

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra botaniky a fyziologie rostlin



**Změny v obsahu prolinu a relativního výtoku
elektrolytů vybraných genotypů máků v závislosti na
působení nízkou teplotou**

Bakalářská práce

Autor práce: Jiří Kudrna

Vedoucí práce: doc. Ing. František Hnilička, Ph.D.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma: „Změny v obsahu prolinu a relativního výtoku elektrolytů vybraných genotypů máků v závislosti na působení nízkou teplotou“ vypracoval samostatně a použil jen pramenů, které cituji a uvádím v příloženém seznamu literatury.

V Praze dne 5. 4. 2016

.....

Jiří Kudrna

Poděkování

Velice děkuji panu doc. Ing. Františkovi Hniličkovi, Ph.D. za odborné rady a pomoc při zpracování bakalářské práce. Dále děkuji rodině a přátelům za podporu během mého studia.

Změny v obsahu prolinu a relativního výtoku elektrolytů vybraných genotypů máků v závislosti na působení nízkou teplotou

Souhrn

Cílem bakalářské práce bylo studium vlivu nízké teploty (mrazové) na obsah prolinu a relativní výtoku elektrolytů u vybraného sortimentu odrůd máku setého. Do experimentu bylo zařazeno 18 odrůd máku s různými obsahy morfinu. Osivo sledovaných odrůd máku bylo dodáno z GB Oseva Pro s r.o., o.z. VÚO Opava a z firmy Český mák.

Rostliny vybraných genotypů byly vysety do nádob o velikosti 7,5x7,5 cm. Jako pěstební medium byla zvolena směs zahradního substrátu A s křemičitým pískem v poměru 2:1. Rostliny byly pěstovány v řízených podmínkách klimaboxu Conviron E8. Před zahájením experimentu byla teplota ve dne 10 °C a v noci 5 °C. Světelný režim byl 13 hodin světla a 11 hodin tmy. Maximální hodnota ozáření byla 800 μmol . Experiment byl zahájen ve fázi přizemní růžice listů. V této vývojové fázi byly rostliny vystaveny mrazové teplotě (-5 °C) v noci a chladovým teplotám (10 °C) ve dne. Po týdnu byly rostliny regenerovány po dobu 1 týdne při 5 °C v noci a 10 °C ve dne.

U všech rostlin probíhalo ve dvoudenních intervalech měření hodnot koncentrace prolinu po vystavení rostlin stresu. Ve stejných intervalech jako prolin jsme měřili hodnoty relativního výtoku elektrolytu (Rel %). Ze získaných výsledků vyplývá, že vlivem působení nízké teploty dochází u jarních odrůd máku ke zvýšení hladiny prolinu. Kontrolní ozimá odrůda Zeno vykazuje stabilně vysoký obsah prolinu (693,33 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) v porovnání s jarními odrůdami máku. Po regeneraci došlo u odrůd Lazur, Opál, Buddha, Korneuburger Weisser, Aplaus, Major, Sokol a Zeno ke snížení obsahu prolinu vlivem působení vyšší teploty. U odrůd Orfeus, Tatranský, Opex, Orbis, Maraton, Florián, Marianne a Albín bylo naopak zaznamenáno zvýšení obsahu prolinu. Koncentrace prolinu u odrůd Postomi a Akvarel zůstaly nezměněné. Hodnoty relativního výtoku elektrolytů se zvyšovaly s délkou působení nízké teploty na sledované rostliny. Nejnižší průměrné poškození membrány bylo po působení nízké teploty zaznamenáno u odrůdy Zeno (23,53 %). V případě jarních odrůd bylo nejnižší poškození membrány stanoveno u odrůdy Korneuburger Weisser (44,88 %) a naopak nejvyšší u odrůdy Orfeus (53,15 %). Byla prokázána rozdílná reakce jednotlivých odrůd máku na nízkou teplotu. Nejcitlivějšími na nízkou teplotu byly odrůdy Orfeus, Postomi, Akvarel, Orbis, Sokol a Marianne. Jako méně citlivé na stres, způsobený nízkou teplotou, se jeví jarní odrůdy máku Opex, Buddha, Korneuburger Weisser, a Albín.

Klíčová slova: mák setý; nízká teplota; prolin; relativní výtoku elektrolytu

Changes to the contents of proline and relative electrolyte leakage of the selected genotypes of poppies depending on the influence by low temperature

Summary

The object of this thesis is to study the effect of low temperatures, proline content and relative electrolyte leakage in a selected range of varieties of opium poppy.

Experiment included 18 poppy varieties with different contents of morphine. Poppy seeds for this experiment were provided by GB Oseva Pro s r.o., o.z.VÚO Opava a Český mák s.r.o.

Poppy seeds were sown in containers of a size of 7,5x7,5 cm. Used cultivation medium is mixture of garden substrate A with quartz sand in a ratio of 2: 1. Plants were grown under controlled conditions in grow chamber Conviron E8. Before starting the experiment, the temperature was at 10 ° C during day and 5 ° C over night. Light cycle was 13 hours light and 11 hours darkness. The maximum value of irradiance was 800 μmol . The experiment was initiated in phase of rosette development. At this developmental stage were the plants exposed to frost temperatures (-5 ° C) over night and chill temperatures (10 ° C) during the day. After a week the plants were regenerated for 1 week at 5 ° C over night and 10 C during the day.

All tested plants were in two day intervals measured of proline concentration after exposure to low temperature stress. At the same intervals as proline, were measured the values of relative electrolyte leakage (Rel%). The obtained results show that the influence of low temperature causes increase of proline level. Control winter-crop variety Zeno exhibited the high content of proline (693.33 $\mu\text{g.g}^{-1}$) in comparison with the spring poppy varieties. After regeneration were affected varieties Lazur, Opal, Buddha, Korneuburger Weisser, Aplaus, Major, Sokol, Zeno reduced the content of proline under the influence of higher temperatures. On the other hand the varieties Ofeus, Tatranský, Opex, Orbis, Maraton, Florián, Marianne and Albin were reversed with an increase of proline level. Proline concentration levels were constant and unchanged in case of varieties Postomi and Akvarel. Values of relative electrolyte leakage were increased proportionately with length of exposure to low temperatures on the tested plants. The lowest value of membrane damage was after exposure to low temperatures observed in case of variety Zeno (23.53%). In the case of spring varieties was lowest membrane damage estimated in a variety Korneuburger Weisser (44.88%), while the highest was in the variety Orfeus (53.15%). It demonstrated the different responses of individual poppy varieties at low temperature. Most sensitive to low temperature were varieties Orfeus, Postomi, Akvarel, Orbis, Sokol and Marianne. As less sensitive to stress caused by low temperature seems to be spring varieties Opex, Buddha, Korneuburger Weisser, Albín.

Keywords: opium poppy; low temperature; proline; relative electrolyte leakage (Rel %)

Obsah

1. Úvod	7
2. Cíle a hypotézy práce	8
3. Literární rešerše	9
3.1. Biologická charakteristika	9
3.2. Popis rostliny	9
3.3. Produkce celosvětové/ČR	10
3.3.1. Vývoj ploch máku v ČR	12
3.4. Historie pěstování máku	14
3.5. Význam a využití máku	16
3.6. Agrotechnika	16
3.7. Legislativa pěstování máku	20
3.8. Obecná charakteristika stresů u rostlin	21
3.8.1. Stresové účinky nízkých teplot	22
4. Materiál a metody	25
4.1. Pokusný materiál	25
4.2. Založení pokusu	28
4.3. Metodika měření obsahu antioxidantních a osmoprotektivních látek	28
4.4. Relativní výtok elektrolytů (Rel %)	29
5. Výsledky	30
6. Diskuze	36
6.1. Prolin	36
6.2. Relativní výtok elektrolytů (Rel %)	37
7. Závěr	39
8. Seznam použité literatury	40

1. Úvod

V rodu *Papaver* můžeme najít až 120 druhů rostlin, v nichž byla zjištěna přítomnost až 130 alkaloidů. Nejznámějším zástupcem v dnešní době je bezesporu mák setý (*Papaver somniferum* L.) Nejhojnější výskyt tohoto druhu je na území mírného pásma na severní polokouli. Co se týče střední Evropy, tak z celého počtu je původních 7 druhů a 4 jsou dokonce domácí na území České republiky. Je to rostlina, kterou naši předci znali a využívali již v neolitu (Kubánek, 2008). Původně se mák pěstoval zejména k potravinářským účelům a okrajově k lidovému léčení. Skutečností nicméně zůstává, že se zároveň jedná o jednu z nejdéle lidmi zneužívaných rostlin. Mák setý je jednoletá bylina, dosahuje výše až 1,8m (Kuhn, 1936). Kvete nejčastěji bílou barvou s fialovými skvrnami. Plodem je mnohosemenná tobolka (makovice), která může obsahovat až 10 tisíc semen (Voškeruška a kol., 1965).

V dnešní době se využívá k potravinářským účelům na semeno, jakožto dieteticky významná potravina s žádanými parametry jako je specifická chuť a aroma. Další využití nachází ve farmacii, kdy je vykupována makovina, ze které je následně extrahován morfin nebo další alkaloidy, které jsou již nepostradatelnými pomocníky v moderní medicíně a bez kterých by naše zdravotnictví nebylo na takové úrovni, na jaké je. Výskyt alkaloidů závisí na mnoha faktorech, avšak nejvýznamnějšími jsou samozřejmě genetická výbava (genotyp), klimatické podmínky, půdní podmínky a další.

Globální situace v dnešní době nenahrává máku, a tudíž je mák pěstován jen v několika málo zemích, které jsou buď velmi chudé a mnohdy zde dochází ke zneužívání produktů z máku (Afghánistán, Írán, Pákistán a další.) (Enspyro, 2006) nebo jde o země, kde je pěstování a konzumace máku tradicí po staletí (Česká republika, Slovensko, Polsko, Maďarsko). V České republice se smí pěstovat jen odrůdy se sníženým obsahem morfinu, které uznal ÚKZÚZ, a prošly odrůdovými zkouškami. Obsah morfinu v máku může dosáhnout i hodnot kolem 2,3 % morfinu v sušině tobolek (makovina), jako je tomu například u Maďarské odrůdy Buddha, která samozřejmě nepatří mezi komerčně pěstované odrůdy. Obvykle jsou pěstovány odrůdy, které mají kolem 0,5 % morfinu v sušině tobolek. Po stránce náročnosti na podmínky není mák nijak výrazně náročný na pěstování. Mák je poměrně brzy vyséván a v brzkém jarním období dobře odolává lehčím výkyvům počasí jako například krátkým, a proto bylo cílem bakalářské práce stanovit odolnost vybraných odrůd máku vůči nízké teplotě (Kuchtová a kol., 2013).

2. Cíle a hypotézy práce

Mák setý je významnou zemědělskou plodinou a jeho plochy v České republice patří mezi jedny z nejvyšších na světě. Vzhledem ke skutečnosti, že mák je vyséván relativně časně, tak existuje reálná možnost, že by mohlo dojít k jeho poškození nízkou teplotou.

Z výše uvedeného vyplývají cíle práce:

- a) stanovit vliv genotypu na změnu koncentrací prolinu a relativního výtoku elektrolytů juvenilních rostlin máku po působení nízkou teplotou,
- b) stanovit vliv nízké teploty na koncentraci prolinu a relativní výtok elektrolytů juvenilních rostlin máku.

Z navržených cílů práce vyplývají hypotézy. V rámci pokusu byly stanoveny následující hypotézy:

- a) existují rozdíly v obsahu prolinu a relativním výtoku elektrolytu (Rel%) u vybraných odrůd máku setého
- b) existují genotypové rozdíly v obsahu prolinu a poškození membrány (Rel%) v závislosti na působení nízkou teplotou

3. Literární řešerše

3.1. Biologická charakteristika

Mák setý (*Papaver somniferum* L.) z čeledi makovitých (*Papaveraceae*) patří do rodu *Papaver* (mák), který zahrnuje asi 120 druhů. Taxonomicky se třídí do 9-11 sekcí (jejich počet není ustálen), které jsou rozlišeny zejména na základě znaků morfologických, fytochemických a karyologických. V České republice rostou kromě máku setého následující druhy: mák vlčí (*Papaverrhoeas*), m. pochybný (*P.dubium*), m. Lecoqův (*P. lecoqui*), m. časný (*P. cosine*), m. bělokvěť (*P. maculosum*), m. polní (*P. argemone*) a vzácně je zavlékán m. zvrhlý (*P. hybridum*). Významným plevelným druhem je mák vlčí, ostatní druhy mají jen okrajový význam. Některé importované druhy se pěstují pro okrasu (*P. pseudoorientale*, *P. bracteatum*, *P. croceum*) (Baranyk a kol., 2010).

