámci výsledků z kvantitativní analýzy esenciálních olejů bylo možno určit optimální dobu aplikace elicitálního přípravku. U termínu aplikace je nutné přihlídnout k nejvyšší výtěžnosti z hlediska fenologické fáze rostliny. Optimální doba aplikace elicitálního přípravku byla u každé rostliny jiná. V případě *T. vulgaris* byla optimální doba aplikace elicitoru 4 dny před sklizní, u *F. vulgare* 8 dní před sklizní a u *M. spicata* 12 dní před sklizní. Aplikací v těchto termínech se předpokládá nejvyšší výtěžnost esenciálních olejů z rostlin. Tyto esenciální oleje je možno využít jako účinné látky potenciálních botanických pesticidů nebo i v jiných odvětví, ve kterých se běžně využívají.

Tuto práci by bylo možno použít pro vytvoření metodiky pěstování aromatických rostlin s vysokým obsahem esenciálních olejů pro průmyslové využití. Navíc je aplikací elicitálního přípravku na aromatické rostliny zaručena jejich vyšší odolnost.

9. Seznam literary

- Abbas, J. A. 2009. The effect of nitrogenous and phosphate fertilizers of the properties on the vegetative growth and aromatical oil yield of local mint (*Mentha spicata* L.). American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture. 3(2). 262-265.
- Abbaszadeh, G., Srivastava, C., Walia, S. 2014. Insecticidal and antifeedant activities of clerodane diterpenoids isolated from the Indian bhant tree, *Clerodendron infortunatum*, against the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. Journal of Insect Science. 14(29). 1-13.
- Abbott, W. S. 1925. a method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Economic Entomology. 18. 265–267.
- Aburjai, T., Natsheh, F. M. 2003. Plants used in cosmetics. Phytotherapy research. 17(9). 987-1000.
- Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M. 1998. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46(5). 1739-1745.
- Adel Mahmoodabad, H., Hokmalipoor, S., Shaban, M. 2014. Changes in yield and growth of green Mint (*Mentha spicata* L.) Under foliar application of urea and soil application of vermicompost. International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research. 2(6). 2072-2076.
- Aggarwal, K. K., Khanuja, S. P. S., Ahmad, A., Santha Kumar, T. R., Gupta, V. K., Kumar, S. 2002. Antimicrobial activity profiles of the two enantiomers of limonene and carvone isolated from the oils of *Mentha spicata* and *Anethum sowa*. Flavour and Fragrance Journal. 17(1). 59-63.
- Alonso-Gutierrez, J. Chan, R., Batth, T. S., Adams, P. D., Keasling, J. D., Petzold, C. J., Lee, T. S. 2013. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for limonene and perillyl alcohol production. Metabolic engineering. 19. 33-41.
- Ambrose, D. C. P., Manickavasagan, A., Naik R. 2016. Leafy medicinal herbs: Botany, Chemistry, Postharvest Technology and Uses. Cabi publishing. Wallingford. p. 296. ISBN: 978-1780-64559-9.
- Anand, P. et al. 2008. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. Pharmaceutical research. 25(9). 2097-2116.

- Angioni et al. 2004. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. Journal of agricultural and food chemistry. 52(11). 3530-3535.
- Anonymous. 2012. Peppermint production. Department of agriculture, forestry and fisheries. South Africa. p. 22. Dostupné na <<http://www.daff.gov.za>>
- Ara, K., et al. 2006. Foot odor due to microbial metabolism and its control. Canadian journal of microbiology, 52(4), 357-364.
- Ayub, M., Nadeem, M. A., Tanveer, A., Tahir, M., Saqib, M. T. Y., Nawaz, R. 2008. Effect of different sowing methods and times on the growth and yield of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Pakistan Journal of Botany. 40(1).259-264.
- Azeez S. 2008. Chemistry of Spices: 12 Fennel. British library. London. p. 227-242. ISBN: 978-18-459-3405-7.
- Badgular, S. B., Patel, V. V., Bandivdekar, A. H. 2014. *Foeniculum vulgare* Mill: a review of its botany, phytochemistry, pharmacology, contemporary application, and toxicology. BioMed research international, 2014.
- Badi, H. N., Yazdani, D., Ali, S. M., Nazari, F. 2004. Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. Industrial crops and products. 19(3). 231-236.
- Baeshen, A. A. 2014. Morphological and elements constituent effects of allelopathic Activity of some medicinal plants extracts on *Zea mays*. International journal of current research and academic review. 2(4). 135-145.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils—a review. Food and chemical toxicology. 46(2). 446-475.
- Baranauskienė, R., Venskutonis, P. R., Viškelis, P., Dambrauskienė, E. 2003. Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). Journal of Agricultural and Food chemistry. 51(26). 7751-7758.
- Barin, A., Arabkhazaeli, F., Rahbari, S., Madani, S. A. 2010. The housefly, *Musca domestica*, as a possible mechanical vector of Newcastle disease virus in the laboratory and field. Medical and veterinary entomology. 24(1). 88-90.
- Basch, E., Ulbricht, C., Hammerness, P., Bevins, A., Sollars, D. 2004. Thyme (*Thymus vulgaris* L.), thymol. Journal of herbal pharmacotherapy. 4(1). 49-67.
- Baytop, T. 1999. Therapy with medicinal plants in Turkey (Past and Present). Novel tip basimevi. Istanbul. p. 334-335.

