



**Hodnocení morfologických a chemických znaků
genetických zdrojů ostropestřce mariánského [*Silybum
marianum* (L.) Gaertn.]**

Disertační práce

Vedoucí práce:
prof. Ing. Miroslav Jůzl, CSc.

Vypracovala:
Ing. Pavla Kolářková

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Hodnocení morfologických a chemických znaků genetických zdrojů ostropestřce mariánského [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnici o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....

podpis

PODĚKOVÁNÍ

Nyní bych ráda připomenula a projevila velký dík těmto odborníkům a specialistům v dané problematice, kteří se podíleli na zkvalitnění této disertační práce:

Srdečně děkuji svým školitelům panu prof. Ing. Miroslavu Jůzlovi, CSc. a obzvláště paní Ing. Gabriele Olšanské, Ph.D. za její odbornou pomoc, cenné rady, výtečné nápady a veškerou podporu nejen při řešení zadané problematiky, dále za vždy ochotné jednání a předání hodnotných znalostí a zkušeností, které jistě zúročím i v mé budoucí životní dráze.

Poděkování patří také pracovníkům Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i., Oddělení genové banky, Centra pro aplikovaný výzkum zelenin a speciálních plodin, pracoviště Olomouc, jmenovitě pak paní Ing. Eleně Duškové za perfektní spolupráci, poskytnutí pokusných ploch a dobrého zázemí.

Mé díky přísluší i kolegyním z Ústavu pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství (AF) zejména paní Ing. Elišce Šišperové, Ph.D. za posilu při měření části biochemických znaků, dále paní doc. Ing. Ivaně Šafránkové, Ph.D. za pomoc při vyhodnocování zdravotního stavu rostlin.

Zvláštní poděkování náleží i mé rodině za asistenci při pokusech a veškerou nepostradatelnou podporu při doktorském studiu, dále přátelům a známým, kteří mě permanentně podněcovali ke zdárnému sepsání disertační práce.

Zpracovaná disertační práce byla finančně podpořena z prostředků specifického vysokoškolského výzkumu prostřednictvím projektu IGA AF IP 20/2013 MENDELU a OPVK - CZ.1.07/2.4.00 /31.0025 „BioNetwork“.

ABSTRAKT

Hodnocení morfologických a chemických znaků genetických zdrojů ostropestřce mariánského [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.]

Cílem práce bylo ověření diskriminační schopnosti klasifikátoru (schválená minimální sada deskriptorů) ostropestřce mariánského [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] u 15 genetických zdrojů (GZ) v polních podmínkách, na dvou lokalitách, v letech 2013 – 2014. Zkoumal se vliv genetického zdroje, lokality a ročníku na morfologické, biologické a hospodářské znaky. GZ se v některých znacích průkazně lišily. Stabilním znakem na lokalitě a v letech, prokazujícím významnost GZ, je obsah isosilibininu A. Korelace ukázala pozitivní silnou závislost, negativní silnou závislost a znaky nesoucí unikátní informaci. GZ byly rozděleny podle bodového hodnocení v dendrogramech do 3 hlavních skupin. Patogeni se vyskytli na obou stanovištích a v obou letech. Všechny hodnocené genetické zdroje splňují požadavky Evropského lékopisu na obsah silymarinu (min. 1,5 %), obsah oleje u tří GZ přesáhnul 25 %, s obsahem kyseliny linolové vyšší než 55 %. Nově byla v polních podmínkách aplikována obrazová analýza na ostropestřci. Obsah oleje a mastných kyselin byl poprvé měřen metodou FT – NIR. Minimální sada deskriptorů rozlišila zkoumané genetické zdroje a klasifikátor má diskriminační schopnosti v popsanych znacích.

Klíčová slova: ostropestřec mariánský, genetický zdroj, minimální sada deskriptorů, obrazová analýza, FT – NIR analýza

ABSTRACT

Evaluation of morphological and chemical features of genetic sources of milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.]

The aim of this work was the verification of discriminant capacities of the classifier (approved minimum set of descriptors) for milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] at 15 genetic sources (GS) in field conditions in two localities during the years 2013 – 2014. The influence of the genetic source, the locality and the year on morphological, biological and yield features was studied. GS significantly differs at some features. Isosilibinine A content is a stable feature at the locality and in the years; it proves the significance of GS. The correlation showed strong positive dependence, strong negative dependence and the features that indicate unique information. GS were divided into 3 main clusters according to the scoring in the dendrograms. The pathogens were present in both years and at both localities. All evaluated GS fulfilled the qualitative requirements of European Pharmacopoeia for minimal content of silymarin (min. 1.5 %); the oil content was more than 25 % for 3 GS, with the content of linoleic acid higher than 55 %. New method of image analysis was applied for milk thistle in field conditions. The oil and fatty acids content were measured by the FT – NIR method for the first time. The minimal set of the descriptors has distinguished investigated genetic sources and the classifier has the discriminant capacities in given characteristics.

Key words: milk thistle, genetic source, minimal set of descriptors, image analyses, FT – NIR analysis

1 SEZNAM ZKRATEK

ČHMÚ – Český hydrometeorologický ústav

EVIGEZ – Evidence genetických zdrojů rostlin v ČR

FT – NIR – Spektroskopie v blízké infračervené oblasti s Fourierovou transformací

GZ – Genetický zdroj

GZR – Genetický zdroj rostlin

HPLC – Vysokoučinná kapalinová chromatografie (high-performance liquid chromatography)

HTS – Hmotnost tisíce semen

HVLP – Hromadně vyráběný léčivý přípravek

LAKR – Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny

MK – Mastná kyselina

OA – Obrazová analýza

OP – Ochrana práv

PELERO CZ o.s. – Sdružení pěstitelů a zpracovatelů léčivých, aromatických a kořeninových rostlin

PUFA – Polynenasycené mastné kyseliny

REG – Registrace

SÚKL – Státní ústav pro kontrolu léčiv

UPOV – Mezinárodní unie na ochranu práv k novým odrudám rostlin

ÚKZÚZ – Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

VÚRV, v.v.i. – Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

OBSAH

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | SEZNAM ZKRATEK..... | 6 |
| 2 | ÚVOD..... | 11 |
| 3 | CÍL PRÁCE..... | 14 |
| 4 | LITERÁRNÍ PŘEHLED..... | 15 |
| 4.1 | Ostropestřec mariánský [<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.]..... | 15 |
| 4.1.1 | Původ..... | 15 |
| 4.1.2 | Botanická charakteristika..... | 15 |
| 4.1.3 | Obsahové látky..... | 16 |
| 4.1.4 | Využití a účinky..... | 18 |
| 4.1.5 | Odrůdy..... | 22 |
| 4.1.6 | Šlechtění v ČR a ve světě..... | 25 |
| 4.1.7 | Agroekologické požadavky..... | 27 |
| 4.1.8 | Pěstitelská technologie..... | 28 |
| 4.1.9 | Příprava půdy..... | 28 |
| 4.1.10 | Založení porostu..... | 29 |
| 4.1.11 | Ošetření porostu během vegetace..... | 30 |
| 4.1.12 | Hnojení..... | 30 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 4.1.13 | Patogeni | 30 |
| 4.1.14 | Škůdci | 32 |
| 4.1.15 | Plevele..... | 33 |
| 4.1.16 | Způsob sklizně | 34 |
| 4.1.17 | Posklizňová úprava | 35 |
| 4.1.18 | Požadavky na kvalitu ostropestřce..... | 35 |
| 5 | MATERIÁL A METODIKA | 37 |
| 5.1 | Charakteristika genetických zdrojů použitých v pokusech | 37 |
| 5.2 | Metodika pokusu na stanovišti Citonice | 39 |
| 5.2.1 | Charakteristika stanoviště Citonice | 39 |
| 5.2.2 | Založení pokusu..... | 40 |
| 5.2.3 | Plán pokusu..... | 41 |
| 5.2.4 | Ošetření během vegetace | 41 |
| 5.2.5 | Sklizně | 42 |
| 5.3 | Metodika pokusu na stanovišti Olomouc..... | 43 |
| 5.3.1 | Charakteristika stanoviště Olomouc | 43 |
| 5.3.2 | Založení pokusu..... | 43 |
| 5.3.3 | Plán pokusu..... | 44 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 5.3.4 | Ošetření během vegetace | 44 |
| 5.3.5 | Sklizení | 45 |
| 5.4 | Způsob zpracování vzorků plodů ostropestřce..... | 46 |
| 5.5 | Hodnocené znaky a způsob jejich stanovení..... | 47 |
| 5.5.1 | Morfologické znaky | 47 |
| 5.5.2 | Biologické znaky | 59 |
| 5.5.3 | Hospodářské znaky | 63 |
| 5.5.4 | Obrazová analýza rostlin pro odlišení genetických zdrojů..... | 66 |
| 6 | VÝSLEDKY..... | 81 |
| 6.1 | Pokus na stanovišti Citonice | 81 |
| 6.2 | Pokus na stanovišti Olomouc | 87 |
| 6.3 | Deskriptor..... | 92 |
| 6.4 | Hodnocení znaků minimální sady deskriptorů..... | 97 |
| 6.5 | Hodnocení náchylnosti k biotickým stresům | 113 |
| 6.6 | Nedestruktivní stanovení olejnatosti pomocí FT – NIR | 116 |
| 6.7 | Obrazová analýza rostlin pro odlišení genetických zdrojů | 117 |
| 6.7.1 | Problémy analýzy obrazu pořízeného v polních podmínkách | 117 |
| 6.7.2 | Verifikace realizovaných postupů | 117 |

| | | |
|-----------|--|------------|
| 7 | DISKUZE..... | 124 |
| 8 | ZÁVĚR..... | 131 |
| 9 | SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY | 134 |
| 10 | SEZNAM OBRÁZKŮ | 144 |
| 11 | SEZNAM TABULEK | 148 |

2 ÚVOD

Ostropestřec mariánský [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] je staronová léčivá rostlina, která se v 90. letech 20. století těšila zájmu farmaceutických společností a následně se stala perspektivní zemědělskou plodinou (Spitzová 1997). Situační a výhledová zpráva z roku 2012 uvádí, že k velkoplošně pěstovaným komoditám za roky 2010 a 2011 patří zejména: ostropestřec, kmín, námel, mák s využitím makoviny. Podle sdružení PELERO CZ o.s. má ostropestřec nejvyšší podíl na produkci a zvyšování celkových pěstebních ploch léčivých rostlin. V roce 2011 a 2012 byla tato plodina pěstována na cca 5 000 ha s odhadovaným výnosem 0,5 t.ha⁻¹ (Branžovský a kol. 2012).

Hlavní příčinou zvyšujících se ploch je poptávka domácích i zahraničních zpracovatelů z farmaceutického průmyslu. Ostropestřec se pěstuje především pro získání plodů *Cardui mariae fructus* (*Silybi mariani fructus*) (Spitzová 1997). V nažkách je obsažen tzv. silymarinový komplex, což je soubor aktivních látek pozitivně ovlivňujících jaterní buňky. Kromě toho se zkoumají jeho možné účinky při léčbě některých druhů nádorů (Habán a kol. 2008). Vlivem neustále přibývajících počtů tohoto typu onemocnění, která jsou obtížně terapeuticky zvládnutelná, je důležité usilovat o vznik nových preparátů, jež jsou rovněž ekonomicky příznivé pro výrobce (Spitzová 1997). Další možné využití ostropestřce je v oblasti kosmetiky, dermatologie, krmivářství, potravinářství, floristice, v průmyslu paliv a maziv (Růžičková a kol. 2011, Habán a kol. 2008).

V posledních letech zaznamenávají rostlinné léčivé přípravky a doplňky stravy rostlinného původu rychle rostoucí tendenci v celosvětovém měřítku. Doplňky stravy z ostropestřce se ve Spojených státech v roce 2000 řadily na desáté místo v prodejnosti. Kvůli zvyšující se poptávce po surovině se doporučuje u řady druhů introdukce do kultur (Shokrpour a kol. 2007). Právě populace volně rostoucích druhů z různých zeměpisných oblastí představují vzácné zdroje pro šlechtění ostropestřce (Alemardan a kol. 2013).

Šlechtitelská práce je vysoce nákladný a dlouhodobý proces (Branžovský a kol. 2012). V České republice se stal ostropestřec z hlediska udržovacího šlechtění středem zájmu pro tyto společnosti: Teva Czech Industries s.r.o., CZ, SEVA – FLORA s.r.o.,

CZ, MORAVOL, spol. s r.o., CZ, IREL, spol. s r.o., CZ (ÚKZÚZ 2016). V současnosti se zvyšují požadavky praxe na možnosti odlišení odrůd ostropestřce. Dále se zvyšuje poptávka po osivu, které je potřeba na rozrůstající se plochy.

Informační systém EVIDENCE GENETICKÝCH ZDROJŮ rostlin (EVIGEZ) sloužil k dokumentaci genetických zdrojů zemědělsky využívaných rostlin (GZR). Od roku 1992 byl systém uplatňován v České republice v síti 12 spolupracujících institucí, které se podílejí na Národním programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin¹ a agrobiodiversity. V prosinci 2014 byla činnost systému zastavena a od června 2015 byl zahájen provoz webové aplikace informačního systému GRIN Czech, který byl adoptován za USA (GRIN Global, USDA).

Databáze GZR se skládá z těchto informačních okruhů:

- 1) Pasporní data – základní informace o genetickém zdroji.
- 2) Popisná data – charakterizace a vlastní hodnocení (podrobné hodnocení morfologických, fenologických, biologických a hospodářských znaků ve stupních 1 – 9, na základě národních klasifikátorů, které jsou v současnosti vypracovány pro 28 plodin).
- 3) Skladová dokumentace genové banky VÚRV, v.v.i. (EVIGEZ 2014).

Pro podrobný popis genetických zdrojů jsou vytvářeny tzv. klasifikátory, číselníky pro část popisnou, které určují pravidla pro hodnocení projevů popisných znaků. Klasifikátory jsou rodově nebo druhově specifické (Dotlačil a kol. 2009). Schvalování deskriptorů v ČR probíhá dále uvedeným způsobem. U druhů rostlin, pro které nejsou mezinárodní klasifikátory, které se běžně používají pro hodnocení je

¹ Vysvětlení pojmů genové x genetické zdroje: V textu jsou použity termíny genetické zdroje a genové zdroje. Termín „genetické zdroje“ se týká popisu zdrojů uchovávaných v Genové bance (VÚRV, v.v.i.) v Olomouci. Ačkoliv z logiky věci by vyplývalo použití spíše termínu „genové zdroje“, protože dochází k uchování genů v rozmnožovacím materiálu rostlin, po konzultaci s pracovníky Genové banky jsme se přiklonili k použití termínu „genetické zdroje“.

vypracováním minimálních sad popisných deskriptorů pověřen kurátor příslušné kolekce rostlin ve spolupráci se správcem databáze EVIGEZ (Faberová 2011). Připravené materiály se jednou ročně předkládají ke schválení Radě genetických zdrojů ČR. Odlišování již registrovaných odrůd se děje prostřednictvím deskriptorů UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants). Ostropestřec mariánský nemá v rámci UPOV vlastní deskriptor pro hodnocení odrůd. Pro země Evropské unie jsou k dispozici klasifikátory CPVO (Community Plant Variety Office), avšak ani zde klasifikátor odrůd ostropestřce neexistuje. Proto se používají výhradně národní klasifikátory; v České republice disponuje pracovní verzí odrůdového klasifikátoru ostropestřce Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, odbor Národní odrůdový úřad (NOÚ).

Vzhledem k aktuální situaci byla navržena a po ověření schválena v prosinci r. 2012 minimální sada deskriptorů pro genetické zdroje ostropestřce mariánského [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] (Dušková 2011).

3 CÍL PRÁCE

Cílem disertační práce bylo:

- 1) Prostudovat dostupnou literaturu ohledně ostropestřce mariánského [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] a následně vypracovat literární přehled.
- 2) Pro získání experimentálních dat do disertační práce byly v Jihomoravském a Olomouckém kraji založeny polní pokusy s plodinou ostropestřec mariánský [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.]. V roce 2013 – 2014 bylo na uvedených lokalitách vyseto 15 různých genetických zdrojů, které byly hodnoceny podle již schválené minimální sady deskriptorů pro ostropestřec.
- 3) Výsledky zpracovat a vhodně vyhodnotit.
- 4) Posledním cílem bylo vybrat genetické zdroje (GZ) požadované kvality a produkce.

4 LITERÁRNÍ PŘEHLED

4.1 Ostropestřec mariánský [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.]

4.1.1 Původ

Ostropestřec mariánský zaujímá zásadní místo mezi léčivými rostlinami. V 16. století dosáhl vysoké oblíbenosti, poté se na rostlinu pozapomnělo a renesance nastala opět až v 18. století (Moudrý 2011).

Rostlina je domácí na území jižní Evropy, jižního Ruska, Malé Asie, severní Afriky, Severní a Jižní Ameriky, zdomácněl v jižní Austrálii. Ve střední Evropě je planý. Samotná droga se dováží zejména z části severního Německa, z Argentiny, Číny, Rumunska, Maďarska a z některých oblastí Středozeří (Wichtl a kol. 2009).

4.1.2 Botanická charakteristika

Synonymum: *Carduus marianus* (L.), *Cirsium maculatum* Scop., *Carthamus maculatus* Lam., *Silybum maculatum* Moench, *Mariana mariana* (L.) Hill, anglicky: Milk Thistle, Holy thistle, německy: Gemeine Mariendistel, Mariendistel, francouzsky: Chardon marie, Chardon argenté, Lait de Notre Dame, Silybe, španělsky: Cardo mariano, polsky: Ostropest plamisty, maďarsky: Máriatóvis, rusky: Расторопша пятнистая, Остропестро, švédsky: Mariatistel (Jeffrey 2001, Kresánek a Kresánek 2008).

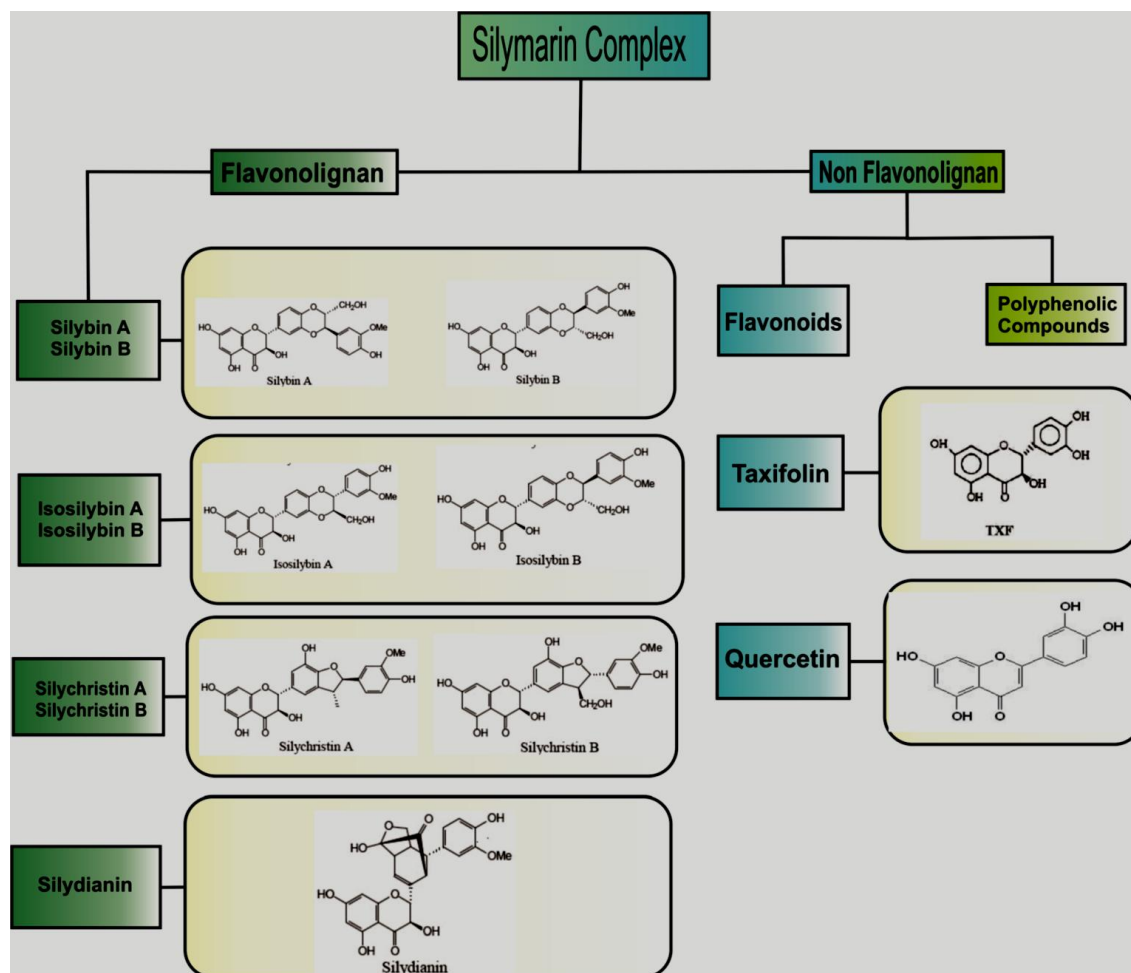
Ostropestřec mariánský [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] patří do čeledi hvězdnicovité (Asteraceae). V našich podmínkách je to jednoletá rostlina, v zemích původu je dvouletá. Rostlina dosahuje výšky (30 –) 60 – 150 (– 250) cm. **Kořen** je kulový. **Lodyhy** jsou v horní 1/2 řídce větvené, zaobleně hranaté, plné s bílou dřevinou, olýsalé, hustě mělce žebernaté, žebra jsou bělavá. Přízemní **listy** jsou v růžici, tvarem i barvou podobné lodyžním, dlouhé až 40 cm. Střední žilka je rozšířená, hluboce žlábkovitá. Lodyžní listy jsou střídavé, dolní přisedlé, horní poloobjímavé, v obrysu obvejčité až kopinaté, peřenolaločné až peřenoklané v široce trojúhelníkovité úkrojky s okrajem nepravidelně ostnitým. **Ostny** dosahují délky až 8 mm. Na líci žilek je list lemován bílými skvrnami (Slavík a kol. 2004), ve výjimečných případech na listu chybí

bílé panašování (Achleitner a kol. 2013), povrch listu je lesklý. Rostlina má jednotlivé, vzpřímené **úborny**, které jsou dlouze stopkaté, široce kuželovité, široké 3 – 7 cm, zákrov je na bázi vmáčklý, okrouhlé, obvejčité vnější zákrovní listeny, zúžené k bázi, s okrajem nepravidelně ostnitě zubatým, střední a vnitřní dvoudílné, v dolní části vejčité až kopinaté, těsně k sobě přitisklé, v horním segmentu kýlnaté, trojúhelníkovité, od úboru odstálé, na okrajích a na vrcholu dlouze ostnitě. Ostny mají barvu slámově žlutou, délka až 7 mm. **Květy** jsou dlouhé 3,5 – 4,0 cm. Mají velmi dlouhou bílou korunní trubku, která je v horní 1/3 baňkovitě rozšířená a má červenou až světle fialovou barvu, jež přechází v čárkovitě špičaté cípy stejné barvy (Slavík a kol. 2004). Vzácně existují i bíle kvetoucí exempláře (Achleitner a kol. 2013). **Plodem** jsou nažky (*Silybi mariani fructus*, Ph. Eur.) zbavené chmýru (lat. *pappus*) (Dingermann a kol. 2004, Wichtl 2009). Zralá nažka je lesklá, asymetrická, mírně zploštělá, hnědě zbarvená, dlouhá 6 mm a široká 3 mm. Na vrcholu nažky je úzký, žlutý lem, na kterém je snadno opadavý chmýr. Vnější paprsky chmýru jsou dlouhé 12 – 18 mm, vnitřní paprsky dosahují délky 1 mm. Kvete v VI – IX (Slavík a kol. 2004, Moudrý 2011). Velké světlé semeno uzavírá plod bez endospermu, jehož tenké osemení je srostlé s oplodím. Droga je bez zápachu, semena mají olejovitou a oplodí nahořklou chuť (Tůmová a Gallová 2006). Ostropestřec je diploidní druh $2n = 2x = 34$, karyotyp obsahuje 6 párů metacentrických, 10 párů submetacentrických, 1 pár akrocentrických chromosomů (Asghari-Zakaria a kol. 2008).

4.1.3 Obsahové látky

Nažky ostropestřce mariánského obsahují 1,5 – 3 % silymarinu v droze, zřídka až 5 %. Silymarin je komplex směsí látek silybinu, silydianinu, isosilybinu, silychristinu. Dále jsou v droze zastoupeny bílkoviny 26 – 28 %, olej 25 – 35 %, skládající se hlavně z kyseliny linolové (60 %), olejové (30 %) (Achleitner a kol. 2013, Wichtl a kol. 2009), α – linolenové (0,23 %), arachidonové (3,45 %) a nasycených mastných kyselin např. kyseliny palmitové (8,47 %), stearové (5,28 %), behenové (2,67 %) (Kocourková a kol. 2014). U drogy dovážené zejména z východní Evropy a Jižní Ameriky se klade důraz na obsah silydianinu (Achleitner a kol. 2013, Wichtl a kol. 2009). Dále jsou v nažce

zastoupeny flavanonoly: taxifolin; flavon, flavanon: quercetin, dihydrokaempferol, kaempferol, apigenin, naringenin, eriodictyol, chrysoeriol; tokoferol (38 mg %), steroly (630 mg %): cholesterol, campesterol, stigmasterol, sitosterol; slizy. Ostropestřec má více chemotypů (Wichtl a kol. 2009).



Obr. 1 – Komponenty silymarinového komplexu s jejich strukturními vzorci (Ahmad a kol. 2015)

Nať ostropestřce mariánského (*Cardui mariae herba*) obsahuje flavonoidy: apigenin-, luteolin-, kaempferol-7-O-glukosid, apigenin-4,7'-di-O-glukosid, kaempferol-7-O-glukosid-3-sulfát, steroidy: steroly, β -sitosterol, β -sitosterolglukosid, dále polyiny a organické kyseliny: kyselina fumarová (3,3 %), silymarin v nati chybí (je lokalizován pouze v oplodí nažek) (Jänicke a kol. 2003).

4.1.4 Využití a účinky

4.1.4.1 Hlavní využití a účinky

Komplex látek získaný z nažek ostropestřce mariánského má zejména hepatoprotektivní (Tůmová a Tůma 2009) a přírodně antioxidantní účinky (Kocourková a kol. 2014). Tyto účinky lze uplatnit u alkoholem vyvolané hepatitidy, akutní nebo chronické virové hepatitidy způsobené organickými látkami, drogami a toxiny (Tůmová a Tůma 2009), dále při jaterní cirhóze (Dingermann a kol. 2004) a při poškození jater způsobené léky proti viru HIV (Shokrpour a kol. 2007). Mechanismus účinku silymarinu a jedné z jeho strukturálních komponent silibininu není dosud přesně vysvětlený. Jsou však publikovány tyto čtyři cesty působení: 1) jako antioxidanty, zhášecí a regulátory intracelulárního obsahu glutathionu, 2) jako stabilizátor buněčné membrány a regulátor permeability, který zabraňuje hepatotoxickému agens vstupovat do hepatocytu, 3) jako promotor rRNA syntézy, stimuluje jaterní regulaci, 4) jako inhibitor přeměny hvězdicovitých hepatocytů na myofibroblasty – tj. proces odpovědný za depozici kolagenových vláken, což vede k cirhóze. Zhášení volných radikálů se zdá být zásadním mechanismem pro hepatoprotekci (Tůmová a Gallová 2006). Silymarin se absorbuje z trávicí soustavy a rychle se eliminuje žlučí. Působením zpětné resorpce z tlustého střeva je silymarin zachycován v enterohepatálním oběhu, vlivem toho dochází k ochrannému efektu proti hepatotoxinům a při jaterních cirhózách (Tůmová a Tůma 2009).

Při poškození toxinů při otravách hub (např. muchomůrky zelené), silymarin blokuje vazebná místa toxinu a zvyšuje regenerační schopnosti jaterních buněk. Bylo zjištěno, že silibinin je účinný proti poškození jater, pokud je podáván intravenózně v průběhu 24 hodin po požití hub (Bhattacharya 2011).

Protialergická aktivita je spojena se stabilizací buněčných membrán (dochází k ustálení buněčné stěny žírných buněk), což úzce souvisí s antioxidantním působením silymarinu (Tůmová a Tůma 2009). Ostropestřec má také antifibrogenní, regenerační (Milić a kol. 2013), protizánětlivé, antiartritické, cholagogické, antivirové, neuroprotektivní, kardioprotektivní účinky (Bhattacharya 2011), příznivě ovlivňuje glykemický profil u pacientů s diabetem (Khan a kol. 2009). Bylo také prokázáno, že

ostropestřec zvyšuje laktaci mléka u žen, nicméně mechanismus účinku nebyl ještě stanoven (Abenavoli a kol. 2010). Je prokázáno, že silibinin značně působí proti androgenně dependní rakovině prostaty (Tůmová a Gallová 2006), kromě toho brání bujení nádorových buněk v okolí prsu, vaječníku, tlustého střeva, plic a močového měchýře (Suchý a kol. 2008). Dále je možné ostropestřec aplikovat v průběhu léčby onkologických onemocnění kvůli čištění a detoxikaci po chemoterapii, při prevenci hepatotoxicity během chemoterapie, k léčení hepatotoxicity po chemoterapii a k zesílení chemoterapie a radiační terapie v podobě doplňkové léčby (Alemardan a kol. 2013).

Účinné látky jsou umístěny pod osemením (tyramin, histamin, silybin), z tohoto důvodu se užívají celé nažky tedy i se slupkou (Tůmová a Gallová 2006). Nažky ostropestřce by měly být podávány nejlépe v syrové formě (čerstvě mleté) nebo v podobě hydro-alkoholického extraktu. Průměrná denní dávka pro dospělého člověka: prášková droga 12 – 15 g, suchý standardizovaný extrakt nažek (silymarin) 200 – 400 mg, tekutý extrakt z nažek 4 – 9 ml (Bhattacharya 2011). U preparátů obsahující suchý extrakt (extrakce se provádí většinou acetonem, etanolem) je poměr drogy a extraktu 20 – 70:1 (Jänicke a kol. 2003). Extrakty z nažek jsou na trhu k dostání ve formě tablet nebo zapouzdřené formě pro orální použití, obvykle obsahují koncentrovaný extrakt semen standardizován na 70 – 80 % silymarinu. Silymarin je možno podávat také parenterálně. Silymarin je velmi špatně rozpustný ve vodě, a proto nejsou nažky příliš účinné ve formě čaje (Bhattacharya 2011) při potížích jater. Nicméně při poruchách zažívacího ústrojí a onemocnění žlučníku může být čaj účinný (Kocourková a kol. 2014). Jänicke a kol. (2003) uvádějí dávkování čaje 3 – 4 g drcené drogy (1 – 2 čajové lžičky) na 150 ml, 15 minut nechat vyluhovat. Čerstvě připravený čaj se podává 3 – 4 × denně, 30 minut před jídlem (Kocourková a kol. 2014).

Ostropestřec mariánský je součástí některých HVLP, např. Flavobion (70 mg silymarinu), Simepar (70 mg silymarinu), Legalon (Tůmová a Gallová 2006), dále homeopatických přípravků (Achleitner a kol. 2013). Droga je také obsažena v čajových směsích firem Herbex, Teekanne, Leros (Tůmová a Gallová 2006).

Vedlejší účinky jsou zřídka lehce laxativní, velmi ojediněle se objevuje vyrážka na kůži (Wichtl a kol. 2009), dále působení na dělohu, ovlivnění menstruace (Kocourková a kol. 2014). K záměně drogy prakticky nedochází (Wichtl a kol. 2009).

Kontraindikace a interakce nejsou známy (Schaffner a kol. 1999). Kresánek a Kresánek 2008 uvádějí interakci na současné užívání přípravků vyvolávající alergii na hvězdicovité rostliny.

Nať ostropestřce mariánského se nedoporučuje k terapeutickému využití, protože účinek je v současné době značně nejistý a nebyl zdokumentován. I přesto se uvádějí tyto možnosti použití: při poruchách jater, sleziny, žlučníku, žloutence, žlučové koliky (Jänicke a kol. 2003).

V lidovém léčení se ostropestřec podával při píchání v boku, nemocech sleziny, proti migréně, malárii, křečových žilách, cestovní horečce, cirhózách (Kocourková a kol. 2014), a dále při poruchách krevního oběhu, na tonizaci cévních stěn, posílení organismu, při závratích (Kresánek a Kresánek 2008). Na podporu laktace a odvodnění organismu se podával kořen z ostropestřce (Kocourková a kol. 2014).

4.1.4.2 Alternativní využití a účinky

Olej je odstraňován z nažek před extrakcí silymarinového komplexu. Jedná se o vedlejší produkt výroby zmíněného komplexu (Fathi-Achachlouei a Azadmard-Damirchi 2009). Polynenasycené mastné kyseliny α -linolenová a linolová jsou nepostradatelné komponenty v lidském těle, řadí se mezi esenciální mastné kyseliny tzn. musejí být přijímány v potravě (Malekzadeh a kol. 2011). PUFA působí zejména na buněčné signalizace, membránové struktury, expresi genů, biosyntézu prostaglandinů, nervový, endokrinní a imunitní systém (Fathi-Achachlouei a Azadmard-Damirchi 2009). Právě jedlý olej z ostropestřce mariánského je důležitým zdrojem těchto kyselin a vitamínu E (Malekzadeh a kol. 2011). Je třeba říci, že složením mastných kyselin je ostropestřcový olej velmi podobný slunečnicovému oleji. Může být tedy využíván v potravinářském průmyslu v kombinaci s jinými rostlinnými oleji nebo samostatně (Fathi-Achachlouei a Azadmard-Damirchi 2009). Kromě toho je také vhodné konzumovat klíčky z ostropestřce, které slouží jako antioxidanty (Martinelli a kol. 2015). Dále byly prováděny pokusy použití ostropestřce jako mladé listové zeleniny. Z ostropestřce byly odebírány z bazálních listů střední žilky. Ve studii bylo prokázáno, že se ostropestřec z hlediska zeleniny jeví jako nutričně bohatý potravinový zdroj (Garcia-Herrera a kol.

2014). V zahraniční literatuře je uvedena možnost použití nažek jako přísada do pečiva. Zjistilo se, že ostropestřec přináší velmi cennou zdravotně prospěšnou složku. Dávka až 1,4 g nažek na 250 g těsta nemá vliv na chuť, vůni, barvu a fyzikálně-chemické vlastnosti pekařských výrobků (Rosińska a kol. 2013).