3.2. Popis rostliny

Mák setý je jednoletá bylina s přímou, lysou případně lehce ochlupenou lodyhou, která může dorůst až do výše 1,8m. Na povrchu bývá patrné jemné modravé ojínění. Na nejspodnějších listech jsou patrné protáhlé listy s hluboce vykrajovanou čepelí. Ve vyšších patrech mají listy oválné až vejčité a srdčítým základem částečně objímají lodyhu. Okraje spodních listů jsou zubaté, u horních listů jsou pilovité až zubaté (Kuhn, 1936).

Kořenový systém se skládá z kulovitěho kořene, který může pronikat až do hloubky 50-80cm a dále z mnoha jemných postraních kořenů. Mák kvete v období červen až srpen. Jeho květy jsou oboupohlavné a mohou dosahovat velikosti až 10cm v průměru. Květ se skládá z dvou kališních lístků, jež jsou opadavé a ze čtyř nestejně velkých korunních plátků, na nichž je obvyklá nápadná bazální skvrna světlé nebo častěji tmavé barvy. Na svrchním semeníku chybějí čnělky a je obklopen velkým počtem tyčinek (100-250) s různě zbarvenými prašníky (Jirásek a Starý, 1986; Enspyro, 2006). Přisedlá blizna formuje terč hvězdicovitého tvaru, na kterém může být 4-21 paprsků, které pak korelují s počtem lamel makovic (Bechyně a kol., 2001). Pylová zrna máku mají eliptický tvar a jsou na pólech zploštělá. Mák je ve většině případů samosprašný, celkový podíl cizosprašení se pohybuje mezi 5-30%. Plod je mnohosemenná tobolka (makovice) kulovitěho tvaru s průměrem až 45mm, která je buďto trvale zavřená (mák slepák) nebo se otevírá malými otvory mezi jednotlivými paprsky blizny (mák hled'ák). Po dozrání se z lamel uvnitř makovice uvolňují semena. Semena mohou nabývat různých barev jako např. modrá, bílá, žlutá, hnědá, černá nebo i růžová. HTS se pohybuje mezi 0,25-0,75 g. Semena mohou obsahovat v sušině až 58 % oleje, až 20 % bílkovin, 16-24 % sacharidů, 5-8 % vlákniny a až 6 % minerálních látek (Enspyro, 2006).

Z minerálních látek převažuje vápník ($1438 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), fosfor ($870 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), přičemž tyto hodnoty se mohou různit u jednotlivých odrůd (Özcan and Atalay, 2006). Počet semen v tobolkách může být různý, v některých případech to může být až 10 000 kusů ale průměrně to bývá kolem 5 000 kusů semen (Voškeruška a kol., 1965).

Celá rostlina kromě semen dále obsahuje jedovatou mléčnou šťávu (latex), která na vzduchu tuhne v hnědou hmotu, tedy opium. Opium je tvořeno bílkovinami, slizy, pryskyřicí, organickými kyselinami, alkaloidy (Novák, 2007), Blaschek (2008) dále uvádí, že latex také obsahuje tuky, sacharidy, vosky, polypeptidy, aminokyseliny a další.

Baranyk a kol. (2010) uvádí, že mák je rostlina dlouhodobní s výraznou reakcí na délku dne. Je světlo milný, nedostatkem světla se oslabuje. Mák je také teplomilný, v raných fázích vývoje však značně otužilý. Důležité je také rovnoměrné a dostatečné zásobení vodou. Na sucho je citlivý především v období vzcházení a ve fázi prodlužovacího růstu.

3.3. Produkce celosvětové/ČR

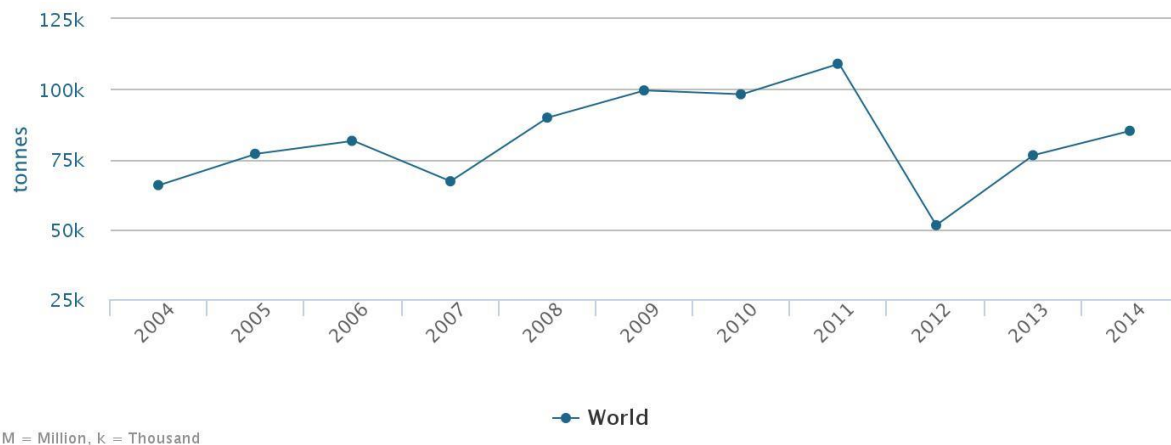
Dle grafů z FAO je Česká republika největším producentem makového semene na světě. Produkce makového semene byla nejnižší v marketingových letech 12/13 (12 814 t) a naopak nejvyšší v marketingovém roce 08/09 (49 428 t), jak dokládá graf. 1. Z něj dále vyplývá, že produkce máku je v posledních pěti letech na vzestupu (FAO, 2014).



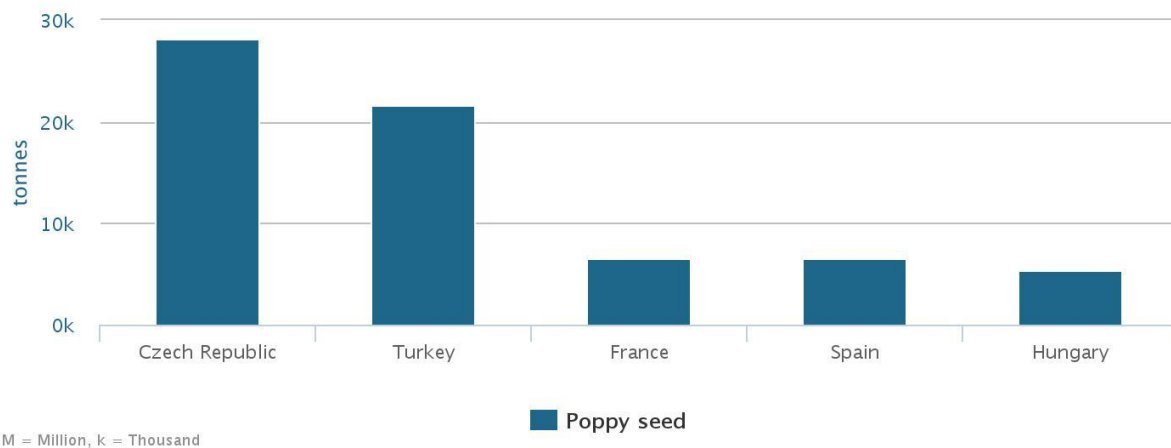
Graf 1: Produkce makového semene (t) v ČR dle FAO (www.faostat3.fao.org)

Světová produkce se po úpadku mezi lety 2011 a 2012 začíná opět zvedat a pomalu se dostává na úroveň let 2008-2010 (graf 2). V roce 2012 byla produkce na nízké úrovni i

v České republice (graf 1). Propad máku v roce 2012 byl zapříčiněn především nasycením trhu produkcí z nadprůměrného sklizňového roku 2011 a také počasím (Potměšilová, 2013).



Graf 2: Produkce makového semene (t) ve světě dle FAO (www.faostat3.fao.org)



Graf 3: Graf největších producentů makového semene (t) dle FAO v roce 2014 (www.faostat3.fao.org)

Dle statistiky FAO (2014) je Česká republika nejvýznamnějším producentem makového semene určeného k potravinářským účelům (graf 3). Druhým nejvýznamnějším je Turecko. Na podobné úrovni (produkce pod 10 000 tun/rok) je Francie, Španělsko a Maďarsko.

3.3.1. Vývoj ploch máku v ČR

Česká republika je od nepaměti významným pěstitelem máku k potravinářskému užití a jako exportního artiklu (Bechyně, 1993). V posledních letech se jedná o velice rentabilní komoditu. Od roku 1990/91 narostly sklizňové plochy z 9,3 tis. ha na 69,28 tis. ha v roce 2008/09. V dalších letech plochy opět klesaly, avšak od roku 2012/13 mají vzestupnou tendenci (Procházka a Smutka, 2012). Průměrný výnos za dvaceti-čtyřleté období je 0,68 t.ha⁻¹. Výnos je stabilní, avšak neuspokojivý a je prioritou pěstitelů dosahovat lepších výsledků. Produkce makového semene je z převážné většiny exportována (MZe, 2015).

V dlouhodobém průměru dosahuje export hodnota až 87,4 %. Další komoditou, která se dá zpeněžit je makovina, která se používá k výrobě morfia. Z naší makoviny se však vyrábí pouze 3-4 % světové produkce morfia. Se zvýšenou nabídkou začala cena makového semene prudce klesat. V marketingovém roce 2008/09 bylo z České republiky vyvezeno sice rekordních 31,4 tis. t makového semene kromě osiva, ale deklarovaná vývozní hodnota meziročně klesla z 67 291 Kč.t⁻¹ na 37 252 Kč.t⁻¹ (Potměšilová, 2013).

V následujících letech reagovali pěstitelé na sníženou poptávku i nepříznivou tržní cenu snížením ploch máku. V marketingovém roce 2012/13 dosáhla v ČR celková produkce máku 12,8 tis. t, což je nejméně od roku 1997/98. Dovezeno bylo kromě osiva 5,3 tis. t a vyvezeno 19,9 tis. t semene máku. Deklarovaná hodnota při vývozu stoupla na průměrných 40,2 Kč.kg⁻¹, tj. meziroční nárůst o 13,3 Kč.kg⁻¹. V následujícím roce již plochy začaly mírně stoupat, a to na 20,3 tis. ha. Produkce z této plochy byla 13,9 tis. t. Pro marketingový rok 2015/16 bylo v ČR oseto mákem 32,7 tis. ha, což je o 21 % více než v roce minulém. Celková produkce semene máku se předběžně odhaduje na 26,9 tis. t (MZe, 2015), jak je uvedeno v tab. 1.

Marketingový rok	Osevní plocha (ha)	Sklizňová plocha (ha)	Výnos (t.ha ⁻¹)	Produkce semen (t)
91/92	9 491	9 263	0,87	8 054
92/93	12 421	11 794	0,67	7 878
93/94	9 915	8 814	0,78	6 890
94/95	29 266	28 726	0,57	16 471
95/96	35 253	34 308	0,73	25 053
96/97	14 677	14 271	0,68	9 654
97/98	17 865	16 641	0,57	9 515
98/99	28 513	27 881	0,74	20 524
99/00	46 018	45 462	0,63	28 509
00/01	31 473	29 871	0,46	13 607
01/02	34 478	33 235	0,64	21 294
02/03	29 638	29 637	0,57	16 918
03/04	38 148	38 147	0,51	19 544
04/05	27 611	27 611	0,90	24 821
05/06	44 615	44 613	0,82	36 418
06/07	57 786	57 785	0,55	31 591
07/08	56 915	56 914	0,58	33 101
08/09	69 793	69 793	0,71	49 428
09/10	53 623	53 623	0,61	32 692
10/11	51 103	51 103	0,46	23 690
11/12	31 495	31 495	0,85	26 918
12/13	18 363	18 363	0,70	12 814
13/14	20 250	20 250	0,69	13 911
14/15	27 020	27 020	0,91	24 665
15/16	32 650	32 650	0,82	26 891

Tab. 1. – Vývoj ploch (ha) a výnosu máku (t.ha⁻¹) v ČR 1991 -2016

3.4. Historie pěstování máku

Mák setý je velmi stará kulturní rostlina. Nejstarší zbytky tobolek a semen nalezené ve Švýcarsku, jižní Francii a jinde pocházejí z období neolitu (8-5. tisíciletí let př. n. l.) (Kubánek, 2008). Skutečnost, že mák skýtá i jiné možnosti využití než jen pro semena ke konzumaci zjistili lidé již zhruba v 5. tisíciletí před naším letopočtem v oblasti Mezopotámie, kdy můžeme říct, že poprvé spatřilo světlo světa opium. Odtud se opium šířilo a nabývalo na významu. Sumerové znali mák pod názvem „Hul Gil“ což lze přeložit jako „rostlina radosti“. Od Sumerské civilizace se znalost máku a jeho výjimečných vlastností šířila dál přes Asyřany a Babylonskou civilizaci až k Egyptské civilizaci v 13. století př. n. l., kdy se začal v Thébách pěstovat mák (*Opium Thebaicum*) (Sladký, 2006). Pojem „opium“ je odvozeno od řeckého slova „opos“ (šťáva) (Kubánek, 2008).