- Belles, X., Camps, F., Coll, J., Piulachs, M. D. 1985. Insect antifeedant activity of clerodane diterpenoids against larvae of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (*Lepidoptera*). Journal of chemical ecology. 11(10). 1439-1445.
- Bertrand, B. 2014. Herbář – Fakta, mýty a legendy o afrodiziakálních rostlinách. REBO international CZ. Praha. 209 s. ISBN: 978-80-255-0808-4.
- Biswas, K., Chattopadhyay, I., Banerjee, R. K., Bandyopadhyay, U. 2002. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). Current science-bangalore. 82(11). 1336-1345.
- Bleasel, N., Tate, B., Rademaker, M. 2002. Allergic contact dermatitis following exposure to essential oils. Australasian journal of dermatology. 43(3). 211-213.
- Borgan, A., Odegaard, S., Bergsjer, T. 1987. Insecticidal and antifeedant bioactivities of neem oils and their relationship to azadirachtin content? Acta Pharmacol. Toxicol. 1981(49). 79-86.
- Boutekedjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., Bessiere, J. M. 2003. Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. Flavour and Fragrance Journal. 18(6). 481-484.
- Braga, I. A., Mello, C. B., Montella, I. R., Lima, J. B. P., Júnior, A. D. J. M., Medeiros, P. F. V., Valle, D. 2005. Effectiveness of methoprene, an insect growth regulator, against temephos-resistant *Aedes aegypti* populations from different Brazilian localities, under laboratory conditions. Journal of medical entomology. 42(5). 830-837.
- Breitmaier, E., 2006. Terpenes: Flavour, Fragrances, Pharmaca, Pheromones. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim. P. 218. ISBN: 3-527-31786-4.
- Bresciana, L. F. V., Yunes, R. A., Bürger, C., De Oliveira, L. E., Bóf, K. L., Cechinel-Filho, V. 2004. Seasonal variation of kaurenoic acid, a hypoglycemic diterpene present in *Wedelia paludosa* (*Acmela brasiliensis*) (*Asteraceae*). Zeitschrift für Naturforschung C. 59(3-4). 229-232.
- Brickell, Ch. et al. 2008. A-Z Encyklopedie zahradních rostlin. Euromedia Group, k. s. - Knižní klub. Praha. p. 1128. ISBN: 978-80-242-2069-7.
- Briemann, H. L. Setzer, W. N., Kaufman, P. B., Kirakosyan, A., Cseke, L. J. 1999. Phytochemicals: the chemical components of plants. Natural Products from Plants. CRC Press LLC. London. P. 327. ISBN: 0-8493-3134-X.

- Bruchter, M. 2012. Zakládáme a udržujeme ekozahradu. Grada publishing, a.s. Praha. s. 120. ISBN:978-80-247-4280-9.
- Buchtová, I., Drašnarová, Z. 2003. Situační a výhledová zpráva: léčivé, aromatické a kořeninové rostliny. Ministerstvo zemědělství. Praha. 50 s.
- Buchtová, I., Tošovská, M. 2012. Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny: situační a výhledová zpráva. Ministerstvo zemědělství. Praha. 39 s.
- Burger, C., Fischer, D. R., Cordenunzi, D. A., Batschauer, A. P., Cechinel Filho, V., Soares, A. R. 2005. Acute and subacute toxicity of the hydroalcoholic extract from *Wedelia paludosa* (*Acmela brasiliensis*) (*Asteraceae*) in mice. J Pharm Pharm Sci. 8(2). 370-373.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International journal of food mikrobiology. 94(3). 223-253.
- Cavalcanti, B. C., et al. 2006. Genotoxicity evaluation of kaurenoic acid, a bioactive diterpenoid present in Copaiba oil. Food and chemical toxicology. 44(3). 388-392.
- Clevely, A., Richmondová, K. 2007. Velká kniha bylinek. Svojtka & Co., s.r.o. Praha. s. 255. ISBN:80-7237-132-0.
- Cooke, B., Ernst, E. 2000. Aromatherapy: a systematic review. Br J Gen Pract. 50(455). 493-496.
- Costa-Lotufo, L. V., et al. 2002. The cytotoxic and embryotoxic effects of kaurenoic acid, a diterpene isolated from *Copaifera langsdorffii* oleo-resin. Toxicon. 40(8). 1231-1234.
- Daferera, D. J., Ziogas, B. N., Polissiou, M. G. 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Crop protection. 22(1). 39-44.
- Dawidowicz, A. L., Rado, E., Wianowska, D., Mardarowicz, M., Gawdzik, J. 2008. Application of PLE for the determination of essential oil components from *Thymus vulgaris* L. Talanta. 76(4). 878-884.
- De Martino, L., De Feo, V., Formisano, C., Mignola, E., Senatore, F. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from three chemotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart growing wild in Campania (Southern Italy). Molecules. 14(8). 2735-2746.
- Dewick, P. M. 2001. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. John Wiley & sons Ltd. University of Nottingham. p. 509. ISBN: 0-471-49641-3.

- Diao, W. R., Hu, Q. P., Zhang, H., Xu, J. G. 2014. Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Food Control*. 35(1). 109-116.
- Donelian, A., Carlson, L. H. C., Lopes, T. J., Machado, R. A. F. 2009. Comparison of extraction of patchouli (*Pogostemon cablin*) essential oil with supercritical CO₂ and by steam distillation. *The Journal of Supercritical Fluids*. 48(1). 15-20.
- Dvořáková, M., Valterová, I., Vaněk, T. 2011. Monoterpeny v rostlinách. *Chemické listy*. 105. 839-845.
- Dudareva, N., Andersson, S., Orlova, I., Gatto, N., Reichelt, M., Rhodes, D., Boland, W., Gershenzon, J. 2005. The nonmevalonate pathway supports both monoterpene and sesquiterpene formation in snapdragon flowers. *Proceedings of National Academy of Sciences of the USA*. 102. 933–938.
- Dzubak, P. et al. 2006. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications. *Natural product reports*. 23(3). 394-411.
- Edris, A. E. 2007. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy research*. 21(4). 308-323.
- Eltz, T., Zimmermann, Y., Haftmann, J., Twele, R., Francke, W., Quezada-Euan, J. J. G., Lunau, K. 2007. Enfleurage, lipid recycling and the origin of perfume collection in orchid bees. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 274(1627). 2843-2848.
- Falzari, L. M., Menary, R. C., Dragar, V. A. 2005. Reducing fennel stand density increases pollen production, improving potential for pollination and subsequent oil yield. *HortScience*. 40(3). 629-634.
- Falzari, L. M., Menary, R. C., Dragar, V. A. 2006. Optimum stand density for maximum essential oil yield in commercial fennel crops. *HortScience*. 41(3). 646-650.
- Finney, D. J. 1971. *Probit Analysis*. Cambridge University Press, London. p. 350. ISBN: 978-05-210-8041-5.
- Fukushima, E. O. et al. 2011. CYP716A subfamily members are multifunctional oxidases in triterpenoid biosynthesis. *Plant and Cell Physiology*. 52(12). 2050-2061.
- Galloway, W. E. 2007. Fennel. *Organic gardening*. 54(3). 26-27.
- García, P. A., De Oliveira, A. B., Batista, R. 2007. Occurrence, biological activities and synthesis of kaurane diterpenes and their glycosides. *Molecules*. 12(3). 455-483.

