

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMACEUTICKÉ BOTANIKY



DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vliv biologické ochrany rostlin
na produkci sekundárních metabolitů *Papaver somniferum* L.

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Jitka Vytlačilová, Ph.D.

Vedoucí katedry: doc. ing. Lucie Cahlíková, Ph.D.

CHARLES UNIVERSITY
FACULTY OF PHARMACY IN HRADEC KRALOVE
DEPARTMENT OF PHARMACEUTICAL BOTANY



DIPLOMA THESIS

Influence of plant biological protection
on production of secondary metabolites of *Papaver somniferum* L.

Supervisor: RNDr. Jitka Vytlačilová, Ph.D.

Head of Department: doc. ing. Lucie Cahlíková, Ph.D.

Hradec Králové, 2018

Petr Kaman

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji vedoucí práce, paní RNDr. Jitce Vytlačilové, Ph.D., za odborné rady a připomínky při řešení a zpracovávání této diplomové práce. Také děkuji panu Ing. Miroslavu Ločárkovi za provedení a úpravu HPLC analýzy. Dále děkuji všem ostatním, kteří přispěli ke vzniku této práce, a kteří nebyli výše jmenováni.

Tato práce vznikla za grantové podpory SVV 260 412.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Obsah

1 ÚVOD.....	7
2 CÍL PRÁCE.....	9
3 TEORETICKÁ ČÁST.....	10
3.1 Mák setý (<i>Papaver somniferum</i> L.).....	10
3.2 Nároky máku	12
3.2.1 Světlo	12
3.2.2 Teplo.....	12
3.2.3 Voda.....	12
3.2.4 Půda.....	13
3.2.5 Živiny.....	13
3.2.6 Rajonizace.....	14
3.3 Alkaloidy	14
3.3.1 Morfin.....	16
3.3.2 Kodein.....	17
3.3.3 Thebain.....	18
3.3.4 Papaverin.....	18
3.3.5 Noskapin	19
3.4 Pěstování máku	19
3.5 Vývoj máku	22
3.6 Biotická poškození máku	24
3.6.1 Houbová onemocnění	24
3.6.1.1 Plíseň maková.....	24
3.6.1.2 Helminthosporiíza máku	25
3.6.1.3 Bílá hniloba máku	25
3.6.1.4 Šedá plísňovitost máku.....	25
3.6.1.5 Čerň máku	26
3.6.2 Bakteriální onemocnění	27
3.6.2.1 Bakteriální skvrnitost máku.....	27
3.6.2.2 Stonková bakteriíza	27
3.6.3 Virová onemocnění	28
3.6.4 Živočišní škůdci	28
3.6.4.1 Krytonosec kořenový.....	28
3.6.4.2 Krytonosec makovicový.....	29
3.6.4.3 Klopuška dvojtečná	29

3.6.4.4 Žlabatka stonková.....	29
3.6.4.5 Bejlmorka maková.....	30
3.6.4.6 Mšice maková.....	30
3.6.4.7 Můra zelná.....	31
3.7 Abiotická poškození máku.....	32
3.7.1 Klíčení semen v makovicích.....	32
3.7.2 Okvětní lístky nalepené na makovici.....	32
3.7.3 Deformované kořeny.....	32
3.7.4 Srdéčková hniloba máku.....	33
3.7.5 Bezsemenné makovice.....	33
3.7.6 Atypické zbarvení rostliny.....	33
3.7.7 Zaschlý, zmrzlý a nevzešlý mák.....	34
3.8 Mák a lékopis 2017.....	34
3.8.1 <i>Opium crudum</i> – Surové opium.....	34
3.8.2 <i>Opium extractum siccum normatum</i> – Opiový extrakt suchý standardizovaný.....	35
3.8.3 <i>Opium pulvis normatus</i> – Opium práškové standardizované.....	35
3.8.4 <i>Opium tinctura normata</i> – Opiová tinktura standardizovaná.....	35
3.8.5 Ostatní lékopisné články.....	35
3.9 Mák a legislativa.....	36
3.10 Principy ekozemědělství.....	37
3.11 <i>Pythium oligandrum</i> jako biologická ochrana.....	39
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	42
4.1 Pěstitelská část.....	42
4.1.1 Pozemek a rozvržení parcel.....	42
4.1.2 Použité odrůdy.....	44
4.1.3 Výsev.....	44
4.1.4 Péče o porost.....	45
4.1.5 Záznam meteorologických dat.....	46
4.2 Analytická část.....	47
4.2.1 Příprava rostlinného materiálu.....	47
4.2.2 Příprava extraktu.....	47
4.2.3. Analýza vzorků metodou HPLC.....	48
5 VÝSLEDKOVÁ ČÁST.....	52
5.1 Morfin.....	53
5.2 Kodein.....	55
5.3 Papaverin.....	57

5.4. Noskapin.....	59
5.5 Thebain.....	61
6. DISKUSE	63
7 ZÁVĚR	68
8 LITERATURA.....	69
Zdroje obrázků:.....	75
ABSTRAKT	76
ABSTRACT	77

1 ÚVOD

Mák setý *Papaver somniferum* L. je všestranně využitelnou plodinou. Tato rostlina nám poskytuje tři významné suroviny. První z nich je makové semeno, obecně označované jednoduše jako mák. Ten nám slouží zejména v potravinářství. Česká kuchyně je s mákem neodmyslitelně spjatá odedávna. Mákem se sype slané i sladké pečivo, mletý mák se používá jako náplň různých koláčů, závinů a jiných, nejčastěji sladkých pokrmů. Stačí vzpomenout na Českého Honzu a jeho buchty s mákem. Vyžití máku jako potraviny je společné pro většinu slovanských národů. Podobnou oblibu v máku jako my mají také v Polsku, na Slovensku, Ukrajině, anebo v Bělorusku. (<http://ceskymodrymak.cz/>)

Z nutričního hlediska mák obsahuje přibližně 20 % proteinů, přibližně stejné množství sacharidů, a až 6 % minerálních látek. Zajímavý je zejména svým obsahem vápníku. Podle Ústavu zemědělské ekonomiky a informací je obsah vápníku v máku 1357 mg/kg. To z něj dělá jeden z nejvýznamnějších zdrojů vápníku vůbec. Tuto skutečnost ocení zejména lidé s osteoporózou, případně lidé s laktózovou intolerancí. (Nutridatabaze.cz; Chmelová, D., et al., 2018)

Díky vysokému obsahu oleje je mák řazen mezi olejniny. Olej může být lisován za studena, nebo za tepla. Za studena lisovaný makový olej je méně častou kulinářskou specialitou, původně náhražkou za dražší olej olivový. Používá se spíše ve Francii, nebo Německu. Olej lisovaný za tepla slouží k technickým účelům, například jako jedna z výchozích složek při výrobě fermeží, mýdla, nebo olejových barev. (Kubánek, V., 2009)

Zbylé dvě suroviny, opium a makovina, neboli zaschlý latex a maková sláma, slouží k získávání opiových alkaloidů. Legálně slouží jako suroviny farmaceutické, nelegálně pro výrobu drog. Název Opium má svůj základ v řeckém slově opos, což znamená šťáva. V historii se objevovaly také označení mekonium, podle bájného řeckého města Mekone, kde se mák údajně pěstoval, nebo thebaicum, podle egyptských Théb. Maková sláma by rovněž mohla posloužit jako dobrý zdroj látek s antioxidačními účinky. (Kirkan, B., 2018; Kubánek, V., 2009; Labanca, F., et al., 2018)

První známky o pěstování máku se objevují již v období neolitu, a od té doby se postupně rozšiřuje do všech významných oblastí spjatých s vývojem lidských civilizací,

počínaje Mezopotámií, Egyptem, Čínou, Řeckem, až do dnešní společnosti. (Kubánek, V., 2009; Mistry, P., 2018)

Základními alkaloidy máku setého jsou morfin, který slouží k tišení bolesti, kodein, který se využívá pro své antitusické vlastnosti, papaverin, který dokáže uvolňovat spasmu hladkého svalstva, noskapin, který působí proti bronchiálním spasmům, a v neposlední řadě také thebain, kterého se využívá jako ideální výchozí suroviny v syntéze průmyslově připravovaných syntetických opioidů. (Schiff Jr., P. L., 2002)

Mák je poměrně náročnou plodinou. Vyžaduje dostatek živin, specifický půdní profil, charakteristický vodní režim. I sebemenší chyba může v konečném důsledku způsobit značné škody na porostech. I přes to všechno je Česká republika jedním z největších producentů máku na světě. O prvenství se dělíme společně s Tureckem a Tasmánií. Ovšem na rozdíl od nich je produkce v ČR zaměřena na zisk semene, nikoliv na makovinu, nebo opium. Následný způsob zpracování určuje zejména použitá odrůda, a její predispozice. Některé odrůdy jsou šlechtěny za účelem zisku alkaloidů, jiné pro zisk semen. Výhoda pěstitelů u nás tkví v tom, že omezení, která se pěstování máku týkají jsou oproti jiným zemím mnohem mírnější. (Vašák, J. et al., 2003; Vašák, J. et al., 2010)

Existují snahy nechat zapsat Český modrý mák jako chráněný název. K tomuto rozhodnutí dospěli čeští pěstitelé, když jejich potravinový mák začal vytlačovat z trhu levnější makové semeno, jakožto vedlejší produkt při pěstování vysokomorfinových odrůd, jejichž hlavním cílem je produkce makoviny. Tyto máky však podle pěstitelů nemají odpovídající chuťové vlastnosti. (<http://ceskymodrymak.cz/prijde-nekdy-ta-spravna-doba-makova/>; Novinky.cz)

Jednou z možností, jak produkci máku povýšit ještě dále, je využití principů ekologického zemědělství. Znamenalo by to nejen samotné zvýšení kvality poskytovaných surovin, ale rovněž nižší zátěž pro životní prostředí. Stinnou stránkou věci je složitější systém pěstování a pravděpodobně i nižší produkce. V této práci je využito biologické ochrany máku pomocí symbiotické houby *Pythium oligandrum*, jejíž vliv na mák je dále hodnocen.

2 CÍL PRÁCE

Tato diplomová práce si klade za cíl ověřit působení biologické ochrany rostlin máku *Papaver somniferum* L. pomocí symbiotické půdní houby *Pythium oligandrum*. Zkoumá také vliv tohoto organismu na produkci opiových alkaloidů. Za tímto účelem byly vybrány dvě odlišné odrůdy máku setého, a to odrůdy Lazur a Orbis.

V teoretické části se práce zabývá obecnými poznatky v oblasti produkce máku a jednotlivými opiovými alkaloidy.

V experimentální části byl hodnocen obsah alkaloidů v tobolkách a stoncích. Předmětem zájmu byly alkaloidy morfin, kodein, papaverin, thebain a noskapin. Za účelem porovnání zůstaly některé porosty neošetřeny.

Mák byl pěstován v areálu Zahrady léčivých rostlin při Farmaceutické fakultě v Hradci Králové, fytoanalýza byla provedena na katedře botaniky Farmaceutické fakulty v Hradci Králové.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Mák setý (*Papaver somniferum* L.)

Oddělení: *Magnoliophyta*

Třída: *Magnoliopsida*

Podtřída: *Ranunculidae*

Řád: *Papaverales*

Čeleď: *Papaveraceae*

Rod: *Papaver*

Druh: *Papaver somniferum* L. (Jahodář, L., 2006)

Mák setý je jednoletá bylina dorůstající do výšky 70 až 150 cm. Zpravidla přímá lodyha bývá lysá, nebo mírně chlupatá. Povrch rostliny je modře ojněný. Podlouhlé, až vejčité listy rostou střídavě, mají zvlněný a nepravidelně zubatý okraj. Mák má typicky hluboký, křulovitý kořen s několika postranními kořeny a množstvím vlásečnicovitých kořínků. (Kubánek, V., 2009; Vašák, J., 2010)

Květy mívají v průměru okolo 10 cm. Jsou čtyřčetné, korunní lístky mohou být variabilně zbarvené, od bílé, přes odstíny růžové, až po fialovou. Na jejich bázi bývá tmavá skvrna. Kališní lístky jsou dva. Tyčinek je v květu mnoho (150 – 250), z čehož plyne i velké množství vytvořeného pylu. (Kubánek, V., 2009; Vašák, J., 2010)

Plodem je tobolka označovaná jako makovice. Tvar makovice může být různý, v závislosti na odrůdě. Makovice mohou být uzavřené, v takovém případě mluvíme o typu slepák, anebo se mohou vytvořit pod paprsky blizny otvory, kterými se zralé semeno může vyspat ven. Takový mák označujeme jako hledák. (Kubánek, V., 2009; Vašák, J., 2010)

Uvnitř makovice se nacházejí lamely, které nesou semena. Ta jsou okolo 1 – 1,5 mm velká, ledvinovitého tvaru. Jejich povrch je rozbrázděný, drsný. Barva semen je typicky šedomodrá, ovšem výjimkou nejsou ani odrůdy s bílými, černými, hnědými, nebo růžovými semeny. Semeno obsahuje až 50 % polovysychavého oleje. Díky tak vysokému obsahu oleje je mák řazen mezi olejninu. (Kubánek, V., 2009; Vašák, J., 2010)

Poddruhy máku setého můžeme dále rozdělit podle využití. První skupinou je mák opiový. Tyto máky se pro svůj vyšší obsah opiových alkaloidů využívají pro získání opia. V době opiové zralosti makovic, což bývá okolo 9. dne po opadu okvětních lístků, se nezralé makovice nařezávají. V tomto období bývá obsah alkaloidů nejvyšší. Zpravidla po 24 hodinách po nařezání se zaschlý zhnědlý latex sbírá. Druhým typem máku je mák olejný. Zde řadíme pouze jeden poddruh (ssp. *eurasiaticum*) máku setého, který je ovšem v našich evropských podmínkách nejrozšířenější. Mléčnice tohoto máku jsou podstatně menší, a pro produkci surového opia nedostatečné. Tento mák téměř nemléční. (Kubánek, V., 2009; Vašák, J., 2010)

Celkově se pak mák rozděluje dle využití na mák potravinářský a průmyslový. Potravinářské máky se zaměřují na chuťové vlastnosti, zatímco máky průmyslové jsou využívány pro získání alkaloidů z makoviny. (Kubánek, V., 2009; Vašák, J., 2010)



Obrázek 1: Mák setý (*Papaver somniferum*)

3.2 Nároky máku

3.2.1 Světlo

Odrůdy máku pěstované na našem území patří mezi dlouhodobé, proto také vyžadují dostatek světla. V opačném případě se snižuje produkce semen i makoviny, protože rostlina netvoří případné boční větve. Naopak, rostliny se vytahují do výšky, jsou slabé, a nedokáží konkurovat plevelům. Rovněž produkce alkaloidů je nižší. Množství světla nemá vliv na klíčivost. Nedostatek světla v období pomalého růstu při vzcházení rostlinek může mít za následek ztráty klíčících rostlin, které jsou křehké, s nedostatečnou asimilační plochou. Při zastínění v době květů dochází k nižšímu výnosu semene, nebo se semena v makovici nevytvoří vůbec. (Bechyně, M., 1993; Kuchtová, P., 2013; Vašák, J., 2010)

3.2.2 Teplo

Tepelné potřeby máku se liší podle růstové fáze, ve které se rostliny nacházejí. Klíčící semena a vzcházející rostlinky vydrží poměrně nízké teploty. V této fázi růstu je mák schopen přežít i teploty pod bodem mrazu. Kritické jsou však hodnoty pod -8°C . Při teplotě okolo 10°C mák klíčí přibližně za 5 – 6 dní. V rozmezí $18 - 20^{\circ}\text{C}$ pak dochází ke klíčení již během 3 – 4 dnů. Vyšší teploty ale naopak klíčení inhibují. S postupujícím růstem rostlin se snižuje jejich tolerance vůči nízkým teplotám. Lze říci, že do období tvorby listové růžice schopnost snášet nízké teploty roste. V průběhu dlouhivého růstu a dozrávání naopak klesá, a dospělé rostliny máku jsou na teplo poměrně náročné. (Bechyně, M., 1993; Kuchtová, P., 2013; Vašák, J., 2010)

3.2.3 Voda

Na závlahu je mák náročný zejména v době od vytvoření listové růžice, až do rozkvětu. V období klíčení mák příliš vody nepotřebuje. Vystačí si přibližně s 90 % hmotnosti semene, což v našich podmínkách v době setí mívá přirozeně. Nedostatek vody v době před vytvořením listové růžice nemusí nijak projevit. Listová plocha bývá menší, ale naopak je podporován růst kořenové soustavy, což může být výhodou v pozdějších fázích růstu. Nebezpečná může být pro klíčící rostliny kombinace přizemních mrazíků a slunce. Mráz vodu kondenzuje, a následným slunečním svitem se odpaří. To vede k nedostatku vody v půdě a následnému uschnutí klíčenců. Naopak při vyšších teplotách spojených s nadměrnou vlhkostí může

docházet k rozvoji plísní. Nejnáchylnější na nedostatek vody je mák v době prodlužovacího růstu, do rozkvetu. Sucho v této růstové fázi zpravidla znamená nedostatečný růst a nižší výnosy. Během květu je naopak žádoucí suché a slunné počasí. To má pozitivní vliv na pozdější výnos máku. Po odkvětu opět nároky na závlahu stoupají. (Bechyně, M., 1993; Kuchtová, P., 2013; Vašák, J.,2010)

3.2.4 Půda

Na půdní podmínky je mák velice náročný. Vyžaduje kypré, hluboké, středně těžké, hlinité až hlinitopísčité půdy s dostatkem humusu a s dostatkem vláhy. Mělké a výsušné, nebo těžké a jílovité půdy máku nesvědčí. Půda by měla vykazovat neutrální, až mírně zásadité pH. Výskyt plevelů by měl být co nejmenší. Velkým problémem jsou půdy, na kterých se tvoří půdní škraloup. Klíčící rostliny mívají problém tuto svrchní krustu prorazit, a zanikají. Na půdách se sklonem ke kornatění je pěstování máku prakticky vyloučeno. (Bechyně, M., 1993; Kuchtová, P., 2013; Vašák, J.,2010)

3.2.5 Živiny

Mák vyžaduje poměrně velký přísun živin. Ve fázi vzcházení rostlin se uplatňuje nejpodstatněji dusík, v dalším růstu zvláště prvky draslík a fosfor. Nadbytek dusíku v pozdějších fázích je spíše nežádoucí, protože vede k opožďování zrání, nadměrnému větvení rostliny a poléhávání stonků. Zejména množství fosforu je důležité, protože se od něj odvíjí využití dalších živin, což se v konečném důsledku projeví na celkové kondici rostlin a finálním výnosu. Při tvorbě pupat mák zvýšenou potřebu bóru a zinku. Rostliny pro správný vývoj potřebují i dostatek dalších prvků, jako jsou například vápník, mangan, síra, molybden, bór a další.