Jednou z teorií, jak se mák dostal na území Asijského kontinentu je, že díky tehdejšímu arabským obchodníkům byl mák zavlečen v 7-8. století, kdy Arabové obchodovali s Indý a Číňany. Dalším milníkem v šíření obchodu s opiem byl začátek obchodu s Evropou a Indočínou. Koloniální mocnosti začaly využívat obchodu s opiem k navýšení zisků a moci. Mezi prvními obchodníky s opiem v Evropě byli Benátčané (během 14. století), následování Portugalci o zhruba století později a až během 17. století se do obchodu s opiem zapojili i Britové. Britská východoindická společnost ale za účelem snížení obchodního deficitu začala přivážet opium původem z Indie a tím odstartovala v 40. letech 19. století tzv. opiové války, během kterých Číňané kapitulovali a uznáním Tiencinské smlouvy garantovali cizincům právo na obchod nejen s opiem, což ve výsledku mělo za následek milióny lidí závislých na opiu (Nožina, 2001).

Další výrazný rozvoj využití opia nastal v 19. století, kdy opiová tinktura zvaná laudanum byla považována za univerzální lék. V Číně bylo zneužívání opia v 19. století velmi rozšířené. Odhaduje se, že v té době opium užívala přibližně čtvrtina populace (Baranyk a kol., 2010).

Čína pod tlakem masového importu opia zvolila variantu lokálního pěstování, aby zažehnala rostoucí tržní deficit a pomohla oživit trh. Ovšem posléze začalo docházet k faktickému přesunu produkce opia do jihovýchodní Asie, jenž byl zapříčiněn represemi ze strany císařství vůči produkci opia a s příchodem komunistů přišel totální zákaz. Tento komunistický zákaz byl posledním krokem k vytvoření nového fenoménu-oblasti zvané Zlatý

trojúhelník. Do oblasti tzv. Zlatého trojúhelníku patří pohraniční oblast Thajska, Myanmar a Laos (občas je sem zařazována část Vietnamu) (Chin, 2009).

Opium bylo v této době (19. století) žádanou obchodní komoditou avšak na cestě už byla „zdokonalená verze“ v podobě heroinu, který přišel na trh na přelomu 19. a 20. století (Chin, 2009). Následovala masová expanze opiového máku a opia po celé Asii. V souvislosti s produkcí, obchodem a konzumací opia jsou vždy spojovány problémy na vnitřní i mezinárodní úrovni, takže po čase opět přišly restriktce a zavedení prohibice. Tato prohibice měla ovšem za následek opět přesun produkce do jiných zemí, což mělo za následek nárůst produkce v oblasti zvané Zlatý pŕlměšíc. Oblast zlatého pŕlměšice se rozlěhá na území Afghánistánu, Pákistánu a Íránu (Nožina, 2001).

V Evropě se mák pěstoval jako zahradní plodina a na produkci semen, opium zde dlouho nebylo známo (Baranyk a kol., 2010). Samotné opium obsahuje pŕibližně 60 nám známých alkaloidů. Kromě asi nejznámějšiho morfinu jsou to narkotin, papaverin, kodein, thebain a další (Rätsch, 2008).

Dodnes neztratily svůj význam léčivé vlastnosti máku. A tak se prázdne tobolky s krátkými stonky (makovina), obsahující cenné alkaloidy, staly významnou surovinou pro výrobu léků a tím i zdrojem dalšího pŕijmu pro zemědělské podniky. Mák tedy může být vysoce rentabilní plodinou s nízkými vklady na produkci, ovšem za předpokladu, že pěstitel zvládne některé specifické problémy v jeho pěstování a sklizni, které ho někdy mohou činit plodinou rizikovou nebo málo rentabilní (Bechyně, 1993).

V současné době je Česká republika, spolu s Čínou, Indií a Tureckem, jedním z největších producentů makového semene na světě (Özcan and Atalay, 2006).

Ročně se zde spotřebuje kolem 3,5 tisíce tun. To díky produkci pŕibližně 17tisíc tun semene skýttá značné možnosti pro export. Avšak v blízké době je možné, že bude docházet k výraznému omezování pěstování máku až na úroveň západní Evropy. Důvodem by mohla být špatná rozhodnutí vlády v rámci podpŕrných programů a omezení pěstování zákonem v zájmu ochrany obyvatelstva před toxikománií. Nebo by mohlo být pěstování máku omezeno díky konkurenci dotovaných plodin v Rámci EU (Cihlář a kol., 2003).

3.5. Význam a využití máku

Mák setý je využíván zejména pro potravinářské účely a pro možnost izolování farmaceutický významných látek. V České republice je pěstován hlavně na semeno a makovina je vedlejším produktem, který je vykupován jako zdroj pro farmaceutický průmysl. Ve farmacii se používají izolované alkaloidy zejména jako analgetika (léčiva tišící bolest), sedativa (uklidňující prostředky), antidiarhoika (léčiva proti průjmu) a další. Tyto vlastnosti dělají z léků na bázi opiátů nepostradatelného pomocníka v celé řadě medicínských a biomedicínských oborů (Jirásek a Starý, 1986). Opiáty jsou látky, které mají podobnou chemickou strukturu jako morfin. Dále jsou známy tzv. opioidy, což jsou látky, které nemusí mít chemickou strukturu podobnou morfinu, ale působí přes shodné receptory a mají stejný vliv na organismus. Mezi opioidy, nikoliv opiáty patří například petidin, fenantyl a megafon, což jsou látky odvozené od molekuly fenylypiperazinu. Mezi opiáty patří morfin, kodein, diacetyl-morfin (heroin), hydromorfon, oxykodon (Marečková a kol., 2007).

3.6. Agrotechnika

Ještě v 60. letech minulého století býval mák pěstován v širokých řádcích, což umožňovalo plečkování. Avšak zhruba od 70. let se od tohoto postupu upustilo a v rámci konvenčního zemědělství se začalo pěstovat v úzkých řádcích bez jednocení a s využitím herbicidů, následováno přímou kombajnovou sklizní (Kuchtová a kol., 2013). Dnes jsou u máku využívány i bezorebné technologie.

Na stejný pozemek by měla tato plodina jít až po pěti letech (Kuchtová a kol., 2013). Baranyk a kol. (2010) konstatují, že pozemek by neměl být zamokřený, či náchylný k tvorbě půdního škraloupu. Nedoporučují se studené lokality horského výrobního typu. Nejvhodnější půda je hlinitá, středně těžká a dobře provzdušněná. Mák velmi citlivě reaguje na půdní (ne)vyrovnanost a případné změny, k nimž může docházet např. při výkyvech počasí v průběhu vegetace. Vyžaduje pečlivé a rovnoměrné zpracování půdy. Fyzikální, chemické a biologické vlastnosti půdy můžeme pozitivně ovlivnit pravidelným přísunem organické hmoty (Kuchtová a kol., 2013).

Vhodnou předplodinou je podle Baranyka a kol. (2010) organicky hnojená předplodina, nebo luskovina. Často je řazen po cukrové řepě, zde však může hrozit riziko

v podobě utužení půdy přejezdy těžké mechanizace. Mák je dobrým přerušovačem obilných sledů, kdy ho můžeme řadit jak po pšenici, nebo ječmeni, tak i po kukuřici. Nevhodnou předplodinou z pohledu zaplevelení i zdravotního stavu je řepka. Setí probíhá většinou od začátku března do konce dubna (Vašák a kol., 2010). Hloubka setí by měla být 1-2cm (u lehkých půd a při suchu hlubší). Při předchozím organickém hnojení musíme eliminovat riziko vzniku izolační vrstvy, která by mohla bránit vztlínání kapilární vody k výsevnickému lůžku (Kuchtová a kol., 2003).

Výsevek činí 1-2 kg.ha⁻¹. Na jeden metr čtvereční připadá 250-300 klíčivých semen. Abychom mohli následný porost označit za dobrý, potřebujeme na jednom čtverečním metru 50-80rostlin s 70-100 tobolkami. Semena klíčí již při teplotách 3-4 °C. Doba vzcházení je závislá zejména na počasí, ale v průměru to bývá 2-3 týdny. Během fáze klíčení je mák mrazuvzdorný, avšak tato vlastnost máku postupem času mizí a mák začíná být náročný na vyšší teploty (Vašák a kol., 2010).

Dusík má při pěstování máku rozhodující úlohu. Zvýšené nároky na dusík můžeme pozorovat od vzejití až po vznik generativních orgánů (6. pravý list, BBCH 16). Aby byl dusík rostlinám po celou dobu k dispozici je vhodné hnojení rozdělit na základní hnojení a přihnojení během vegetace. Celková dávka dusíku se odvozuje od hodnoty N minerální (N_{min}) v půdě a z předpokládaného výnosu. Vhodnými hnojivy pro základní hnojení jsou močovina, LAV, SA, DAM390. Na pozemcích kde není dostatek síry, je vhodné využít hnojiv SA, DASA a další (Škarpa a kol., 2013).

Ministerstvo zemědělství (2016) stanovuje maximální limit pro hnojení máku dusíkem na 85 kg N/ha (Kuchtová a kol., 2013). Lošák a Richtr (2004) uvádí, že dělená aplikace dusíku zvyšuje počet tobolek (makovic) na rostlinu i výnos oproti nedělené aplikaci. Nadměrné hnojení dusíkem je neekonomické a zhoršuje některé parametry k mechanizované sklizni. Rostliny se mohou větvit, jsou náchylnější k polehání, déle kvetou a mohou nerovnoměrně a pozdě dozrávat (Bechyně, 1993).

Mák je rostlina náročná na draslík a fosfor. Fosfor je prvkem, který často limituje příjem ostatních prvků a při jeho nedostatku se nám snižuje výnos makovic i semen (Bechyně, 1993). Díky relativně slabému kořenovému systému potřebuje mák, zvláště v počátečních fázích, dostatek živin jinak by mohlo docházet ke snížení výnosu (Kuchtová a kol., 2013). Při výpočtu normativu se vychází z potřeby živiny na jednu tunu produkce (26 kg P, 90 kg K a 15 kg Mg) a předpokládaného výnosu (Škarpa a kol., 2013).

Od fáze listové růžice (BBCH19) začíná převládat potřeba K, Na, Ca a snižuje se potřeba N. Důležité mikroprvky jsou bór, molybden a zinek (Bechyně, 1993). Půdní reakce

by se měla pohybovat kolem neutrálních hodnot, přičemž hodnoty pH 6,2-7,2 jsou optimální (Bechyně, 1993), neboť mák je plodinou citlivou na vyšší půdní kyselost, na níž reaguje redukcí kořenového systému a omezuje se příjem většiny živin, především mikroprvky (Škarpa a kol., 2013).

Rostliny máku mají pomalý počáteční růst a tedy malou konkurenční schopnost vůči plevelům. I menší zaplevelení porostů může významně ovlivnit výnos. Semena plevelů se mohou dostávat i do sklizeného materiálu. Zvýší se tím náklady na čištění a často není výsledek čištění uspokojivý. Potravinářský mák se často stává neprodejný (Baranyk a kol., 2010).

Cihlár a Vašák (2001) rozdělují nejvýznamnější plevele v porostu máku takto: Jednoleté pozdně jarní – laskavce (*Amaranthus sp.*), merlíky (*Chenopodium*), lebedy (*Atriplex*), pětour maloborný (*Galinsoga parviflora*), rdesna (*Persicaria*) aj.; jednoleté přezimující – svízel přítula (*Galium sarine*), heřmánkovec přímořský (*Tripleurospermum maritimum*), chundelka metlice (*Apera spica-venti*), mák vlčí (*Papaver rhoeas*), turan kanadský (*Conyza canadensis*), kokoška pastuší tobolka (*Capsela bursa-pastoris*) aj.; jednoleté časně jarní – hořčice rolní (*Sinapis arvensis*), oves hluchý (*Avena fatua*), pohanka svlačcovitá (*Fallopia convolvulus*), ředkev ohnice (*Raphanus raphanistrum*), konopice (*Galeopsis*) aj.; vytrvalé – pýr plazivý (*Elytrigia repens*), pcháč oset (*Cirsium arvense*) a jednoděložné – ježatka kuří noha (*Echinochloa crus-galli*), béry (*Setaria*) aj.; výdrol předplodiny, zejména řepky.