- Germann G., Germann P. 2013. Rostliny pro aromaterapii. Grada publishing a. s., Praha. 208 s. ISBN: 978-80-247-4672-2.
- Gershenzon, J., Dudareva, N. 2007. The function of terpene natural products in the natural world. *Nature chemical biology*. 3(7). 408-414.
- Gharib, F. A. 2006. Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. *International Journal of Agriculture and Biology*. 4. 485-492.
- Golmakani, M. T., Rezaei, K. 2008. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*. 109(4). 925-930.
- Gorelick, J., Bernstein, N. 2014. Elicitation: an underutilized tool for the development of medicinal plants as a source for therapeutic secondary metabolites. *Advances in Agronomy*. 124. 201-230.
- Gould, M. N. 1997. Cancer chemoprevention and therapy by monoterpenes. *Environmental Health Perspectives*. 105(Suppl 4). 97.
- Grieve, M. Mints [online]. *Moderní herbář*. [citováno 27.2.2017]. Dostupné z <<http://www.botanical.com/botanical/mgmh/m/mints-39.html#spe>>
- Gouge, H. D., Smith, A. K., Olson, C., Baker, P. 2001. Mosquitoes. Cooperative extension. College of Agriculture and Life Sciences, the University of Arizona.
- Hanson, J. R. 2004. Diterpenoids. *Natural product reports*. 21(6). 785-793.
- Hauschild, S. 2011. Pěstujeme bylinky v bytě: Čerstvé i v zimě. Grada publishing, a.s. Praha. 88 s. ISBN:978-80-247-3814-7.
- Haustein, U. F., Herrmann, J., Hoppe, U., Engel, W., Sauermann, G. 1993. Growth inhibition of coryneform bacteria by a mixture of three natural products-Farnesol, glyceryl monolaurate, and phenoxyethanol: HGQ. *Journal-society of cosmetics chemistry*. 44. 211-211.
- He, W., Huang, B. 2011. a review of chemistry and bioactivities of a medicinal spice: *Foeniculum vulgare*. *Journal of medicinal plants Research*. 5(16). 3595-3600.
- Hoffmann, K. H., Lorenz, M. W. 1998. Recent advances in hormones in insect pest control. *Phytoparasitica*. 26(4). 323-330.
- Hori, M., Komatsu, H. 1997. Repellency of rosemary oil and its components against the onion aphid, *Neotoxoptera formosana* (Takahashi) (Homoptera, Aphididae). *Applied Entomology and Zoology*. 32(2). 303-310.

- Högnadóttir, Á., Rouseff, R. L. 2003. Identification of aroma active compounds in orange essence oil using gas chromatography–olfactometry and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of chromatography A*. 998(1). 201-211.
- Hruška, B. 2011. *Jak se léčit rostlinami*. Ottovo nakladatelství. Praha. 456 s. ISBN: 978-80-745-1473-9.
- Hudaib, M., Speroni, E., Di Pietra, A. M., Cavrini, V. 2002. GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 29(4). 691-700.
- Hyatt, D. C., Youn, B., Zhao, Y., Santhamma, B., Coates, R. M., Croteau, R. B., Kang, C. 2007. Structure of limonene synthase, a simple model for terpenoid cyclase catalysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 104(13). 5360-5365.
- Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, R. L. 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. 3(12). 1-24.
- Chalchat, J. C., Michet, A., Pasquier, B. 1998. Study of clones of *Salvia officinalis* L. yields and chemical composition of essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*. 13(1). 68-70.
- Chauhan, R. S., Kaul, M. K., Shahi, A. K., Kumar, A., Ram, G., Tawa, A. 2009. Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. accession [IIIM (J) 26] from North-West Himalayan region, India. *Industrial crops and products*. 29(2). 654-656.
- Chen, T. C., Da Fonseca, C. O., Schönthal, A. H. 2015. Preclinical development and clinical use of perillyl alcohol for chemoprevention and cancer therapy. *American journal of cancer research*. 5(5). 1580.
- Imdorf, A., Bogdanov, S., Iba ez Ochoa, R., Calderone, N. W. 1999. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. *Apidologie*. 30. 209-228.
- Imelouane, B., Amhamdi, H., Wathelet, J. P., Ankit, M., Khedid, K., El Bachiri, A. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *Int. J. Agric. Biol.* 11(2). 205-208.
- Isman, M. B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop protection*. 19(8). 603-608.

- Isman, M. B., Machial, C. M., Miresmailli, S., Bainard, L. D. 2007. Essential oil-based pesticides: new insights from old chemistry. Wiley-VCH, Weinheim, Germany. 201-209. Dostupne z < <https://www.researchgate.net>>
- Isman, M. B., Miresmailli, S., Machial, C. 2011. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry Reviews*. 10(2). 197-204.
- Jahodář L., Hrdina V., Hrdina R., Martinec Z., Měrka V. 2004: Přírodní toxiny a jedy. Galén a Univerzita Karlova v Praze. Praha, 302. ISBN: 80-72622-560.
- Johnson, S., S., Yotka, R., J. 2000. U.S. Patent No. 6,159,509. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Jordán, M. J., Martínez, R. M., Goodner, K. L., Baldwin, E. A., Sotomayor, J. A. 2006. Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. *Industrial crops and products*. 24(3). 253-263.
- Kanatt, S. R., Chander, R., Sharma, A. 2007. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. *Food Chemistry*. 100(2). 451-458.
- Kaur, G. J., Arora, D. S. 2009. Antibakteriální a fytochemická screening *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* a *Trachyspermum Ammi*. *BMC komplementární a alternativní medicína*. 9 (1). 30.
- Kazemi, M., Shirzadeh, E. 2012. Effects of Malic Acid and Salicylic Acid on Quality and Quantity of Essential Oil Components in *Rosmarinus officinalis*. *Asian Journal of Biochemistry*. 7. 177-181.
- Kegge, W., Pierik, R. 2010. Biogenic volatile organic compounds and plant competition. *Trends in plant science*. 15. 126-132.
- Keita, S. M., Vincent, C., Schmit, J. P., Arnason, J. T., Bélanger, A. 2001. Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) [*Coleoptera: Bruchidae*]. *Journal of Stored Products Research*. 37(4). 339-349.
- Ketoh, G. K., Glitho, A. I., Huignard, J. 2002. Susceptibility of the bruchid *Callosobruchus maculatus* (*Coleoptera: Bruchidae*) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (*Hymenoptera: Pteromalidae*) to three essential oils. *Journal of economic entomology*. 95(1). 174-182.

