

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: 4106T019/44 Agroekologie-Ekologické zemědělství

Katedra: Agroekosystémů

Diplomová práce

**Vliv technologie pěstování heřmánku pravého (*Matricaria recutita*
L.) na kvalitu produktu a jeho využití**

Vedoucí diplomové práce:

Prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.

Autor diplomové práce:

Bc. Kristýna Lexová

České Budějovice

2020

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Zemědělská fakulta

Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Kristýna LEXOVÁ
Osobní číslo: Z18069
Studijní program: N4101 Zemědělské inženýrství
Studijní obor: Agroekologie – Ekologické zemědělství
Téma práce: Vliv technologie pěstování heřmánku pravého (*Matricaria recutita* L.) na kvalitu produktu a jeho využití.
Zadávací katedra: Katedra agroekosystémů

Zásady pro vypracování

Cíl práce: Studium vlivu technologie pěstování heřmánku pravého (*Matricaria recutita* L.) na obsah vybraných biologicky aktivních látek v produktu a jeho využití. Vypracujte literární referenci na zadané téma. Vyhodnoťte statisticky výsledky maloparcelkového pokusu provedeného školitelem. Vyhodnoťte vliv použité technologie pěstování na obsah vybraných biologicky aktivních látek v produktu. Získané výsledky diskutujte a porovnejte s publikovanou literaturou. Diplomová práce bude obsahovat následující kapitoly:

1. Úvod – úvod do problematiky (rozsah 1 strana, bez citací)
2. Literární přehled a) botanická charakteristika, agrotechnika, hnojení, ochrana před škůdci a proti chorobám; b) chemické složení a účinné látky; c) metody stanovení účinných látek; d) farmakologické účinky některých účinných látek; e) současné využití rostliny a jejich účinných látek v ČR a ve světě; f) vliv technologie pěstování na obsah účinných látek. (rozsah cca 50% textové části DP)
3. Cíl práce a definice pracovní hypotézy – technologie pěstování heřmánku pravého ovlivní obsah biologicky aktivních látek v produktu (rozsah 1 strana)
4. Metodický postup – uveďte metodiku maloparcelkového pokusu provedeného Valím školitelem. Způsob zpracování vzorků a stanovení některých účinných látek. Popište způsob statistického zpracování dat předaných školitelem.
5. Výsledky a diskuse – Výsledky předané školitelem diskutujte a porovnejte s publikovanou literaturou k tématu (rozsah cca 50% textové části DP)
6. Závěr – shrnutí výsledků (rozsah 1-2 strany, bez citací)
7. Seznam citované literatury (minimálně 1/3 literárních pramenů ze zahraničních zdrojů – vědecké časopisy s IF, patenty, knihy, metodiky, diplomové a bakalářské práce)

Rozsah pracovní zprávy: 40-60 stran včetně příloh
Rozsah grafických prací: dle potřeby (tabulky, grafy, fotografická příloha)
Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam doporučené literatury:

Kwiatkowski, C. A., Harasim, E., Yakimovič, A., Kolodziej, B., Tomczyszka-Mleko, M. (2018): Evaluation of spent mushroom substrate, mineral NPK fertilization and manure fertilization on chamomile (*Chamomilla recutita* L. Rausch) yield and raw material, *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Kultus* 17, 3, 3-16; Salehi, A., Gholamhoseini, M., Atefi, R., Sefikon, F., Ghalavand, A. (2018): Effects of Zeolite, Bio- and Organic Fertilizers Application on German Chamomile Yield and Essential Oil Composition *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21, 1, 116-130; Upadhyaya R. K., Singhb V. R., Tewari S. K. (2016): New agro-technology to increase productivity of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Industrial Crops and Products* 89, 10-13; Kováčik, J., Klejduš, B. (2014): Induction of phenolic metabolites and physiological changes in chamomile plants in relation to nitrogen nutrition. *Food Chemistry*, 142, 334-341; Nikolova, A., Kozuharova, K., Zhelezkov, V. D., Craker, I. E. (1999): Mineral nutrition of chamomile (*Chamomilla recutita* L.). *Acta Horticulturae*, 502, 203-208; Kužel S., Cigler P., Hrubý M., (2006): „Přípravek pro indukci zvýšení tvorby bioaktivních sloučenin“. CZ-296300, ÚPV Praha, 24. 2. 2006; Kužel S. a kol (2009): Elicitation of Pharmacologically Active Substances in an Intact Medical Plant under Field-like Conditions. *J. Agric Food Chemistry*. 57, 17, 7907-7911; Kužel, S., Kolář, L., Ledvína, R., Pašek, J. (1998): Vliv nadbytku dusíku ve výživě *Echinacea purpurea* (L.) Moench na tvorbu jejich účinných látek. *Rostl. výr.* 44, 489-495; Nishi, A. (1994): Effect of elicitors on the production of secondary metabolites. In: Ryu, D. D. Y., Furusaki, S.: *Adv. Plant Biotechnol.* Elsevier Sci. BV, 135-151; Tyl, M. (1986): Heřmáněk lékařský – Agrotechnika velkovýrobní produkce heřmánku lékařského, jako účelovou publikaci vydal r. 1986 n. p. Léčivé rostliny, Tisk MTZ 31 Gottwaldov, 37; Salamon, I. (1992): Production of Chamomile in Slovakia. *The Herb, Spice and Medicinal Plant Digest*, 10, 1, 1-4; Dušek, J. et al. (1997): Studium faktorů ovlivňujících biosyntézu terapeuticky významných metabolitů v kulturách in vitro. *Závěrečná zpráva grantu 193/1997/Bb-BIO/FaF*; Bartoš P. (2016): Návrh technologie pěstování kotvičniku zemiho (*Tribulus terrestris* L.) a jeho využití. Dp. ZF JU v Č.B.; Zhao J., Davis L. C., Verpoorte R. (2005): Research review paper: Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 23(4), 283-333; Dvořáková J. (2006): Studium vlivu elicitorů na obsah některých účinných látek v rostlině *Ostroprestec mariánský Silybum marianum* (L.) Gaertn. Dp. ZF JU v Č. B.; Godoy-Hernandez G., Loyola-Vargas V. M. (1997): Effect of acetylsalicylic acid on secondary metabolism of *Catharanthus roseus* tumor suspension cultures. *Plant Cell Reports (Germany)*, 16(5), 287; Khan M. I. R., Fatma M., Per T. S., Khan N. A., Anjum N. A. (2015): Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1-17; Sherma M., Sherma A., Kumar A., Basu S. (2011): Enhancement of Secondary Metabolites in Cultured Plant Cells Through Stress Stimulus. *American Journal of Plant Physiology*, 6:50-80 <http://scialert.net/abstract/?doi=ajpp.2011.50.71>;

Vedoucí diplomové práce: **prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.**
Katedra agroekosystémů

Datum zadání diplomové práce: **18. února 2019**
Termín odevzdání diplomové práce: **15. dubna 2020**

V Českých Budějovicích dne 11. března 2019

V. Z. 

prof. Ing. Miroslav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA 
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Alšbátův 1586, 370 08 České Budějovice

L.S. 

doc. Ing. Petr Konvalina, Ph.D.
vedoucí katedry

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných zemědělskou fakultou, elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne

.....
vlastnoruční podpis

Ráda bych na tomto místě poděkovala panu prof. Ing. Stanislavu Kuželovi CSc. za ochotu, cenné rady, a poskytnutí dat k mé diplomové práci. Dále velmi děkuji panu Ing. Milanu Kobesovi PhD. za pomoc při statistickém zpracování dat.

Abstrakt

Heřmánek pravý (*Matricaria recutita* L.) patří k nejčastěji využívaným bylinkám nejen u nás Evropanů, ale také v Asii či Americe. Léčivé účinky nese v případě heřmánku květ. Ten obsahuje především látky, které mají protizánětlivé a dezinfekční účinky, jako je modrá silice, chamazulen, bisabolol, spiroétery, farnesen, matricin, polyacetylenové sloučeniny, hořčiny, tuk, flavonové glykosidy, kumarinové látky a apigenin, éterické oleje s bisabolem, natricin, azulén, glukosidy apigenin a luteolin, rutin, kumarin, cholin a hyperosid.

Cílem této diplomové práce bylo zjištění vlivu elicitorů a technologie pěstování na produkt a jeho využití.

V literární části jsem se zabývala botanickou charakteristikou, agrotechnikou, farmakologickými účinky, chemickým složením účinných látek, metodami stanovení účinných látek a další.

V praktické části jsem zjišťovala vliv elicitorů na obsah účinných látek. Byl použit elicitor kyselina acetylsalicylová ve třech různých koncentracích, nízké [10^{-5} mol/l], /5 ASA/, střední [10^{-4} mol/l], /4 ASA/ a vysoké [10^{-3} mol/l] /3 ASA/. Na závěr jsem provedla statistické vyhodnocení a porovнала získané výsledky s výsledky publikací jiných autorů.

Klíčová slova: Heřmánek pravý, *Matricaria recutita* L., elicitor, kyselina acetylsalicylová

Abstract

Chamomile (*Matricaria recutita L.*) is one of the most commonly used herbs not only in our Europeans, but also in Asia and America. Healing effects bears in the case of chamomile flower. It contains mainly substances that have anti-inflammatory and disinfectant effects such as blue essential oil, chamazulene, bisabolol, spiroethers, farnesene, matricin, polyacetylene compounds, bitter substances, fat, flavone glycosides, coumarin and apigenin, bisabolic essential oils, natricin, azulene, glucosides apigenin and luteolin, rutin, coumarin, choline and hyperoside.

The aim of this thesis was to determine the influence of elicitors and growing technology on the product and its use.

In the literary part, I dealt with botanical characteristics, agrotechnics, pharmacological effects, chemical composition of calves, methods of determination of active substances and others.

In the practical part, I investigated the effect of elicitors on the content of active substances. Acetylsalicylic acid elicitor was used in three different concentrations, low [10^{-5} mol / l], medium [10^{-4} mol / l] and high [10^{-3} mol / l]. Finally, I made a statistical evaluation and compared the results of other publications.

Key Words: Chamomile, *Matricaria recutita L.*, elicitor, acetylsalicylic acid

Obsah

1 Úvod.....	10
2 Literární přehled.....	11
2.1.1 Heřmánek lékařský (<i>Matricaria recutita</i> (L.) Rauschert)	11
2.1.2 Popis rostliny	12
2.1.3 Výskyt rostliny.....	13
2.2 Agrotechnika	13
2.2.1 Pěstování heřmánku	13
2.2.2 Výživa a hnojení	15
2.2.3 Sklizeň a sušení.....	16
2.3 Ochrana před škůdci a proti chorobám	18
2.4 Chemické složení a účinné látky	20
2.4.1 Význam a charakteristika silic	24
2.5 Metody stanovení účinných látek	24
2.5.1 Chromatografie.....	24
2.5.2 Extrakce.....	25
2.6 Elicitace.....	26
2.6.1 Elicitory	27
2.6.1.1 Biotické elicitory.....	28
2.6.1.2 Abiotické elicitory	28
2.6.1.3 Ostatní elicitory.....	29
2.6.2 Stanovení silic podle Československého lékopisu 4. vydání (1987).....	31
2.7 Farmakologické účinky některých účinných látek.....	31
2.7.1 Způsoby využití heřmánku pravého	34
2.8 Současné využití rostliny a jejích účinných látek v ČR a ve světě	35
2.9 Vliv technologie pěstování heřmánku pravého na obsah účinných látek.....	37
3 Cíl práce a metodika.....	39
3.1 Cíl práce	39
3.2 Metodika.....	39
4 Agrotechnika	40
4.1 Příprava pozemku.....	40
4.2 Setí a ošetřování porostu	41
4.3 Postřik elicitory	41
4.4 Sběr a sušení	42
5 Příprava vzorků a extrakce.....	43

6 Měření	44
6.1. Princip	44
6.2. Přístroje a pomůcky	45
6.3. Chemikálie a roztoky	45
6.4 Metodika.....	46
6.4.1 Příprava kalibrační křivky standardního roztoku taninu.....	46
7 Výsledky	47
8 Diskuse	60
9 Závěr	62
SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	63
SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ	71
SEZNAM TABULEK.....	73
SEZNAM PŘÍLOH.....	74

1 Úvod

Léčivé rostliny tvoří převládající zdroj přírodních léčiv, a proto už téměř od nepaměti slouží jako nejdostupnější prostředek proti mnohým nemocem. Lidové léčitelství se postupně vytvářelo z náhodných a empirických zkušeností celých generací a současné výzkumy léčivých rostlin potvrzují, že naši předkové správně poznávali léčivé účinky velkého množství rostlin.

Heřmánek pravý (*Matricaria recutita L.*) je jednou z nejstarších doložených léčivých rostlin a stejně hojně jako nyní se používal již před tisíciletími. A nejen to, byla to jedna z nejoblíbenějších bylinek, kterou lidé používali k léčení nejrůznějších běžných nemocí, k výrobě kosmetiky a ke zlepšování životního prostředí.

Z drogy původně sběrové se postupně heřmánek stal pěstovanou léčivkou. Destilované heřmánkové silice a esenciální oleje se ve velké míře využívají i ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu. Pěstební plochy heřmánku v České republice sice od roku 1998 klesají, ale přesto stále patří mezi nejvýznamnější pěstované druhy. Podle statistik je heřmánek (resp. jeho sušené květy a modré oleje) pátou nejobchodovanější bylinou na světě; k největším světovým producentům patří Maďarsko, Polsko, Německo, Argentina a do svého rozpadu též Československo. Přidává se do šampónů, parfémů, kosmetických krémů, mýdel, toaletních vod, zubních past, masážních olejů a mnoha farmaceutických přípravků včetně likérů.

2 Literární přehled

2.1 Botanické zařazení

2.1.1 Heřmánek lékařský (*Matricaria recutita* (L.) Rauschert)

Heřmánek lékařský (*Matricaria recutita* (L.) Rauschert), jehož synonymum je heřmánek pravý (*Matricaria chamomilla* L.) se řadí do čeledi hvězdnicovitých (Asteraceae). Rod heřmánek (*Matricaria*) zahrnuje dva druhy, z nichž heřmánek lékařský má prokázanou farmaceutickou hodnotu (Tyl, 1986).

Čeď hvězdnicovitých obsahuje ještě několik zástupců rodů heřmánku podobných, z nichž velmi zaměnitelně může působit rmen rolní (*Athemis arvensis* L.) Od heřmánku se liší přibližně dvojnásobnou velikostí úboru (20-40 mm), svítivě bílými jazykovitými květy a diskovitým, plným, páchnoucím úborem. Heřmánek v porostu většinou přerůstá a kvete s mírným časovým předstihem. Hlavním rozdílem mezi heřmánkem pravým a rmenem rolním je v květu. Rmen rolní nemá na rozdíl od heřmánku pravého duté lůžko (Tyl, 1986; Anonym 1, 2019).

Tabulka č.1 - Rozdíly mezi heřmánkem lékařským (*Matricaria recutita* L.) a rmenem sličným (*Chamaemelum nobile* L.)

Vědecký název	<i>Matricaria recutita</i> L.	<i>Chamaemelum nobile</i> L.
Vytrvalost růstu	jednoletka	trvalka
Stonky	vzpřímené, až 1 m vysoké, hladké	poléhavé, do 25 cm výšky, mírně ochlupené
Listy	dvakrát dělené do úzkých úkrojků	dvakrát, nebo třikrát dělené do úkrojků, které jsou více ploché a širší
Uspořádání květů	chocholík	jednotlivě na koncích stonků
Květní lůžko	duté, špičatě kuželovité	plné, široce kuželovité

(Small, 2006)

Heřmánku pravému je velmi také podobný heřmánek římský (*Anthemis nobilis*). Heřmánek římský je nízká, velmi rychle se rozrůstající trvalka, její květy nemají pro heřmánek charakteristickou vůni. Heřmánek římský je možné použít i jako náhražku trávníku, protože dokáže rychle pokrýt i větší plochy. (Anonym 1, 2019).

2.1.2 Popis rostliny

Heřmánek je jednoletá silně vonná bylina se slabým vřetenovitým kořenem, 10 až 50 cm vysokou bohatě větvenou lodyhou a střídavými přisedlými listy, jejichž čepel je dvakrát až třikrát zpeřeně dělená na úzké čárkovité úkrojky. Jednotlivé, dlouze stopkaté úbory se zeleným zákrovem mají obvodové bílé samičí květy s jazykovitou korunou v době plného rozkvětu šikmo skloněné na stopce. Květy jsou středové, trubkovité, žluté. Plody jsou velmi drobné nažky bez chmýru (Sochor, 2007).

Reprodukce probíhá výhradně semeny. Semena jsou v půdě klíčivá i několik let. Vzhledem k velikosti semene vzchází i z hloubky přes 5 cm. Kvetou od května do pozdního podzimu (s hlavní vlnou kvetení v červnu). Na jedné rostlině dozrává několik tisíc nažek s nepravidelnou délkou dormance. Nažky jsou protáhlé, oválné až vejčité, až 1,1 mm dlouhé, k základně zúžené, šikmo odseknuté, na vrcholovém konci límcovitě rozšířené, s hrbolkem v jeho středu. Na příčném průřezu jsou nažky nepravidelně kruhové. Často mírně prohnuté (Pešek, 2010).

Povrch je matný, žlutošedý až žlutavě hnědý, s výraznými, podélnými a světleji zbarvenými žebry. Klíčivost heřmánku probíhá na světle při teplotě 6-7 °C a dostatku vláhy za 4-7 dnů, při nedostatku vláhy 21-56 dnů. Vzchází za dobrých vláhových podmínek za 10–14 dnů. Heřmánek má kolem 40 listů, kdy listová růžice se tvoří za 30-40 dnů. Vyznačuje se dobrou suchovzdorností. Kvetou 40-70 dnů, výjimečně až 120 dnů. Optimální teplota pro kvetení je 19-20 °C (Pešek, 2010).

2.1.3 Výskyt rostliny

Roste na celém území našeho státu. Vyskytuje se zejména v nížinách a v teplejších podhorských oblastech na lehkých a středně těžkých půdách (Mikulka a kol., 1999).

Dále se vyskytuje téměř po celé Evropě a západní Asii na východ až do Severní Ameriky a Austrálie. Dnes se pěstuje v rozsáhlých polních kulturách především ve střední a jihovýchodní Evropě, v severní Africe a Jižní Americe (Anonym 1, 2012). Roste především v teplejších oblastech na polích, úhorech, podél cest, na rumištích a na sušších písčitých půdách. Vyskytuje se zejména pak po relativně teplém, vlhkém podzimu a jaře (Kohout a kol., 1996; Sharifi-Rad, 2018).

2.2 Agrotechnika

2.2.1 Pěstování heřmánku

Heřmánek pěstujeme ze semena. Velmi důležitou podmínkou pro pěstování je, že semeno heřmánku potřebuje k vyklíčení světlo. Proto se semeno nikdy nezapravuje do půdy. Na plochu jednoho aru je třeba asi 20 g semen. Vyséváme za bezvětří, nejlépe po mírném dešti. Povrch zeminy je třeba mít uvalcovaný a vlhký. Na předplodinu není náročný. Zpočátku roste pomalu, a proto se musí zvýšenou měrou dbát o odplevelování pozemku. (Heneberg, 1992).

Při likvidaci plevelů se nejvíce uplatňuje mechanická kultivace. Na malých plochách lze uplatnit ruční kultivaci, ale ta je náročná a nákladná. Na větších plochách se využívá meziřádková kultivace mechanizací, která se provádí podle potřeby v prvním i následujícím roce pěstování. Při mechanické kultivaci se nejenom odstraňují plevely, ale také se zlepšuje provzdušnění půdy (Kužel a kol., 2006). Výsev provádíme ve třech ročních obdobích a to do řádků 45-50 cm od sebe vzdálených (Heneberg, 1992).