Z chorob je nejvýznamnější pleosporová hnědá skvrnitost máku (*Pleospora calvescens*), kdy při vzcházení rostlin dochází k zaškrcování kořenového krčku a následně k odumření rostliny. U starších rostlin se na stoncích objevují modročerné úzké pasky a na listech se objevují nepravidelné hranaté skvrny, které se mohou zbarvovat až do nafialovělé barvy. Dále plíseň maková, která napadá všechny části rostliny a způsobuje zvodnatění pletiv, následované hnilobou a růstem bílého vakovitého povlaku mycelia. Na stonku i v něm se vytvářejí černá, tvrdá sklerocia houby. V konečné fázi dochází k usychání rostliny (Prokinová, 2014). Dále se mohou objevovat virové choroby máku, verticiliové vadnutí, bakteriální stonková hniloba, plíseň šedá nebo spála máku (Prokinová, 2014).

Mezi nejvýznamnější škůdce patří: krytonosec kořenový (*Stenocarus ruficornis*), kdy jeho dospělci napadají rostliny po vzejití, do čepelí listů vyžírají malá okénka a mladé srdíčkové listy mohou sežrat úplně. Žír dospělců může mít, především u pozdě zasetých porostů, velmi fatální následky. Samičky vyhlodávají v hlavním nervu na spodní straně listu

jamku, do níž poté kladou průměrně 300 vajíček. Larvy posléze minují v listech a následně se přesouvají na zem, kde poškozují kůlový kořen (Muška, 2007).

Dále krytonosec makovicový (*Neoglacianus maculaalba*) jehož dospělci vykusují jamky a rýhy do stonků mladých makovic. Samičky kladou do makovic vajíčka. Vylíhlé larvy pak vyžírají tvořící se semena a prožírají přepážky (tzv. červivost makovic) (Prokinová, 2014).

Mezi další škůdce patří mšice maková (*Aphisfabae*), která se vyskytuje zejména v teplých a suchých letech. Způsobuje žloutnutí, deformace zasychání vegetačních vrcholů a následně rostlina produkuje malé a zdeformované tobolky. Zároveň je mšice velmi významný vektor virových chorob. Dalším škůdcem je žlabatka stonková (*Timaspis papaverin*), jejíž larvy minují dřeň stonku směrem dolů, v důsledku čehož dochází k vadnutí rostlin a předčasnému zrání tobolek. Dále můžeme zaznamenat výskyt klopušky dvousečné (*Calocoris norvegicus*), žlabatky makovicové (*Aylaxpapalis*) a žlabatky makové (*Aylaxminor*) (Kazda, 2014).

Termín sklizně závisí na zralosti porostu, kterou můžeme určit dle jednotného zbarvení porostu a vyschlých tobolek, u nichž při pohybu slyšíme chrastění semen v tobolce (Kuchtová a kol., 2013). Semena jsou sklízena zásadně s makovinou, čímž se snižuje podíl sklizňových ztrát a následně odseparovaná makovina přináší další finanční prostředky (Vašák a kol., 2010).

Výnos semene máku setého je vždy závislý na odrůdě, agrotechnice, půdních a klimatických podmínkách. Průměrně bývá v makovici 4-6 tisíc semen, což odpovídá 2-3 g. Průměrný hektarový výnos je 0,4-1,0 t semen (Fábry a kol., 1992).

3.7. Legislativa pěstování máku

Pěstování máku v České republice se řídí řadou legislativních předpisů, mezi něž patří:

Zákon č. 167/1998 Sb., Zákon o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů

Uvedený zákon upravuje podmínky zacházení s návykovými látkami, jejich manipulaci, dovoz, vývoz a tranzitní operace. Zároveň upravuje předchozí body vztažené na přípravky s obsahy těchto návykových látek. Tento zákon byl v souladu se směrnicí Evropského parlamentu a Rady 98/34/ES „o poskytování informací v oblasti norem, technických předpisů a předpisů pro služby informační společnosti, v platném znění, oznámen dne 22. června 1998.

Podle § 24 zák. č. 167/1998 Sb., o návykových látkách, v platném znění je zakázáno pěstovat odrůdy máku setého (*Papaver somniferum* L.), které by mohly obsahovat v sušině více než 0,8 % morfinu. Z tohoto zákazu mají výjimku odrůdy pěstované pro výzkumné a pokusné účely či pro šlechtění nových odrůd nebo pro zachování genetické rozmanitosti rostlin, avšak pouze vědeckými a výzkumnými pracovišti. Ministerstvem zemědělství je stanoven seznam odrůd, které splňují podmínku maximálního obsahu 0,8 % morfinu a zároveň způsob, jakým má docházet k zneškodňování makoviny.

Otázky ohledně případného vývozu makoviny upravuje § 25 zák. č. 167/1998 Sb., o návykových látkách.

§ 29 zák. č. 167/1998 Sb., o návykových látkách, v platném znění upravuje podmínky ohlašovací povinnosti pěstování máku setého, vývozu makoviny a dovozu makoviny. Osoby, které pěstují mák setý na ploše přesahující 100m², jsou povinny předat hlášení místně příslušnému celnímu orgánu dle místa, kde k pěstování dochází. Takto učiněno musí být v písemné či elektronické podobě, která ale musí být opatřena ověřeným elektronickým podpisem dle zvláštního právního předpisu. Záměr pěstovat tuto plodinu (mák setý), je třeba nahlásit nejpozději do května příslušného kalendářního roku spolu s doplňujícími informacemi o přibližné výměře pozemku, oseté mákem setým, dále o názvu použité registrované odrůdy, číslu parcely a číslu katastrálního území. Během vegetace a sklizně je pěstitel povinen sdělit skutečnou výměru pozemku a způsob jakým bude mák a makovina použita či zneškodněna. Dále je povinen doplnit podrobné informace o použité registrované odrůdě, číslu parcely, názvu a číslu katastrálního území a to nejpozději do 5 kalendářních dnů před provedením zneškodnění. Další ohlašovací povinnost se týká nahlášení přesné výměry

pozemků, jež byly osety mákem setým, nebo konopím a ze kterých byla plodina sklizena. Opět musí být nahlášeny informace o použité registrované odrůdě, čísle parcely, názvu a čísle katastrálního území a to nejpozději do konce příslušného kalendářního roku. V tomto případě je ale nutné navíc uvést informace o množství semene, množství a hmotnosti makoviny, údaje o sklizňovém roce a identifikační údaje nového držitele máku nebo makoviny. Při porušení nebo nesplnění těchto povinností může být na toto jednání nahlíženo jako na správní delikt v rozporu s výše zmíněnými předpisy a odpovědná osoba může být potrestána pokutou až do výše 500 000 Kč. Kontrolu dodržování povinností vyplývajících z tohoto zákona a z rozhodnutí vydaných na jeho základě vykonávají pověřeni zaměstnanci ministerstva zdravotnictví, státního ústavu pro kontrolu léčiv, veterinárního ústavu nebo příslušníci Policie České republiky a celní správy ve věcech týkajících se pěstování máku setého a konopí a ve věci dodržování povinností plynoucích z §11 (dále jen „inspektoři“). Inspektoři jsou oprávněni provádět i předem neoznámené kontroly, vstupovat na pozemky, do objektů a místností, vyžadovat vysvětlení zjištěných okolností nebo například pořizovat kopie listin a dokumentů s kontrolní činností souvisejícími. Inspektor je povinen se, při výkonu kontrolní činnosti, prokázat průkazem vydaným jedním z předem vyčtených orgánů.

3.8. Obecná charakteristika stresů u rostlin

Rostliny během svého života prochází mnohokrát velmi proměnlivými a nestabilními podmínkami. Stres je souhrnné označení stavu, ve kterém se rostlina nachází pod vlivem stresorů. Aktivaci obranných systémů označujeme jako stresovou reakci. Jako stresory označujeme nepříznivé vlivy vnějšího prostředí, ohrožující rostliny. Ty mohou negativně působit na jejich vývoj, například zpomalují životní funkce nebo mohou poškozovat jednotlivé orgány a mohou vést až k úhynu rostliny. Stresové faktory nemohou pronikat do vnitřního prostředí různých druhů stejně snadno, a to především v důsledku různě vyvinutých mechanismů ochrany, které mají převážně pasivní a dlouhodobý charakter (výrazná impregnace buněčných stěn, kutikula na listech, rezervoáry vody a snadno rozložitelných organických látek tlumící jejich nedostatek). Jedná se tedy v podstatě o schopnost vyhnout se stresu (stress avoidance) (Levitt, 1980).

Aktivní odolnost (stres tolerance) je dalším mechanismem obrany proti stresorům. Jedná se o zpuštění řetězce změn. Bezprostředně po začátku působení stresového faktoru dochází k narušení buněčných struktur a funkcí (poplachová reakce). Pokud nedojde k překročení letální úrovně intenzity stresoru, dochází k mobilizaci kompenzačních

mechanismů (restituční fáze), které směřují ke zvýšení odolnosti rostliny vůči působícím faktorům (fáze rezistence). Při dlouhodobém a intenzivním působení stresového faktoru může dojít k poklesu (fáze vyčerpání) (Larcher, 2001).

3.8.1. Stresové účinky nízkých teplot

Nízké teploty dělíme na chlad a mráz. Dle Taize a Zeigera (2006) je za chlad považována teplota 0-15 °C. Většinou bývají poškozeny teplomilné rostliny, které se při této teplotě dostávají do silného teplotního stresu. Mrazové poškození se objevuje za teplot nižších, než je bod zmrznutí vody.

3.7.1.1. Chladový stres

Nízké teploty všeobecně jsou jedním z nejrizikovějších abiotických stresů, které ovlivňují rostliny (Akula, 2011). V mírném pásmu nalezneme druhy rostlin, které vykazují stresové reakce i při mnohem mírnějším poklesu teplot (pod +10°C). Velmi důležitá je také doba, po kterou chlad působí (Hasselt a kol., 1997). Listy rostlin poškozených chladem vykazují inhibici fotosyntézy, pomalejší translokaci sacharidů, nižší míru dýchání, inhibici proteosyntézy a zvýšenou degradaci stávajících proteinů. V důsledku změn biofyzikálních vlastností ztrácí membrána svou funkci (Taiz a Zeiger, 2006). Intenzita fotosyntézy se vrátí na původní úroveň tím dříve, čím kratší dobu byly rostliny vystaveny nízkým teplotám (Hasselt a kol., 1997) Na chlad, jsou velmi citlivé květní orgány rostlin v raném stádiu vývoje a v průběhu gametogeneze a to i u rostlin, jejichž vegetativní orgány na nízké teploty obvykle citlivé nejsou (Levitt, 1980). Ochranným mechanismem rostlin proti stresu chladem je syntéza stresových proteinů z rodiny COR proteinů (Cold – Responsive) (Winfield a kol., 2010).

3.7.1.2. Stres mrazem

Poškození rostlin mrazem je spojováno s tvorbou ledu a mrazovou dehydratací buněk. Většina rostlin klimatického pásma ČR může být vážně poškozena za teplot pod bodem mrazu, kdy díky změně skupenství vody může docházet k vážným dopadům na fyziologické funkce rostlin. (Larcher, 2001). Krystaly ledu se nejprve tvoří v intracelulárním prostoru. Mrazová dehydratace je jev, kdy dochází k vypuzování vody z buňky ven, jelikož led má nižší chemický potenciál než voda a během extracelulárního tuhnutí vypuzuje buňka vodu ven (Thomashow, 1998). Bod mrazu je vyšší intercelulárně (mezibuněčně) než extracelulárně (vnitrobuněčně). Led utvořený uvnitř buněk způsobuje téměř vždy neobnovitelné poškození struktur a následné odumírání (Levitt, 1980).

3.7.1.2. *Ochrana rostlin proti působení nízkých teplot*

Přirozeným faktorem, který může zvyšovat odolnost rostlin proti mrazu je aklimace, což jsou změny během nízkých teplot, které jsou charakterizovány hromaděním osmoticky aktivních látek s tvorbou stresových proteinů a změnami v chemickém složení lipidové vrstvy membrán (Levitt, 1980).