- Khazaie, H. R., Nadjafi, F., Bannayan, M. 2008. Effect of irrigation frequency and planting density on herbage biomass and oil production of thyme (*Thymus vulgaris*) and Hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Industrial crops and products*. 27. 315-321.
- Kim, D. H., Ahn, Y. J. 2001. Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum vulgare* fruit against three coleopteran stored-product insects. *Pest Management Science*. 57(3). 301-306.
- Kintzios, S. E. 2000. *The Genus Salvia*. Harwood Academic Publishers. Amsterdam. p. 318. ISBN: 978-90-582-3005-8.
- Kite, G. C., Smith, S. A. 1997. Inflorescence odour of *Senecio articulatus*: temporal variation in isovaleric acid levels. *Phytochemistry*. 45(6). 1135-1138.
- Kokkini, S., Vokou, D. 1989. *Mentha spicata* (*Lamiaceae*) chemotypes growing wild in Greece. *Economic botany*. 43(2). 192-202.
- Kolektiv autorů. 2013. *Malá ilustrovaná encyklopedie A-Ž*. TZ-one. Elektronická verze. 650 s. ISBN: 978-80-903606-6-2. Dostupné z <<https://books.google.cz>>.
- Kolektiv autorů. 2015. *Zpráva o stavu zemědělství ČR za rok 2015: „Zelená zpráva“*. Ministerstvo zemědělství. Praha. 448 s.
- Koliopoulos, G., Pitarokili, D., Kioulos, E., Michaelakis, A., Tzakou, O. 2010. Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. *Parasitology research*. 107(2). 327-335.
- Koul, O., Walia, S., Dhaliwal, G. S. 2008. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopesticides International*. 4(1). 63-84.
- Kublick, L. 1990. *The prairie herb garden*. Western producer prairie books. Saskatoon. p. 141. ISBN: 978-08-883-3308-7.
- Kumar, P., Mishra, S., Malik, A., Satya, S. 2011. Insecticidal properties of *Mentha species*: a review. *Industrial Crops and Products*. 34(1). 802-817.
- Lapčák, O., Čopékové, J., Uher, M., Moravcové, J., Drařar, P. 2007. *Necukerné Přirodné letky sladké chuti*. *Chemické Listy*. 101. 44-54.
- Lawrence B. M. 1992. Chemical components of Labiatae oil and their exploitation. In *Advances in labiate science*. Edited by Harley R. M. and Reynolds T. Royal botanic gardens. Kew. U.K. p. 399-436.
- Lawrence B. M. 2006. *Mint: The genus Mentha*. CRC Press. Boca Raton. p.558. ISBN: 978-0-8493-0798-0.

- Lee, S. J., Umamo, K., Shibamoto, T., Lee, K. G. 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*. 91(1). 131-137.
- Liu, J. 1995. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *Journal of ethnopharmacology*. 49(2). 57-68.
- Loomis, W. D., Croteau R. 1980. Biochemistry of terpenoids. In.: Stumpf, P. K., Conn, E. E. 1980. *The biochemistry of plants: vol. 4, Lipids: Structure and Function* academic press. London. 363-418. ISBN: 0-12-675404-7.
- Lucchesi, M. E., Chemat, F., Smadja, J. 2004. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*. 1043(2). 323-327.
- Lyß, G., Knorre, A., Schmidt, T. J., Pahl, H. L., Merfort, I. 1998. The anti-inflammatory sesquiterpene lactone helenalin inhibits the transcription factor NF- κ B by directly targeting p65. *Journal of Biological Chemistry*. 273(50). 33508-33516.
- Mahfouz, S. A., Sharaf-Eldin, M. A. 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Agrophysics*. 21(4). 361.
- Matura, M. et. al. 2006. Not only oxidized R-(+)-but also S(-)-limonene is a common cause of contact allergy in dermatitis patients in Europe. *Contact Dermatitis*. 55(5). 274-279.
- Moghtader, M. 2013. In vitro antifungal effects of the essential oil of *Mentha piperita* L. and its comparison with synthetic menthol on *Aspergillus niger*. *African Journal of Plant Science*. 7(11). 521-527.
- Moses, T., Mukundan, U. 2013. Elicitation of thymol in *Thymus vulgaris*, a medicinally important plant. *International Journal of Drug Discovery and Herbal Research*. 3. 590-595.
- Msaada, K., Hosni, K., Taarit, M. B., Chahed, T., Kchouk, M. E., Marzouk, B. 2007. Changes on essential oil composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruits during three stages of maturity. *Food Chemistry*. 102(4). 1131-1134.
- Musilová, L., Uhlík, O., Macková, M., Macek, T. 2012. Úloha sekundárních metabolitů rostlin v bakteriální degradaci organických xenobiotik. *Chemické Listy*. 106. 1029-1033.

- Napoli, E. M., Curcuruto, G., Ruberto, G. 2010. Screening the essential oil composition of wild Sicilian fennel. *Biochemical Systematics and Ecology*. 38(2). 213-223.
- Natarajan, V., Venugopal, P. V., Menon, T. 2003. Effect of *Azadirachta indica* (neem) on the growth pattern of dermatophytes. *Indian journal of medical mikrobiology*.21(2). 98.
- Nègre et al. 2006. SPODOBASE: an est database for the lepidopteran crop pest *Spodoptera*. *BMC bioinformatics*. 7(1). 322.
- Nováček, R. 2008. *Fytochemické základy botaniky*. Fontána. Olomouc. 284 s. ISBN: 978-80-733-6457-1.
- Oldham, N. J., J., Veith, M., Boland, W., Dettner, K. 1996. Iridoid monoterpene biosynthesis in insects: Evidence for a de novo pathway occurring in the defensive glands of *Phaedon armoraciae* (*Chrysomelidae*) leafbeetle larvae. *Naturwissenschaften*. 83(10). 470-473.
- Özcan, M. M., Chalchat, J. C., Arslan, D., Ateş, A., Ünver, A. 2006. Comparative essential oil composition and antifungal effect of bitter fennel (*Foeniculum vulgare ssp. piperitum*) fruit oils obtained during different vegetation. *Journal of medicinal food*. 9(4). 552-561.
- Ozel, M. Z., Kaymaz, H. 2004. Superheated water extraction, steam distillation and Soxhlet extraction of essential oils of *Origanum onites*. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 379(7-8). 1127-1133.
- Pai, M. B., Prashant, G. M., Murlikrishna, K. S., Shivakumar, K. M., Chandu, G. N. 2010. Antifungal efficacy of *Punica granatum*, *Acacia nilotica*, *Cuminum cyminum* and *Foeniculum vulgare* on *Candida albicans*: an in vitro study. *Indian Journal of Dental Research*. 21(3). 334.
- Paiva, L. A. F. et al. 2002. Anti-inflammatory effect of kaurenoic acid, a diterpene from *Copaifera langsdorffii* on acetic acid-induced colitis in rats. *Vascular pharmacology*. 39(6). 303-307.
- Palada, M. C., Crossman, S. M. A., Kowalski, J. A., St Croix, U. S. 1995. Growth and Yffild response of thyme (*Thymus vulgaris* L.) to sources of nitrogen fertilizer. *Agricultural experiment station. Virgine Island*. 58-64.
- Pavela, R. 2011. *Botanické pesticidy*. Kurent s.r.o. České Budějovice. 130 s. ISBN: 978-80-87111-0.