Uplatnění komplexu látek z ostropestřcového oleje a extraktu ze semen je i v kosmetickém průmyslu. Olej má změkčující, zvláčňující, regenerační, protizánětlivé účinky a je velmi lehce vstřebatelný a roztíratelný. Produkty se vyrábějí zejména ve formě krémů, pleťových vod, koupelové kosmetiky, masážních gelů. Tyto přípravky jsou vhodné i pro kojence a děti, pro diabetiky, pro jemné ošetření pleti a péči o vlasy a tělo, pro všechny typy pleti (Irel 2014, Koláčková a kol. 2015). Přípravky obsahující silymarin se mohou aplikovat např. na léčbu růžovky. Díky jeho antioxidačnímu účinku dochází ke zpomalení stárnutí a zamezení vzniku vrásek. Silymarin chrání pokožku před UVB zářením, je vhodné ho přidávat do kosmetických přípravků s ochranným faktorem UV v opalovacích krémech (Milić a kol. 2013).

V oblasti krmivářství lze využít celé rostliny na siláž, dále plody nebo silymarinový extrakt (Martinelli a kol. 2015). Experimenty a klinické studie prokázaly, že silymarin zařazený do stravy zvýšil produktivní a reprodukční výkony a došlo ke zlepšení zdravotního stavu hospodářských zvířat (Schiafone a kol. 2007). Achleitner a kol. (2013) uvádějí, možnost využití výlisků z ostropestřce, které obsahují 9 – 10 % oleje, a tím je ve výživě zvířat získán velmi hodnotný doplněk stravy. Sabir a kol. (2014) uvádějí pozitivní účinky ve veterinární medicíně. Silymarin zvyšuje odolnost svalů u zvířat vůči oxidačnímu stresu. Dále výzkum prokázal vhodné podání silymarinu a antibiotik při léčbě parazitóz u psů.

Neustálý růst světových cen ropy a zároveň snižující se zásoba konvenčních energetických zdrojů, problematika životního prostředí vyzývají k zamyšlení o alternativních obnovitelných a udržitelných zdrojích. Ukazuje se, že určitou variantou by mohl být olej jako vedlejší produkt získaný z nažek ostropestřce pro výrobu bionafty (Takase a kol. 2014). Další využití oleje je v odvětví průmyslu nátěrových hmot. Olej z ostropestřce by mohl být zajímavý zejména svou cenou (Středa a Cerkal 2003).

Sulas a kol. (2008) uvádějí, že ostropestřec má velmi dobrou konkurenceschopnost (agresivní vegetativní růst) je tedy zajímavý pro využití v podobě obnovitelného zdroje energie. Řadí se k velmi perspektivním rostlinám pro produkci biomasy, a tím pro vznik energie. Výnos suché hmoty dosahuje cca 20,4 t.ha⁻¹, výhřevnost cca 14,8 MJ.kg⁻¹, čistý zisk energie cca 293,3 GJ.ha⁻¹.

Ostropestřec je možno využít také jako okrasnou rostlinu ve floristice, pro její zvláštní ozdobné listy a květy (Asghari-Zakaria a kol. 2008).

Dále může být ostropestřec použit pro fytořemediaci znečištěných půd (Khan a kol. 2009).

4.1.5 Odrůdy

Databáze odrůd pro plodinu/druh – skupinu: Ostropestřec mariánský – Léčivé a aromatické rostliny

Tab. 1 – Odrůdy ostropestřce mariánského (ÚKZÚZ 2016)

| Název odrůdy | Návrh názvu | Ochrana práv (OP) | Registrace (REG) | Typ subjektu – Subjekt |
|--------------|-------------|---|---|---|
| Silyb | | | Registrace: 6.5.1988 Prodloužení reg.: 15.12.2009 | Udržovatel – Teva Czech Industries s.r.o., CZ REG – žadatel – IVAX – ČR a.s., CZ REG – žadatel o prodloužení – Teva Czech Industries s.r.o., CZ |
| Verde | | Udělení: 25.4.2014 Platnost do: 31.12.2039 | | Udržovatel – SEVA – FLORA s.r.o., CZ OP – držitel (vlastník) – IREL, spol. s r.o., CZ OP – držitel (vlastník) – SEVA – FLORA s.r.o., CZ |

| | | | | |
|------------------|-------|---|--|--|
| Aida | | Udělení: 25.4.2014 Platnost do: 31.12.2039 | | Udržovatel – IREL, spol. s r.o., CZ OP – držitel (vlastník) – IREL, spol. s r.o., CZ |
| Mirel | | Udělení: 24.2.2010 Platnost do: 31.12.2035 | | Udržovatel – MORAVOL, spol. s r.o., CZ OP – držitel (vlastník) – MORAVOL, spol. s r.o., CZ |
| Tevasil | | Udělení: 5.6.2015 Platnost do: 31.12.2040 | | Udržovatel – Teva Czech Industries s.r.o., CZ OP – držitel (vlastník) – Teva Czech Industries s.r.o., CZ OP – držitel (vlastník) – Univerzita Palackého v Olomouci, CZ |
| Albus | Albus | Podání žádosti: 19.12.2011 | | Udržovatel – Teva Czech Industries s.r.o., CZ OP – žadatel – Teva Czech Industries s.r.o., CZ OP – žadatel – Univerzita Palackého v Olomouci, CZ |
| Silydianin I. | | Podání žádosti: 7.4.2014 | | Udržovatel – Teva Czech Industries s.r.o., CZ OP – žadatel – Teva Czech Industries s.r.o., CZ OP – žadatel – Univerzita Palackého v Olomouci, CZ |
| Z16 | | Podání žádosti: 14.3.2016 | | Udržovatel a OP – žadatel – Karolína Loubalová, CZ |

Z tabulky (Tab. 1) vyplývá, že jedinou registrovanou odrůdou v ČR je odrůda Silyb. Tato odrůda je i právně chráněná od roku 1991 (Kocourková a kol. 2014). Verda, Aida, Mirel a Tevasil jsou také právně chráněné odrůdy. Albus, Silydianin I. a Z16 jsou odrůdy, které mají podanou žádost k udělení ochrany práv a čekají na schválení. Na stránkách ÚKZÚZ nebo v odborné literatuře jen velmi těžko nalezneme, čím se jednotlivé odrůdy vyznačují. Nejvíce informací v ČR je uvedeno o registrované odrůdě Silyb, která vznikla procesem cíleného novošlechtění. V Listině povolených odrůd je zapsána od roku 1988 (Spitzová 1997). Z hlediska správného poměru účinných látek byl Silyb vhodný hlavně pro zpracování ve farmaceutickém průmyslu. Naopak odrůda Mirel je ceněna především pro obsah mastného oleje a specifické spektrum mastných kyselin (Kocourková a kol. 2014).

Některé genetické zdroje a odrůdy – jejich názvy a popis:

'Adriana' (NL), 'Bydgosky' (PL), 'De Prahova' (RO), 'Orechets 1' (BG), 'Silma' (PL), 'Silmar' (BG), 'Silyb' (CZ), 'Szibilla' (H). 'Silbina' je v Německu od roku 2001 chráněnou odrůdou (Achleitner a kol. 2013).

'**Argintiu**' – odrůda vyšlechtěná v roce 2007 v Moldávii. Rostliny jsou středního vzrůstu (136 cm), raně kvetoucí s krátkou periodou kvetení, jednotným dozráváním, vysokým výnosem, je rezistentní k suchu a chorobám (Gonceariuc 2007).

'**Silyb**' – šlechtitel Ivax ČR a.s., Opava Komárov (CZ). Komerčně od roku 1988. Rostlina je vysoká, list zvlňný, tuhý, lesklý se žlutými ostny, květ fialový. Obsah silibininu 2 – 2,4 %, isosilybinu 0,3 – 0,5 % a silychristinu 0,9 – 1,2 %, silydianin neobsahuje.

'**De Prahova**' – šlechtitel Výzkumná stanice pro léčivé a aromatické rostliny, Fundulea (RO). Počátek kvetení střední až pozdní, rostlina střední až vysoká, list střední až velký, podíl bílého zbarvení velký, poupě bez antokyanového zbarvení, květ fialový. Obsah silibininu a isosilybinu nízký až střední, silychristinu střední a silydianinu velmi vysoký.

'**Silbina**' – šlechtitel Pharmaplant, Artern (DEU). Chráněná odrůda od roku 2001. Počátek kvetení časný až středně časný, rostlina středně vysoká, list středně velký, podíl bílého zbarvení střední až velký, poupě bez antokyanového zbarvení, květ fialový.

Obsah silibininu a isosilybinu vysoký až velmi vysoký, silychristinu vysoký a silydianinu velmi nízký.

'**Silma**' – šlechtitel Institut pro ochranu léčivých rostlin, Poznaň (PL). Komerčně od roku 1992. Počátek kvetení středně časný, rostlina střední až vysoká, list střední až velký, podíl bílého zbarvení středně velký, poupě s antokyanovým zbarvením, květ fialový. Obsah silibininu, isosilybinu a silychristinu střední až vysoký, silydianinu velmi nízký.

'**Silmar**' – šlechtitel Výkonná agentura pro variety a testování, Sofia (BG). Počátek kvetení střední až pozdní, rostlina střední až vysoká, list střední až velký, podíl bílého zbarvení vysoký, poupě s antokyanovým zbarvením, květ fialový. Obsah silibininu, isosilybinu a silychristinu střední až vysoký, silydianinu nízký až středně vysoký (Achleitner a kol. 2013).

4.1.6 Šlechtění v ČR a ve světě

Obecně lze říci, že ve šlechtění je rozhodujícím ukazatelem ekonomická podpora, což je v ČR stále problém. Jedná se rovněž o časově náročnou a nelehkou práci. Nyní je světový a především evropský trh postižen tím, že zpracovatelé používají levnější surovinové zdroje heterogenní kvality, čím je ovlivněna úroveň šlechtění, semenářství a inovace pěstitelských technologií (Branžovský a kol. 2012).

Ostropestřec patří mezi cizosprašné rostliny, zásadními opylovači jsou čmelák a včela. Může se tedy využívat jako medonosná rostlina (Spitzová 1997). Alemardan a kol. (2013), Martinelli a kol. (2015) uvádějí, že se jedná o rostlinu převážně samosprašnou s průměrným vzdáleným křížením jiných ras (cca 2 %) v polních podmínkách. Vysoký podíl samosprašnosti potvrzuje i Uher (2012) a Růžičková (2011 – nepublikované výsledky izolace květenství).

Genetického zlepšování ostropestřce mariánského lze dosáhnout pouze prostřednictvím přesné informovanosti o rostlině a zjištění o výši variability v divokých populacích, včetně genotypů, které mohou představovat maximální projev adaptačních schopností na podmínky prostředí (Alemardan a kol. 2013).

Tab. 2 – Šlechtitelské cíle u LAKR (FELKLOVÁ a KOCOURKOVÁ 2003)

| Farmaceutické | Pěstitelské |
|--|---|
| Účinné látky | Výnos a technika pěstování |
| Kvalitativní (vyhovující spektrum účinných látek) | Pěstitelské vlastnosti (růst, výnos, technické vlastnosti – rovnoměrné zrání, barva, oddělitelnost částí) |
| Kvantitativní (obsah účinných látek) | Rezistence (proti patogenům, škůdcům) |
| Technologické (možnost zpracování např. extrakce atd.) | Ekologická amplituda (přizpůsobivost) |

Hlavním cílem šlechtění u ostropestřce je vyšlechtění vysoce výnosné odrůdy se zvýšeným obsahem silymarinového komplexu. S tím úzce souvisí snaha získání rostlin se současným kvetením, snížením ztráty sklizně a dále šlechtění tolerantních, rezistentních odrůd, snadnější uvolnění nažek, redukce ostnů (Alemardan a kol. 2013). Spitzová (1997) klade důraz zejména na vznik standardní suroviny. V tomto případě se jedná o nažky s kvalitativním a kvantitativním složením silymarinového komplexu. Dalším důležitým cílem šlechtění, který se týká obsahu látek v ostropestřci, je složení oleje. Olej má vyšší polaritu, a tím je velmi dobře roztíratelný podobně jako avokádový olej. Vysoká polarita je dána obsahem mono a diglyceridů, což ovlivňují různé provenience získání nažek, o složení mastných kyselin v triglyceridech v souvislosti na původ je stále málo vědeckých prací. Nové odrůdy ostropestřce by měly být využitelné pro potravinářský i farmaceutický průmysl (Buchta 2010).

Odrůdy léčivých, aromatických a kořeninových rostlin již nelze registrovat, protože tato skupina nepatří mezi hlavní zemědělské plodiny a není tedy součástí „Druhového seznamu“. V současnosti lze pouze požádat o udělení práva k odrůdě (prostřednictvím ÚKZÚZ). Práva lze udělit pro ČR nebo pro EU. Držitel práv k odrůdě má právo rozhodovat o odrůdě, tj. o udržovacím šlechtění a o množení. Jedná se o určitý způsob ochrany duševního vlastnictví šlechtitele (investora). Práva jsou stvrzena Mezinárodní úmluvou na ochranu práv k novým odrůdám rostlin (základem UPOV). ÚKZÚZ ověří požadavky zákona (novost, odlišnost, uniformita, stabilita a název) a provede zkoušky a popis. Po udělení osvědčení o právech k odrůdě žádný jiný subjekt

(fyzická ani právnická osoba) nesmí bez svolení držitele práva k odrůdě odrůdu množit a prodávat osivo (tzn. uvádět do oběhu). Jediný způsob je zakoupení licence od držitele práv a následně na to je možno množit. Pokud by někdo nerespektoval tento zákon, hrozí mu peněžité sankce (Branžovský a kol. 2012).

Zájem o pěstování ostropestřce je značně vysoký, bohužel osivo odrůd není volně dostupné na trhu. Významnou hrozbou je osivo ze zahraničí s nejasným původem. Souhrn neznámých opylovacích poměrů a pravděpodobnost křížení odlišných chemotypů mezi sebou může vyústit ke změně obsahu účinných látek v silymarinovém komplexu (Kocourková a kol. 2014).

4.1.7 Agroekologické požadavky

Ostropestřec je rostlina pocházející z teplého podnebí, daří se jí také ve středoevropských zemích (Achleitner a kol. 2013). Je třeba podotknout, že ostropestřec se řadí mezi velice přizpůsobivé a plastické druhy rostlin. Řepařská výrobní oblast patří mezi velmi vhodné oblasti pěstování. Naopak teplejší kukuřičné výrobní oblasti jsou kritické pro nedostatek vody a atak patogenů. Riziko výskytu chorob zejména plísňe šedé je i ve vyšších nadmořských výškách (Kocourková a kol. 2014). Semena v půdě přezimují a překonají i velmi silné mrazy. Stanoviště je lépe volit slunné a chráněné proti větru. **Půda:** Pro ostropestřec jsou vhodné různé druhy půd, avšak na vlhkých dobře větratelných půdách dosahuje vyšších výnosů než na půdách písčitých (Achleitner a kol. 2013). Habán a kol. (2008) uvádějí za nejvhodnější půdní typy zejména černozem, hnědozem, lužní a nivní půdy. Vyžaduje hlinité, humózní, vápenaté půdy, s pH 5,8 – 7,2. Důležitá je zásoba vláhou v prvních fázích růstu. **Voda:** Z hlediska potřeby vody se za kritické období považuje období klíčení, vzcházení a dále od tvorby stonku až do začátku kvetení. Úhrn atmosférických srážek by měl být v intervalu 550 – 750 mm. **Světlo:** Ostropestřec se řadí mezi světlomilné rostliny dlouhého dne, což pozitivně ovlivňuje úrodu nažek. **Teplota:** Vhodná celková suma průměrných denních teplot by se měla pohybovat v rozmezí 1 800 – 2 200 °C. Ostropestřec značně reaguje na velké teplotní výkyvy mezi dnem a nocí. Z tohoto důvodu se doporučuje pěstování v oblastech s průměrnou roční teplotou 6 – 8 °C.

Achleitner a kol. (2013) uvádějí, že pro začátek klíčivosti semen je nutná teplota půdy okolo 10 °C.

4.1.8 Pěstitelská technologie

Ostropestřec je vhodné pěstovat v polohách od 200 do 600 m n. m. (Habán a kol. 2008). Jako vhodná předplodina se doporučuje jetelovina nebo organicky hnojená plodina (Kocourková a kol. 2014). Další zdroj uvádí, že na předplodinu nemá ostropestřec žádné zvláštní požadavky. V osevním postupu se doporučuje toto zařazení: ostropestřec – pšenice – ostropestřec – pšenice nebo jiná obilnina (Achleitner a kol. 2013). Zcela nevhodný je sled ostropestřec po ostropestřci (Spitzová 1997). Velký problém je však vypadávaní nažek z úborů před sklizní podobně jako u řepky. Nažky mohou bez ztráty klíčivosti v půdě vytrvat až 12 let. Proto by se ostropestřec neměl pěstovat na plochách, kde jsou pěstovány např. řepa cukrovka, řepka, speciální kultury (Achleitner a kol. 2013) a slunečnice (Kocourková a kol. 2014). V případě, že se v osevním sledu zařadí po ostropestřci obilnina, není problém výdrol herbicidy zlikvidovat (Kocourková a kol. 2014). Na základě dobré pokrývnosti půdy a tvorby kúlového kořene je ostropestřec hodnotnou předplodinou, ale díky vypadávaní nažek se tyto kvality snižují (Achleitner a kol. 2013).

4.1.9 Příprava půdy

Správná příprava set'ového lůžka je zásadní pro odpovídající vzejití nažek. Základní příprava půdy podléhá zvolené předplodině. Po sklizených obilninách se provádí podmítka, poté následuje hluboká orba (0,20 – 0,25 m), při které se zapravují doporučená hnojiva. Po okopaninách lze vynechat hlubokou orbu, a tak minimalizovat pracovní operace. Na jaře se půda urovnává prostřednictvím smyků, bran a válců (Habán a kol. 2008). Na lehčích stanovištích je vhodné použití cambridgských válců k utužení půdy (Achleitner a kol. 2013). Správné urovnání povrchu půdy vede k dodržení stejnoměrné hloubky výsevu, a tím se docílí vyrovnaného vzcházení rostlin (Kubínek 1986).

4.1.10 Založení porostu

Ostropestřec může být založen na menších nebo na větších plochách. Maloplošné zakládání porostu je závislé na vyšším podílu ruční práce (sběr, čištění). Velkoplošné pěstování je uplatňováno pro farmaceutické účely. Setí se provádí při teplotě půdy minimálně 5 °C. Časně jarní setí (15.3. – 4.4.) je vhodnější v oblastech se sušším podnebím. Pozdější jarní setí (5.4. – 25.4.) se doporučuje v oblastech s vlhčím podnebím (Habán a kol. 2008). Výsev je prováděn pomocí secího stroje pro výsev cukrovky tak, aby byla dodržena vzdálenost v řádku (Moudrý 2011, Achleitner a kol. 2013). Záměrem přesného setí je vytvoření optimální organizace porostu, a tím náležitého habitu rostlin. Optimální porost vypadá následovně: listová růžice je v přízemní vrstvě, horní jedna třetina rostlin je zcela bez listů, rostliny mají nasazeny první tři úbory ve stejné výšce, dále listová plocha během dozrávání prvních úborů zasychá, výška porostu je do 150 cm. Uvádí se, že na jednom běžném metru je vhodné mít 5 – 7 rostlin (Kocourková a kol. 2014). Při úzké vzdálenosti činí výška růstu ostropestřce překážky sklizně a systém způsobuje tzv. uzamčené řádky. Vysoká hustota porostu může vést k poléhání rostlin. Vzdálenost mezi řádky se doporučuje 25 – 40 cm, vzdálenost rostlin v řádku 20 – 30 cm, hloubka setí 2 cm, množství osiva 6 kg.ha⁻¹, minimální klíčivost 70 % (Moudrý 2011, Achleitner a kol. 2013). Vzcházení rostlin začíná cca 14 dní po výsevu, v nejpříznivějších podmínkách i po 5 dnech. Dále rostlina přechází do fáze tvorby přízemní listové růžice a cca za 2 měsíce do tzv. generativní fáze, která se vyznačuje rychlým dlouhivým růstem (Kocourková a kol. 2014). HTS se pochybuje od 22 – 32 g. Podle klíčivosti, doby sklizně a druhu půdy je optimální počet jedinců na m² 18 – 25 rostlin. Nízká hustota porostu způsobuje nerovnoměrné zrání, na jedné straně dochází k vypadávání semen a druhé straně kvůli značnému podílu nezralých nažek k nižšímu obsahu silymarinového komplexu (Achleitner a kol. 2013). Výnos ostropestřce tvoří tyto výnosotvorné prvky: počet rostlin popř. plodných větví na jednotku plochy, počet úborů na rostlině na m², počet semen v jednom úboru, popř. na m², hmotnost nažek v úboru, hmotnost tisíce nažek. Výnosotvorné prvky jsou také ovlivněny pěstitelskými podmínkami, zejména počtem rostlin na jednotku plochy, což má dále vliv na výnosotvorné prvky v rostlině (Gromová a kol. 1993).

4.1.11 Ošetření porostu během vegetace

V době vegetace je zapotřebí provádět mechanické ošetřování porostu, aplikace agrochemikálií (přihnojování dusíkem, postřiky proti negativním činitelům), popř. zavlažování. Zavlažování se doporučuje hlavně ve Středomoří a v náročných suchých oblastech, zejména při tvorbě a plnění nažek v úboru (Karkanis a kol 2011). V průběhu vegetace je důležité udržovat porost v bezplevelném stavu. Proti plevelům se nejlépe uplatňuje mechanické ošetřování tj. plečkování a kypření meziřádků při vytvoření přízemní růžice (6 pravých listů) (Habán a kol. 2008).

4.1.12 Hnojení

Ostropestřec produkuje velké množství nadzemní hmoty, a proto potřebuje dostatečné množství živin. Samotné hnojení závisí hlavně na předplodině a půdní zásobě živin (Kocourková a kol. 2014). Doporučená dávka dusíku je 50 – 70 kg.ha⁻¹ v období jara. Vyšší dávky dusíku pak vedou k silnému růstu rostlin a k poléhání. Při předset'ové přípravě půdy se doporučuje zapravit 1/2 až 2/3 dusíkatých hnojiv, zbytek dávky se aplikuje v době růstové fenofáze 6 – 8 pravých listů (před zapojením porostu). Dále je důležité dodat P₂O₅ cca 80 kg.ha⁻¹, K₂O 100 – 120 kg.ha⁻¹ v podzimním období, případně před setím (část dávky) (Habán a kol. 2008, Achleitner a kol. 2013). V případě hnojení vápenatými hnojivy je potřeba aktuálního rozboru půd (Kocourková a kol. 2014). Organická hnojiva se nedoporučují. Při silně hnojených půdách dochází k nadměrné tvorbě listů, což vede ke sklizňovým obtížím (Habán a kol. 2008, Achleitner a kol. 2013).

4.1.13 Patogeni

Spitzová (1997), Habán a kol. (2008), Moudrý (2011) uvádějí za významného patogena *Fusarium oxysporum*, který atakuje rostliny v teplých částech. Habán a kol. (2008) doplňují ještě patogena *Pythium*. Oba patogeni způsobují chorobu tracheomykózu (cévní vadnutí). Od fáze listové růžice dochází k symptomům vadnutí, žloutnutí až

hnědnutí, později rostlina nekrotizuje. Účinná ochrana je dřívější setí a moření osiva. Spitzová (1997), Habán a kol. (2008), Moudrý (2011) publikují dále závažnou chorobu plíseň šedou, která se vyskytuje zejména v podhorských oblastech. Patogen se nazývá *Botrytis cinerea* atakuje rostliny v době kvetení a dozrávání. K charakteristickým symptomům patří hnědnutí, usychání, kroucení stonku pod úborem, až dochází k jeho případnému odpadnutí. Kocourková (2008) udává, že k rozvoji choroby přispívá nedodržování osevních postupů, přehoustlé nebo na široko seté porosty. Účinná ochrana je výsev do teplých oblastí, optimální norma výsevu, moření osiva.

K patogenům na ostropestřci se dále řadí *Erysiphe cichoracearum* (Spitzová 1997, Moudrý 2011), které způsobuje bělavé moučnaté povlaky na nadzemních částech rostlin (Kocourková 2008). Achleitner a kol. (2013) dodává, že patogen se vyskytuje dosti zřídka a je ukazatelem mokrých stanovišť. Šafránková a kol. (2015) publikují výskyt padlí na listech a úborech v ČR, napadením úborů došlo k problematickému dozrávání semen, což negativně ovlivnilo výnos a kvalitu nažek.

Spitzová (1997), Moudrý (2011) uvádějí také skvrnitosti, které jsou způsobené patogeny rodu *Alternaria* a *Septoria*.

Kocourková (2008) konstatuje, že rod *Alternaria* zapříčiňuje hnědé, koncentrické skvrny na listech. Atakuje rostliny spíše v pozdních vývojových fázích, a tím už porost významně neohrožuje.

Patogen *Septoria silybi* byl podrobně zkoumán v Íránu. Choroba se projevuje na listech v podobě světle hnědých až šedavých nekrotických skvrn se světlým středem. Skvrny mají v průměru 2 – 5 mm, později splývají (Jamali 2015). Patogen je významný hlavně ve vlhkých deštivých letech a šíří se v podobě pyknospor. Do listu proniká otevřenými průduchy. Biocyklus ani infekční cyklus není zatím detailně prozkoumán. Druhy rodu *Septoria* se přenáší ve formě osiva. Patogen přezimuje na posklizňových zbytcích, přezimujících rostlinách nebo pyknidami na osivu. Studie probíhající v ČR potvrdila výskyt patogena *Septoria silybi*, který by se mohl jevit z hlediska rozrůstajících ploch pěstování ostropestřce jako problematický patogen (Šafránková a kol. 2015).

V USA byla zaznamenána na ostropestřci rez *Puccinia punctiformis* (Karkanis a kol. 2011). Tento patogen byl zjištěn také na listech ostropestřce v ČR. Byly objeveny

pustuly uredo a teliospor biotrofní brachyformní rzi, která často atakuje rostlinu *Cirsium arvense* (L.) Scop. Patogen se vyznačuje jednobuněčnými uredosporami, které jsou kulovité až elipsoidní, na povrchu jemně bradavkaté ($19 - 25 \times 31 - 35 \mu\text{m}$). Dvoubuněčné teliospory jsou stopkaté, elipsoidní, vejčité až hruškovité, ve střední části mírně zaškrčené, povrch jemně bradavkatý ($27 - 31 \times 24 - 28 \mu\text{m}$). Podrobný biocyklus rzi, hlavně vznik systemické infekce není v současné době zcela jasný. Z hlediska výskytu působí patogen pouze okrajově, a proto nemusí být chemická ochrana řešena (Šafránková a kol. 2015). V Řecku byl identifikován přirozeně se vyskytující patogen *Microbotryum silybum* (Karkanis a kol. 2011).

Byl prováděn experiment na výskyt patogenů v semenech ostropestřce, což ovlivňuje klíčení a zdravotní stav. Autoři uvádějí, že k nejrozšířenějším patogenům patří: *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus nigricans* a *Verticillium* spp. (Rosińska a kol. 2013).

V zahraničních publikacích je uvedeno, že ostropestřec mariánský je hostitel pro virus mozaiky okurky (CMV – Cucumber mosaic virus) a virus bronzovitosti rajčete (TSWV – Tomato spotted wilt virus) (Karkanis a kol. 2011).

V platném registru přípravků ČR je v současné době zapsán jeden fungicid s těmito účinnými látkami: dimethomorf, mankozeb (ÚKZÚZ 2016).

4.1.14 Škůdci

Příležitostně na kořenech škodí larvy nosatců (*Curculionidae* sp.), na listech se objevují štítonoši (*Cassida* sp.), při tomto napadení však nedochází k výrazným ekonomickým ztrátám. Zásadním hmyzím škůdcem je babočka bodláková (*Vanessa cardui* syn. *Cynthia cardui*). Motýl přezimuje výhradně v oblastech jižních Alp. Pokud je zima v jižní Evropě a severní Africe mírná, může docházet v některých letech k nárůstu tohoto škůdce v polohách střední Evropy. Housenky první generace ožírají listové čepele ostropestřce a způsobují zřetelné snížení asimilační plochy. Larvy druhé generace se líhnou na přelomu července a srpna, v tomto období však již nedochází k vysokému prahu škodlivosti. V době dozrávání nažek mohou na malých plochách pod 0,25 ha

škodit špačci (*Passer domesticus*) a stehlíci (*Carduelis carduelis*) (Achleitner a kol. 2013).

Dalšími škůdci na ostropestřci jsou drátovci, polyfágní škůdci (housenky motýlů) a *Aphis fabae* (Moudrý 2011). Kromě mšice makové může škodit rovněž mšice bodláková (*Brachycaudus cardui*), dlouháč plevelový (*Tanymecus palliatus*). Ve skladech se může objevovat skladištní škůdce zavíječ paprikový (*Ploidia interpunctella*), proti kterému se používají Instop pásy nebo lze provést asanace skladu (Habán a kol. 2008).

V zahraniční literatuře byli na ostropestřci ještě identifikováni: *Cleonus piger*, *Phytometra gamma*, v Egyptě *Larinus latus*, v Turecku *Ceratapion basicorne*, ve Francii *Phanacis zwolferi* (Andrzejewska a kol. 2006), v Íránu *Dysaphis lappae cynarae* (Karkanis a kol. 2011).

V platném registru přípravků v ČR nejsou v současné době uvedeny žádné povolené insekticidy do ostropestřce (ÚKZÚZ 2016).

4.1.15 Plevel

Uvádí se, že ostropestřec je považován sám za nepříjemný plevel v jiných kulturách. V době těsně před samotnou sklizní mohou jeho dlouhodobě klíčivé, ochmýřené nažky odlétnout do vzdáleného okolí, a tím působit jako plevelná rostlina. Vzhledem k tomu, že ostropestřec roste bujným růstem s velkou listovou pokryvností, má dobré odplevelovací schopnosti (Kocourková a kol. 2014). Zpravidla se proti plevelům používá plečka. V některých zemích jsou proti jednoděložným a dvouděložným plevelům používány herbicidy (Achleitner a kol. 2013). V ostropestřci dochází k zaplevelení především v počátečních fázích růstu. Na hojně zaplevelených pozemcích se mohou aplikovat herbicidy do půdy již před setím. V případě dvouděložných plevelů a jednoletých trav se herbicidy vpravují do třech dní po setí (Habán a kol. 2008).

Zheljazkov a kol. (2006) prováděli polní pokus v Bulharsku, zabývali se studiem vlivů vybraných herbicidů na regulaci plevelů, produktivitu a kvalitu plodiny. Obecně platí, že hubení plevelů zvyšuje obsah silymarinu a snižuje obsah oleje. V experimentu se hodnotila účinnost pro 16 druhů plevelů (11 jednoletých a 5 vytrvalých) např.

Solanum nigrum L., *Chenopodium album* L., *Digitaria sanguinalis* L., *Convolvulus arvensis* L., *Cirsium arvense* L., *Sorghum halepense* (L.) Pers. Nejvíce zastoupené druhy byly *Amaranthus retroflexus* L., *Setaria viridis* L., *Cynodon dactylon* (L.) Pers.

V platném registru přípravků ČR jsou v současné době uvedeny herbicidy s těmito účinnými látkami: desmedifam, ethofumesát, fenmedifam, lenacil, thifensulfuron-methyl, pendimethalin, dimethachlor (ÚKZÚZ 2016).

Při aplikaci chemických přípravků je vždy nutné se řídit platným registrem přípravků na ochranu rostlin, který vede ÚKZÚZ.

4.1.16 Způsob sklizně

Sklizeň je svízelnou součástí celé agrotechniky určující jak výnos, tak kvalitu drogy. Obsah účinných látek je přímo úměrný stupni vyžrání nažek (Spitzová 1997). Na rostlinách dozrávají úbory ve směru od shora dolů a v úboru od středu ven. Při hustém větvení rostlin dochází k nerovnoměrnému dozrávání a k vyšším sklizňovým ztrátám (Moudrý 2011). Sklizeň probíhá pomocí upravené sklízecí mlátičky, kterou musí projít velké množství zelené hmoty. Je potřeba žací lištu sklízecí mlátičky zvednout tak, aby ji procházela cca horní 1/3 – 1/2 rostlin. Z hlediska charakteru a stupně fyziologické zralosti je nutné usměrňovat otáčky ventilátoru. Ostropestřec se sklízí v době neukončeného vývoje rostlin, což způsobuje problémy v separaci nažek od zbytku hmoty (Kocourková a kol. 2014). Období sklizně se udává na přelomu července až srpna. S ohledem na posouzení počtu nažek podle tzv. pappusu, tedy bílého chmýří. Pokud 1/3 úborů v horizontu ukazuje pappus, měla by začít sklizeň (Achleitner a kol. 2013). Základ výnosu představují první 3 – 4 zcela zralé úbory na jedné rostlině (Kocourková a kol. 2014). Prospěšný při sklizni je i mírný déšť, při kterém dochází k uzavření úborů a není tu možnost vypadávání nažek (Achleitner a kol. 2013). Rovnoměrného dozrávání nažek pro průmyslovou izolaci účinných látek docílíme za použití povolených desikantů. Není vhodné aplikovat desikanty v případě přímého terapeutického použití nažek (Habán a kol. 2008). Pro farmaceutický průmysl se používají nažky z cíleně pěstovaných rostlin (Kocourková a kol. 2014).

4.1.17 Posklizňová úprava

Ihned po sklizni je potřeba semena vyčistit a dosušit při teplotě 45 °C, v opačném případě plesniví (Moudrý 2011). Čištění a sušení se provádí v přístrojích nebo je možné semena sušit i na roštech, ale jedná se o složitější způsob sušení (Kocourková a kol. 2014). Poměr sušení je 3 – 4:1 (Habán a kol. 2008). Na základě obsahu oleje se musí ostropestřec dosušet na 8 %, nejlépe na 7 % zbytkové vlhkosti. Dlouhodobé skladování musí být v chladných a suchých prostorech, aby nedocházelo ke žluknutí oleje. Doporučuje se skladování s přidavkem feromonů v dostatečném množství. Výnos nažek je 0,75 – 1 t.ha⁻¹. Droga se balí do velkoobjemových vaků (400 kg) (Moudrý 2011, Achleitner a kol. 2013). Dále z hlediska úpravy posklizňových zbytků nastupuje mechanizace v podobě rozřezání a zaorání (Moudrý 2011). Zbytky se drtí cepovými sklízeči nebo jiným zařízením, které vyprodukuje zaoratelné části. Zaoráním posklizňových zbytků s kompenzační dávkou dusíku 30 – 40 kg.ha⁻¹ dojde k obohacení půdy o organickou hmotu. Je uváděno, že výtěr ostropestřce dosahuje až 20 %, proto je doporučeno semena nechat vyklíčit a zaorat až vzešlé rostliny na podzim při podzimní přípravě půdy (Kocourková a kol. 2014).