Nedostatek draslíku se projeví špatným růstem, malou listovou plochou, a listy bývají světlé, až žluté. Při nedostatku fosforu nedochází k dostatečnému vývinu kořenové soustavy, což se manifestuje slabým růstem, kvůli nedostatečnému zásobení rostliny živinami. Nedostatek draslíku ovlivňuje metabolismus rostliny, která je následně křehká, lámavá, poléhavá. Stejně tomu je i při nedostatku vápníku. Ten je navíc důležitý pro tvorbu pylu. Při nedostatku síry dochází mimo jiné i k nižší tvorbě morfinu v makovině. (Bechyně, M., 1993; Kuchtová, P., 2013; Vašák, J.,2010)

3.2.6 Rajonizace

Mák lze pěstovat v řepařské i bramborářské výrobní oblasti. V bramborářské výrobní oblasti vykazuje mák nejvyšší výnosy semene. Pokud je zamýšleným výstupem produkce morfinu, pak jsou ideální nižší a jižnější polohy. Na druhé straně ve vyšších a severnějších polohách je předpokládán nižší výskyt škůdců, kvůli zhoršeným podmínkám pro jejich vývoj a šíření. (Kuchtová, P., 2013)

3.3 Alkaloidy

Alkaloidy jsou rostlinné produkty, které řadíme mezi sekundární metabolity. Sekundární metabolity tvoří rostliny nejpravděpodobněji kvůli své ochraně, a to jak proti býložravcům, nebo škůdcům, tak i proti mikrobům, případně i proti jiným rostlinám. Další funkcí sekundárních metabolitů může být přenos informace formou signálních molekul. Sekundární metabolity můžeme najít prakticky u všech vyšších rostlin. Po chemické stránce jsou to látky velmi různorodé. V rostlinách mohou být obsaženy přímo, anebo ve formě prekurzorů, kdy dochází k uvolnění samotné látky na základě specifického podnětu. Tím může být například infekce, nebo poškození rostlinného pletiva. (Wink, M., 2003)

Alkaloidy jsou přírodní báze, jejichž charakteristickou vlastností je přítomnost atomu dusíku v jejich molekule. Obecně by tomuto popisu mohly odpovídat i látky jako aminokyseliny, proteiny a bílkoviny, nukleotidy, nukleové kyseliny, či aminocukry. Tyto látky však jako alkaloidy většinou neoznačujeme. (IUPAC Gold Book) V rostlině jsou alkaloidy nejčastěji ve formě solí. Často jsou situovány v buněčné šťávě obvodních pletiv.

Alkaloidy lze rozdělit podle mnoha různých hledisek. Časté je rozdělení alkaloidů do tří základních skupin:

- Alkaloidy pravé
- Protoalkaloidy
- Pseudoalkaloidy

Pravé alkaloidy jsou charakterizované jako látky, jejichž molekula je odvozena od aminokyseliny a heterocyklu, obsahujícího atom dusíku.

Protoalkaloidy jsou látky, jejichž atom dusíku získaný z aminokyseliny, není součástí heterocyklu.

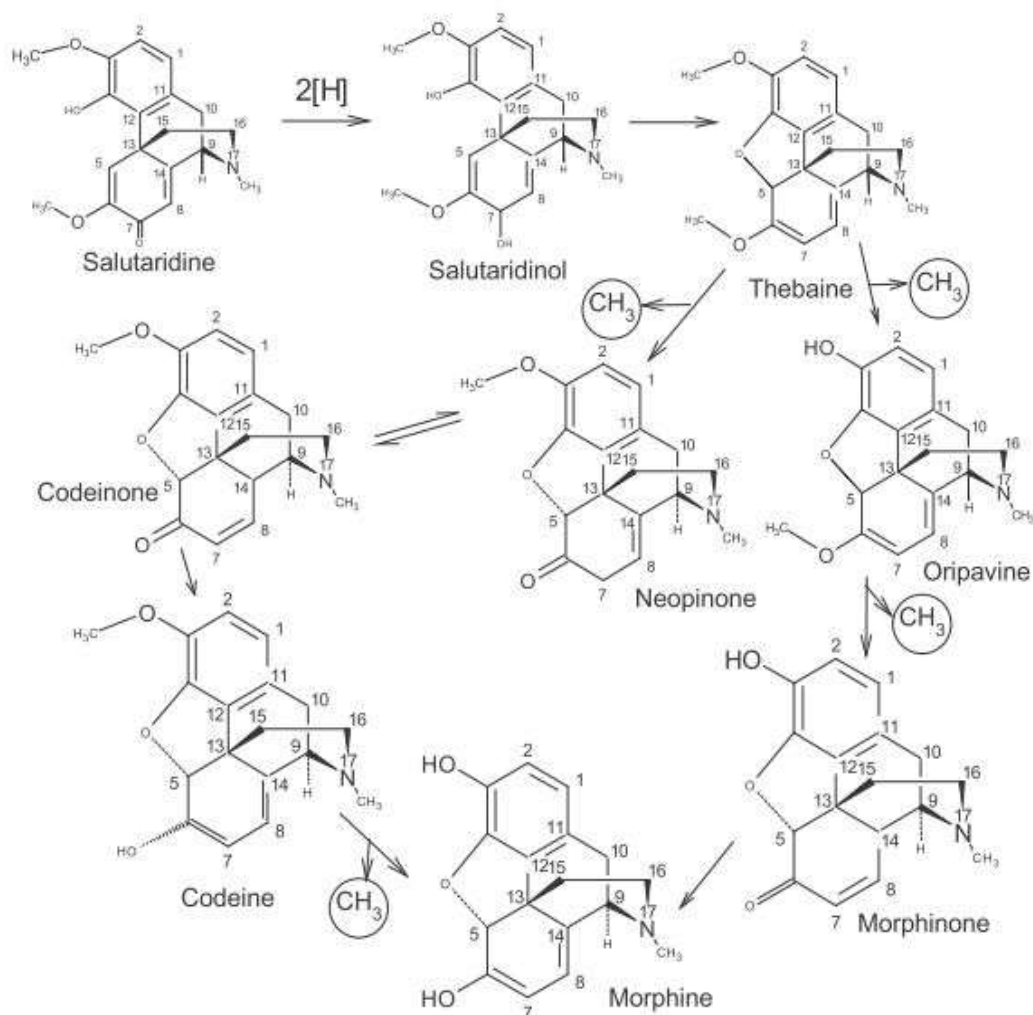
V případě pseudoalkaloidů se jedná o sloučeniny, které nevychází svou strukturou z aminokyseliny. (Amirkia, V., Heinrich, M., 2014)

Do rodu *Papaver* L. řadíme přibližně 100 druhů rostlin. Zahrnuté druhy dohromady poskytují přibližně 140 různých alkaloidů. Tyto alkaloidy jsou strukturně blízké isochinolinu a jeho derivátům. Ve spektru alkaloidů máku setého je primárně zastoupen morfin, a to ze 45 – 90 %. Množství alkaloidních látek v máku je ovlivněno několika faktory. Především se jedná o genetickou predispozici dané vyšlechtěné odrůdy, a potom také pěstební technologií, nebo klimatickými podmínkami, v jakých je mák pěstován. Bylo pozorováno, že specifickými genetickými zásahy, které vedou ke změně enzymatické činnosti rostliny, lze produkci alkaloidů v máku zvýšit. (Ghirga, F., 2017) Významné snížení hladiny alkaloidů bývá typické při napadení máku houbovými chorobami a také při dešti, kdy dochází k tzv. vymývání alkaloidů z makoviny. Mák setý, a jeho poddruh mák štětinatý jsou jediné dva druhy máku, které dokáží v syntéze alkaloidů demetylovat methoxyskupiny základního skeletu na kruzích A a D, čímž dávají vzniknout morfinu a kodeinu. (Dittbrenner et al., 2009; Stranska, I., Skalicky, M., 2013) Alkaloidy jsou v rostlině máku soustředěny v latexu, který je uchovávan v typických buněčných strukturách zvaných mléčnice, a jejich tvorba je podmíněna aktivitou specifických enzymů. (Beaudoin, G. A., et al., 2014 ; Weid, M., et al., 2004)

Z máku setého bylo izolováno více jak 40 alkaloidních sloučenin. Nejvýznamnější z nich jsou morfin, kodein, thebain, papaverin a noskabin, označovaný také jako narkotin. (Schiff Jr., P. L., 2002) Ovšem jsou zde obsaženy i takové, jejichž množství je poměrně nevýznamné. Ve stopových množstvích lze detekovat například berberin. (Vašák, J., 2010)

V posledních letech jsou opět zkoumány opiové alkaloidy, protože se ukazuje, že by mohly být využity v nových indikacích. Zajímavé se v tomto ohledu zdají být morfin, noskabin a některé apomorfinové deriváty. (Opletal, L., et al., 2009)

Účinek opiových alkaloidů je podmíněn podobností na fyziologické endogenní látky v organismu. Název těchto tělu vlastních sloučenin byl odvozen spojením slov „endogenní“ a „morfin“, a jsou označovány jako endorfiny. Ty mají své receptory, označované jako opiátové receptory. Ty dále lze dle typu dělit na mí (μ), kappa (κ), and delta (δ). (Schiff Jr., P. L., 2002)

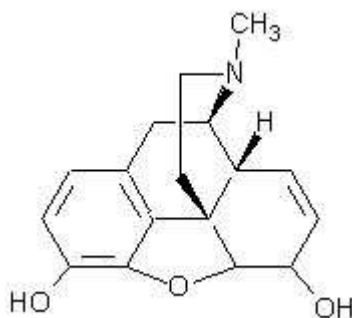


Obrázek 2: © Syntéza opiových alkaloidů. (Stranska, I., et al., 2013)

3.3.1 Morfin

Morfin je hlavním alkaloidem máku setého (až na specificky vyšlechtěné odrůdy, například thebainový mák – odrůda Norman). Zároveň jde o první izolovaný alkaloid. K izolaci došlo v roce 1806 a provedl ji německý farmaceut Friedrich Wilhelm Adam Sertürner. Výchozí strukturou pro tvorbu morfinu v rostlině máku je thebain. Morfin může být syntetizován více než jednou cestou. První možností je syntéza přes kodeinon a kodein. Druhou cestou je děj,

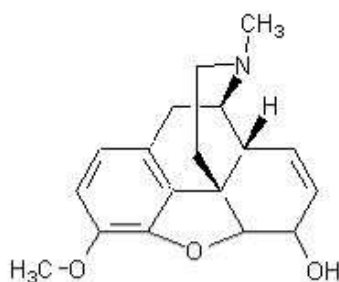
kdy jsou jako mezikroky syntetizovány oripavin a morfinon. K tomuto způsobu syntézy dochází zejména v tobolkách, díky specifickým enzymům. (Schiff Jr., P. L., 2002; Balážová, A., et al. 1998) Vlastnosti molekuly morfinu výrazně omezují jeho vstřebávání při perorálním užití. Proto je aplikován intravenózně. Ale i přesto ke svým cílovým receptorům proniká přes hematoencefalickou bariéru jen v malém procentu. Z tohoto důvodu byly připraveny jeho účinnější deriváty. (Doležal, M., 2014) Morfin je využíván pro své výrazné analgetické účinky. A to nejen u bolestí akutních, ale zejména chronických, např. u onkologických pacientů. (De Gregori S. et al., 2012)



Obrázek 3: Morfin – nakresleno v programu ChemSketch

3.3.2 Kodein

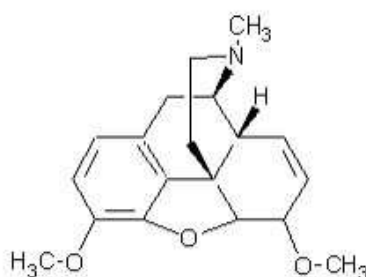
Alkaloid velice podobný strukturou morfinu. V makovině je obsažen v mnohem menším množství, literatura uvádí 0,7 – 2,5 %. Toto množství zdaleka nepokrývá spotřebu farmaceutického průmyslu, proto je kodein připravován syntetickou cestou z morfinu. Stejně jako morfin, i kodein tvoří rozpustné soli. Rovněž využití je prakticky totožné s morfinem, ale na rozdíl od něj vykazuje kodein nižší analgetický efekt, ovšem na druhou stranu jej s úspěchem využíváme pro jeho výrazné antitusické vlastnosti. (Schiff Jr., P. L., 2002)



Obrázek 4:Kodein – nakresleno v programu ChemSketch

3.3.3 Thebain

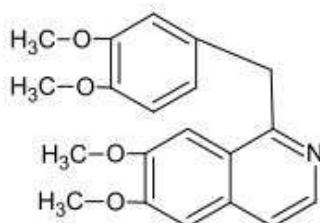
Thebain je morfinu podobný alkaloid, který je v makovině obsažen nejčastěji v množstvích pod 1 %. Ovšem mohou být i výjimky, kdy může jeho hladina sahat až k 2,5 %. Thebain není využíván pro své účinky samostatně jako léčivo, ale je důležitou výchozí surovinou pro syntézu dalších látek, jako jsou etorfin, nebo buprenorfin. Ukazuje se, že pro získávání thebainu by mohl být v budoucnu využíván příbuzný druh máku – mák listenatý (*Papaver bracteatum*). Jeho výhodou je nepřítomnost morfinu, proto není vyhledáván pro nelegální produkci a zneužívání k výrobě drog. (Schiff Jr., P. L., 2002)



Obrázek 5: Thebain – nakresleno v programu ChemSketch

3.3.4 Papaverin

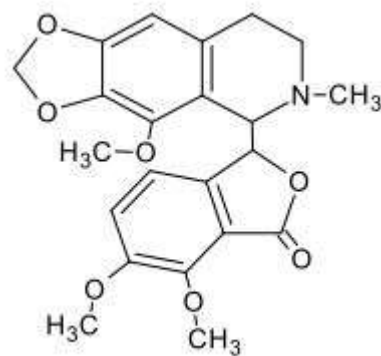
Papaverin byl po dlouhou dobu jediným zástupcem spasmolytik muskulotropního typu. Jeho výhodou bylo, že nevyvolával tolik nežádoucích účinků, jako stejně používaný atropin. Jedná se o slabou bazi. Jeho nevýhodou je, že na světle je poměrně nestabilní a rozpadá se. Toto se projeví žloutnutím substance. Proto je potřeba chránit jej před světlem. Jeho hlavní indikací jsou střevní a žlučnickové křeče, případně cévní spasmy, a to i koronárních cév a pulmonárních artérií. Také snižuje srdeční vodivost a dráždivost myokardu. (Doležal, M., 2011; Schiff Jr., P. L., 2002)



Obrázek 6: Papaverin – nakresleno v programu ChemSketch

3.3.5 Noskapin (Narkotin)

Dle odrůdy máku se množství tohoto alkaloidu pohybuje v širokém rozmezí od 1 – 10 %. Noskapin postrádá analgetické působení morfinu. Jeho využití je založeno na centrálním antitusickém účinku, proto se využívá k tlumení suchého kašle. Původní název noskapinu – narkotin, byl posléze nahrazen odvozením od označení racemické směsi izomerů, která v angličtině nese název „gnoscopine“. V terapeutické dávce působí rovněž jako bronchodilatant, ovšem ve vyšších dávkách způsobuje vyplavování histaminu a bronchospasmy. Dále se ukazuje, že by noskapin mohl mít přínos při akutní léčbě mozkové příhody. Potenciální využití se nabízí také u terapie některých typů zhubného bujení. (Rida P.C., 2015, Schiff Jr., P. L., 2002)



Obrázek 7: Noskapin – nakresleno v programu ChemSketch

3.4 Pěstování máku

Jak už bylo popsáno výše, mák lze pěstovat v řepařské i bramborářské výrobní oblasti, mírně kopcovité, až rovinaté. Ideální se ukazuje být oblast mezi 300 – 600 m. n. m. V konvenčních systémech zůstává prioritou maximalizace výnosu, zatímco u ekologicky pěstovaného máku je zaměřena pozornost spíše na zapojení porostu do celkového ekosystému, přičemž se počítá s nižšími výnosy. Půda by měla být kyprá, hluboká, středně těžká, hlinitá až hlinitopísčité, s dostatkem humusu a vláhy. (Kuchtová, P., 2013; Vašák, J., 2010)

Při výběru vhodného pozemku bychom si dále měli uvědomit, jaké plodiny zde byly pěstovány dříve. Mák bychom na tentýž pozemek měli zasévat s odstupem 5 let, zvláště pokud se jedná o máky různých barev (protože klíčivost semen jsou 4 roky, ale také kvůli vyčerpání půdy, nebo prevenci chorob). Pokud je pozemek zaplevelen planými druhy máku, neměli bychom zde kulturní mák zasévat. Stejně pravidlo platí i pro řepku. Nevhodnými předplodinami pro mák jsou slunečnice, kukuřice, nebo čirok, které pro potřeby máku nadměrně vysušují půdu. Také je potřeba dávat pozor na rezidua herbicidů, které mohou citlivé klíčence poškodit, případně se v rostlině vázat. Kvůli možnému přenosu chorob a škůdců by spolu neměly sousedit porosty ozimého a jarního máku. (Kuchtová, P., 2013; Vašák, J., 2010)

Pokud máme zvolený odpovídající pozemek, je zapotřebí vybrat vhodnou odrůdu máku a zajistit kvalitní osivo, které je správně ošetřeno. Kvalitu osiva kromě správného pěstování matečných rostlin ovlivňují i další faktory, jako jsou správná sklizeň, jeho následné uskladnění v odpovídajících podmínkách, a úprava osiva před vlastním setím. Rozhodujícím faktorem je klíčivost, která se očekává co nejvyšší. Při pokusech v laboratorních i polních podmínkách v letech 2015 a 2016 se ovšem ukázalo, že ne vždy musí nižší klíčivost znamenat automaticky i nižší vitalitu rostlin. Tyto testy rovněž poukázaly na fakt, že bělosemenný mák je oproti modrosemennému v polních podmínkách choulostivější. Jelikož je mák poměrně citlivý na přenos infekce osivem, semena se před setím moří, aby se tomuto přenosu zabránilo. Kromě klasického moření lze využít také desinfekci elektronovým zářením (metoda E-ventus). Je také zapotřebí zbavit osivo nečistot, jako jsou drť makoviny, cizí semena, případně kamínky. (Honsová, H., 2017; Kuchtová, P., 2013; Vašák, J., 2010)