- Pavela, R. 2016. History, presence and perspective of using plant extracts as commercial botanical insecticides and farm products for protection against insects—a review. *Plant Protection Science*. 52. 229-241.
- Pavela, R., Benelli, G. 2016. Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. *Trends in Plant Science*. 21(12). 1000-1007.
- Pavela, R., Vrchotová, N., Tříška, J. 2009. Mosquitocidal activities of thyme oils (*Thymus vulgaris* L.) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology research*. 105(5). 1365.
- Pavela, R., Žabka, M., Bednář, J., Tříška, J., Vrchotová, N. 2016. New knowledge for yield, composition and insecticidal activity of essential oils obtained from the aerial parts or seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Industrial Crops and Products*. 83. 275-282.
- Peters, R. J. 2010. Two rings in them all: the labdane-related diterpenoids. *Natural product reports*. 27(11). 1521-1530.
- Petropoulos, S. A., Daferera, D., Polissiou, M. G., Passam, H. C. 2008. The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. *Scientia Horticulturae*. 115(4). 393-397.
- Picman, A. K. 1986. Biological activities of sesquiterpene lactones. *Biochemical Systematics and Ecology*. 14(3). 255-281.
- Pourmortazavi, S. M., Hajimirsadeghi, S. S. 2007. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *Journal of chromatography A*. 1163(1). 2-24.
- Preston, C. A., Laue, G., Baldwin, I. T. 2001. Methyl jasmonate is blowing in the wind, but can it act as a plant–plant airborne signal?. *Biochemical Systematics and Ecology*. 29. 1007-1023.
- Příbylová, Z. et al. 2014. Situační a výhledová zpráva: Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny. Ministerstvo zemědělství. Praha. 47 s. ISBN: 978-80-743-4192-2.
- Pulido, P., Perello, C., Rodriguez-Concepcion, M. 2012. New insights into plant isoprenoid metabolism. *Molecular Plant*. 5. 964–967.
- Rabeih, N. M., Aboraya, A. O. 2014. Hepatoprotective effect of dill (*Anethum graveolens* L.) and fennel (*Foeniculum vulgare*) oil on hepatotoxic rats. *Pakistan Journal of Nutrition*. 13(6). 303.
- Raj, H., Thakral, K. K. 2011. Effect of chemical fertilizers on growth, yield and quality of fennel (*Foeniculum vulgare* Miller). *Journal of Spices and Aromatic Crops*. 17(2).

- Raja, N., Albert, S., Ignacimuthu, S., Dorn, S. 2001. Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. Journal of Stored Products Research. 37(2). 127-132.
- Rao, B. R., Kaul, P. N., Mallavarapu, G. R., Ramesh, S. 1996. Effect of seasonal climatic changes on biomass yield and terpenoid composition of rose-scented geranium (*Pelargonium species*). Biochemical systematics and ecology. 24(7-8). 627-635.
- Rashed Mohassel, M. H., Nezami, A., Bagheri, A., Hajmohammadnia, K., Bannayan, M. 2009. Evaluation of freezing tolerance of two fennel (*Foeniculum vulgare* L.) ecotypes under controlled conditions. Journal of herbs, spices and medicinal plants. 15(2). 131-140.
- Ray, S., Ferneyhough, B. 1997. The effects of age on olfactory learning and memory in the honey bee *Apis mellifera*. Neuroreport. 8(3). 789-793.
- Razmjoo, K., Heydarizadeh, P., Sabzalian, M. R. 2008. Effect of salinity and drought stresses on growth parameters and essential oil content of *Matricaria chamomile*. Int. J. Agric. Biol. 10(4). 451-454.
- Reddy, M. B., Angers, P., Gosselin, A., Arul, J. 1998. Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. Phytochemistry. 47(8). 1515-1520.
- Regnault-Roger, C. 1997. The potential of botanical essential oils for insect pest control. Integrated Pest Management Reviews. 2(1). 25-34.
- Rečtová, Ch. 2015. Bylinky: na okně, na balkoně a na zahradě. Jan Vašut s. r. o. Praha. 64 s. ISBN: 978-80-723-6855-6.
- Rohmer, M., Knani, M., Simonin, P., Sutter, B., Sahn, H. 1993. Isoprenoid biosynthesis in bacteria: a novel pathway for the early steps leading to isopentenyl diphosphate. Biochemical Journal. 295(2). 517-524.
- Rosengarten, R., Jr. 1969. The book of spices. Livingston Publishing. Philadelphia. p. 489. ISBN: 978-08-709-8031-2.
- Rouillet, J. B., Spaetgens, R. L., Burlingame, T., Feng, Z. P., a Zamponi, G. W. 1999. Modulaci neuronální napětově řízených kalciových kanálů podle farnesol. Journal of Biological Chemistry. 274 (36). 25439 až 25446.
- Roy, A., Saraf, S. 2006. Limonoids: overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 29(2). 191-201.

- Ruffinengo, S., Eguaras, M., Floris, I., Faverin, C., Bailac, P., Ponzi, M. 2005. LD50 and repellent effects of essential oils from Argentinian wild plant species on *Varroa destructor*. *Journal of Economic Entomology*. 98(3). 651-655.
- Ruscoe, CN. 1972. Narušení růstu Účinky antifeedant hmyzu. *Nature*. 236 (66). 159-160.
- Ryan, E., Galvin, K., O'Connor, T. P., Maguire, A. R., O'Brien, N. M. 2007. Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. *Plant Foods for Human Nutrition*. 62(3). 85-91.
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food chemistry*. 91(4). 621-632.
- Scrivanti, L. R., Zunino, M. P., Zygadlo, J. A. 2003. *Tagetes minuta* and *Schinus areira* essential oils as allelopathic agents. *Biochemical systematics and ecology*. 31(6). 563-572.
- Seigler, D. S. 1998. *Plant secondary metabolism*. Kluwer academic publishers. New York. p. 758. ISBN: 978-14-613-7228-8.
- Sellami, I. H., Wannes, W. A., Bettaieb, I., Berrima, S., Chahed, T., Marzouk, B., Limam, F. 2011. Qualitative and quantitative changes in the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves as affected by different drying methods. *Food Chemistry*. 126(2). 691-697.
- Schaaf, O., Jarvis, A. P., Van Der Esch, S. A., Giagnacovo, G., Oldham, N. J. 2000. Rapid and sensitive analysis of azadirachtin and related triterpenoids from neem (*Azadirachta indica*) by high-performance liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 886(1). 89-97.
- Schönfelder, I., Schönfelder P. 2010. *Ottův průvodce přírodou: Léčivé rostliny*. Ottovo nakladatelství. Praha. 496 s. ISBN:978-80-7360-588-9.
- Simkin, A. J. et al. 2011. Peroxisomal localisation of the final steps of the mevalonic acid pathway *in planta*. *Planta*. 234. 903–914.
- Singh, G., Maurya, S., De Lampasona, M. P., Catalan, C. 2006. Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. *Food control*. 17(9). 745-752.