Dále jsou v důsledku nepříznivých vnějších podmínek produkovány další kryoprotektanty jako jsou:

- cukry (sacharóza, rafinóza, stachyóza, trehalóza) jsou přirozenou součástí intracelulárního i extracelulárního prostoru buněk, které využívají jejich zvýšené koncentrace k přežití v chladných podmínkách. Cukry vážou volnou vodu a velký význam má i jejich schopnost vazby na proteiny buněčných membrán, čímž v podstatě nahrazují molekuly vody, které jsou běžně na těchto proteinech navázány a v případě vystavení nízkým teplotám mohou způsobovat poškození membrán vznikem krystalů.
- alkoholy (sorbitol, ribitol, inositol) mají stejně jako cukry koligativní vlastnosti a snižují bod tuhnutí.
- nízkomolekulární dusíkaté sloučeniny (prolin, glycin, betain) jsou látky, které zajišťují tzv. osmotické přizpůsobení v momentech, kdy je rostlina vystavena stresu a kumulují tyto soluty aby byla schopna udržet turgor v buňce a tím ovlivňovat proces absorpce vody.
- anti-freeze proteiny inhibují růst zárodečných ledových krystalů a tím pomáhají stabilizovat stav podchlazení.
- dehydriny, které jsou kumulovány kolem buněčných membrán při nízkých teplotách nebo suchu a pomáhají buňce překlenout období působení stresu.

Tyto látky pomáhají ochránit a stabilizovat fyziologické a biochemicko-fyzikální mechanismy v buňkách (Hlinča, 2002; Wang et al., 2003; Akula, 2011). Dále roste zastoupení nenasycených mastných kyselin, které vede ke snížení kritické teploty přechodu lipidů do gelového stavu (Wang et al., 2003).

Akula (2011) se dále zmiňuje o zvyšování obsahu suberinu, což je hydrofóbní látka podobná vosku, která je přítomna v buněčné stěně vyšších rostlin a zabraňuje pronikání vody do pletiv, a dále o ligninu což je vysokomolekulární polyfenolycká amorfnní látka, která je nedílnou součástí například dřeva a obdobně jako suberin je obsažena v buněčných stěnách,

kde ovšem zajišťuje dřevnatění. Tzv. proces signifikace a přesunu suberinu má následky, které způsobují vyšší odolnost proti poškození mrazem. Christie (1994) uvádí také mechanismus odolávání nízkým teplotám v podobě akumulace antokyanů u rostlin. Pedranzani (2003) zmiňuje zvýšený obsah jasmonátů u borovice přímořské (*Pinus pinaster*) při chladovém i vodním stresu.

4. Materiál a metody

U juvenilních rostlin vybraných 18 genotypů máku setého (*Papaver somniferum* L.) by v řízených podmínkách sledován vliv nízké teploty na obsah prolinu a relativní výtok elektrolytu.

4.1. Pokusný materiál

Jako pokusný materiál bylo zvoleno 18 odrůd máku setého (*Papaver somniferum* L.) s rozdílným obsahem morfinu a rozdílnou barvou semen. Osivo sledovaných odrůd máku bylo dodáno z GB Oseva Pro s r.o., o.z.VÚO Opava a z firmy Český mák.

Údaje ze Státní odrůdové knihy ke dni 15. června 2015:

Akvarel

Okrovosemenný s nízkým až středně vysokým obsahem morfinu (0,4 % morfinu v sušině tobolek). Odrůda určená k produkci semene pro potravinářské účely. Středně raná odrůda, rostliny jsou středně vysoké a odolné proti polehání. Nízký výskyt hledáků. Vysoký obsah oleje v semeni

Albín

Jedná se o bělosemennou odrůdu, která se vyznačuje větší citlivostí na herbicidy avšak je ceněna pro svou neobvyklou chuť semen, která je výrazně oříšková. HTS je 0,406 g. Obsah morfinu v sušině tobolek je 0,32 % (střední obsah).

Aplaus

Modrosemenná odrůda s dobrou barevnou vyrovnaností. Bíle kvetoucí. HTS je 0,53 g. Středně raná odrůda (129 dní), středně vysoká (1,12 m). Obsah morfinu v sušině je 0,64 %. Obsah oleje v semenech je až 47,86 %. Určena pro pěstování na potravinářské účely i pro produkci makoviny na farmaceutické účely. Zdravotní stav dobrý s dobrou odolností proti plísni makové.

Buddha

Modrosemenná odrůda z Maďarska. Obsah morfinu v sušině tobolek je až 2,52 %. Má přijatelnou odolnost vůči herbicidům. Základním nedostatkem je náchylnost k poléhání a vyšší citlivost k helmintosporióze.

Florián

Obsah morfinu v sušině tobolek je 0,14 %.

KorneuburgerWeisser

Bělosemenná odrůda. Obsah morfinu v sušině tobolek je 0,097 %.

Lazur

Modrosemenná odrůda z Polska. Obsah morfinu v sušině tobolek je až 1,15 %. Tato odrůda je pěstována v omezeném rozsahu a zejména tam, kde zemědělci prodávají zejména makovinu. Vybarvení světle modrých semen je horší. Odolnost proti herbicidům je vyšší. Pěstitelsky se hodí do všech oblastí.

Major

Modrosemenná odrůda vyšlechtěná ve Výzkumné stanici Malý Šariš, zaregistrována roku 2002. Je odolná proti vyvracení a polehání, má vysokou odolnost proti nežádoucímu otevírání tobolek a je přizpůsobivá k půdním a klimatickým podmínkám. Dále tato odrůda poskytuje vysoký výnos makoviny. Odrůda je středně raná (126 dní), středně vysoká (1,11 m). Obsah morfinu se pohybuje v rozmezí 0,45-0,50%. HTS je 0,55 g a je vyšší než u kontrolních odrůd. Tato odrůda se vyznačuje střední odolností proti plísni makové a helmintosporióze

Maratón

Modrosemenná odrůda vyšlechtěná ve Výzkumné stanici Malý Šariš, Zaregistrována roku 2000. Je odolná proti polehání a vyvracení, má velmi dobrou rovnoměrnost dozrávání a je přizpůsobivá půdním a klimatickým podmínkám. Odrůda má velmi vysoký úrodní potenciál. Je to odrůda se středně ranou vegetační dobou (130 dní). Rostliny jsou středně vysoké až vysoké avšak odolné proti polehání a vyvracení. Barva semen je modrošedá, barevně dobře vyrovnaná. Obsah morfinu se pohybuje na úrovni 0,54%. Po stránce zdravotního stavu se jedná o dobrou odrůdu s dobrou odolností proti helmintosporióze na tobolkách. HTS je 0,55 g.

Marianne

Odrůda původem z Holandska. Obsah morfinu v sušině tobolek je 0,33 %.

Opál

Modrosemenná odrůda vyšlechtěná ve Výzkumné stanici Malý Šariš, zaregistrovaná v roce 1995. Je to středně raná odrůda (126 dní). Rostliny jsou středně vysoké (1,03 m) s dobrou odolností proti polehání a nežádoucímu otevírání tobolek. Dobrá odolnost proti

helmintosporióze a plísní makové. Odrůda poskytuje stabilní úrody a vysoký výnosový potenciál. Barva semen je modravá s dobrou barevnou vyrovnaností. HTS je 0,52 g. Obsah morfinu v sušině tobolek dosahuje 0,62 %. Obsah oleje v semeni je 48,3 %. Velmi dobrých výsledků v pěstování dosahuje tato odrůda v řepařské a bramborářské výrobní oblasti.

Opex

Tato odrůda byla zaregistrována v roce 2015 v České republice. Jedná se o modrosemennou odrůdu s dobrým a vyrovnaným výnosovým potenciálem. HTS je 0,51 g. Je určena jak k produkci semen k potravinářskému využití, tak i makoviny k farmaceutickým účelům. Rostliny jsou středně vysoké (1,09 m) a velmi odolné proti poléhání. Je to středně raná odrůda (126 dní). Dobrá odolnost zejména proti helmintosporióze. Výskyt otevřených tobolek do 1,1 %. Obsah morfinu v sušině tobolek je 0,79 %. Obsah oleje v semenech dosahuje až 48,21 %.

Orbis

Modrosemenná odrůda máku určená pro produkci semen k potravinářským účelům a makoviny k farmaceutickým účelům. Doba vegetace je 129 dní, průměrná výška rostlin dosahuje 108cm, HTS je 0,53 g. Obsah morfinu v sušině tobolek je 0,78%, obsah oleje v semenech dosahuje 46,60%.

Orfeus

Tato odrůda byla zaregistrována v roce 2009. Je to modrosemenná odrůda s dobrou barevnou vyrovnaností. Středně raná (126 dní) a středně vysoká (1,09 m). Semena jsou modravá s dobrou barevnou vyrovnaností. HTS je 0,47 g. Odolnost k helmintosporióze a plísní makové je střední. Dobrých a vyrovnaných výsledků dosahuje tato odrůda v řepařské a bramborářské oblasti. Obsah morfinu v sušině tobolek je nižší, dosahuje 0,40 %. Velmi nízký výskyt otevřených tobolek (do 0,5 %).

Postomi

1,65 % morfinu v sušině tobolek.

Sokol

Česká odrůda. Obsah morfinu dosahuje 0,69 % v sušině tobolek.

Tatranský

Modrosemenná odrůda s nízkým až středně vysokým obsahem morfinu (0,3 % morfinu v sušině tobolek). Je určena k produkci semene pro potravinářské účely a makoviny pro farmaceutický průmysl. Středně raná odrůda, rostliny jsou středně vysoké s dobrou odolností

proti poléhání. Nízký výskyt hled'áků. Obsah oleje v semeni je středně vysoký. Nemá žádná výrazná pěstitelská rizika.

Zeno

Rakouská modrosemenná, ozimá odrůda. Deklarovaná mrazuvzdornost do -15 °C. V našem pokusu sloužila odrůda Zeno jako srovnávací vzorek. Obsah morfinu v sušině tobolek dosahuje 0,22 %.

4.2. Založení pokusu

Rostliny vybraných genotypů máku byly vysety do nádob o velikosti 7,5x7,5cm jako pěstební medium byla zvolena směs zahradního substrátu A s křemičitým pískem v poměru 2:1. Pěstební substrát A se vyznačuje hodnotou půdní reakce pH 5,0 - 7,0. Obsah spalitelných látek v pěstebním substrátu A je min. 50 %, vlhkost max. 65 %, obsah částic nad 20 mm je max. 5 %, EC (elektrická vodivost) je max. 1,2 mS.cm⁻¹. Dále je substrát obohacen o živiny N (90-120mg l⁻¹), P₂O₅ (60-100 mg l⁻¹), K₂O (100-150 mg l⁻¹). Rostliny byly pěstovány v Řízených podmínkách klimaboxu Conviron E8. Před zahájením experimentu byla teplota ve dne 10 °C a v noci 5 °C. Světelný režim (fotoperioda) byl 13 hodin světla a 11 hodin tmy. Maximální hodnota ozáření byla 800 μmol. Experiment byl zahájen ve fázi přizemní růžice listů. V této vývojové fázi byly rostliny vystaveny mrazové teplotě (-5 °C) v noci a chladovým teplotám (10 °C) ve dne. Po týdnu byly rostliny regenerovány po dobu 1 týdne při 5 °C v noci a 10 °C ve dne.

4.3. Metodika měření obsahu antioxidantních a osmoprotektivních látek

Stanovení obsahu prolinu

Metodika vychází z práce Batese (1973). Od jednotlivých odrůd bylo odebráno množství 0,25 g listového pletiva, zbaveného středního žebra. Vzorek byl rozetřen ve třecí misce v 1 ml kyseliny sulfosalicylové. Po rozmělnění byly přidány zbylé 4 ml kyseliny a směs byla promíchána. Vzniklá směs byla následně přefiltrována přes filtrační papír v nálevce do zkumavky. Následně byla připravena reakční směs obsahující: 1 ml vzorku (filtrátu), 1 ml ninhydrinu, 1 ml koncentrované kyseliny octové. Reakční směs byla odměřena do zkumavek, které byly následně vloženy do Vortexu (třepačka) k promíchání. Po důkladném promíchání

(10 minut) byly zkumavky umístěny do vodní lázně (30 minut při 80 – 90 °C). Poté byly zchlazeny v ledové vodě. Do zchlazené směsi byly přidány 3 ml toluenu a opět byla směs důkladně promíchána. Následně byla směs odstavena, aby došlo k oddělení frakcí. Na spektrofotometru Helios gamma (Thermo Scientific) byla měřena absorbance horní vrstvy při 520 nm. Jako blank byl používán čistý toluen. Čistým toluenem byly mezi jednotlivými odběry vymývány kyvety. Naměřené hodnoty byly pomocí kalibrační křivky převedeny na jednotky $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

4.4. Relativní výtok elektrolytů (Rel %)

Stanovení relativního výtoku elektrolytů bylo prováděno na základě metodiky pokusů Camposa kol. (2003) s drobnými modifikacemi. Z různých částí listů byl odebrán soubor 5 terčičků o průměru 1,3 cm. Terčičky byly nejprve promývány destilovanou vodou po dobu 2 minut a poté ponechány 24 hodin ve skleněných zkumavkách (objem 10 ml) v 5 ml destilované vody. Po 24 hodinách byly zkumavky s terčičky 20 minut vystaveny varu ve vodní lázni, čímž bylo dosaženo maximálního poškození. Měření vodivosti roztoku roztoku bylo prováděno 24 hodin od odběru (Rel 1) a po 24 hodinách od dosažení maximálního poškození (Rel 2). Míra poškození (Rel %) byla na základě změny vodivosti roztoku vyjádřena procentuálně jako poměr Rel 1 / Rel 2. Měření bylo při každém termínu prováděno konduktometrem GRYF 106 L3 (GRYF HB spol. s.r.o., Česká Republika) na všech pokusných rostlinách, přičemž z každé rostliny byl pro přípravu souboru terčičků odebrán jeden intaktní nejvíce vyvinutý list.