4.1.18 Požadavky na kvalitu ostropestřce

Požadavky na kvalitu ostropestřce zpracovávaného ve farmaceutickém průmyslu stanovuje platný Český lékopis v podobě lékopisného článku. Kvalitu u zpracovatelů registrovaných léčiv dozoruje SÚKL. V případě zpracování suroviny pro potravinářské záměry spadají požadavky do potravinářské legislativy, což dozoruje Státní zemědělská a potravinářská inspekce (Branžovský a kol. 2012).

Ostropestřec je uveden v Českém lékopise 2009 jako *Silybi mariani fructus* – plod ostropestřce mariánského. Jedná se o chmýru zbavený zralý plod druhu *Silybum marianum* (L.) GAERTN. Droga nemá žluklý pach. Musí obsahovat nejméně 1,5 % silymarinu, vyjádřeno jako silibinin, vypočítává se podle vzorce (počítáno na vysušenou drogu) (Český lékopis 2009).

Lékopis uvádí dále lékopisný článek *Silybi mariani extractum siccum raffinatum et normatum* (Ostropestřecový extrakt suchý čištěný a standardizovaný). Podle definice je to suchý čištěný a standardizovaný extrakt vyrobený z drogy *Silybi mariani fructus*. Jedná se o žlutohnědý amorfni prášek. Vyrábí se z rostlinné drogy za použití jednoho nebo více rozpouštědel (Český lékopis 2009).

5 MATERIÁL A METODIKA

5.1 Charakteristika genetických zdrojů použitých v pokusech

Genetické zdroje ostropestřce mariánského byly vybrány z položek pěti významných evropských genových bank s cílem zahrnout do zkoumané kolekce zdroje z odlišných zeměpisných lokalit. Vzorky jsou vázány na základě podepsaných smluv o převodu, tzv. Transfer Agreement, s povinností dodržovat sjednaná pravidla.

Tab. 3 – Přehled genetických zdrojů ostropestřce mariánského

| Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Odbor genetiky a šlechtění rostlin Sekce aplikovaného výzkumu zelenin a speciálních plodin Olomouc Centrum regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum Šlechtitelů 586/11 Olomouc – Holice 783 71 Česká republika | | | |
|---|-----------------------|-------------------------------------|---|
| Označení genetického zdroje | EVIGEZ Odrůda | Příjmové číslo původ/původní vzorek | Poznámka |
| 1. | 09A8400001 | 2751 CZE | ŠS Libochovice |
| 2. | 09A8400002 | 2613 DEU | Mnichov |
| 3. | 09A8400004 | 2649 FRA | |
| 4. | 09A8400007 'SILYB' | 3153 CZE | GALENA a.s. Opava |
| 5. | 09A8400008 | 4076 BEL | Botanická zahrada Lovaniensis, Leuven, Belgie |

| | | | |
|---|-----------------------|---|-------------------------------------|
| 6. | 09A8400009 'SILMA' | 4068 POL | |
| 7. | 'SILYB' | 4067 CZE | AGRA GROUP a.s. Střelské Hoštice |
| Növényi Diverzitás Központ (NöDiK) (Výzkumné centrum pro agrobiodiverzitu) Külsőmező 15 Tápiószele H-2766 Maďarsko | | | |
| Označení genetického zdroje | EVIGEZ Odrůda | Příjmové číslo původ/původní vzorek | Poznámka |
| 8. | | 4385 HUN/HUN | RCAT040358 |
| 9. | | 4386 HUN/DDR | RCAT040360 |
| 10. | | 4388 HUN/ESP | RCAT074546 |
| 11. | | 4389 HUN/CAN | RCAT069989 |
| Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) (Leibnizův institut pro rostlinnou genetiku a výzkum kulturních rostlin) OT Gatersleben Corrensstraße 3 Seeland D-06466 Německo | | | |
| Označení genetického zdroje | EVIGEZ Odrůda | Příjmové číslo původ/původní vzorek | Poznámka |
| 12. | | 4395 | Německo |

| | | | |
|---|-------------------------------|---|----------|
| | | DEU | SIL8 |
| 13. | | 4398 DEU | SIL2 |
| Institut za proučavanje lekovitog bilja Dr Josif Pančić (Institut pro výzkum léčivých rostlin „Dr Josif Pančić“) Tadeuša Koščuška 1 Bělehrad 11000 Srbsko | | | |
| Označení genetického zdroje | EVIGEZ Odrůda | Příjmové číslo původ/původní vzorek | Poznámka |
| 14. | 'BĚLEHRAD' | 4443 SER/SER | |
| Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES) (Rakouská agentura pro zdraví a bezpečnost potravin) Wieneringerstraße 8 Linz A-4020 Rakousko | | | |
| Označení genetického zdroje | EVIGEZ Odrůda | Příjmové číslo původ/původní vzorek | Poznámka |
| 15. | BVAL - 901578 'DE PRAHOVA' | 4444 AUT/ROM | |

5.2 Metodika pokusu na stanovišti Citonice

5.2.1 Charakteristika stanoviště Citonice

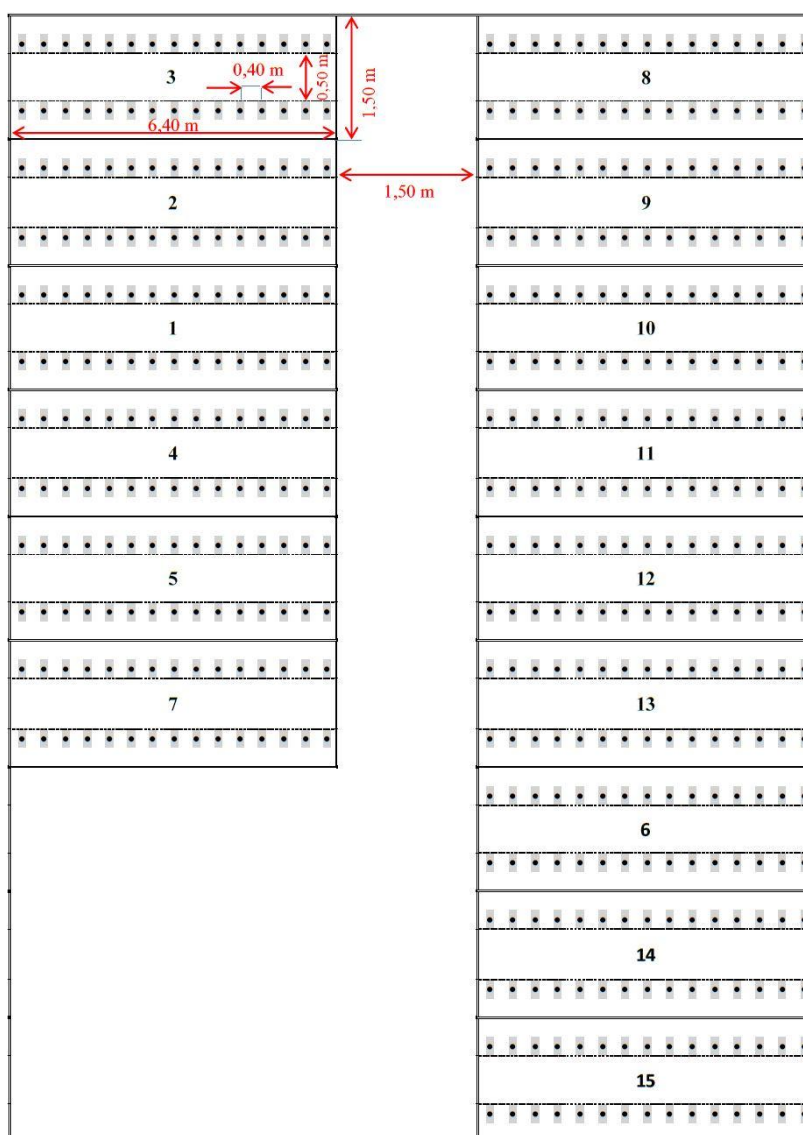
Pokusná lokalita se nachází v katastrálním území obce Citonice, v okrese Znojmo v Jihomoravském kraji. Oblast je situována v nadmořské výšce 360 m n. m. Území založení porostu obklopují nedaleko rostoucí lesy, pole a místní rybníky. Klimatický

region je charakterizován jako teplý, mírně vlhký. Sklon terénu je střední. Půda je hluboká, především bez skeletu, typ půdy černozem (Geoportál sowac – gis 2013).

5.2.2 Založení pokusu

Sled plodin: trvalý travní porost 2012 – ostropestřec 2013 – ostropestřec 2014. Na pozemku Citonice (2013 a 2014) bylo do připravené půdy (podzim – ruční rytí, jaro – úprava hráběmi) ručně vyseto osivo ostropestřce do dvouřádků vzdálených 0,50 m, při vzejití rostlin se provádělo následné vyjednocení na 0,40 m v řádku, což odpovídalo 30 rostlinám z každé položky. Výsev byl proveden 18.4.2013 a 8.4.2014 přímo do půdy. Vývoj rostlin byl sledován každý týden.

5.2.3 Plán pokusu



Obr. 2 – Plán pokusu stanoviště Citonice

5.2.4 Ošetření během vegetace

V roce 2013 nebylo použito pro růst a vývoj rostlin žádné minerální hnojivo. Na jaře roku 2014 bylo do půdy ručně aplikováno minerální hnojivo NPK (v dávce cca 400 – 500 kg.ha⁻¹). Během vegetace roků 2013 a 2014 byl v počátečních fázích porost v případě potřeby zaléván, dále byla provedena okopávka (3 × za vegetaci). Porost byl

během vegetace na základě minimální sady deskriptorů pro ostropestřec sledován z hlediska morfologických znaků (rostlina, list, květenství) a biologických znaků (vegetační doba, náchylnost k biotickým stresům), viz kapitola 5.5 Hodnocené znaky a způsob jejich stanovení. Nad rámec hodnocení byl sledován také atak škůdců. Ochrana rostlin byla provedena již od začátku vegetace pouze proti plzáku španělskému (*Arion lusitanicus*) (VANISH SLUG PELLETS, účinná látka metaldehyd, 15 kg.ha⁻¹, aplikováno po 7 dnech po celou dobu vegetace). Další chemické ošetření přímo na rostliny nebylo provedeno z toho důvodu, že neexistoval žádný povolený insekticid, herbicid ani fungicid v registru přípravků ČR.

5.2.5 Sklizeň

Sklizeň byla prováděna ručně vždy ráno nebo dopoledne v období od července do září. Nejprve byly pomocí zahradnických nůžek odstříhány zralé terminální úbory, potom zralé sekundární úbory (Obr. 3). Každý genetický zdroj byl umístěn do označeného pytle, který byl skladován na větraném a suchém místě bez výskytu skladištních škůdců.



Obr. 3 – Ruční sklizeň zralých úborů

Foto: Koláčková 2013

5.3 Metodika pokusu na stanovišti Olomouc

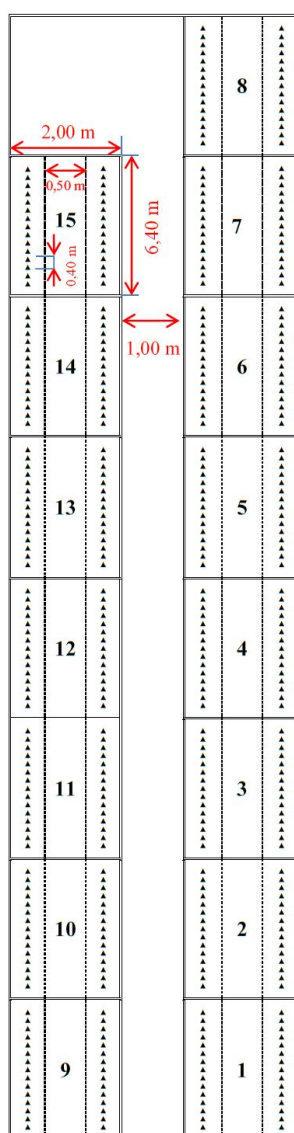
5.3.1 Charakteristika stanoviště Olomouc

Pokusné stanoviště se nachází v katastrálním území Holice u Olomouce, v okrese Olomouc v Olomouckém kraji. Oblast je situována v nadmořské výšce 250 m n.m. Území založení porostu se nachází na okraji města, obklopují ho rozlehlá pole. Klimatický region je charakterizován jako teplý, mírně vlhký. Sklon terénu je rovinný. Půda je hluboká, především bez skeletu, typ půdy kambizem (Geoportál sowac – gis 2013).

5.3.2 Založení pokusu

Sled plodin: letničky (léčivé rostliny) 2012 – ostropestřec 2013, fenykl 2013 – ostropestřec 2014. Na pozemku v Olomouci (2013 a 2014) bylo do připravené půdy (podzim – hluboká orba, jaro – úprava pozemku rotavátorem) ručně vyseto osivo ostropestřce do dvouřádků vzdálených 0,50 m, při vzejití rostlin se provádělo následné vyjednocení na 0,40 m v řádku, což odpovídalo 30 rostlinám z každé položky. Výsev byl proveden 18.4.2013 a 8.4.2014 přímo do půdy. Vývoj rostlin byl sledován každý týden.

5.3.3 Plán pokusu



Obr. 4 – Plán pokusu stanoviště Olomouc

5.3.4 Ošetření během vegetace

Na jaře před výsevem roku 2013 i 2014 bylo do půdy aplikováno pomocí rozmetadla za traktorem minerální hnojivo CERERIT v dávce $500 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. Během vegetace v roce 2014 byl porost zavlažován pomocí průlinčitých hadic (od období vzházení do tvorby terminálního úboru), v roce 2013 nebyla provedena zálivka. Dále byl porost

v meziřadách ošetřován plečkováním pomocí drobné mechanizace (3 ×) a v porostu potom ručním plečkováním a okopáváním (4 ×). Rostliny byly během vegetace na základě minimální sady deskriptorů pro ostropestřec sledovány z hlediska morfologických znaků (rostlina, list, květenství) a biologických znaků (vegetační doba, náchylnost k biotickým stresům), viz kapitola 5.5 Hodnocené znaky a způsob jejich stanovení. Nad rámec hodnocení byl sledován také atak škůdců. Za sledované období nebyl zaznamenán nadměrný výskyt chorob a škůdců vyžadující chemickou ochranu. Pro chemické ošetření porostu ostropestřce neexistoval žádný povolený insekticid, herbicid ani fungicid v registru přípravků ČR.

5.3.5 Sklizeň

Sklizeň byla prováděna ručně vždy ráno nebo dopoledne v období od července do září. Nejprve byly odstříhané pomocí zahradnických nůžek zralé terminální úbory, potom zralé sekundární úbory. Každý genetický zdroj měl označený pytel, který byl skladován v sušárně (Obr. 5) na pracovišti VÚRV v.v.i. Olomouc.



Obr. 5 – Sušárna na pracovišti Olomouc – sušení jednotlivých genetických zdrojů

Foto: Koláčková 2013

5.4 Způsob zpracování vzorků plodů ostropestřce

Úbory byly vymláčeny pomocí stacionární mlátičky Haldrup LT – 20 (Obr. 6). Laboratorní mlátička a čistička byla umístěna v prostorách Mendelovy univerzity v Brně na pracovišti Agronomické fakulty. Vzorky byly vyčištěny a uchovány v papírových obalech pro následné stanovení morfologických a hospodářských znaků uvedených v minimální sadě deskriptorů.




Obr. 6 – Stacionární mlátička Haldrup LT – 20


Foto: Koláčková 2014

5.5 Hodnocené znaky a způsob jejich stanovení

5.5.1 Morfologické znaky

Tab. 4 – *Morfologické znaky – Rostlina*

| Rostlina | | | |
|---|--|-------------------------------------|--------------------------|
| Znak | Metodika | Počet hodnocených rostlin z porostu | Odkaz na fotodokumentaci |
| Rostlina – vzrůst | Zhodnocení: habitu, v době plného květu terminálního úboru | – | Obr. 7 |
|  <p>Obr. 7 – <i>Rostlina – vzrůst</i> Foto: Kolářková 2014</p> | | | |
| Rostlina – výška (cm) | Měřeno: od spodní části rostliny k vrcholu terminálního úboru, v době plného | 10 | Obr. 8 |

| | | | |
|---|---|----|--------|
| | kvetení terminálního úboru | | |
|  | | | |
| <p>Obr. 8 – Rostlina – výška (cm) Foto: Koláčková 2014</p> | | | |
| Rostlina – šířka (cm) | Měřeno: kolmo na směr řádku, v době plného kvetení terminálního úboru | 10 | Obr. 9 |



Obr. 9 – Rostlina – šířka (cm)

Foto: Koláčková 2014

| | | | |
|------------------------------|--|----|---------|
| Rostlina – intenzita větvení | Počítáno: počet plodných větví na rostlině, v době sklizňové zralosti rostliny | 10 | Obr. 10 |
|------------------------------|--|----|---------|



Obr. 10 – Rostlina – intenzita větvení
Foto: Koláčková 2014

| | | | |
|--------------------------------|--|----|---------|
| Rostlina – délka květní lodyhy | Měřeno: od prvního větvení lodyhy po vrchol terminálního úboru | 10 | Obr. 11 |
|--------------------------------|--|----|---------|



Obr. 11 – Rostlina – délka květní lodyhy (cm)
Foto: Koláčková 2014

Tab. 5 – Morfologické znaky – List

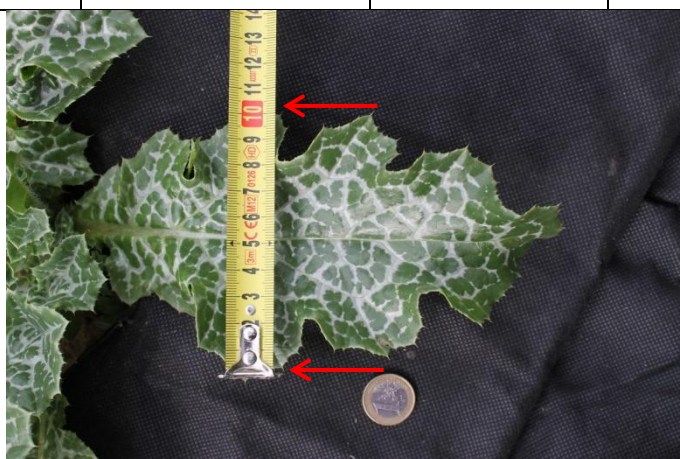
| List | | | |
|-------------------|---|---|-----------------------------|
| Znak | Metodika | Počet hodnocených rostlin z porostu | Odkaz na fotodokumentaci |
| List – délka (cm) | Měřeno: od vrcholu čepel včetně řapíku, v době začátku tvorby generativních orgánů | 10 | Obr. 12 |



Obr. 12 – List – délka (cm)

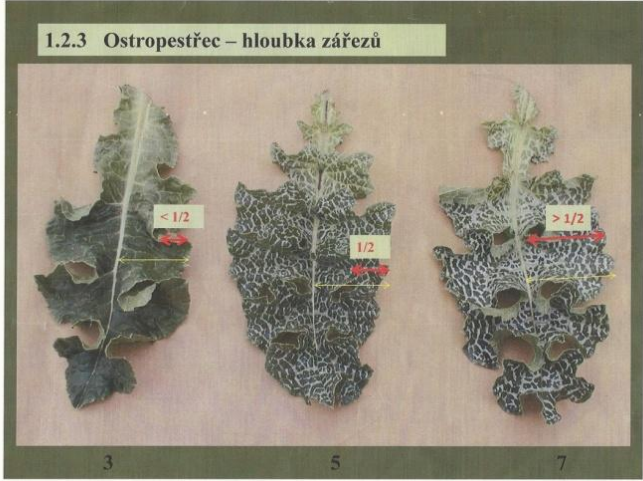

Foto: Koláčková 2014

| | | | |
|-----------------------|---|----|---------|
| List – šířka (cm) | Měřeno: v nejširším místě listu, v době začátku tvorby generativních orgánů | 10 | Obr. 13 |
| List – hloubka zářezů | Měřeno: vzdálenost od okraje listu k hlavní žilce, Porovnání: podle přílohy deskriptorů, v době začátku | – | Obr. 14 |

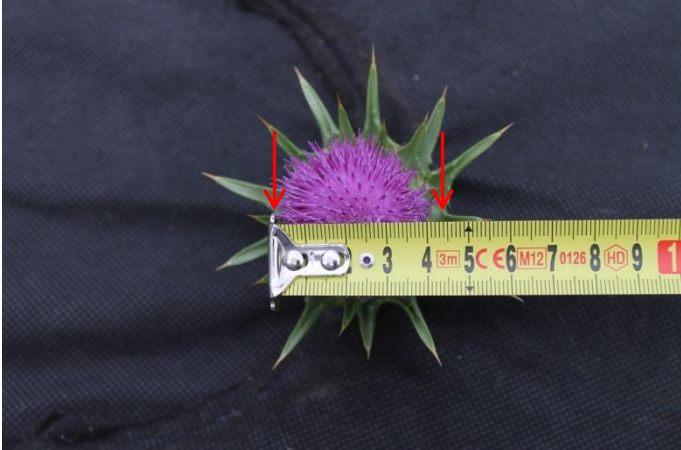


Obr. 13 – List – šířka (cm)

Foto: Koláčková 2014

| | | | |
|---|--|---|---------|
| | tvorby generativních orgánů | | |
|  <p>1.2.3 Ostropestřec – hloubka zářezů</p> | | | |
| Obr. 14 – List – hloubka zářezů | | | |
| List – stupeň mramorování | Porovnání: podle dané stupnice v příloze deskriptorů, v době začátku tvorby generativních orgánů | – | Obr. 15 |
|  <p>1.2.4 List- mramorování</p> | | | |
| Obr. 15 – List – stupeň mramorování | | | |

Tab. 6 – *Morfologické znaky – Květenství*

| Květenství | | | |
|---|--|-------------------------------------|--------------------------|
| Znak | Metodika | Počet hodnocených rostlin z porostu | Odkaz na fotodokumentaci |
| Květenství – průměr (cm) | Měřeno: průměr terminálního úboru, v době jeho kvetení | 20 | Obr. 16 |
|  | | | |
| <p>Obr. 16 – <i>Květenství průměr (cm)</i> Foto: Koláčková 2014</p> | | | |
| Květenství – počet (ks) | Počítáno: počet ostatních nasazených květenství na rostlině (úbory 2. řádu), v době kvetení terminálního úboru | 10 | Obr. 17 |




Obr. 17 – Květenství – počet (ks)
Foto: Koláčková 2014

| | | | |
|--------------------|---|---|---------|
| Květ – barva květů | Porovnání: terminálních úborů podle RHS colour chart, v době květenství | – | Obr. 18 |
|--------------------|---|---|---------|



Obr. 18 – Květ – barva květů
Foto: Koláčková 2013

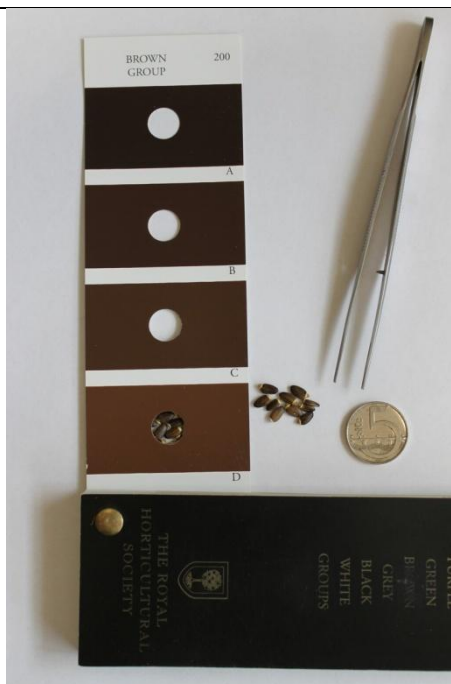
Tab. 7 – Morfologické znaky – Semeno – nažka

| Semeno – nažka | | | |
|---|--|---|-----------------------------|
| Znak | Metodika | Počet hodnocených rostlin z porostu | Odkaz na fotodokumentaci |
| Semeno – délka (mm) | Měřeno: délka nažky bez chmýru, v době po sklizni | 20 | Obr. 19 |
|  <p>Obr. 19 – Semeno – délka (mm) Foto: Koláčková 2014</p> | | | |
| Semeno – šířka (mm) | Měřeno: v nejširší části semene, v době po sklizni | 20 | Obr. 20 |

Obr. 20 – *Semeno – šířka (mm)*

Foto: Koláčková 2014

| | | | |
|--------------|--|---|---------|
| Semeno barva | Porovnání: podle RHS colour chart, v době po sklizni | – | Obr. 21 |
|--------------|--|---|---------|



Obr. 21 – *Semeno barva*
Foto: Koláčková 2014

| | | | |
|--|---|---|---------|
| Výnos semene (g) | Měřeno: hmotnost semen na jednu rostlinu, v době po sklizni | – | Obr. 22 |
|  | | | |
| <p>Obr. 22 – <i>Výnos semene (g)</i> Foto: Koláčková 2014</p> | | | |
| HTS (g) | Měřeno: hmotnost tisíce semen | – | Obr. 23 |



Obr. 23 – HTS (g)
Foto: Koláčková 2014


5.5.2 Biologické znaky

Tab. 8 – Biologické znaky – Vegetační doba

| Vegetační doba | | | |
|--|------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| Znak | Metodika | Počet hodnocených rostlin z porostu | Odkaz na fotodokumentaci |
| Počet dní od výsevu po začátek tvorby generativních orgánů | Počítáno: viz hodnotící znak | – | Obr. 24 |



Obr. 24 – Začátek tvorby generativních orgánů
Foto: Koláčková 2013



| | | | |
|---|---|---|---------|
| Počet dní od výsevu po začátek kvetení terminálních úborů | Počítáno: viz hodnotící znak | – | Obr. 25 |
| |  | | |
| | <p>Obr. 25 – Začátek kvetení terminálního úboru Foto: Koláčková 2013</p> | | |
| Počet dní od výsevu po zralost terminálních úborů | Počítáno: viz hodnotící znak | – | Obr. 26 |



Obr. 26 – Zralost terminálního úboru
Foto: Koláčková 2013

Tab. 9 – Biologické znaky – Náchylnost k biotickým stresům

| Náchylnost k biotickým stresům | | | |
|--------------------------------|---|--|--------------------------|
| Znak | Metodika | Počet hodnocených rostlin z porostu | Odkaz na fotodokumentaci |
| <i>Botrytis cinerea</i> | Stanovení: makroskopické a mikroskopické, v době během vegetace porostu | Podle napadení rostlin v jednotlivých genetických zdrojích | Obr. 27 |
| <i>Septoria silybi</i> | | | Obr. 28 |
| <i>Alternaria silybi</i> | | | – |
| <i>Fusarium oxysporium</i> | | | – |

| | | | |
|--|--|--|------------------|
| <i>Erysiphe communis</i> | | | Obr. 27, Obr. 29 |
|  <p data-bbox="517 891 1139 963">Obr. 27 – <i>Botrytis cinerea</i> a <i>Erysiphe communis</i> Foto: Koláčková 2013</p> | | | |
|  <p data-bbox="668 1641 989 1711">Obr. 28 – <i>Septoria silybi</i> Foto: Koláčková 2013</p> | | | |



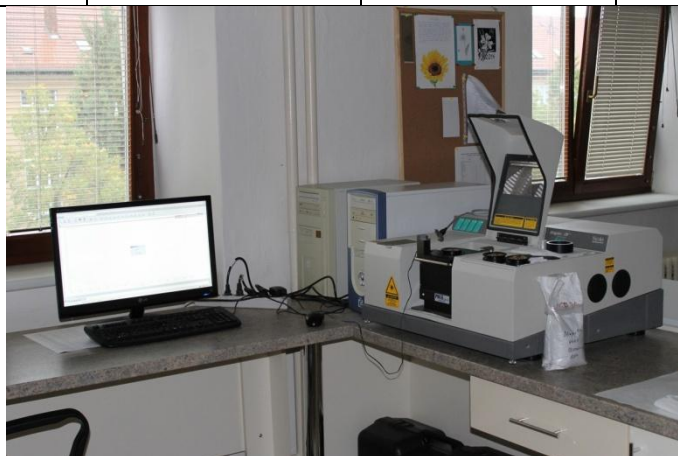
Obr. 29 – *Erisiphe communis*
Foto: Koláčková 2013

5.5.3 Hospodářské znaky

Tab. 10 – *Hospodářské znaky – Biochemické*

| Biochemické znaky | | | |
|---------------------------------|---------------------------|---|-----------------------------|
| Znak | Metodika | Počet hodnocených rostlin z porostu | Odkaz na fotodokumentaci |
| Celkový obsah silymarinu (%) | Stanovení: pomocí HPLC | Homogenizované vzorky podle jednotlivých genetických zdrojů | – |
| Obsah silibininu A (%) | | | – |
| Obsah silibininu B (%) | | | – |
| Obsah isosilibininu A (%) | | | – |
| Obsah isosilibininu B (%) | | | – |
| Obsah silychristinu (%) | | | – |

| | | | |
|---|--------------------------------|--|---------|
| Obsah silydianinu (%) | | | — |
| Obsah oleje (%) | Stanovení: metodou FT – NIR | | Obr. 30 |
| Obsah kyseliny linolové (%) | | | |
| Obsah kyseliny olejové (%) | | | |
| Celkový obsah nasycených mastných kyselin (%) | | | |
| Celkový obsah nenasycených mastných kyselin (%) | | | |
| Celkový obsah polonasycených mastných kyselin (%) | | | |

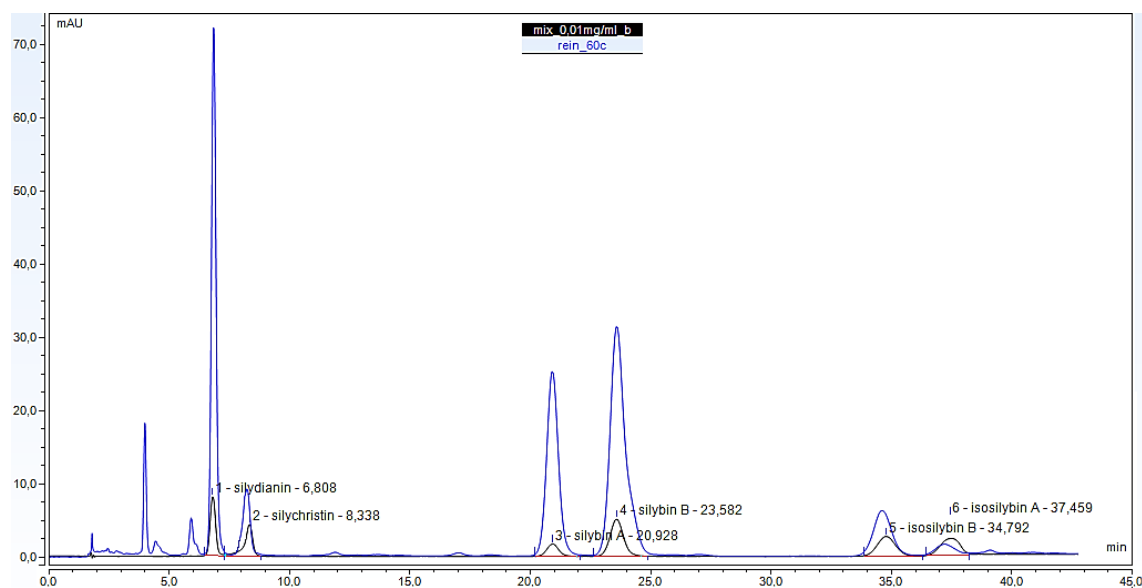


Obr. 30 – Stanovení: metodou FT – NIR
Foto: Koláčková 2014

5.5.3.1 Metodika stanovení obsahu silymarinu a jeho složek

Od každého vzorku bylo naváženo 20 mg semen. Vzorky byly homogenizovány ve třecí misce s přídavkem 0,5 ml isooktanu a 0,5 ml methanolu. Po homogenizaci bylo ke vzorkům přidáno 1,5 ml methanolu a 1 ml isooktanu a 2 ml vzorku bylo centrifugováno po dobu 5 minut, při 14 000 rpm. Z každého vzorku bylo odebráno 0,75 ml spodní fáze a následovala analýza pomocí HPLC.

Analýza byla provedena na kapalinovém chromatografu Dionex Ultimate 3000. Silymarinový komplex byl separován na koloně Hypersil GOLD 150 × 4,6 mm při teplotě 30 °C. Na kolonu bylo dávkováno 5 µl vzorku, analýza byla provedena při průtoku mobilní fáze 1 ml/min, UV detekce při 288 nm. Látky byly eluovány izokratickou elucí 65 % mobilní fáze A (kyselina mravenčí 0,1 %) a 35 % mobilní fáze B (100 % methanol). Doba jedné analýzy byla 45 minut. Analýza byla provedena třikrát.



Obr. 31 – Příklad záznamu chromatografické analýzy vzorku a směšného standardu

5.5.3.2 Metodika stanovení obsahu oleje a obsahu mastných kyselin – Spektroskopie v blízké infračervené oblasti (FT – NIR)

Zásadní průlom metody byl v roce 1968, kdy byla tato technika použita ke stanovení obsahu bílkovin, vody v zrně obilovin a bílkovin, oleje a vody v sójových bobech. V současnosti je metoda na výrazném vzestupu, uplatňuje se zejména v oblasti zemědělství a potravinářství. FT – NIR je nedestruktivní metoda, založená na absorpci záření v blízké infračervené oblasti záření, probíhá v oblasti 700 – 2 500 nm, resp. vlnočtů 12 900 – 4 000 cm^{-1} . FT – NIR pokrývá přechod od viditelné oblasti spektra do střední infračervené. Předností použití FT – NIR pro stanovení různých charakteristik vzorků je celá řada, např. rychlost, přesnost, efektivnost, nízké náklady, ekologická nezávadnost stanovení, vzorek lze určit v přirozeném (semena neztrácí klíčivost) nebo v suchém semletém stavu, při měření se vzorek nespotřebovává. Touto metodou je možné hodnotit kvalitu semen řepky, obilnin, luskovin, výživné hodnoty krmiv, rozbor složení směsných vzorků, monitoring půdních charakteristik (Míka a kol. 2008). Bylo ověřeno, že tato metoda se dá použít při stanovení olejnatosti (%) a obsahu MK (%) u alternativní plodiny jakou je ostropestřec mariánský, kde se olejnatost tímto analyzátozem ještě neprováděla. Analýza byla provedena u každého vzorku třikrát. Metoda využitá v disertační práci je uvedena včetně citace publikace jako jeden z výsledků v kapitole 6 Výsledky.