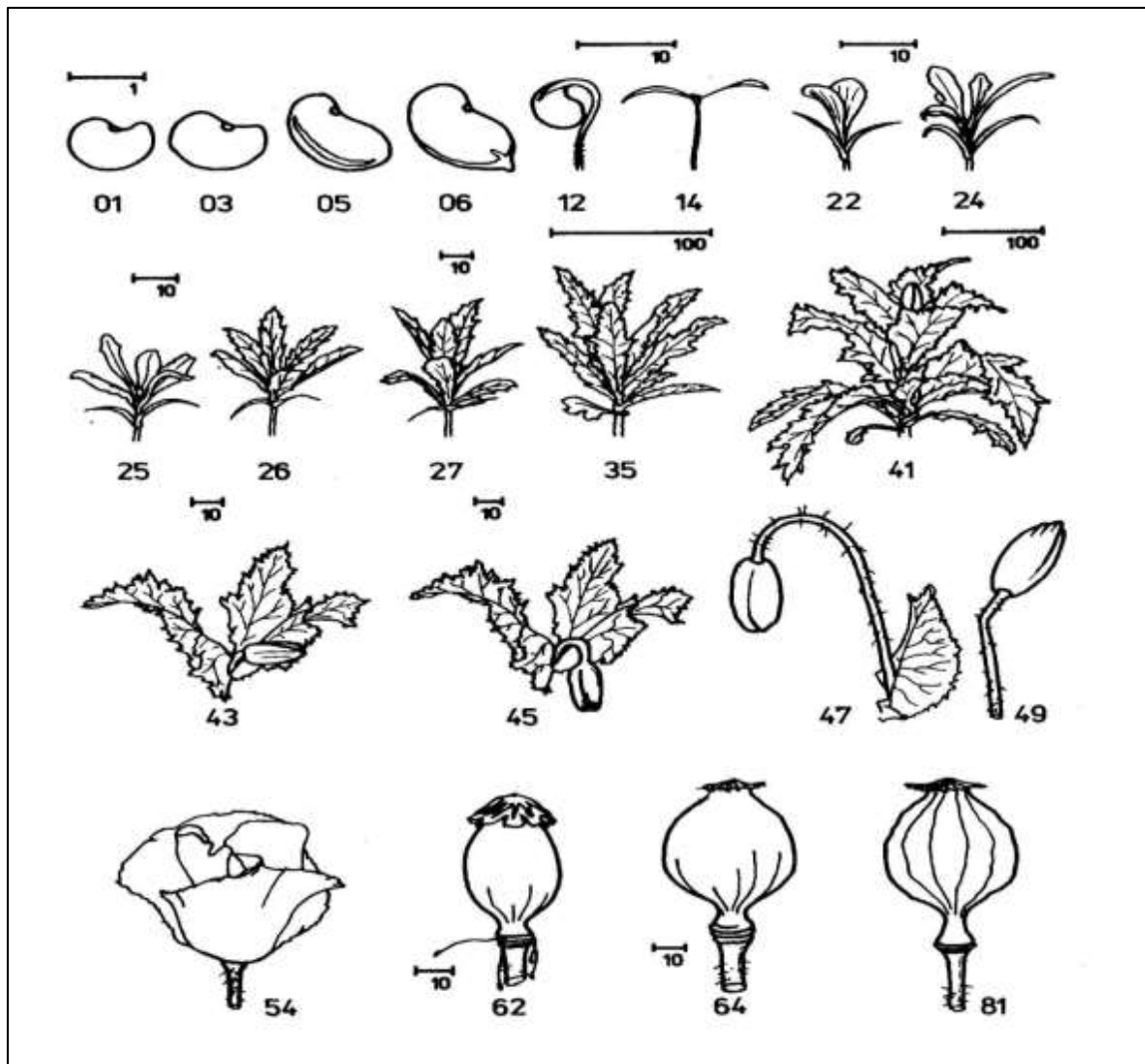
Po správné přípravě půdy lze přistoupit k samotnému setí a založení porostu. Ideální je, aby vzniklý porost tvořilo 70 – 100 rostlin na 1 m² u konvenčního způsobu, nebo 30 – 40 rostlin u pěstování ekologického. Na jaře provádíme výsev co nejdříve, jakmile to umožní půdní a vláhové podmínky, nejpozději však do konce dubna. Podzimní výsevy by se měly provést v období mezi 10. až 20. zářím. Semena by měla být uložena v seťové rýze, zhruba 2 cm hluboko pod povrchem okolní země. Šířka meziřádků se různí dle způsobu pěstování. Když je rostlina ve fázi 3. – 4. listu, je zapotřebí porost vyjednotit. To se provádí dvěma možnými způsoby. První variantou je, že se mezi jednotlivými rostlinami vytvoří mezery okolo 10 cm. Druhou variantou je ponechat 2 – 3 rostlin u sebe, a mezi jednotlivými skupinami se vytvoří mezera 25 cm. (Kubánek, V., 2009, Kuchtová, P., 2013; Kuchtová, P., 2012)

Mák není dostatečně schopný odolávat konkurenci rychle rostoucích plevelů. Zejména po vyklíčení je růst rostlin velmi pomalý, a nesrovnatelný s růstem plevelů, které jsou schopny jej zcela zahlušit. To je důvod proč mák nesejeme na zaplevelené pozemky. Velmi nežádoucí jsou zejména lebedy, laskavce, blín, nebo merlíky. Proti plevelům lze zasáhnout přímo, nebo nepřímo. Přímým působením se myslí pletí, okopávání, plečkování, případně chemická, či biologická eliminace. Nepřímo lze bojovat s plevelem vhodnou předseťovou úpravou půdy, kvalitním osivem, nebo správným výběrem pozemku. (Kuchtová, P., 2013; Urban, J. et al., 2003)

Porost máku je dále potřeba ošetřit proti některým chorobám a škůdcům (Tomuto tématu se věnuje samostatná kapitola). Tato ochrana se nejčastěji provádí postřikem chemickými, nebo biologickými přípravky. Jedním z biologicky aktivních přípravků je i Polyversum firmy Biopreparáty spol. s r.o. Účinnou složkou tohoto přípravku je houba *Pythium oligandrum*, jejíž působení na mák je předmětem této diplomové práce.

3.5 Vývoj máku

Vývojové fáze máku, ale i rostlin obecně, jsou hodnoceny podle fenologické stupnice, která je zkráceně označována jako BBCH stupnice. Zkratka pochází z německého označení Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and Chemical Industry.



Obrázek 8: © Vývojové fáze máku setého dle BBCH (Vašák, J., 2010)

Fáze	Kód	Charakterizace
I. FÁZE Klíčení	01	Suché semeno
	02	Nabobtnané semeno
	03	Prasknutí osemení
	06	Vyrašení zárodečného kořínku ze semene
II. FÁZE Vzcházení	12	Začátek vzcházení, objevení se hypokotylu se složenými dělohami na povrchu půdy
	14	Dělohy vidlicovitě rozevřeny
III. FÁZE Vytváření pravých listů	22	Fáze 1. a 2. pravého listu
	24	Fáze 3. a 4. pravého listu
	27	Fáze 7. pravého listu
IV. FÁZE Fáze růžice	35	Listová růžice
V. FÁZE Stonkování a butonizace	41	Objevení mladého poupěte na krátkém stonku mezi listy přízemní růžice
	43	Stoněk s poupětem je kratší než listy přízemní růžice
	45	Fáze mladého poupěte – převislé poupě na stonku nepřevyšuje horní lodyžní listy
	47	Stoněk s převislým poupětem převyšuje všechny lodyžní listy
	49	Plná butonizace, květní stopka přímá, poupě vzpřímené
VI. FÁZE Kvetení	52	Začátek kvetení, 10 % rostlin kvete
	54	Plný květ, kvete většina rostlin
	56	Konec květu, 90 % rostlin odkvetlých
VII. FÁZE Vývoj tobolky a zrání – zelená zralost	62	Fáze mladé tobolky, dosažení konečného tvaru a velikosti u 10 % tobolek
	64	Zelená zralost, konečná tvar a velikost u většiny tobolek
	72	Začátek zrání (žloutnutí tobolek)
VIII. FÁZE Žlutá zralost	74	Žlutá zralost, vysychání a zrání tobolek
	76	Dozrávání tobolek a semen
IX. FÁZE Plná zralost	81	Plná zralost, semena v tobolekách chrastí
X. FÁZE Posklizňové dozrávání	91	Dormance semen
	93	Ztráta dormance semen

Tabulka 1: Vývojové fáze máku setého (Vašák, J., 2010) - upraveno

3.6 Biotická poškození máku

Rostliny jsou od nepaměti poškozovány různými druhy organismů, od mikroskopických zástupců virů, bakterií, plísní, přes bezobratlé, kdy se jedná nejčastěji o hmyz, až k býložravým obratlovcům. V dobách, kdy byl člověk pouhým sběračem, se vyskytovaly přirozené porosty planých rostlin, nedocházelo k intenzivním nárůstům počtu škůdců, právě proto, že jejich hostitelské rostliny byly v krajině často řídce rozesety, a proto neposkytovaly dostatečné množství potravy. Se zvyšováním lidské populace na planetě, s čímž se zvyšovala i spotřeba jídla, přišel zemědělský pokrok v podobě vytváření nepřirozených jednodruhových porostů za účelem pěstování prospěšných plodin. Výraznou nevýhodou tohoto způsobu získávání rostlinných produktů byl fakt, že tyto velké porosty lákaly své škůdce, pro které představovaly ideální podmínky pro život. (Kazda, J., et al., 2007)

3.6.1 Houbová onemocnění

Mezi nejvýznamnější patogenní organismy máku patří bezesporu některé druhy plísní. Tyto organismy jsou tvořeny vlákny, která jsou označována jako hyfy. Ty vytváří spletené sítě, které nesou označení mycelia. Šíření houbových onemocnění je zprostředkováváno rozrůstáním mycelia rostlinou, a také plodnic, ze kterých se po dozrání začnou uvolňovat výtrusy. Výtrusy se pak dále šíří prostředím a napadají další rostliny ve svém dosahu. Vyšší výskyt houbových napadení je zaznamenáván za vlhčích let a na nevhodných stanovištích, kde vytrvává vyšší vlhkost prostředí. Na máku lze najít houby rodů *Sclerotinia*, *Verticillium*, *Pleospora*, *Peronospora*, nebo *Botriotinia* a další. (Kazda, J., et al., 2007; Vašák, J. et al., 2010)

3.6.1.1 Plíseň maková

Původcem tohoto onemocnění je *Peronospora arborescens*. Rostliny mohou být tímto patogenem napadeny v jakékoliv růstové fázi. Typickým projevem je špatný růst, deformity napadeného jedince (esovitě zkroucený stonek) a šedofialový povlak na povrchu rostliny. Při napadení makovic dochází k jejich deformacím, a znehodnocení semen. To se projeví jejich přeměnou na rezavý prášek. (Cihlář, P., 2001)

3.6.1.2 *Helminthospori*óza máku

S určením původce tohoto onemocnění je to poněkud složitější, jelikož literatura stále používá několik různých názvů. Prvním je již neplatný *Helminthosporium papaveris*, který dal této infekci jméno, ale dnes již neplatí. Nahradily jej dva další názvy. První zní *Pleospora calvescens* a označuje pohlavní stádium této houby. Druhým označením je *Dendrophilon peniciliatum* a má označovat stádium nepohlavní, se kterým se lze setkat častěji. Z nejnovějších poznatků ovšem vyplývá, že oba novější názvy patří samostatným druhům, nikoliv dvěma stádii druhu jednoho. (Vašák, J. et al., 2010) Helminthospori

óza se projevuje v době kvetení, a jsou pro ni charakteristické hranaté hnědnoucí skvrny na listech, později černající podélné pruhy na stoncích. Mycelium dále prorůstá až do makovic, kde se ovíjí okolo semen a v napadených makovicích pak lze sledovat shluky nevyvinutých semen. (Prokinová, E., 2001) Pokud jsou rostliny napadeny již v počátečních fázích růstu, může docházet k zaškrcení kořenového krčku, což vede k padání rostlin. Některá literatura uvádí, že napadení máku helminthospori

ózą je podpořeno působením krytonosce makovicového. (Ort, P., 2008)

3.6.1.3 *Bílá hniloba* máku

Jedná se o houbové onemocnění, jehož původcem je *Sclerotinia sclerotiorum*. Nepatří však mezi nejčastější patogeny máku. Vzhledově v prvních fázích připomíná spíše virózy, ovšem později postižená část rostliny zbledá a začnou se tvořit černá sklerocia. Sklerocium je útvar tvořený hyfami, který může dle daného druhu houby mít různý tvar. Ze sklerocií pak mohou vyrůstat plodnice. Jedná se často o klidové stádium vývoje houby. V tomto případě sklerocia přečkávají v půdě, kde se z nich do okolí rozrůstá mycelium. (Havel, J., 2016)

3.6.1.4 *Šedá plísnovitost* máku

Toto houbové onemocnění je velmi rozšířené napříč všemi rostlinnými druhy, proto se lze s tímto patogenem setkat i u porostu máku. Příčinou je plíseň *Botryotinia fuckeliana*. I přes její schopnost růst i za nízkých teplot, není toto onemocnění příliš významné. Znatelné ztráty lze pozorovat spíše při kombinaci s pěstebními chybami, jako je nevhodně zvolené příliš vlhké a stinné stanoviště, nebo příliš hustý porost. Napadená rostlina nejprve začíná žloutnout, později hnědne a zasychá. Poté se na povrchu začíná rozrůstat šedohnědé mycelium. (Vašák, et al., 2010)

3.6.1.5 Čerň máku

Čerň máku je souhrnné označení pro působení hub rodů *Alternaria*, *Cladosporium*, *Stemphylium*, *Ulocladium*. Nejčastěji se jedná o postižení již zralých makovic, na kterých se za vlhkých podmínek mohou vytvořit černavé povlaky. Působením těchto plísní může být snížena klíčivost zasažených semen. (Vašák, 2010)



Obrázek 9: © Šedá plísnovitost (Agromanual.cz)



Obrázek 10: © Bílá hniloba máku (Agromanual.cz)



Obrázek 11: © Plíseň maková (Agromanual.cz)



Obrázek 12: © Helmitospotiíza (Agromanual.cz)

3.6.2 Bakteriální onemocnění

Bakteriόzy máku jsou způsobovány bakteriemi, což jsou jednobuněčné prokaryotní organismy. Tvarově mohou být různorodé, přesto pro fytopatogenní bakterie bývá typičtější tyčinkovitý tvar. Barva kolonií při kultivaci bývá variabilní, podle konkrétního druhu. Pro mák jsou charakteristické rody *Xanthomonas*, nebo *Erwinia*. (Kazda, J., et al., 2007; Vašák, J. et al., 2010)

3.6.2.1 Bakteriální skvrnitost máku

Nejedná se o příliš častou infekci máku, která se projevuje při dlouhivém růstu rostliny. Projevuje se ohraničenými světlými skvrnami okrouhlého tvaru. Po určité době skvrny hnědnou a zasychají. Poškození může být doprovázeno i druhotným růstem plísni. (Vašák, J. et al., 2010)

3.6.2.2 Stonková bakteriόza

Spíše neobvyklé onemocnění, které se projevuje vadnutím horních částí rostliny a charakteristickým černáním. Pletiva měknou, rozpadají se. Postižené rostliny mohou být lámavé, z nalomeného místa vytéká zápachající hlen. Nakonec rostliny zasychají. Původcem je bakterie *Erwinia carotovora*. Častější výskyt této bakterie je zaznamenáván u bujných porostů. Průnik bakterií usnadňuje výskyt hmyzích škůdců, kteří narušují povrch rostliny a zároveň plní roli vektorů. (Vašák, J. et al., 2010)



Obrázek 13: © Bakteriόza máku (Agromanual.cz)

3.6.3 Virová onemocnění

Virové infekce nejsou u máku příliš prozkoumány. Viry jsou mikroskopické organismy různých tvarů. Nejčastěji vláknité, tyčinkovité, nebo izometrické. Typicky se skládají z nukleové kyseliny a několika dalších jednoduchých složek. Jsou to organismy nebuněčné. Pro svou existenci proto potřebují hostitelské buňky, díky kterým se mohou dále množit. Virové infekce rostlin jsou většinou způsobeny viry, které se přenášejí živočišnými vektory. Typickým příkladem může být u máku infekce virem žloutenky řepy a virem mírného žloutnutí řepy. Tyto viry přenáší některé druhy mšic. Charakteristickým příznakem napadení těmito viry je světlání listů, až zežloutnutí téměř do citrónově žluté barvy, a žloutnutí makovic. (Kazda, J., et al., 2007; Vašák, J. et al., 2010)

3.6.4 Živočišní škůdci

Největší význam pro mák mají z celé živočišné říše jednoznačně zástupci hmyzu. Jistě k tomu přispívá i fakt, že se jedná o nejpočetnější skupinu živočichů. Hmyz je schopen obývat nejrůznější biotopy a vyniká obrovskou schopností přizpůsobovat se nejrůznějším, i naprosto extrémním podmínkám. Hmyzích škůdců je nepřeborné množství, z různých živočišných řádů, od brouků, přes ploštice, až k blanokřídlým, přičemž ne vždy daný druh škodí po celou dobu své existence. Příkladem toho mohou být například motýli, jejichž housenky dokáží působit obrovské škody, ale naopak imága jsou vítanými opylovači. (Kreuter, M. L., 2002)

3.6.4.1 Krytonosec kořenový (*Stenocarus ruficornis*)

Jedná se o drobného brouka z čeledi nosatcovitých. Dosahuje velikosti okolo 3 mm. Za štítkem na krovkách má specifickou tmavou skvrnu a na konci krovek, u jejich švu, je naopak skvrna světlá. Tělo brouka je vejčitého tvaru, s charakteristickým noscem. Dospělí jedinci, kteří zimují v půdě, v teplejších jarních dnech vyhledávají mladé rostliny máku, které poškozují žírem. Největší nálety lze pozorovat v období od dubna do června. Vajíčka brouk klade na kořenový krček a hlavní nerv listů. Larvy vykusují chodbičky v kořenech, což později vyústí v úhyn rostliny. Na kořenech lze pozorovat také vykousané dutinky. Po zakuklení se po čtrnácti dnech líhnou dospělci. Brouk při vyrušení automaticky padá z rostliny do půdy, kde je jen obtížně k nalezení, protože díky svému zbarvení, velikosti a tvaru, velice dobře splývá

s povrchem. Krytonosec kořenový má během roku jen jedinou generaci. Každoročně se jedná o významného škůdce, zejména v teplejších oblastech ČR. Ochranu rostlin je potřeba provést co nejdříve po hlavním náletu brouků, protože vajíčka a larvy již na postřik nereagují. Provádí se však nejpozději do fáze 4. až 5. listu. (Rotrekl, J., 2008; ÚKZÚZ, 2014; Vlažný, P., 2010)

3.6.4.2 Krytonosec makovicový (*Neoglocianus maculaalba*)

Drobný brouk, opět z čeledi nosatcovitých. Vzhledově poměrně podobný krytonosci kořenovému. Vejcovitý tvar těla s charakteristickým noscem, ovšem v tomto případě lze pozorovat odlišné zbarvení. Šedohnědý brouk má na švu krovek hned za štítkem světlou skvrnu. Velikost brouka je shodná s předchozím druhem, okolo 3 mm. Samičky kladou vajíčka do nezralých makovic. Vylíhnuté larvy se živí zejména dozrávajícími semeny. Larvy tohoto druhu jsou beznohé, bělavé, rohlíčkovitého tvaru. Nakonec se larvy přemístí do půdy, kde si vytvoří hliněný kokon, ve kterém se zakuklí. Imága se líhnou v srpnu a září, ale zůstávají v kokonu až do jara. V průběhu května pak vylézají a vyhledávají máky různých druhů. Tito krytonosci škodí žírem, což druhotně vede k napadání rostlin dalšími patogeny, často helmintosporiózou. Larvy znehodnocují obsah makovic. (Kolařík, P., 2013; Rotrekl, J., 2008)