5. Výsledky

V tabulce 2 jsou uvedeny hodnoty obsahu prolinu v závislosti na délce působení nízké teploty a následného umístění do kontrolních podmínek. Z uvedené tabulky též vyplývá vliv sledovaných odrůd máku na obsah prolinu v nadzemní biomase juvenilních rostlin.

Z uvedené tabulky je patrné, že na počátku pokusného období se obsah prolinu pohyboval v rozpětí hodnot $550 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ až $610 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Z naměřených hodnot dále vyplývá, že obsah prolinu byl v rámci jarních odrůd relativně vyrovnaný. Ze sledovaných odrůd měly vyšší obsah prolinu ozimá odrůda Zeno ($610 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) a z jarních odrůd odrůda Florián ($600 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Po navození působení nízké teploty se u jarních odrůd máku setého obsah prolinu postupně zvyšoval, kdy druhý den po navození stresu byl průměrný obsah prolinu ve výši $608,89 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

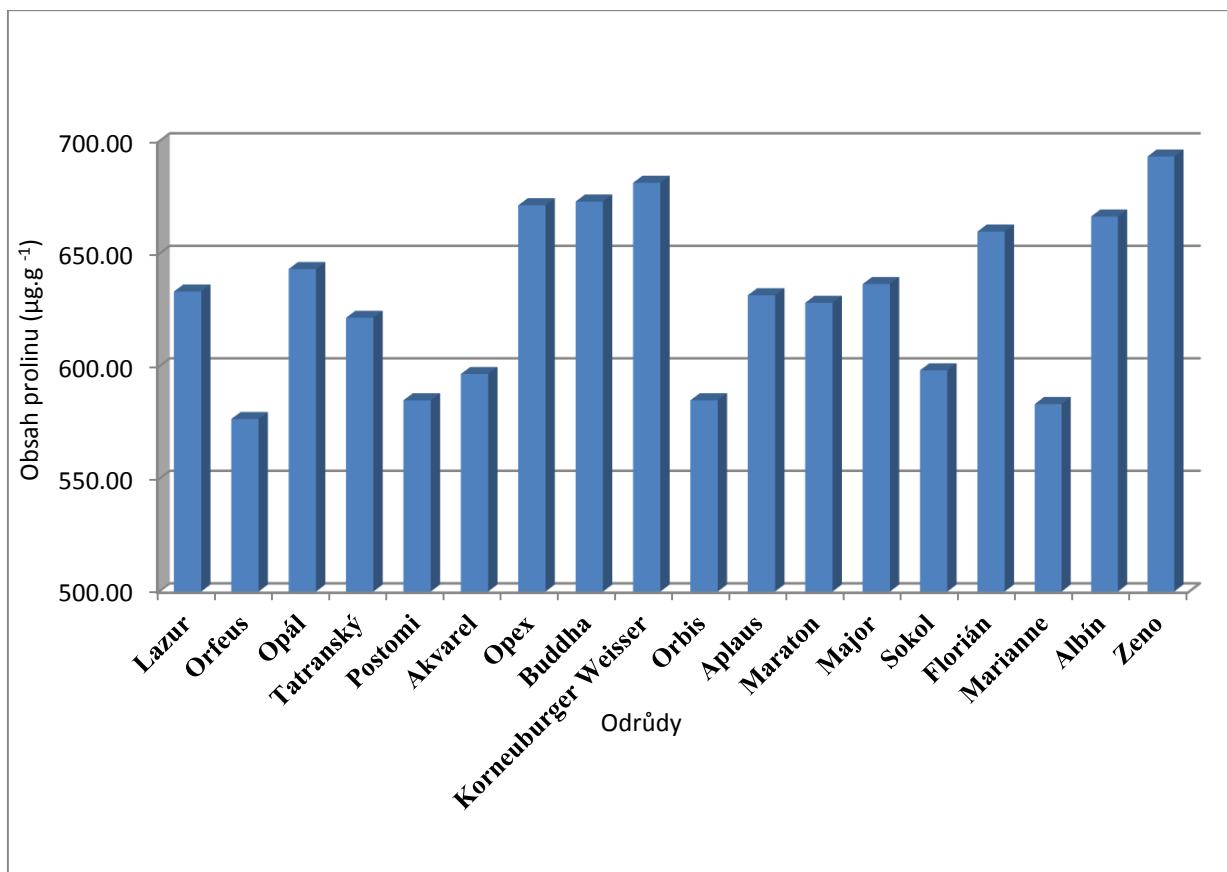
Ze sledovaných odrůd měla nejnižší obsah prolinu po navození stresu odrůda Tatranský ($570 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) a naopak nejvyšší odrůda Zeno ($670 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), přičemž jarní odrůdy Korneuburger Weisser a Major měly vyšší obsah prolinu než zbývající jarní odrůdy. U těchto dvou odrůd se obsah prolinu ($650 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) přibližoval k hodnotě odrůdy Zeno, jak dokládá tab. 2. V případě ozimé odrůdy Zeno se obsah prolinu zvýšil v porovnání s obdobím před zahájením pokusu o $60 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. U dvou jarních odrůd se obsah prolinu po navození stresu zvýšil u obou (Korneuburger Weisser a Major) také o $60 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

Trend zvyšování obsahu prolinu byl zaznamenán u všech sledovaných odrůd až do konce působení nízké teploty ($-5 \text{ }^\circ\text{C}$). Po 7 dnech stresu byla hladina prolinu v nadzemní biomase juvenilních rostlin máku, jarních odrůd, v intervalu hodnot od $580 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ u odrůd Orbis, Postomi a Orfeus až $700 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, v případě odrůdy Opex. U ozimé odrůdy máku Zeno byl obsah prolinu ve výši $710 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, přičemž průměrný obsah prolinu stanovený ze všech měření byl u této odrůdy $693,33 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

Obsah prolinu ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)							
Odrůda	0. den	2. den	4. den	7. den	9. den	11. den	Průměr
Lazur	570	620	690	670	630	620	633,33
Orfeus	580	580	570	580	570	580	576,67
Opál	570	640	700	670	650	630	643,33
Tatranský	550	570	580	630	690	710	621,67
Postomi	570	590	590	580	590	590	585,00
Akvarel	580	600	600	600	600	600	596,67
Opex	590	590	630	700	740	780	671,67
Buddha	590	640	680	690	730	710	673,33
Korneuburger Weisser	590	650	700	700	730	720	681,67
Orbis	580	590	590	580	580	590	585,00
Aplaus	560	590	630	650	690	670	631,67
Maraton	560	580	590	630	680	730	628,33
Major	590	650	700	650	620	610	636,67
Sokol	550	610	650	610	590	580	598,33
Florián	600	610	620	670	710	750	660,00
Marianne	580	580	580	590	580	590	583,33
Albín	590	600	620	690	720	780	666,67
Zeno	610	670	700	710	740	730	693,33

Tabulka 2: Změny obsahu prolinu ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) v závislosti na délce působení stresu a odrůdě

Z tabulky 2 je dále patrné, že po přenesení rostlin do vyšších teplot bylo u části odrůd zaznamenáno až do konce pokusu postupné snížení obsahu prolinu. Nejvýraznější pokles obsahu prolinu v kontrolních podmínkách byl zaznamenán u odrůd Buddha, Opál a Aplaus, kde rozdíl činil $20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Na straně druhé vykazovaly některé odrůdy nárůst obsahu prolinu, jedná se např. o odrůdy Orfeus, Tatranský, Opex, Orbis, Maraton, Florián, Marianne a Albín. Nejvýraznější nárůst obsahu prolinu mezi 5. a 6. odběrem byl pozorován u odrůdy Albín ($60 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) a nejnižší nárůst byl $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ u odrůd Orfeus, Orbis, Marianne. Po přenesení rostlin do kontrolních regeneračních podmínek byl obsah prolinu nejnižší u odrůdy Orfeus ($570 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) a naopak nejvyšší u odrůd Opex a Zeno ($740 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Na konci pokusu byl obsah prolinu v rozpětí od $580 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Orfeus) do $780 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Opex a Albín).



Graf 4: Průměrný obsah prolinu (µg.g⁻¹) jednotlivých odrůd máku setého.

Z grafu 4 vyplývá vliv odrůdy na obsah prolinu. Obsah prolinu se u sledovaných jarních odrůd pohyboval v rozpětí od 576,67 µg.g⁻¹(Orfeus) do 681,67 µg.g⁻¹(Korneuburger Weisser). Ze sledovaných odrůd měla nejvyšší obsah prolinu odrůda Zeno (693,33 µg.g⁻¹). Jedná se o ozimou odrůdu, a proto je možné konstatovat, že tato zvýšená hladina prolinu souvisí s odolností vůči nízké teplotě. U jarních odrůd máku byl v porovnání s odrůdou Zeno nižší obsah prolinu, jak dokládá graf 4.

V tabulce 3 jsou uvedeny hodnoty relativního výtoku elektrolytů (Rel %) v závislosti na délce působení nízké teploty a následného umístění do kontrolních podmínek. Z uvedené tabulky též vyplývá vliv sledovaných odrůd máku na hodnotu relativního výtoku elektrolytů (Rel %)

Z uvedené tabulky vyplývá, že na počátku pokusného období se relativní výtok elektrolytů pohyboval v rozpětí hodnot 19,46 až 29,12 %. Z hodnot v tabulce vyplývá, že relativní výtok elektrolytů byl v rámci jarních odrůd poměrně vyrovnaný. Ze sledovaných odrůd dosáhla nejnižší průměrné hodnoty relativního výtoku elektrolytů ozimá odrůda Zeno (23,52 %) a z jarních odrůd bělosemenná odrůda Korneuburger Weisser (44,88 %).

Po navození působení nízké teploty se u všech odrůd máku setého hodnota relativního výtoku elektrolytů zvyšovala, přičemž druhý den po vystavení stresu byl průměrný obsah prolinu ve výši 44,94 %.