Příprava půdy je klasická, spočívá v podmítce a v střední orbě. Hlavní je pečlivé urovnění povrchu, dále pak smykování, vláčení a válení (Moudrý a kol., 2011). Heřmánek na půdu ani na podnebí není náročný. Kromě vysloveně kyselých, zamokřených nebo čistě písčitých půd jej lze pěstovat téměř všude. K dosažení vysokých výnosů je pro heřmánek neoptimálnější půda lehčí s dostatkem humusu a hlavně vápna. Jako předplodinu, vzhledem k jeho pomalému růstu volíme takové plodiny, které zanechávají pozemek bez plevelu. Proto nejsou vhodné jeteloviny a jetelotravní směsi (Anonym 1, 2019).

Podzimní výsev provádíme od poloviny srpna do poloviny září. Výsev vzchází asi za týden (v tomto období je obvykle dostatečně teplo a vlhko). Plečkování se provádí koncem března. Tímto postupem docílíme časně úrody, kdy první sběr bude prováděn v květnu až v červnu (Heneberg, 1992).

Jarní výsev provádíme nejlépe do 15. dubna s ohledem na využití zásob půdní vláhly ke vzcházení (Tyl, 1986). Dle Moudrého a kol., (2011) je jarní výsev rizikový, i když je velmi často používaný. Při nedostatku srážek je menší jistota vzcházení, semeno naklíčí a zaschne. Udává jako příklad výsev heřmánku v ekologickém zemědělství, kdy u ekologického zemědělství se používá vyšší norma výsevu, z důvodu zajištění dobré vzcházivosti a aby byl porost plodiny dostatečně konkurenceschopný vůči zaplevelení.

Kováčik a kol., (2018) uvádí, že nadměrná akumulace Mn má negativní dopad nejen na růst, ale také na fenolické metabolity v mladých rostlinách.

Vildová a kol., (2006) porovnávali možnost pěstování heřmánku pravého v ekologickém a konvenčním zemědělství. Vyšších výnosů dosáhli v ekologickém hospodaření, a to v řádcích 375 mm. V konvenčním zemědělství bylo dosaženo nejvyšších výnosů u varianty, kde meziřádková vzdálenost byla 250 mm.

U obou možností byla použita netkaná textilie jako podpora vzcházení s okopávkou při výšce rostliny 5 cm. Obsah silice byl vyšší v ekologické variantě, v konvenční se pravděpodobně projevila závislost na předplodině, kde v tomto případě jí byla luskovina. Vildová a kol., (2006) se domnívají, že vyšší zásoba dusíku po předplodině způsobila nižší obsah silice.

2.2.2 Výživa a hnojení

Heřmánek pravý řadíme k doběrným plodinám, proto dávky hnojiv by měly být odvislé od půdní zásoby, dusíku, draslíku a fosforu. Doporučené dávky na 1 ha jsou následující.

Dusík 20-60 kg rozdělený do 3 dávek:

- před setím
- po první sklizni
- po druhé sklizni

Nadměrné množství dusíku způsobuje polehání porostů, pozdní kvetení, snižuje obsah silice i její kvalitu. Draslík 66-100 kg se aplikuje na podzim, kdy nadbytek urychluje kvetení, tvoří se větší úbory, zvyšuje se výnos, ale nepříznivě se projevuje na složení silice. Fosfor 15-20 kg se dodává do půdy na podzim, vyšší množství opoždí kvetení, snižuje počet a hmotnost květů, způsobuje rozpadavost úborů, zvyšuje obsah silice, ale zhoršuje její kvalitu. Vyšší dávky jednotlivých prvků jsou určeny pro vlhčí oblasti (Štolcová, 2005).

Nadměrné používání fosforečných hnojiv způsobuje znečištění povrchových vod a eutrofizaci (Fageria, 2009). K vyřešení tohoto problému byly do fosforečných hnojiv nedávno přidány modifikátory, například zeolity (Bernardi a kol., 2010).

Dle výzkumu Juarez-Rosete a kol., (2012) aplikace organických hnojiv spočívala v zapravení huminových kyselin a organických hnojiv s biosyntetickými aminokyselinami. Výsledky ukázaly, že anorganická hnojiva a dny sklizně mají pozitivní vliv ($P \leq 0,05$). Co se týče výtěžku esenciálního oleje, neexistují žádné rozdíly. To závisí na čerstvých květech během ošetření, zatímco výtěžek alfa-bisabololu se zvyšuje aplikací huminových kyselin. Předpokládá se, že maximální výtěžek *Matricaria chamomilla L.* se získá se spotřebou dusíkatého hnojiva v dávce nižší než 150 kg / ha (Mohajerani, 2019).

2.2.3 Sklizeň a sušení

Při sběru je nutno dodržovat řadu pokynů. Heřmánek můžeme sbírat několikrát do roka, vždy když kultura znovu vykvete. Lze říci, že čím častěji se květy trhají, tím častěji rostlina kvete. Důležitá je doba sběru. Květy se sbírají v době, kdy jazykovité květy jsou ve vodorovné poloze a středy květů jsou ještě nízké. Tato situace nastává 3. - 5. den po rozkvětu. Maximum silice je v květech sice při jejich plném rozvítí, ale v té době již květy sbírat nelze, jelikož by se při sušení rozpadly. Květy trháme se stopkou maximálně 2 cm dlouhou (Heneberg, 1992).

Sklizeň se provádí při časném podzimním výsevu koncem května a v červnu. Po 15. červenci se sklízí jarní výsev. Sběr se provádí za suchého počasí dopoledne. Nasbírané květy se ukládají do vzdušných přepravních nádob nebo se před dalším zpracováním ukládají na plachty do stínu. Nasbírané květy se potom prosejí sítem s oky o průměru 12 mm a vytřídí se nečistoty. Do dvou hodin musí být sesbírané květy rozprostřeny v sušárně, aby nedošlo k zapaření (Heneberg, 1992; Moudrý a kol., 2011).

Období sklizně a způsoby extrakce, mohou ovlivnit výtěžek extrakce esenciálních olejů / extraktů, jejich složení a tím i jejich biologickou aktivitu (Sharifi-Rad, 2018).

Suší se na větraném místě při teplotě 35 stupňů, rychle v tenké vrstvě. Při sušení se heřmánek neobrací, aby se nezapařil. Výška vrstvy je asi 2 cm, tj. asi 1 kg syrových květů na plochu 1 m. Květ heřmánku patří mezi drogy, které se velmi snadno zapařují. Správně usušený květ poznáme podle toho, že květní lůžko se drolí na prach a nedosušené se roztírá (Heneberg, 1992).

Strojově sklizená droga se po sklizni musí vytřídit. Hlavní součástí třídičky jsou překulovací pásy, na nichž se oddělí části listů a stonků a droga se dále podle velikosti roztřídí do jednotlivých jakostních tříd, jednotlivé podíly padají do zásobníků (Římová, 2006).

Vytříděná droga se musí hned sušit, nejlépe v komorových nebo pásových sušárnách. Teplota sušení je 35 °C, doba sušení 6-8 hodin, kdy během sušení se nesmí heřmánek obracet. Po sušení se nechá 6-12 hodin vydýchat (Římová, 2006).

Usušená droga může obsahovat až 14 % vody. Přesoušet však drogu na obsah vody pod 10 % je plýtvání energií a zhoršování kvality vyšším procentem prosevu. Drogu balíme do papírových pytlů nebo kartonových kontejnerů. Pokud je droga balena ihned po usušení, obaly pak ještě několik hodin neuzavíráme, protože droga musí před uzavřením být spolehlivě zchlazena (Šalát, 2007).

Heřmánková droga je farmaceutickou surovinou, z tohoto důvodu mají producenti, ale i odběratelé zvýšenou odpovědnost za výbornou kvalitu drogy. Až 40 % veškerých vynaložených prostředků na produkci drogy představují náklady na sušení (Tyl, 1986).

Sušit teplým vzduchem se proto vyplácí jen první až třetí kvalitativní třídu. U čtvrté kvalitativní třídy, odsevků a květní nati je sušení teplým vzduchem nerentabilní. K jejich sušení stačí použít větší plochy jednoduchých roštů trvale provětrávaných venkovním vzduchem. (Tyl, 1986).

U pokusu dle Biertumpfela a kol., (2007) se ukázalo, že destilace sušené máty peprné vedla k 30 až 40 % nižším výtěžkům éterického oleje ve srovnání s destilací čerstvého materiálu. Naopak sušený materiál heřmánku měl vyšší výtěžek éterického oleje než čerstvý materiál.

Sesychací poměr je 5:1

Výnos: 4-20 kg/100 m²

Hodinový sběr: 3-8 kg/hod

Tabulka č.2 - Fyziologické procesy probíhající v heřmánku po sklizni

Vydýchání	zahřívání, zapařování ve vrstvách
	v extrémech až samovznícení
	fermentace
Stárnutí	degradace chlorofylu
	zasychání listů
	změny v kvalitě specifických účinných látek
Transpirace	vadnutí a sesychání
	změny v kvalitě účinných látek
Mikrobiologická kontaminace	vliv speciálních látek
	hnilobné ztráty
	částečné zahřívání
	poškození a pomačkání
Poškození a změny	mechanické poškození
	rozpad květů a pupat
	posun kvality

Zdroj: Moudrý a kol., (2011)

2.3 Ochrana před škůdci a proti chorobám

Heřmánek pravý (*Matricaria recutita* (L.) Rauschert) poškozuje především savý hmyz. Mezi hlavní škůdce patří pidikřísek bramborový (*Empoasca pteridis* Dahl.), pidikřísek zelenavý (*Empoasca flavescens* Fabr.), mšice maková (*Aphis fabae* Scop.), mšice slívová (*Brachycaudus helichrysi* Katl.), mšice bodláková (*Brachycaudus cardui* L.), třásněnka obecná (*Thrips physaphus* L.), třásněnka zahradní (*Thrips tabaci* Lind.) a někdy i ploštice, klopušky, zejména klopuška hajní (*Lygus lucorum* Mey. D.). Sáním na mladých listech škodí především mšice, pidikřísové a klopušky (Moudrý a kol., 2011).

Třásněnky škodí hlavně sáním uvnitř úborů, mezi trubkovitými kvítky a přispívají k rozpadavosti drogy. Jako larva žírem uvnitř květního úboru, v němž se také kuklí, škodí parazitická moucha vrtule (*Trypanea stellata* Fuensley). Problémem jsou také skladištní škůdci a housenky zavíječů (Moudrý a kol., 2011).

Dle výzkumu Garbera a kol., (2013) byl na jedné straně rostliny heřmánku nalezen druh houby rodu *Septoria* a na druhé straně byla detekována houba morfologicky podobná *Entylomella trailii*, která však podle DNA – sekvencí patří k askomycetům. Testování 12 fungicidů v praxi vedlo ke stabilizaci výtěžku pouze při pozdější aplikaci, což mělo za následek maximální obsah reziduí.

Mšice maková (*Aphis fabae Scopoli*)

Tato dicyklická mšice je černozeleň až hnědočerná o velikosti 2-2,5 mm. Primárním hostitelem je brslen, kalina a pustoryl. Kulminačního bodu dosahují populace mšice makové na heřmánku koncem června až začátkem července, kdy při větším výskytu jsou rostliny koloniemi mšic doslova obaleny. Výnosu květů heřmánku škodí nejvíce sání mšic pod květními úbory (Římová, 2006).

Napadení heřmánku mšicí makovou je často doprovázeno napadením dalšími dvěma druhy mšic, a to mšicí slívovou (*Brachycaudus helichrysi Kalt.*) a mšicí bodlákovou (*Brachycaudus cardui L.*). Tyto mšice jsou většinou zeleně zbarveny a počáteční napadení na rostlinách heřmánku proto ujde často pozornosti. Mohou však být stejně škodlivé jako mšice maková. Ochrana: Přirození nepřátelé (sluněčka, zlatoočka) jejich počty jsou menší, zpravidla nestačí v době masového výskytu mšic (Římová, 2006).

Třásněnka zahradní (*Thrips tabaci Lind.*)

Třásněnka obecná (*Thrips physapus L.*) Třásněnky dosahují velikosti 1 mm. Přezimují dospělci, ročně mají tři generace. Na rostlinách se objevují koncem dubna. Sají v úborech mezi trubkovitými květy a jsou jednou z příčin rozpadavosti heřmánkové drogy (Římová, 2006).

Dle Tyla (1986) při přemnožení škůdců aplikujeme insekticid Phosdrin postřikem 0,1 % roztokem 400-800 l.ha⁻¹, případně Brevinyl E 50 postřikem 0,5 % roztokem. Ochranná lhůta u obou přípravků je minimálně 7 dnů před sklizní heřmánkových květů. Moudrý a kol., (2011) uvádí, že používání insekticidů v porostech heřmánku pravého není však až na výjimky nutné. K ochraně volíme především preparáty s krátkou ochrannou lhůtou (sedm dnů), které lze využít mezi

sklízni. Vhodné jsou zejména přípravky Logos EC 50 (3 l/ha) nebo Phosdrin EC 24 (0,6l/ha). Speciálně proti mšicím můžeme aplikovat také Pirimor DP v koncentraci 0,005 až 0,075.

Padlí travní

U heřmánku pravého je nejrozšířenější chorobou padlí travní, což je houbová choroba. Primární příznaky se objevují na bázi rostlin, na spodních listech v podobě malých, bělavých kupek mycelia. Jde o nepohlavní stadium houby, kdy se tvoří množství spor, které jsou roznášeny na další části rostliny a další rostliny (větrem, pohybem vzduchu). Povlaky mycelia se objevují na všech nadzemních částech rostliny, v krajním případě mohou splývat a pokrývat celý list (Vozábová, 2008).

Příznaky jsou velmi typické, nezaměnitelné s jiným onemocněním. Přibližně koncem června, někdy i dříve, se v myceliálních povlacích objevují drobné černé tečky. Jde o plodnice pohlavního stadia houby, které jsou schopné přetrvat nepříznivé vnější podmínky (Vozábová, 2008).

2.4 Chemické složení a účinné látky

Heřmánek můžeme považovat za nejvíce probádanou rostlinu na světě. Zatím byla zjištěna přítomnost více než 120 obsahových látek, a přesto předpokládáme, že tento počet není zdaleka konečný. Je stále co objevovat, od pěstování přes izolaci obsahových látek až k vysvětlení principu účinku jednotlivých substancí a následných klinických studií (Římová, 2006).

Základní účinnou složkou je silice (0,3 - 1,5 %), jejíž hlavní součástí je chamazulen (do 20 %), dále seskviterpeny (-) - α -bisabolol (molekulová hmotnost 222,36) a jeho oxidy A, B a C, cis-a trans-en-in-dicykloethery, farnesen, myrcen a kadinen (Římová, 2006). Štolcová (2005) uvádí, že heřmánková silice se nejvíce tvoří v trubkovitých květech. Dále pak ve žláznatých trichomech a ve zvláštních kanálcích.

Nejméně silice je v nočních a poledních hodinách, při zamračeném a deštivém počasí naopak nejvíce mezi 14-17 hodinou při jasném slunečném dni. Optimální teplota pro tvorbu silic je 20-25°C. Stonky, listy, kořeny obsahují pouze 0,1% silice.

Heřmánkové květy obsahují především modrou silici (asi 1,5 %, u pěstovaných forem až 3 %), chamazulen, bisabolol a éterické oleje s bisabolem, spiroétery, farnesen, matricin, polyacetylenové sloučeniny, flavonové glykosidy, naticin, azulén, glukosidy apigenin a luteolin, rutin, kumarin, cholin a hyperosid, hořčiny, gumu, vosk, tuk. Droga voní příjemně aromaticky a chutná nahořkle kořenně (Tomko 1989; Vozábová 2008).

Droga kromě silice obsahuje flavony a flavonové glykosidy (apigenin, apigetrin, apiin, luteolin, kvercetin, kvercimeritrin a rutin), patulitrin a další flavonoidy. Dále obsahuje oxykumariny (umbelliferon, herniarin), aminokyseliny, cholin, polysacharidy, tannin, slizy a hořčiny (Římová, 2006).

Tabulka č.3 - Čtyři základní chemokultivary heřmánku pravého (*Chamomilla recutita* L.) podle zastoupení obsahových látek v silici

Chemokultivar	A	B	C	D
Obsahová látka				
α -bisabololoxid A	4,74-15,68%	31,7-52,25%	2,13-18,5%	9,62-25,83%
α -bisabolol	4,37-15,41%	8,81-12,92%	24,18-77,21%	8,49-19,58%
α -bisabololoxid A	22,43-58,55%	5,27-8,79%	3,17-34,46%	10,43-24,2%
Chamuzalen	2,7-17,69%	5,4-7,95%	1,45-14,9%	1,91-7,89%
Čtyři základní chemokultivary heřmánku pravého (<i>Matricaria recutita</i> L.)				
Chemokultivar A	α -bisabololoxid B > α -bisabololoxid A > α -bisabolol (charakteristické pro heřmánek z Egypta, Japonska, Francie, Česka, Slovenska, Polska)			
Chemokultivar B	α -bisabololoxid B > α -bisabololoxid B > α -bisabolol (charakteristické pro argentinský heřmánek)			
Chemokultivar C	α -bisabolol > α -bisabololoxid B > α -bisabololoxid A (charakteristické pro řecký, bulharský a albánský heřmánek)			
Chemokultivar D	α -bisabololoxid B = α -bisabololoxid = α -bisabolol (charakteristické pro jugoslávský a brazilský heřmánek)			

(Štolcová, 2005)

Tabulka č.4 - Obsahové látky

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

(Šalát, 2007)

2.4.1 Význam a charakteristika silic

Silice jsou směsi látek nejrozmanitějšího typu, především terpenů a jejich sloučenin. Dají se rozpustit v lihu, éteru i v jiných organických rozpouštědlech. Setkat se s nimi můžeme v mezibuněčných prostorech, ve žláznatých chlupcích, v nádržkách, kanálcích apod. U bazalky jsou obsaženy například v listech, u růže v květech, u citronu a koriandru v plodech, u santalového dřeva ve dřevě. Dále se mohou vyskytovat také v pryskyřici, kůře, kořenech, či oddencích. Některé však mohou být toxické a vyvolávat kontaktní dermatitidy. Vzhledem k jejich lipofilnímu charakteru, který jim umožňuje dobře se resorbovat pokožkou, mohou způsobovat i celkovou otravu. Nositeli siličné vůně mohou být některé alkoholy (geraniol, mentol), aldehydy (anisaldehyd, citran), ketony (jonon, iron), fenoly (thymol, anethol), ethery (anisol) a mnoho dalších (Jiroušková, 2011).

2.5 Metody stanovení účinných látek

2.5.1 Chromatografie

Mezi nejvýznamnější analytickou a separační metodu patří chromatografie. Umožňuje dělení, identifikaci a stanovení velkého počtu anorganických a organických látek obsažených v nejrůznějších přírodních i technických směsích v širokém koncentračním rozmezí, tj. poskytuje kvalitativní a kvantitativní informace o vzorku (Bartoš, 2016).

Do chromatografických metod lze zařadit například: vysokoúčinnou kolonovou kapalinovou chromatografii (HPLC), plynovou chromatografii (GC) nebo chromatografii na tenké vrstvě (TLC). Chromatografie dělí jednotlivé složky na nepohyblivou (stacionární) a pohyblivou (mobilní) fázi (Bartoš, 2016).