3.6.4.3 Klopuška dvojtečná (*Closterotomus norwegicus*)

Klopuška je drobný zelený hmyz z řádu polokřídilých. Na těle má hnědavou kresbu, ale poznávacím znakem tohoto druhu jsou dvě charakteristické tmavé tečky na předohrudi. Nejčastěji ji můžeme pozorovat při sání na poupatech a mladých makovičkách. Vyskytuje se pouze lokálně a nejedná se nijak významného škůdce, proto se ani z ekonomického hlediska nevyplatí proti ní zasahovat. Klopuška se navíc nespécializuje pouze na mák, ale saje i na jiných rostlinách různých čeledí. (Vašák, J., 2010)

3.6.4.4 Žlabatka stonková (*Iraella luteipes*)

Žlabatky patří mezi blanokřídilý hmyz. Tělo je černohnědé, křídla jsou průzračná, nebo jemně nažloutlá. Dospělci jsou 1,5 – 3 mm velcí. Vyskytují se téměř ve všech oblastech pěstování máku, ale větší význam mají v suchých a teplých biotopech. Samičky nabodávají stonky máku a kladou do něj vajíčka. Při silnějším napadení rostliny odspodu fialoví, až hnědnou, nakonec usychají. Larvy jsou žlutavé a žijí ve stonku, ve kterém i přezimují. Napadení žlabatkami nebývá příliš významné. (Havel, J., 2016; Vašák, J., 2010)

3.6.4.5 Bejlmorka maková (*Dasineura papaveris* Winn.)

Bejlmorka maková, jako zástupce rodu bejlmorek, kterých se na máku může vyskytnout více druhů, je hmyz z řádu dvoukřídlých. Dospělci jsou okolo 2 mm velcí, vzdáleně připomínají mušku, nebo komárka hnědavé barvy. Využívají činnosti krytonosce makovicového a vnikají do makovic jimi vytvořenými otvory. Uvnitř makovice samičky nakladou vajíčka, z nichž se líhnou asi 1 mm velké žlutooranžové larvy. Ty vysávají zejména pletiva přepážek makovic, což má za následek tvorbu deformovaných a sterilních semen. Zakrnět mohou i samotné makovice. Bejlmorka vytváří jen jedinou generaci ročně. Výskyt bejlmorek je spíše sporadický, proto se nejedná o příliš významného škůdce. Přesto se objevují i zprávy o tom, že škody způsobené bejlmorkou mohou být i podstatně vyšší. Navíc larvy bejlmorek slouží jako hostitel jinému hmyzu, konkrétně chalcidkám. (Kolařík, P., 2013; Kolařík, P., 2017; Vašák, J., 2010)

3.6.4.6 Mšice maková (*Aphis fabae*)

Další zástupce řádu polokřídlých. Mšice se typicky vyskytují ve větších koloniích, a poměrně často se lze setkat se symbiózou mšic a mravenců, kdy mravenci zabezpečují ochranu kolonie mšic, a částečně jejich rozšíření na menší vzdálenosti, zatímco mšice poskytují mravencům medovici, což je sladká tekutina, kterou produkují. (Petr, J., 2016) Mšice maková je 1,5-2,5 mm velká, černá, bezkřídlí jedinci mohou mít na zadečku bílé skvrny. Objevují se okřídlení i bezkřídlí jedinci. Samice kladou vajíčka pouze za účelem přezimování, nejčastěji na brslenech, kalině nebo pustorylu. Během zbytku roku jsou samičky živorodé. Okřídlené samičky se rozlétají po okolí, kde zakládají nové kolonie. Tyto kolonie jsou nejčastěji k nalezení na stoncích a spodní straně listů. Mšice mohou také sloužit jako virové a bakteriální vektory. Svým sáním rostliny máku vysilují, což vede k slabému růstu a nižším výnosům. V letech, kdy jsou podmínky pro mšice příhodné se mšice vyskytuje v hojných počtech, pak se jedná o významného škůdce. Napadené rostliny se deformují, kroučí, listy se krabatí, nebo stáčené. Také dochází ke žloutnutí a usychání. (Vašák, J., 2010; Agromanual.cz, Mšice maková)

3.6.4.7 Můra zelná (*Mamestra brassicae*)

Můra zelná patří do řádu motýlů a je schopná vytvořit během roku dvě generace. Dospělci jsou šedohnědí a typickou kresbou na koncích křídel ve tvaru „W“. Velikost imága je 20 mm s rozpětím křídel 45 mm. První generaci tvoří dospělci, kteří přezimovali ve formě kukel. Vylétávají od května do června. Samotný motýl je již neškodný. Významné jsou jejich housenky. Ty dosahují délky až okolo 40 mm. Barva housenek je proměnlivá, pohybuje se mezi hnědou a zelenou. Na hřbetě lze pozorovat tři bílé až žluté čáry, na bocích žlutou pásku. Tyto housenky škodí žírem. Na listech je zřetelný děrový žír nebo jsou skeletovány, na stoncích jamkový žír, a na makovicích opět žír děrový. Po zakuklení v půdě a dokončení vývoje vylétá druhá generace v průběhu srpna. Potomstvo druhé generace po zakuklení zimuje v půdě. (Vašák, J., 2010; Agromanual.cz, Můra zelná)



Obrázek 14: © Klopuška dvojtečná (Biolib.cz)



Obrázek 15: © Krytonosec kořenový (Biolib.cz)



Obrázek 16: © Housenka můry zelné (Lepiforum.de)



Obrázek 17: © Krytonosec makovicový (Biolib.cz)

3.7 Abiotická poškození máku

Mák patří k plodinám, které jsou velmi citlivé na pěstební podmínky. I malá chyba, jaká by při pěstování jiné rostliny nevedla k výraznějším problémům, může v případě máku mít v závěru fatální následky. Tyto chyby nepříznivě ovlivňují nejen výnos semen, ale i makoviny. Mezi nejčastější chyby při pěstování máku patří špatný výběr stanoviště s nevhodnou půdou, špatnými světelnými podmínkami, nadměrnou vzdušnou vlhkostí, nebo často podmáčenou půdou. Rovněž nevyživné půdy s nedostatkem živin a stopových prvků mohou vést k poruchám růstu. Stanoviště se špatným podnebím bude také negativně ovlivňovat růst mladých rostlin. (Havel, J., 2016)

3.7.1 Klíčení semen v makovicích

Tato porucha se projevuje naklíčením semen v neporušené makovici. Často k této poruše dochází u polámaných rostlin. Na vině jsou promáčené stěny makovice. S klíčením semen se setkáváme zejména za deštivých let, nebo při častém dešti v období zrání makovic, anebo těsně před sklizní. Méně náchylné jsou řidší porosty a odrůdy máku se střechovitým bliznovým terčem, který nezpůsobuje zadržování dešťové vody na vrcholu makovice. (Vašák, J., 2010)

3.7.2 Okvětní lístky nalepené na makovici

Jedná se spíše o kosmetický problém, který nemá větší význam pro produkci máku. K nalepení lístků dochází tehdy, když v období květu prší. Takovéto makovice běžně dozrávají a nejsou nikterak znehodnoceny. Ovšem při dlouhotrvající zvýšené vlhkosti může být přilepený organický materiál zdrojem rozvoje bakteriálních, či houbových onemocnění. (Havel, J., 2016)

3.7.3 Deformované kořeny

V případě, že dojde k silnému utužení půdy, dochází u rostlin máku k zduření kořenového krčku a kúlovitého kořene. Povrch zduřeniny bývá nerovný. Podobný případ nastává tehdy, pokud je půda pouze velmi mělce zpracovaná. Tehdy dochází k patologickému zakřivení hlavního kořene, někdy až do pravého úhlu. V takovém případě bývají rostliny náchylné k vyvracení a padání. V obou případech je řešením dokonalejší zpracování půdy, nebo výběr lepšího stanoviště. (Havel, J., 2016; Vašák, J., 2010)

3.7.4 Srdéčková hniloba máku

Výskyt bývá spojen se suchými léty. Projevuje se v období dlouhivého růstu, kdy dochází nejprve ke zpomalení růstu, později hnědne a usychá vegetační vrchol rostliny, dle období výskytu poupě, nebo malá makovice. Příčinou je nedostatek bóru v půdě. Řešením je použití listového hnojiva s obsahem bóru, případně využití jiného pozemku. (Prokinová, E., 2001; Vašák, J., 2010)

3.7.5 Bezsemenné makovice

Na první pohled nelze tuto poruchu poznat. Makovice mají odpovídající tvar i velikost. Teprve po otevření se ukáže, že neobsahují žádná, nebo pouze několik semen. K tomuto úkazu dochází kvůli neopylezení semeníků, pravděpodobně kvůli pomrznutí tyčinek s pylem. Makovice se ale i přesto vyvíjejí dál. S bezsemennými makovicemi se můžeme častěji setkat u porostů jarního máku vysetého na podzim, u příliš brzkých jarních výsevů, anebo na porostech na nevhodných stanovištích, kde dochází udržování nízkých teplot, případně v kombinaci s vyšší vlhkostí, například v blízkosti vodních ploch. (Vašák, J., 2010)

3.7.6 Atypické zbarvení rostliny

Za předpokladu, že hovoříme o abiotickém poškození, jedná se nejčastěji o nedostatek živin, přemokření, případně poškození herbicidy. Navíc často bývá tento problém spojen také s nedostatečným růstem rostlin.

Pokud hovoříme o nedostatku živin, pak se jedná především o půdy chudé na dusík. Ovšem nepříznivě se může projevit i absence dalších prvků, zejména hořčíku, bóru a zinku. Řešením je dodání těchto prvků vhodným hnojivem, případně výběr pozemku s lepšími půdními vlastnostmi. (Vašák, J., 2010)

Při nadbytku vody dochází k postupnému uhnívání kořenové soustavy, následkem čehož se zpomaluje růst, rostlina nedokáže čerpat živiny a vodu z půdy, a nakonec dochází k úhynu. Navíc jsou zasažené rostliny náchylnější k napadení chorobami. K těmto potížím jsou méně náchylné svažité pozemky, na kterých se nezadržuje přebytečná voda. (Havel, J., 2016)

Neobvyklé zbarvení rostlin máku, spolu s deformacemi, nekrózami, případně hynutím rostlin signalizuje fytotoxické působení látek, pravděpodobně herbicidů. Projevy mohou být

různé intenzity, různého rázu, a mohou se projevit akutně i se zpožděním. Vše v závislosti na použité látce, její koncentraci a přidružených podmínkách v době zasažení. Fytotoxické působení se může projevit i tehdy, pokud se použije několik samostatně bezpečných látek v nedostatečných časových odstupech. Nečekané problémy může způsobit i nedostatečně vymytý postřikovač. (Havel, J., 2016)

3.7.7 Zaschlý, zmrzlý a nevzešlý mák

Většinou se jedná o kombinaci mrazu a vysychání půdy. K naklíčení semen mák příliš vody nepotřebuje. Mladé rostliny máku jsou i dostatečně odolné k nízkým teplotám. Při střídání mrazivých teplot spolu se slunečným počasím ovšem dochází ke kondenzaci a vypařování vody z půdy. To způsobí zaschnutí klíčenců, což znamená nevzejití naklíčených semen, případně uschnutí malých semenáčků. Působením holomrazů na podzimní výsev vede ke ztrátám rostlin poškozením pletiv krystaly zmrzlé vody. Nevzejití máku může rovněž způsobit půdní škraloup, který tvoří některé půdy. Klíčící rostliny máku jej nedokáží prorazit a zanikají. Důležitá je v tomto případě také hloubka setí. (Vašák, J., 2010)

3.8 Mák a lékopis 2017

Český lékopis 2017 nehovoří o máku setém, ale zabývá se v několika článcích o zpracované produkty této rostliny, stejně jako o konkrétní alkaloidy, které jsou mákem produkovány. V platném lékopisu lze najít tyto články:

3.8.1 Opium crudum – Surové opium

Černohnědé kusy, různé velikosti, které bývají měkké a lesklé, po usušení tvrdé a křehké. Surové opium má charakteristický pach. Je to na vzduchu usušená mléčná šťáva získaná nařізnutím nezralých plodů druhu *Papaver somniferum* L. Surové opium je určeno výhradně jako výchozí surovina pro přípravu galenických přípravků. Samostatně se nesmí vydat. Droga odpovídá lékopisným požadavkům, pokud obsahuje nejméně 10,0 % morfinu a nejméně 2,0 % kodeinu. Thebain je brán z pohledu lékopisu jako nečistota. Jeho množství nesmí překročit 3,0 %. (Český lékopis 2017)

3.8.2 Opii extractum siccum normatum – Opiový extrakt suchý standardizovaný

Jedná se o hnědý amorfnní prášek vyrobený vhodným způsobem ze surového opia. Lékopis zde sleduje obsah morfinu, který udává v rozmezí 19,6 % až 20,4 %. Druhým sledovaným alkaloidem je kodein, jehož obsah musí být nejméně 2,0 %. Potřebné obsahy lze upravovat přidáním vhodné pomocné látky. Zároveň je požadováno, aby množství thebainu nepřekročilo 6,0 %. (Český lékopis 2017)

3.8.3 Opii pulvis normatus – Opium práškové standardizované

Je to surové opium práškové a vysušené při teplotě nepřevyšující 70 °C. Na pohled jde o žlutohnědý nebo tmavohnědý prášek. I zde jsou hlídány hladiny morfinu a kodeinu. Morfin by měl odpovídat hodnotám 9,5 % až 10,5 %. Kodeinu má být nejméně 1,0 %. Je-li třeba, obsah alkaloidů se upraví přidáním vhodné pomocné látky nebo práškového surového opia. Obsah thebainu nesmí překročit 3,0 %. (Český lékopis 2017)

3.8.4 Opii tinctura normata – Opiová tinktura standardizovaná

Červenohnědá tinktura připravená ze surového opia a stejných objemových dílů ethanolu 70% (V/V) a vody vhodným postupem. Tinktura by měla obsahovat morfin v rozmezí 0,95 % až 1,05 %, a kodeinu nejméně 0,1 %. Maximální množství thebainu je 0,3 %. (Český lékopis 2017)

3.8.5 Ostatní lékopisné články

Dále se lékopis zabývá jednotlivými alkaloidy, většinou ve formě solí. Morfinu se týkají dva články, konkrétně Morphini hydrochloridum trihydricum a Morphini sulfas pentahydricus. Kodein je popsán v člancích Codeini hydrochloridum dihydricum, Codeini phosphas hemihydricus, Codeini phosphas sesquihydricus a Codeinum monohydricum. O noskapinu pojednávají články Noscapini hydrochloridum hydricum a Noscapinum. Papaverinem se zajímá článek Papaverini hydrochloridum. (Český lékopis 2017)

3.9 Mák a legislativa

Mák patří mezi rostliny, jejichž obsahových látek lze snadno zneužít k přípravě drog. Pěstování máku je proto přísně hlídáno, a legislativně ošetřeno ustanoveními v Zákoně o návykových látkách, celým názvem Zákon č. 167/1998 Sb. Zákon o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů. Tento zákon se mimo jiné zabývá pěstováním máku, vývozem, dovozem, a zneškodňováním makoviny.

Zákon v § 2 vyjasňuje, co znamená pojmem makovina, a říká, že makovinou se rozumí všechny nadzemní části máku setého (*Papaver somniferum* L.) kromě semen, jakož i jejich drť po sklizni, s výjimkou celých rostlin máku včetně tobolek určených pro okrasné účely. (Zákon č. 167/1998 Sb.)

V § 15 zákon zakazuje získávat opium z máku setého (*Papaver somniferum* L.). (Zákon č. 167/1998 Sb.)

Dále se lze v § 24 dozvědět, že se zakazuje pěstovat odrůdy máku setého (*Papaver somniferum* L.), které mohou v sušině z tobolek obsahovat více než 0,8 % morfinu; zákaz se nevztahuje na pěstování odrůd máku setého (*Papaver somniferum* L.) pro výzkumné a pokusné účely, pro šlechtění nových odrůd rostlin a pro zachování genetické rozmanitosti rostlin vědeckými a výzkumnými pracovišti. (Zákon č. 167/1998 Sb.)

Tentýž paragraf uděluje ohlašovací povinnost osobám, které mák pěstují a zpracovávají. Osoba pěstující mák setý (*Papaver somniferum* L.) nebo osoba, která makovinu zpracovává nebo skladuje, je dále povinna neprodleně oznámit místně příslušnému oddělení Policie České republiky veškeré podezřelé okolnosti, zejména vstup cizích osob do porostu, nařezání makovic, odcizení makovic nebo neobvyklé objednávky, jež naznačují, že makovina může být zneužita k nelegální výrobě návykových látek. (Zákon č. 167/1998 Sb.)

O nakládání s makovinou zákon v tomto paragrafu hovoří takto. Makovina vyprodukovaná na území České republiky musí být vyvezena nebo zneškodněna anebo zpracována tak, aby obsažené návykové látky nebylo možné použít nebo získat jakýmkoliv technologickými prostředky. (Zákon č. 167/1998 Sb.)

Zákon dále upřesňuje v § 25 podmínky vývozu a dovozu makoviny. Povolení k vývozu makoviny a povolení k dovozu makoviny vydává Ministerstvo zdravotnictví, které je rovněž

oprávněno vydané povolení odejmout, pokud je důvodné podezření, že došlo k porušení povinností vyplývajících z tohoto zákona či z rozhodnutí vydaného na jeho základě nebo že se jedná o nedovolený obchod podle mezinárodních smluv, kterými je Česká republika vázána. Povolení k vývozu makoviny lze vydat na dobu v něm určenou pro více vývozů. Povolení k dovozu makoviny lze vydat na dobu v něm určenou pro více dovozů. (Zákon č. 167/1998 Sb.)

Další ohlašovací povinnosti spadají pod § 29 a § 30. V § 29 zákon říká, že osoby, pěstující mák setý nebo konopí na celkové ploše větší než 100 m² jsou povinny předat hlášení místně příslušnému celnímu úřadu podle místa pěstování, písemně nebo v elektronické podobě, s potřebnými náležitostmi, jako jsou výměry pozemků, pěstované odrůdy, a další, a to nejpozději k určenému datu. (Zákon č. 167/1998 Sb.)

V § 30 se lze dočíst, že každý, kdo uskutečnil vývoz nebo dovoz makoviny, je povinen předat Ministerstvu zdravotnictví do patnáctého dne prvního měsíce kalendářního čtvrtletí čtvrtletní hlášení o vývozu nebo dovozu makoviny v uplynulém čtvrtletí. Čtvrtletní hlášení se podává na formuláři vydaném Ministerstvem zdravotnictví písemně nebo v elektronické podobě. (Zákon č. 167/1998 Sb.)