5.5.4 Obrazová analýza rostlin pro odlišení genetických zdrojů

Pro zvýšení kvality a rozšíření práce byla pro odlišení genetických zdrojů u ostropestřce mariánského využita také obrazová analýza jednotlivých rostlin. V obrazové analýze byly pro diferenciaci zvoleny tyto parametry: index kruhovitosti, délka hlavní osy, délka vedlejší osy, obvod měřeného objektu, plocha měřeného objektu, plocha bílých (světlých) oblastí na měřeném objektu, procento bílých (světlých) oblastí na měřeném objektu, průměr kruhu o stejném obsahu jako je měřený objekt, index zubatosti.

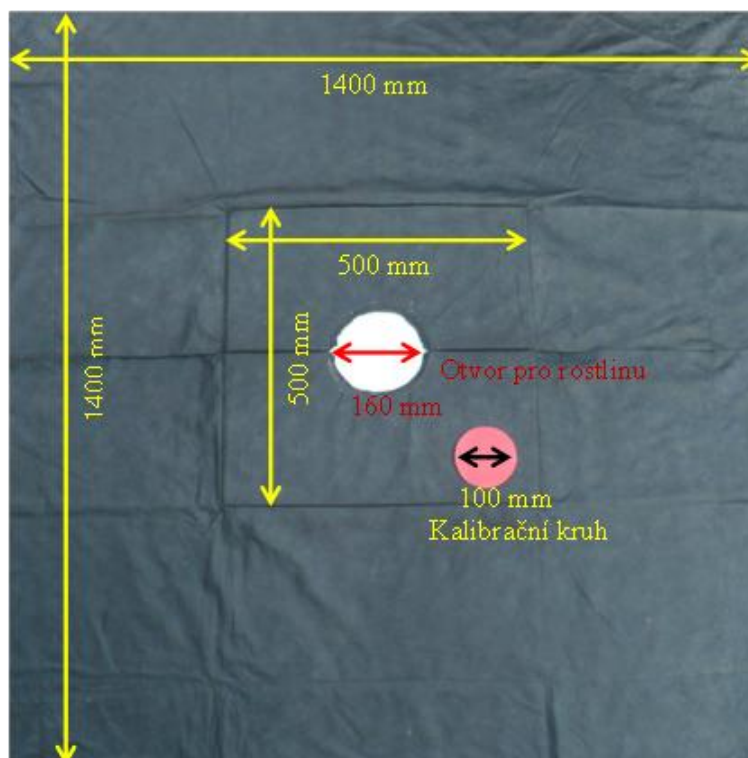
V určitých případech není možné rostlinný materiál přenést do laboratorních podmínek např. proto, že experiment neslouží jen k účelu získání měř rostlin, ale je

třeba rostliny zachovat živé a získat z nich nakonec semena. Zde nastupuje otázka, zda by nebylo možné získat dostatečně kvalitní obrazový materiál přímo v polních podmínkách.

V dalším textu se zaměříme na situaci, kdy budeme uvažovat pouze o běžném vybavení – standardní kompaktní fotoaparát, dostupné možnosti separace a zastínění rostliny či její části. Jistě by bylo možné představit si zřízení mobilní fotolaboratoře, což by ale patrně nebylo ekonomicky únosné. Problematiku analýzy obrazu v polních podmínkách budeme ilustrovat ve shodě s postupy v Hampel a kol. 2016.

5.5.4.1 Podkladový experiment

V polním prostředí nejsou pro získání obrazu vždy stejné podmínky pozadí. Z těchto důvodů byl pro samotnou proveditelnost pokusu vyroben přípravek, tzv. „homogenní clona“ (Obr. 32), pro vytvoření stejného pozadí. Základem pomůcky byly dvě fixní polykarbonátové desky LEXAN (jedna deska byla o rozměrech 500 × 250 × 8 mm), v každé desce byl vyřezán půlkruh (o poloměru 80 mm). Clona byla potažena netkanou textilií černé matné barvy. Pro zvětšení pracovního prostoru a zakrytí nežádoucího viditelného pozadí na snímku byl u každé desky ponechán z netkané textilie ještě flexibilní přesah.



Obr. 32 – Přípravek pro vytvoření pozadí tzv. „homogenní clona“

Foto: Koláčková 2014

Před zdokumentováním každé rostliny byly vždy na bázi pod přízemní listovou růžici na půdu položeny obě clony tak, aby rostlinu obejmuly. Vznikla tedy homogenní plocha ve tvaru čtverce o rozměrech 1 400 × 1 400 mm. Dále byl vyroben z červené a bílé PVC fólie kalibrační kruh (o průměru 100 mm), který se přikládal na clonu.

Pro získání parametrů image analýzy u ostropestřce byla určena růstová fáze tvorby přízemní listové růžice, tzn. před příchodem rostliny do fáze dlouhivého růstu.

Postup vytvoření snímku:

- 1) Aplikace „homogenní clony“ pod přízemní listovou růžici rostliny.
- 2) Přiložení kalibračního kruhu (červené nebo bílé barvy) do pravého dolního rohu na clonu.

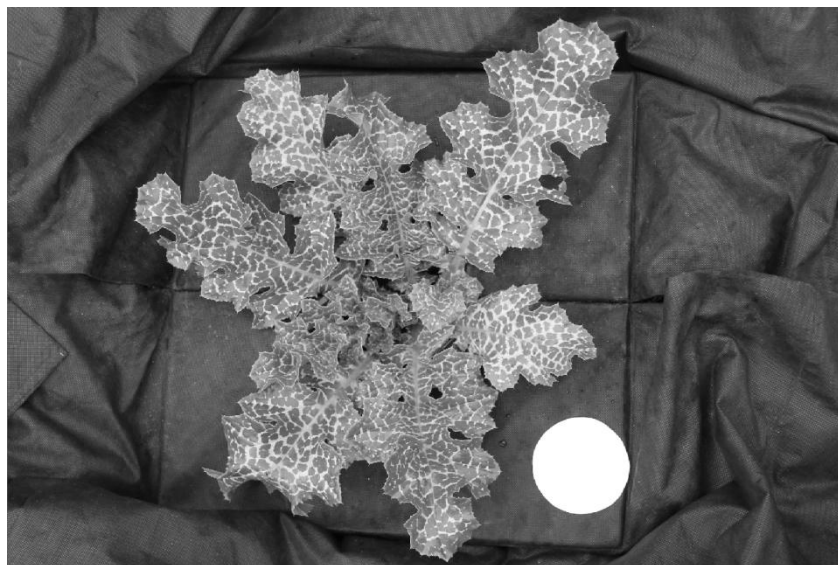
- 3) Ověření správnosti zobrazení cílené rostliny na snímku v digitálním fotoaparátu (model – Canon EOS 1100D). Obrazy byly pořízeny v rozlišení 4272 × 2848 obrazových bodů.
- 4) Pořízení fotografií požadovaného objektu a automatické uložení snímku na paměťovou kartu v digitálním fotoaparátu. U každé rostliny bylo pro případ snížení chybovosti např. techniky nebo výzkumníka vyfoceno více snímků pro možnost výběru nejlepšího snímku pro nasazení obrazové analýzy.

Pro obrazovou analýzu bylo zdokumentováno všech 15 genetických zdrojů ostropestřce za dva pěstitelské ročníky (2013 a 2014) na obou lokalitách (Jihomoravský a Olomoucký kraj). U každého genetického zdroje bylo vyhodnoceno 20 snímků u různých rostlin.

5.5.4.2 *Postup analýzy obrazu*

Na základě analýz velkého množství obrazů pořízených za různých experimentálních podmínek (zejména intenzita a směr slunečního světla) bylo zjištěno, že postupy s úspěchem použité v případě obrazů pořízených v laboratorním prostředí nebudou pro obrazy pořízené v polním prostředí univerzálně použitelné.

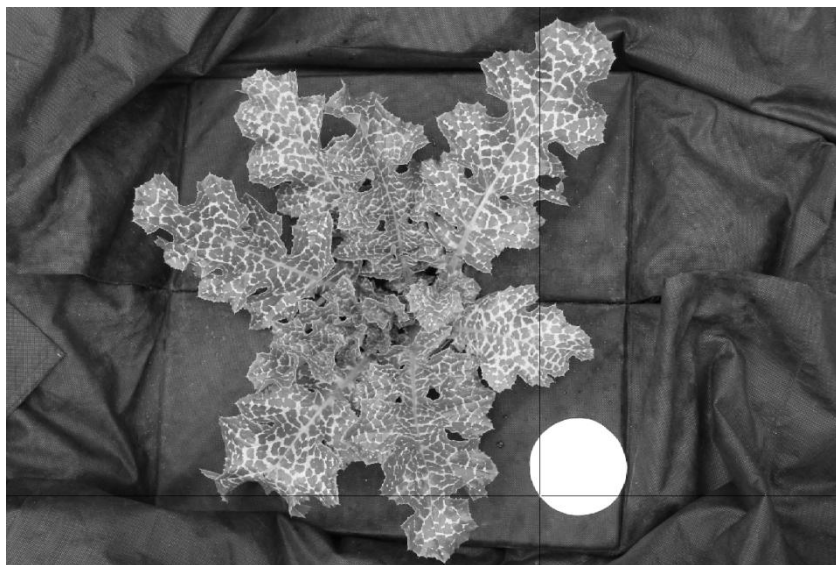
Budeme prezentovat postup, který je použitelný obecně, ovšem na úkor automatizace hromadného zpracování velkého množství obrazů. V praxi lze zvolit různou míru manuálních zásahů a automatizovaných postupů. V případě obrazové analýzy ostropestřce vyjdeme z obrazu převedeného do stupňů šedé, viz Obr. 33.



Obr. 33 – *Výchozí obraz převedený do stupňů šedi*

Foto: Koláčková 2014, Upraveno: Hampel

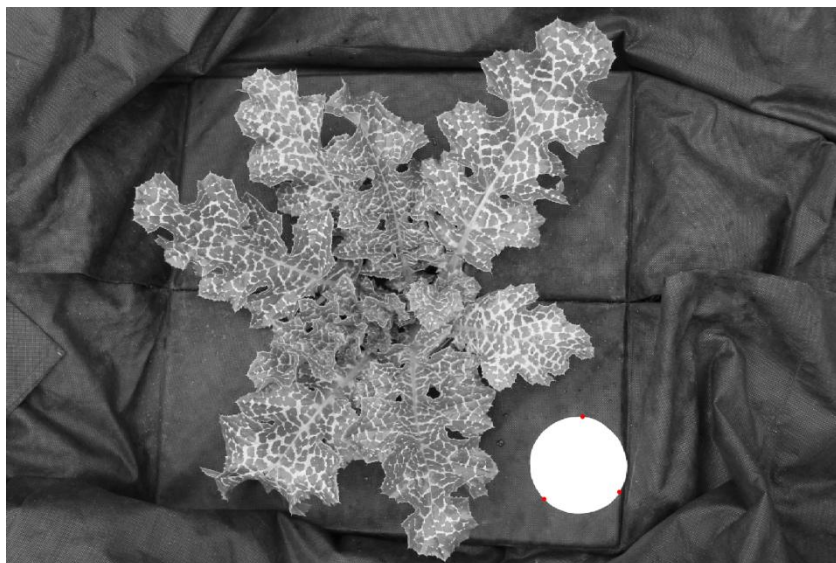
Nejprve zjistíme rozměr obrazového bodu pomocí analýzy kalibračního objektu. Budeme uvažovat o situaci, kdy bude obraz tak nekvalitní, že kalibrační objekt nebude možné automaticky detekovat, popř. nebude jej možné detekovat v dostatečné kvalitě. Na hraně kalibračního objektu vyznačíme pomocí vodících linek, viz Obr. 34, tři body.



Obr. 34 – Vyznačování bodů na okraji kalibračního objektu. Na horním okraji kalibračního kruhu jsou patrné vodící linky určující umístění bodu

Foto: Kolářková 2014, Upraveno: Hampel

Volíme takové umístění bodů, kdy budou tyto body tvořit vrcholy pomyslného přibližně rovnostranného trojúhelníku, viz Obr. 35. Jiné (bližší) rozmístění bodů je možné, ale zvýší se tím nepřesnost určení rozměru obrazového bodu.



Obr. 35 – Vyznačené body na okraji kalibračního objektu

Foto: Koláčková 2014, Upraveno: Hampel

Označme získané body jako A , B a C a jejich souřadnice jako $A[x_A; y_A]$, $B[x_B; y_B]$ a $C[x_C; y_C]$. Tyto body budeme interpretovat jako vrcholy trojúhelníku se základnou AB . Délku strany BC získáme jako

$$a = \sqrt{(x_B - x_C)^2 + (y_B - y_C)^2}$$

a délku strany AC jako

$$b = \sqrt{(x_A - x_C)^2 + (y_A - y_C)^2}.$$

Pro přímkou na níž leží body A a B určíme směrový vektor

$$(x_B - x_A; y_B - y_A),$$

normálový vektor

$$(y_B - y_A; -(x_B - x_A))$$

a nakonec její obecnou rovnicí

$$(y_B - y_A)x - (x_B - x_A)y - ((y_B - y_A)x_A - (x_B - x_A)y_A) = 0.$$

Dále určíme vzdálenost této přímky od bodu C (neboli výšku na stranu c) jako

$$v_c = \left| \frac{(y_B - y_A)x_C - (x_B - x_A)y_C - ((y_B - y_A)x_A - (x_B - x_A)y_A)}{\sqrt{(y_B - y_A)^2 + (x_B - x_A)^2}} \right|.$$

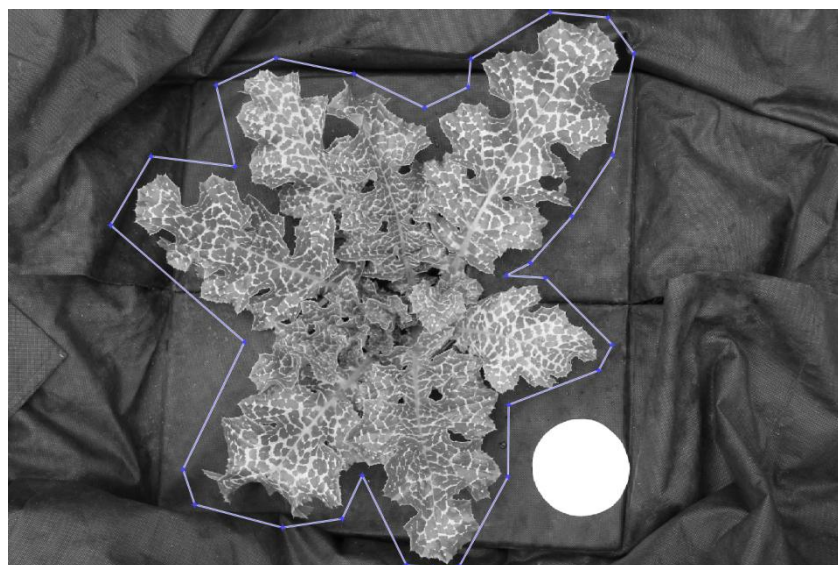
Nakonec získáme poloměr kalibračního kruhu r vyjádřený v obrazových bodech jako

$$r = \frac{ab}{2v_c}$$

a protože víme, že průměr skutečného kalibračního kruhu je 10 cm, dostaneme rozměr obrazového bodu v centimetrech jako

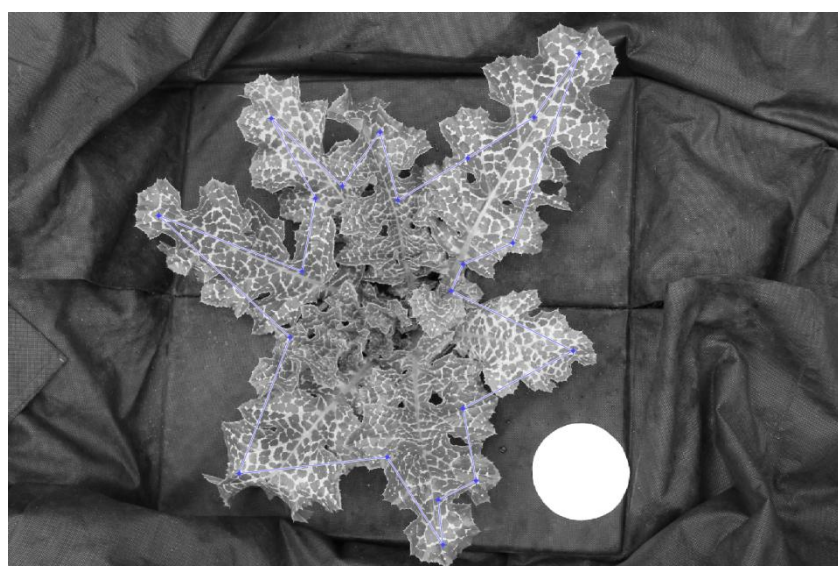
$$\frac{10}{2r}.$$

Nyní se zaměříme na detekci hranic měřeného objektu. Opět budeme předpokládat velmi nekvalitní obraz. Vymežíme vnější hranice měřeného objektu (Obr. 36) a poté vnitřní hranice měřeného objektu (Obr. 37). Přesnost jejich vymezení závisí na kvalitě podkladového obrazu. Prakticky se osvědčilo dosti hrubé vymezení hranic objektu s tím, že v případě problematičtějších oblastí sousedících s okrajem měřeného objektu (zašpiněná podložka) se určení hranic zjemní.



Obr. 36 – *Vymezení vnější hranice měřeného objektu*

Foto: Koláčková 2014, Upraveno: Hampel



Obr. 37 – *Vymezení vnitřní hranice měřeného objektu*

Foto: Koláčková 2014, Upraveno: Hampel

Vymezené hranice využijeme následujícím způsobem, viz Obr. 38: Polygon určující vnitřní hranici vyplníme identifikátorem pro objekt (v našem případě logická 1, na obrázku bílou barvou). Prostor mezi okrají obrazu a polygonem určujícím vnější

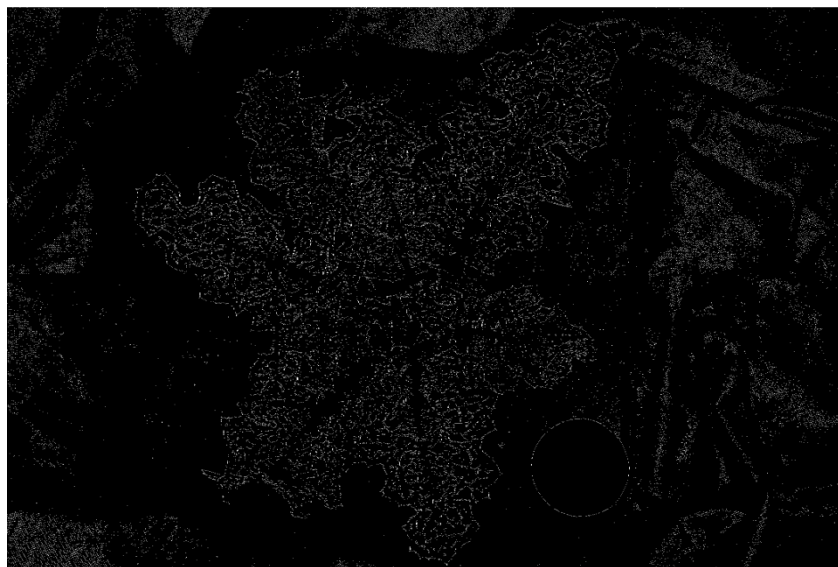
hranici vyplníme identifikátorem pozadí (v našem případě logická 0, na obrázku černou barvou). Na zbylém prostoru provedeme identifikaci hran s vhodně nastavenými parametry podobně jako při analýze obrazu pořízeného v laboratorních podmínkách.



Obr. 38 – *Hranice objektu identifikované v prostoru mezi určenou vnitřní a vnější hranicí (jemná čára) a polygon daný určenou vnitřní hranicí objektu (bílá plocha)*

Foto: Koláčková 2014, Upraveno: Hampel

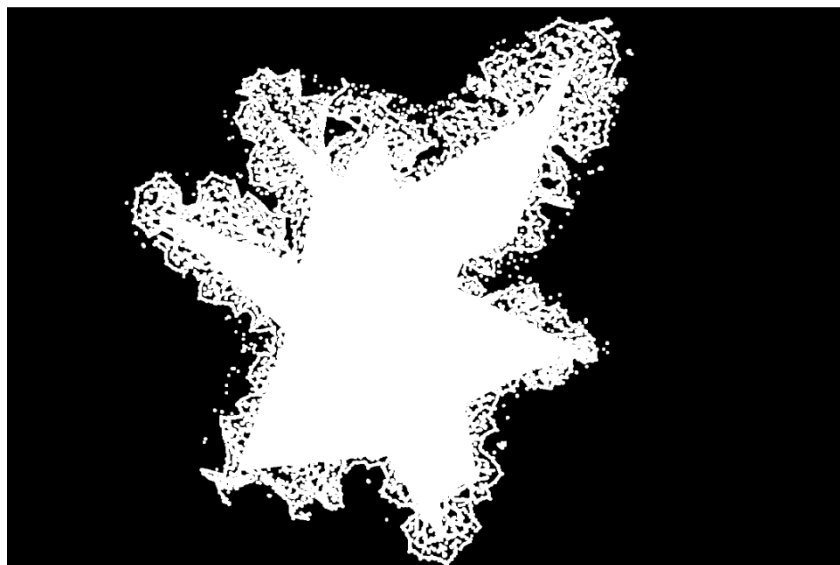
Pokud by byl obraz dostatečně kvalitní, šlo by pomocné vymezení vnějšího a vnitřního obrazu vypustit a přímo hledat hranice objektů umístěných v obrazu, viz Obr. 39. Následný postup by byl totožný, viz další text.



Obr. 39 – *Identifikace hranic objektu bez využití vnitřního a vnějšího přibližného obrysu*

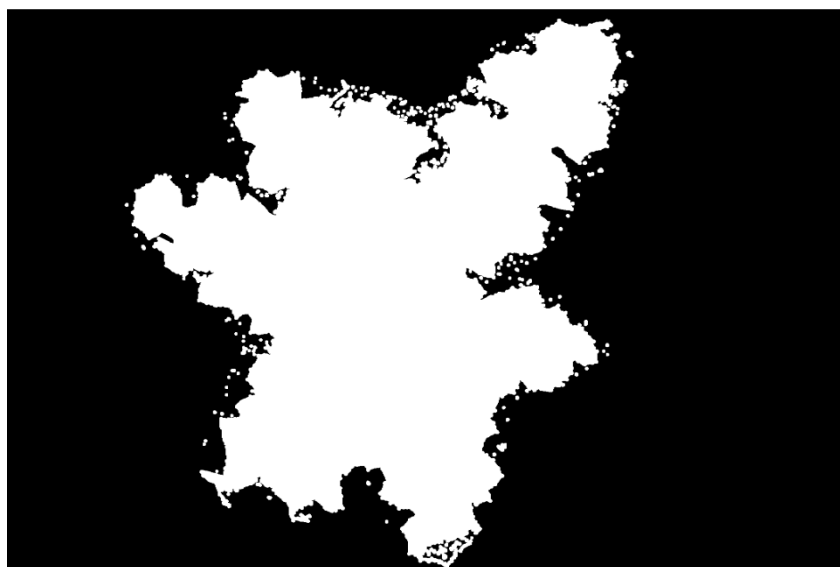
Foto: Koláčková 2014, Upraveno: Hampel

Hranice objektu nemusí být spojitá. Abychom získali spojitou hranici (prakticky může dojít k několika málo nespojitostem, které způsobí chybné určení hranice), provedeme dilataci s vhodně nastavenými parametry. Výsledek je ilustrován na Obr. 40. Zejména v levé části obrázku jsou patrné drobné samostatné objekty interpretovatelné jako nečistota clony. V dalším kroku vyplníme uzavřené oblasti, viz Obr. 41.



Obr. 40 – *Dilatace obrazu*

Foto: Koláčková 2014, Upraveno: Hampel

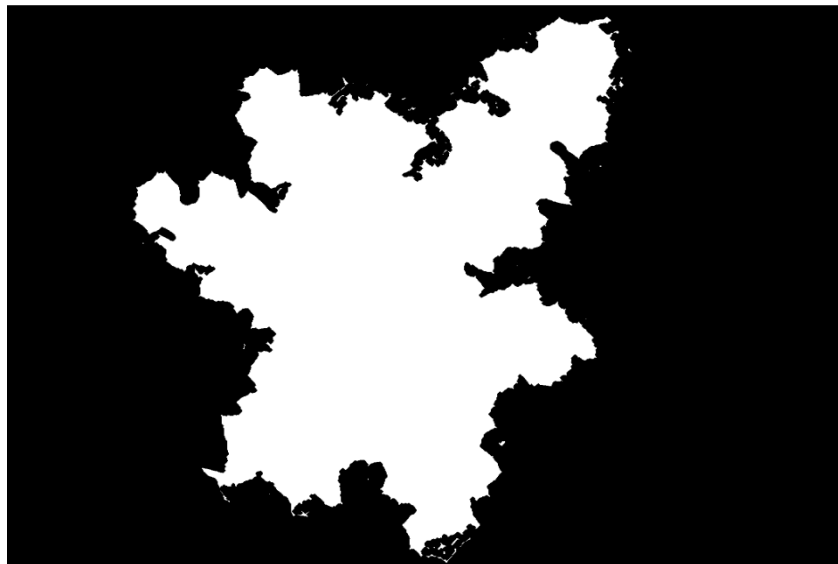


Obr. 41 – *Vyplnění uzavřených oblastí obrazu*

Foto: Koláčková 2014, Upraveno: Hampel

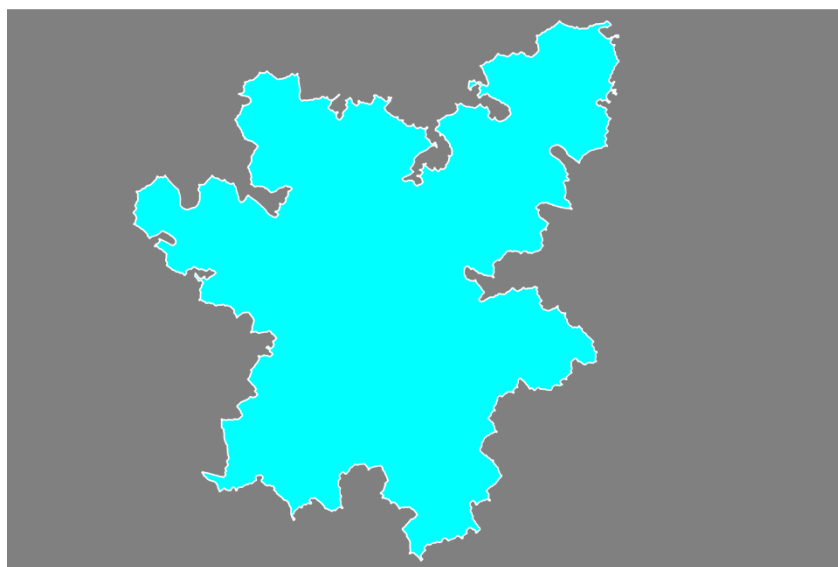
Následně provedeme erozi obrazu s parametry nastavenými tak, abychom docílili jednak eliminace nečistot, jednak navrácení celkových rozměrů do stavu obrazu

před dilataci, viz Obr. 42. Posledním krokem je identifikace objektů na obraze a identifikace měřeného objektu, viz Obr. 43.



Obr. 42 – *Eroze obrazu*

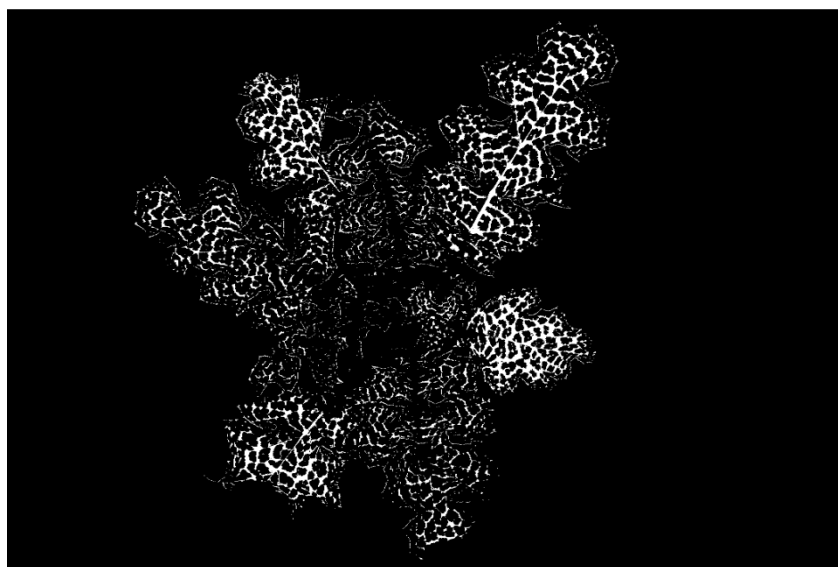
Foto: Koláčková 2014, Upraveno: Hampel



Obr. 43 – *Identifikace měřeného objektu*

Foto: Koláčková 2014, Upraveno: Hampel

Pro analýzu listové růžice ostropestřce provedeme ještě dodatečnou operaci, a to zjištění plochy bílé (světlé) barvy na listové růžici. Omezíme se pouze na identifikovanou plochu měřeného objektu. Zde provedeme vhodně nastavené prahování. Zjistíme počet obrazových bodů označených jako bílé; jelikož známe jejich rozměr, známe též jejich plochu, a tudíž je zde zjištění celkové plochy bílé snadnou záležitostí. Identifikované bílé plochy na listové růžici jsou ilustrovány na Obr. 44.



Obr. 44 – *Identifikace bílých (světlých) ploch na listové růžici*

Foto: Koláčková 2014, Upraveno: Hampel

Pro popis listové růžice ostropestřce použijeme následujících 9 měr:

1. Index kruhovitosti, který definujeme pomocí vzorce

$$\frac{4\pi S}{o^2},$$

kde S je plocha měřeného objektu a o je jeho obvod. Index kruhovitosti blízký 1 znamená, že objekt má tvar blízký kruhu.

2. Délka hlavní osy elipsy mající stejný normalizovaný druhý centrální moment² jako měřený objekt.

3. Délka vedlejší osy elipsy mající stejný normalizovaný druhý centrální moment jako měřený objekt.

4. Obvod měřeného objektu.

5. Plocha měřeného objektu.

6. Plocha bílých (světlých) oblastí na měřeném objektu.

7. Procento bílých (světlých) oblastí na měřeném objektu získané jako podíl plochy bílých (světlých) oblastí na měřeném objektu ku celkové ploše měřeného objektu násobený 100.

8. Průměr kruhu o stejném obsahu jako je měřený objekt.

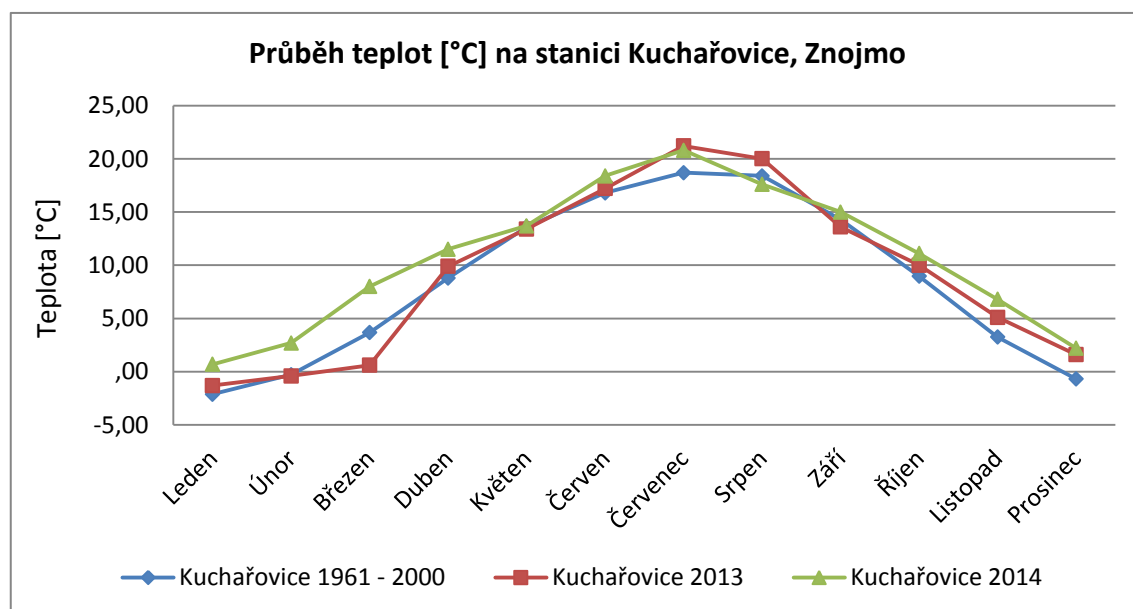
9. Index zubatosti definovaný jako podíl obvodu měřeného objektu a obvodu kruhu o stejném obsahu jako je měřený objekt. Index zubatosti blízký 1 znamená, že listová růžice při pohledu shora nemá výrazné samostatné listy (Hampel a kol. 2016).

²Definice normalizovaného druhého centrálního momentu v tomto kontextu je uvedena např. v (Hornberg 2007).