- Singh, M., Pal, M., Sharma, R. P. 1999. Biological activity of the labdane diterpenes. *Planta medica*. 65(01). 002-008.
- Singh, M.P., Panda, H. 2005. Medicinal herbs with their formulations Volume 1. Daya Publishing House. Delhi, India. pp 97-100. 408-410.
- Small, E. 2006. Velká kniha koření, bylin a aromatických rostlin. Volvox globator. Praha. s. 1023. ISBN: 80-7207-462-8.
- Soylu, S., Yigitbas, H., Soylu, E. M., Kurt, Ş. 2007. Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of applied microbiology*. 103(4). 1021-1030.
- Soković, M. D., Vukojević, J., Marin, P. D., Brkić, D. D., Vajs, V., Van Griensven, L. J. 2009. Chemical composition of essential oils of thymus and mentha species and their antifungal activities. *Molecules*. 14(1). 238-249.
- Souguir, S., Chaieb, I., Cheikh, Z. B., Laarif, A. 2013. Insecticidal activities of essential oils from some cultivated aromatic plants against *Spodoptera littoralis* (Boisd). *Journal of Plant Protection Research*. 53(4). 388-391.
- Spilková, J., Martin, J., Siatka, T., Tůmová, L., Kašparová, M. 2016. *Farmakognozie*. Karolinum press. Karlova univerzita v Praze. 348 s. ISBN: 978-80-246-3264-3.
- Stahl-Biskup, E. 1991. The chemical composition of *Thymus* oils: a review of the literature 1960–1989. *Journal of Essential Oil Research*. 3(2). 61-82.
- Stahl-Biskup, E., Sáez, F. 2002. *Thyme: the genus Thymus*. Taylor and Francis. London and New York. p. 24. ISBN: 0-415-28488-0.
- Stashenko, E. E., Jaramillo, B. E., Martínez, J. R. 2004. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. *Journal of Chromatography A*. 1025(1). 93-103.
- Starburck, J. 2001. Herbs for sleep and relaxation. *Men's Health*. 16. 24-26.
- Stewart, D. 2005. *The chemistry of essential oils made simple: God's love manifest in molecules*. Care Publication. Atlanta. p. 848. ISBN: 978-0934426992.
- Subra, R. 1981. Biology and control of *Culex pipiens quinquefasciatus* Say, 1823 (*Diptera, Culicidae*) with special reference to Africa. *International Journal of Tropical Insect Science*. 1(04). 319-338.
- Suthisut, D., Fields, P. G., Chandrapatya, A. 2011. Fumigant toxicity of essential oils from three Thai plants (*Zingiberaceae*) and their major compounds against *Sitophilus*

zeamais, *Tribolium castaneum* and two parasitoids. Journal of Stored Products Research. 47(3). 222-230.

- Szakiel, A., Ruszkowski, D., Janiszowska, W. 2005. Saponins in *Calendula officinalis* L.—structure, biosynthesis, transport and biological activity. Phytochemistry Reviews. 4(2-3). 151-158.
- Szczepanik, M., Zawitowska, B., Szumny, A. 2012. Insecticidal activities of *Thymus vulgaris* essential oil and its components (thymol and carvacrol) against larvae of lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). Allelopathy Journal. 30(1). 129-142.
- Šarić-Kundalić, B. et al. 2009. Multivariate numerical taxonomy of *Mentha species*, hybrids, varieties and cultivars. Scientia Pharmaceutica. 77(4). 851-876.
- Šegvić Klarić, M., Kosalec, I., Mastelić, J., Piecková, E., Pepeljnak, S. 2007. Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings. Letters in applied mikrobiology. 44(1). 36-42.
- Telci, I., Sahbaz, N., Yilmaz, G., Tugay, M. E. 2004. Agronomical and chemical characterization of spearmint (*Mentha spicata* L.) originating in Turkey. Economic botany. 58(4). 721-728.
- Thompson, J. D., Chalchat, J. C., Michet, A., Linhart, Y. B., Ehlers, B. 2003. Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. Journal of Chemical Ecology. 29(4). 859-880.
- Tognolini, M., Ballabeni, V., Bertoni, S., Bruni, R., Impicciatore, M., Barocelli, E. 2007. Protective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil and anethole in an experimental model of thrombosis. Pharmacological research. 56(3). 254-260.
- Tomaino, A., Cimino, F., Zimbalatti, V., Venuti, V., Sulfaro, V., De Pasquale, A., Saija, A. 2005. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. Food chemistry. 89(4). 549-554.
- van Beilen, J. B., Holtackers, R., Lüscher, D., Bauer, U., Witholt, B., Duetz, W. A. 2005. Biocatalytic production of perillyl alcohol from limonene by using a novel *Mycobacterium sp.* cytochrome P450 alkane hydroxylase expressed in *Pseudomonas putida*. Applied and environmental mikrobiology. 71(4). 1737-1744.

- Vilegas, J. H., de Marchi, E., Lanças, F. M. 1997. Determination of Coumarin and Kaurenoic Acid in *Mikania glomerata* ("Guaco") Leaves by Capillary Gas Chromatography. *Phytochemical Analysis*. 8(2). 74-77.
- Wenzer, M. 2014. Léčivé rostliny: nejlepší využití pro zdraví celé rostliny. Grada publishing a.s. Praha. s.240. ISBN: 978-80-247-5155-9.
- Wise, M. L., Croteau, R. 1999. Monoterpene biosynthesis. *Comprehensive natural products chemistry*. 2. 97-153.
- Wong, J. 2011. Vypěstujte si své vlastní léky. Grada publishing a.s. Praha. s. 224. ISBN: 978-80-247-3654-9.
- Znini, M. et al. 2011. Chemical composition and inhibitory effect of *Mentha spicata* essential oil on the corrosion of steel in molar hydrochloric acid. *International Journal of Electrochemical Science*. 6(3). 691-704.

Normy

- ISO 9909. Oil Dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.). National organization for standardization. Geneva. p. 5.