3.10 Principy ekozemědělství

Dnešní požadavky společnosti tlačí zemědělce ke stále se zvyšující efektivitě práce, což může vést k nižší kvalitě produkce. Na druhou stranu, požadavky na kvalitu se také zvyšují, stejně jako tlak k dodržování ochrany životního prostředí. Možným řešením se nabízí systém ekologického zemědělství. (Dvorský J., et al., 2014)

V České republice je ekologické zemědělství stále ještě nepříliš zvládnuté odvětví, kterému u nás schází dostatek zkušeností. Ekozemědělství, někdy označováno jako zemědělství bez chemie, sice počítá s nižšími výnosy, zato s vyšší kvalitou vyprodukovaných plodin. (Dvorský J., et al., 2014)

Platná legislativa definuje ekozemědělství takto. „Ekologická produkce je celkový systém řízení zemědělského podniku a produkce potravin, který spojuje osvědčené environmentální postupy, vysokou úroveň biologické rozmanitosti, ochranu přírodních zdrojů,

uplatňování přísných norem pro dobré životní podmínky zvířat a způsob produkce v souladu s požadavky určitých spotřebitelů, kteří upřednostňují produkty získané za použití přírodních látek a procesů.“ (Nařízení rady (ES) č. 834/2007)

Ekologický způsob zemědělství se tedy nesnaží o co nejvyšší produkci, ale zaměřuje se na následující cíle:

- Udržování a zlepšování vlastností půdy
- Udržování a neznečišťování životního prostředí syntetickými látkami
- Ochrana biodiverzity
- Produkce kvalitních biopotravin a krmiv
- Další (minimum neobnovitelných surovin, etické zásady,...)

(Dvorský J., et al., 2014)

Například McAlister ve své práci tvrdí, že podíl tvorby skleníkových plynů při výrobě morfinu spadající na konvenční pěstování máku jsou pouze 3 % z celkového procesu. To tvoří sice poměrně zanedbatelnou část z celkového pohledu, ale při zvyšující se produkci máku nejen pro farmacii, může být množství těchto plynů v porovnání s ekozemědělstvím podstatně vyšší. (McAlister, S., 2016)

Pro rostlinnou produkci je podstatné, zejména zpracování půdy a její kvalita. Obecně je potřeba využívat takové systémy, kdy dochází ke zvyšování humusu v půdě. Úrodnost půdy je rovněž zvyšována vhodnými víceletými osevními postupy s využitím různých meziplodin a zeleného hnojení. Výživa rostlin je pak zajištěna přirozeným koloběhem živin, a nedodává se umělým přihnojováním. (Dvorský J., et al., 2014)

Udržování zdravého porostu je zajišťováno primárně dostatečnou prevencí a správnými kultivačními metodami. Pouze pokud je to potřeba, legislativa vymezuje seznam přípravků, které lze pro ošetření porostu využít. Použití herbicidů je zcela zakázáno, plevelů se v ekozemědělství zbavuje zpravidla mechanicky, lépe však je provést předem preventivní kroky, vedoucí k zamezení výskytu plevelných rostlin na zvoleném pozemku. Samozřejmostí je využití ekologicky získaného osiva, případně sadby. (Dvorský J., et al., 2014)

Redukce chorob a škůdců je při ekologickém zemědělství dosažena volbou vhodných odrůd, správně zvoleným pěstebním postup, případně mechanickými zásahy (například

zakrývání ochrannými sítěmi), nebo ochranou užitečných živočichů (čehož lze docílit vhodnou úpravou okolí pěstovaného porostu, kupříkladu tvorbou křovitých pásů, hnízdišť,...). Využit lze opět některé přípravky, které povoluje rámec legislativy. Většinou se jedná o biologické preparáty, případně nasazení predátorů, či přirozených antagonistů daného škůdce, či původce onemocnění. (Dvorský J., et al., 2014)

3.11 *Pythium oligandrum* jako biologická ochrana

Ne všechny houby musí zákonitě patřit mezi patogenní. Existuje velká skupina hub a plísní, které naopak s rostlinami žijí v symbiotickém vztahu. Známým typem symbiózy mezi houbou a rostlinou je mykorrhiza. V tomto případě jde o soužití houby a kořenové soustavy vyšší rostliny. Typické a známé je například soužití modřínu a klouzku. Houba čerpá z půdy minerální látky, které zprostředkovává rostlině, naopak rostlina poskytuje pro houbu organické živiny. Jiným způsobem, jak může být houba pro rostlinu přínosem je vztah parazitický. Ovšem nikoliv s danou rostlinou. Houba v tomto případě parazituje na rostlinném škůdci. Tím může být například hmyz, anebo jiná houba. (Kazda, J. et al., 2007)

Právě do druhé skupiny patří houba *Pythium oligandrum*, která byla v této práci použita jako biologická ochrana máku proti jiným houbovým onemocněním, a celkově pro zlepšení vitality rostlin.

Kmen: Heterokontophyta

Třída: Oomycetes

Řád: Pythiales

Čeleď: Pythiaceae

Rod: *Pythium*

Druh: *Pythium oligandrum*

(Biopreparáty 1, http://www.biopreparaty.eu/index.php?option=com_content&view=article&id=24&Itemid=)

Kmen *P. oligandrum*, který se používá pro biologickou ochranu rostlin v přípravku Polyversum byl izolován v Čechách v 70. letech 20. století. (Rod, J., et al., 2005)

Působení *P. oligandrum* lze rozdělit do tří mechanismů na různých úrovních. Prvním způsobem je mykoparazitismus, kdy dochází k napadání jiných houbových patogenů. Oospora *Pythia* vytváří hyfy, kterými se integruje do napadeného mycelia, které enzymaticky rozkládá pomocí hydrolyticky působících enzymů, a čerpá z něj živiny. Na konci hyf se posléze vytváří útvary zvané zoosporangia. Po dozrání zoosporangia praskají a uvolňují pohyblivé zoospory, které se šíří do okolí a vyhledávají další zdroje živin. Těmi mohou být další mycelia, nebo např. kvasinky. Zoospory, které narazily na nového hostitele se jím začínají živit a začínají produkovat další hyfy. Na těchto hyfách se nakonec vytvoří oogonia (viz oospora na počátku procesu), a celý cyklus začíná od počátku nanovo. (Picard, K., 2000; Rod, J., et al., 2005; Biopreparáty 2, http://www.biopreparaty.eu/index.php?option=com_content&view=article&id=41:mechanismy-uinku-pythium-oligandrum&catid=4:faq&Itemid=25)

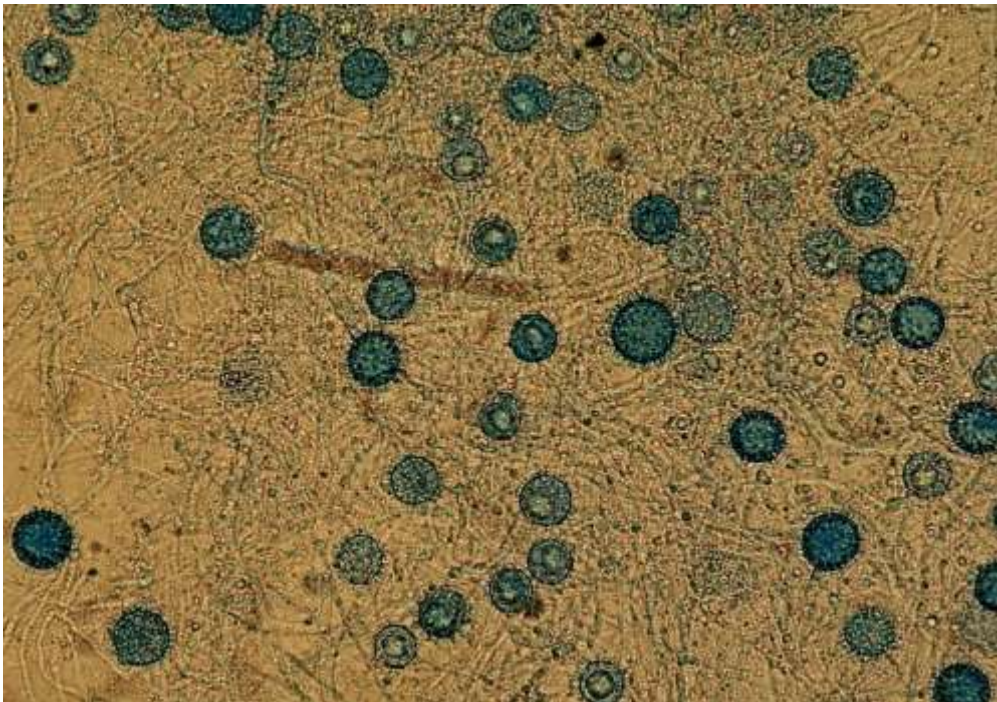
Druhým mechanismem je tvorba nízkomolekulárního proteinu oligandrinu. Ten je vytvářen během kolonizace kořenového systému rostliny. Oligandrin působí na biochemickém principu a navozuje indukovanou rezistenci rostliny vůči patogenním houbám. Oligandrin působí tak, že stimuluje tvorbu mechanických i biochemických bariér v rostlinných pletivech. (Rod, J., et al., 2005; Biopreparáty 2, http://www.biopreparaty.eu/index.php?option=com_content&view=article&id=41:mechanismy-uinku-pythium-oligandrum&catid=4:faq&Itemid=25)

Třetí způsob působení *Pythia* je nepřímá podpora růstu díky zvýšení obsahu triptaminu v rostlině. Triptamin je prekurzor pro tvorbu indolactové kyseliny. Ta se chová jako fytohormon a řídí růst rostliny. Tímto mechanismem dochází ke zlepšení hospodaření s fosforem a dalšími mikroprvky, což se projeví bujnějším růstem. (Biopreparáty 2, http://www.biopreparaty.eu/index.php?option=com_content&view=article&id=41:mechanismy-uinku-pythium-oligandrum&catid=4:faq&Itemid=25)

Pythium oligandrum by mělo být aplikováno na rostlinu nejlépe několikrát. První aplikací by mělo být moření osiva. Tato aplikace by měla zabránit přenosu patogenních hub z matečných rostlin na novou generaci. Osivo lze mořit dvěma způsoby. Přípravek obsahující *Pythium oligandrum* lze s osivem rovnou smísit, případně lze připravit suspenzi, která se nejpozději do dvou hodin aplikuje na osivo postřikem. Druhá aplikace by měla proběhnout ve fázi BBCH 12 – 15, a to aplikací postřikem na list, anebo zálivkou. Stejně tak by měla následovat ještě třetí aplikace, nejpozději do fáze BBCH 51. (Biopreparáty 3,

http://www.biopreparaty.eu/index.php?option=com_content&view=article&id=135&Itemid=24)

Při pokusech, které provedla Česká zemědělská univerzita v Praze ve spolupráci s dalšími institucemi se ukázalo, že lepších výsledků bylo dosaženo v kombinaci se systémem E-ventus, kdy je osivo navíc fyzikálně desinfikováno. Rovněž se potvrdila potřeba několikanásobné aplikace *Pythia*. (Hájková, M., et al., 2009)



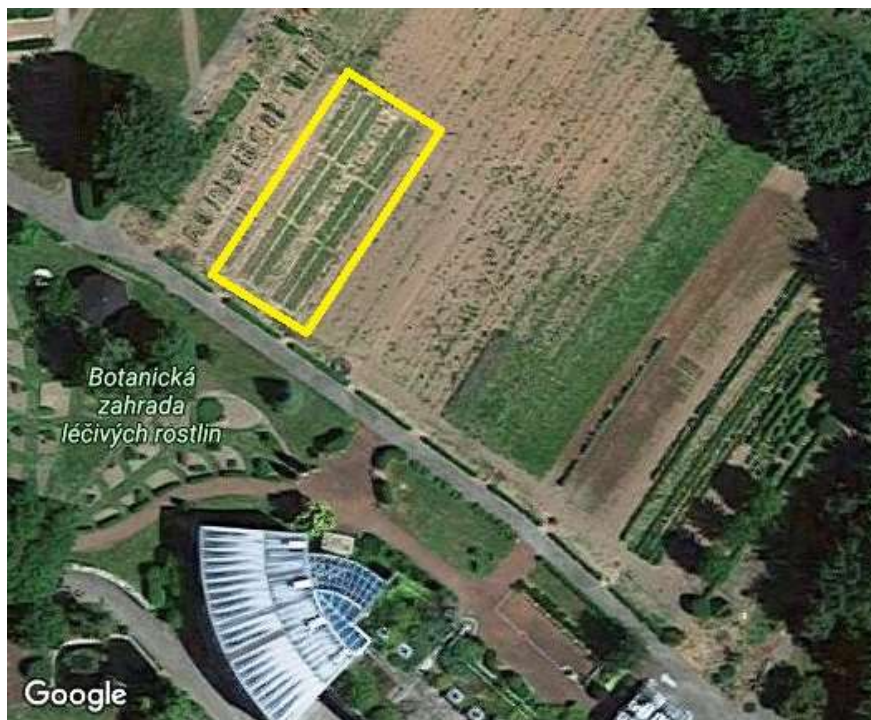
Obrázek 18: © Oospory *Pythium oligandrum* (Technopark-kralupy.cz/)

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Pěstitelská část

4.1.1 Pozemek a rozvržení parcel

Pěstování máku probíhalo v areálu Zahrady léčivých rostlin při Farmaceutické fakultě v Hradci Králové. Osetá plocha měla celkovou rozlohu 120 m², přičemž byla rozdělena do dvanácti samostatných polí o rozloze 10 m². Před výsevem byly pozemky nahrubo upravené, vyčištěné od případného plevelu. Pro účely diplomové práce byly vybrány dvě odrůdy máku setého, a to odrůda Orbis a odrůda Lazur.



Obrázek 19: Letecký snímek rozvržení parcel (Google.cz)

Rozvržení pěstebních parcel podle odrůd je zobrazeno v tabulce 2. Žlutě jsou zvýrazněna pole s odrůdou Orbis, zeleně pole s odrůdou Lazur. Tabulka 3 upřesňuje, která pole byla ošetřena biofungicidním přípravkem, jehož funkční složkou je parazitická houba *Pythium oligandrum*.

Tabulka 2: Rozvržení odrůd na pozemku.

3	OO	LN	ON	LO
2	ON	LO	OO	LN
1	OO	LN	ON	LO
	A	B	C	D
Chodník				

Tabulka 3: Ošetření přípravkem Polyversum

3	OO	LN	ON	LO
2	ON	LO	OO	LN
1	OO	LN	ON	LO
	A	B	C	D
Chodník				

Vysvětlivky:

OO – Orbis ošetřený Polyversem

ON – Orbis neošetřený

LO – Lazur ošetřený

LN – Lazur neošetřený

4.1.2 Použité odrůdy

Orbis – Odrůda Orbis je modrosemenná a vyznačuje se středně vysokým, až vysokým obsahem morfinu v makovině. Jedná se o mák středně ranný. Makovice jsou typu slepák. Výhodou je, že tato odrůda má sklony odolávat poléhávání. Orbis lze využít pro získání morfinu i semen, proto je využíván farmaceutickým i potravinářským průmyslem. (ÚKZÚZ, 2014)

Lazur – Jedná se o polskou odrůdu, která je modrosemenná. Množství morfinu je poměrně vysoké a může dosahovat hodnot až k 1 %. Díky svým vlastnostem je využíván převážně pro farmacii k získávání morfinu, ale také pro dobré chuťové vlastnosti v potravinářství. Obsah oleje je srovnatelný s jinými modrosemennými odrůdami. Lazur je pěstitelsky vhodný pro všechny oblasti. (Kadlec, T., 2001; Petrželová, L., 2015)

4.1.3 Výsev

Po rozparcelování proběhl výsev technikou seťové rýhy. Jednotlivé řádky byly od sebe v rozestupu přibližně 15 cm.

Setí proběhlo během dvou dnů - 27.3.2015 a 28.3.2015, a osivo na vyznačených parcelách bylo ošetřeno biofungicidním přípravkem obsahujícím *Pythium oligandrum*.

První klíčící rostliny se začaly objevovat 13.4.2015, tzn. za 17 – 18 dní.



Obrázek 20: Upravené pozemky se vzcházejícími rostlinami

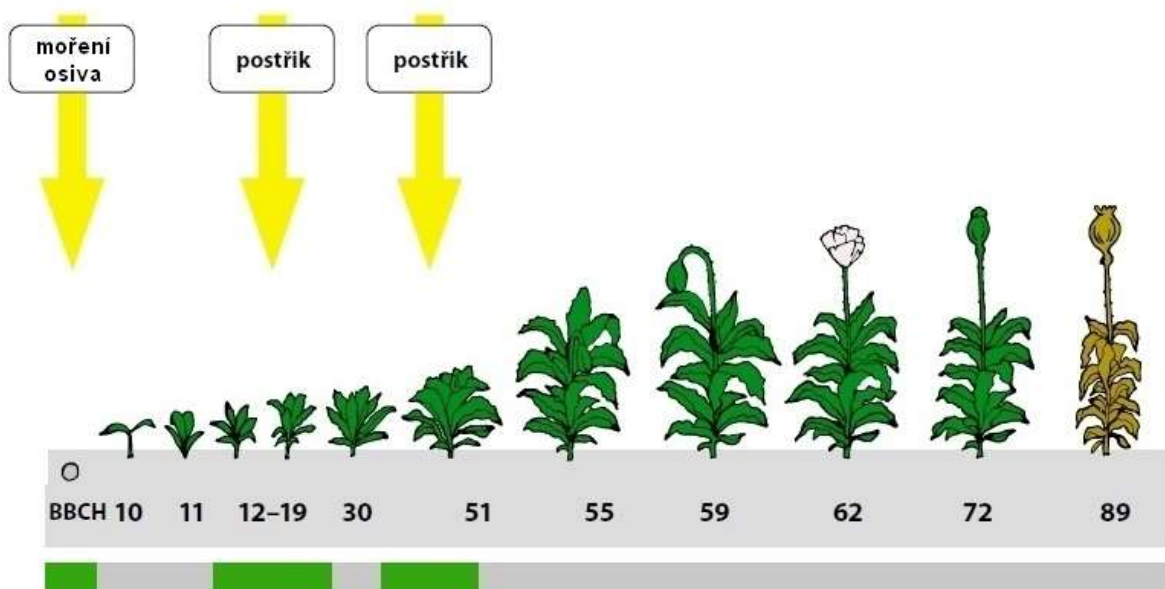
4.1.4 Péče o porost

Po vzejití rostlin bylo provedeno vyjednocení, které je potřebné pro dobrou kondici rostoucích rostlin. Vzešlý porost byl vyjednocen na vzdálenost rostlin v řádku přibližně 15 cm od sebe. Tím se zajistil dostatek místa pro jednotlivé rostliny, a zároveň vzniklý porost vykazuje dostatečnou vzdušnost, čímž se sníží riziko napadení houbovými chorobami. K vyjednocení došlo 24.4. 2015.