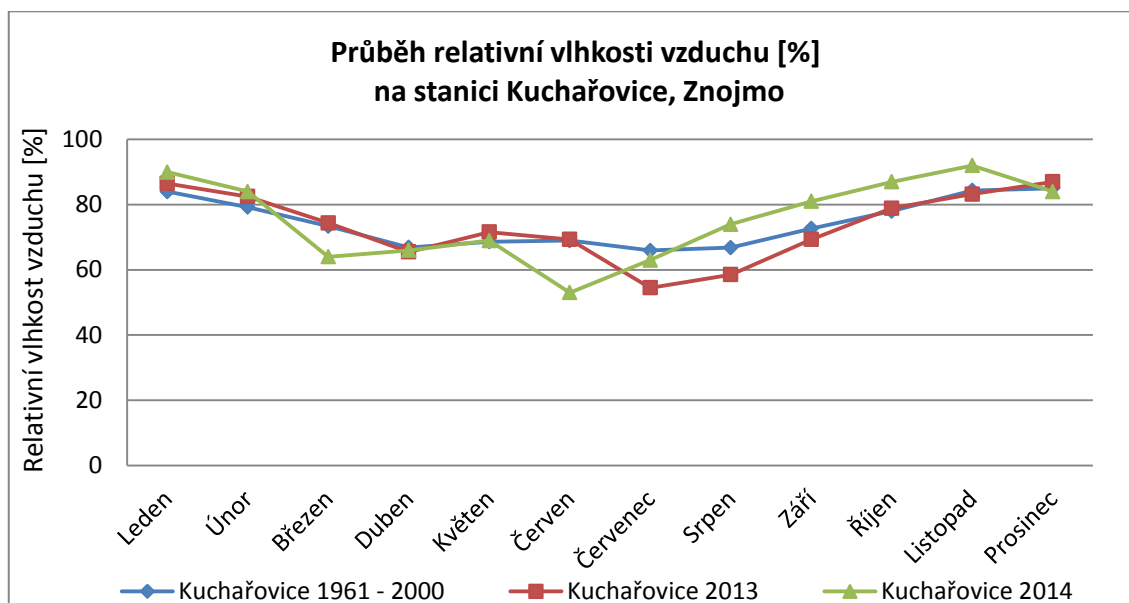
6 VÝSLEDKY

6.1 Pokus na stanovišti Citonice

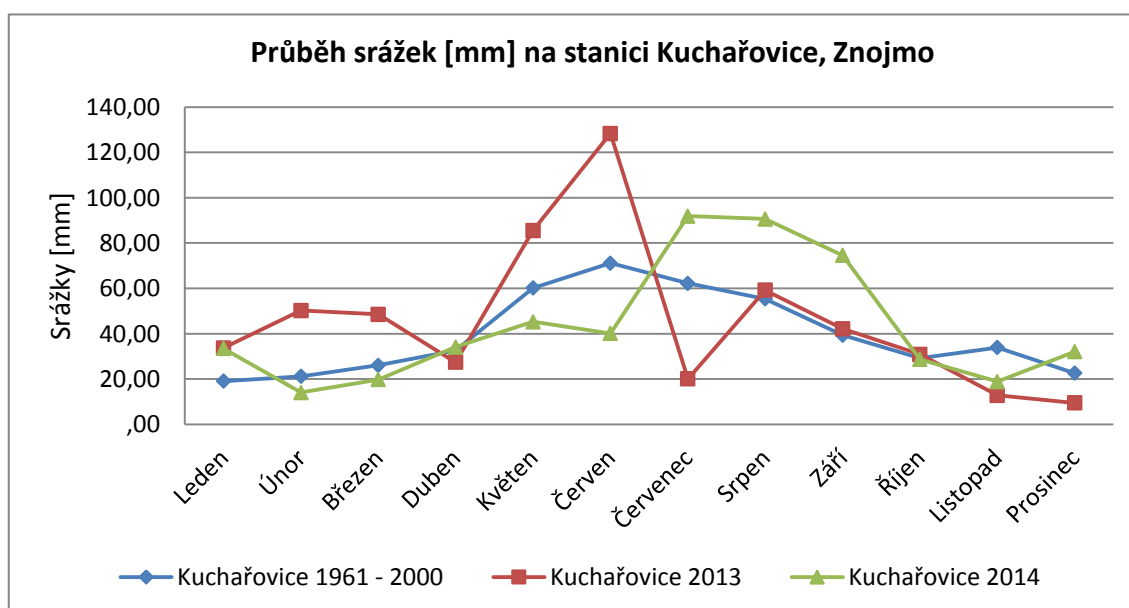
V uváděných čtyřech obrázcích (Obr. 45, 46, 47 a 48) jsou uvedeny hodnoty z ČHMÚ: průběh teplot [°C], průběh relativní vlhkosti vzduchu [%], průběh srážek [mm] a průběh délky slunečního svitu [h] měřené na stanici Kuchařovice (Znojmo); tato stanice je v blízkosti stanoviště Citonice. Níže uvedený komentář hodnotí průběh počasí pouze za vegetační sezónu rostlin.



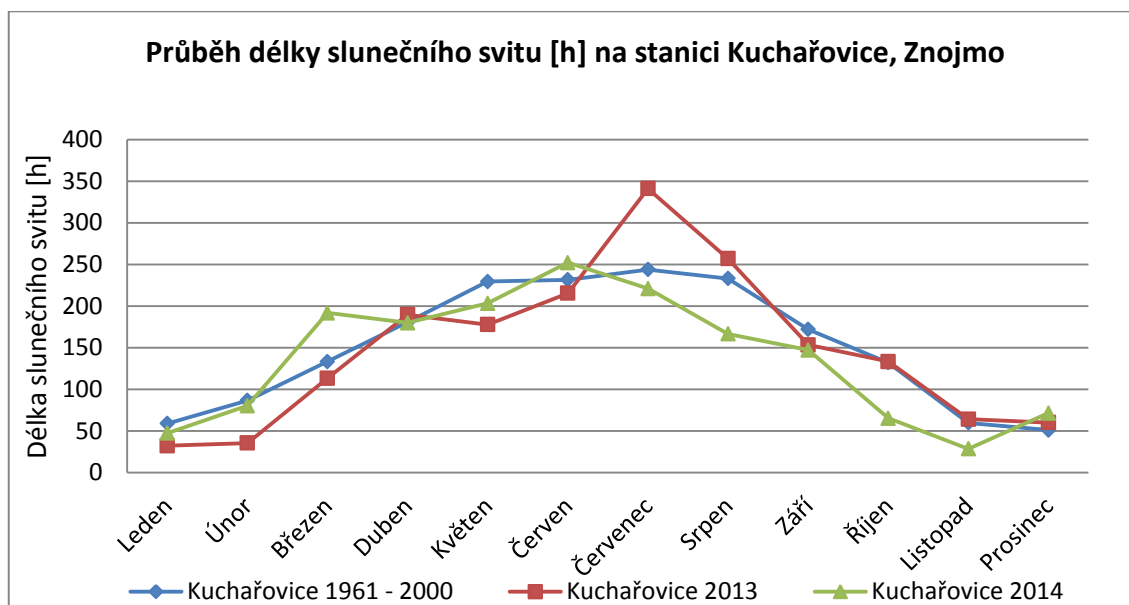
Obr. 45 – Průběh teplot [°C] na stanici Kuchařovice, Znojmo



Obr. 46 – Průběh relativní vlhkosti vzduchu [%] na stanici Kuchařovice, Znojmo



Obr. 47 – Průběh srážek [mm] na stanici Kuchařovice, Znojmo



Obr. 48 – Průběh délky slunečního svitu [h] na stanici Kuchařovice, Znojmo

Z obrázků (Obr. 45 – 48) vyplývá:

- Teplota [°C] za roky 2013 a 2014 se během vegetačního období rostlin výrazně nelišila, oba roky vykazují spíše průměrné nebo nadprůměrné hodnoty. Zejména v měsíci červenci 2013 a 2014 byly hodnoty nad normálovým záznamem. Teplotní maximum připadalo za rok 2013 a za rok 2014 na červenec (21,2 °C, 20,8 °C). Minimum teplot bylo dosaženo za rok 2013 a za rok 2014 v dubnu (9,9 °C, 11,5 °C).
- Relativní vlhkost vzduchu [%] z hlediska sledování mezi roky 2013 a 2014 byla v některých měsících odlišná, docházelo k podprůměrnému i nadprůměrnému kolísání. V roce 2013 nabývala relativní vlhkost vzduchu v měsících duben, květen, červen téměř srovnatelných hodnot s normálovým záznamem. V měsíci červenci, srpnu a září byly naměřeny nižší hodnoty než normálový údaj. Relativní vlhkost vzduchu za rok 2014 se v měsících duben a květen výrazně nelišila od normálových hodnot za dlouhodobé období. V měsíci červnu byla udána nejnižší naměřená hodnota, v červenci docházelo k vyrovnání výkyvu a v měsících srpnu a září se pohybovaly hodnoty nad normálovým záznamem. Maximum relativní vlhkosti vzduchu bylo naměřeno v roce 2013 v květnu

- (71,6 %), v roce 2014 v září (81,0 %). Minima relativní vlhkosti vzduchu bylo naměřeno za rok 2013 v červenci (54,5 %) a za rok 2014 v červnu (53,0 %).
- Srážky [mm] za oba roky 2013 a 2014 dosahovaly značných výkyvů v rozdílných měsících. V roce 2013 nabývaly srážky podobných hodnot pouze v měsících dubnu, srpnu a září v posouzení s normálovými údaji. Během května došlo ke zvýšení úhrnu srážek, v červnu (128,3 mm) a červenci (20,1 mm) můžeme pozorovat maximum a minimum za rok 2013. V roce 2014 lze sledovat, že duben byl jediný měsíc srovnatelný se srážkovým normálem, měsíce květen, červen byly podprůměrné ve srážkové intenzitě. Vydatnější srážkový úhrn byl v roce 2014 v měsících červenec, srpen, září. Maximum a minimum srážkového úhrnu za rok 2014 lze sledovat v červenci (91,9 mm) v dubnu (34,1 mm).
 - Délka slunečního svitu [h] v roce 2013 byla, co se týká výkyvů kolísavější než během roku 2014. V měsíci dubnu byla intenzita slunečního svitu za oba roky srovnatelná s normálovými údaji. Za rok 2013 v měsících květen, červen a září dosahovala vydatnost slunečního svitu podprůměrných normálových hodnot. Naopak v měsíci červenci a srpnu byly naměřeny nadprůměrné hodnoty vůči normálovým záznamům. V roce 2014 byla vydatnost slunečního svitu za měsíce květen, červenec, srpen a září v porovnání s normálovými údaji podprůměrná. V měsíci červnu trvala délka slunečního svitu nejdéle v daném roce. Maximální délky slunečního svitu bylo naměřeno za rok 2013 v červenci (341,3 h) a za rok 2014 v červnu (252,2 h). Minimální délky slunečního svitu bylo dosaženo za oba roky 2013 a 2014 v září (153,3 h, 147,1 h).

Obě vegetační sezóny za rok 2013 a rok 2014 hodnotím jako příznivé z hlediska průběhu počasí pro pěstování ostropestřce na dané lokalitě. V minimální sadě deskriptorů pro ostropestřec je nutné sledovat především výskyt patogenů: *Botrytis cinerea*, *Septoria silybi*, *Alternaria silybi*, *Fusarium oxysporium*, *Erysiphe communis*. I když atak škůdců nebyl jeden z požadovaných znaků, i přesto jsem pro rozšíření dizertační práce tuto problematiku sledovala. V porostu se u některých GZ objevila v době kvetení terminálního úboru mšice maková (*Aphis fabae* Obr. 49),



Obr. 49 – *Mšice maková (Aphis fabae)*

Foto: Koláčková 2013

dále zejména listy všech GZ od počátku do konce sklizně atakoval plzák španělský (*Arion lusitanicus* Obr. 50) a v době téměř před sklizní zralých úborů napadala porost hejna stehlíků obecných (*Carduelis carduelis* Obr. 51).



Obr. 50 – *Plzák španělský (Arion lusitanicus)*

Foto: Koláčková 2013

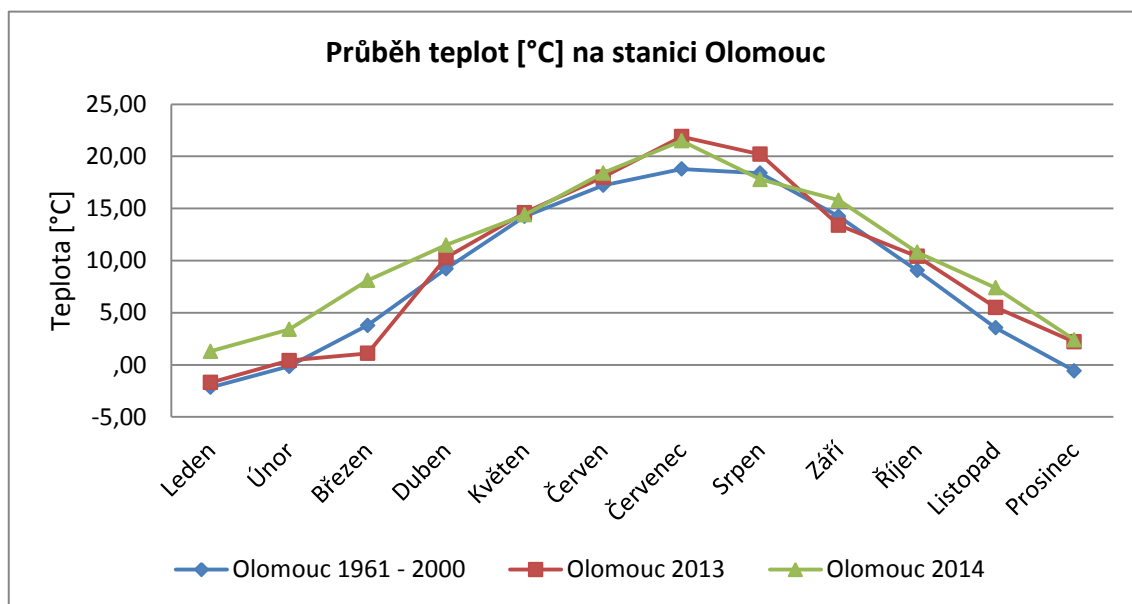


Obr. 51 – *Vyzobané nažky v úboru od stehlíků obecných (Carduelis carduelis)*

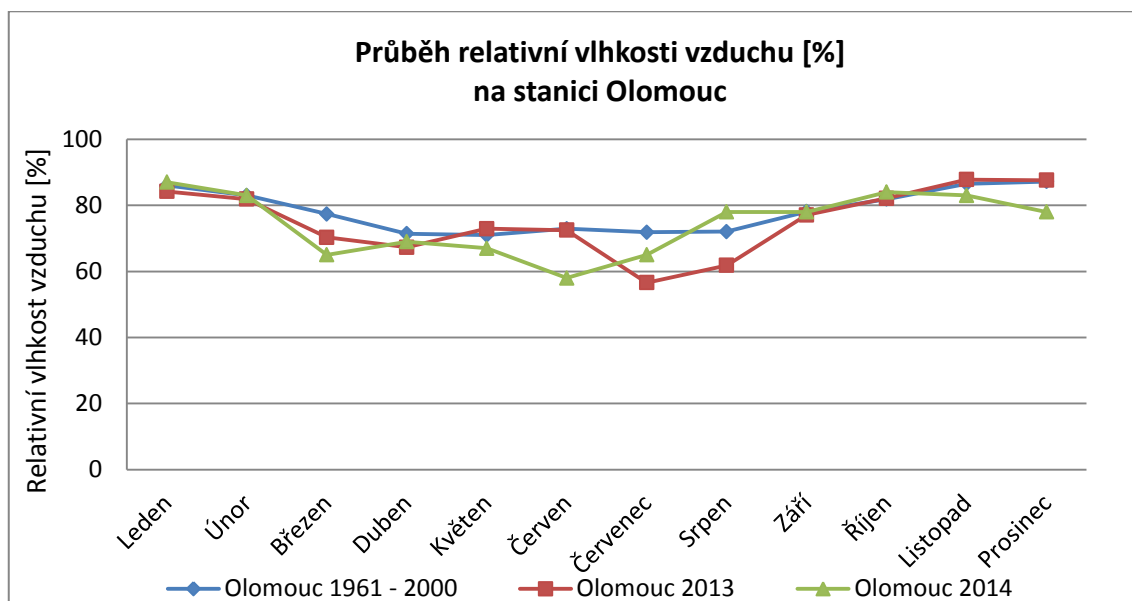
Foto: Koláčková 2014

6.2 Pokus na stanovišti Olomouc

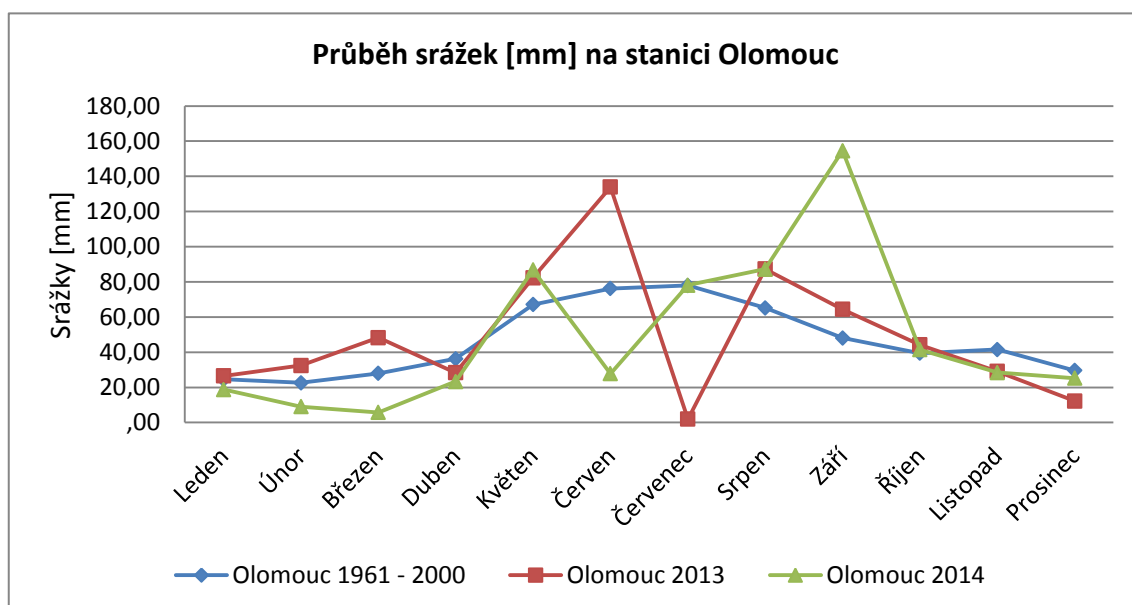
V uváděných čtyřech obrázcích (Obr. 52, 53, 54 a 55) jsou uvedeny hodnoty z ČHMÚ: průběh teplot [°C], průběh relativní vlhkosti vzduchu [%], průběh srážek [mm], průběh délky slunečního svitu [h] měřené na stanici Holice (Olomouc). Níže uvedený komentář hodnotí průběh počasí pouze za vegetační sezónu rostlin.



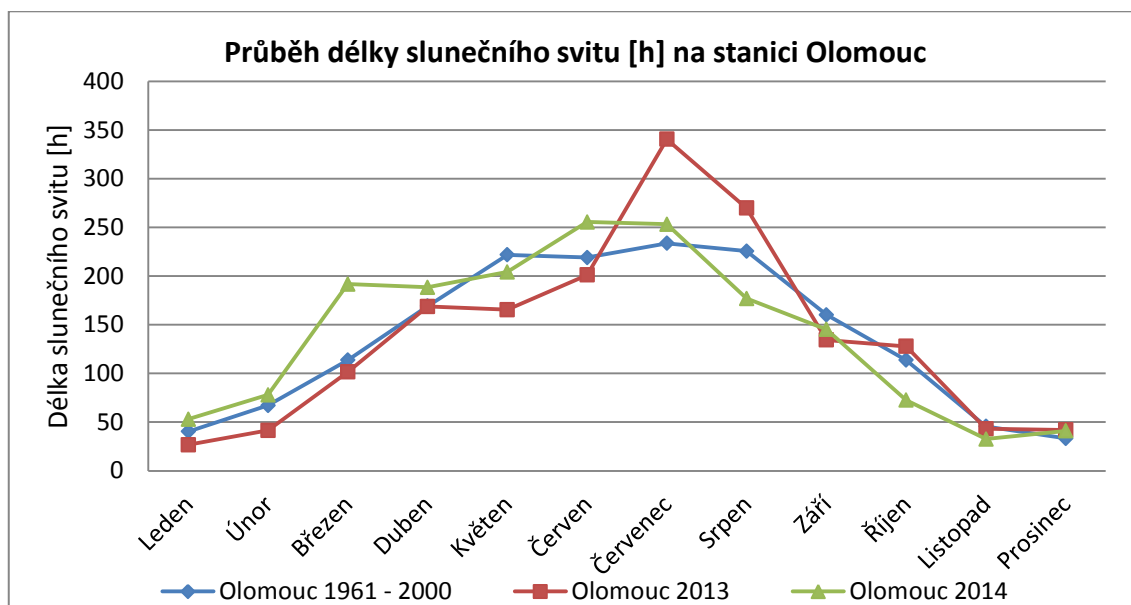
Obr. 52 – Průběh teplot [°C] na stanici Olomouc



Obr. 53 – Průběh relativní vlhkosti vzduchu [%] na stanici Olomouc



Obr. 54 – Průběh srážek [mm] na stanici Olomouc



Obr. 55 – Průběh délky slunečního svitu [h] na stanici Olomouc

Z obrázků (Obr. 52 – 55) vyplývá:

- Teplota [°C] za roky 2013 a 2014 nedosahovala výrazných výkyvů, oba roky vykazují spíše průměrné nebo nadprůměrné údaje. Především v měsíci červenci 2013 a 2014 byly hodnoty nad normálovým záznamem. Maximum teplot bylo naměřeno za rok 2013 v červenci (21,9 °C) a za rok 2014 rovněž v červenci (21,5 °C). Naopak teplotního minima bylo dosaženo za rok 2013 a za rok 2014 v dubnu (10,3 °C, 11,5 °C).
- Relativní vlhkost vzduchu [%] z hlediska sledování mezi roky 2013 a 2014 se držela spíše v průměrných rovinách nebo v podprůměrných odchylkách v rozdílných měsících. V roce 2013 v měsících duben, květen, červen a září byla relativní vlhkost vzduchu blízká normálovým údajům. Ke kolísání směrem k nižším hodnotám došlo v červenci a srpnu ve srovnání s normálovými údaji. V roce 2014 se projevíly měsíce duben a září poměrně jako stabilní s normálovým záznamem. K drobnému výkyvu nižšího procentuálního naměření oproti normálovým údajům došlo v měsících květnu červnu a červenci. V srpnu se hodnoty držely v nadprůměrné hladině. Maxima relativní vlhkosti vzduchu bylo dosaženo v roce 2013 v září (77,1 %), v roce 2014 v srpnu a září (78,0 %).

Minima relativní vlhkosti vzduchu bylo naměřeno za rok 2013 v červenci (56,6 %) a za rok 2014 v červnu (58,0 %).

- Srážky [mm] za oba roky 2013 a 2014 dosahovaly značných výkyvů v rozdílných měsících. V roce 2013 byly sledovány podobné hodnoty pouze v měsících dubnu v posouzení s normálovými údaji. V období května, června, srpna a září můžeme pozorovat zvyšující se srážkový úhrn nad normálový záznam. Měsíc červenec byl vysoce podprůměrný z hlediska srážkové tendence, spadlo minimum srážek v posouzení za všechny roky a měřené stanice. V roce 2014 byly pouze měsíce duben a červen podprůměrné ve srovnání se srážkovým normálem. Výhradně měsíc červenec byl téměř stejný jako dlouhodobý srážkový záznam. Lze sledovat, že květen, srpen a září byly měsíce, které vykazovaly nadprůměrné hodnoty oproti dlouhodobému srážkovému normálu. Maximum srážek za rok 2013 spadlo v červnu (133,9 mm) a v roce 2014 v září (154,6 mm). Minimum srážkového úhrnu bylo naměřeno za rok 2013 v červenci (1,9 mm) a rok 2014 v dubnu (23,3 mm).
- Délka slunečního svitu [h] v roce 2013 byla, co se týká výkyvů kolísavější než během roku 2014. Duben byl jediný měsíc srovnatelný s normálovými údaji. V měsících květen, červen a září dosahovala intenzita slunečního svitu nižších hodnot než normálový záznam. Naopak měsíce červenec a srpen byly vydatnější v intenzitě slunečního svitu, hodnoty se pohybovaly nad průměrem normálového vyhodnocení. V roce 2014 v období dubna, června a červenci se délka slunečního svitu pohybovala těsně nad hranicí normálového záznamu, naopak měsíce květen, srpen a září udávaly podprůměrné hodnoty. Maxima délky slunečního svitu bylo dosaženo v roce 2013 v červenci (340,7 h), v roce 2014 v červnu (255,7 h). Minima délky slunečního svitu bylo naměřeno za rok 2013 a 2014 v září (134,4 h a 145,3 h).

Z hlediska průběhu počasí posuzují vegetační sezónu za rok 2013 za kritickou pro pěstování ostropestřce na dané lokalitě. Tento projev byl viditelný posléze na rostlinách (Obr. 56) a na extrémně rozpraskané půdě, již v průběhu období července spadlo pouze

1,9 mm srážek, při mlácení úborů byly nažky placaté jakoby vyschlé (nedošlo téměř k nalití semen).



Obr. 56 – *Vliv sucha na rostlinách*

Foto: Koláčková 2013

Průběh počasí během vegetační sezóny za rok 2014 hodnotím z hlediska dané lokality spíše příznivě, pouze v období kvetení rostlin bylo znatelnější sucho pro porost ostropestřce. V minimální sadě deskriptorů pro ostropestřec je nutné sledovat především výskyt patogenů: *Botrytis cinerea*, *Septoria silybi*, *Alternaria silybi*, *Fusarium oxysporium*, *Erysiphe communis*. I když atak škůdců nebyl jeden z požadovaných znaků, i přesto jsem pro obohacení dizertační práce tuto problematiku pozorovala. V porostu se u některých GZ objevila v době kvetení terminálního úboru mšice maková (*Aphis fabae*), dále zejména listy (viz Obr. 57) všech GZ od počátku do konce sklizně atakoval plzák španělský (*Arion lusitanicus*).



Obr. 57 – Poškozený list ostropestřce od plazáka španělského (*Arion lusitanicus*)

Foto: Koláčková 2014

6.3 Deskriptor

Tab. 11 – Deskriptor minimální sady pro ostropestřec mariánský

| | Pořadové číslo | Znak | Stupnice | Hodnoty |
|------------------------------|----------------|-------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
| 1. Morfologické znaky | | | | |
| 1.1. Rostlina | | | | |
| 1. | 1.1.1 | Rostlina vzrůst | 1 vzpřímený 2 polovzpřímený | |
| 2. | 1.1.2. | Rostlina – výška (cm) | 3 nízká 5 střední 7 vysoká | < 120 cm 120 – 130 cm > 130 cm |
| 3. | 1.1.3. | Rostlina – šířka – (cm) | 3 malá 5 střední 7 velká | < 90 cm 90 – 100 cm > 100 cm |

| | | | | |
|------------------------|---------------|---|--|----------------------------------|
| 4. | 1.1.4. | Rostlina – intenzita větvení (počet plodných větví) | 3 nízká 5 střední 7 vysoká | < 10 10 – 20 > 20 |
| 5. | 1.1.5. | Rostlina – délka květní lodyhy | 3 krátká 5 střední 7 dlouhá | < 50 cm 50 – 60 cm > 60 cm |
| 1.2. List | | | | |
| 6. | 1.2.1. | List – délka (cm) | 3 krátký 5 střední 7 dlouhý | < 50 cm 50 – 65 cm > 65 cm |
| 7. | 1.2.2. | List – šířka (cm) | 3 úzký 5 střední 7 široký | < 25 cm 25 – 27 cm > 27 cm |
| 8. | 1.2.3. | List – hloubka zářezů | 3 mělké 5 střední 7 hluboké | |
| 9. | 1.2.4. | List – stupeň mramorování | 0 chybí 3 slabé 5 střední 7 silné | |
| 1.3. Květenství | | | | |
| 10. | 1.3.2. | Květenství průměr (cm) | malý střední velký | < 5 cm 5 – 6 cm > 6 cm |
| 11. | 1.3.3. | Květenství – počet (ks) | 3 malý 5 střední 7 velký | < 6 cm 6 – 9 cm > 9 cm |
| 12. | 1.3.4. | Květ – barva květů | 1 bílá 2 krémová 3 narůžovělá | |

| | | | | |
|----------------------------|---------------|--|---|-------------------------------|
| | | | 4 světle fialová 5 tmavě fialová 6 jiná | |
| 1.4. Semeno – nažka | | | | |
| 13. | 1.4.1. | Semeno – délka (mm) | 3 malá 5 střední 7 velká | < 7 mm 7 – 8 mm > 8 mm |
| 14. | 1.4.2. | Semeno – šířka (mm) | 3 malá 5 střední 7 velká | < 3 mm 3 – 4 mm > 4 mm |
| 15. | 1.4.3. | Semeno barva | 1 tmavohnědá 2 hnědočerná 3 jiná | |
| 16. | 1.4.4. | Výnos semene (g) | 3 nízký 5 střední 7 vysoký | |
| 17. | 1.4.5. | HTS (g) | 3 nízká 5 střední 7 vysoká | < 20 g 20 – 25 g > 25 g |
| 2. Biologické znaky | | | | |
| 2.1. Vegetační doba | | | | |
| 18. | 2.1.1. | Počet dní od výsevu po začátek tvorby generativních orgánů | 3 raný 5 střední 7 pozdní | |
| 19. | 2.1.2. | Počet dní od výsevu po začátek kvetení terminálního úboru | 3 raný 5 střední 7 pozdní | |
| 20. | 2.1.3. | Počet dní od výsevu po zralost terminálního úboru | 3 raný 5 střední 7 pozdní | |

| 2.2. Náchylnost k biotickým stresům | | | | |
|--|--------|---------------------------------|---|--|
| 21. | 2.2.1. | <i>Botrytis cinerea</i> | 1 velmi nízká 3 nízká 5 střední 7 vysoká 9 velmi vysoká | |
| 22. | 2.2.2. | <i>Septoria silybi</i> | 1 velmi nízká 3 nízká 5 střední 7 vysoká 9 velmi vysoká | |
| 23. | 2.2.3. | <i>Alternaria silybi</i> | 1 velmi nízká 3 nízká 5 střední 7 vysoká 9 velmi vysoká | |
| 24. | 2.2.4. | <i>Fusarium oxysporium</i> | 1 velmi nízká 3 nízká 5 střední 7 vysoká 9 velmi vysoká | |
| 25. | 2.2.5. | <i>Erysiphe communis</i> | 1 velmi nízká 3 nízká 5 střední 7 vysoká 9 velmi vysoká | |
| 3. Hospodářské znaky | | | | |
| 3.1. Biochemické znaky | | | | |
| 26. | 3.1.1. | Celkový obsah silymarinu (%) | 3 nízký 5 střední | |

| | | | | |
|------------|----------------|------------------------------------|----------------------------------|--|
| | | | 7 vysoký | |
| 27. | 3.1.2. | Obsah silibininu A (%) | 3 nízký 5 střední 7 vysoký | |
| 28. | 3.1.3. | Obsah silibininu B (%) | 3 nízký 5 střední 7 vysoký | |
| 29. | 3.1.4. | Obsah isosilybinu A (%) | 3 nízký 5 střední 7 vysoký | |
| 30. | 3.1.5. | Obsah isosilybinu B (%) | 3 nízký 5 střední 7 vysoký | |
| 31. | 3.1.6. | Obsah silychristinu (%) | 3 nízký 5 střední 7 vysoký | |
| 32. | 3.1.7. | Obsah silydianinu (%) | 3 nízký 5 střední 7 vysoký | |
| 33. | 3.1.8. | Obsah oleje (%) | 3 nízký 5 střední 7 vysoký | |
| 34. | 3.1.9. | Obsah kyseliny linolové (%) | 3 nízký 5 střední 7 vysoký | |
| 35. | 3.1.10. | Obsah kyseliny olejové (%) | 3 nízký 5 střední 7 vysoký | |
| 36. | 3.1.11. | Celkový obsah nasycených MK (%) | 3 nízký 5 střední | |

| | | | | |
|------------|----------------|-------------------------------------|----------------------------------|--|
| | | | 7 vysoký | |
| 37. | 3.1.12. | Celkový obsah nenasycených MK (%) | 3 nízký 5 střední 7 vysoký | |
| 38. | 3.1.13. | Celkový obsah polonasycených MK (%) | 3 nízký 5 střední 7 vysoký | |

Deskriptor pro ostropestřec v rámci ČR nebyl zatím publikován. Neexistuje ani klasifikátor v rámci UPOV pro hodnocení odrůd. Nejprve byl vytvořen návrh minimální sady deskriptorů pro ostropestřec mariánský, jehož autory z VÚRV v.v.i. jsou pan Ing. Karel Dušek, CSc., paní Ing. Elena Dušková a dále konzultanti z Mendelovy univerzity paní Ing. Blanka Kocourková, CSc. a paní Ing. Gabriela Růžičková, Ph.D. Návrh minimální sady deskriptorů pro ostropestřec byl rozšířen a doplněn. Po ověření správnosti a vhodnosti zvolených znaků byla minimální sada deskriptorů pro ostropestřec mariánský [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] schválena Radou genetických zdrojů ČR v prosinci 2012. Výše uvedená minimální sada deskriptorů bude po zpracování všech výsledků uveřejněna na stránkách GRINu (Germplasm Resources Information Network). Jedná se o dokumentační systém, který nahradil původní informační systém EVIGEZ.

6.4 Hodnocení znaků minimální sady deskriptorů

V Tab. 12 – 14 je uvedena statistická významnost faktorů genetický zdroj, lokalita a rok pro jednotlivé měřené znaky deskriptoru. Dále jsou uvedeny odhady úrovně znaku pro jednotlivé genetické zdroje a nakonec minimální významná diference (LSD) pro posouzení statisticky významných rozdílů mezi dvojicemi genetických zdrojů (pracujeme na hladině významnosti 0,05). Pokud je faktor genetický zdroj významný, pak znak přispívá k rozlišení genetických zdrojů. Navíc je cenné, pokud zároveň nejsou významné faktory lokalita a rok – v tomto případě lze říci, že znak je stabilní v různých prostředích.