2.5.2 Extrakce

Extrakce je příkladem separační metody založené na kontaktu dvou makroskopicky zřetelně oddělených nemísitelných fází, přičemž tyto fáze mohou být různého skupenství. Extrakce bývá obvykle prováděna tak, aby při ní došlo nejen k separaci, ale i ke zakoncentrování analytu z relativně velkého objemu do malého objemu kontaktní fáze – extrakčního činidla (Bartoš, 2016). Opekar a kol. (2010) uvádí, že u extrakce se uplatňuje Liebigovo pravidlo, kdy „podobné se rozpouští v podobném“.

Jedním z druhů extrakcí může být extrakce kapalinou (L-L extrakce). Při této extrakci se analyt převádí z vodného roztoku vzorku do organického rozpouštědla (chloroform, benzen atd.). Extrakci lze provádět manuálním protřepáváním obou kapalin v dělicích nálevkách nebo v různých extraktorech. K následné analýze se používá organická fáze. Tato metoda je vhodná pro stanovení těžkých kovů a netěkavých organických látek. Látky iontové povahy dávají přednost vodné, polární fázi. Látky neiontové povahy pak fázi organické, nepolární, a proto je nutno ionty kovů před extrakcí z vodné do organické fáze převést reakcí s vhodným chelatačním činidlem do formy chelátu bez náboje (Opekar a kol., 2010).

2.5.3 Spektrofotometrie

Spektrofotometrie je stanovování vlastností vzorku, např. koncentrace určité látky v roztoku, na základě pohlcování světla v různých vlnových délkách spektra. Zařízení, která měří při jedné nebo jen několika přesně definovaných vlnových délkách monochromatického světla, označujeme jako fotometry. Technicky složitější a dokonalejší přístroje, které umožňují vlnovou délku monochromatického světla libovolně nastavit, nebo měřit část absorpčního spektra v určitém úseku vlnových délek, se nazývají spektrofotometry (Anonym 3, 2015).

Spektrofotometr s proměnou vlnovou délkou světla tedy umožňuje měření barevných křivek (skutečné barvy) vzorku (závislost absorbance na vlnové délce). Dále za použití faktu že absorbance je přímo úměrná koncentraci barevné látky, lze ji využít pro stanovení koncentrace neznámého vzorku. U pevných vzorků ze stejného materiálu lze využít k měření tloušťky materiálu (Anonym 3,2015).

Obrázek č.1 - Spektrální analyzátor Spekol 11



zdroj: https://www.researchgate.net/figure/Spectrophotometer-Spekol-11-Germany_fig3_318803054

2.6 Elicitace

Elicitace je metoda, která dokáže vyvolat stres, který aktivuje obranné reakce rostlin (Kužel a kol., 2006). Tato metoda se vyvinula v souvislosti s rozvojem kultivace rostlin in vitro. Elicitace využívá schopnosti rostlin reagovat na různá agens řadou reakcí, na jejichž konci nastává zvýšená tvorba sekundárních metabolitů (DiCosmo, 1985).

Elicitace se často používá v in vitro kulturách rostlin. Důvodem použití je produkce účinných látek v buňkách rostlin, které jsou vzácné, chráněné, špatně se pěstují, nebo jejich vypěstování trvá příliš dlouho. Hlavní překážkou využití in vitro kultur v biotechnologii jsou především vysoké investiční a provozní náklady.

Základním předpokladem pro úspěšnou elicitaci je nalezení vhodného elicitoru, doby, kdy působí na rostlinnou kulturu in vitro, a jeho optimální koncentrace (Kužel a kol., 2009).

2.6.1 Elicitory

Elicitory jsou biologicky aktivní látky schopné v rostlině vyvolat obrannou reakci v interakci rostlina – patogen (Moricová a kol., 2014). Jako elicitory mohou sloužit některé metabolity vylučované patogeny – exogenní elicitory a sloučeniny, které se uvolňují narušováním buněčné stěny obou organismů – endogenní elicitory. Do exogenních elicitorů se řadí některé polysacharidy, specifické enzymy a peptidy, do endogenních elicitorů například: oligomery chitinu nebo glykoproteidy, uvolněné hydrolýzou buněčné stěny patogenu či oligogalaktouronany uvolněné z buněčné stěny napadené buňky (Gubišová, 2015).

Elicitory dělíme na specifické a nespecifické. Specifické elicitory jsou tvořeny konkrétním patogenem – ve většině případů jde o produkty Avr genu, které bývají rozpoznány jen určitou skupinou hostitelů. U specifických elicitorů bývá reakce zpravidla mnohem komplexnější, než je tomu u nespecifických (Gubišová, 2015).

Mezi nespecifické elicitory se řadí látky, které se vyskytují v celé řadě patogenů (polysacharidy buněčných stěn, nebo některé nízkomolekulární látky jako mastné kyseliny, steroly). Elicitory je možné rozdělit na biotické (fytohormony a mikroorganismy) a abiotické (fyzikální – UV záření, chemické – ionty kovů, anorganické soli (Gubišová, 2015).

Elicitory a elicitace se také zkoumají nejen na rostlinách a jejich buněčných tkáních in vitro či přímo na pozemcích s pokusnými porosty, ale i se pracuje na výzkumech elicitorů, které produkuje hmyz. Věda se zejména zajímá o opylovače a u motýlů (*Lepidoptera*), pak i o jejich housenky. Zkoumá se jejich vliv na rostliny, ale zároveň se také zkoumá vliv použitých elicitorů z hlediska bezpečnosti a neškodnosti pro tento klíčový prvek v oblasti pěstování rostlin, jímž opylovači beze sporu jsou (Šalát, 2007).

Další oblastí, kde se provádí výzkum účinnosti elicitace a jejího možného použití je moderní medicína. Vědci si uvědomili možnosti plynoucí z elicitace a vědí, že budou-li jejich výzkumy a pokusy úspěšně fungovat, mohou nalézt účinnou léčbu na nejednu civilizační chorobu včetně rakoviny (Šalát, 2007).

Elicitory dělíme dále na biotické a abiotické. Nicméně za elicitory lze považovat také rostlinné hormony. Aplikováním elicitorů na rostliny lze také zvýšit kvalitu čerstvých surovin, obohacených potravin nebo výchozích složek potravinářských a krmných výrobků. (Baenas a kol., 2014).

2.6.1.1 Biotické elicitory

Jsou to organické látky se signálním účinkem. Jsou účinné i v nepatrných koncentracích (Zdrážilová, 2007).

Řadíme mezi ně:

- celé intaktní patogenní i nepatogenní organismy nebo jejich části: viry, bakterie (např. *Pseudomonas*), houby (např. *Candida*, *Aspergillus*), kvasinky, mykoplazmata
- endogenní konstitutivní elicitory: organické molekuly pocházející z buněk napadené rostliny: chitosan, oligogalakturonidy, kyselina jasmínová, kyselina salicylová (Kužel a kol., 2015)
- organické molekuly parazitických organismů: oligosacharidy, glykoproteiny, mastné kyseliny

2.6.1.2 Abiotické elicitory

Jsou to chemické a fyzikální vlivy, které stresují rostlinu a tím spouštějí tvorbu fytoalexinů. Výhoda abiotických elicitorů, zejména solí těžkých kovů, spočívá v tom, že jsou chemicky zcela definované, lze je přesněji dávkovat a jsou zpravidla finančně dostupné (Zdrážilová, 2007).

Řadíme mezi ně:

- soli těžkých kovů: CuCl_2 , HgCl_2 , CdCl_2 , CuSO_4 , MnSO_4 , PbNO_3
- inhibitory látkové výměny: kyselina trichloroctová, 2,4 - dinitrofenol
- fyzikální vlivy: UV záření, gama záření, změny pH, změny osmotického tlaku, chlad, vysoká teplota
- detergenty
- rostlinné ochranné prostředky: pesticidy

2.6.1.3 Ostatní elicitory

Kyselina salicylová (SA) je dobře známá endogenní signální molekula rostlin, která se podílí na mnoha růstových odpovědích a rezistenci vůči onemocnění (Dempsey a kol., 1999; Kužel a kol., 2006; Park a kol., 2003).

Účinek exogenní SA závisí na mnoha faktorech, včetně druhu a vývojového stádia, způsobu aplikace a koncentrace (Vanacker a kol., 2001; Horvath a kol., 2007). SA dávky 0,05–0,5 mM jsou považovány za faktory, které ovlivňují mírný stres, což ovlivňuje oxidační stav rostliny podobným způsobem, jaký byl pozorován při aklimatizaci stresu (Horvath a kol., 2007).

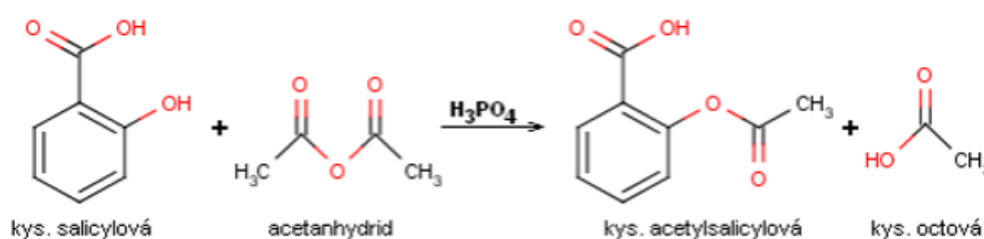
Kyselina acetylsalicylová (ASA) neboli 2- acetoxybenzoová kyselina patří do fenolytických kyselin. ASA se skládá z 60 % uhlíku, 35,5 % kyslíku a 4,5 % vodíku. Při pokojové teplotě se jeví jako bílý krystalický prášek s bodem tání 136 °C a bodem varu 140 °C o hustotě 1,40 g/cm³ (Gubišová, 2015).

Kyselina salicylová se vyskytuje v léku Aspirin jako derivát. V roce 1899 byl v německé společnosti Bayer chemikem Hoffmanem synteticky připraven derivát kyseliny salicylové – kyselina acetylsalicylová, která je účinnou složkou jednoho z nejrozšířenějších léků, již zmíněného aspirinu (Janda a kol., 2014). Aspirin patří mezi nejrozšířenější léky na světě. V USA je spotřeba kyseliny acetylsalicylové více než 10 000 tun ročně a celosvětová roční spotřeba je odhadována na 45 000 tun (McMurry, 2007).

Dle Šaláta (2007) použitý elicitor-kyselina acetylsalicylová v nízké koncentraci ovlivňuje statisticky nevýznamně obsah flavonoidů v heřmánku, a to nejprve snížením množství účinných látek v rostlině (po jednom postřiku v prvním sběru), a následně dochází k nárůstu obsahu flavonoidů (po druhém postřiku, a to ve druhém sběru). Při použití vysoké koncentrace elicitoru dochází ke statisticky významnému ovlivnění obsahu flavonoidů, a to nejprve snížením množství účinných látek v rostlině (po jednom postřiku v prvním sběru) a následně dochází k nárůstu obsahu flavonoidů (po druhém postřiku, a to ve druhém sběru).

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

Obrázek č. 2 – Vznik kyseliny acetylsalicylové z kyseliny salicylové



(McMurry 2007; Gubišová, 2015)

2.6.2 Stanovení silic podle Československého lékopisu 4. vydání (1987)

Stanovení silic se provádí destilací, za použití přístroje předepsaného lékopisem na stanovení silic v drogách. Stanovení se provádí buď bez přidání dekalinu, nebo za přidání jmenované látky. Dekalin se přidává v případě, je-li silice částečně rozpustná ve vodě, nebo ulpívá-li příliš na chladiči, nebo má-li vyšší hustotu než voda. Obsah silice se vyjadřuje v procentech (V/m), tj. objem silice ve 100g drogy. Podle Českého lékopisu drogou je heřmánkový květ – *Matricariae flos*, usušený úbor druhu heřmánku pravého (*Chamomilla recutita (L.) RAUSCHERT*). Musí obsahovat nejméně 4 ml modře zbarvené silice v kilogramu drogy (Štolcová a kol., 2006).

Popis přístroje ke stanovení silic:

Přístroj tvoří vzestupná trubice ukončená v ohbí zábrusem, chladič, trubice k zachycování destilátu se dvěma stupnicemi, s postranní trubicí a s výpustným kohoutem a zpětná trubice. Zábrus se zátkou umožňují spláchnutí silice ulpělé v chladiči.

2.7 Farmakologické účinky některých účinných látek

Dosud bylo v heřmánku zjištěno více než 120 druhů sekundárních metabolitů s potenciální farmakologickou účinností. Aktivními látkami jsou silice s modravými azuleny a proazuleny, seskviterpeny a četné flavonoidy, hořčiny, taniny, mastné kyseliny a sliz (Zentrich, 2007).

Heřmánková silice, konkrétně azuleny (např. chamazulen), které jsou modře zbarveny a vznikají až při destilaci s vodní parou z neprchavých proazulenů (např. matricinu), dále bisaboloidy, ethery, farnesen, byla hodnocena u případů osteoartritických bolestí kolene. Zdá se, že pravidelné lokální potírání extraktem z heřmánku pomáhá v ustoupení symptomů, jako je bolest, zánět a otok.

Studie na lidských dobrovolnících prokázala, že heřmánkové flavonoidy a éterické oleje pronikají pod povrchem kůže do hlubších vrstev kůže. To je důležité pro jejich použití jako lokálních antiflogistických (protizánětlivých) látek (Merfort a kol., 1994).

V porovnání s kyselinou mefenamovou byl pozorován významnější efekt extraktu heřmánku v redukci závažností a výskytu symptomů premenstruačního syndromu, tj. vykazuje určitý analgetický efekt (Anonym 2 2017; Březinová 2014).

Nedoporučuje se užívání v těhotenství a době kojení, látky heřmánku ovlivňují napětí dělohy i menstruační cyklus (Barne, 2002).

Terpenické silice pomáhají vylučovat žlučové kyseliny a podporují trávení. Žaludeční vředy zřejmě pomáhá hojit bisabolol. Heřmánek pravý dokáže samostatně podporovat trávení, uklidňuje křeče hladkého svalstva trávicího traktu, zároveň pomáhá zpracovat zkonsumované mastné kyseliny a upravuje apetit (Anonym 2, 2017).

U pacientů s akutním průjmem byla prokázána efektivita, bezpečnost a dobrá tolerance kombinace myrhy, extraktu z heřmánku a černého uhlí. V porovnání velkého počtu pacientů v zahraničí byl tento klinický výsledek srovnatelný se standardní terapeutickou péčí (Anonym 2, 2017).

Anonym 2 (2017) uvádí, že extrakt z heřmánku vykazuje silné antioxidační a protiprůjmové účinky, které jsou dokonce závislé na dávce a ovlivňují akumulaci objemu střevních tekutin.

Léčivé vlastnosti hojení ran heřmánkovým olejem (*Matricaria chamomilla L.*), získaný z květů heřmánku zkoumal Glowania a kol. (1986). Studie zahrnovala 14 pacientů, u nichž byl heřmánkový olej přidán ke standardním obvazům. Významně zlepšil vzhled rány, kdy ji velmi dobře vysušil.

McKayem a kol. (2006) ve své studii uvádí hodnocení potencionálních pozitivních účinků na hojení ran u zvířat, kde zjistili mírný antimikrobiální účinek a také prokázali antimutagenní účinky u zvířat.

Dále jsou známé účinky silice heřmánku proti houbovým a plísňovým onemocněním, proti svrabu a jiným kožním parazitům. Příznivý je rovněž účinek některých silic heřmánku na horní cesty dýchací, které se využívají hojně v terapii. Používají se často jako inhalační prostředky. Patří sem i silice kosodřevinová (*Oleum pini pumilionis*), eukalyptová silice. K ústnímu požití slouží silice fenyklová, anýzová a tymiánová (Tomko a kol., 1989).

Silice jsou velmi účinné a intenzivní, proniknou do lidského krevního oběhu za necelých 20 minut po aplikaci na kůži (Swainson, 2002).

Meyer (2006) zkoumal biologickou dostupnost apigeninu z petržele u lidí a učinil závěr, že malá část apigeninu se dostane do krevního oběhu, a proto může mít biologické účinky. Vědci zjistili, že apigenin obsažen v heřmánku – oslabuje rakovinné buňky, bere jim sílu k množení se a šíření tělem. Protože lidé absorbují apigenin s malou účinností, není zatím jasné, kolik bychom jej měli denně přijmout. Vědci doporučují jíst petržel, celer a ovoce každý den, abychom zajistili alespoň minimální hladinu apigeninu v krvi. Heřmánkový čaj by se měl také zařadit do pitného režimu.

Gould a kol. (1973) hodnotili hemodynamické účinky heřmánkového čaje u pacientů se srdečním onemocněním. Obecně bylo zjištěno, že pacienti po užití nápoje upadli do hlubokého spánku. Pasechnik (1996) uvedl, že infuze připravená z *M. chamomilla* měla výrazný stimulační účinek na sekreční funkci jater.

Většina hodnocení inhibice růstu nádoru heřmánkem zahrnuje studie s apigeninem, který je jednou z bioaktivních složek heřmánku. Studie na předklinických modelech rakoviny kůže, prostaty, prsu a vaječnicků prokázaly slibné inhibiční účinky na růst (Way, 2004; Birt, 1997).

V nedávno provedené studii bylo prokázáno, že heřmánkové extrakty způsobují minimální růstové inhibiční účinky na normální buňky, ale vykazovaly významné snížení životaschopnosti buněk v různých buněčných liniích u rakoviny postihující člověka (Patel, 2007; Gates 2007).

Salvador a kol. (2000) zkoumali na základě energetické disperzní rentgenové fluorescenční techniky (EDXRF) koncentrace prvků v pěti druzích komerčního čaje od šesti komerčních dodavatelů, kde byly obsaženy heřmánek (*Matricaria chamomilla* L.), máta peprná (*Mentha piperita* L.) voňatka citronová (*Cymbopogon citratus*), jablň domáci (*Malus domestica* Borkh) a čajovník čínský (*Camellia sinensis* L.).

Vzorky byly excitovány rentgenovou trubicí s Mo anodou (25 kV a 10 mA), se ZR filtrem a charakteristické rentgenové záření bylo detekováno Si (Li) detektorem připojeným k vícekanálovému analyzátoru. S použitím standardních vzorků byl stanoven vztah mezi detekčním limitem a atomovými čísly Fe, Co, Ni, Cu, a Zn. V některých vzorcích čaje byl detekován Ti, ale není to nezbytný mikroelement pro růst rostlin. Ve všech analyzovaných čajových vzorcích byly detekovány Fe, Ni, Cu, Ti, Cr, Co a Zn (Salvador a kol., 2000).

Těžké kovy mohou být zaváděny do léčivých rostlinných produktů prostřednictvím kontaminovaných zemědělských zdrojů nebo špatnou výrobní praxí. Po celém světě byla hlášena toxicita těžkých kovů spojená s používáním tradičních léčivých přípravků. Otrava kontaminací léčivých rostlinných produktů těžkými kovy způsobila nespočet zdravotních důsledků, včetně selhání jater a ledvin a dokonce i smrt. Koncentrace několika těžkých kovů se však v některých ekosystémech dramaticky zvýšila v důsledku antropogenních aktivit (Sarma a kol., 2012).

Léčivé složky se obvykle extrahují ze suchých květů heřmánku za použití vody, ethanolu nebo methanolu jako rozpouštědel a odpovídající extrakty se označují jako vodné, ethanolické (alkoholické) / nebo methanolové extrakty. Extrakty z heřmánku optimálně obsahují asi 50 procent alkoholu. Normálně standardizované extrakty obsahují 1,2 % apigeninu, který je jedním z nejúčinnějších bioaktivních látek. Vodné extrakty, například ve formě čaje, obsahují poměrně nízké koncentrace volného apigeninu, ale obsahují vysoké hladiny apigenin-7-O-glukosid (Hamon a kol., 1989).