Vyznačené parcely byly rovněž opakovaně ošetřeny biofungicidním přípravkem s obsahem houby *Pythium oligandrum*. Aplikace proběhla v souladu s návodem přípravku. Zvolená forma aplikace byl postřik pomocí ručního postřikovače. První aplikace proběhla dne 24.4.2015, druhá dne 10.6.2015.

Zavlažování porostu bylo zprostředkováno automatickým zahradním zavlažovacím systémem. Pole byla pravidelně alespoň jednou do měsíce zbavována plevely. Zároveň byl povrch půdy rozrušen a prokypřen, pro lepší příjem vody.

Sklizeň máku proběhla v době plné zralosti na začátku srpna 2015. Sklizeny byly makovice s přibližně 10cm stonky.



Obrázek 21: © Aplikace přípravku Polyversum (www.biopreparaty.eu) – upraveno

4.1.5 Záznam meteorologických dat

Růst a kondice rostlin je ovlivňována mnoha různými faktory. Jedním z nejvýznamnějších je působení klimatických podmínek v místě, kde rostliny rostou. Rok 2015 byl teplotně nadprůměrný, a to zejména v době dozrávání sledovaného máku. Zejména v srpnu, době sklizně, byl dlouhodobý teplotní průměr znatelně překročen. Naopak množství srážek bylo pod dlouhodobým průměrem. Záznamy meteorologických dat jsou uvedeny v následujících tabulkách 4 a 5. Data se vztahují ke Královéhradeckému kraji.

Tabulka 4: Porovnání průměrných teplot v době vegetace máku v roce 2015 s dlouhodobým normálem (1981-2010) (ČHMÚ1)

Rok 2015	Březen	Duben	Květen	Červen	Červenec	Srpen
Průměrná teplota [°C]	3,9	7,6	12,2	15,6	19,7	21,4
Dlouhodobý normál [°C]	2,6	7,8	13,0	15,7	17,7	17,1
Odchylka od normálu [°C]	1,3	-0,2	-0,8	-0,1	2,0	4,3

Tabulka 5: Porovnání úhrnu srážek v době vegetace máku v roce 2015 s dlouhodobým normálem (1981-2010) (ČHMÚ2)

Rok 2015	Březen	Duben	Květen	Červen	Červenec	Srpen
Úhrn srážek [mm]	58	23	49	62	30	59
Dlouhodobý srážkový normál [mm]	57	43	66	73	92	83
Odchylka od normálu [%]	102	53	74	85	33	71

4.2 Analytická část

4.2.1 Příprava rostlinného materiálu

Po sklizni byly makovice dále zpracovávány. Stonky byly od makovic odděleny a zpracovávány zvlášť. Makovice byly zbaveny veškerých semen. Nakonec byl rostlinný materiál rozemlet na elektrickém mlýnku. Z každé parcely byly získány dva vzorky makovic a dva vzorky stonků. Dohromady tedy 48 analyzovaných vzorků. (12parcel × 4vzorky).

4.2.2 Příprava extraktu

Pomůcky:

Elektrický mlýnek, laboratorní lžička, odměrný válec, vaříč, odměrné baňky, zpětný chladič, varné kamínky, nálevka, fritka, filtrační papír, vata, křemelina, dělicí nálevka, kádinky, pH papírky, penicilínové lahvičky, špachtle, skleněné tyčinky.

Přístroje:

analytické váhy Kern ABT 120-5DM
ultrazvuková lázeň Sonorex super 10P digital
elektromagnetické míchadlo Heidolph MR 3001 K
vakuová odparka Heidolph Laborota 4000

Chemikálie:

deionizovaná voda, H₂O
diethylether (Penta), (C₂H₅)₂O
ethylacetát (Penta), CH₃COOC₂H₅
ethanol 96% denaturovaný methanolem, C₂H₅OH
kyselina chlorovodíková 2% (Penta), HCl
chloroform (Penta), CHCl₃
uhličitan sodný 10% (w/w) bezvodý (Penta), Na₂CO₃
síran sodný bezvodý (Penta), Na₂SO₄

Z rostlinného materiálu bylo naváženo do varné baňky se zábrusem 2,00 g vzorku. Po přidání 40 ml ethanolu byl vzorek podroben varu pod zpětným chladičem, po dobu 15 min. Výluh byl poté zfiltrován. Rostlinný materiál byl ještě dvakrát podroben varu s 25 ml ethanolu pro vyšší efektivitu extrakce, a nakonec byly výluhy smíchány a přefiltrovány přes fritu. Vzniklý filtrát byl odpařen dosucha na vakuové odparce.

Získaný odparek byl rozpuštěn v 30 ml 2% kyseliny chlorovodíkové. Vzniklý roztok byl protřepáván třikrát s 15 ml diethyletheru v dělicí nálevce. Etherová vrstva byla vždy odstraněna. Zbýlý vodný roztok byl alkalizován přidáním uhličitanu sodného na hodnotu pH 9 až 10, což odpovídalo přibližně 20 ml roztoku uhličitanu. Takto připravený roztok byl třikrát vytřepáván 20 ml ethylacetátu. Ethylacetátový podíl byl smíchán a vysušen bezvodým síranem sodným. Poté byl roztok přefiltrován a odpařen dosucha.

Tento odparek byl následně rozpuštěn ve směsi chloroformu a methanolu (1:1) na přesně známou koncentraci, která umožňovala pohodlné dávkování pro následnou HPLC analýzu.

4.2.3. Analýza vzorků metodou HPLC

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) patří dnes k nejužívanějším analytickým metodám v oblasti hodnocení léčiv. Principem je rozdělování složek analyzované směsi mezi dvě fáze, z nichž jedna je mobilní a druhá stacionární. (Klimeš, J., et al., 2015)

Kvalitativním parametrem sledovaným při analýze je retenční čas, což je doba od nástřiku do chvíle, kdy látka vykazuje maximum chromatografického píku. Retenční čas charakterizuje totožnost látky. Kvantitativní parametr analýzy udává plocha (případně výška) chromatografického píku, která udává množství odpovídající látky. (Klimeš, J., et al., 2015)

Výhodou této metody je, že lze provádět kvantitativní i kvalitativní měření, s minimem vzorku, s velkou citlivostí, a za relativně krátký čas. (Klimeš, J., et al., 2015)

Měření vzorků a standardů pomocí kapalinového chromatografu provedl Ing. Miroslav Ločárek z Katedry farmaceutické botaniky na Farmaceutické fakultě Hradec Králové.

Kapalinový chromatograf:

Agilent 1260 infinity HPLC systém

Sestava: Čerpadlo: G1311C, Autosampler: G1329B, UV-VIS detektor: G1365D

Kolona: Merck LiChroCART 250-4 column (Purospher STAR RP-18e, 5 μ m)

Teplota na koloně: 30 °C

Dávkování do systému: 10 μ l, 2 \times 2 min sonikace, filtrace přes filtr s póry 0,22 μ m

Typ eluce: gradientová

Mobilní fáze: H₂O : NH₄OH, 1000 : 1 v/v (složka A); ACN (složka B)

Průtok mobilní fáze: 1 ml/min

Gradientový režim:

gradientová eluce voda: hydroxylamin 1000 : 1 (solvent A), acetonitril (solvent B), gradientový profil 0-5 min 5-25 % B, 5-7 min 25 % B, 7-15 min 25-45 % B, 15-19 min 45-90 % B 19-22 min 95 % B, 22-25 min 95-5 % B, 25-28 min 5 % B

Analytické standardy:

morfin (ČL 2009, Dopl. 2012: morfin-hydrochlorid trihydrát, MW 375,85 = 1 mol)

kodein (ČL 2009, Dopl. 2012: kodein-fosfát hemihydrát, MW 406,37 = 1 mol)

papaverin (ČL 2009, Dopl. 2012: papaverin-hydrochlorid, MW 375,85 = 1 mol)

thebain (izolovaný v laboratoři na Katedře farmaceutické botaniky, FaF UK)

narkotin = (S,R)-noskapin (Sigma Aldrich, Praha)

Chemikálie:

ultračistá voda pro HPLC (H₂O)

hydroxylamin, p.a. (Penta) (NH₄OH)

acetonitril, p.a. (Penta) (ACN)

Kromě měření samotných vzorků, byly stejným způsobem změřeny i roztoky standardů jednotlivých alkaloidů. Byly použity roztoky standardu morfinu (v koncentracích 1,2; 0,6; 0,24; 0,12; 0,024 mg/ml), standardu kodeinu (v koncentracích 0,24; 0,12; 0,048; 0,024; 0,0048 mg/ml), standardu papaverinu (v koncentracích 0,28; 0,14; 0,056; 0,028; 0,0056 mg/ml), standardu thebainu (v koncentracích 0,042; 0,021; 0,0084; 0,0042; 0,00084 mg/ml) a standardu narkotinu (v koncentracích 0,14; 0,07; 0,028; 0,014; 0,0028 mg/ml).

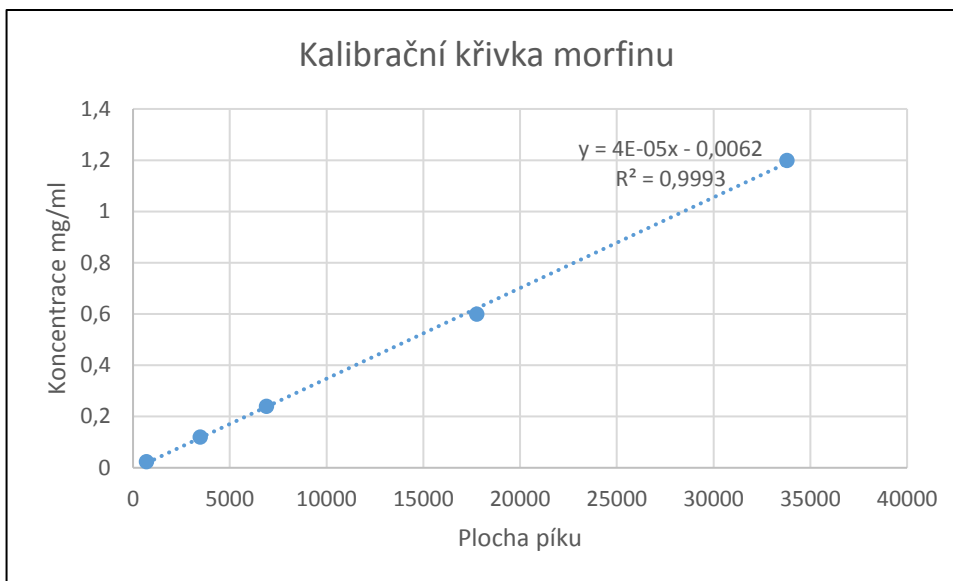
Z naměřených hodnot byly sestaveny kalibrační křivky jednotlivých alkaloidů. Při závislosti velikosti plochy píku na koncentraci látky, byly pomocí těchto kalibračních křivek stanoveny přesné koncentrace alkaloidů v jednotlivých vzorcích, a na základě těchto hodnot byl vypočítán procentuální obsah alkaloidů v makovicích a stoncích.

Tabulka 6: Retenční časy roztoků standardů

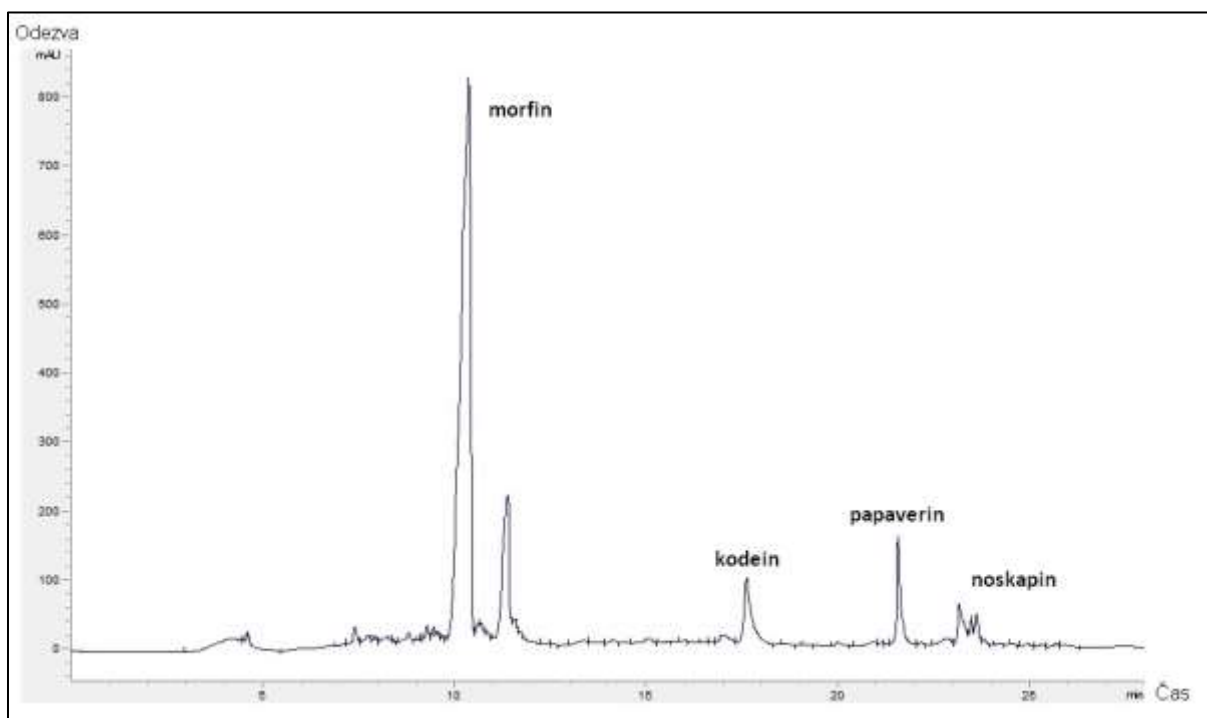
ALKALOID	RETENČNÍ ČAS (MIN)
Morfin	10,421
Kodein	17,117
Papaverin	21,517
Thebain	22,381
Narkotin	23,482

Tabulka 7: Příklad závislosti koncentrace roztoku a velikosti plochy píku

Morfin (standard)	
c (mg/ml)	Plocha píku
1,2	33801,45
0,6	17762,25
0,24	6895,1
0,12	3466,4
0,024	697,15



Obrázek 22: Kalibrační křivka morfinu



Obrázek 23: Příklad chromatogramu analyzovaného vzorku

5 VÝSLEDKOVÁ ČÁST

Následující tabulky ukazují naměřené koncentrace jednotlivých sledovaných alkaloidů v roztocích vzorků, a dále také vypočítaný procentuální obsah těchto alkaloidů v jednotlivých odrůdách (Orbis, Lazur), variantách ošetření (ošetřeno biologickým preparátem, neošetřeno biologickým preparátem) i obou rostlinných materiálech (makovice, stonek).

Koncentrace jsou v jednotkách mg/ml zaokrouhlené na tři desetinná místa. Výpočet obsahu alkaloidů v rostlinném materiálu byl proveden na hmotnostní procenta, zaokrouhleno bylo na dvě desetinná místa, s výjimkou noskapinu, u kterého by se při takovém zaokrouhlení téměř obsah látky v rostlině neprojevil. V tomto případě bylo zaokrouhleno na čtyři desetinná místa.

Vysvětlivky k následujícím tabulkám 8 – 32.

LOD limit of detection (mez detekce)

LOQ limit of quantification (mez stanovitelnosti)

Sloupce v tabulkách označené jako „mg/ml“ a „%“ udávají průměrné hodnoty, vypočítané ze dvou nezávisle změřených vzorků. K tomuto se posléze vztahuje i následující sloupec, v němž byla vypočtena směrodatná odchylka.

5.1 Morfin

Tabulka 8: Naměřené koncentrace morfinu ve vzorcích odrůdy Orbis

	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.
ORBIS OŠETŘENÝ	1A	Makovice	0,619	0,021	Stonek	0,542	0,046
	2C	Makovice	0,616	0,055	Stonek	0,383	0,021
	3A	Makovice	0,593	0,005	Stonek	0,764	0,052
	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.
ORBIS NEOŠETŘENÝ	1C	Makovice	0,667	0,006	Stonek	0,464	0,023
	2A	Makovice	0,672	0,017	Stonek	0,489	0,035
	3C	Makovice	0,602	0,033	Stonek	0,387	0,036

Tabulka 9: Vypočítaný procentuální obsah morfinu ve vzorcích odrůdy Orbis

	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
ORBIS OŠETŘENÝ	1A	Makovice	0,54	0,08	Stonek	0,11	0,01
	2C	Makovice	0,65	0,16	Stonek	0,11	0,00
	3A	Makovice	0,56	0,01	Stonek	0,13	0,02
	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
ORBIS NEOŠETŘENÝ	1C	Makovice	0,59	0,03	Stonek	0,12	0,01
	2A	Makovice	0,74	0,02	Stonek	0,11	0,01
	3C	Makovice	0,54	0,07	Stonek	0,09	0,01

Tabulka 10: Naměřené koncentrace morfinu ve vzorcích odrůdy Lazur

	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	sm. odch.	MATERIÁL	mg/ml	sm. odch.
LAZUR OŠETŘENÝ	1D	Makovice	0,470	0,014	Stonek	0,252	0,108
	2B	Makovice	0,660	0,023	Stonek	0,571	0,013
	3D	Makovice	0,507	0,029	Stonek	0,391	0,058
	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	sm. odch.	MATERIÁL	mg/ml	sm. odch.
LAZUR NEOŠETŘENÝ	1B	Makovice	0,531	0,019	Stonek	0,488	0,061
	2D	Makovice	0,616	0,038	Stonek	0,408	0,013
	3B	Makovice	0,472	0,056	Stonek	0,399	0,045

Tabulka 11: Vypočítaný procentuální obsah morfinu ve vzorcích odrůdy Lazur

	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
LAZUR OŠETŘENÝ	1D	Makovice	0,49	0,10	Stonek	0,06	0,03
	2B	Makovice	0,54	0,09	Stonek	0,14	0,03
	3D	Makovice	0,43	0,03	Stonek	0,11	0,01
	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
LAZUR NEOŠETŘENÝ	1B	Makovice	0,53	0,01	Stonek	0,14	0,02
	2D	Makovice	0,70	0,11	Stonek	0,09	0,00
	3B	Makovice	0,48	0,1	Stonek	0,12	0,01

Tabulka 12: Souhrnný přehled průměrných hodnot obsahu morfinu

			Makovice	Stonek
MORFIN	ORBIS	OŠETŘENÝ	0,58 % ± 0,11	0,12 % ± 0,01
		NEOŠETŘENÝ	0,62 % ± 0,09	0,10 % ± 0,01
	LAZUR	OŠETŘENÝ	0,48 % ± 0,09	0,10 % ± 0,04
		NEOŠETŘENÝ	0,57 % ± 0,13	0,12 % ± 0,02