Tab. 12 – Analýza rozptylu, predikce pro genetické zdroje a LSD pro jednotlivé měřené znaky deskriptoru

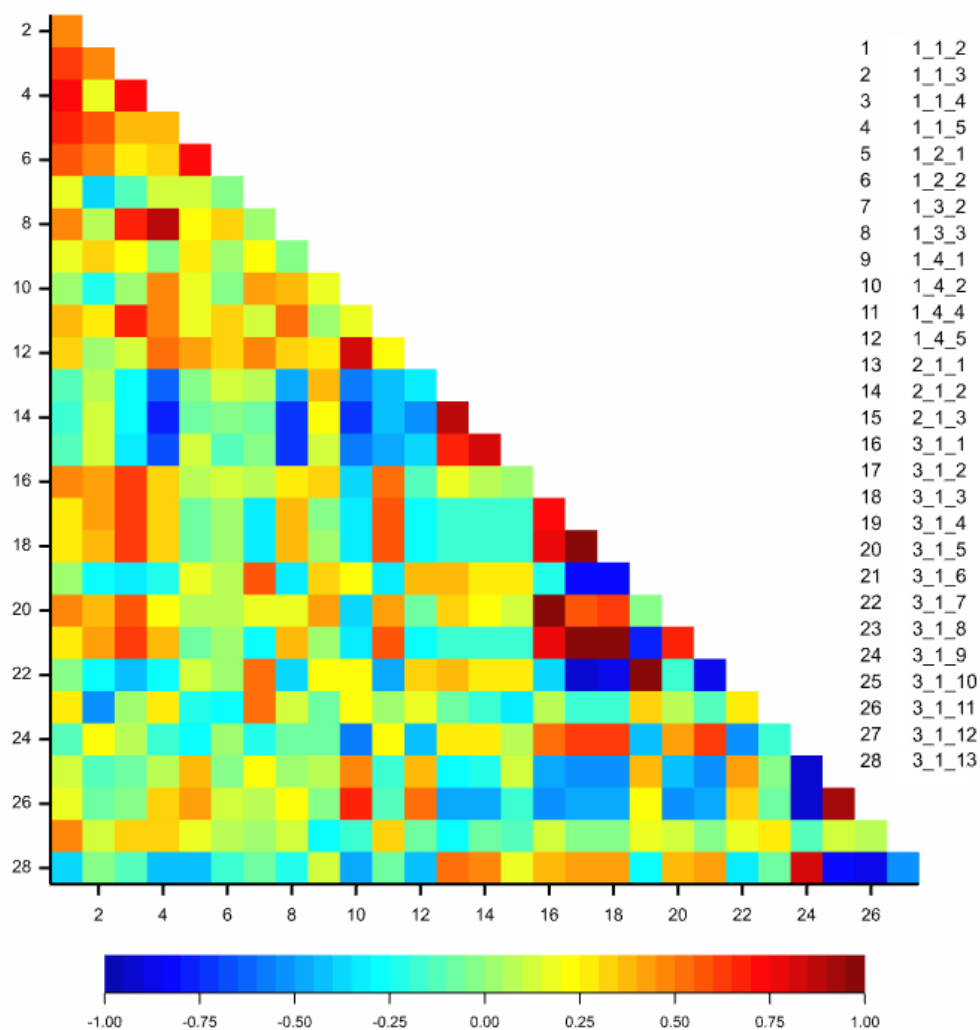
| Znak | 1.1.2 | 1.1.3 | 1.1.4 | 1.1.5 | 1.2.1 | 1.2.2 | 1.3.2 | 1.3.3 | 1.4.1 | 1.4.2 | 1.4.4 | 1.4.5 |
|------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Genetický zdroj | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | 0,994 | 0,882 |
| Rok | <0,001 | 0,011 | <0,001 | 0,071 | <0,001 | <0,001 | 0,036 | <0,001 | 0,268 | <0,001 | 0,03 | <0,001 |
| Lokalita | <0,001 | <0,001 | 0,006 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | 0,331 | <0,001 | 0,999 | 0,141 | 0,06 |
| | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 125,9 | 66,01 | 13,52 | 68,79 | 39,50 | 17,16 | 4,029 | 5,719 | 6,973 | 3,277 | 20,59 | 25,28 |
| 2 | 123,8 | 66,61 | 11,87 | 56,41 | 39,60 | 18,29 | 4,185 | 4,994 | 7,415 | 3,279 | 16,35 | 25,99 |
| 3 | 114,4 | 64,74 | 9,42 | 56,96 | 36,00 | 15,96 | 3,697 | 4,294 | 7,135 | 3,235 | 10,19 | 24,03 |
| 4 | 129,3 | 67,19 | 14,95 | 72,59 | 41,00 | 18,05 | 3,829 | 7,844 | 7,234 | 3,273 | 23,12 | 24,74 |
| 5 | 98,3 | 64,69 | 10,55 | 51,15 | 33,96 | 16,05 | 3,765 | 3,880 | 6,772 | 3,169 | 17,66 | 23,29 |
| 6 | 103,3 | 63,04 | 12,47 | 66,41 | 36,15 | 16,94 | 3,722 | 7,469 | 7,137 | 3,476 | 20,96 | 26,43 |
| 7 | 123,0 | 72,91 | 17,55 | 77,21 | 37,62 | 17,03 | 3,535 | 8,294 | 7,286 | 3,287 | 20,18 | 24,82 |
| 8 | 127,1 | 70,56 | 13,12 | 71,14 | 42,41 | 18,41 | 3,535 | 6,494 | 7,078 | 3,397 | 14,36 | 26,15 |
| 9 | 131,4 | 64,16 | 14,25 | 81,09 | 38,06 | 16,00 | 4,166 | 6,769 | 7,250 | 3,562 | 20,80 | 27,90 |
| 10 | 122,1 | 68,64 | 11,65 | 75,36 | 38,70 | 17,59 | 4,022 | 7,919 | 7,074 | 3,415 | 19,17 | 26,31 |
| 11 | 108,5 | 56,84 | 11,85 | 74,01 | 35,67 | 16,71 | 4,079 | 8,544 | 6,910 | 3,479 | 15,87 | 25,37 |
| 12 | 115,1 | 66,41 | 11,37 | 68,01 | 41,39 | 17,78 | 4,004 | 5,744 | 7,064 | 3,482 | 15,78 | 26,97 |
| 13 | 93,9 | 64,64 | 11,32 | 51,71 | 37,28 | 14,80 | 3,972 | 4,569 | 7,384 | 3,410 | 14,39 | 24,89 |
| 14 | 96,8 | 64,92 | 9,63 | 58,51 | 36,61 | 16,96 | 3,934 | 4,749 | 7,244 | 3,410 | 15,48 | 26,17 |
| 15 | 116,2 | 69,64 | 12,60 | 63,59 | 38,63 | 17,84 | 3,952 | 5,819 | 7,181 | 3,457 | 22,32 | 26,13 |
| | | | | | | | | | | | | |
| LSD | 11,93 | 5,814 | 3,258 | 9,142 | 3,785 | 1,426 | 0,2363 | 1,575 | 0,1074 | 0,07173 | 21,16 | 4,138 |

Tab. 13 – Analýza rozptylu, predikce pro genetické zdroje a LSD pro jednotlivé měřené znaky deskriptoru (Pokračování 1)

| Znak | 2.1.1 | 2.1.2 | 2.1.3 | 3.1.1 | 3.1.2 | 3.1.3 | 3.1.4 | 3.1.5 | 3.1.6 | 3.1.7 | 3.1.8 |
|------------------------|--------|-------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|
| Genetický zdroj | 0,002 | 0,256 | 0,182 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | 0,965 |
| Rok | <0,001 | 0,15 | 0,036 | 0,006 | 0,002 | 0,011 | 0,909 | 0,164 | <0,001 | 0,143 | <0,001 |
| Lokalita | <0,001 | 0,007 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | 0,17 | <0,001 | <0,001 | 0,03 | <0,001 |
| | | | | | | | | | | | |
| 1 | 81,25 | 93,25 | 118,5 | 2,909 | 0,0842 | 0,1589 | 0,1658 | 0,2444 | 0,2206 | 2,035 | 25,22 |
| 2 | 90,00 | 97,75 | 123,0 | 3,276 | 0,0739 | 0,1480 | 0,1867 | 0,2816 | 0,2281 | 2,357 | 25,00 |
| 3 | 84,25 | 94,25 | 121,3 | 2,708 | 0,0620 | 0,1219 | 0,1387 | 0,2322 | 0,1903 | 1,963 | 24,83 |
| 4 | 82,25 | 91,50 | 117,0 | 3,526 | 0,8046 | 1,2176 | 0,0612 | 0,2728 | 0,9067 | 0,263 | 24,30 |
| 5 | 83,00 | 95,00 | 120,8 | 2,768 | 0,6467 | 0,9564 | 0,0419 | 0,2172 | 0,7215 | 0,184 | 24,31 |
| 6 | 80,50 | 89,50 | 115,0 | 2,372 | 0,1596 | 0,2600 | 0,1160 | 0,2001 | 0,2758 | 1,361 | 24,17 |
| 7 | 82,00 | 92,00 | 115,5 | 3,979 | 0,8787 | 1,3325 | 0,0718 | 0,3072 | 1,0004 | 0,388 | 24,07 |
| 8 | 81,25 | 92,00 | 117,0 | 1,831 | 0,0828 | 0,0829 | 0,1005 | 0,1564 | 0,1362 | 1,272 | 24,29 |
| 9 | 78,75 | 88,75 | 113,8 | 3,229 | 0,4398 | 0,6678 | 0,1154 | 0,2587 | 0,5740 | 1,173 | 26,28 |
| 10 | 80,50 | 89,50 | 114,8 | 2,926 | 0,4619 | 0,7022 | 0,0841 | 0,2267 | 0,5767 | 0,875 | 24,35 |
| 11 | 80,50 | 89,50 | 112,0 | 2,251 | 0,0465 | 0,0988 | 0,1298 | 0,1887 | 0,1627 | 1,625 | 25,95 |
| 12 | 81,25 | 91,25 | 121,3 | 2,586 | 0,0955 | 0,1678 | 0,1388 | 0,2179 | 0,2329 | 1,732 | 23,51 |
| 13 | 83,00 | 94,25 | 121,3 | 2,292 | 0,0727 | 0,1389 | 0,1320 | 0,2048 | 0,1824 | 1,561 | 24,23 |
| 14 | 83,25 | 92,50 | 115,0 | 2,392 | 0,0595 | 0,1204 | 0,1396 | 0,2073 | 0,1767 | 1,688 | 24,53 |
| 15 | 80,50 | 91,75 | 114,0 | 2,651 | 0,1956 | 0,3106 | 0,1258 | 0,2217 | 0,3088 | 1,488 | 24,33 |
| | | | | | | | | | | | |
| LSD | 4,178 | 6,150 | 8,185 | 0,3933 | 0,05612 | 0,08214 | 0,02431 | 0,03303 | 0,06087 | 0,2786 | 3,793 |

Tab. 14 – Analýza rozptylu, predikce pro genetické zdroje a LSD pro jednotlivé měřené znaky deskriptoru (Pokračování 2)

| Znak | 3.1.9 | 3.1.10 | 3.1.11 | 3.1.12 | 3.1.13 |
|------------------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Genetický zdroj | <0,001 | 0,053 | 0,021 | 0,308 | 0,079 |
| Rok | <0,001 | 0,475 | 0,422 | <0,001 | 0,001 |
| Lokalita | 0,052 | 0,408 | 0,045 | 0,282 | 0,037 |
| | | | | | |
| 1 | 50,94 | 31,01 | 16,99 | 28,55 | 54,48 |
| 2 | 51,84 | 29,35 | 15,83 | 25,00 | 59,19 |
| 3 | 46,50 | 32,57 | 18,15 | 26,08 | 55,79 |
| 4 | 52,74 | 29,14 | 17,08 | 25,74 | 57,19 |
| 5 | 57,61 | 25,79 | 14,92 | 25,06 | 60,03 |
| 6 | 46,06 | 34,32 | 19,17 | 25,82 | 55,04 |
| 7 | 55,62 | 25,98 | 15,81 | 25,65 | 58,55 |
| 8 | 46,28 | 33,96 | 19,87 | 25,85 | 54,31 |
| 9 | 47,59 | 32,45 | 18,56 | 25,76 | 55,70 |
| 10 | 53,60 | 27,85 | 16,82 | 25,82 | 57,39 |
| 11 | 47,55 | 30,77 | 18,18 | 25,36 | 56,46 |
| 12 | 46,84 | 35,19 | 20,11 | 24,78 | 55,13 |
| 13 | 47,76 | 34,34 | 17,94 | 25,01 | 57,09 |
| 14 | 55,50 | 24,65 | 15,91 | 24,79 | 59,29 |
| 15 | 46,53 | 32,82 | 18,87 | 25,91 | 55,23 |
| | | | | | |
| LSD | 6,894 | 7,411 | 3,157 | 2,727 | 4,443 |



Obr. 58 – Korelace mezi znaky deskriptoru

Na Obr. 58 jsou graficky prezentovány korelace mezi jednotlivými znaky. Syté odstíny ilustrují silné lineární závislosti. Dané znaky tedy nesou informaci podobného typu a pro rozlišení genetických zdrojů by patrně šlo jeden z nich vypustit (např. znaky 3.1.2 a 3.1.3). Např. znak 1.4.1 silné korelace k jiným znakům nemá, nese unikátní informaci.

Měřené znaky je třeba pro finální deskriptor převést na bodové hodnoty. Tato relativizace hodnocení umožní pozdější srovnání genetických zdrojů hodnocených v různých prostředích. Převod měření na bodová ohodnocení byl proveden následujícím způsobem: Měřené hodnoty z Tab. 11, 12 a 13 se postupně pro každý znak seřadily od nejmenší po největší a spočítalo se rozpětí hodnot. Poté se vypočítala hranice v $1/3$ (rozpětí hodnot / 3 + nejmenší hodnota ve sloupci) a hranice ve $2/3$ ($2 \times$ rozpětí hodnot / 3 + nejmenší hodnota ve sloupci). Podle vymezených hranic byly měřené hodnoty bodově ohodnoceny. Toto ohodnocení je uvedeno v Tab. 15, 16 a 17. Jsou zde uvedeny také bodové hodnoty pro expertně hodnocené znaky jako Rostlina – vzrůst, List – hloubka zářezu, List – stupeň mramorování, Květ – barva květů a Semeno – barva.

Tab. 15 – Klasifikace genetických zdrojů pomocí bodových hodnot

| Genetický zdroj | 1.1.1 | 1.1.2 | 1.1.3 | 1.1.4 | 1.1.5 | 1.2.1 | 1.2.2 | 1.2.3 | 1.2.4 | 1.3.2 | 1.3.3 | 1.3.4 | 1.4.1 |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 1 | 7 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 7 | 5 | 7 | 5 | 4 | 3 |
| 2 | 1 | 7 | 5 | 3 | 3 | 7 | 7 | 7 | 5 | 7 | 3 | 5 | 7 |
| 3 | 1 | 5 | 5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 7 | 5 | 3 | 3 | 4 | 5 |
| 4 | 1 | 7 | 5 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 5 | 5 | 7 | 4 | 7 |
| 5 | 1 | 3 | 5 | 3 | 3 | 3 | 5 | 7 | 5 | 5 | 3 | 5 | 3 |
| 6 | 1 | 3 | 5 | 5 | 5 | 3 | 5 | 7 | 5 | 3 | 7 | 4 | 5 |
| 7 | 1 | 7 | 7 | 7 | 7 | 5 | 5 | 7 | 5 | 3 | 7 | 5 | 7 |
| 8 | 1 | 7 | 7 | 5 | 7 | 7 | 7 | 7 | 5 | 3 | 5 | 4 | 5 |
| 9 | 1 | 7 | 5 | 5 | 7 | 5 | 3 | 7 | 5 | 7 | 5 | 4 | 7 |
| 10 | 1 | 7 | 7 | 3 | 7 | 5 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 5 | 5 |
| 11 | 1 | 5 | 3 | 3 | 7 | 3 | 5 | 7 | 0 | 7 | 7 | 4 | 3 |
| 12 | 1 | 5 | 5 | 3 | 5 | 7 | 7 | 7 | 5 | 7 | 5 | 4 | 5 |
| 13 | 1 | 3 | 5 | 3 | 3 | 5 | 3 | 7 | 5 | 7 | 3 | 5 | 7 |
| 14 | 1 | 3 | 5 | 3 | 3 | 3 | 5 | 7 | 5 | 5 | 3 | 4 | 7 |
| 15 | 1 | 5 | 7 | 5 | 5 | 5 | 7 | 7 | 5 | 5 | 5 | 4 | 5 |

Tab. 16 – Klasifikace genetických zdrojů pomocí bodových hodnot (Pokračování 1)

| Genetický zdroj | 1.4.2 | 1.4.3 | 1.4.4 | 1.4.5 | 2.1.1 | 2.1.2 | 2.1.3 | 3.1.1 | 3.1.2 | 3.1.3 | 3.1.4 | 3.1.5 | 3.1.6 |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 3 | 3 | 7 | 5 | 3 | 5 | 5 | 5 | 3 | 3 | 7 | 5 | 3 |
| 2 | 3 | 3 | 5 | 5 | 7 | 7 | 7 | 7 | 3 | 3 | 7 | 7 | 3 |
| 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 5 | 5 | 7 | 5 | 3 | 3 | 7 | 5 | 3 |
| 4 | 3 | 3 | 7 | 3 | 3 | 3 | 5 | 7 | 7 | 7 | 3 | 7 | 7 |
| 5 | 3 | 1 | 5 | 3 | 5 | 7 | 7 | 5 | 7 | 7 | 3 | 5 | 7 |
| 6 | 7 | 1 | 7 | 7 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 5 | 3 | 3 |
| 7 | 3 | 3 | 7 | 3 | 3 | 5 | 3 | 7 | 7 | 7 | 3 | 7 | 7 |
| 8 | 5 | 1 | 3 | 5 | 3 | 5 | 5 | 3 | 3 | 3 | 5 | 3 | 3 |
| 9 | 7 | 3 | 7 | 7 | 3 | 3 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 7 | 5 |
| 10 | 5 | 1 | 7 | 5 | 3 | 3 | 3 | 5 | 5 | 5 | 3 | 5 | 5 |
| 11 | 7 | 3 | 5 | 5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 5 | 3 | 3 |
| 12 | 7 | 3 | 5 | 7 | 3 | 3 | 7 | 5 | 3 | 3 | 7 | 5 | 3 |
| 13 | 5 | 3 | 3 | 5 | 5 | 5 | 7 | 3 | 3 | 3 | 5 | 3 | 3 |
| 14 | 5 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 7 | 5 | 3 |
| 15 | 7 | 3 | 7 | 5 | 3 | 3 | 3 | 5 | 3 | 3 | 5 | 5 | 3 |

Tab. 17 – Klasifikace genetických zdrojů pomocí bodových hodnot (Pokračování 2)

| Genetický zdroj | 3.1.7 | 3.1.8 | 3.1.9 | 3.1.10 | 3.1.11 | 3.1.12 | 3.1.13 |
|------------------------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 1 | 7 | 5 | 5 | 5 | 5 | 7 | 3 |
| 2 | 7 | 5 | 5 | 5 | 3 | 3 | 7 |
| 3 | 7 | 5 | 3 | 7 | 5 | 5 | 3 |
| 4 | 3 | 3 | 5 | 5 | 5 | 3 | 5 |
| 5 | 3 | 3 | 7 | 3 | 3 | 3 | 7 |
| 6 | 5 | 3 | 3 | 7 | 7 | 3 | 3 |
| 7 | 3 | 3 | 7 | 3 | 3 | 3 | 7 |
| 8 | 5 | 3 | 3 | 7 | 7 | 3 | 3 |
| 9 | 5 | 7 | 3 | 7 | 7 | 3 | 3 |
| 10 | 3 | 3 | 5 | 3 | 5 | 3 | 5 |
| 11 | 5 | 7 | 3 | 5 | 5 | 3 | 5 |
| 12 | 7 | 3 | 3 | 7 | 7 | 3 | 3 |
| 13 | 5 | 3 | 3 | 7 | 5 | 3 | 5 |
| 14 | 7 | 5 | 7 | 3 | 3 | 3 | 7 |
| 15 | 5 | 3 | 3 | 7 | 7 | 3 | 3 |

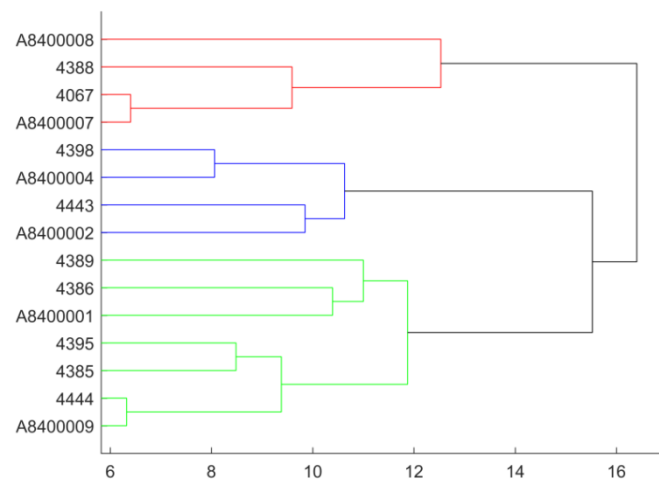
Na základě bodových hodnot znaků provedeme vícerozměrné srovnání genetických zdrojů. Použijeme dva typy vzdáleností mezi genetickými zdroji – Euklidovskou (standardizace není třeba, neboť lze říci, že bodové hodnoty jsou již určitým způsobem standardizovány) a vlastní expertní vzdálenost, u které je uveden následující postup výpočtu: Pro odlišné dvojice genetických zdrojů je vzdálenost definována tak, že se ohodnotí velikostí 50, pokud je rozdíl ve sledovaném znaku větší než 2; když se liší o víc než 0 a méně než 2 ohodnotí se velikostí 1. Pokud se genetické zdroje ve sledovaném znaku neliší, ohodnotí se vzdálenost velikostí 0. Takto se projdou všechny dvojice GZ a všechny znaky. Celková vzdálenost konkrétních dvojic GZ se získá jako součet ohodnocení rozdílů v jednotlivých znacích. V Tab. 18 a 19 jsou uvedeny vzdálenosti mezi jednotlivými GZ vypočtené na základě expertního přístupu. Je vidět, že nejsou zásadní rozdíly mezi GZ A8400009 a 4444 (vzdálenost 10) a dále mezi genetickými zdroji A8400007 a 4067 (vzdálenost 11). V obou případech lze říci, že rozdíl v hodnocených znacích nebyl nikdy větší než 2. Vzdálenosti mezi GZ budou dále ilustrovány pomocí dendrogramů, viz Obr. 59 – 64.

Tab. 18 – *Vzdálenosti mezi genetickými zdroji získané na základě expertního přístupu*

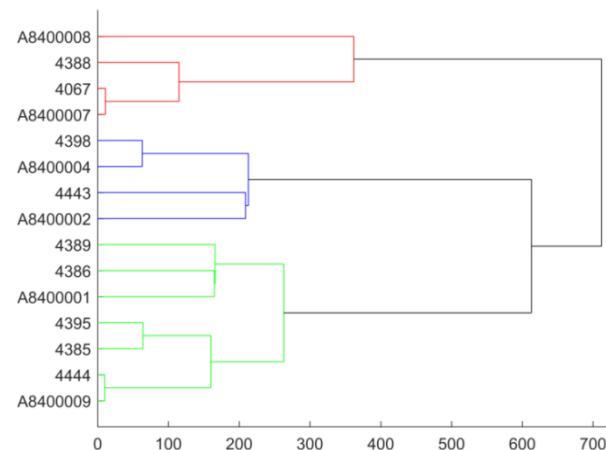
| | A8400001 | A8400002 | A8400004 | A8400007 | A8400008 | A8400009 | 4067 | 4385 | 4386 |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------|-------------|-------------|
| A8400001 | 0 | 212 | 113 | 362 | 416 | 215 | 463 | 165 | 165 |
| A8400002 | 212 | 0 | 213 | 508 | 410 | 613 | 559 | 365 | 415 |
| A8400004 | 113 | 213 | 0 | 563 | 411 | 264 | 662 | 166 | 316 |
| A8400007 | 362 | 508 | 563 | 0 | 362 | 463 | 11 | 315 | 215 |
| A8400008 | 416 | 410 | 411 | 362 | 0 | 611 | 309 | 517 | 615 |
| A8400009 | 215 | 613 | 264 | 463 | 611 | 0 | 610 | 158 | 210 |
| 4067 | 463 | 559 | 662 | 11 | 309 | 610 | 0 | 512 | 412 |
| 4385 | 165 | 365 | 166 | 315 | 517 | 158 | 512 | 0 | 262 |
| 4386 | 165 | 415 | 316 | 215 | 615 | 210 | 412 | 262 | 0 |
| 4388 | 168 | 366 | 467 | 66 | 266 | 169 | 115 | 167 | 165 |
| 4389 | 166 | 560 | 315 | 560 | 564 | 161 | 661 | 263 | 165 |
| 4395 | 113 | 261 | 258 | 413 | 659 | 160 | 712 | 64 | 162 |
| 4398 | 216 | 212 | 63 | 562 | 314 | 213 | 709 | 211 | 313 |
| 4443 | 213 | 209 | 210 | 563 | 357 | 264 | 510 | 364 | 318 |
| 4444 | 113 | 317 | 214 | 217 | 515 | 10 | 414 | 60 | 110 |

Tab. 19 – *Vzdálenosti mezi genetickými zdroji získané na základě expertního přístupu (Pokračování 1)*

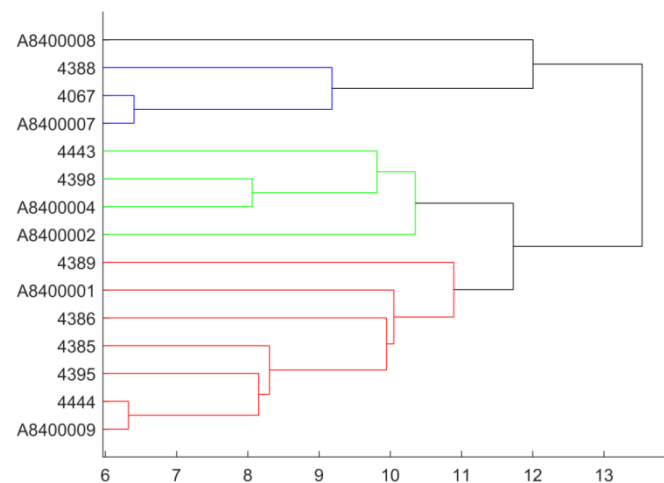
| | 4388 | 4389 | 4395 | 4398 | 4443 | 4444 |
|-----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| A8400001 | 168 | 166 | 113 | 216 | 213 | 113 |
| A8400002 | 366 | 560 | 261 | 212 | 209 | 317 |
| A8400004 | 467 | 315 | 258 | 63 | 210 | 214 |
| A8400007 | 66 | 560 | 413 | 562 | 563 | 217 |
| A8400008 | 266 | 564 | 659 | 314 | 357 | 515 |
| A8400009 | 169 | 161 | 160 | 213 | 264 | 10 |
| 4067 | 115 | 661 | 712 | 709 | 510 | 414 |
| 4385 | 167 | 263 | 64 | 211 | 364 | 60 |
| 4386 | 165 | 165 | 162 | 313 | 318 | 110 |
| 4388 | 0 | 167 | 217 | 364 | 269 | 67 |
| 4389 | 167 | 0 | 213 | 310 | 263 | 163 |
| 4395 | 217 | 213 | 0 | 67 | 312 | 58 |
| 4398 | 364 | 310 | 67 | 0 | 161 | 165 |
| 4443 | 269 | 263 | 312 | 161 | 0 | 216 |
| 4444 | 67 | 163 | 58 | 165 | 216 | 0 |



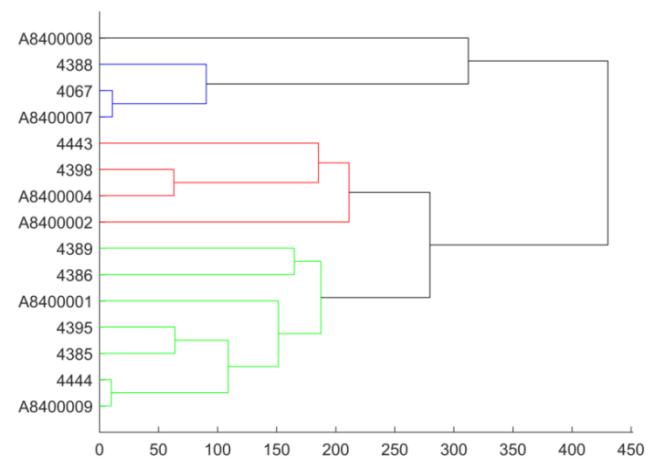
Obr. 59 – Dendrogram vytvořený na základě Euklidovských vzdáleností mezi genetickými zdroji a maximálních vzdáleností mezi shluky



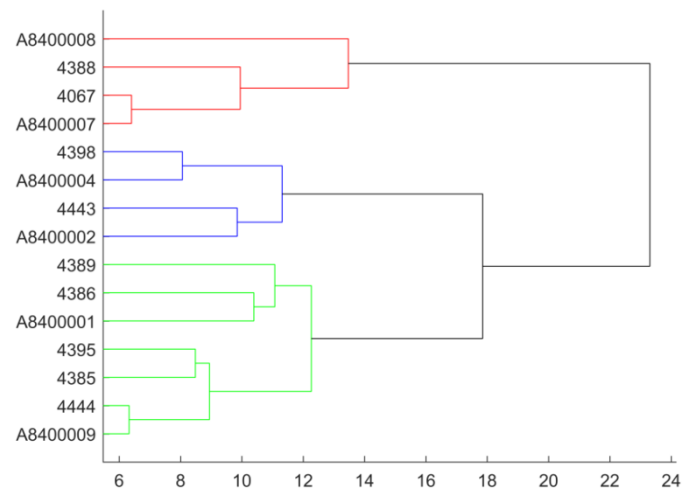
Obr. 60 – Dendrogram vytvořený na základě expertních vzdáleností mezi genetickými zdroji a maximálních vzdáleností mezi shluky



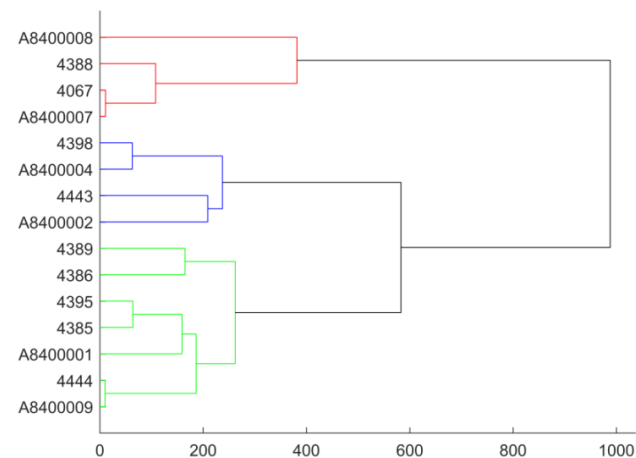
Obr. 61 – Dendrogram vytvořený na základě Euklidovských vzdáleností mezi genetickými zdroji a průměrných vzdáleností mezi shluky



Obr. 62 – Dendrogram vytvořený na základě expertních vzdáleností mezi genetickými zdroji a průměrných vzdáleností mezi shluky



Obr. 63 – Dendrogram vytvořený na základě Euklidovských vzdáleností mezi genetickými zdroji a Wardových vzdáleností mezi shluky



Obr. 64 – Dendrogram vytvořený na základě expertních vzdáleností mezi genetickými zdroji a Wardových vzdáleností mezi shluky

Na základě hierarchické shlukové analýzy můžeme konstatovat, že se genetické zdroje shlukují do tří skupin. Poznamenejme, že tyto skupiny jsou stabilní vzhledem k použité vzdálenosti mezi objekty (Euklidovská, expertní) i k vzdálenosti mezi shluky (maximální, průměrná, Wardova).

Do prvního shluku náleží genetické zdroje A8400008, 4388, 4067 a A8400007. Tyto materiály se vyznačují nadprůměrnou výškou rostliny, vysokou intenzitou větvení a dlouhou květní lodyhou. Mají spíše menší průměr květenství, ale o vysokém počtu. Semeno je spíše úzké a HTS je nízká. Z hlediska chemického složení můžeme tuto skupinu charakterizovat vysokým obsahem silymarinu i silybinu A i B. Obsah isosilybinu A je nižší, silychristinu vyšší a silydianinu opět nižší. Obsah oleje je nižší, s vyšším podílem kyseliny linolové, nižším podílem kyseliny olejové a celkově s nižším podílem nasycených mastných kyselin na úkor kyselin polonasycených.

Do druhého shluku náleží genetické zdroje 4398, A8400004, 4443 a A8400002. Tato skupina se charakterizuje vysokou výškou rostlin, střední intenzitou větvení a dlouhou délkou květní lodyhy. Má spíše velký průměr květenství se středním počtem květů. Semeno je nadprůměrně široké s vysokou HTS. Z pohledu obsahu sledovaných látek lze říci, že celkový obsah silymarinového komplexu je střední a to platí i pro hodnocení jednotlivých složek silibininu A i B, isosilybinu A, silychristinu a silydianinu. Naopak obsah oleje je nadprůměrný s nízkým obsahem kyseliny linolové a vysokým obsahem kyseliny olejové. Celkový obsah nasycených MK je vysoký ve srovnání s celkovým obsahem polonasycených MK, který je nízký.

Nakonec do třetího shluku náleží téměř polovina genetických zdrojů, konkrétně 4389, 4386, A8400001, 4395, 4385, 4444 a A8400009. Tyto materiály se projevíly nízkou výškou rostlin a rovněž nízkým počtem plodných větví s krátkou květní lodyhou. Průměr květenství je střední a počet květenství je podprůměrný. Semeno je spíše středně široké s průměrnou HTS. Při bližším zaměření na obsah chemických látek se zástupci třetího shluku prezentují nízkým celkovým obsahem silymarinu, silibininu A

i B a silychristinu. Naopak obsah isosilybinu A a silydianinu je nadprůměrný. Dále obsah oleje u těchto GZ je střední s vysokým podílem kyseliny linolové a nízkým podílem kyseliny olejové a celkově s nižším podílem nasycených mastných kyselin v komparaci kyselin polonasyčených.

6.5 Hodnocení náchylnosti k biotickým stresům

V roce 2013 na stanovišti Citonice okr. Znojmo byl výskyt patogena *Alternaria silybi* pouze u GZ č. 13 a výskyt patogena *Septoria silybi* u dvou GZ č. 2 a č. 8, viz Tab. 20. Naopak náchylnost patogenem *Erysiphe communis* se objevila u všech genetických zdrojů. Atak patogenů *Botrytis cinerea* a *Fusarium oxysporium* byl negativní. V roce 2014 na stanovišti Citonice okr. Znojmo bylo u všech genetických zdrojů pozitivní napadení patogenem *Septoria silybi* a kromě jednoho GZ č. 6 patogenem *Erysiphe communis*. U třech genetických zdrojů č. 1, č. 8 a č. 15 se objevil patogen *Alternaria silybi*. Naopak atak patogenem *Fusarium oxysporium* byl u všech genetických zdrojů negativní a toto platí i u patogena *Botrytis cinerea* kromě jednoho GZ č. 12.