Heřmánkový čaj je jedním z nejpoblárnějších bylinných čajů na světě a denně se konzumuje asi milion šálek čaje. Na trhu jsou také čajové sáčky heřmánku, které obsahují heřmánkový květový prášek, buď čistý nebo ve směsi s jinými oblíbenými léčivými bylinami (Carnat a kol., 2004).

2.7.1 Způsoby využití heřmánku pravého

- **Heřmánkový čaj:** Jednu vrchovatě naplněnou kávovou lžičku dáme do 1/4 litru vody pouze spařit a pak necháme krátce vyluhovat.

- **Přísada do koupele:** Pro koupel ve vaně použijeme dvě dvouhrstě, pro umývání tváře a hlavy pouze jednu hrst heřmánku, spaříme a vyluhujeme.
- **Obklady z heřmánku:** Jednu polévkovou lžici vrchovatě naplněnou zalijeme 1/4 litrem vařícího mléka, krátce vyluhujeme, scedíme a přikládáme jako teplé obklady.
- **Pára z heřmánku:** Jednu polévkovou lžici zalijeme litrem vroucí vody. Páry vdechujeme pod ručníkem.
- **Bylinný polštář:** Lněný pytlík naplníme usušenými květy a zašijeme, dobře zahřejeme v suché pánvi a přiložíme.
- **Heřmánkový olej:** Lahvičku naplníme až po hrdlo čerstvými květy nasbíranými za slunného dne. Zalejeme je olivovým olejem, lisovaným za studena. Květy musí být v oleji ponořené. Lahvičku dobře uzavřeme a necháme stát 14 dní na slunci. Uchováváme v chladničce!
- **Heřmánková mast:** 250 g vepřového sádla zahřejeme jako při vysmažování a vsypeme do něho vrchovatou dvouhrst čerstvých květů, směs vzkypí, promísíme ji, přikryjeme a odložíme na noc na chladné místo. Druhý den opět jen mírně zahřejeme a protlačíme přes lněný hadřík. Nejlepší způsob je tento: Lněný hadřík dáme do síta, které položíme do hrnce s nástavkem na vylévání a heřmánkovou mast prolisujeme. Mast se potom rovnoměrně promísí a přeleje do čistých lahviček nebo kelímků.
- **Heřmánková koupel:** pro celkovou koupel ve vaně použijeme 2 hrsti suchých květů, pro oplach ran nebo částečnou koupel rukou či nohou stačí 1 hrst. Uvedené množství zalijeme litrem vroucí vody, necháme 15 minut vyluhovat, slijeme (Treben, 2014).

2.8 Současné využití rostliny a jejích účinných látek v ČR a ve světě

Evropa představuje nejvýznamnější obchodní centrum s rostlinami skupiny LAKR. Dle šetření VSZP Karila se ročně do Evropy dováží téměř 130 tis. tun léčivých rostlin, z toho 85 % do zemí EU. Na druhé straně se z Evropy ročně vyváží 76 tis. tun léčivých rostlin do 150 zemí. Obecně země východní a jižní Evropy LAKR pěstují a sbírají, naopak bohatší země západní a severní Evropy tyto rostliny zpracovávají. Nezávisle na způsobu pěstování je v oboru vidět dlouhá tradice a vysoká odborná a technologická úroveň. Nejvýznamnější pěstované evropské

druhy jsou: kmín kořený, koriandr setý, fenykl obecný, ostropestřec mariánský, anýz vonný, pelyněk pravý, heřmánek pravý, třezalka tečkovaná (Štolcová a kol., 2006).

Tošovská a kol., (2012) uvádí, že v roce 2011 byly léčivé, kořenové a aromatické rostliny pěstovány na 8 588 ha s produkcí 7 016 t a výnosem 0,82 t/ha. V roce 2015 poklesly plochy na 5 177 ha s produkcí 4 400 t a průměrným výnosem 0,84 t/ha. Každým rokem dochází k poklesu ploch LAKR. Tento pokles je zapříčiněn nestabilní situací odbytu, která je závislá především na ekonomické i odborné náročnosti pěstování LAKR, dále pak i na stagnaci výkupních cen.

Hlavními pěstiteli heřmánku na silici jsou Argentina, Egypt, Polsko, Německo, Maďarsko, Česká republika, Rusko a některé další evropské státy. V malém množství se pěstuje také v Indii (Small, 2006). Rostliny lze nalézt i v Severní a Jižní Americe, Austrálii či v Novém Zélandu (Ivens, 1979). Svab (1979) uvádí, že Maďarsko je hlavním výrobcem rostlinné biomasy, heřmánek zde hojně roste a je zdrojem příjmů pro chudé obyvatele těchto oblastí.

Tabulka č. 5 – Přehled vybraných LAKR

Druh	Plocha v ha					Produkce v t				
	1997	1998	1999	2000	2001	1997	1998	1999	2000	2001
Heřmánek pravý (<i>Chamomilla recutita</i> (L.) RAUSCHERT)	157	160	162	102	97	15,7	16,0	16,2	10,2	9,7
Máta peprná (<i>Mentha x piperita</i> L.)	62	87	53	72	84	18,6	26,1	15,9	21,6	25,2
Meduňka lékařská (<i>Melissa officinalis</i> L.)	32	30	47	50	37	12,8	12,0	18,8	20,0	14,8
Tymián obecný (<i>Thymus vulgare</i> L.)	22	18	25	24	18	6,6	5,4	7,5	7,2	5,4
Jitrocel kopinatý (<i>Plantago lanceolata</i> L.)	24	27	18	20	19	9,6	10,8	7,2	8,0	7,6
Jehlice trnitá (<i>Ononis spinosa</i> L.)	19	17	16	18	23	1,9	1,7	1,6	1,8	2,3
Lopuch větší (<i>Arctium lappa</i> L.)	12	10	13	16	15	2,4	2,0	2,6	3,2	1,8
Proskurník lékařský (<i>Althaea officinalis</i> L.)	8	11	9	10	9	0,8	1,1	0,9	1,0	1,5
Kozlík lékařský (<i>Valeriana officinalis</i> L.)	6	5	7	9	7	1,8	1,5	2,1	2,5	2,1
Andělíka lékařská (<i>Archangelica officinalis</i> (MOENCH) HOFFM.)	3	5	5	3	4	0,6	0,9	1,0	0,6	0,8

(MZe ČR, 2004)

Destilované heřmánkové silice a esenciální oleje se ve velké míře využívají i ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu. Podle statistik je heřmánek (resp. jeho sušené květy a modré oleje) pátou nejobchodovanější bylinou na světě. Přidává se do šampónů, parfémů, kosmetických krémů, mýdel, toaletních vod, zubních past, masážních olejů a mnoha farmaceutických přípravků včetně likérů (Singh a kol., 2011).

2.9 Vliv technologie pěstování heřmánku pravého na obsah účinných látek

Účinné látky v rostlinách (drogách) jsou ovlivňovány celou řadou činitelů. V první řadě je to podnebí (teploty, srážky, sluneční záření, proudění vzduchu, nadmořská výška). Teplota ovlivňuje tvorbu silic, většina siličnatých drog pochází ze středomoří, kde je vyšší teplota. Alkaloidní drogy vyžadují vyšší teplotu a vyšší intenzitu záření. Nadbytek srážek snižuje obsah slizu (Štolcová a kol., 2006).

Pro pěstování je důležitá řízená výživa, dusík podporuje do určité míry nejen tvorbu natě, ale i alkaloidů, pro květové a plodové drogy je důležitý fosfor, pro tvorbu kořenů zase draslík. Stopové prvky (Mn, Mg) působí jako katalyzátory metabolismu a příznivě ovlivňují obsah glykosidů (Štolcová a kol., 2006).

Sklizeň, a hlavně doba sklizně hrají důležitou roli v obsahu účinných látek. Sklizeň se provádí za suchého počasí, po oschnutí rosy, aby nedošlo ke znehodnocení drogy zapářením, též není vhodná sklizeň za vysokých teplot, hlavně u siličnatých drog. Sušení se provádí hned po sklizni (nesklízet do zásoby), důležitá je dokonalá výměna vzduchu. Konec sušení se pozná podle snadné lámavosti drogy (Štolcová a kol., 2006).

Skladování drog je omezeno na dobu 2 let, vzhledem k obsahu účinných látek. Skladuje se v temnu, suchu, do teploty 15 °C, v papírových obalech, igelitové obaly se používají jen na hygroskopické drogy, někdy i v papírových kontejnerech. Všechny výše uvedené opatření lze ovlivnit účinné látky v rostlinách a proto u řady LAKR je třeba dát přednost pěstování před sběrem (Štolcová a kol., 2006).

Kvalita léčivých rostlin používaných k produkci farmakologicky užitečných sloučenin se obvykle hodnotí podle obsahu biologicky aktivních sloučenin. Protože většina těchto rostlin se pěstuje v polích, byla studie listové aplikace elicitorů na imunostimulační léčivé rostliny třapatky nachové (*Echinacea purpurea* L. Moench.) zaměřena na stimulaci aktivních sloučenin vyvoláním in vivo. Jako aktivní složky listových postřiků byly vybrány přírodní mediátory stresu rostlin a jejich deriváty (kyselina acetylsalicylová, kyselina salicylová a methylosalicylát) a nově zavedený biokompatibilní elicitor kovu [titan (IV) askorbát] (Janda a kol. 2014; Kužel a kol., 2009).

V tomto výzkumu bylo dosaženo relativně vysokého zvýšení fenolických látek (až 10krát ve srovnání s kontrolou) a stimulace výtěžku biomasy. Bylo také pozorováno ladění orgánové specifity modulací koncentrace elicitoru. Tato metodologie představuje vhodnou alternativu k buněčné suspenzi nebo hydroponickým kulturám a je použitelná v široké zemědělské praxi (Kužel a kol., 2009).

Cígler a kol. (2010) zkoumali účinky titanu (Ti) a železa (Fe) na rostlinách s nedostatkem Fe, kdy Ti vykazuje silný příznivý účinek na rostliny při nízkých koncentracích a toxické účinky při vyšších koncentracích.

Kužel a kol. (2007) uvádí, že na začátku 20. století byly prokázány blahodárné účinky Ti na rostlinách. Mnohem méně je známo o jeho fyto toxických účincích při vyšších dávkách. Byl prokázán vliv hořčíku (Mg) na základě fyto toxických účinků titanu.

Další studie zkoumala vliv exogenní aplikace koncentrací kyseliny salicylové na fyziologické a biochemické vlastnosti a obsah éterického oleje heřmánku za normálních a tepelných stresových podmínek, které jsou indukovány zpožděným setím. Experiment byl prováděn se třemi aplikacemi ve velmi horké oblasti a zahrnoval pět koncentrací SA a tři kultivary heřmánku. Ve výsledku bylo zjištěno, že použití exogenní SA zlepšuje obsah éterického oleje v heřmánkových kultivarech v podmínkách tepelného stresu v prostředí (Ghasemi a kol., 2016).

3 Cíl práce a metodika

3.1 Cíl práce

Cílem této diplomové práce je zjištění vlivu foliární aplikace elicitoru kyseliny acetylsalicylové (ASA) ve třech koncentracích (nízká [10^{-5} mol/l] /5 ASA/, střední [10^{-4} mol/l] /4 ASA/ a vysoká [10^{-3} mol/l] /3 ASA/) na polní kulturu Heřmánku pravého [(*Chamomilla recutita* L.) *Rauschert*] na obsah polyfenolických účinných látek.

3.2 Metodika

Ve své práci jsem postupovala dle zadání a cílů od vedoucího diplomové práce prof. Ing. Stanislava Kužela CSc., dle stanovené metodiky:

- studium literárních pramenů, zaměřených na uvedenou problematiku
- zpracování metodiky a agrotechniky pěstování heřmánku
- zpracování výsledků maloparcelkového pokusu s Heřmánkem pravým, které pro účely diplomové práce poskytl školitel prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.
- statistické vyhodnocení výsledků
- shrnutí zjištěných výsledků a diskuse
- závěr vyhodnocení výsledků
- doporučení pro praxi

Při vypracování práce byly použity:

- Microsoft Word
- Microsoft Excel
- STATISTIKA

4 Agrotechnika

Tabulka č. 6 – Charakteristika pozemku

Charakteristika pozemku	
Kraj	Jihočeský
Místo	Školní pozemek JU
Výrobní typ	bramborářský
Nadmořská výška	380 m. n. m.
Půdní typ	kambizem pseudo-glejová
Půdní druh	písčitohlinitý
Skeletovitost	0
Expozice	0
pH	6,4
Klimatický region	MT4-mírně teplá mírně vlhká
Roční průměrná teplota vzduchu	7,8 °C
Roční průměrný úhrn srážek	620 mm

4.1 Příprava pozemku

Tento maloparcelkový pokus probíhal na školním pozemku ZF JU, kde bylo zapotřebí nejdříve vyměřit příslušnou pokusnou plochu, určit počet, délku a vzdálenost jednotlivých řádků od sebe.

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

Pozemek byl ošetřen proti plevelům při použití herbicidu Roundup na podzim a 14 dní po přípravě pozemku v druhé polovině března.

Obrázek č. 3 - Roundup



Zdroj: https://www.agroczechia.cz/fotky64607/fotos/_vyr_209Roundup-Klasik-Pro-20-l.jpg

4.2 Setí a ošetřování porostu

K setí byla použita semena Heřmánku pravého [(*Chamomilla recutita* L.) Rauschert] odrůdy Bohemia od firmy SEVA FLORA Valtice. Setí bylo provedeno ručně dne 10. dubna a výsevek činil cca 100 g.

Po vysetí semen byla na povrch pozemku umístěna netkaná bílá textilie. Klíčovými semenům i vzházejícím rostlinám heřmánku byly tímto zabezpečeny optimální vlhkostní a tepelné podmínky pro úspěšný růst.

Po cca 5 týdnech byla netkaná textilie odstraněna. Průběžně byl kontrolován stav porostu, vzrůst a zaplevelení. Koncem května bylo provedeno prosvětlení porostu.

4.3 Postřik elicitory

Na porost byla foliárně aplikována jako elicitor synteticky v laboratoři připravená kyselina acetylsalicylová. Foliární aplikace byla provedena ve formě vodného roztoku ve třech různých koncentracích (nízká (N), střední (S), vysoká (V) koncentrace). Postřik byl proveden ručním postřikovačem za bezvětřného počasí. Byly provedeny celkem tři postřiky vždy 14 dní před plánovaným sběrem.

Obrázek č. 4 – Ruční postřikovač



Foto: Kužel

První postřik proběhl 7. července 2017, druhý postřik byl proveden 7. srpna 2017 a třetí postřik 7. září 2017. K postřiku byl použit ruční postřikovač na záda o objemu 12 litrů s teleskopickou rozstříkovací tyčí s nastavitelnou kovovou tryskou umožňující velký akční rádius od firmy GARDENA.

4.4 Sběr a sušení

Sběr květu heřmánku probíhal vždy 14 dní po elicitaci rostlin postřikem ASA. Sběr květu probíhal ručně. Cíleně byly sbírány jen květy v plném květu (optimální zralosti), aby byly splněny požadavky na kvalitu drogy. Po prvním sběru byla stimulována rostlin tvorba nových květů pro další sběr. K tomuto účelu byl využit česací hřeben, který velmi dobře sčesává zbylé květy na rostlinách.

Sušení probíhalo na papíře v tenké vrstvě po dobu 7-14 dní, a to podle průběhu počasí a zejména venkovních teplot. Materiál musel být kontrolován, aby se předešlo nebezpečí znehodnocení květní drogy plísní, hnilobou či jakýmkoli jiným činitelem. Poté, co byly usušeny a připraveny všechny vzorky přistoupilo se ke zpracování a následné analýze.

Obrázek č. 5 - Česání ručním hřebenem



Foto: Kužel

5 Příprava vzorků a extrakce

Usušené květy heřmánku byly rozemlety na mlýnu firmy FRITSCH. Na zařízení PULVERISETTE 14 při použití síta s velikosti oka 0,5 mm. Zhomogenizovaný vzorek byl použit pro přípravu extraktu. Pro přípravu navážky byly použity analytické váhy firmy METTLER TOLEDO.

Obrázek č. 6 a č. 7 - Mlýnek PULVERISETTE 14



Foto: Kužel

Obrázek č. 8 a č. 9 - Analytické váhy
METTLER TOLEDO AB204



Foto: Kužel

Vzorek 2 g sušené drogy se třepal na třepačce v 20 ml 96 % etanolu. Po 24 hodinách bylo přidáno 20 ml redestilované vody. Vzorek se opět 24 hodin třepal. Po přefiltrování a převedení do 50 ml baněk byl extrakt doplněn po rysku roztokem redestilované vody a 96 % etanolu v poměru 1:1. Vzorky byly uloženy do chladničky. Po 7 dnech bylo z baněk odebráno 5 ml vzorku, přefiltrováno přes filtrační papír do epruvetek. Po vytemperování na pokojovou teplotu byly vzorky použity pro analýzu.

6 Měření

6.1. Princip

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

6.2. Přístroje a pomůcky

Spektrální fotometr SPEKOL 11 [Carl Zeiss, Jena]; dvě 10 mm kyvety; pipety [Transferpipette] v rozsahu 0,1 – 0,5 ml a 0,5 – 5 ml; odměrné baňky 50 ml; stříčka na redestilovanou vodu; analytické váhy [METTLER TOLEDO – AB204].

Obrázek č. 10 – Pipety Obrázek č. 11 -Pipeta Transferpette fix Obrázek č. 12 - Pipeta Transferpette S



Foto: Kužel

6.3. Chemikálie a roztoky

Při tomto pokusu byl použit standardní roztok (50 mg taninu ve 100 ml roztoku); 20% roztok Na_2CO_3 ; Folin-Ciocalteu činidlo a v neposlední řadě redestilovaná voda.

6.4 Metodika

6.4.1 Příprava kalibrační křivky standardního roztoku taninu

Postupně bylo ze standardního roztoku taninu odpipetováno do 50 ml odměrných baněk 0 ml; 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml roztoku, přidáno přibližně 20ml destilované vody a 1 ml Folin – Ciocalteu činidla. Roztok byl protřepán a po 3 minutách bylo přidáno 5 ml 20% roztoku Na_2CO_3 , obsah baněk byl opět protřepán a doplněn destilovanou vodou po rysku.

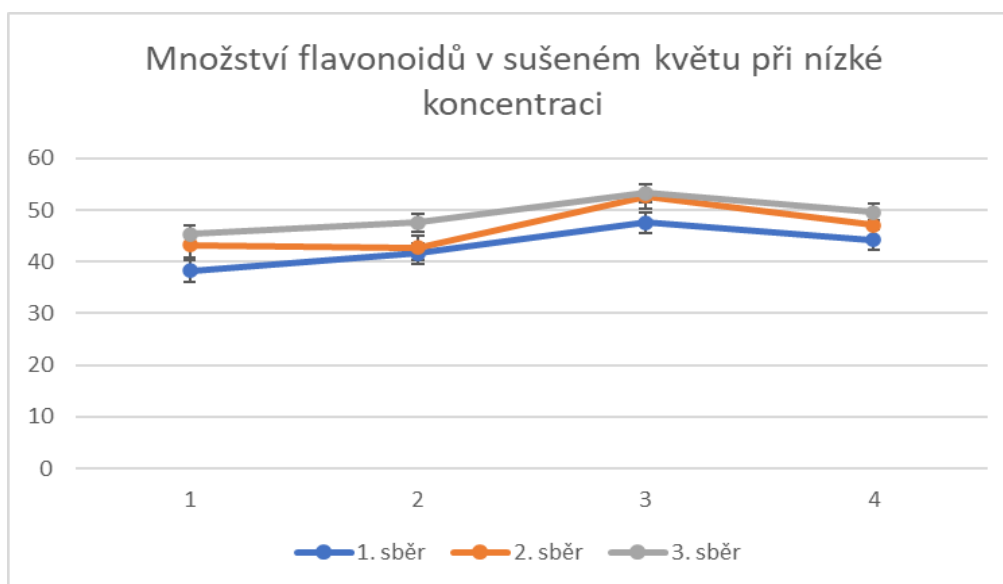
Po 30 minutách byla změřena intenzita zbarvení v 10 mm kyvetě při 700 nm proti slepému vzorku (s nulovým obsahem taninu). V průběhu 30 minut před měřením kalibrační křivky byly shodným způsobem připraveny jednotlivé vzorky pokusu. Měření bylo provedeno ve dvou opakováních. Použita byla průměrná hodnota.