5.2 Kodein

Tabulka 13: Naměřené koncentrace kodeinu ve vzorcích odrůdy Orbis

	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	sm. odch.	MATERIÁL	mg/ml	sm. odch.
ORBIS OŠETŘENÝ	1A	Makovice	0,071	0,005	Stonek	0,066	0,006
	2C	Makovice	0,072	0,006	Stonek	0,056	0,004
	3A	Makovice	0,060	0,001	Stonek	0,095	0,001
	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	sm. odch.	MATERIÁL	mg/ml	sm. odch.
ORBIS NEOŠETŘENÝ	1C	Makovice	0,075	0,002	Stonek	0,078	0,001
	2A	Makovice	0,063	0,001	Stonek	0,069	0,008
	3C	Makovice	0,077	0,003	Stonek	0,073	0,001

Tabulka 14: Vypočítaný procentuální obsah kodeinu ve vzorcích odrůdy Orbis

	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
ORBIS OŠETŘENÝ	1A	Makovice	0,06	0,00	Stonek	0,01	0,00
	2C	Makovice	0,08	0,02	Stonek	0,02	0,00
	3A	Makovice	0,06	0,01	Stonek	0,02	0,01
	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
ORBIS NEOŠETŘENÝ	1C	Makovice	0,07	0,01	Stonek	0,02	0,00
	2A	Makovice	0,07	0,00	Stonek	0,02	0,01
	3C	Makovice	0,07	0,01	Stonek	0,02	0,00

Tabulka 15: Naměřené koncentrace kodeinu ve vzorcích odrůdy Lazur

	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH
LAZUR OŠETŘENÝ	1D	Makovice	0,048	0,001	Stonek	0,048	0,017
	2B	Makovice	0,074	0,003	Stonek	0,142	0,011
	3D	Makovice	0,042	0,003	Stonek	0,054	0,007
	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH
LAZUR NEOŠETŘENÝ	1B	Makovice	0,077	0,002	Stonek	0,118	0,016
	2D	Makovice	0,045	0,003	Stonek	0,063	0,001
	3B	Makovice	0,069	0,007	Stonek	0,095	0,009

Tabulka 16: Vypočítaný procentuální obsah kodeinu ve vzorcích odrůdy Lazur

	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
LAZUR OŠETŘENÝ	1D	Makovice	0,05	0,01	Stonek	0,01	0,00
	2B	Makovice	0,06	0,01	Stonek	0,04	0,01
	3D	Makovice	0,04	0,01	Stonek	0,02	0,01
	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
LAZUR NEOŠETŘENÝ	1B	Makovice	0,08	0,00	Stonek	0,04	0,01
	2D	Makovice	0,05	0,01	Stonek	0,01	0,00
	3B	Makovice	0,07	0,01	Stonek	0,03	0,00

Tabulka 17: Souhrnný přehled průměrných hodnot obsahu kodeinu

KODEIN	ORBIS	OŠETŘENÝ	Makovice	Stonek
		NEOŠETŘENÝ	0,06%±0,01	0,02%±0,01
	LAZUR	OŠETŘENÝ	0,07%±0,01	0,02%±0,0
		NEOŠETŘENÝ	0,05%±0,01	0,02%±0,01
		NEOŠETŘENÝ	0,07%±0,01	0,03%±0,01

5.3 Papaverin

Tabulka 18: Naměřené koncentrace papaverinu ve vzorcích odrůdy Orbis

	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.
ORBIS OŠETŘENÝ	1A	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOQ	< LOQ
	2C	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	3A	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOQ	< LOQ
	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.
ORBIS NEOŠETŘENÝ	1C	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	2A	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	3C	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD

Tabulka 19: Vypočítaný procentuální obsah papaverinu ve vzorcích odrůdy Orbis

	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
ORBIS OŠETŘENÝ	1A	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOQ	< LOQ
	2C	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	3A	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOQ	< LOQ
	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
ORBIS NEOŠETŘENÝ	1C	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	2A	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	3C	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD

Tabulka 20: Vypočítaný procentuální obsah papaverinu ve vzorcích odrůdy Lazur

	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.
LAZUR OŠETŘENÝ	1D	Makovice	0,018	0,000	Stonek	0,011	0,004
	2B	Makovice	0,008	0,001	Stonek	0,010	0,001
	3D	Makovice	0,021	0,001	Stonek	0,026	0,004
	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.
LAZUR NEOŠETŘENÝ	1B	Makovice	0,009	0,001	Stonek	0,009	0,001
	2D	Makovice	0,008	0,000	Stonek	0,006	0,006
	3B	Makovice	0,015	0,002	Stonek	0,008	0,008

Tabulka 21: Vypočítaný procentuální obsah papaverinu ve vzorcích odrůdy Lazur

	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
LAZUR OŠETŘENÝ	1D	Makovice	0,02	0,01	Stonek	0,00	0,00
	2B	Makovice	0,01	0,01	Stonek	0,00	0,00
	3D	Makovice	0,02	0,00	Stonek	0,01	0,00
	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
LAZUR NEOŠETŘENÝ	1B	Makovice	0,01	0,00	Stonek	0,00	0,00
	2D	Makovice	0,01	0,00	Stonek	0,00	0,00
	3B	Makovice	0,02	0,01	Stonek	0,00	0,00

Tabulka 22: Souhrnný přehled průměrných hodnot obsahu papaverinu

			Makovice	Stonek
PAPAVERIN	ORBIS	OŠETŘENÝ	0,00%±0,00	0,00%±0,00
		NEOŠETŘENÝ	0,00%±0,00	0,00%±0,00
	LAZUR	OŠETŘENÝ	0,01%±0,01	0,00%±0,00
		NEOŠETŘENÝ	0,01%±0,00	0,00%±0,00

5.4. Noskapin (Narkotin)

Tabulka 23: Naměřené koncentrace noskapinu ve vzorcích odrůdy Orbis

	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.
ORBIS OŠETŘENÝ	1A	Makovice	0,006	0,001	Stonek	0,005	0,000
	2C	Makovice	0,006	0,001	Stonek	0,006	0,001
	3A	Makovice	0,005	0,000	Stonek	0,006	0,002
	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.
ORBIS NEOŠETŘENÝ	1C	Makovice	0,004	0,000	Stonek	0,003	0,001
	2A	Makovice	0,005	0,000	Stonek	0,006	0,001
	3C	Makovice	0,005	0,001	Stonek	0,002	0,000

Tabulka 24: Vypočítaný procentuální obsah noskapinu ve vzorcích odrůdy Orbis

	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
ORBIS OŠETŘENÝ	1A	Makovice	0,0048	0,0002	Stonek	0,0011	0,0000
	2C	Makovice	0,0067	0,0022	Stonek	0,0009	0,0002
	3A	Makovice	0,0046	0,0001	Stonek	0,0009	0,0002
	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
ORBIS NEOŠETŘENÝ	1C	Makovice	0,0039	0,0003	Stonek	0,0007	0,0001
	2A	Makovice	0,0054	0,0005	Stonek	0,0012	0,0000
	3C	Makovice	0,0044	0,0012	Stonek	0,0005	0,0001

Tabulka 25: Naměřené koncentrace noskapinu ve vzorcích odrůdy Lazur

	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.
LAZUR OŠETŘENÝ	1D	Makovice	0,028	0,001	Stonek	0,026	0,009
	2B	Makovice	0,011	0,001	Stonek	0,009	0,001
	3D	Makovice	0,041	0,001	Stonek	0,055	0,011
	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.
LAZUR NEOŠETŘENÝ	1B	Makovice	0,055	0,004	Stonek	0,047	0,003
	2D	Makovice	0,041	0,001	Stonek	0,051	0,002
	3B	Makovice	0,065	0,007	Stonek	0,067	0,007

Tabulka 26: Vypočítaný procentuální obsah noskapinu ve vzorcích odrůdy Lazur

	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
LAZUR OŠETŘENÝ	1D	Makovice	0,0290	0,0060	Stonek	0,0053	0,0023
	2B	Makovice	0,0087	0,0015	Stonek	0,0022	0,0003
	3D	Makovice	0,0341	0,0007	Stonek	0,0149	0,0014
	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
LAZUR NEOŠETŘENÝ	1B	Makovice	0,0550	0,0032	Stonek	0,0134	0,0011
	2D	Makovice	0,0459	0,0036	Stonek	0,0108	0,0000
	3B	Makovice	0,0661	0,0128	Stonek	0,0205	0,0022

Tabulka 27: Souhrnný přehled průměrných hodnot obsahu noskapinu

			Makovice	Stonek
NARKOTIN	ORBIS	OŠETŘENÝ	0,0053%±0,0016	0,0010%±0,0002
		NEOŠETŘENÝ	0,0046%±0,0010	0,0008%±0,0003
	LAZUR	OŠETŘENÝ	0,0239%±0,0115	0,0075%±0,0056
		NEOŠETŘENÝ	0,0557%±0,0114	0,0149%±0,0043

5.5 Thebain

Tabulka 28: Naměřené koncentrace thebainu ve vzorcích odrůdy Orbis

	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.
ORBIS OŠETŘENÝ	1A	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	2C	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	3A	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.
ORBIS NEOŠETŘENÝ	1C	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	2A	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	3C	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD

Tabulka 29: Vypočítaný procentuální obsah thebainu ve vzorcích odrůdy Orbis

	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
ORBIS OŠETŘENÝ	1A	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	2C	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	3A	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
ORBIS NEOŠETŘENÝ	1C	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	2A	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	3C	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD

Tabulka 30: Naměřené koncentrace thebainu ve vzorcích odrůdy Lazur

	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.
LAZUR OŠETŘENÝ	1D	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	2B	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	3D	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	PARCELA	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.	MATERIÁL	mg/ml	SM. ODCH.
LAZUR NEOŠETŘENÝ	1B	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	2D	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	3B	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD

Tabulka 31: Vypočítaný procentuální obsah thebainu ve vzorcích odrůdy Lazur

	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
LAZUR OŠETŘENÝ	1D	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	2B	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	3D	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	PARCELA	MATERIÁL	%	SM. ODCH.	MATERIÁL	%	SM. ODCH.
LAZUR NEOŠETŘENÝ	1B	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	2D	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD
	3B	Makovice	< LOD	< LOD	Stonek	< LOD	< LOD

Tabulka 32: Souhrnný přehled průměrných hodnot obsahu thebainu

			Makovice	Stonek
THEBAIN	ORBIS	OŠETŘENÝ	0,00%	0,00%
		NEOŠETŘENÝ	0,00%	0,00%
	LAZUR	OŠETŘENÝ	0,00%	0,00%
		NEOŠETŘENÝ	0,00%	0,00%

6. DISKUSE

Česká republika patří dlouhodobě mezi největší producenty máku na světě. Přestože hlavním cílem české produkce je výnos semene, čím dál častěji se pěstitelé snaží zužitkovat i makovou slámu, pro její obsah alkaloidů, které nacházejí své využití v medicíně a farmacii. To se odráží nejen ve stále se zvyšující velikosti sklizňové plochy, od úpadku v roce 2011, ale také výběrem takových odrůd, které vykazují vyšší obsah alkaloidů a zároveň vyhovují českým spotřebitelům svými sensorickými vlastnostmi semene. (Cihlář, P., et al., 2017; Vašák, J., et al., 2001)

Při pěstování máku je zapotřebí dodržet několik základních specifik a podmínek, ty potom vedou k dobrému výnosu. Je potřeba zajistit vhodnou půdu, která bude máku vyhovovat, tzn. nebude spékavá, těžká, naopak bude dostatečně upravená, bohatá na živiny. (Kuchtová, P., et al., 2013) Při experimentu nebyl pozemek použitý pro vypěstování máku zcela ideální. Půda byla mírně spékavá, navíc před výsevem, ani během růstu máku nebyla nijak obohacena o živiny. To mohla být jedna z možných příčin, proč naměřené vzorky neobsahovaly takové množství alkaloidů, jako je u použitých odrůd uváděno v literatuře.

Rovněž množství vody působí máku potíže. Setí by mělo být prováděno tzv. na vodu. To znamená, že při vytváření secí rýhy by se půda neměla lepit, ale na povrchu půdy zůstává zřetelně vlhká stopa, oproti suchému povrchu půdy okolo. Při vzcházení porostu je mák na vodu nenáročný. Vystačí si s vysráženou vzdušnou vlhkostí. Větší nároky na vodu má mák během butonizace, kdy vytváří větší množství zelené hmoty. V období zrání je naopak voda nežádoucí, protože usychající rostlinná pletiva mohou být napadena houbami. (Kuchtová, P., et al., 2013) Dostatečná závlaha porostu byla zajištěna závlahovým systémem, kterým Zahrada léčivých rostlin disponuje. Během prodlužovacího růstu tedy fyziologické potřeby máku byly zohledněny, a závlaha odpovídající.

Počáteční růst rostlin máku je velmi pozvolný. Mladé rostliny proto nejsou schopny konkurovat rychle rostoucím plevelům. Při běžném polním pěstování je proto zapotřebí, aby byl pozemek nezaplevelený. Toho lze docílit dvěma základními způsoby. Konvenční zemědělství využívá aplikaci herbicidů. To má výhodu v tom, že lze ošetřit pohodlně a rychle velké pěstební plochy. Při ekologickém pěstování máku se využívá pletí plevelů. (Cihlář, P., et al., 2017; Kuchtová, P., et al., 2013)

V průběhu růstu sledovaného porostu bylo pravidelně prováděno ruční pletí. V počátečních fázích růstu přibližně dvakrát za měsíc, později jednou do měsíce, až do doby květu. Při prvním pletí byl také porost vyjednocen, a při každém pletí byla rovněž prokypřena půda okolo rostlin, pro zlepšení půdních podmínek, a lepší příjem vody. Rostliny tak netrpěly nedostatkem prostoru, ani nežádoucím vlivem konkurenčních plevelů.

V našich podmínkách bývá mák napadán celou řadou škůdců a onemocnění. Ukazuje se, že na výskyt těchto negativních vlivů mají podstatný vliv klimatické podmínky. Zatímco teplé a suché počasí vyhovuje hmyzím škůdcům, vlhko a mokro bývá příčinou zvýšeného napadení houbami, případně bakteriózám. (Kolařík, P., et al., 2017; Vašák, J. (Ed) et al., 2010)

V průběhu pěstování analyzovaných rostlin bylo pozorováno několik málo jedinců krytonosce kořenového, a to v prvních fázích růstu rostlin. Tito jedinci byli nalezeni během vyjednocování porostu, byli odstraněni, a v následujících dnech se další brouci neobjevovali, ani nebyl pozorován charakteristický žír. Jiní živočišní škůdci se v průběhu pěstování pokusného porostu nevyskytli.

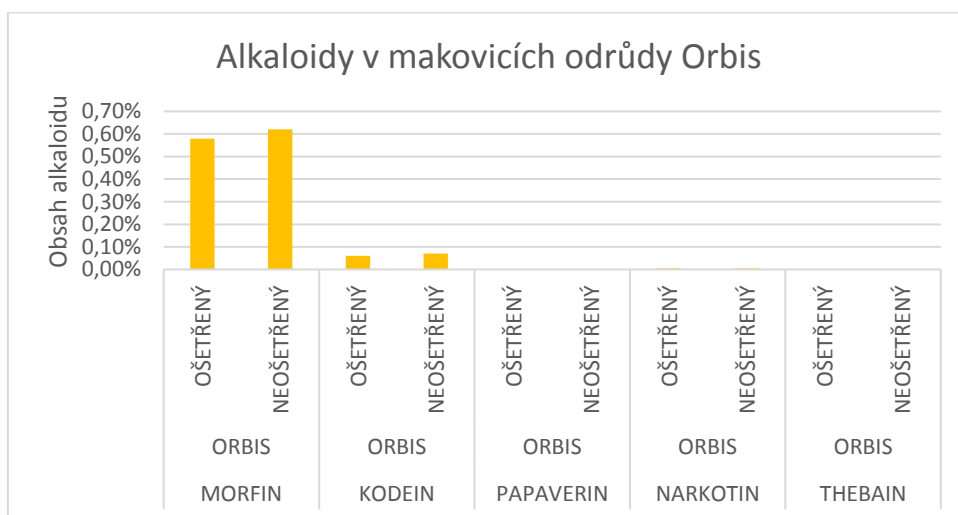
V případě houbových onemocnění byl výskyt patogenů téměř nulový. V době dozrávání několik málo rostlin vykazovalo mírné znaky napadení helmintosporiózou, ale takovýchto rostlin bylo tak málo, a jejich poškození natolik nevýznamné, že při vyhodnocování napadení by prakticky toto pozorování nehrálo žádnou roli. Tak nízký výskyt napadení houbami lze přisuzovat teplým a suchým klimatickým podmínkám, které nebyly pro rozvoj houbových onemocnění příhodné. K ochraně rostlin přispěl i dostatečně vzdušné uspořádání sledovaného porostu, díky čemuž se mezi rostlinami nehromadila přílišná vzdušná vlhkost.

Množství alkaloidních látek v máku je ovlivněno mnoha vlivy. Z tohoto pohledu se ukazuje být významným faktorem oblast pěstování máku, stejně tak, jako klimatické podmínky. Sledovaným alkaloidem, který určuje celkově kvalitu makoviny z tohoto pohledu je morfin. (Kuchtová, P., 2013) Velmi důležitý je výběr správných odrůd máku. Pro tuto práci byly vybrány dvě vysokomorfinové odrůdy, Orbis a Lazur. Zatímco odrůda Lazur by mohla dosahovat hodnot morfinu v makovině až přes 1 %, odrůda Orbis dosahuje jen hodnot okolo 0,7 %. (Vašák, J. (Ed) et al., 2010; Oseva.cz)

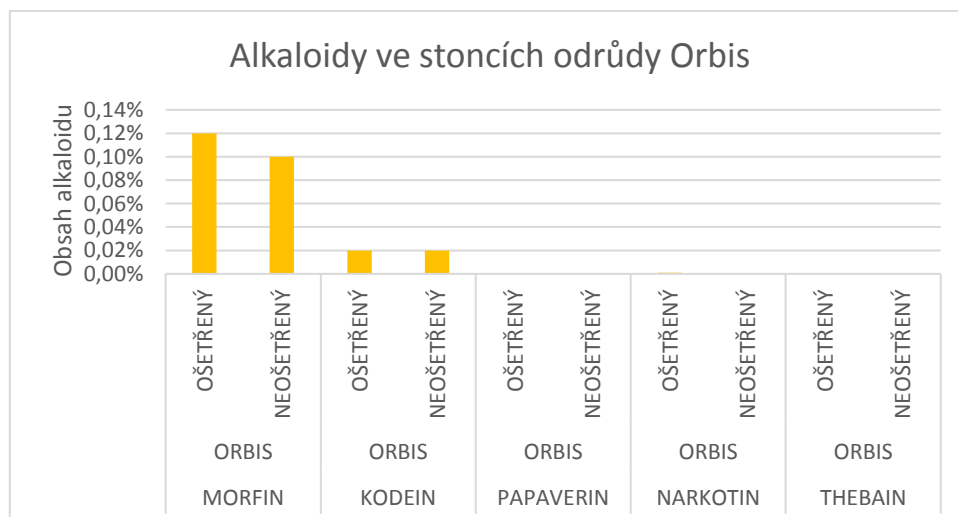
Dalším, neméně důležitým faktorem, který hraje podstatnou roli při produkci opiátů v máku je kondice rostliny. Ta může být ovlivněna již zmíněnými pěstebními podmínkami, anebo výše popsaným napadením patogeny.