10. Seznam použitých zkratk

acetyl-Co a – acetylkoenzym A

Acetoacetyl-Co a – acetoacetyl koenzym A

DMAPP – dimethylallyldifosfát

EO – esenciální olej

GAP – glyceraldehyd-3-fosfát

IPP – isopentenyldifosfát

K – draslík

LC₅₀ – letální koncentrace, při které je dosaženo 50 % mortality vybraného druhu

LC₉₀ – letální koncentrace, při které je dosaženo 90 % mortality vybraného druhu

LD₅₀ – letální dávka, při které je dosaženo 50 % mortality vybraného druhu

LD₉₀ – letální dávka, při které je dosaženo 90 % mortality vybraného druhu

N – dusík

P – fosfor

P₂O₅ – oxid fosforečný

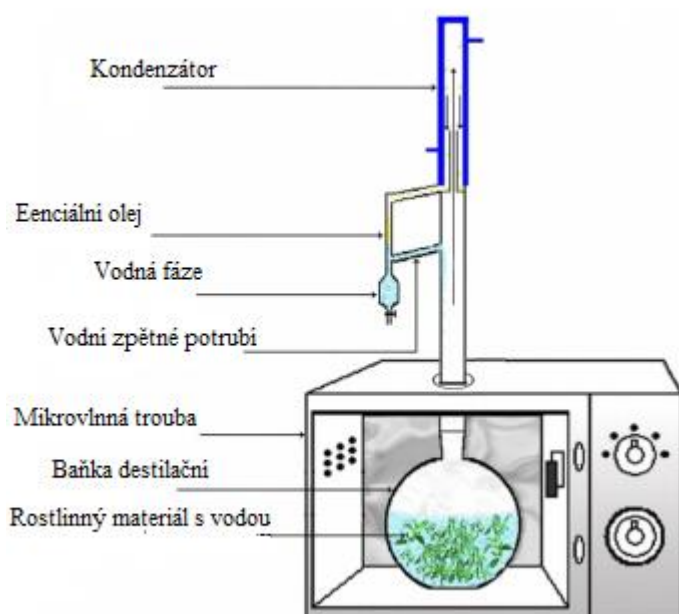
SH – thiol

11. Přílohy

Tabulka č. 1: Průběh počasí v době růstu rostlin a odběrů vzorků

Datum měření	Průměrná teplota vzduchu (°C)	Úhrn srážek (mm)	Datum měření	Průměrná teplota vzduchu (°C)	Úhrn srážek (mm)
20.04.2016	7,4	0	27.05.2016	17,5	0,6
21.04.2016	9,4	0	28.05.2016	18	1,2
22.04.2016	9,3	0	29.05.2016	19,4	0,1
23.04.2016	7,5	3	30.05.2016	20	0
24.04.2016	3,3	0,4	31.05.2016	17,1	9,1
25.04.2016	3,3	0	01.06.2016	17,3	0,3
26.04.2016	4,9	1,5	02.06.2016	17	1,5
27.04.2016	4,7	0	03.06.2016	16,2	4,9
28.04.2016	5	0	04.06.2016	18,5	0
29.04.2016	8	0	05.06.2016	20,1	0
30.04.2016	11,8	0	06.06.2016	20,1	0
01.05.2016	11,9	0	07.06.2016	18,4	0
02.05.2016	11,7	0	08.06.2016	19,7	0
03.05.2016	12,3	0	09.06.2016	17,7	0,2
04.05.2016	7,5	6	10.06.2016	17,3	0
05.05.2016	12,2	0	11.06.2016	16,3	0,1
06.05.2016	16	0	12.06.2016	17	0,5
07.05.2016	16,7	0	13.06.2016	17,3	1,4
08.05.2016	16	0	14.06.2016	17,9	0
09.05.2016	16,9	0	15.06.2016	15,9	4
10.05.2016	16,7	0	16.06.2016	18,8	20,2
11.05.2016	15,8	0	17.06.2016	14,8	5,4
12.05.2016	14,5	2,4	18.06.2016	17,2	0
13.05.2016	16	0	19.06.2016	17	0,8
14.05.2016	13	0	20.06.2016	16,6	0
15.05.2016	7,6	0,1	21.06.2016	17,9	0
16.05.2016	8,1	0,1	22.06.2016	20,8	0
17.05.2016	9,4	0	23.06.2016	24,1	0,1
18.05.2016	13,1	0	24.06.2016	25,9	0
19.05.2016	14,5	0	25.06.2016	25	9
20.05.2016	15,6	0,1	26.06.2016	19,3	0,8
21.05.2016	16,7	0	27.06.2016	17,4	3,9
22.05.2016	20,8	0	28.06.2016	18	5,5
23.05.2016	18,1	8,7	29.06.2016	20,9	0,5
24.05.2016	15,7	2,1	30.06.2016	20,1	0,3
25.05.2016	14,1	0,2	01.07.2016	22,4	1,6
26.05.2016	16,8	0	02.07.2016	20,1	2,8

Tabulka rozdělena do dvou tabulek umístěných vedle sebe.



Obr. č. 1: Mikrovlnná extrakce bez rozpouštědel (Lucchesi et al. 2004, doplněno českým překladem).



Obr. č. 2: Testační políčka (vlevo *T. vulgaris*, vpravo *M. spicata*, v pozadí *F. vulgare*).



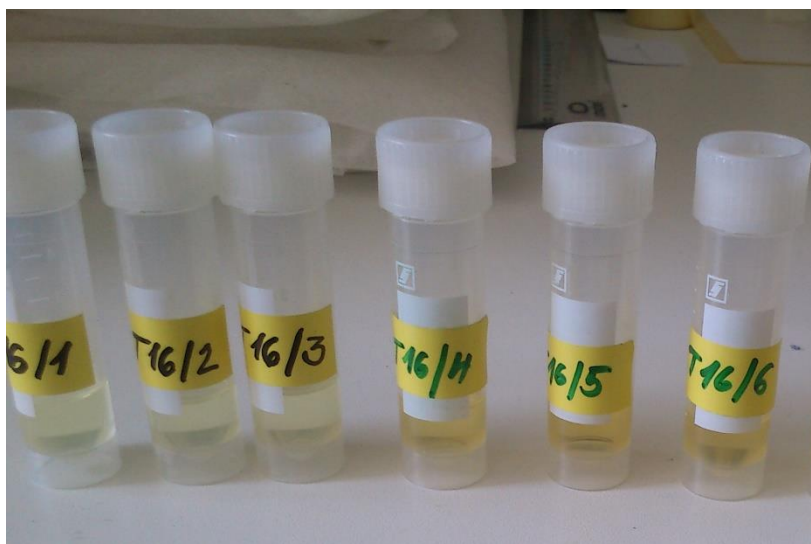
Obr. č. 3: Postřik *T. vulgaris* elicitacním přípravkem.



Obr. č. 4: Destilační aparatura s připravenými vzorky.