7 Výsledky

Tabulka č. 7 - Množství flavonoidů v mg/g v sušeném květu při nízké koncentraci (5 ASA)

Množství flavonoidů v sušeném květu			
rok 2017	1. sběr	2. sběr	3. sběr
Nízká	38,2	43,21	45,34
	41,63	42,68	47,56
	47,64	52,7	53,29
	44,27	47,14	49,62
Průměr	42,94	46,43	48,95

Graf č. 1 - Množství flavonoidů v mg/g v sušeném květu při nízké koncentraci (5 ASA)

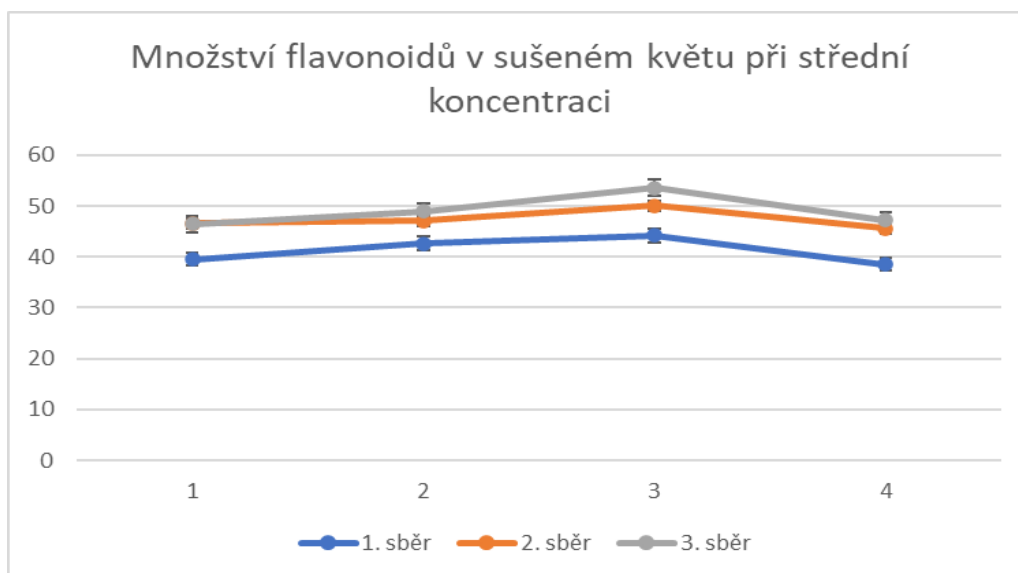


Graf č. 1 znázorňuje množství flavonoidů v sušeném květu při nízké koncentraci. Největšího množství flavonoidů bylo dosaženo ve třetím sběru, a to až o 12,3 % oproti prvnímu sběru.

Tabulka č. 8 - Množství flavonoidů v mg/g v sušeném květu při střední koncentraci (4 ASA)

Množství flavonoidů v sušeném květu			
rok 2017	1. sběr	2. sběr	3. sběr
střední	39,54	46,54	46,48
	42,6	47,12	48,97
	44,23	50,1	53,58
	38,54	45,62	47,21
průměr	41,23	47,35	49,06

Graf č. 2 - Množství flavonoidů v mg/g v sušeném květu při střední koncentraci (4 ASA)

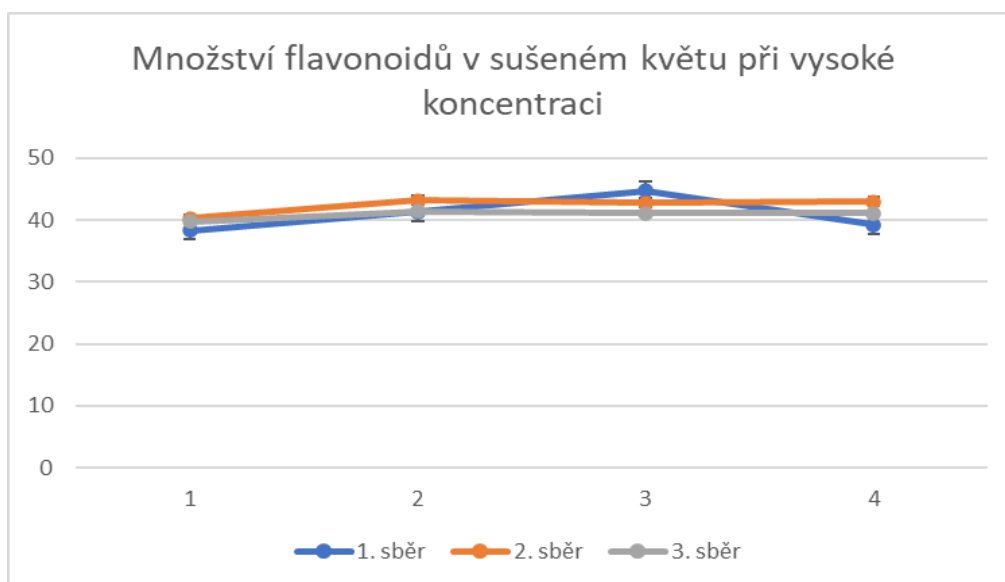


Největšího množství flavonoidů v sušeném květu při střední koncentraci opět vykazoval sběr třetí (graf č. 2). Oproti druhému sběru o 4,4 % a v porovnání prvního a třetí sběru vykazoval hodnotu o 16 % ve prospěch třetího sběru.

Tabulka č. 9 - Množství flavonoidů v mg/g v sušeném květu při vysoké koncentraci (3 ASA)

Množství flavonoidů v sušeném květu			
rok 2017	1. sběr	2. sběr	3. sběr
vysoká	38,27	40,23	39,76
	41,35	43,23	41,38
	44,73	42,78	41,09
	39,21	43,02	41,14
průměr	40,89	42,32	40,84

Graf č. 3 - Množství flavonoidů v mg/g v sušeném květu při vysoké koncentraci (3ASA)

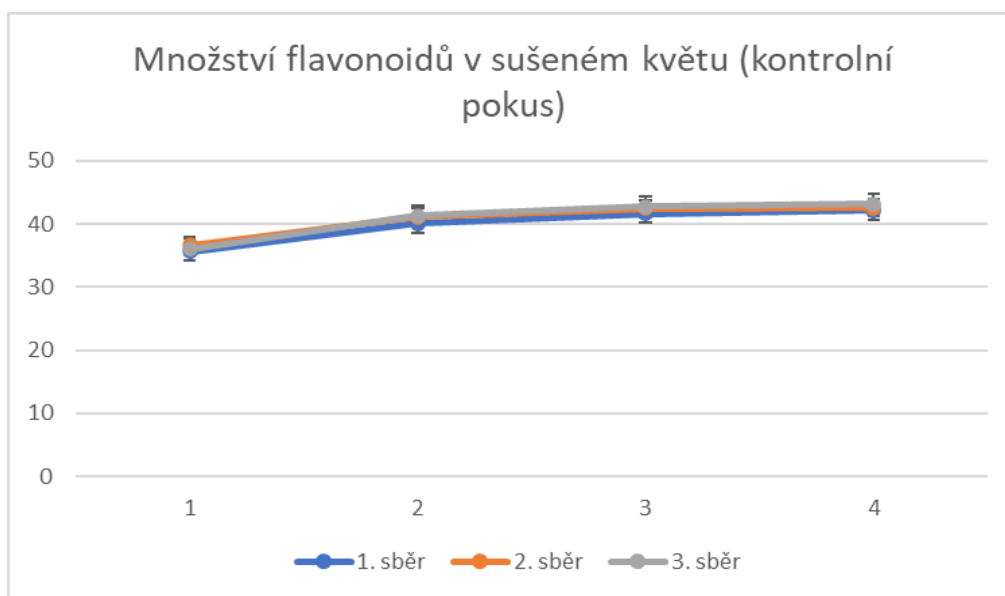


U množství flavonoidů v sušeném květu při vysoké koncentraci nastal obrat. Nejvyšší průměrné hodnoty vykazoval sběr druhý. Největší odchylky probíhaly v prvním sběru.

Tabulka č. 10 - Množství flavonoidů v mg/g v sušeném květu (kontrola)

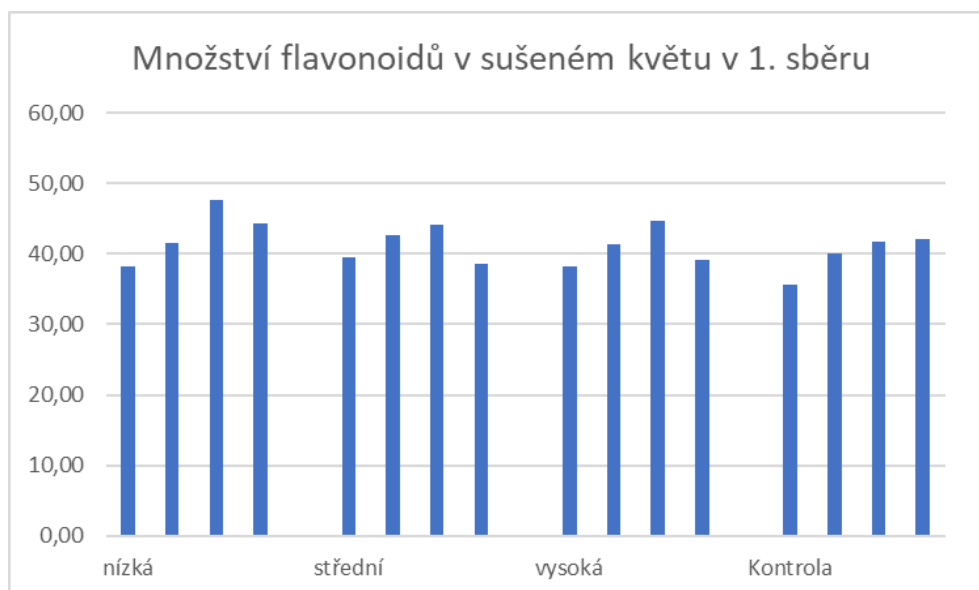
Množství flavonoidů v sušeném květu			
rok 2017	1. sběr	2. sběr	3. sběr
kontrola	35,64	36,66	35,98
	40,08	41,08	41,34
	41,67	42,45	42,76
	42,16	42,56	43,21
průměr	39,89	40,69	40,82

Graf č. 4 - Množství flavonoidů v mg/g v sušeném květu (kontrolní pokus)

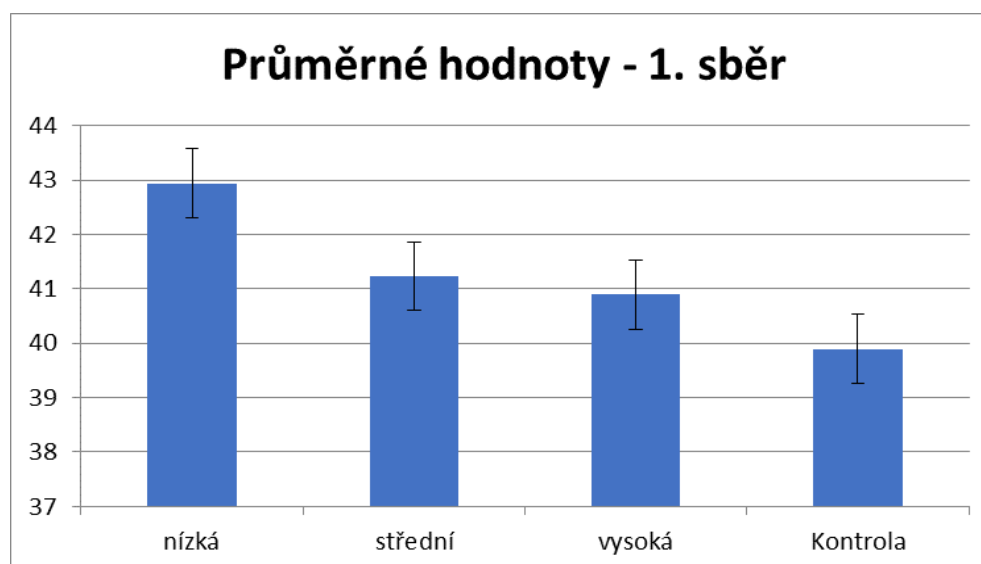


Pro kontrolu probíhal i kontrolní pokus, kdy dle grafu č. 4 byly výsledky vyrovnané.

Graf č. 5 - Množství flavonoidů v mg/g v sušeném květu v 1. sběru ve čtyřech opakováních po první aplikaci elicitoru ASA



Graf č. 6 - Průměrné hodnoty flavonoidů v mg/g v sušeném květu v 1. sběru po první aplikaci elicitoru ASA

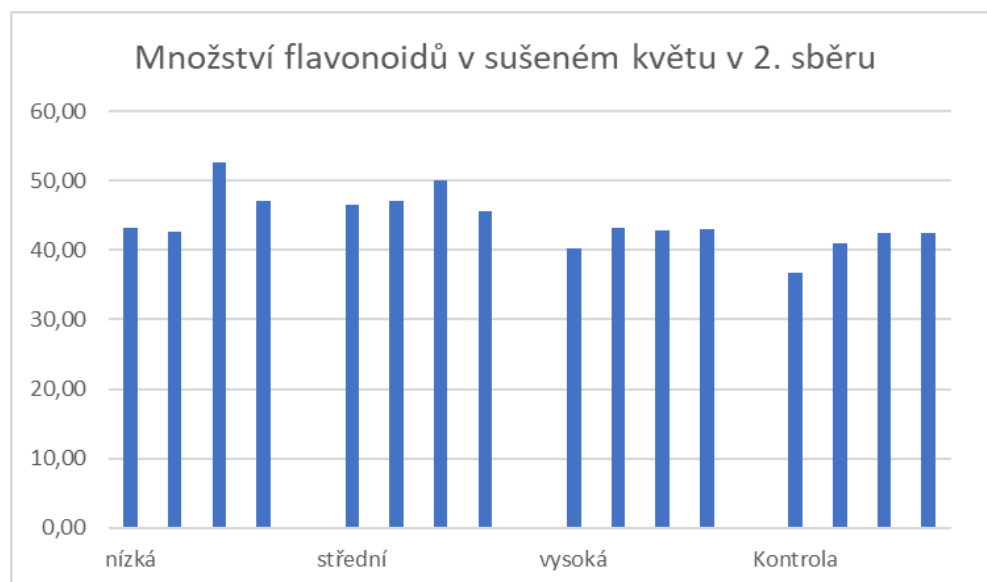


Koncentrace elicitoru: nízká 5 ASA (10^{-5} mol.l⁻¹); střední 4 ASA (10^{-4} mol.l⁻¹); vysoká 3 ASA (10^{-5} mol.l⁻¹)

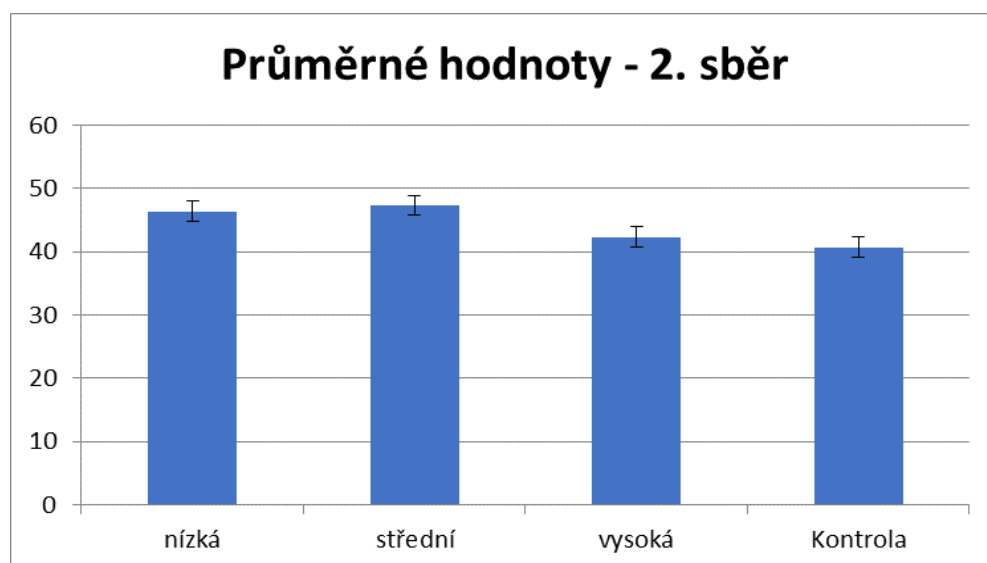
U grafu č. 6 je zřetelné, že v prvním sběru při použití různých koncentrací elicitoru ASA ve všech případech došlo ke zvýšení obsahu flavonoidů ve srovnání s kontrolou. Při nízké koncentraci elicitoru 5 ASA bylo dosaženo nejvyššího

množství flavonoidů. Zde došlo ke zvýšení obsahu flavonoidů o 7,7 % oproti kontrole. Při použití koncentrace střední mělo místo zvýšení obsahu o 3,4 %. Nejnižší zvýšení oproti kontrole nastalo při vysoké koncentraci elicitoru o 2,5 %.