Tab. 20 – *Biologické znaky – náchylnost k biotickým stresům – stanoviště Citonice rok 2013 a 2014*

| Stanoviště Citonice okr. Znojmo, rok 2013 | | | | | |
|---|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 2.2. Náchylnost k biotickým stresům | | | | | |
| GZ | 2.2.1. hodnota | 2.2.2. hodnota | 2.2.3. hodnota | 2.2.4. hodnota | 2.2.5. hodnota |
| 1 | – | – | – | – | + |
| 2 | – | + | – | – | + |
| 3 | – | – | – | – | + |
| 4 | – | – | – | – | + |
| 5 | – | – | – | – | + |
| 6 | – | – | – | – | + |
| 7 | – | – | – | – | + |

| | | | | | |
|--|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 8 | – | + | – | – | + |
| 9 | – | – | – | – | + |
| 10 | – | – | – | – | + |
| 11 | – | – | – | – | + |
| 12 | – | – | – | – | + |
| 13 | – | – | + | – | + |
| 14 | – | – | – | – | + |
| 15 | – | – | – | – | + |
| Stanoviště Citonice okr. Znojmo, rok 2014 | | | | | |
| 2.2. Náchylnost k biotickým stresům | | | | | |
| GZ | 2.2.1. hodnota | 2.2.2. hodnota | 2.2.3. hodnota | 2.2.4. hodnota | 2.2.5. hodnota |
| 1 | – | + | + | – | + |
| 2 | – | + | – | – | + |
| 3 | – | + | – | – | + |
| 4 | – | + | – | – | + |
| 5 | – | + | – | – | + |
| 6 | – | + | – | – | – |
| 7 | – | + | – | – | + |
| 8 | – | + | + | – | + |
| 9 | – | + | – | – | + |
| 10 | – | + | – | – | + |
| 11 | – | + | – | – | + |
| 12 | + | + | – | – | + |
| 13 | – | + | – | – | + |
| 14 | – | + | – | – | + |
| 15 | – | + | + | – | + |

+ pozitivní výskyt patogena

– negativní výskyt patogena

V roce 2013 na stanovišti Olomouc byl u všech genetických zdrojů výskyt patogena *Septoria silybi*, viz Tab. 21. Naopak náchylnost k ostatním patogenům *Botrytis cinerea*, *Alternaria silybi*, *Fusarium oxysporium* a *Erysiphe communis* u všech genetických zdrojů byla negativní. V roce 2014 na stanovišti Olomouc se objevili na všech genetických zdrojích patogeni *Septoria silybi* a *Erysiphe communis*. Ostatní patogeni *Botrytis cinerea*, *Alternaria silybi* a *Fusarium oxysporium* se v daném roce nevyskytli.

Tab. 21 – Biologické znaky – náchylnost k biotickým stresům – stanoviště Olomouc rok 2013 a 2014

| Stanoviště Olomouc, rok 2013 | | | | | |
|-------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 2.2. Náchylnost k biotickým stresům | | | | | |
| GZ | 2.2.1. hodnota | 2.2.2. hodnota | 2.2.3. hodnota | 2.2.4. hodnota | 2.2.5. hodnota |
| 1 | – | + | – | – | – |
| 2 | – | + | – | – | – |
| 3 | – | + | – | – | – |
| 4 | – | + | – | – | – |
| 5 | – | + | – | – | – |
| 6 | – | + | – | – | – |
| 7 | – | + | – | – | – |
| 8 | – | + | – | – | – |
| 9 | – | + | – | – | – |
| 10 | – | + | – | – | – |
| 11 | – | + | – | – | – |
| 12 | – | + | – | – | – |
| 13 | – | + | – | – | – |
| 14 | – | + | – | – | – |
| 15 | – | + | – | – | – |
| Stanoviště Olomouc, rok 2014 | | | | | |
| 2.2. Náchylnost k biotickým stresům | | | | | |

| GZ | 2.2.1. hodnota | 2.2.2. hodnota | 2.2.3. hodnota | 2.2.4. hodnota | 2.2.5. hodnota |
|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 1 | – | + | – | – | + |
| 2 | – | + | – | – | + |
| 3 | – | + | – | – | + |
| 4 | – | + | – | – | + |
| 5 | – | + | – | – | + |
| 6 | – | + | – | – | + |
| 7 | – | + | – | – | + |
| 8 | – | + | – | – | + |
| 9 | – | + | – | – | + |
| 10 | – | + | – | – | + |
| 11 | – | + | – | – | + |
| 12 | – | + | – | – | + |
| 13 | – | + | – | – | + |
| 14 | – | + | – | – | + |
| 15 | – | + | – | – | + |

+ pozitivní výskyt patogena

– negativní výskyt patogena

6.6 Nedestruktivní stanovení olejnatosti pomocí FT – NIR

Nově byla metoda FT – NIR použita pro stanovení olejnatosti (%) a obsahu mastných kyselin (%) ve vzorcích ostropestřce za roky 2013 a 2014. V souvislosti s daným tématem byla sepsána publikace s názvem Quick method (FT – NIR) for the determination of oil and major fatty acids content in whole achenes of milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.], která je uvedena v odborném periodiku Journal of the Science of Food and Agriculture, jejíž autory jsou Koláčková P., Růžičková G., Gregor T., Šišperová E.

6.7 Obrazová analýza rostlin pro odlišení genetických zdrojů

6.7.1 Problémy analýzy obrazu pořízeného v polních podmínkách

Ostropestřec je problematická rostlina z hlediska botanické vybavenosti zejména díky ostnům. Veškerá manipulace s rostlinou pro vytvoření homogenního pozadí je tímto velice obtížná. Rozhodujícím ukazatelem pro vytvoření snímku je spon jednotlivých rostlin. Platí osvědčené pravidlo: čím větší je stanoven spon rostlin, tím je focení za optimálních podmínek rychlejší a snadnější.

V polních podmínkách dochází k nežádoucímu osvětlení snímků vlivem délky slunečního svitu [h], a proto je příznivé počasí pro dokumentaci zataženo nebo skoro zataženo. Dále je možné focení snímků i v době časně ráno nebo k večeru. Druhým nežádoucím vlivem počasí je spad srážek [mm], kdy rostliny a půda jsou vlhké a podkladová clona se zamaže, což se negativně projeví na obrazové analýze. V tomto případě je dobré otřít clonu vlhkou tkaninou.

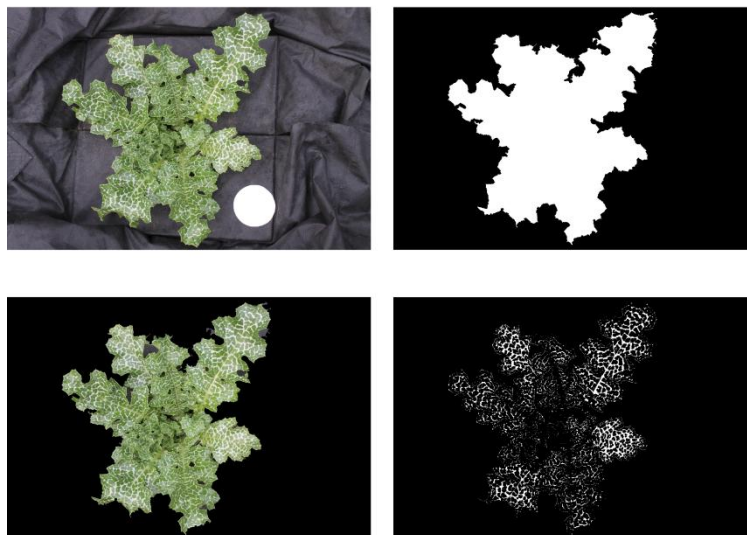
Dalším aspektem byla časová náročnost pořízení fotografií z hlediska poměru: množství GZ (15) – stanovení počtu focených objektů (20) – dvě lokality – vliv počasí. Samotné provedení fotografické dokumentace pro účely obrazové analýzy je fyzicky náročné, vyžaduje i značnou trpělivost výzkumníka a analytika při vyhodnocování dat.

Z hlediska statistického vyhodnocení celého experimentu je podstatné, že rostliny z jednoho prostředí (kombinace roku a lokality) byly snímány za přibližně stejných podmínek. Pokud tedy dojde k systematickému působení na snímané obrazy, bude ovlivněna celková úroveň sledovaných měř, nicméně jejich rozlišovací síla zůstane zachována. Asi nejvyšší ovlivnění lze předpokládat u měř spojených s detekcí bílého mramorování listů ostropestřce (Hampel a kol. 2016).

6.7.2 Verifikace realizovaných postupů

Správnost navržených postupů je možné ověřit vizuálně pro každou rostlinu zvlášť pomocí kontrolních obrázků, viz Obr. 65. V tomto konkrétním případě je patrná nedokonalá identifikace listu směřujícího dolů. Celkově je zde možné označit odhad

hranice listové růžice stejně jako identifikaci bílých ploch na listové růžici jako vyhovující.



Obr. 65 – Kontrolní obrázek pro vizuální verifikaci správnosti provedené obrazové analýzy. Vlevo nahoře původní barevný obraz, vpravo nahoře identifikovaný objekt, vlevo dole výřez originálního barevného obrazu daný hranicí identifikovaného objektu a vpravo dole rozpoznané bílé plochy na listové růžici

Foto: Koláčková 2014, Upraveno: Hampel

Genetický zdroj byl v rámci každého znaku vždy statisticky významným faktorem ($p < 0,001$). V Tab. 22 je kromě odhadů charakteristik pocházejících z obrazové analýzy uvedena průměrná LSD (pro každou dvojici je ve skutečnosti mírně odlišná) pro orientační rozlišení mezi genetickými zdroji. Uvedeno je též procento odlišných dvojic pro posouzení diskriminační síly jednotlivých charakteristik.

Kromě celkového hodnocení prezentujeme v Tab. 23 procenta odlišných dvojic pro jednotlivá prostředí. Ve všech letech a na obou stanovištích se povedlo odlišit alespoň některé dvojice genetických zdrojů. Lze říci, že ovlivnění jednotlivých charakteristik prostředím se lišilo (plocha relativně stabilní diskriminační schopnost,

kruhovitost silně ovlivněna prostředím). Celková stabilita diskriminační schopnosti se jeví jako uspokojivá.

V Tab. 24 jsou uvedeny silné a střední korelace (pod -0,4 nebo nad 0,4) měřených znaků klasifikátoru a znaků získaných pomocí obrazové analýzy. Je možné ukázat, že do jisté míry „umělé“ znaky pocházející z obrazové analýzy mají vztah k „reálným“ měřeným znakům z klasifikátoru. Ve většině případů lze závislost přímočaře vysvětlit.

Tab. 22 – Odhady charakteristik pocházejících z obrazové analýzy

| Genetický zdroj | Kruhovitost | Délka hlavní osy | Délka vedlejší osy | Obvod | Plocha | Plocha bílé | Procento bílé | Průměr kruhu | Zubatost |
|----------------------------------|---------------|------------------|--------------------|-------------|-------------|-------------|---------------|--------------|--------------|
| 1 | 0,1310 | 44,77 | 35,59 | 319,9 | 52709 | 13195 | 25,25 | 36,61 | 2,766 |
| 2 | 0,1278 | 48,01 | 34,37 | 338,2 | 51974 | 14009 | 27,64 | 36,82 | 2,906 |
| 3 | 0,1111 | 46,57 | 30,71 | 312,0 | 45312 | 11610 | 25,83 | 33,40 | 3,049 |
| 4 | 0,1148 | 49,69 | 36,24 | 367,4 | 56496 | 14000 | 25,00 | 38,74 | 2,962 |
| 5 | 0,1201 | 43,24 | 30,45 | 299,8 | 45729 | 13838 | 29,70 | 32,85 | 2,893 |
| 6 | 0,1281 | 44,27 | 31,94 | 309,4 | 47978 | 13031 | 27,10 | 34,13 | 2,852 |
| 7 | 0,1226 | 47,42 | 34,15 | 334,5 | 52441 | 13250 | 25,60 | 36,75 | 2,843 |
| 8 | 0,1146 | 48,91 | 33,71 | 350,0 | 51447 | 12916 | 25,50 | 36,52 | 3,008 |
| 9 | 0,1199 | 44,38 | 35,13 | 331,6 | 52470 | 13594 | 26,54 | 36,12 | 2,903 |
| 10 | 0,1323 | 46,16 | 35,82 | 331,6 | 52657 | 14419 | 28,02 | 37,29 | 2,811 |
| 11 | 0,1471 | 43,52 | 31,79 | 290,6 | 47001 | 10336 | 22,51 | 34,25 | 2,675 |
| 12 | 0,1202 | 47,11 | 33,63 | 334,7 | 47811 | 13090 | 27,31 | 35,69 | 2,987 |
| 13 | 0,1128 | 43,96 | 33,40 | 325,5 | 47920 | 13746 | 28,52 | 35,01 | 2,964 |
| 14 | 0,1182 | 46,36 | 33,86 | 331,4 | 48788 | 13704 | 28,32 | 35,44 | 2,979 |
| 15 | 0,1026 | 42,82 | 28,81 | 304,5 | 39886 | 11342 | 29,00 | 30,48 | 3,149 |
| Průměrná LSD | 0,0120 | 3,72 | 3,15 | 32,5 | 5487 | 1671 | 1,73 | 3,04 | 0,120 |
| Procento odlišných dvojic | 42,9 | 23,8 | 31,4 | 25,7 | 33,3 | 28,6 | 54,3 | 30,5 | 48,6 |

Tab. 23 – Srovnání diskriminační schopnosti (procenta statisticky významně odlišných dvojic genetických zdrojů) pro jednotlivá prostředí

| Lokalita a rok | Kruhovitost | Délka hlavní osy | Délka vedlejší osy | Obvod | Plocha | Plocha bílé | Procento bílé | Průměr kruhu | Zubatost |
|-----------------------|--------------------|-------------------------|---------------------------|--------------|---------------|--------------------|----------------------|---------------------|-----------------|
| Olomouc 2013 | 45,7 | 57,1 | 43,8 | 45,7 | 41,9 | 34,3 | 53,3 | 47,6 | 41,9 |
| Olomouc 2014 | 13,3 | 25,7 | 37,1 | 27,6 | 44,8 | 21,0 | 9,5 | 61,0 | 35,2 |
| Znojmo 2013 | 22,9 | 50,5 | 52,4 | 50,5 | 48,6 | 50,5 | 43,8 | 51,4 | 30,5 |
| Znojmo 2014 | 30,5 | 50,5 | 43,8 | 38,1 | 50,5 | 53,3 | 43,8 | 53,3 | 37,1 |

Tab. 24 – Závislosti mezi znaky klasifikátoru a znaky získanými pomocí obrazové analýzy

| Znak obrazová analýza | Znak klasifikátor | Kód | Korelace |
|------------------------------|--------------------------|------------|-----------------|
| Kruhovitost | Květenství průměr | 1.3.2 | 0,4290 |
| | Květenství počet | 1.3.3 | 0,4790 |
| Délka hlavní osy | Výška | 1.1.2 | 0,5320 |
| | Šířka | 1.1.3 | 0,5540 |
| | List délka | 1.2.1 | 0,6430 |
| | List šířka | 1.2.2 | 0,5610 |
| Délka vedlejší osy | Výška | 1.1.2 | 0,6500 |
| | Intenzita větvení | 1.1.4 | 0,5040 |
| | Délka květní lodyhy | 1.1.5 | 0,5460 |
| | List délka | 1.2.1 | 0,5820 |
| Obvod | Výška | 1.1.2 | 0,6180 |
| | Šířka | 1.1.3 | 0,5950 |
| | List délka | 1.2.1 | 0,8114 |
| | List šířka | 1.2.2 | 0,6095 |
| Plocha | Výška | 1.1.2 | 0,6640 |
| | Intenzita větvení | 1.1.4 | 0,6180 |
| | Délka květní lodyhy | 1.1.5 | 0,5710 |
| | List délka | 1.2.1 | 0,5250 |
| | Květenství počet | 1.3.3 | 0,4110 |
| Procento bílé | Výška | 1.1.2 | -0,5360 |
| | Intenzita větvení | 1.1.4 | -0,5321 |
| | Délka květní lodyhy | 1.1.5 | -0,6210 |
| | Počet květenství | 1.3.3 | -0,5610 |
| Průměr kruhu | Výška | 1.1.2 | 0,6610 |
| | Šířka | 1.1.3 | 0,4890 |
| | Intenzita větvení | 1.1.4 | 0,5180 |
| | Délka květní lodyhy | 1.1.5 | 0,5250 |
| | List délka | 1.2.1 | 0,6680 |
| | List šířka | 1.2.2 | 0,5250 |
| Zubatost | Květenství počet | 1.3.3 | 0,4210 |
| | Délka květní lodyhy | 1.1.5 | -0,4250 |
| | Květenství počet | 1.3.3 | -0,4860 |

V Tab. 25 podrobněji analyzujeme charakteristiky obrazové analýzy týkající se mramorování listů. U GZ č. 10 je největší plocha bílé, ale procento ne (ačkoliv je jedno z největších). Zde by se možná mohlo jednat o klam pozorovatele, protože GZ č. 10 má velkou plochu rostliny zároveň s velkou plochou bílé kresby, což mohlo mylně vyvolat dojem, že i procento bílé je velké a toto mohlo vést k hodnocení znaku 1.2.4 na úrovni 7. U GZ č. 15 je na rozdíl od GZ č. 10 jedno z nejvyšších procent bílé, ale celková plocha je malá – což je důvod pro možná mylné hodnocení 5. Je také možné, že ani GZ č. 10 nemá být ohodnocen na úrovni 7, ale na úrovni 5.

GZ č. 11 nemá mramorování, a tomu odpovídají minimální hodnoty znaků procento bílé a plocha bílé. Nulové hodnoty není možné dosáhnout, protože odlesky a nečistoty se někdy identifikují jako bílá, tedy mramorování. Tato chyba je ale u všech obrazů v jednom pokusu stejná a proto neovlivňuje negativně klasifikaci.

Tab. 25 – Porovnání znaků Plocha, Plocha bílé a Procento bílé měřených pomocí obrazové analýzy s expertně hodnoceným znakem 1.2.4 List – stupeň mramorování

| Pořadí GZ | Plocha | Plocha bílé | Procento bílé | Znak 1.2.4 |
|----------------------------------|-------------|-------------|---------------|------------|
| 1 | 52709 | 13195 | 25,25 | 5 |
| 2 | 51974 | 14009 | 27,64 | 5 |
| 3 | 45312 | 11610 | 25,83 | 5 |
| 4 | 56496 | 14000 | 25,00 | 5 |
| 5 | 45729 | 13838 | 29,70 | 5 |
| 6 | 47978 | 13031 | 27,10 | 5 |
| 7 | 52441 | 13250 | 25,60 | 5 |
| 8 | 51447 | 12916 | 25,50 | 5 |
| 9 | 52470 | 13594 | 26,54 | 5 |
| 10 | 52657 | 14419 | 28,02 | 7 |
| 11 | 47001 | 10336 | 22,51 | 0 |
| 12 | 47811 | 13090 | 27,31 | 5 |
| 13 | 47920 | 13746 | 28,52 | 5 |
| 14 | 48788 | 13704 | 28,32 | 5 |
| 15 | 39886 | 11342 | 29,00 | 5 |
| Průměrná LSD | 5487 | 1671 | 1,73 | |
| Procento odlišných dvojic | 33,3 | 28,6 | 54,3 | |

7 DISKUZE

1. Získání experimentálních dat pro vyhodnocení a ověření klasifikační síly navržených deskriptorů pro ostropestřec mariánský.
 - Nyní se obecně zaměříme na znaky uvedené v deskriptorech a posoudíme vliv genetického zdroje, lokality a roku. Do znaků z deskriptorů, které působí jako významný faktor genetických zdrojů, tedy přispívají k rozlišení GZ patří: Rostlina – výška, šířka, intenzita větvení, délka květní lodyhy; List – délka, šířka, Květenství – průměr, počet; Semeno (nažka) – délka, šířka; Vegetační doba – počet dní od výsevu po začátek tvorby generativních orgánů; Biochemické znaky – celkový obsah silymarinu, obsah silibininu A i B, obsah isosilybinu A i B, obsah silychristinu, obsah silydianinu, obsah kyseliny linolové a celkový obsah nasycených MK. Za stabilní znak v různých prostředích a letech lze považovat ze všech hodnocených znaků obsah isosilibininu A. Andrzejewska a Sadowska (2008) konstatují, že poměr flavonolignanů v silymarinu je předurčen geneticky a je tedy konstantní, pouze silydianin dosáhl určitých změn oproti silychristinu a isosilybinu.
 - Uvedenou korelací je možné sledovat určitou provázanost všech znaků. Pro názornost uvádíme příklady: pozitivní silné závislosti Rostlina – délka květní lodyhy a Květenství – počet, dále negativní silné závislosti Rostlina – délka květní lodyhy a počet dní od výsevu po začátek tvorby generativních orgánů. Ke znakům, které sice umožňují rozlišení, ale nemají silnou korelaci a nesou unikátní informaci, můžeme zařadit Květenství – průměr, Semeno – délka. Dyduch a Najda (2007) popisují vzájemný vztah kvality a barvy oplodí perikarpu u ostropestřce. Atypická barva osemení často spojená s velikostí semen a tvarem může být způsobená řadou agrotechnických chyb (nevhodný termín sklizně, nedostačující ochrana rostlin apod.) nebo mohou mít vliv na nažku také podmínky sušení, skladování a infekce patogeny. Zdravá semena typické barvy splňují požadavky na kvalitu, jsou životaschopná a mají dlouhou dobu klíčení. Kocourková a kol. (2014) konstatují, že samotná fáze klíčení je základem pro růst, celkový vývoj a tvorbu obsahových látek. Andrzejewska a Sadowska (2008) uvádějí znaky, které ovlivňují výnos nažek u ostropestřce. Popisují významnou korelaci výšky rostliny před sklizní, počtem nažek v úboru na hlavní

větvi, počtem nažek v úboru na bočních větvích, HTS, počtem úborů s pappusem na rostlinu a počtem všech úborů na rostlinu. Obsah silymarinu je pozitivně korelován s počtem rostlin na m², výškou rostlin před sklizní a výnosem a negativně korelován s obsahem celkového dusíku rezervních látek v plodech.

- Vzdálenosti mezi genetickými zdroji získané na základě expertního přístupu vykazují blízkou podobnost dvojic GZ 4067 a A8400007 a dále GZ 4444 a A8400009, což je zjevné i na vytvořených dendrogramech. První dvojice potvrdila, že GZ mezi sebou nemají zásadní rozdíly, protože v obou případech se jedná o stejnou odrůdu 'SILYB'. Druhá dvojice ukázala překvapivý výsledek, protože se jedná o uváděné odrůdy 'BĚLEHRAD' a 'SILMA', u těchto GZ doporučujeme získání dalších dat pro potvrzení podobnosti. V dendrogramech je možné pozorovat zařazení jednotlivých GZ do tří větších shluků. Do prvního shluku náleží genetické zdroje A8400008, 4388, 4067 a A8400007. Tato skupina se vyznačuje mohutnými rostlinami o vysokém počtu menších květenství s nízkou HTS. Celkový obsah silymarinu je vysoký a obsah oleje je nízký. Do druhého shluku náleží genetické zdroje 4398, A8400004, 4443 a A8400002. Tato skupina se charakterizuje také převážně mohutnějšími rostlinami o středním počtu větších květenství s vysokou HTS. Má spíše velký průměr květenství se středním počtem květů. Celkový obsah silymarinu je střední s vysokým obsahem oleje. Do posledního třetího shluku náleží téměř polovina genetických zdrojů, konkrétně 4389, 4386, A8400001, 4395, 4385, 4444 a A8400009. Rostliny jsou menší o nízkém počtu středních květenství s průměrnou HTS. Celkový obsah silymarinu je nízký a obsah oleje je střední.
- Na stanovišti Citonice okr. Znojmo se v roce 2013 objevili tyto sledované patogeny *Alternaria silybi*, *Septoria silybi*, *Erysiphe communis*. Atak patogenů *Botrytis cinerea* a *Fusarium oxysporium* byl negativní. V následujícím roce byl výskyt těchto patogenů *Septoria silybi*, *Erysiphe communis*, *Alternaria silybi*, *Botrytis cinerea*. Atak patogena *Fusarium oxysporium* byl negativní. Na stanovišti Olomouc se v roce 2013 objevil pouze patogen *Septoria silybi*. V roce 2014 byl výskyt patogenů *Septoria silybi* a *Erysiphe communis*. Ostatní patogeny uvedené v klasifikátoru GZ nenapadli. Cwalina-Ambroziak a kol. (2012) publikovali, že výnos nažek ostropestřce je ovlivněn resp. snížen patogeny a škůdci. K patogenním houbám, které

- se běžně vyskytují v půdním prostředí lze zařadit: *Botrytis cinerea* a druhy rodů *Alternaria*, *Fusarium*, *Rhizoctonia* a *Phoma*. Alemardan a kol. (2013) uvádějí, že ostropestřec je napadán řadou patogenů a škůdců. Na rostlinách ostropestřce byli hlášeni tyto patogeni *Puccinia punctiformis*, *Microbotryum silybum* a *Septoria silybi*.
- Na obou stanovištích (Citonice, Olomouc) byl v porostu zaznamenán výskyt těchto škůdců: mšice makové (*Aphis fabae*) a plzáka španělského (*Arion lusitanicus*). Dále se na stanovišti Citonice objevil ještě stehlík obecný (*Carduelis carduelis*). Alemardan a kol. (2013) publikují na ostropestřci *Terellia fuscicornis*, *Larinus latus*, *Cleonus piger*, *Nezara viridula*, *Dysaphis lappae cynarae* a *Aphis fabae cirsiacanthoidis*.
 - Do dizertační práce byly použity charakteristiky obrazové analýzy: kruhovitost, délka hlavní osy, délka vedlejší osy, obvod, plocha, plocha bílé, procento bílé, průměr kruhu a zubatost. Genetický zdroj byl vždy významným faktorem. Uvedeno je též procento odlišných dvojic pro posouzení diskriminační síly jednotlivých znaků. Nejvyšší hodnota byla naměřena u znaku procento bílé (54,3%). Dále se prokázalo, že uvedené charakteristiky obrazové analýzy byly silně ovlivněny prostředím.
 - Při detailní analýze je velmi zajímavá souvislost znaku procento bílé z obrazové analýzy a dále uvedených znaků z klasifikátoru. Čím vyšší je procento bílé, tím nižší je výška rostliny, intenzita větvení, délka květní lodyhy a počet květenství.
 - Při porovnání znaků plochy, plochy bílé a procenta bílé měřených pomocí obrazové analýzy s expertně hodnoceným znakem 1.2.4 List – stupeň mramorování můžeme připustit, že při expertním hodnocení lze očekávat určitý klam pozorovatele. Optická iluze je způsobena tím, že oko snímá určitý objekt a mozek ho vyhodnotí jinak.
2. Nad rámec stanovených cílů se pracovalo na metodě pořizování dat – digitální obrazové analýzy, a sice v rámci projektu TAČR TD020346 Systém na podporu rozhodování při tvorbě odrůdové zemědělské politiky v ČR II., dále se pracovalo na vývoji metody FT – NIR analýzy pro ostropestřec.
- Ke světovým špičkám zabývajících se obrazovou analýzou ve světě můžeme zařadit Nizozemí, Německo, Velkou Británii. Česká republika začala pracovat na použití této metody poměrně nedávno. Výše uvedený projekt byl zaměřen na oblast zkoušek odlišnosti, uniformity a stálosti. Hlavním záměrem je zkvalitnění odrůdové

zemědělské politiky v ČR, a tím i zlepšení konkurenceschopnosti pěstitelů, zpracovatelů a šlechtitelů. Obrazová analýza by měla vyloučit chyby, které vzniknou v důsledku lidského faktoru. Nyní je k dispozici pouze obrazová analýza druhu: hrachu setého a řepky olejky (Hampel a kol. 2016). V roce 2011 byl úspěšně ukončen projekt, který se zabýval hodnocením genových kolekcí hrachu a lnu pomocí obrazové analýzy. Studie předvedla využití metody a zejména významné urychlení celého procesu hodnocení plodin (Smýkalová a kol. 2012). Součástí této dizertační práce jsou právě pilotní výsledky analýzy obrazu u ostropestřce zkoušené v polních podmínkách.

- Dále byl vyvinut kalibrační model pro analýzu ostropestřce metodou spektroskopie v blízké infračervené oblasti (FT – NIR). Hlavní výhodou je, že metoda je nedestruktivní a velmi rychlá (Koláčková a kol. 2015). V souvislosti zavedení metody byla tato technika okamžitě využita pro naměření výsledků obsahu oleje a MK u vypěstovaných GZ. Metoda má širokou škálu využití pro stanovení obsahu různých látek. Bradáčová a kol. (2014) provedli kalibraci FT – NIR pro stanovení obsahu mykotoxinů v znu ječmene. Další studie za použití metody FT – NIR se osvědčila ve stanovení kvalitativních parametrů kakaových bobů, které jsou velmi často falšovány (Sunoj a kol. 2016). S podobným cílem předchozího pokusu byly zkoušeny různé kultivary česneku. Analýza FT – NIR představuje určitou možnost klasifikace potravin, protože požadavky kvality spotřebitele na prodejce resp. výrobce mají neustále zvyšující tendenci (Acri a kol. 2016).
3. Při výběru vhodného genetického zdroje pro tvorbu nové odrůdy ostropestřce si nejprve hypoteticky stanovme šlechtitelské cíle. Ty lze u léčivých rostlin obecně rozdělit do tří hlavních skupin, a sice znaky charakterizující výnos, dále množství a spektrum obsahových látek a nakonec znaky spojené s odolností vůči abiotickým a biotickým vlivům (Felklová a Kocourková 2003). Pěstitelé ostropestřce požadují odrůdy se synchronizovanou dobou kvetení a tvorbou semen, sníženým počtem trnů na rostlině a redukováním vypadávání semen z úboru v době zrání (Menšík 2007, Alemardan a kol. 2013). U šlechtění na obsahové látky ostropestřce můžeme rozlišit dva základní směry šlechtění. Požadavky na fenotyp odrůd ostropestřce vycházejí z posledních studií účinků látek v silymarinovém komplexu a dále jsou postaveny na

využití oleje ze semen jako vedlejšího produktu při zpracování. Droga pro farmaceutický průmysl musí obsahovat nejméně 1,5 % silymarinu v semenech, počítáno na silybin (Evropský lékopis a Americké lékopisy in AbouZid a kol. 2016). Podle výsledků publikovaných v literatuře dosahují hodnoty obsahu silymarinového komplexu u odrůd, krajových odrůd i sběrů z volné přírody celého světa od desetin procent až po hodnoty 8 – 10 % (Alemardan a kol. 2013). Evropské genetické zdroje, zejména odrůdy pěstované v Polsku, na Slovensku, v České republice, Německu obsahují 1,5 – 3,5 % silymarinu (Kozera a Nowak 2004, Andrzejewska a Sadowska 2008, Habán a kol. 2009). Obsahy silymarinu v semenech odrůd z Bulharska a Rumunska mohou dosahovat až 5,6 % (Geneva a kol. 2008). Podle Spitzové (2007) je potenciál středoevropských odrůd kolem 3 – 4 % silymarinu v semenech. Z námi hodnocených genetických zdrojů dosahovaly nejvyšších hodnot obsahu silymarinu v semenech dva zdroje označené jako odrůda Silyb (3,53 %; 3,98 %) a zdroj VÚRV v.v.i. – položka z SRN, Mnichov (3,28 %). Z hlediska složení komplexu jsou důležitými složkami flavonolignany silibinin A a B (syn. silybin A a B), isosilibinin A a B (syn. isosilybin A a B), silychristin a silydianin. Obsah flavonoidu taxofolinu nebyl stanovován. Všechny tyto složky jsou považovány za chemické markery při hodnocení genetických zdrojů a například i extraktů ostropestřce (AbouZid a kol. 2016), přičemž silibinin A a B zodpovídá zejména za antioxidační aktivitu. Z výsledků je patrné, že nejvyšší obsahy sledovaných markerů měla odrůda Silyb, obě položky VÚRV v.v.i. (0,88 a 0,80 %) silibininu A, dále položka VÚRV v.v.i. z Belgie (0,65), stejně tak vykazovaly vysoký obsah silibininu B (1,33; 1,22 a 0,96). Isomery isosilibinin A a B dosahovaly nejvyšších hodnot obě odrůdy Silyb, dále položky Serbia, VÚRV v.v.i. Mnichov a české položky VÚRV v.v.i. – Libochovice (0,19 – 0,14). S vysokým obsahem silibininů a isosilibininů koresponduje i vysoký obsah silychristinu a nízký obsah silydianinu. Všechny tři položky (odrůdy Silyb a položka VÚRV v.v.i. – Belgie) lze charakterizovat jako chemotyp fialově kvetoucí – silibininového typu (Adzet a kol. 1993). Ostropestřec je také alternativní olejninou, obsah oleje v semenech se dle genotypu pohybuje kolem 20 – 25 % (AbouZid a kol. 2016, Alemardan a kol. 2013). Nejvyšší obsah oleje měly položky DDR (Maďarsko, 26,28 %), Kanada (Maďarsko, 25,95 %) a položka Libochovice z VÚRV v.v.i.

(25,22 %). Dominantními složkami oleje jsou kyselina linolová a olejová (AbouZid a kol. 2016, Mhamdi a kol. 2016), přičemž obsah kyseliny linolové může dosahovat dle publikovaných informací přes 60 % (Fathi-Achachlouei a Azadmard-Damirchi 2009). Vysokým obsahem oleje a kyseliny linolové se vyznačuje česká odrůda Mirel (Růžičková a kol. 2011). Z námi hodnocených zdrojů dosáhl obsah kyseliny linolové nejvyšších hodnot u položky Belgie (VÚRV v.v.i., 57,61 %), odrůda Silyb (55,62 %) a srbská položka (55,50 %). Obsah kyseliny olejové je v nepřímé úměře k obsahu kyseliny linolové. Celkový obsah nenasycených mastných kyselin byl zajímavý u položky Libochovice (VÚRV v.v.i., 28,55 %), Francie (VÚRV v.v.i. (26,08 %) a rumunské odrůdy De Prahova (25,91 %). Pro budoucí šlechtění musíme tedy uvažovat o způsobu výběru genetických zdrojů, způsobu opylení a vhodné metodě křížení. Jak ukázaly předchozí pokusy Růžičkové (2010) s izolací květenství a jak je uvedeno v literatuře (Hetz a kol. 1995), ostropestřec je převážně samosprašná rostlina, s neznámým podílem cizosprašnosti. Alemardan a kol. (2013), autoři nové moldavské odrůdy Argintiu navrhuje tvorbu inbredních linií vybraných zdrojů, dále jejich vzájemné křížení a pozitivní selekci v raných generacích (F2 – F4). Velmi důležitým aspektem je pozitivní korelace mezi výnosem semen a obsahem silymarinu. Kromě chemických znaků lze použít elegantní a rychlé markerování pomocí AFLP (Alemardan a kol. 2013).