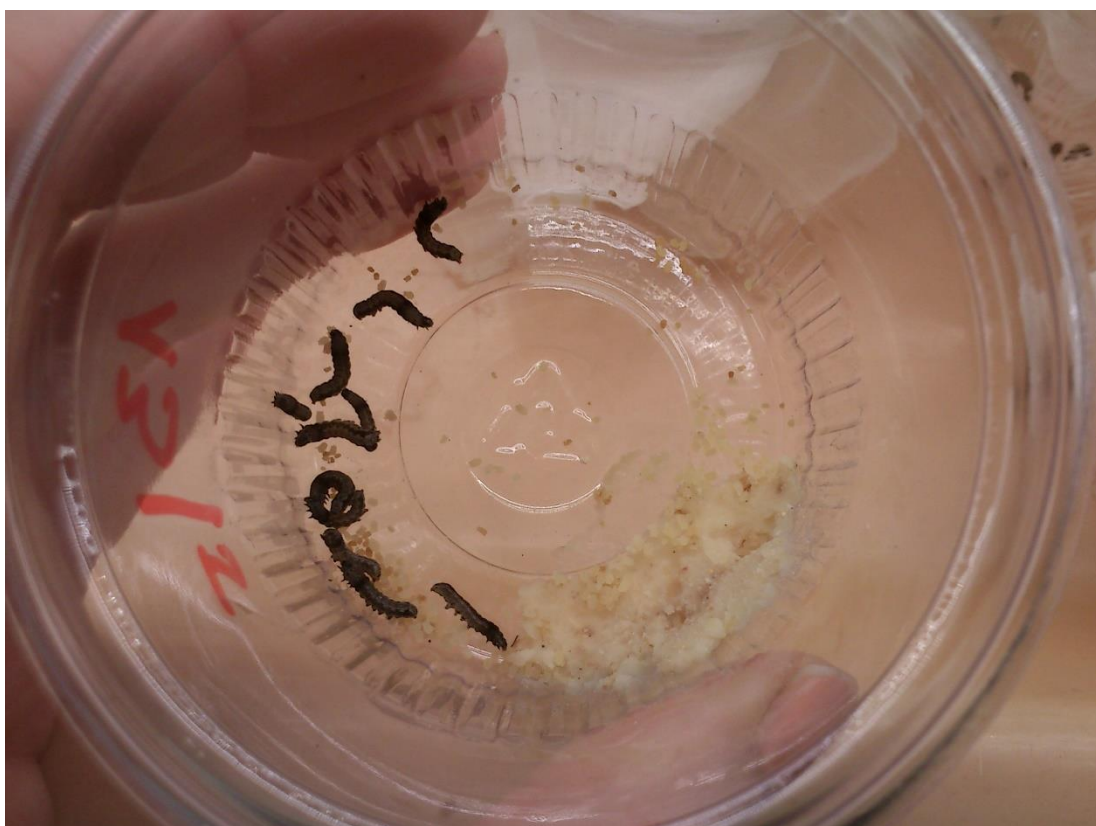
Obr. č. 5: Vyizolovaný esenciální olej ve vodné fázi.



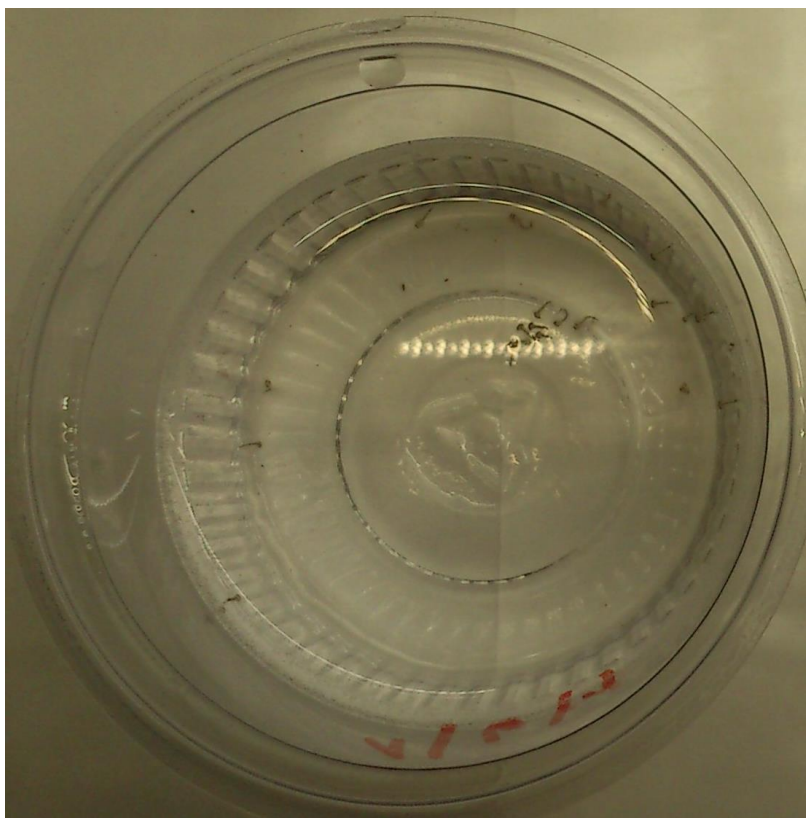
Obr. č. 6: Vzorky esenciálních olejů s patrnými rozdíly mezi variantami (3 vzorky vlevo kontrola, 3 vzorky vpravo elicitovaná varianta).



Obr. č. 7: Vzorok pro kvalitativní anlyzu.



Obr. č. 8: Larvy *Spodoptera littoralis*.



Obr. č. 9: Larvy *Culex quinquefasciatus*.

Seznam příloh

- Tabulka č. 2: Průběh počasí v době růstu rostlin a odběrů vzorků
- Obr. č. 1: Mikrovlnná extrakce bez rozpouštědel (Lucchesi et al. 2004, doplněno českým překladem).
- Obr. č. 2: Testační políčka (vlevo *T. vulgaris*, vpravo *M. spicata*, v pozadí *F. vulgare*).
- Obr. č. 3: Postřik *T. vulgaris* elicitacním přípravkem.
- Obr. č. 4: Destilační aparatura s připravenými vzorky
- Obr. č. 5: Vyizolovaný esenciální olej ve vodné fázi.
- Obr. č. 6: Vzorky esenciálních olejů s patrnými rozdíly mezi variantami
- Obr. č. 7: Vzorky pro kvalitativní anlyzu.
- Obr. č. 8: Larvy *Spodoptera littoralis*.
- Obr. č. 9: Larvy *Culex quinquefasciatus*.