Graf č. 7 – Množství flavonoidů v mg/g v sušeném květu ve 2. sběru



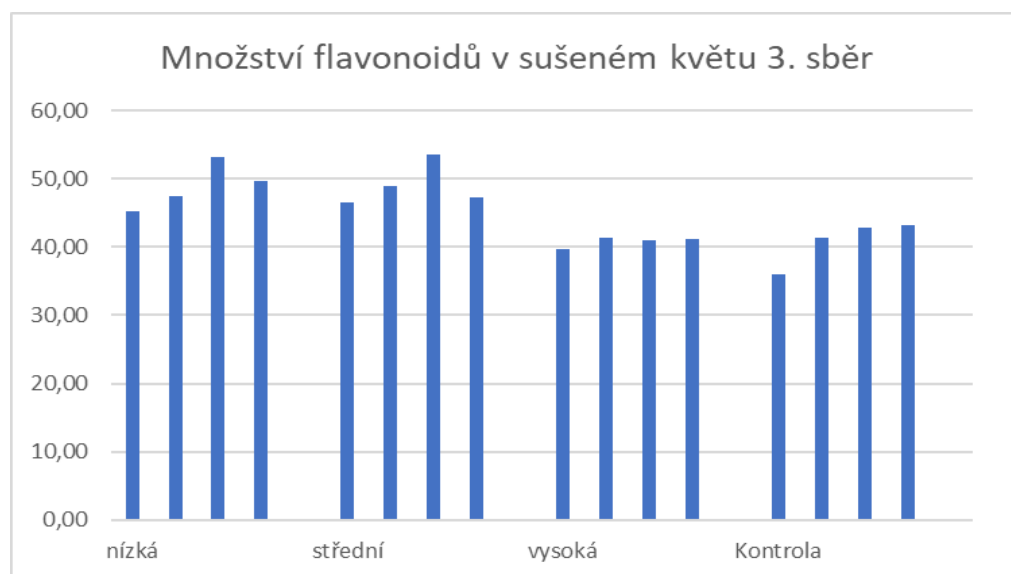
Graf č. 8 – Průměrné hodnoty flavonoidů v mg/g v sušeném květu ve 2. sběru po druhé aplikaci elicitoru ASA



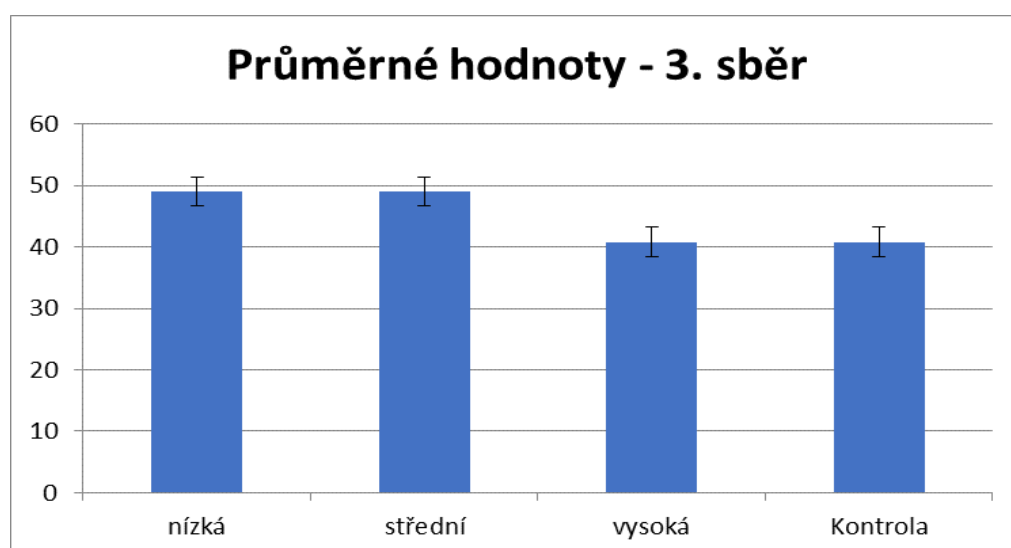
Koncentrace elicitoru: nízká 5 ASA (10^{-5} mol.l⁻¹); střední 4 ASA (10^{-4} mol.l⁻¹); vysoká 3 ASA (10^{-5} mol.l⁻¹)

Ve druhém sběru opět proběhlo zvýšení obsahu flavonoidů u všech použitých koncentrací elicitoru. U nízké koncentrace elicitoru 5 ASA vzrostl obsah flavonoidů oproti kontrole o 14 %, u střední 4 ASA o 16 % a nejmenšího nárůstu bylo dosaženo při použití vysoké koncentrace 3 ASA a to o 4 % .

Graf č. 9 – Množství flavonoidů v mg/g v sušeném květu ve 3. sběru



Graf č. 10 - Průměrné hodnoty flavonoidů v mg/g v sušeném květu ve 3. sběru po třetí aplikaci elicitoru ASA



Koncentrace elicitoru: nízká 5 ASA (10^{-5} mol.l⁻¹); střední 4 ASA (10^{-4} mol.l⁻¹); vysoká 3 ASA (10^{-5} mol.l⁻¹)

Největšího nárůstu obsahu flavonoidů ve třetím sběru oproti kontrole bylo dosaženo při použití nízké a střední koncentrace elicitoru. Výsledky byly téměř srovnatelné. Při použití nízké koncentrace 5 ASA se navýšil obsah flavonoidů oproti kontrole o 20 %, u střední koncentrace 4 ASA o 20,2 % a při použití vysoké koncentrace 3ASA nedošlo k žádnému navýšení. Rozdíl oproti kontrole byl 0 %.

Tab. č. 11 - Základní statistiky souboru dat koncentrací flavonoidů v mg/g při různých koncentracích elicitoru

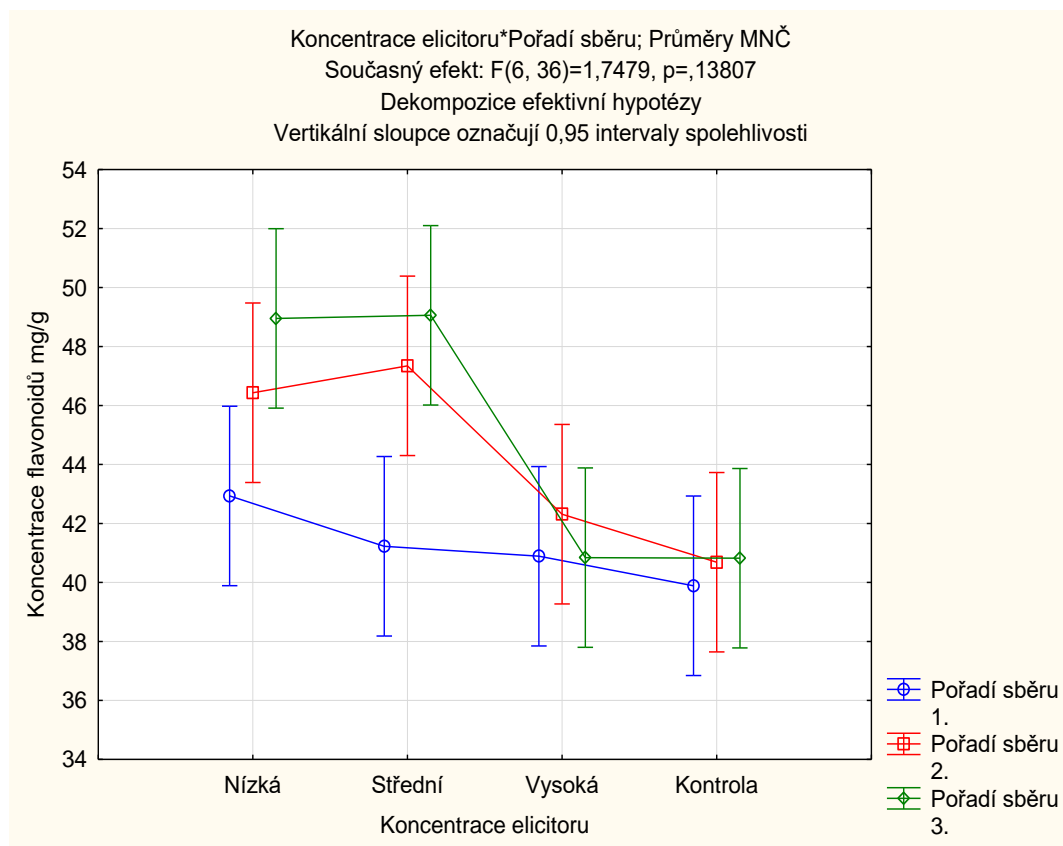
Ukazatel	Průměr	Medián	Modus	Min	Max	Dolní kvartil	Horní kvartil	Rozptyl	Směrod. odch.
<i>Koncentrace flavonoidů</i>	43,4	42,7	43,2	35,6	53,6	41,1	46,5	18,2	4,3

Tab. č. 12 - Analýza variancí obsahu flavonoidů při různých koncentracích elicitoru při 1. – 3. odběru

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupně volnosti	Průměrný čtverec	F - test	p – hodnota ¹⁾
<i>Koncentrace elicitoru (A)</i>	315,23	3	105,08	11,67***	1,7E-05
<i>Pořadí sběru (B)</i>	121,93	2	60,96	6,77**	0,00319
<i>Interakce A x B</i>	94,39	6	15,73	1,75	0,13808
<i>Opakování</i>	1,34	3	0,45	0,023	0,99519
<i>Chyba</i>	324,02	36	9	-	-

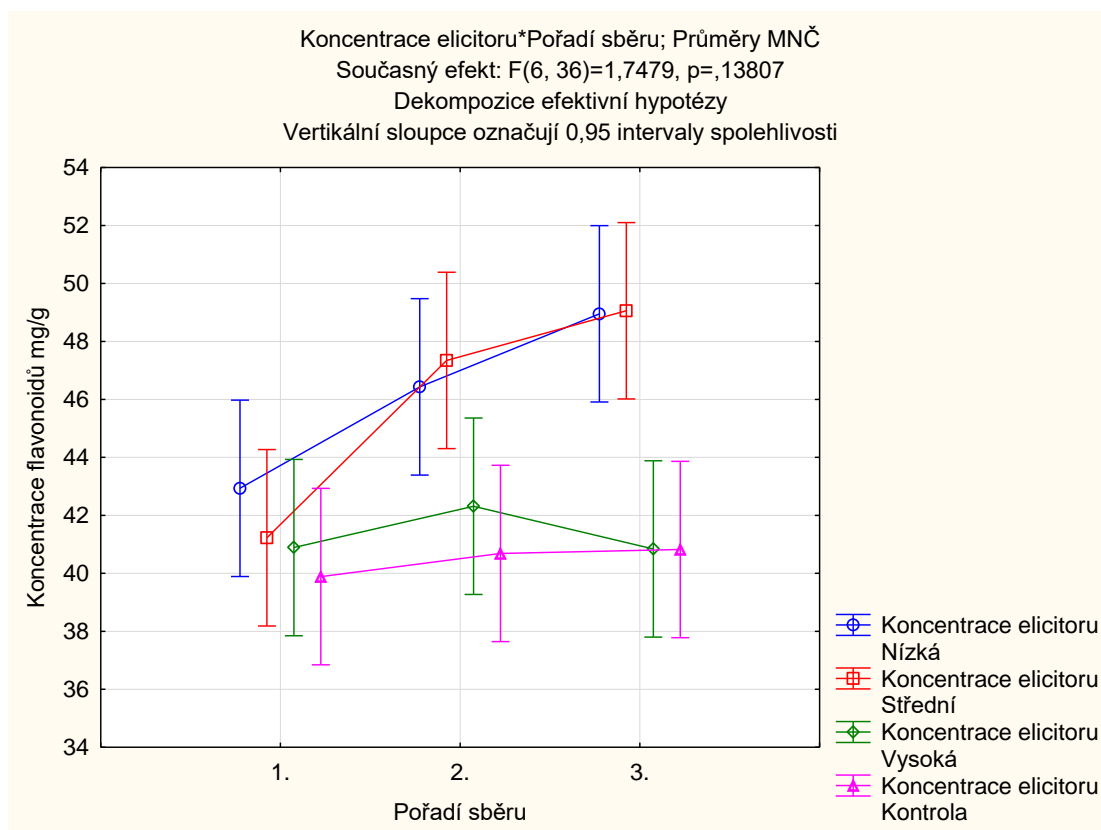
- 1) p-hodnota je hladina pravděpodobnosti, pro kterou platí nulová hypotéza (H_0), že dvě varianty sledování (úroveň znaku, koncentrace flavonoidů) se od sebe statisticky významně neliší. Je-li p-hodnota $< 0,05$ popř. $< 0,01$ nebo $< 0,001$, zamítáme H_0 a mezi variantami sledování (úrovněmi znaku) je statisticky významný (*) popř. velmi významný rozdíl (**), nebo velmi vysoce významný rozdíl (***)

Graf č. 11 - Koncentrace flavonoidů v rostlinách heřmánku pravého při použití různých dávek elicitoru v prvním až třetím sběru



Ve výše uvedeném grafu č. 11 je patrné, že největšího množství flavonoidů za použití různých dávek elicitoru, bylo dosaženo ve třetím sběru. U prvního sběru byla koncentrace flavonoidů nejnižší. Ve druhém a třetím sběru byla zjištěna vyšší koncentrace flavonoidů při nízké nebo střední koncentraci elicitoru.

Graf. č. 12 - Koncentrace flavonoidů v rostlinách heřmánku pravého v prvním až třetím sběru při použití různých dávek elicitoru

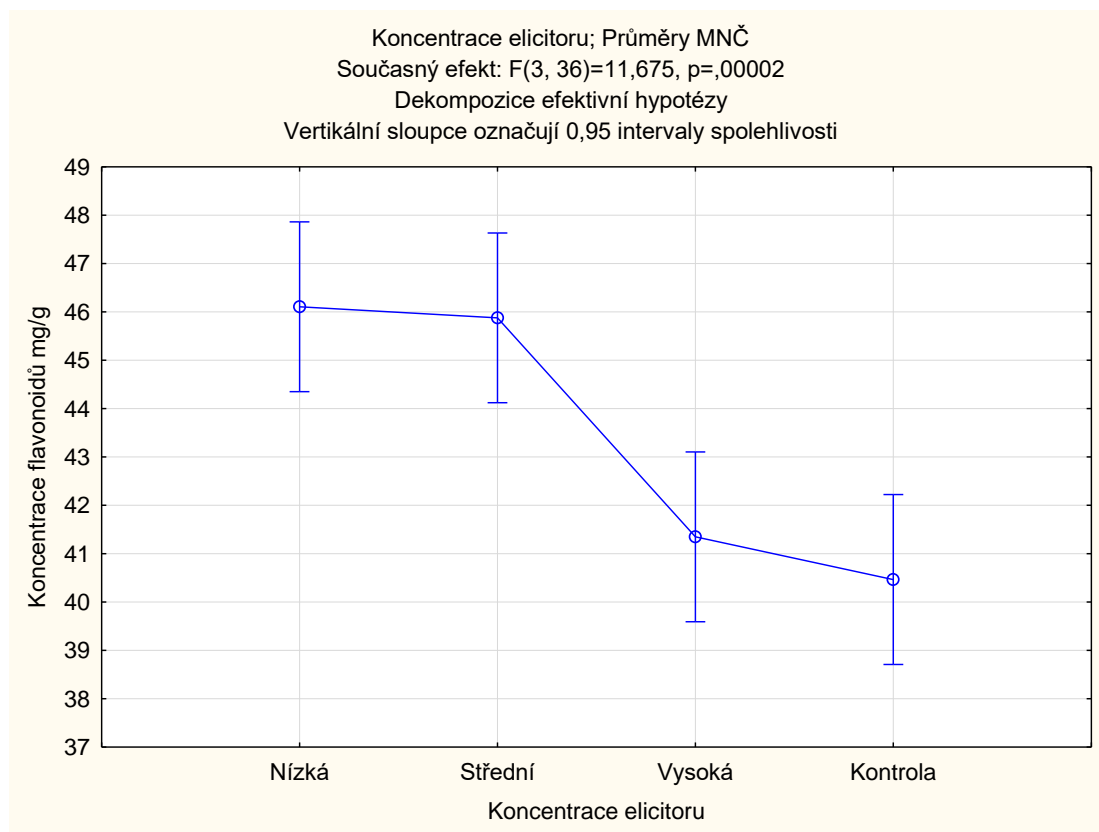


Při střední koncentraci elicitoru byla zjištěna statisticky průkazná vyšší koncentrace flavonoidů ve druhém a třetím sběru oproti kontrole. Při nízké a střední koncentraci elicitoru byla zjištěna statisticky průkazná vyšší koncentrace flavonoidů ve třetím sběru oproti kontrole

Tab. č. 13 - Průměrná koncentrace flavonoidů v mg/g při použití různých dávek elicitoru v jednotlivých sběrech s vyznačením homogenních skupin na hladině $P_{0,03}$ (Fischerův LSD test)

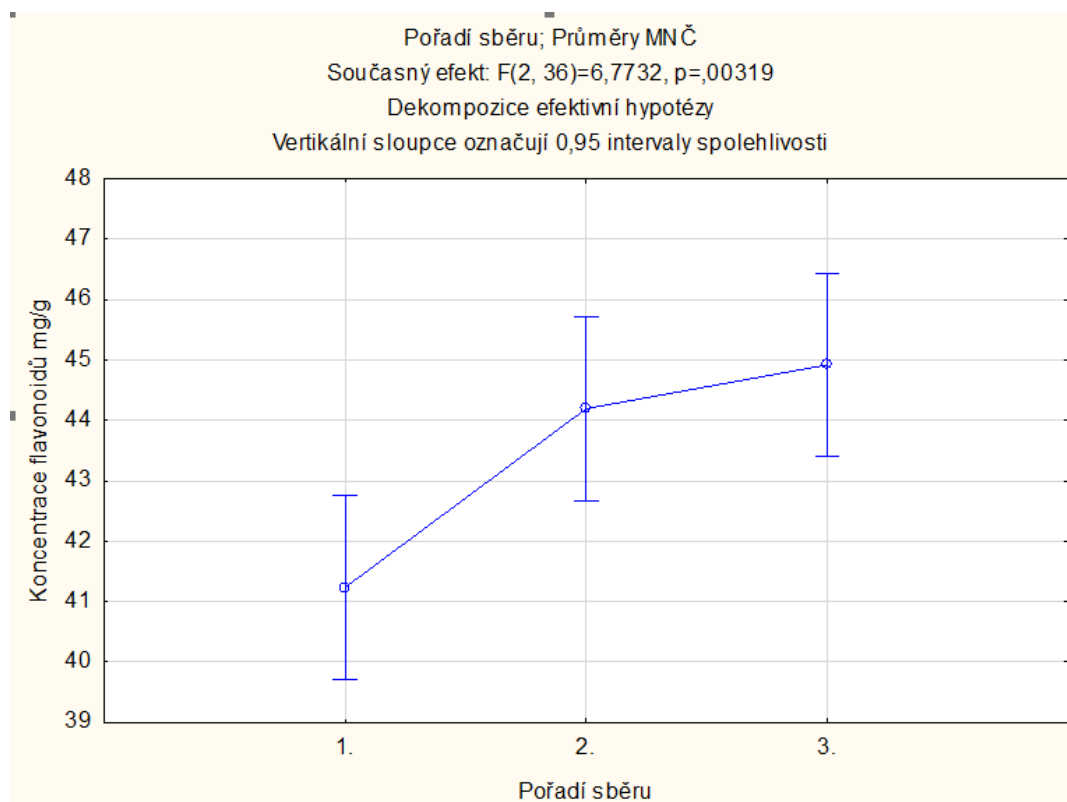
Varianta elicitoru	dávky	Pořadí sběru	Obsah flavonoidů	Homogenní skupiny na hladině $P_{0,05}$		
<i>Kontrola</i>		1.	39,89	***		
<i>Kontrola</i>		2.	40,69	***		
<i>Kontrola</i>		3.	40,82	***		
<i>Vysoká</i>		3.	40,84	***		
<i>Vysoká</i>		1.	40,89	***		
<i>Střední</i>		1.	41,23	***		
<i>Vysoká</i>		2.	42,32	***	***	
<i>Nízká</i>		1.	42,94	***	***	
<i>Nízká</i>		2.	46,43		***	***
<i>Střední</i>		2.	47,35			***
<i>Nízká</i>		3.	48,95			***
<i>Střední</i>		3.	49,06			***

Graf. č. 13 - Koncentrace flavonoidů v rostlinách heřmánku pravého v prvním až třetím sběru společně při použití různých dávek elicitoru



Z grafu č. 13 je patrné, že největší množství flavonoidů bylo při nízké (případně i střední) koncentraci elicitoru. Naopak nejmenší koncentraci vykazovala vysoká dávka elicitoru. Mezi použitými koncentracemi elicitoru je statisticky velmi vysoce významný rozdíl ($p < 0,001$), kdy se od sebe liší skupina variant nízká a střední koncentrace a vysoká koncentrace s kontrolou.