- Deskriptory či klasifikátory se intenzivně využívají v odrůdovém zkušebnictví. Celosvětově je metodika zaštitěna Unií na ochranu nových odrůd rostlin (UPOV), na úrovni Evropské unie pak Odrůdovým úřadem společenství (CPVO), který však přebírá drtivou většinu metodických materiálů právě z UPOV. Zastřešujícím dokumentem pro odrůdové zkušebnictví je TG/1/3, Obecný úvod, který obsahuje i stať o klasifikátorech. Přehled existujících klasifikátorů i klasifikátorů ve vývoji je uveden v dokumentu TC/52/2, ve kterém však klasifikátor pro ostropestřec není uveden a tedy patrně oficiálně neexistuje.
- Dokument TGP/7 je určen právě pro vývoj klasifikátorů jednotlivých plodin. Mimo informací o formálním schvalování klasifikátorů v rámci UPOV obsahuje i praktické informace ohledně typů znaků pro klasifikaci, úrovních znaků, odrůdách příkladech a součástí je též vzorový klasifikátor. Na rozdíl od verifikovaného deskriptoru jsou

požadovány úrovně znaků číslované od 1 a obsahující liché i sudé hodnoty; tento přístup odpovídající potřebám odrůdového zkušebnictví však nemusí být vhodný pro klasifikaci genetických zdrojů.

- Práce s klasifikátorem je popsána v dokumentu TGP/8. Je zde zejména uvedena tzv. GAIA metodologie pro porovnávání odrůd (zde je primárním cílem výběr vhodné kolekce odrůd do pokusu). Postup je metodicky shodný s postupem použitým pro zjišťování podobnosti genetických zdrojů v této práci. Jsou zde expertně stanovené váhy pro jednotlivé znaky, a ty jsou na základě rozdílů v jednotlivých znacích načítány. Nakonec je stanovena (opět expertně) hranice, od které jsou odrůdy pokládány za odlišné. Námi použité váhy – 1 a 50 – se jeví jako příliš hrubé, avšak přesnější nastavení vah by si vyžádalo vyhodnotit další pokusy.
- Ostropestřec mariánský je obsažen i v databázi UPOV zvané GENIE. Zde jsou uvedeny odrůdové úřady s praktickou zkušeností se zkoušením ostropestřce: Česká republika, Evropská unie (Odrůdový úřad společenství), Německo, Polsko, Moldávie, Ruská federace, Velká Británie; podrobnější informace však chybí. V České republice aktuálně zkouší odrůdy ostropestřce Národní odrůdový úřad, k tomuto účelu existuje pracovní verze klasifikátoru (Kraus 2016).

8 ZÁVĚR

Dizertační práce byla zaměřena na výzkum speciální rostliny jako je ostropestřec mariánský [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.], který především v poslední době vzbuzuje jistou pozornost a bližší zájem. Hlavní účinnou látkou je silymarinový komplex a vedlejším produktem je olej. Silymarinový komplex působí blahodárně především na regeneraci a detoxikaci jater. Jisté výzkumy prokázaly uplatnění ostropestřce na některá nádorová onemocnění, která jsou v současné době pro populaci těžce léčitelná.

Pro získání 15 genetických zdrojů byla úspěšně navázaná spolupráce s genovými bankami. GZ byly zasety v roce 2013 a 2014 na dvou pěstebních lokalitách Cítovice (360 m n. m.) a Olomouc (250 m n. m.) v České republice. Rostliny byly hodnoceny podle schválené minimální sady deskriptorů pro ostropestřec mariánský.

Z výsledků vyplývají tyto skutečnosti:

Z klasifikátoru byl podle stanovených znaků: morfologických, biologických a hospodářských zkoumán vliv GZ, lokality a ročníku metodou ANOVA. GZ se v některých znacích průkazně lišily. Navíc se ukázalo, že stabilním znakem, který prokázal významnost GZ a zároveň se průkazně nelišil v lokalitě a ročníku je znak isosilibinin A.

Korelace ukázala pozitivní silnou závislost, negativní silnou závislost a znaky nesoucí unikátní informaci.

GZ byly rozděleny podle bodového hodnocení v dendrogramech do 3 hlavních skupin s podobnou charakteristikou. Velký soubor tvoří přibližně polovina GZ. Z výsledků se potvrdila podobnost GZ A8400009 a GZ 4067, což se dalo předvídat, protože v obou případech se jedná o odrůdu označenou jako SILYB. Dále se ukázala nepředpokládaná podobnost odrůdy SILMA a odrůdy BĚLEHRAD.

Patogeni se vyskytli na všech stanovištích a v obou letech (2013 – 2014). Důležité je sledování zdravotního stavu rostlin, protože patogeni mají vliv na výnos nažek. Jedním z faktorů, kterým můžeme ovlivnit napadení patogenů je správné agrotechnické opatření. Pro zajímavost byli zaznamenáváni škůdci, kteří atakovali porosty ostropestřce, v minimální sadě deskriptorů však nejsou sledovaným znakem.

Všechny hodnocené genetické zdroje vyhověly po stránce požadavků na kvalitu Evropskému lékopisu, tj. obsahovaly více jak 1,5 % silymarinu v semenech, počítáno na silybin (silibinin). Minimální obsah oleje není předepsán v žádné normě. 14 zdrojů z 15 obsahovalo více než 24 % oleje. Obsah kyseliny linolové v oleji byl u 7 položek vyšší než 50 %. Jako perspektivní genetické zdroje z hlediska kvality, zejména množství silymarinového komplexu a oleje z jednotky plochy pro další šlechtění v podmínkách střední Evropy můžeme označit tyto 3: odrůda Silyb (2 položky z Genové banky, VÚRV v.v.i. donor GALENA Opava a.s., a donor AGRA GROUP a.s. Střelské Hoštice), zajímavá je položka německá DEU z Mnichova (VÚRV v.v.i.). Co se týče olejnatosti, odrůda Silyb je poměrně univerzální, avšak do hodnocení nebyly zařazeny nové olejnaté odrůdy jako Mirel a jeho následovníci, a sice z důvodu nedostupnosti rozmnožovacího materiálu.

Pro zkvalitnění dizertační práce byla nově aplikována v polních podmínkách obrazová analýza na ostropestřci. Dále byly měřeny obsahové látky (olej a MK) vzorků GZ ostropestřce moderní metodou FT – NIR.

Velmi hodnotným závěrem je fakt, že minimální sada deskriptorů rozlišila zkoumané GZ a můžeme říci, že klasifikátor má diskriminační schopnosti v popsanych znacích.

Uplatnění v praxi

Vzhledem k popularitě ostropestřce můžeme v krátké době očekávat rozvoj šlechtění nových odrůd minimálně v celé Evropě. Velmi důležité je zachování genetické diverzity

materiálu (variabilita). V současné době jsou hlavními požadavky pro ostropestřec vysoký výnos a obsah chemických látek zejména; silymarinového komplexu a oleje dále rovnoměrné dozrání úborů, rezistence vůči patogenům, škůdcům. A proto bylo pro rozlišení GZ nezbytné vyvinout právě klasifikátor, u kterého byla v této práci ověřena diskriminační schopnost. Aktuálními cíli nových studií bude využití moderních metod molekulární biologie pro odlišení genetických zdrojů a využití ve šlechtitelské praxi, zavedení tzv. trpasličích odrůd ostropestřce s vysokým počtem úborů ve stejné výšce, ale nesmíme opomenout také nedostatek relevantních studií biologie kvetení této hvězdicovité rostliny s komplikovaným květenstvím a nedaří se rovněž šlechtěním snížit počet ostnů na rostlině.

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Abenavoli L., Capasso R., Milic N., Capasso F., 2010: *Milk Thistle in Liver Diseases: Past, Present, Future*. *Phytotherapy Research*, 24 (10): 1423-1432.

AbouZid SF., Chen SN., McAlpine JB., Friesen JB., Pauli GF., 2016: *Silybum marianum pericarp yields enhanced silymarin products*. *Fitoterapia*, 112: 136-143.

Acri G., Testagrossa B., Vermiglio G., 2016: *FT-NIR analysis of different garlic cultivars*. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10 (1): 127-136.

Adzet T., Iglesias J., Martinez F., 1993: *Flavonolignans in the fruits of Silybum genus taxa: a chromatographic and mass spectrometric survey*. *Plantas Medicinales et Phytotherapie*, 26 (2): 117-129.

Ahmad U., Faiyazuddin M., Hussain MT., Ahmad S., Alshammari TM., Shakeel F., 2015: *Silymarin: an insight to its formulation and analytical prospects*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37 (11): 1-17.

Achleitner A., „et al.“ 2013: *Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaus*. Bernburg: Verein für Arznei- und Gewürzpflanzen Saluplanta, 5. svazek., 800 s., ISBN: 978-393-5971-645.

Alemardan A., Karkanis A., Salehi R., 2013: *Breeding Objectives and Selection Criteria for Milk Thistle [Silybum marianum (L.) Gaertn.] Improvement*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41 (2): 340-347.

Andrzejewska J., Lamparski R., Skinder Z., 2006: *Assessing the extent of damage caused by Cleonus piger scor and other entomofauna in the cultivation of milk thistle [Silybum marianum (L.) Gaertn].* Journal of Plant Protection Research, 46 (1): 49-59.

Andrzejewska J., Sadowska K., 2008: *Effect of cultivation conditions on the variability and interrelation of yield and raw material quality in milk thistle (Silybum marianum (L.) Gaertn.).* Acta Scientiarum Polonorum-Agricultura, 7 (3): 3-11.

Asghari-Zakaria R., Panahi AR., Sadeghizadeh M., 2008: *Comparative Study of Chromosome Morphology in Silybum marianum.* The Japan Mendel Society Cytologia, 73 (3): 327-332.

Bhattacharya S., 2011: *Phytotherapeutic properties of milk thistle seeds: An overview.* Journal of Advanced Pharmacy Education & Research, 1: 69-79.

Bradáčová M., Bezděková K., Smutná P., 2014: *Determination of Mycotoxins in Barley Grain by FT-NIR Spectroscopy.* Kvasný průmysl, 60 (10): 254-257.

Cwalina-Ambroziak B., Wierzbowska J., Damszel M., Bowszys T., 2012: *The effect of mineral fertilization on achenes yield and fungal communities isolated from the stems of milk thistle Silybum marianum (L.) Gaertner.* Acta Scientiarum Polonorum - Hortorum Cultus, 11 (4): 157-168.

Český lékopis 2009 (ČL 2009): Pharmacopoea Bohemica MMIX (Ph.B. MMIX). Evropská část. Národní část. *Silybi mariani fructus*. 3. díl 1. vyd., Praha: Grada Publishing, (3146) 3968 s., ISBN: 978-80-247-2994-7.

Dingermann Th., Hiller K., Schneider G., Zündorf I., 2004: *Schneider – Arzneidrogen.* 5. vyd., Elsevier GmbH, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 627 s., ISBN: 3-8274-1481-4.

Dyduch J., Najda A., 2007: *The evaluation of the milk thistle [Silybum marianum L. Gaernt.] fruit quality depending on the pericarp colour*. Herba Polonica, 53 (3): 331-336.

Fathi-Achachlouei B., Azadmard-Damirchi S., 2009: *Milk Thistle Seed Oil Constituents from Different Varieties Grown in Iran*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 86 (7): 643-649.

Felklová M., Kocourková B., 2003: *Pěstování léčivých rostlin: (pro farmaceuty)*. 1. vyd. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 100 s., ISBN: 80-7305-458-2.

Garcia-Herrera P., Sanchez-Mata MC., Camara M., Fernandez-Ruiz V., Diez-Marques C., Molina M., Tardío J., 2014: *Nutrient composition of six wild edible Mediterranean Asteraceae plants of dietary interest*. Journal of food composition and analysis, 34 (2): 163-170.

Geneva M., Stancheva I., Sichanova M., Boychinova M., Georgiev G., Dolezal M., 2008: *Improvement of Milk Thistle (Silybum marianum L.) seed yield and quality with foliar fertilization and growth effector MD 148/II*. General Applied Plant Physiology, 34 (3-4): 309-318.

Gonceariuc M., 2007: *Some breeding results of Silybum marianum Gaertn.* Romanian Biological Sciences, 5 (1/2): 52-53.

Gromová Z., Blažek Z., Černá K., Chládek M., Klimus K., Křikava J., Musil P., Petříková K., Vrzalová J., 1993: *Pestovanie špeciálných plodín*. Vysoká škola poľnohospodárska v Nitre vo Vydavateľskom a edičnom stredisku VŠP, ISBN: 80-7137-115-7.

Habán M., Otepka P., Šalamon I., 2008: *Pol'nohospodárske aspekty pestovania liečivých rastlín*. Slovenská pol'nohospodárska univerzita v Nitre, ISBN: 978-80-552-0121-4.

Habán M., Otepka P., Kobida L., Habánová M., 2009: *Production and quality of milk thistle (*Silybum marianum* [L.] Gaertn.) cultivated in cultural conditions of warm agri-climatic macroregion*. Horticultural Science, 36 (2): 69-74.

Hampel D., Janová J., Dobešová A., Adamec V., Myšková K., Koláčková P., 2016: *Statsimg: Aplikace analýzy obrazu v odrudovém zkušebnictví*. 1. vyd., Mendelova univerzita v Brně, Zlín: Tigris, 144 s., ISBN: 978-80-7509-391-2.

Hetz E., Liersch R., Schieder O., 1995: *Genetic investigations on *Silybum marianum* and *Silybum eburneum* with respect to leaf colour, outcrossing ratio and flavonolignan composition*. Planta Medica, 61 (1): 54-57.

Hornberg A., 2007: *Handbook of Machine Vision*. John Wiley & Sons.

Jamali S., 2015: *First report of *Septoria silybi* associated with leaf blotch of *Silybum marianum* from Iran*. Plant Science Today, 2 (1): 21-23.

Jänicke Ch., Grünwald J., Brendler T., 2003: *Handbuch Phytotherapie: Indikationen, Anwendungen, Wirksamkeit, Präparate*. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges, 591 s., ISBN: 3-8047-1950-3.

Karkanis A., Bilalis D., Efthimiadou A., 2011: *Cultivation of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.), a medicinal weed*. Industrial Crops and Products, 34 (1): 825-830.

Khan MA., Blackshaw RE., Marwat KB., 2009: *Biology of milk thistle (Silybum marianum) and the management options for growers in north-western Pakistan*. Weed Biology and Management, 9 (2): 99-105.

Kocourková B., 2008: *Speciální rostliny – Ostropestřec mariánský (Silibum marianum [L.] Gaertn.)*, 140 – 143 s., In: ZIMOLKA J. *Speciální produkce rostlinná - rostlinná výroba: Polní a zahradní plodiny, základy pícninářství*. 2. vyd., Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 245 s., ISBN: 978-80-7375-230-9.

Kocourková B., Pluháčková H., Růžičková G., 2014: *Pěstování speciálních plodin*. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 100 s., ISBN: 978-80-7509-020-1.

Koláčková P., Růžičková G., Gregor T., Šišperová E., 2015: *Quick Method (FT-NIR) for the Determination of Oil and Major Fatty Acids Content in Whole Achenes of Milk Thistle [Silybum marianum (L.) Gaertn.]*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 95 (11): 2264-2270.

Kozera W., Nowak K., 2004: *The effect of fertilization on milk thistle (Silybum marianum) yield and its chosen features*. Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska. Sectio E, Agricultura, 59 (1): 369-374.

Kresánek J. (ml.), Kresánek J. (st.), 2008: *Atlas léčivých rostlin a lesných plodov*. Martin: Osveta, 424 s., ISBN: 978-80-8063-292-2.

Kubínek J., 1986: *Ostropestřec mariánský (silibum marianum) Agrotechnika*.

Malekzadeh M., Mirmazloum SI., Mortazavi SN., Panahi M., Anguorani HR., 2011: *Physicochemical properties and oil constituents of milk thistle (Silybum marianum Gaertn. cv. Budakalászi) under drought stress*. Journal of Medicinal Plants Research, 5 (13): 2886-2889.

Martinelli T., Andrzejewska J., Salis M., Sulas L., 2015: *Phenological growth stages of Silybum marianum according to the extended BBCH scale*. Annals of Applied Biology, 166 (1): 53-66.

Mhamdi B., Abbassi F., Smaoui A., Abdelly Ch., Marzouk B., 2016: *Fatty acids, essential oil and phenolics composition of Silybum marianum seeds and their antioxidant activities*. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 29 (3): 951-959.

Míka V., Kohoutek A., Nerušil P., 2008: *Spektroskopie v blízké infračervené oblasti (NIR). Výběr praktických aplikací v zemědělství. Metodika pro praxi*. VÚRV, v.v.i., Praha. ISBN: 978-80-87011-53-9.

Milić N., Milošević N., Suvajdžić L., Žarkov M., Abenavoli L., 2013: *New Therapeutic Potentials of Milk Thistle (Silybum marianum)*. Natural Product Communications, 8 (12): 1801-1810.

Moudrý J., 2011: *Alternativní plodiny*. 1. vyd., Praha: Profi Press, 142 s., ISBN: 978-80-86726-40-3.

Sabir S., Arshad M., Asif S., Chaudhari SK., 2014: *An insight into medicinal and therapeutic potential of Silybum marianum (L.) Gaertn.* International Journal of Biosciences, 4 (11): 104-115.

Shokrpour M., Mohammadi SA., Moghaddam M., Ziai SA., Javanshir A., 2007: *Variation in Flavonolignan Concentration of Milk Thistle (Silybum marianum) Fruits Grown in Iran*. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 13 (4): 54-68.

Schaffner W., Häfelfinger B., Ernst B., 1999: *Heilpflanzen-Kompendium: Vorkommen, Merkmale, Inhaltsstoffe, Anwendung*. 3. vyd., Thalacker-Medien, Braunschweig, 336 s., ISBN: 3-87815-139-X.

- Schiavone A., Righi F., Quarantelli A., Bruni R., Serventi P., Fusari A., 2007: *Use of Silybum marianum fruit extract in broiler chicken nutrition: influence on performance and meat quality*. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 91 (5-6): 256-262.
- Slavík B., Štěpánková J., Štěpánek J., 2004: *Květena České republiky* 7. 1. vyd., Praha: Akademia, 767 s., ISBN: 80-200-1161-7.
- Smýkalová I., Seidenglanz M., Hampel D., 2012: *Využití digitální obrazové analýzy v hodnocení plodin*. Úroda, 11: 54-56.
- Spitzová I., 1997: *Ostropestřec mariánský - staronová léčivá rostlina*. Úroda: časopis pro rostlinnou produkci, 45 (8): 28-29.
- Suchý Jr. P., Straková E., Kummer V., Herzig I., Písaříková V., Blechová R., Mašková J., 2008: *Hepatoprotective Effects of Milk Thistle (Silybum marianum) Seed Cakes during the Chicken Broiler Fattening*. Acta Veterinaria Brno, 77 (1): 31-38.
- Sulas L., Ventura A., Murgia L., 2008: *Phytomass production from Silybum marianum for bioenergy*. Options méditerranéennes. Série A: séminaires méditerranéens, 79: 487-490.
- Sunoj S., Igathinathane C., Visvanathan R., 2016: *Nondestructive determination of cocoa bean quality using FT-NIR spectroscopy*. Computers and Electronics in Agriculture, 124: 234-242.
- Šafránková I., Koláčková P., Růžičková G., 2015: *The pathogens of milk thistle (Silybum marianum L. Gaertn.) in the Czech republic*. Journal of Advances in Agriculture, 5 (1): 538-544.

Rosińska A., Jarosz M., Szopińska D., Dorna H., Tylkowska K., 2013: *Comparison of methods for detecting fungi in Silybum marianum (L.) Gaertn. seeds*. Folia Horticulturae, 25 (2): 107-115.

Růžičková G., Fojtová J., Součková M., 2011: *The yield and quality of milk thistle [Silybum marianum (L.) Gaertn.] seed oil from the perspective of environment and genotype – a pilot study*. Acta fytotechnica et zootechnica, 14 (1): 9-12.

Takase M., Chen Y., Liu H., Zhao T., Yang L., Wu X., 2014: *Biodiesel production from non-edible Silybum marianum oil using heterogeneous solid base catalyst under ultrasonication*. Ultrasonics Sonochemistry, 21 (5): 1752-1762.

Tůmová L., Gallová K., 2006: *Terapeutické účinky Silybum marianum*. Praktické lékařství, 2 (4): 185-187.

Tůmová L., Tůma J., 2009: *Ovlivnění produkce sekundárních metabolitů v buněčné kultuře Silybum marianum přidávkem elicitoru paraquat*. Chemické listy, 103: 503-510.

Wichtl M., Bauer R., Blaschek W., Buff W., Hiller K., Lichius J. J., Löw D., Stahl-Biskup E., Teuscher E., 2009: *Teedrogen und Phytopharmaka: Ein Handbuch für die Praxis auf wissenschaftlicher Grundlage*. 5. vyd., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, WVG, 785 s., ISBN: 978-3-8047-2369-6.

Zheljazkov VD., Zhalnov I., Nedkov NK., 2006: *Herbicides for weed control in blessed thistle (Silybum marianum)*. Weed Technology, 20 (4): 1030-1034.

Internetové zdroje:

Branžovský I., Příbylová Z., Buchtová I., 2012: *Situační a výhledová zpráva léčivé, aromatické a kořeninové rostliny*, Vydává: Ministerstvo zemědělství. Databáze online

[cit. 2015-6-14]. Dostupné na:

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

Dotlačil L., Faberová I., Holubec V., Stehno Z., 2009: *Rámcová metodika Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agro – biodiverzity*. Rada genetických zdrojů – Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i. Praha – Ruzyně. Databáze online [cit. 2011-10-25]. Dostupné na: http://genbank.vurv.cz/genetic/nar_prog/Dokumenty/Metodika_2009.pdf

EVIGEZ, © 2014: *Evidence genetických zdrojů rostlin - Český informační systém EVIGEZ*. Databáze online [cit. 2014-10-25]. Dostupné na: http://genbank.vurv.cz/genetic/resources/asp2/default_c.htm

GENIE DATABASE - SILYB_MAR, UPOV. © 2011: Databáze online [cit. 2016-07-29]. Dostupné na: <http://www.upov.int/genie/en/dus.jsp?id=5210>

Geoportál SOWAC - GIS, © 2013: *Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, v.v.i.* Databáze online [cit. 2013-10-5]. Dostupné na: <http://www.sowac-gis.cz/>

Irel, © 2014: *Kosmetika*. Databáze online [cit. 2014-12-30]. Dostupné na: <http://www.irel.eu/produkty/kosmetika>

Jeffrey C., 2001: *Mansfeld's World Database of Agricultural and Horticultural Crops*. Databáze online [cit. 2015-12-30]. Dostupné na: http://mansfeld.ipk-gatersleben.de/apex/f?p=185:46:533724393588::NO:::module,mf_use,source,akzanz,reh_m,akzname,taxid:mf,,botnam,0,,Silybum%20marianum,31810

Středa T., Cerkal R., 2003: *Domácí zdroje rostlinných olejů vhodných k přípravě ekologicky příznivějších nátěrových hmot*. Databáze online [cit. 2015-03-14]. Dostupné na: <https://mnet.mendelu.cz/mendelnet2003/obsahy/fyto/streda.pdf>

TC/52/2: *Test Guidelines*, UPOV 2016: Databáze online [cit. 2016-07-29]. Dostupné na: http://www.upov.int/meetings/en/details.jsp?meeting_id=38785

TG/1/3: *General Introduction to the Examination Of Distinctness, Uniformity and Stability and the Development of Harmonized Descriptions of New Varieties of Plants*, UPOV 2002: Databáze online [cit. 2016-07-29]. Dostupné na: www.upov.int/en/publications/tg-rom/tg001/tg_1_3.pdf

TGP/7: *Development of Test Guidelines*, UPOV 2014: Databáze online [cit. 2016-07-29]. Dostupné na: <http://www.upov.int/tgp/en/>

TGP/8: *Trial Design and Techniques Used in the Examination of Distinctness, Uniformity and Stability*, UPOV 2014: Databáze online [cit. 2016-07-29]. Dostupné na: <http://www.upov.int/tgp/en/>

ÚKZÚZ, © 2016: *Databáze odrůd*, Ministerstvo zemědělství. Databáze online [cit. 2016-10-5]. Dostupné na: <http://eagri.cz/public/app/sok/odrudyNouQF.do>

Ústní sdělení:

Dušková E. 2011

Buchta J. 2010

Faberová I. 2011

Kraus P. 2016

Menšík L. 2007

Růžičková G. 2011

Uher J. 2012

10 SEZNAM OBRÁZKŮ

| | |
|---|----|
| Obr. 1 – <i>Komponenty silymarinového komplexu s jejich strukturními vzorci (Ahmad a kol. 2015)</i> | 17 |
| Obr. 2 – <i>Plán pokusu stanoviště Citonice</i> | 41 |
| Obr. 3 – <i>Ruční sklizeň zralých úborů</i> | 42 |
| Obr. 4 – <i>Plán pokusu stanoviště Olomouc</i> | 44 |
| Obr. 5 – <i>Sušárna na pracovišti Olomouc – sušení jednotlivých genetických zdrojů</i> | 45 |
| Obr. 6 – <i>Stacionární mlátička Haldrup LT – 20</i> | 46 |
| Obr. 7 – <i>Rostlina – vzrůst</i> | 47 |
| Obr. 8 – <i>Rostlina – výška (cm)</i> | 48 |
| Obr. 9 – <i>Rostlina – šířka (cm)</i> | 49 |
| Obr. 10 – <i>Rostlina – intenzita větvení</i> | 50 |
| Obr. 11 – <i>Rostlina – délka květní lodyhy (cm)</i> | 51 |
| Obr. 12 – <i>List – délka (cm)</i> | 52 |
| Obr. 13 – <i>List – šířka (cm)</i> | 52 |
| Obr. 14 – <i>List – hloubka zářezů</i> | 53 |
| Obr. 15 – <i>List – stupeň mramorování</i> | 53 |

| | |
|--|----|
| Obr. 16 – <i>Květenství průměr (cm)</i> | 54 |
| Obr. 17 – <i>Květenství – počet (ks)</i> | 55 |
| Obr. 18 – <i>Květ – barva květů</i> | 55 |
| Obr. 19 – <i>Semeno – délka (mm)</i> | 56 |
| Obr. 20 – <i>Semeno – šířka (mm)</i> | 57 |
| Obr. 21 – <i>Semeno barva</i> | 58 |
| Obr. 22 – <i>Výnos semene (g)</i> | 58 |
| Obr. 23 – <i>HTS (g)</i> | 59 |
| Obr. 24 – <i>Začátek tvorby generativních orgánů</i> | 60 |
| Obr. 25 – <i>Začátek kvetení terminálního úboru</i> | 60 |
| Obr. 26 – <i>Zralost terminálního úboru</i> | 61 |
| Obr. 27 – <i>Botrytis cinerea a Erysiphe communis</i> | 62 |
| Obr. 28 – <i>Septoria silybi</i> | 62 |
| Obr. 29 – <i>Erysiphe communis</i> | 63 |
| Obr. 30 – <i>Stanovení: metodou FT – NIR</i> | 64 |
| Obr. 31 – <i>Příklad záznamu chromatografické analýzy vzorku a směsného standardu</i> .. | 65 |
| Obr. 32 – <i>Přípravek pro vytvoření pozadí tzv. „homogenní clona“</i> | 68 |

| | |
|--|----|
| Obr. 33 – <i>Výchozí obraz převedený do stupňů šedi</i> | 70 |
| Obr. 34 – <i>Vyznačování bodů na okraji kalibračního objektu. Na horním okraji kalibračního kruhu jsou patrné vodící linky určující umístění bodu</i> | 71 |
| Obr. 35 – <i>Vyznačené body na okraji kalibračního objektu</i> | 72 |
| Obr. 36 – <i>Vymezení vnější hranice měřeného objektu</i> | 74 |
| Obr. 37 – <i>Vymezení vnitřní hranice měřeného objektu</i> | 74 |
| Obr. 38 – <i>Hranice objektu identifikované v prostoru mezi určenou vnitřní a vnější hranicí (jemná čára) a polygon daný určenou vnitřní hranicí objektu (bílá plocha)</i> | 75 |
| Obr. 39 – <i>Identifikace hranic objektu bez využití vnitřního a vnějšího přibližného obrysu</i> | 76 |
| Obr. 40 – <i>Dilatace obrazu</i> | 77 |
| Obr. 41 – <i>Vyplnění uzavřených oblastí obrazu</i> | 77 |
| Obr. 42 – <i>Eroze obrazu</i> | 78 |
| Obr. 43 – <i>Identifikace měřeného objektu</i> | 78 |
| Obr. 44 – <i>Identifikace bílých (světлых) ploch na listové růžici</i> | 79 |
| Obr. 45 – <i>Průběh teplot [$^{\circ}\text{C}$] na stanici Kuchařovice, Znojmo</i> | 81 |
| Obr. 46 – <i>Průběh relativní vlhkosti vzduchu [%] na stanici Kuchařovice, Znojmo</i> | 82 |
| Obr. 47 – <i>Průběh srážek [mm] na stanici Kuchařovice, Znojmo</i> | 82 |
| Obr. 48 – <i>Průběh délky slunečního svitu [h] na stanici Kuchařovice, Znojmo</i> | 83 |

| | |
|--|-----|
| Obr. 49 – <i>Mšice maková (Aphis fabae)</i> | 85 |
| Obr. 50 – <i>Plzák španělský (Arion lusitanicus)</i> | 86 |
| Obr. 51 – <i>Vyzobané nažky v úboru od stehlíků obecných (Carduelis carduelis)</i> | 86 |
| Obr. 52 – <i>Průběh teplot [°C] na stanici Olomouc</i> | 87 |
| Obr. 53 – <i>Průběh relativní vlhkosti vzduchu [%] na stanici Olomouc</i> | 88 |
| Obr. 54 – <i>Průběh srážek [mm] na stanici Olomouc</i> | 88 |
| Obr. 55 – <i>Průběh délky slunečního svitu [h] na stanici Olomouc</i> | 89 |
| Obr. 56 – <i>Vliv sucha na rostlinách</i> | 91 |
| Obr. 57 – <i>Poškozený list ostropestřce od plzáka španělského (Arion lusitanicus)</i> | 92 |
| Obr. 58 – <i>Korelace mezi znaky deskriptoru</i> | 101 |
| Obr. 59 – <i>Dendrogram vytvořený na základě Euklidovských vzdáleností mezi genetickými zdroji a maximálních vzdáleností mezi shluky</i> | 109 |
| Obr. 60 – <i>Dendrogram vytvořený na základě expertních vzdáleností mezi genetickými zdroji a maximálních vzdáleností mezi shluky</i> | 109 |
| Obr. 61 – <i>Dendrogram vytvořený na základě Euklidovských vzdáleností mezi genetickými zdroji a průměrných vzdáleností mezi shluky</i> | 110 |
| Obr. 62 – <i>Dendrogram vytvořený na základě expertních vzdáleností mezi genetickými zdroji a průměrných vzdáleností mezi shluky</i> | 110 |
| Obr. 63 – <i>Dendrogram vytvořený na základě Euklidovských vzdáleností mezi genetickými zdroji a Wardových vzdáleností mezi shluky</i> | 111 |

Obr. 64 – *Dendrogram vytvořený na základě expertních vzdáleností mezi genetickými zdroji a Wardových vzdáleností mezi shluky* 111

Obr. 65 – *Kontrolní obrázek pro vizuální verifikaci správnosti provedené obrazové analýzy. Vlevo nahoře původní barevný obraz, vpravo nahoře identifikovaný objekt, vlevo dole výřez originálního barevného obrazu daný hranicí identifikovaného objektu a vpravo dole rozpoznané bílé plochy na listové růžici* 118

11 SEZNAM TABULEK

Tab. 1 – *Odrůdy ostropestřce mariánského (ÚKZÚZ 2016)* 22

Tab. 2 – *Šlechtitelské cíle u LAKR (FELKLOVÁ a KOCOURKOVÁ 2003)* 26

Tab. 3 – *Přehled genetických zdrojů ostropestřce mariánského* 37

Tab. 4 – *Morfologické znaky – Rostlina* 47

Tab. 5 – *Morfologické znaky – List* 51

Tab. 6 – *Morfologické znaky – Květenství* 54

Tab. 7 – *Morfologické znaky – Semeno – nažka* 56

Tab. 8 – *Biologické znaky – Vegetační doba* 59

Tab. 9 – *Biologické znaky – Náchylnost k biotickým stresům* 61

Tab. 10 – *Hospodářské znaky – Biochemické* 63

Tab. 11 – *Deskriptor minimální sady pro ostropestřec mariánský* 92

Tab. 12 – *Analýza rozptylu, predikce pro genetické zdroje a LSD pro jednotlivé měřené znaky deskriptoru* 98

| | |
|--|-----|
| Tab. 13 – <i>Analýza rozptylu, predikce pro genetické zdroje a LSD pro jednotlivé měřené znaky deskriptoru (Pokračování 1)</i> | 99 |
| Tab. 14 – <i>Analýza rozptylu, predikce pro genetické zdroje a LSD pro jednotlivé měřené znaky deskriptoru (Pokračování 2)</i> | 100 |
| Tab. 15 – <i>Klasifikace genetických zdrojů pomocí bodových hodnot</i> | 103 |
| Tab. 16 – <i>Klasifikace genetických zdrojů pomocí bodových hodnot (Pokračování 1)</i> | 104 |
| Tab. 17 – <i>Klasifikace genetických zdrojů pomocí bodových hodnot (Pokračování 2)</i> | 105 |
| Tab. 18 – <i>Vzdálenosti mezi genetickými zdroji získané na základě expertního přístupu</i> | 107 |
| Tab. 19 – <i>Vzdálenosti mezi genetickými zdroji získané na základě expertního přístupu (Pokračování 1)</i> | 108 |
| Tab. 20 – <i>Biologické znaky – náchylnost k biotickým stresům – stanoviště Citonice rok 2013 a 2014</i> | 113 |
| Tab. 21 – <i>Biologické znaky – náchylnost k biotickým stresům – stanoviště Olomouc rok 2013 a 2014</i> | 115 |
| Tab. 22 – <i>Odhady charakteristik pocházejících z obrazové analýzy</i> | 120 |
| Tab. 23 – <i>Srovnání diskriminační schopnosti (procenta statisticky významně odlišných dvojic genetických zdrojů) pro jednotlivá prostředí</i> | 121 |
| Tab. 24 – <i>Závislosti mezi znaky klasifikátoru a znaky získanými pomocí obrazové analýzy</i> | 122 |
| Tab. 25 – <i>Porovnání znaků Plocha, Plocha bílé a Procento bílé měřených pomocí obrazové analýzy s expertně hodnoceným znakem 1.2.4 List – stupeň mramorování..</i> | 123 |