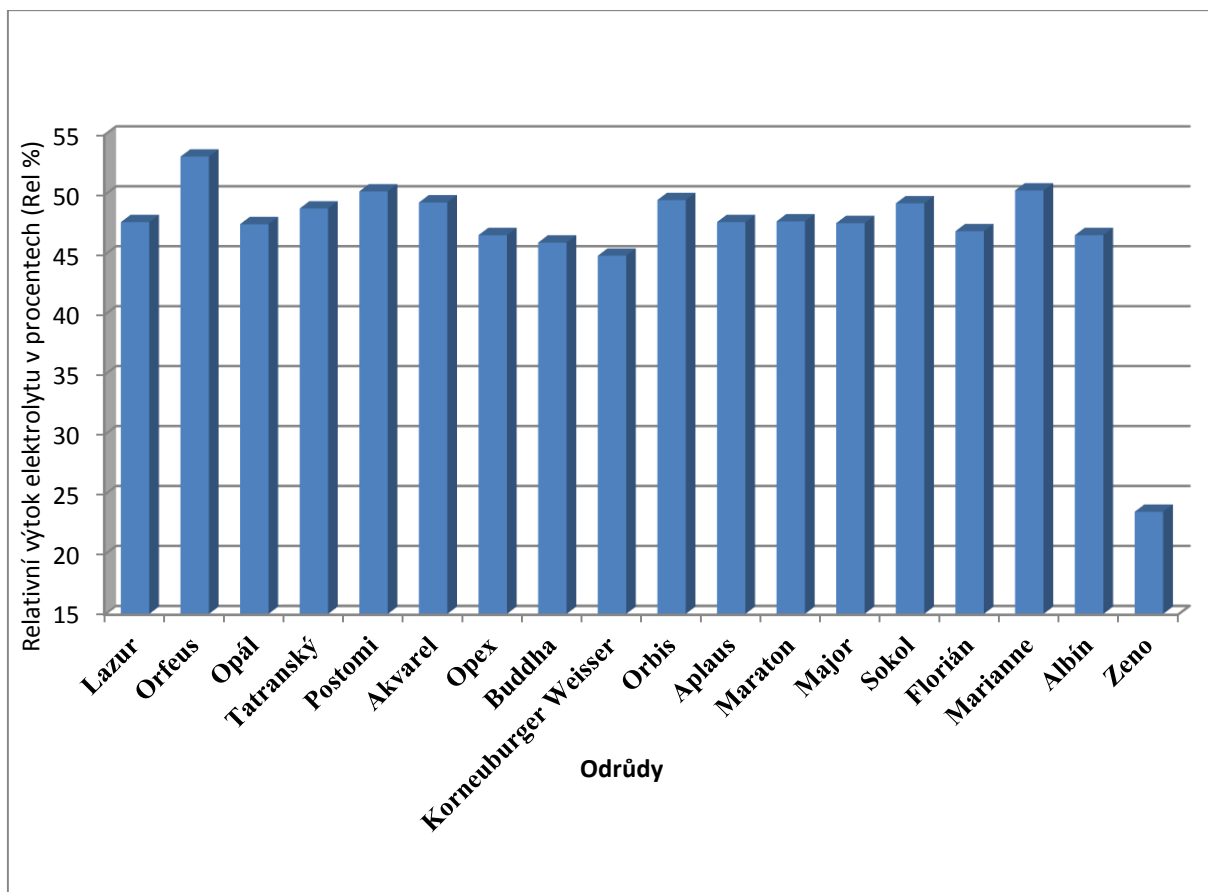
Ze sledovaných jarních odrůd měla nejvyšší hodnotu relativního výtoku elektrolytů po navození stresu odrůda Orbis (53,33 %) a naopak nejnižší hodnotu odrůda Zeno (27,15 %), přičemž z jarních odrůd odrůda Opál (39,67 %), jak dokládá tab. 3. U ozimé odrůdy Zeno se hodnota relativního výtoku elektrolytů zvýšila v porovnání s obdobím před zahájením pokusu o 7,69 %. U jarní odrůdy Opál se hodnota zvýšil a o 13,01 %.

Vzestupná tendence u hodnot byla dále pozorována až do doby, než byly rostliny umístěny do kontrolovaných podmínek k regeneraci. Po 7 dnech vystavení stresu byla hladina relativního výtoku elektrolytů jarních odrůd, v intervalu hodnot 47,98 až 75,08 %. U ozimé odrůdy máku Zeno byla hodnota relativního výtoku elektrolytů ve výši 23,99 %, přičemž průměrný obsah prolinu byl u odrůdy Zeno 23,52 %.

Relativní výtok elektrolytů (%)							
Odrůda	0. den	2. den	4. den	7. den	9. den	11. den	Průměr (%)
Lazur	24,63	42,87	45,68	64,58	53,57	54,81	47,69
Orfeus	21,34	42,90	54,67	75,08	66,18	58,74	53,15
Opál	26,66	39,67	56,16	61,09	50,97	50,54	47,52
Tatranský	22,91	49,40	54,24	58,33	55,26	52,80	48,82
Postomi	28,21	44,18	58,21	63,34	56,28	51,28	50,25
Akvarel	24,47	45,17	56,37	59,52	59,24	51,21	49,33
Opex	23,93	46,44	50,69	51,61	59,84	47,09	46,60
Budha	25,84	44,13	45,92	56,79	52,68	50,51	45,98
Korneuburger Weisser	28,71	47,51	47,81	47,98	51,94	45,34	44,88
Orbis	29,12	53,33	52,90	51,10	59,81	50,90	49,53
Aplaus	22,14	48,42	50,75	61,53	55,97	47,33	47,69
Maraton	27,87	43,56	54,12	58,45	52,16	50,34	47,75
Major	24,25	48,11	48,77	53,72	56,34	54,43	47,60
Sokol	28,79	48,70	50,41	59,02	57,44	51,18	49,26
Florián	23,61	44,96	51,92	56,24	54,19	50,65	46,93
Marianne	22,11	42,64	56,38	59,15	63,00	58,67	50,33
Albín	22,95	49,77	47,77	57,40	52,24	49,48	46,60
Zeno	19,46	27,15	23,07	23,99	24,31	23,16	23,52

Tabulka 3 - Relativní výtok elektrolytů

Po přenesení rostlin do vyšších teplot bylo u většiny odrůd zaznamenáno až do konce pokusu postupné snížení relativního výtoku elektrolytů (Rel %). Nejvýraznější pokles relativního výtoku elektrolytů v kontrolních podmínkách byl zaznamenán u odrůdy Opex, kde rozdíl činil 12,75 %. Na straně druhé vykazovala odrůda Lazur nárůst hodnoty relativního výtoku elektrolytů o 1,24 %, viz tab. 3.



Graf 5: Průměrná hodnota relativního výtoku elektrolytů u jednotlivých odrůd máku setého

Z grafu 5 vyplývá vliv odrůdy na relativní výtok elektrolytu. Hodnota Rel % se u sledovaných jarních odrůd pohybovala v rozpětí hodnot od 44,88 % (Korneuburger Weisser) do 53,15 % (Orfeus). Ze sledovaných odrůd měla nejnižší hodnotu relativního výtoku elektrolytů odrůda Zeno (23,52 %). Jelikož Zeno je ozimá odrůda, tak je možné konstatovat, že tato nízká hladina relativního výtoku elektrolytů souvisí s odolností vůči nízkým teplotám. U jarních odrůd máku byl v porovnání s odrůdou Zeno nižší obsah prolinu, jak dokládá graf 5.

6. Diskuze

6.1. Prolin

V našem pokusu bylo záměrem vystavovat rostliny stresovým podmínkám v podobě nízkých teplot a sledovat dopad na koncentraci prolinu a relativní výtok elektrolytů. Jelikož prolin patří mezi tzv. kryoprotektanty je logické, že zvýšení jeho koncentrace bude důsledek vlivu stresu, v tomto případě mrazovou teplotou. Zvýšením koncentrace prolinu zvyšuje rostlina odolnost svých buněk proti mrazu. Withers a King (1979) svým výzkumem kryoprezervace buněk rostlin kukuřice seté (*Zea mays* L.) dokázali, že prolin je efektivní kryoprotektant, kdy zkoumané buňky ošetřené prolinem, které byly následně vystaveny mrazovým teplotám, dosahovaly lepší regenerace a životaschopnosti než buňky ošetřené například dimethylsulfoxidem, glycerolem nebo neošetřené. Mechanismus účinku funguje pravděpodobně na principu ochrany buňky proti dehydrataci během mrznutí. Podobné výsledky uvádí Bhjowani a Razdan (1996).

Z výsledků pokusů s juvenilními rostlinami máku vyplývá, že hodnoty prolinu byly zvýšeny poté, co byly rostliny vystaveny mrazovým teplotám a to u všech sledovaných rostlin. Nejvyšších hodnot, koncentrace prolinu, dosáhla ozimá odrůda Zeno $693,33 \text{ mg.g}^{-1}$, což souhlasí s hypotézami o funkci prolinu v obranném mechanismu u rostlin vůči mrazu.

Uvedené závěry potvrzují, že po následném přenesení rostlin do vyšší teploty se u většiny rostlin snížila hodnota prolinu. Nejvýraznější pokles obsahu prolinu byl zaznamenán u odrůd Buddha, Opál a Aplaus, kde rozdíl činil $20 \mu\text{g.g}^{-1}$. Naopak odrůdy Orfeus, Tatranský, Opex, Orbis, Maraton, Florián, Marianne a Albín vykazovaly nárůst obsahu prolinu. Nejvýraznější nárůst byl pozorován, po přenesení do vyšší teploty, u odrůdy Albín ($60\mu\text{g.g}^{-1}$). Mezi odrůdy s nejnižším nárůstem ($10\mu\text{g.g}^{-1}$) patří Orfeus, Orbis a Marianne. Na konci experimentu byly u sledovaných odrůd naměřeny hodnoty obsahu prolinu v rozmezí od $580 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Orfeus) do $780\mu\text{g.g}^{-1}$ (Opex a Albín). Nejvyšších hodnot koncentrace prolinu dosáhla ozimá odrůda Zeno ($693,33 \text{ mg. g}^{-1}$) což je v souladu s hypotézami o funkci prolinu v obranném mechanismu u rostlin vůči mrazu. Jarní odrůda s nejvyšší hodnotou koncentrace prolinu byla Korneuburger Weisser ($681,67 \text{ mg. g}^{-1}$).

6.2. Relativní výtok elektrolytů (Rel %)

Působením nízké teploty na rostliny dochází také k poškození cytoplazmatické membrány, které se projevuje zvýšeným výtokem elektrolytů. Uvedený závěr potvrzují práce např. Whitlow a kol. (1992).

Prášil a Zámečník v roce 1998 zaměřili svůj výzkum na tři kontrastní odrůdy řepky (*Brassica napus* L.) kdy pěstovali v řízených podmínkách ($20/15 \pm 1^\circ\text{C}$ den/noc, fotoperioda 12 h, světelná intenzita $400 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) po dobu 4 týdnů, tj. do stádia čtvrtého listu (BBCH14). Následně byly rostliny otužovány za teploty $4 \pm 1^\circ\text{C}$, při stejné světelné intenzitě a fotoperiodě, po dobu dalších 4 týdnů. Rostliny byly přihnojovány vícesložkovým hnojivem ve čtrnáctidenních intervalech. Před započítáním otužování (den 0), v růstové fázi BBCH18-19 (5. – 6. pravý list) a na konci chladového působení (den 28) byly odebrány vzorky v pěti technických a dvou biologických opakováních. Aktuální mrazuvzdornost byla měřena po ukončení chladové periody (den 28) pomocí metody mrazově podmíněného výtoku elektrolytů z terčiků u nejmladších plně vyvinutých listů v teplotním rozmezí -3 až -30°C (přímý mrazový test). Výsledky konduktometrického stanovení zpracovali ve výpočetním programu LT 50 (median lethal temperature). Bylo potvrzeno, že s rostoucí délkou expozice rostlin nízkým teplotám se zvyšovala záporná hodnota osmotického potenciálu. Ukázalo se, že reakce rostlin byly podmíněny zejména proveniencí genotypu a po reaklimaci rostliny dosáhly původních hodnot, jaké byly před zahájením otužování.

Během našeho pokusu, kdy docházelo k měření v dvoudenních intervalech, jsme používali k měření relativního výtoku elektrolytů (Rel %) tzv. konduktometrickou metodu. Měření bylo prováděno konduktometrem GRYF 106 L3 (GRYF HBspol s.r.o., Česká Republika). Nejnižších hodnot relativního výtoku elektrolytů dosáhla opět ozimá odrůda Zeno 23,52 Rel %. Z jarních odrůd dosáhla nejlepších výsledků bělosemenná odrůda Korneuburger Weisser s 44,88 Rel %. Nejvyšší hodnoty výtoku elektrolytu dosáhla odrůda Orfeus 53,15 (Rel %), která měla zároveň nejnižší průměrnou hodnotu koncentrace prolinu ($576,67 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$). Po vystavení rostlin stresu se u všech testovaných odrůd zvedla hodnota relativního výtoku elektrolytů. Obdobných výsledků dosáhl Wang a kol., (2012) u rostlin papriky.

Wang a kol., (2012) odrůdy, které nebyly ošetřeny, měly vyšší hodnoty relativního výtoku elektrolytů, po vystavení nízkým teplotám, v porovnání s odrůdami, které byly ošetřeny. Podobných výsledků jsme dosáhli my kdy u některých rostlin (Zeno, Korneuburger Weisser), které měly vyšší hladinu prolinu, byla zároveň sledována nižší hodnota relativního výtoku elektrolytů v porovnání se sledovanými odrůdami, u kterých byla naměřena nižší koncentrace

prolinu (Orfeus, Postomi, Marianne). Podobných výsledků dosáhl Liu a kol., (2013) u paprik. Náš experiment probíhal 14 dní, přičemž z výsledků Wanga a kol., (2012) vyplývá, že se působení nízkých teplot na rostliny nejvíce projevuje po 20 dnech.