Graf. č. 14 - Koncentrace flavonoidů v rostlinách heřmánku pravého při použití různých dávek elicitoru (varianty společně) v prvním až třetím sběru



Graf č. 14 opět potvrzuje, že největší množství flavonoidů prokázal třetí sběr, naopak nejmenší množství vykazoval první sběr. Rozdíl mezi sběry je statisticky velmi vysoce významný ($p < 0,01$). Nejnižší koncentrace flavonoidů byla zjištěna v prvním sběru, vyšší byl obsah ve druhém sběru a nejvyšší ve třetím sběru.

8 Diskuse

V této práci se zjišťoval vliv foliární aplikace elicitoru kyseliny acetylsalicylové ve třech koncentracích (nízká, střední a vysoká) u polní kultury Heřmánku pravého [(*Chamomilla recutita* L.) Rauschert] na obsah účinných látek.

Ke zvýšení obsahu látek v rostlinách se efektivně využívá metoda zvaná elicítace, při které se používají látky se signálním účinkem, tzv. elicitory, působící jako stresové faktory a spouštějící obrannou odpověď rostlin. Při stresovém stavu rostlina produkuje zvýšené množství sekundárních metabolitů (Bartoš, 2016). Elicitorů existuje celá řada, v této diplomové práci byla použita kyselina acetylsalicylová (ASA).

Byly provedeny tři sběry, kdy dle průměrných hodnot došlo v prvním sběru ve všech případech ke zvýšení obsahu flavonoidů. Nejlépe se jevílo použití nízké koncentrace 5 ASA, 10^{-5} mol.l⁻¹, kde proběhlo zvýšení o 7,7 % oproti kontrole. Ve druhém sběru se nejlépe umístilo použití střední koncentrace 4 ASA, 10^{-4} mol.l⁻¹, kde proběhlo zvýšení až o 16 %. U třetího sběru se nevýznamně pouze o 0,2 % lišily od sebe nízká a střední koncentrace kyseliny acetylsalicylové, kde bylo dosaženo nárůstu až o 20 % (5 ASA) a 20,2 % (4 ASA). Naopak v práci Gubišové (2017), která zkoumala vliv elicitorů, hnojení a technologie pěstování Ostropestřce mariánského (*Silybum marianum* L.) také na pozemku JU v Českých Budějovicích, byla ASA s vysokou koncentrací [10^{-3} mol/l] vyhodnocena jako nejlepší. Nárůst látek silymarinového komplexu oproti kontrole byl 5,59 mg/g.

Pro porovnání jsem použila výsledky Šaláta (2007). V jeho experimentu byl potvrzen vliv elicitoru kyseliny acetylsalicylové na tvorbu sekundárních metabolitů ve sledované rostlině *Matricaria recutita*. Po aplikaci elicitorů se měnil obsah sledovaných účinných látek v květech této rostliny. Použitý elicitor kyselina acetylsalicylová v nízké koncentraci 10^{-5} mol.l⁻¹ ovlivňovala statisticky nevýznamně obsah flavonoidů v heřmánku. V našem pokusu v sušeném květu při nízké koncentraci 10^{-5} mol.l⁻¹ bylo naopak dosaženo největšího množství flavonoidů ve třetím sběru, a to až o 12,3 % oproti prvnímu sběru.

Dle Šaláta (2007) se nejvýznamněji jeví foliární elicitace kyselinou acetylsalicylovou ve střední koncentraci, 10^{-4} mol.l⁻¹. Zde došlo při prvním sběru ke statisticky významnému poklesu obsahu účinných látek. Dle grafu č. 11 můžeme tento fakt potvrdit. Šrámek (2007) uvádí, že v případě střední koncentrace kyseliny acetylsalicylové dochází pravděpodobně nejdříve k utlumení tvorby sekundárních metabolitů, které rostlina nahrazuje nejspíše zvýšenou růstovou činností a po provedení druhé elicitace se již plně aktivovaly obranné mechanismy rostliny vedoucí k produkci účinných látek.

U výzkumu dle Šrámka (2007) u léčivky *Echinacea pupurea* byla ASA použita též ve třech stejných koncentracích. Nízká koncentrace 10^{-5} mol.l⁻¹ zvyšovala obsah kyseliny kávové a cichorové. U střední 10^{-4} mol.l⁻¹ a vysoké koncentrace 10^{-3} mol.l⁻¹ se obsah účinných látek spíše snižoval. V kořeni byl při použití nízké a střední koncentrace obsah účinných látek statisticky průkazně zvýšen. Při vysoké koncentraci došlo ke snížení obsahu vybraných účinných látek. U tohoto pokusu se střední koncentrace 10^{-4} mol.l⁻¹ kyseliny acetylsalicylové jevila jako optimální. V našem pokusu po zprůměrování hodnot u střední koncentrace (4 ASA, 10^{-4} mol.l⁻¹) došlo k největšímu nárůstu obsahu flavonoidů ve třetím sběru a to až o 20,2 % oproti kontrole.

V diplomové práci Bartoše (2016) byla kyselina acetylsalicylová použita také ve třech různých koncentracích (10^{-3} mol.l⁻¹, 10^{-4} mol.l⁻¹, 10^{-5} mol.l⁻¹) jako elicitor s cílem ověřit její vliv na obsah vybraných saponinů u kotvičnicku zemního. Z výsledků je patrné, že elicitor ASA má vliv na všechny tři sledované látky v plodech i v nati. U nati byl pozorován nejvyšší nárůst obsahu protodioscinu při použití koncentrace 10^{-5} mol.l⁻¹ o 52,8 % ve srovnání s kontrolou. U ruscogeninu se obsah v plodech i v nati vlivem ASA zvýšil výrazněji oproti ostatním koncentracím při aplikaci koncentrace 10^{-3} mol.l⁻¹, konkrétně o 48,9 % u plodu a o 39,7 % u nati vůči kontrole. Z pokusu vyplývá, že kyselina acetylsalicylová je v mnoha případech velmi přínosná a při jejím použití dochází ke zvýšení obsahu vybraných účinných látek. Toto tvrzení můžeme potvrdit.

9 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo prověřit technologii pěstování a vliv elicitorů na kvalitu produktu a jeho využití u heřmánku pravého (*Matricaria recutita* L.) Za tímto účelem byl založen maloparcelkový pokus prof. Ing. Stanislavem Kuželem CSc. na pozemku Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, kdy v laboratoři byla synteticky připravena a použita jako elicitor kyselina acetylsalicylová. Foliární aplikace byla provedena ve formě vodného roztoku ve třech různých koncentracích nízká (N) 10^{-5} mol. l⁻¹, střední (S) 10^{-4} mol.l⁻¹, vysoká (V) 10^{-3} m.l⁻¹. Etanolové extrakty rostlinných vzorků květu heřmánku byly analyzovány pomocí spektrofotometrické metody na přístroji SPEKOL 11 a byl sledován obsah látek flavonoidního charakteru.

Největšího nárůstu flavonoidů za použití různých dávek elicitoru bylo dosaženo ve třetím sběru, u prvního sběru byla koncentrace flavonoidů nejnižší. Co se týče použití různých koncentrací elicitoru, tak největšího nárůstu flavonoidů bylo dosaženo při nízké koncentraci elicitoru. Nejmenší množství flavonoidů vykazovala vysoká dávka elicitoru. Na základě těchto výsledků lze doporučit používat elicitory na zvýšení obsahu účinných látek.

Hypotéza: Technologie pěstování heřmánku pravého ovlivní obsah biologicky aktivních látek v produktu.

Ze studia literatury vyplývá, že obsah biologicky aktivních látek při pěstování heřmánku ovlivňuje celá řada faktorů. Studium literatury a výsledky práce **potvrdily platnost pracovní hypotézy**. Obsah biologicky aktivních látek u heřmánku byl ovlivněn použitím elicitoru kyseliny acetylsalicylové.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

Anonym 1. *Heřmánek lékařský*. [online]. 2019. [cit. 2019-05-21].

Dostupné z: <http://www.vykupbylin.eu/index.php/atlas-bylin/28-h/32-hermanek-lekarsky>

Anonym 2. *Heřmánek pravý-Matricaria chamomilla*. [online]. 2017. [cit. 2019-07-01].

Dostupné z: https://www.salviaparadise.cz/herbar-rostlin-hermanek-pravy-matricaria-chamomilla-c-736_1109.html

Anonym 3. *Spektrofotometrie*. [online]. 2015. [cit. 2020-02-13].

Dostupné z: <http://vyuka.eparo.cz/isame/spektrofotometrie.pdf>

BAENAS N., GARCÍA-VIGUERA C., MORENO D. A. *Elicitation: A Tool for Enriching the Bioactive Composition of Foods*. *Molecules*.2014. 19(9), 13541-13563.

DOI: 10.3390/molecules190913541. ISSN 14203049

BARNE, J., ANDERSON, L.A., PHILLIPSON, D. *Herbal medicines*. London: Pharmaceutical Press, 2002. ISBN 0-85369-474-5

BARTOŠ, P. *Návrh technologie pěstování kotvičnicku zemního (Tribulus terrestris L.) a jeho využití*. 2016. Diplomová práce, ZF JCU, České Budějovice.

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

BERNARDI, M.B., MONTE, P.R. PAIVA, C.G. a kol. *Dry matter production and nutrient accumulation after successive crops of lettuce tomato, rice, and andropogongrass in a substrate with zeolite*. Rev. Bras. Ciênc. Solo, 34 (2010), pp. 435-442

BIERTUMPFEL, A. a kol. *Possibilities of influencing the yield and quality of essential oils by choosing varieties and cultivation measures*. 2007. Thüringer Landesanstalt Landwirtsch, Apoldaer Str 4, D-07778 Dornburg, Germany.

BIRT DF. a kol. *Inhibition of ultraviolet light induced skin carcinogenesis in SKH-1 mice by apigenin, a plant flavonoid*. Anticancer Res. 1997; 17:85–91.

BŘEZINOVÁ, T. *Heřmánek pravý*. [online]. 2014. [cit. 2019-05-21].

Dostupné z: <http://prirodavnas.cz/herbar/hermanek-pravy/>

CARNAT A. a kol. *The aromatic and polyphenolic composition of Roman camomile tea*. Fitoterapia. 2004; 75:32–38.

CÍGLER, P; OLEJNÍČKOVÁ, J; HRUBÝ, M; a kol. (2010): *Interactions between iron and titanium metabolism in spinach: A chlorophyll fluorescence study in hydropony*. JOURNAL OF PLANT PHYSIOLOGY, 167,18 ,1592-1597; DOI: 10.1016/j.jplph.2010.06.021

ČESKOSLOVENSKÝ LÉKOPIS, 4.vydání. Praha: Avicenum 1987.

HAMON N. *Herbal medicine the Chamomiles*. Can Pharm J. 1989;612

HENEBERG, V. *Pěstujeme léčivé rostliny*. DONA, 1992, s. 4-25.

HORVATH E., a kol. *Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signalling*. 2007. J Plant Growth Regul 26:290–300

DEMPSEY D., a kol. *Salicylic acid and disease resistance in plants*. 1999. Crit Rev Plant Sci 18:547–575

DICOSMO, F., MISAWA, I. *Eliciting secondary metabolism in plant cell cultures*. Trends. Biotechnol. 1985. 3, p. 318-322

FAGERIA, N. K. *The use of nutrients in crop plants*. Boca Raton: CRC Press, 2009. ISBN 1420075101.

GATES MA. a kol. *Tworoger SS, Hecht JL, De Vivo I, Rosner B, Hankinson SE. A prospective study of dietary flavonoid intake and incidence of epithelial ovarian cancer*. Int. J Cancer. 2007; 121:2225–2232

GARBER, U., PLESCHER A. et al. *Occurrence of diseases and damage when cultivation chamomile (Matricaria recutita L.)*. 2013, 124-131. ISSN: 0548-7287

GHASEMI, M, MODAARRESI, M, JELODAT, NB. *The evaluation of exogenous application of salicylic acid on physiological characteristics, proline and essential oil content of chamomile (Matricaria chamomilla L.) under normal and heat stress conditions*. 2016. ISSN:2077-0472

GLOWANIA HJ, RAULIN C, SWOBODA M. *Effect of chamomile on wound healing-a clinical double-blind study*. Zeitschrift fur Hautkrankheiten. 1987, 62 (17):1262 7-71

GOULD L. *Cardiac effect of chamomile tea*. J Clin Pharmacol. 1973; 13:475–9.

GUBIŠOVÁ, J. *Vliv elicitorů, hnojení a technologie pěstování Ostropestřce mariánského (Silybum marianum L.) na produkt a jeho využití*. 2015. Diplomová práce, ZF JCU, České Budějovice.

IVENS GM. *Stinking mayweed*. N Z J Agric. 1979;138:21–3.

JANDA, M., VALENTOVÁ, O., *Kyselina salicylová*. 2014. Bioprospect., roč. 24, č. 1, s. 9-12. ISSN 1210-1737

JIROUŠKOVÁ, H. *Vliv rostlinných příměsí v heřmánku lékařském na obsah a složení silic*. 2011. Diplomová práce, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně.

JUAREZ-ROSETE, C. R., a kol. *Inorganic and Organic Fertilization in Biomass and Essential Oil Production of Matricaria recutita L.* 2012. 307-311. ISSN: 0567-7572

KOHOUT, V. *Plevelé polí a zahrad*. Agrospoj Praha, 1997, s. 26-37.

KOVACIK, J., DRESLER, S., WOJCIAK-KOSIOR, M et. al. *Metabolic changes induced by manganese in chamomile*. 2018. 127-133. ISSN: 0981-9428

KUŽEL S., CÍGLER P., HRUBÝ M. *Přípravek pro indukci zvýšení tvorby bioaktivních sloučenin*. 2006. CZ-296300, ÚPV Praha.

KUŽEL, S.; CÍGLER, P.; HRUBÝ, M. a kol. (2007): *The effect of simultaneous magnesium application on the biological effects of titanium*. PLANT SOIL AND ENVIRONMENT, 53, 1, 16-23, DOI: 10.17221/3189-PSE

KUŽEL S. a kol (2009): *Elicitation of Pharmacologically Active Substances in an Intact Medical Plant under Field-like Conditions*. J. Agric Food Chemistry. 57, 17, 7907-7911;

KUŽEL, S., CÍGLER, P., HRUBÝ, M., *The preparation for the induction of increased formation of bioactive compounds in plants and its use*. Evropský patentový úřad 2015. EP 1750507

MCKAY DL, BLUMBERG JBA. *Review of the bioactivity and potential health benefits of chamomille tea (Matricaria recutita L.)*. Phytotherapy Research. 2006,20 (7):519-530

MCMURRY J. *Organická chemie*. Vyd. 1. Přeložil J. JONAS. Brno: VUTIUM, 2007. ISBN 978-80-214-3291-8.

MERFORT I. a kol. *In vivo skin penetration studies of camomile flavones*. *Pharmazie*. 1994; 49:509–511.

MEYER H. a kol. *Bioavailability of Apigenin from Apiin-Rich Parsley in Humans*. *Ann Nutr Metab*. 2006; 50:167-172.

MIKULKA, J. a kol. *Plevelné rostliny polí, luk a zahrad*. 1. vyd. Praha. Farmář-Zemědělské listy. 1999. 160 s. ISBN 80-902413-2-8

MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ ČR. *Situační a výhledová zpráva LAKR.2004*. ISBN 80-7084-317-9, ISSN 1211-7692

MOHAJERANI, F., a kol. *Medicinal plants as a source of future anti-pruritic drugs: A comprehensive review*. 2019. 1-15. ISSN: 0717-7917

MORICOVÁ, P., LUHOVÁ, L., LOCHMAN, J., KAŠPAROVSKÝ, T., *Elicitiny: Klíčové molekuly interakcí rostlin a patogenů*. *Chemické listy*, 2014, č. 108, s. 1133-1139. ISSN 1213-7103.

MOUDRÝ, Jan a kol. *Alternativní plodiny*. Praha: Profi Press, 2011. ISBN 978-80-86726-40-3.

OPEKAR F., JELÍNEK I., RYCHLOVSKÝ P., PLZÁK Z. *Základní analytická chemie pro studenty: pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2010. ISBN 978-80-246-0553-1.

PARK YS, a kol. *Characterization of salicylic acid-induced genes in Chinese cabbage*. 2003. *Plant Cell Rep* 21:1027–1034

PASECHNIK LK. *Cholagogic action of extracts prepared from wild chamomile (Matricaria chamomilla)* *Farmakol Toksikol*. 1996;29: 468–9

PATEL D. *Apigenin and cancer chemoprevention: progress, potential and promise*. Int J Oncol. 2007; 30:233–245.

PEŠEK, M. *Biologie a regulace heřmánku pravého*. 2010. Diplomová práce, ZF JU, České Budějovice.

ŘÍMOVÁ, E. *Stanovení obsahu silic heřmánku pravého (Matricaria recutita L.)*. *Bakalářská práce*. 2006. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Agronomická fakulta. Brno.

SALVADOR MJ., a kol. *Quality control of commercial tea by x-ray fluorescence*. 2000.141-144. ISSN: 0049-8246

SARMA H., a kol. *Accumulation of heavy metals in selected medicinal plants*. 2012. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 214, 63-86.

SHARIFI-RAD, M. *Matricaria genus as a source of antimicrobial agents: From farm to pharmacy and food applications*. 2018. 76-88. ISSN: 0944-5013.

SINGH, O., a kol. *Chamomile (Matricaria chamomilla L.): An overview*. *Pharmacognosy Reviews*. 2011. s.82-85. ISSN: 09737847. DOI:10.4103/0973-7847.79103.

SMALL, Ernest. *Velká kniha koření, bylin a aromatických rostlin*. Vyd. 1. Praha: Volvox Globator, 2006. 1021 s. Verbena; sv. 12. ISBN 80-7207-462-8.

SOCHOR. M. *Heřmánek lékařský (Chamomilla recutita (L.) Rauschert)*. [online]. 2007. [cit. 2019-04-06].

Dostupné z: http://botanika.borec.cz/hermanek_lekarsky.php

SVAB J. *New aspects of cultivating chamomile. Herba Polonica.* 1979; 25:35–9.

SWAINSON, F.T. *Heřmánek.* 2002. Praha: Ottovo nakladatelství. ISBN: 80-7181-655-8

ŠALÁT, F. *Studium vlivu elicitorů na obsah některých účinných látek v heřmánku lékařském (Chamomilla recutita L. Rauschert).* 2007. Diplomová práce, ZF JU, České Budějovice.

ŠTOLCOVÁ, M. *Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny-Elektronické učební texty.* [online]. 2005. [cit. 2019-04-28].

Dostupné z: <http://agrobiologie.cz/SMEP3/Lecivky/lecivky/php/skripta/index.html>

ŠTOLCOVÁ, M., KOCOURKOVÁ B., VILDOVÁ A. *Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny.* V Praze: Česká zemědělská univerzita, 2006. ISBN 80-213-1567-9.

TOMKO, J., a kol. *Farmakognozia.* 1989. Martin: Osveta, ISBN: 80-8063-014-3

TOŠOVSKÁ, M., BUCHTOVÁ, I., MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ. *Léčivé, aromatické a kořenové rostliny: Situační a výhledová zpráva* [online]. Praha, 2012 [cit. 2019-09-30].

Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/188525/SVZ_2012_konecna_verze.pdf

TREBEN, M. *Heřmánek – účinky na zdraví, co léčí, použití, užívání, využití.* [online]. 2014. [cit. 2020-01-04].

Dostupné z: <https://www.bylinkyprovsechny.cz/byliny-kere-stromy/byliny/60-hermanek-ucinky-na-zdravi-co-leci-pouziti-uzivani>

TYL, M. *Heřmánek lékařský-Agrotechnika velkovýrobní produkce heřmánku lékařského,* jako účelovou publikaci vydal r. 1986 n. p. 1986. Léčivé rostliny, Tisk MTZ 31 Gottwaldov.