Projev působení nízké teploty se u nás neprojevil tak výrazně jako u Wanga a kol., (2012) neboť v případě máku byl sledován vliv nízké teploty po dobu 7 dnu, zatímco Wanga a kol., (2012) měl dlouhodobý vliv nízké teploty po dobu 20 dnů.

Vliv genotypu se podařilo prokázat, kdy ozimá odrůda Zeno, u které je garantována mrazuvzdornost do $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, vykazovala nejvyšší hodnoty naměřeného prolinu a následně nejnižší hodnoty relativního výtoku elektrolytů (Rel %).

7. Závěr

Cílem práce bylo v kontrolovaných podmínkách provést experiment a následně popsat jednotlivé odrůdy máku (*Papaver somniferum* L.) a zmapovat jejich fyziologické reakce na nízké teploty.

- Vlivem působení nízké teploty dochází u jarních odrůd máku ke zvýšení hladiny prolinu.
- Ozimá odrůda Zeno vykazuje stabilně vysoký obsah prolinu ($693,33 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) v porovnání s jarními odrůdami máku.
- Po regeneraci dochází u těchto odrůd jarního máku ke snížení obsahu prolinu, vlivem působení vyšší teploty: Lazur, Opál, Buddha, Korneuburger Weisser, Aplaus, Major, Sokol, Zeno
- U odrůd Orfeus, Tatranský, Opex, Orbis, Maraton, Florián, Marianne, Albín bylo naopak zaznamenáno zvýšení obsahu prolinu.
- Odrůdy Postomi a Akvarel beze změny hodnoty obsahu prolinu
- Rel% se zvyšoval s délkou působení nízké teploty na sledované odrůdy máku.
- Nejnižší průměrné poškození membrány bylo po působení nízké teploty zaznamenáno u odrůdy Zeno (23,52 %).
- V případě jarních odrůd nejvyšší poškození membrány bylo stanoveno u odrůdy Korneuburger Weisser (44,88 %) a naopak nejvyšší u odrůdy Orfeus (53,15 %).
- Byla prokázána rozdílná reakce sledovaných odrůd máku na nízkou teplotu.
- Na nízkou teplotu citlivěji reagují např. tyto jarní odrůdy máku: Orfeus, Postomi, Akvarel, Orbis, Sokol, Marianne.
- Jako méně citlivé na stres způsobený nízkou teplotou se jeví jarní odrůdy máku: Opex, Buddha, Korneuburger Weisser, Albín, Zeno.

8. Seznam použité literatury

- Akula, R., Ravishankar, G. A. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling and behavior*. 2011 (6). s 1720-1731.
- Baranyk, P., Balík, J., Hájková, M., Havel, J., Kazda, J. 2010. *Olejniny*. ProfiPress s.r.o. Praha. 206 s. ISBN: 978-80-86726-38-0.
- Bates, L. S., Waldren R. P., Teare I. D. 1973. Rapid determinativ of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*.39. s 205-207
- Bechyně, M. 1993. *Základy pěstování máku*. Institut výchovy a vzdělávání zemědělství ČR v Praze. Praha. 36 s. ISBN: 80-7105-037-7.
- Bechyně, M. – Kadlec, T. – Vašák, J. 2001. *Mák*. Praha. Agrospoj. 127 s. ISBN 80-239-4237-9.
- Benda, M. Nový islandský premiér nevidí pro vstup do EU důvod [online]. Euractiv. 27. července 2006 [cit. 2007-10-18]. Dostupné z <<http://www.euractiv.cz/cl/34/2914/Novy-islandsky-premier-nevidi-pro-vstup-do-EU-duvod>>.
- Blaschek, W., Ebel, S., Hilgenfeldt, U., Holzgrabe, U., Reichling, J., et al. 2008. *HagersEnzyklopädie der Arzneistoffeund Drogen*. Stuttgart Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH. 20 000 s. ISBN 978-3804723849
- Campos, J., Huertas, F., Colado, J.C., Lopez, A.L., Pablos, C., Pablos, A. 2003. Efectos de un programa de ejercicio fisicosobre el bienestarpsicologico de mujeres mayores de 55 anos. *Revista de psicologiadel deporte*. 2003 (12). strany 7-23.
- Cihlár, P., Vašák, J. Ochrana proti plevelům v porostech máku setého [online]. *Úroda*. 9. března 2001 [14.2.2016]. Dostupné z <<http://uroda.cz/ochrana-proti-plevelum-v-porostech-maku-seteho/>>.
- Cihlár, P., Vašák, J., Kosek, Z., 2003. Technologie máku setého pro dvoutunové výnosy. In: Bechyně, M., Vincenc, J.(Ed.) *Řepka, Mák, Hořčice 2003.. Praha*.19. 2. 2003. s 134-141
- Enspyro, Encyklopedie psychotropních rostlin [online]. EnspyroBiotox. 2006 [cit. 2.3.2016]. Dostupné z <<http://www.biotox.cz/enpsyro/pj3rpas.html>>

Evropský parlament. Směrnice Evropského parlamentu a Rady 98/34/ES., *Úřední věstník L 204*, 21/07/1998 S. 0037 - 0048[online]. EUR-Lex. 21.7.1998. [cit. 2016-3-13]. Dostupné z <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:31998L0034>>

Fábry, A. a kol. 1992. Olejniny. Praha. Mze ČR. 420 s. ISBN 80-7084-043-9.

Hasselt van P. R., Wijk van C., K. 1997 Plant-Breeding and Seed Science. 1997, 41.

Hincha, D. K. 2002. Cryoprotectin: a plant lipid-transfer protein homolog that stabilizes membranes during freezing. *Londýn. Philosophical transactions of the Royal Society of London. Biological sciences*, 357, 909–16.

Christie, P., J., Alfenito, M., R., Walbot, V. 1994. Impact of low-temperature stress on general fenyl propanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. *Planta*. 1994. s 541–549.

Chin, Ko-lin., 2009. Golden Triangle: Inside Southeast Asia's Drug Trade. Cornell University Press. 294 s. ISBN 9780801446665

Jirásek, V., Starý, F. 1986. Kapesní atlas léčivých rostlin. Státní pedagogické nakladatelství. Praha. 319 s.

Kazda, J. 2014. Škůdci polních plodin. ProfiPress, s.r.o, Praha. 108. ISBN 978-80-86726-61-8.

Kubánek, V. 2008. Konopí a mák (pěstování, výroby, legislativa). Tribun EU. Brno. 152 s. ISBN 978-80-7399-438-9.

Kuhn, V. 1936. Mák jako olejnina a rostlina narkotická. Praha. Novina, 127 s.

Larcher, W. 2001. Physiological Plant Ecology. Springer. Innsbruck. 461 s. ISBN: 3-540-43516-6.

Levitt, J. 1980. Response of plants to environmental stresses. Volume II. Water, radiation, salt, and other stresses. Academic Press. Hardcover. 607 s. ISBN: 0-12-445502-6

Liu, D., Sui, G., He, Y., Liu, J., Qin, W. 2013. Effect of temperature and spermidine on chilling sensitivity of pepper. *Food and nutrition sciences*. 156-162 s.

Lošák, T., Richter, R. Split nitrogendoses and their efficiency in poppy (*Papaver somniferum* L.) nutritio [online]. *Plant Soil and Environment*. listopad 2004 [16.3.2016]. Dostupné z <http://apps.webofknowledge.com.infozdroje.czu.cz/full_record.do?product=UA&search_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=P1Q5YSPmHJMa5JJtv4f&page=1&doc=5>.

Marečková, J., Orlíková, B., Minařík, J., Koryntová, G., Justinová, J., Kubů, J. 2007. *Drogy: otázky a odpovědi*. Portál s.r.o. Praha. 198 s. ISBN 978-80-7367-223-2

Mikulka, J. 2014. *Plevele polních plodin*. ProfiPress, s.r.o. Praha. 179 s. ISBN 978-80-86726-60-1.

Ministerstvo zemědělství. Nařízení vlády č. 262/2012 Sb., o stanovení zranitelných oblastí a akčním programu Příl. 3 [online]. eAgri. 2012 [cit. 2016-3-24]. Dostupné z <<http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/100689891.html>>.

Muška, F. Nejvýznamnější škůdci máku setého [online]. Asociace soukromého zemědělství ČR. 14. října 2007 [2. 4. 2016]. Dostupné z <<http://www.asz.cz/cs/odborne-clanky-a-analyzy/nejvyznamnejsi-skudci-maku-seteho.html>>.

Novák, J. 2007. *Jedovaté rostliny kolem nás*. Grada Publishing a.s. Praha. 176 s. ISBN 978-80-247-1549-0.

Nožina, M. 2001. *Cesty za opiem*. Nakladatelství Lidové noviny. Praha. 259 s. ISBN 80-7106-534-X

Özcan, M., M., Atalay, C. Determination of seed and oil properties of some poppy (*Papaver somniferum* L.) varieties. *Grasas y aceites*. Sevilla. 2006, vol. 57, No. 2, p. 169-174. ISSN: 0017-3495.

Pedranzani, H., Sierra-de-Grado, R., Vigliocco, A., Miersch, O., Abdala G. 2003. Cold and water stresses produce changes in endogenous jasmonates in twopopulationsofPinuspinasterAit.*PlantGrowthRegul.*2003 (52). s 111–116.

Potměšilová, J. Mák – neuvěřitelný vzestup, velký pád [online]. *Úroda*. 11. ledna 2013 [18. 2. 2016]. Dostupné z <<http://zemedelec.cz/mak-neuveritelny-vzestup-velky-pad-2/>>.

- Prášil, I., Zámečník, J., 1998. The use of a conductivity measurement method for assessing freezing injury. I. Influence of leakage time, segment number, size and shape in a sample on evaluation of the degree of injury. Elsevier. 1998 (40). s 1–10.
- Procházka, P., Smutka, L. Czech Republic as an Important Producer of Poppy Seed. *Agris On-Line Papers in Economics & Informatics*. 2012. (4). s 13-47. ISSN 18041930.
- Prokinová, E. 2014. *Choroby polních plodin*. ProfiPress, s.r.o. Praha. 90 s. ISBN 978-80-86726-59-5.
- Rätsch, Ch. 2008. *Psychoaktivní rostliny*. Fontána. Olomouc. 288 s. ISBN 978-80-7336-625-4
- Sladký, J. 2006. Terijak znamená perský opium. *Votobia*. Olomouc. 197 s. ISBN 80-7220-257-X
- Škarpa, P., Richter, R., Lošák, T. Výživa a hnojení potravinářského máku [online]. *Úroda*. 11. ledna 2013 [5. 3. 2016]. Dostupné z <<http://zemedelec.cz/vyziva-a-hnojeni-potravinarskeho-maku-2/>>.
- Vašák, J. a kol. 2010. *Mák*. Praha. Powerprint s.r.o. 352 s. ISBN 978-80-904011-8-1
- Vlašný, P. Ochrana máku s přípravky firmy Dow Agrosiences [online]. Sborník z konference „Prosperující olejniny“. 7. prosince 2012 [13. 2. 2016]. Dostupné z <http://konference.agrobiologie.cz/2012-12-06/50-Vlazny_OCHRANA_MAKU_S_PRIpravKY_FIRMY_DOW_AGROSCIENCES.pdf>.
- Voškeruška, J. a kol. 1965. *Pěstování olejnin v ČSSR*. Státní Zemědělské Nakladatelství. Praha. 327 s.
- Taiz, L. Zeiger, E. 2006. *Plant physiology*. Sinauer. Associates Sunderland. 782 s. ISBN: 978-08-7893-866-7
- Thomashow, M. 1998. Role of cold-responsive genes in plant freezing tolerance. *Plant Physiology*, 1998 118. s 1-16.
- Wang, W., Vinocur, B., & Altman, A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *E pub. Planta*, 218s.

Wang, Q., Ding, T., Gao, L., Pang, J., Yang, N. 2012. Effect of brassinolide on shilling Indry of green bell pepper in storage. *Scientia Horticulturae*, China, 200 s.

Winfield, O., M., Lu, C., Wilson, I., D., Coghill, J., A., Edwards, K., J. 2010. Plant responses to cold: transcriptome analysis of wheat. *Plant Biotechnology Journal*. 8(7): 749–771.

Whitlow, T., H., Bassuk, N., L., Ranney, T., G., Reichert, D., L. An Improved Method for Using Electrolyte Leakage to Assess Membrane Competence in Plant Tissues. *Plant Physiology*. 1992 (98). s 198-205.