VANACKER H., LU H., RATE DN., GREENBERG a kol. *A role for salicylic acid and NPR1 in regulating cell growth in Arabidopsis*. 2001. *Plant J.* 28:209–216

VILDOVÁ, A., ŠTOLCOVÁ, M. *Quality characterization of Chamomile (Matricaria recutita L.) in Organic and Traditional Agricultures*. I. International Symposium on Chamomile Research, Development and Production. Prešov 7-10.6.2006. ISBN 80-8068-471-5

VOZÁBOVÁ, T. *Biologie heřmánku pravého Chamomilla recutita (L.) RAUSCHERT a možnosti jeho využití*. 2008. Diplomová práce, ZF JU, České Budějovice.

WAY TD. a kol. *Apigenin induces apoptosis through proteasomal degradation of HER2/neu in HER2/neu-overexpressing breast cancer cells via the phosphatidylinositol-3'-kinase/Akt-dependent pathway*. *J Biol Chem.* 2004; 279:4479–4489.

ZDRÁŽILOVÁ, L. *Biotická elicitace explantátové kultury Trifolium pratense L.* 2007. Diplomová práce, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze.

ZENTRICH, J. *Encyklopedie moderního bylinářství, sv. 1*. 2007. Olomouc: Fontána, ISBN 978-80-7336-389-5. S. 284-286.

SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ

Obrázek č.1: Spektrální analyzátor Spekol 11.....	26
Obrázek č.2: Vznik kyseliny acetylsalicylové z kyseliny salicylové	30
Obrázek č.3: Roundup	41
Obrázek č.4: Ruční postřikovač	42
Obrázek č.5: Česání ručním hřebenem	43
Obrázek č.6 a č.7: Mlýnek PULVERISETTE 14	43
Obrázek č.8 a č.9: Analytické váhy METTLER TOLLEDO AB 204.....	44
Obrázek č.10: Pipety	45
Obrázek č.11: Pipeta Transferpette fix	45
Obrázek č.12: Pipeta Transferpette S	45
Graf č. 1: Množství flavonoidů v sušeném květu při nízké koncentraci.....	47
Graf č. 2: Množství flavonoidů v sušeném květu při střední koncentraci	48
Graf č. 3: Množství flavonoidů v sušeném květu při vysoké koncentraci	49
Graf č. 4: Množství flavonoidů v sušeném květu (kontrolní pokus).....	50
Graf č. 5: Množství flavonoidů v sušeném květu v 1. sběru ve čtyřech opakováních po první aplikaci elicitoru ASA.....	51
Graf č. 6: Průměrné hodnoty flavonoidů v sušeném květu v 1. sběru po první aplikaci elicitoru ASA	51
Graf č. 7: Množství flavonoidů v sušeném květu ve 2. sběru	52
Graf č. 8: Průměrné hodnoty flavonoidů v sušeném květu ve 2.sběru po druhé aplikaci elicitoru ASA.....	52
Graf č. 9: Množství flavonoidů v sušeném květu ve 3. sběru.....	53

Graf č. 10: Průměrné hodnoty flavonoidů v sušeném květu ve 3. sběru po třetí aplikaci elicitoru ASA.....	53
Graf č. 11: Koncentrace flavonoidů v rostlinách heřmánku pravého při použití různých dávek elicitoru v prvním až třetím sběru.....	55
Graf. č. 12: Koncentrace flavonoidů v rostlinách heřmánku pravého v prvním až třetím sběru při použití různých dávek elicitoru.....	56
Graf. č. 13: Koncentrace flavonoidů v rostlinách heřmánku pravého v prvním až třetím sběru společně při použití různých dávek elicitoru.....	58
Graf. č. 14: Koncentrace flavonoidů v rostlinách heřmánku pravého při použití různých dávek elicitoru (varianty společně) v prvním až třetím sběru.....	59

SEZNAM TABULEK

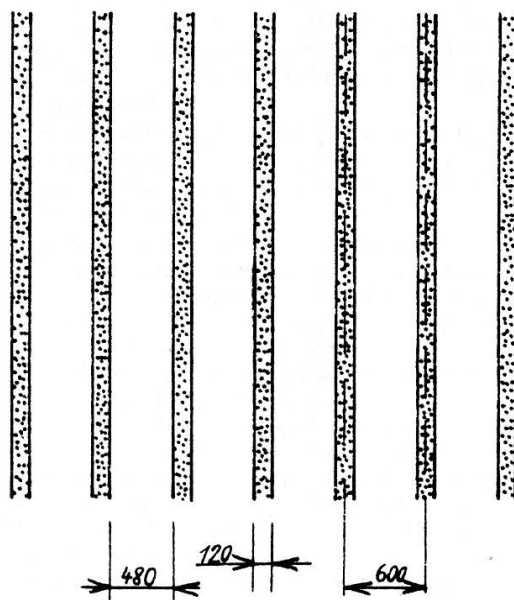
Tabulka č.1: Rozdíly mezi heřmánkem lékařským a rmenem sličným	11
Tabulka č.2: Fyziologické procesy probíhající v heřmánku po sklizni	18
Tabulka č.3: Čtyři základní chemokultivary heřmánku pravého	22
Tabulka č.4: Obsahové látky	23
Tabulka č.5: Přehled vybraných LAKR	36
Tabulka č.6: Charakteristika pozemku	40
Tabulka č.7: Množství flavonoidů v sušeném květu při nízké koncentraci	47
Tabulka č.8: Množství flavonoidů v sušeném květu při střední koncentraci	48
Tabulka č.9: Množství flavonoidů v sušeném květu při vysoké koncentraci	49
Tabulka č.10: Množství flavonoidů v sušeném květu (kontrola)	50
Tabulka č.11: Základní statistiky souboru dat koncentrací flavonoidů při různých koncentracích elicitoru	54
Tabulka č.12: Analýza variancí obsahu flavonoidů při různých koncentracích elicitoru při 1. – 3. odběru	54
Tabulka č.13: Průměrná koncentrace flavonoidů při použití různých dávek elicitoru v jednotlivých sběrech s vyznačením homogenních skupin na hladině $P_{0,03}$ (Fischerův LSD test)	57

SEZNAM PŘÍLOH

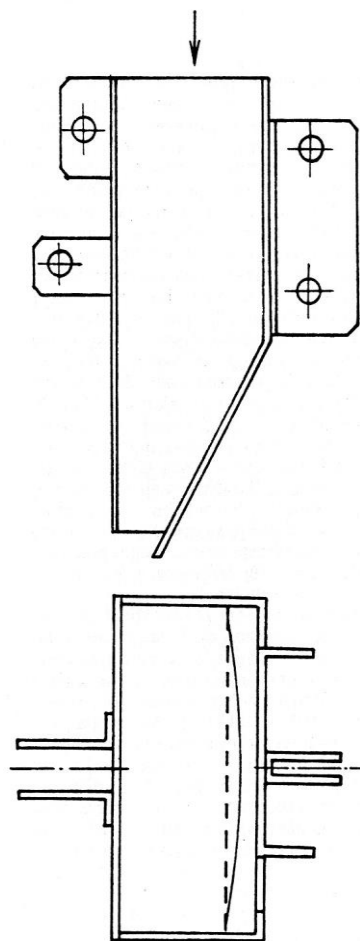
Příloha 1 - Secí zařízení	75
Příloha 2 – Sklízeč heřmánku	76
Příloha 3 - Roštová sušárna léčivých rostlin	77
Příloha 4 – Data	79
Příloha 5 – Obrazová dokumentace pokusu poskytnutá prof. Ing. Stanislavem Kuželem CSc.	80

Příloha 1 - Secí zařízení:

Pásový výsev heřmánku:



1.a Setí do řádků



1.b Adaptér secí botky

Příloha 2 – Sklízeč heřmánku

Schéma sklízeče heřmánku ST 1-003:

Schéma A:

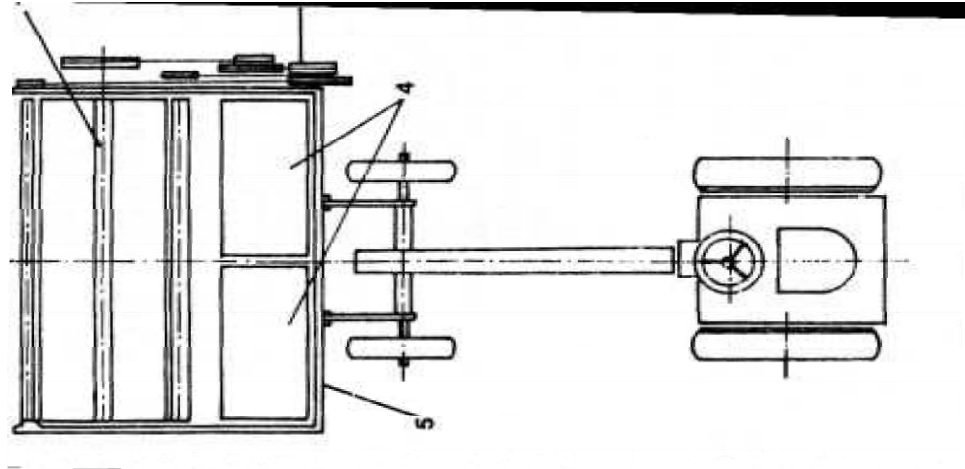


Schéma B:

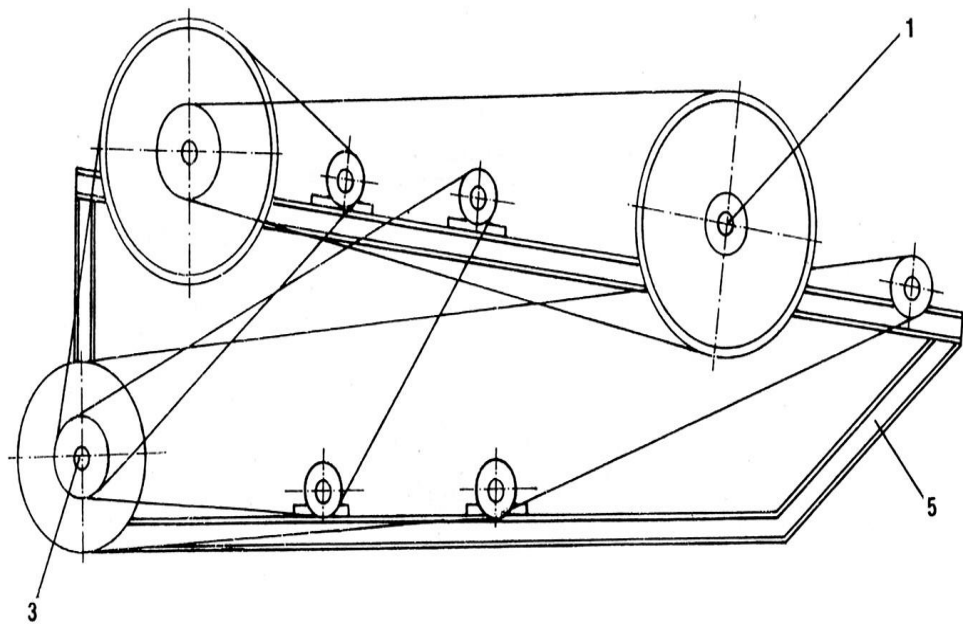
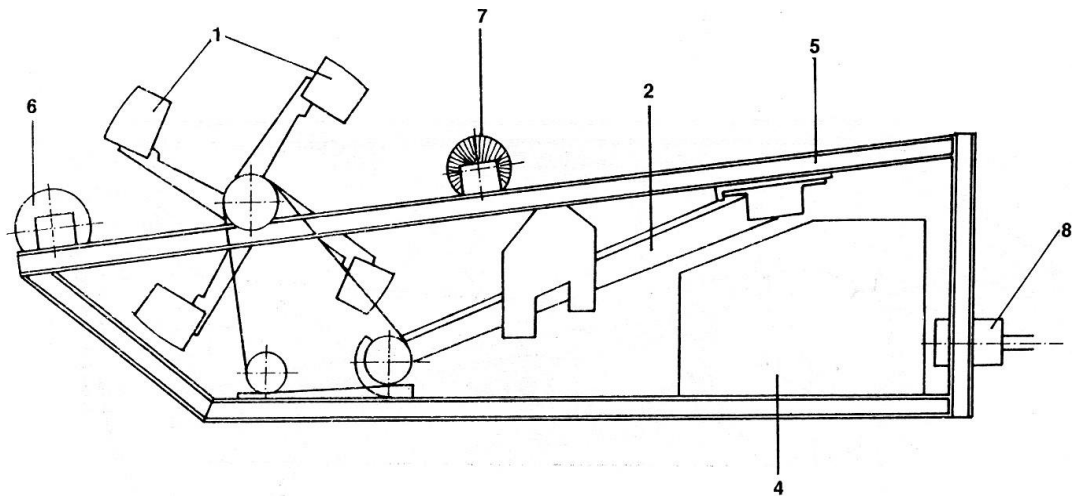


Schéma C:



Popis částí stroje:

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

Příloha 3 - Roštová sušárna léčivých rostlin:

Schéma roštové sušárny (údaje jsou v cm):

Schéma A:

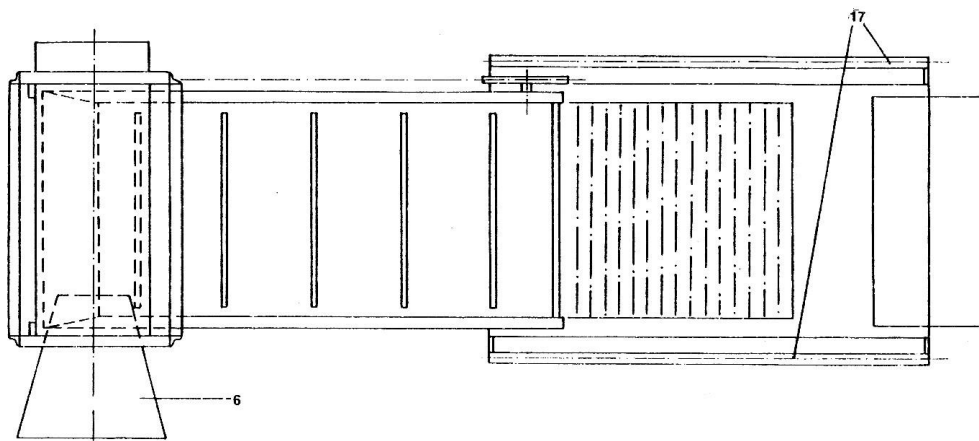


Schéma B:

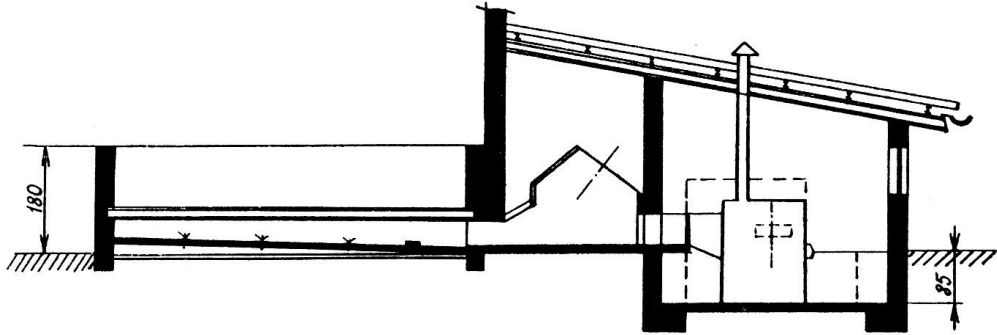


Schéma C:

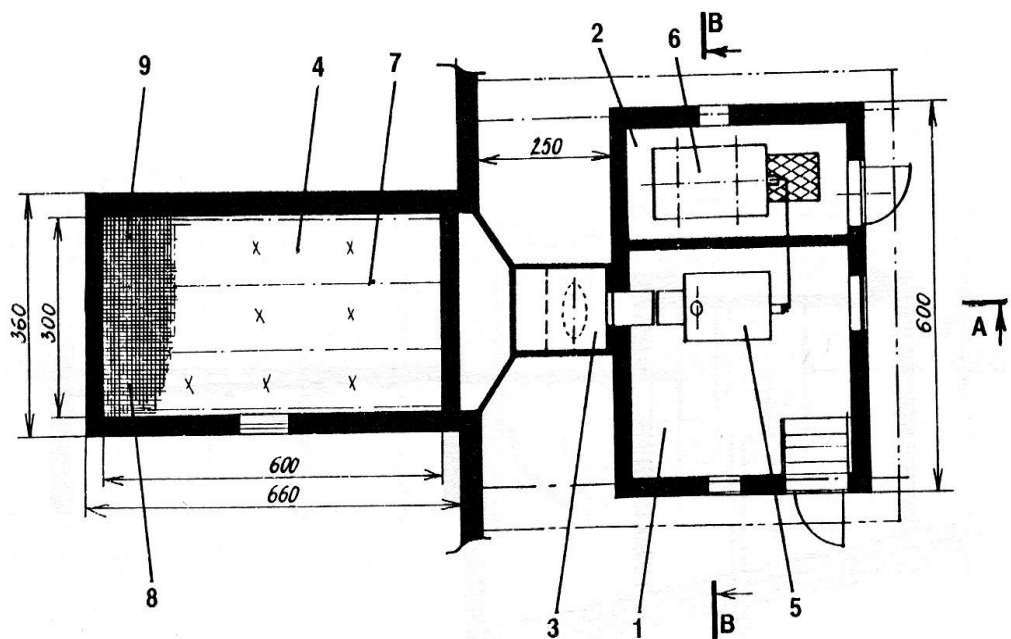
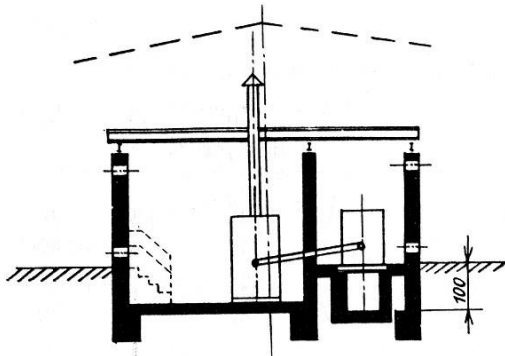


Schéma D:



Popis schématu roštové sušárny:

1. místnost pro tepelný agregát
2. místnost pro nádrž s bezpečnostní jímkou
3. směšovací komora
4. sušící prostor
5. tepelný agregát stabilní
6. nádrž na palivo
7. I. profil pod rošty
8. pórorošt – desky 1x1 m
9. síto nad rošt

Příloha 4 – Data poskytnutá prof. Ing. Stanislavem Kuželem CSc.

Ošetření	Množství flavonoidů v sušeném květu mg/g				
rok 2017	1. sběr		2. sběr		3 sběr
nízká koncentrace ASA	38,20		43,21		45,34
	41,63		42,68		47,56
	47,64		52,70		53,29
	44,27		47,14		49,62
průměr	42,94		46,43		48,95
střední koncentrace ASA	39,54		46,54		46,48
	42,60		47,12		48,97
	44,23		50,10		53,58
	38,54		45,62		47,21
průměr	41,23		47,35		49,06
vysoká koncentrace ASA	38,27		40,23		39,76
	41,35		43,23		41,38
	44,73		42,78		41,09
	39,21		43,02		41,14
průměr	40,89		42,32		40,84
kontrola	35,64		36,66		35,98
	40,08		41,08		41,34
	41,67		42,45		42,76
	42,16		42,56		43,21
průměr	39,89		40,69		40,82

Příloha 5 – Obrazová dokumentace pokusu poskytnutá prof. Ing. Stanislavem Kuželem CSc.