Předmětem zájmu této práce bylo ověřit, jaký vliv bude mít biologická ochrana rostlin máku na jeho produkci opiových alkaloidů. Za tímto účelem byl použit přípravek Polyversum výrobce Biopreparáty spol. s r. o., jehož účinnou složkou je oomyceta *Pythium oligandrum*. Tento přípravek byl podle návodu aplikován v několika dávkách na vybrané parcely. První aplikace proběhla formou moření osiva, další dvě aplikace byly provedeny postřikem na rostliny. Při následné analýze byly sledovány hodnoty pěti hlavních alkaloidů, tedy morfinu, kodeinu, papaverinu, thebainu a noskapinu z ošetřených parcel. Hladiny opiátů byly srovnávány s hodnotami vzorků z parcel neošetřených.

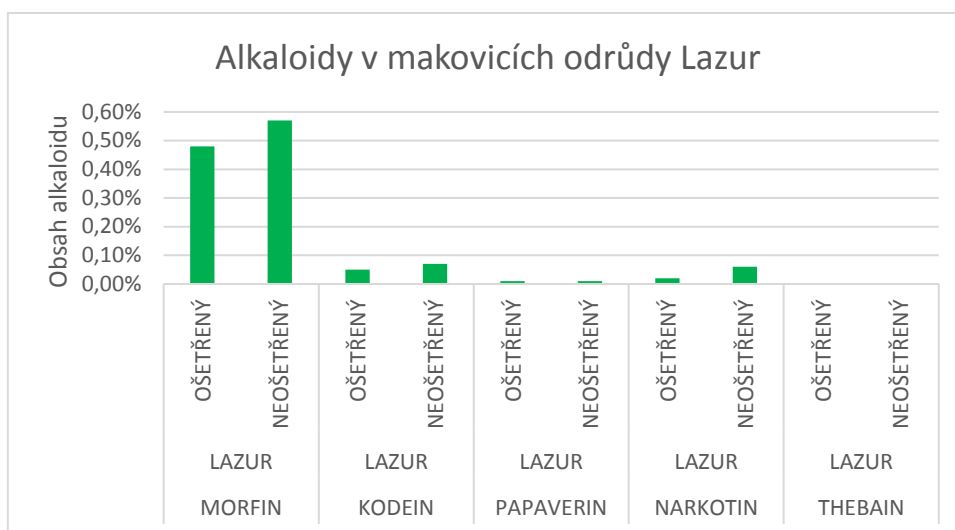
Obrázek 23: Graf naměřených obsahů alkaloidů v makovicích odrůdy Orbis, vycházející z tabulek z výsledkové části práce



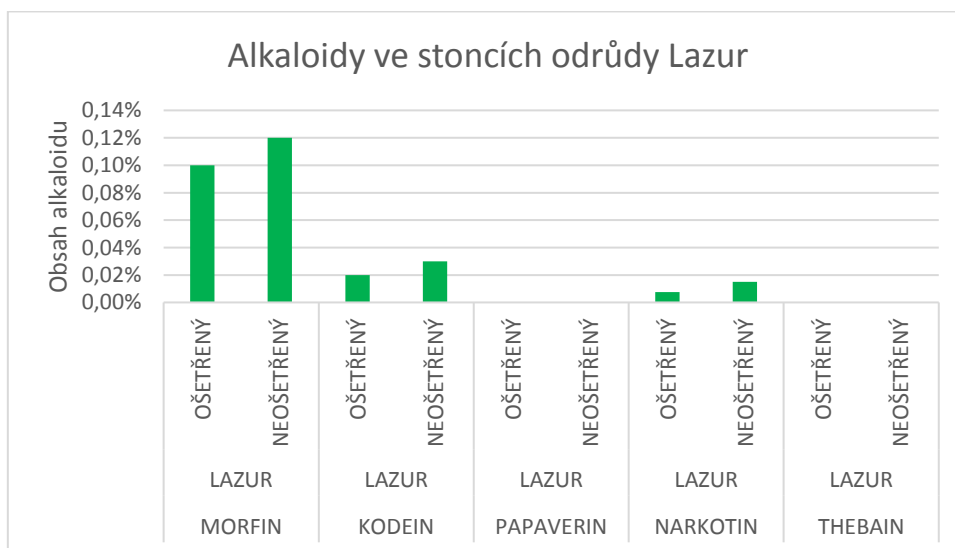
Obrázek 26: Graf naměřených obsahů alkaloidů ve stoncích odrůdy Orbis, vycházející z tabulek z výsledkové části práce



Obrázek 27: Graf naměřených obsahů alkaloidů v makovicích odrůdy Lazur, vycházející z tabulek z výsledkové části práce



Obrázek 28: Graf naměřených obsahů alkaloidů ve stoncích odrůdy Lazur, vycházející z tabulek z výsledkové části práce



Z grafů je zřejmé, že s výjimkou množství morfinu ve stoncích odrůdy Orbis, je ve všech případech množství všech alkaloidů vyšší u neošetřených rostlin, případně je jejich hladina stejná u obou variant.

Ani jedna z použitých odrůd nedosáhla garantovaných hodnot morfinu. V případě odrůdy Orbis, která by měla obsahovat až 0,7 % morfinu v makovině, bylo naměřeno nejvyšší množství v makovicích neošetřené varianty, a to 0,62 %. Odrůda Lazur, která by mohla přesahovat 1 % morfinu, dosahovala nejvyšších hodnot rovněž v neošetřené variantě, a to 0,57 %. (Vašák, J. (Ed) et al., 2010; Oseva.cz) Příčinou nižších hodnot morfinu, stejně jako

ostatních alkaloidů, mohla být nedostatečná předseťová úprava pozemku, kdy proběhla pouze povrchová orba, a dále skutečnost, že půda na zvoleném pozemku byla pro mák těžká. To vše vedlo k vytvoření nedostatečné kořenové soustavy, což mělo v konečném důsledku vliv na produkci alkaloidních látek. Další neopomenutelnou skutečností, která pravděpodobně ovlivnila negativně hladiny alkaloidů byl nedostatek živin v půdě, protože před založením porostu nebyl pozemek hnojen, a ani v průběhu růstu k žádnému přihnojování nedocházelo.

Zajímavým poznatkem byl i fakt, že při analýze nebyla zjištěna u žádného ze vzorků přítomnost thebainu. Tuto skutečnost lze vysvětlit tím, že thebain je prekurzorem morfinu a kodeinu. (Stranska, I., at al., 2013) Tyto dvě látky byly ve stanovovaných vzorcích nalezeny v největších množstvích. Díky příhodným klimatickým podmínkám při růstu rostlin je pravděpodobné, že thebain byl během biosyntézy zcela spotřebován a přeměněn na tyto dva alkaloidy.

Tato práce navazuje na pilotní práce Veroniky Cincibuchové a Lindy Röslerové, které se zabývaly větším počtem odrůd máku. V jejich případě rovněž nedošlo k maximální syntéze morfinu, a to právě díky vlivu počasí, které vedlo k rozvoji houbových onemocnění, a napadení a znehodnocení velké části zkoumaného porostu. Z jejich závěrů vyplývá, že biosyntéza alkaloidů se zastavila na thebainu, kterého naměřily ve svých vzorcích až v trojnásobném množství, než je běžné u daných odrůd, naopak množství morfinu a kodeinu bylo nižší. (Cincibuchová, V., 2013; Röslerová, L., 2013)

Veronika Cincibuchová ve své práci využití biologické ochrany máku oosporou *Pythium oligandrum* pro zvýšení množství alkaloidů nedoporučuje, a Linda Röslerová konstatuje, že benefit oproti neošetřeným rostlinám zaznamenala pouze u odrůdy Orfeus. Výsledky obou předchozích prací tak odpovídají pozorováním v tomto experimentu, kdy i v tomto případě byly naměřeny téměř ve všech případech vyšší hodnoty alkaloidů ve vzorcích z neošetřených parcel. (Cincibuchová, V., 2013; Röslerová, L., 2013)

7 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo zjistit vliv biologické ochrany, v tomto případě parazitické oomycety *Pythium oligandrum*, na produkci sekundárních metabolitů máku setého. Práce byla provedena na dvou odrůdách (Orbis a Lazur), a to ve dvou variantách, na ošetřených a neošetřených rostlinách. Práce probíhala na pozemku Zahrady léčivých rostlin při Farmaceutické fakultě v Hradci Králové, a fytoanalýza byla provedena na katedře botaniky Farmaceutické fakulty v Hradci Králové. Hodnoceny byly alkaloidy morfin, kodein, papaverin, thebain, a noskapin. Sledovány byly vždy dva samostatné vzorky makovic a dva samostatné vzorky stonků z jednoho pole, z nichž byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka.

Největší obsah ze sledovaných alkaloidů měl morfin, který dosahoval v průměru 0,5 %. Nejvyšší obsah morfinu byl zaznamenán u neošetřené varianty odrůdy Orbis, kde dosahoval hodnoty 0,62 % morfinu ve vzorku makovic.

Druhé největší zastoupení, byť již znatelně menší, měl kodein, který dosahoval shodně hodnoty 0,07 % v makovicích u obou odrůd v neošetřené variantě. U ošetřených rostlin byly hodnoty jen o málo nižší.

Papaverin byl nalezen pouze u odrůdy Lazur, kde dosahoval v makovicích shodně hodnoty 0,01 % u ošetřených i neošetřených rostlin. Odrůda Orbis sice obsahovala papaverin ve stoncích, ale v hodnotách pod mezí stanovitelnosti použité metody.

Největší množství noskapinu (narkotinu) bylo zjištěno v makovicích u neošetřené varianty odrůdy Lazur, kde jeho obsah dosáhl hodnoty 0,06 %. U odrůdy Orbis byl zjištěn obsah tohoto alkaloidu jen u makovic ošetřené varianty, a to v hodnotě 0,01 %.

Přítomnost thebainu nebyla prokázána ani u jednoho vzorku.

Jak z výsledků vyplývá, hladiny alkaloidů u ošetřených variant obou odrůd jsou stejné, anebo nižší, ve srovnání s variantami neošetřenými. Z tohoto hlediska se jeví ošetření máku biologickými přípravky nevhodné, za předpokladu, že cílem pěstování je zisk opiových alkaloidů. Teoretický přínos by tato forma ochrany mohla mít v případě, že by byl porost vystaven napadení houbovými chorobami. Kvůli klimatickým podmínkám, které nepřály rozvoji těchto patogenů, však tuto teorii nelze potvrdit, nebo vyvrátit. V průběhu pěstování sledovaného porostu nebyly napadeny houbami ošetřené, ani kontrolní neošetřené parcely.

8 LITERATURA

Agromanual.cz, Mšice maková, dostupné na

<https://www.agromanual.cz/cz/atlas/skudci/skudce/msice-makova>, staženo 16.10.2017

Agromanual.cz, Můra zelná, dostupné na

<https://www.agromanual.cz/cz/atlas/skudci/skudce/mura-zelna>, staženo 16.10.2017

Amirkia, V., Heinrich, M.: Alkaloids as drug leads – A predictive structural and biodiversity-based analysis, *Phytochemistry Letters*, 10, 48-53 (2014).

Balážová, A., Pšenák, M.: Tvorba morfinanov: Enzymový a molekulárno-biologický aspekt, *Chemické listy*, 92, 1006–1015 (1998).

Beaudoin, G. A., Facchini, P. J.: Benzylisoquinoline alkaloid biosynthesis in opium poppy, *Planta*, 240, 19-32 (2014).

Bechyně, M.: *Základy pěstování máku*, Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR, Praha 1993.

Biopreparáty 1,

http://www.biopreparaty.eu/index.php?option=com_content&view=article&id=24&Itemid=21, staženo 22.10.2017

Biopreparáty 2,

http://www.biopreparaty.eu/index.php?option=com_content&view=article&id=41:mechanismy-uinku-pythium-oligandrum&catid=4:faq&Itemid=25, staženo 22.10.2017

Biopreparáty 3,

http://www.biopreparaty.eu/index.php?option=com_content&view=article&id=135&Itemid=24, staženo 22.10.2017

Cihlář, P., Vašák, J.: Fungicidy v máku, *Agricultura – Scientia – Prosperitas – Intenzivní olejniny*, Praha, Sborník přednášek, 122–125, Praha, Česká zemědělská univerzita 2001.

Cihlář, P., Tomášek, J., Vašák, J.: Zakládání porostů máku – známé skutečnosti a možnosti podpory vzházení rostlin, *Agromanuál*, 2, 98-99 (2017).

Cincibuchová V.: Vliv agrotechniky a biologické ochrany rostlin na produkci sekundárních metabolitů *Papaver somniferum* L., *diplová práce*, Univerzita Karlova v Praze, Hradec Králové 2013

Český lékopis 2017, Ministerstvo zdravotnictví ČR, Grada Publishing, Praha 2017.

ČHMÚ1: <http://portal.chmi.cz/historicka-data/pocasi/uzemni-teploty#>, staženo 11.11.2017

ČHMÚ2: <http://portal.chmi.cz/historicka-data/pocasi/uzemni-srazky#>, staženo 11.11.2017

De Gregori S., De Gregori M., Ranzani G. N., Allegri M., Minella C., et al: Morphine metabolism, transport and brain disposition, *Metabolic brain disease*, 27, 1-5 (2012).

Dittbrenner, A., Mock, H.-P., Börner, A., Lohwasser, U.: Variability of alkaloid content in *Papaver somniferum* L., *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 82, 103-107 (2009).

Doležal, M., et al.: *Farmaceutická chemie léčiv působících na centrální nervový systém*, Karolinum, Praha 2014.

Doležal, M., et al.: *Farmaceutická chemie léčiv působících na autonomní nervový systém*, Karolinum, Praha 2011.

Dvorský, J., Urban, J.: *Základy ekologického zemědělství, podle nařízení Rady (ES) č.834/2007 a nařízení Komise (ES) č.889/2008 s příklady*, ÚKZÚZ Brno, Blansko 2014.

Ghirga, F., Bonamore, A., Calisti, L.: Green Routes for the Production of Enantiopure Benzyloisoquinoline Alkaloids, *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 2464 (2017)

Hájková, M., Kuchtová, P., Hajšlová, J.: Pěstitelské systémy u máku se zaměřením na kvalitu a bezpečnost ekologické a integrované produkce, Redakčně upravená zpráva za rok 2009, Česká zemědělská univerzita v Praze, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. 2009.

Havel, J.: Neobvyklá abiotická a biotická poškození máku, *Agromanuál*, 4, 82-85 (2016).

Honsová, H. a kol.: Osivo máku se stejnou klíčivostí může mít jinou vitalitu, *Úroda*, 2017, 1, dostupné na <http://uroda.cz/osivo-maku-se-stejnou-klicivosti-muze-mit-jinou-vitalitu/>, staženo 21.10.2017

<http://ceskymodrymak.cz/prijde-nekdy-ta-spravna-doba-makova/>, staženo 25.10.2017

<http://goldbook.iupac.org/A00220.html>, staženo 2.11.2017.

Chmelová, D., Ondrejovič, M., Havrlentová, M., et al.: Evaluation of polar polyphenols with antioxidant activities in *Papaver somniferum* L., *Journal of Food and Nutrition Research*, 57, 98–107 (2018)

Jahodář, L.: *Farmakobotanika, semenné rostliny*, Karolinum, Praha 2006.

Kadlec, T., Vašák, J.: Odrůdy máku a jejich výsledky, *Úroda*, 9, 23 (2001).

Kazda, J., Prokinová, E., Ryšánek, P.: *Škůdci a choroby rostlin, domácí rostlinolékař*, Euromedia Group, Praha 2007.

Kirkan, B., Ozer, M. S., Sarikurkcü, C., et al.: Can the stalks of *Papaver somniferum* L. be an alternative source of bioactive components?, *Industrial Crops and Products*, 115, 1-5 (2018)

Klimeš, J., et al.: *Kontrolně-analytické hodnocení léčiv lékopisnými metodami*, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Hradec Králové 2015.

Kolařík, P., Rotrekl, J.: Jak na krytonosce makovicového a bejlmorku makovou, *Agromanuál*, 6, 32-33 (2013).

Kolařík, P., Rotrekl, J., Kolaříková, K.: Jak na ochranu proti makovicovým škůdcům v roce 2017, *Agromanuál*, 5, 33-35 (2017).

Kreuter, M. L.: *Biologická ochrana rostlin*, Rebo Productions, Čestlice 2002.

Kubánek, V.: *Konopí a mák (pěstování, výroby, legislativa)*, Tribun EU, Brno 2009.

Kuchtová P.: Mák setý v ekologickém zemědělství, *Zemědělec*, 36, 31 (2012).

Kuchtová, P. a kol.: *Pěstitelská technologie máku pro ekologické zemědělství*, ČZU, Praha 2013.

Labanca, F., Ovesnà, J., Milella, L.: *Papaver somniferum* L. taxonomy, uses and new insight in poppy alkaloid pathways, *Phytochemistry Reviews*, 1-19 (2018).

McAlister, S., Ou, Y., Neff, E., et al: The Environmental footprint of morphine: a life cycle assessment from opium poppy farming to the packaged drug, *BMJ Open*, 6, (2016).

Mistry, P.: *History of Pain: The Growth and the Impact of Opium in Pain Management*, The University of Arizona, College of Medicine – Phoenix, 2018.

Nařízení Rady (ES) 834/2007 o ekologické produkci a označování ekologických produktů a o zrušení nařízení (EHS) č. 2092/91, ve znění pozdějších předpisů, 2017.

Novinky.cz, <https://www.novinky.cz/ekonomika/409670-v-cesku-roste-nejvic-maku-za-sest-let-jsme-svetovou-spickou.html>, staženo 25.10.2017.

Nutridatabaze.cz, <http://www.nutridatabaze.cz/potravinny/?id=83#tab-2>, staženo 25.10.2017

Opletal, L., Chlebek, J., Cahlíková, L., Macáková, K.: Isochinolinové alkaloidy: 200 let zkušeností, *Sborník 38. konference „Syntéza a analýza léčiv“*, 2009, s. 37.

Ort, P.: Prosaro 250 EC – Nové řešení fungicidní ochrany máku, *Sborník z konference „Prosperující olejniny“*, 10.-11.12. 2008, s. 154 – 157.

Oseva.cz, <http://www.oseva.cz/new/?d=odrudy&p=mak>, staženo 4.12.2017

Petr, J.: Mšice jako užitkový hmyz: Dojné krávy mravenců, *100+1 zahraniční zajímavost*, 2016, dostupné z <http://www.stoplusjednicka.cz/msice-jako-uzitkovy-hmyz-dojne-kravy-mravencu>, staženo 16.10.2017.

Petrželová, L.: Vývoj pěstování máku setého (*Papaver somniferum*, L.) na území České republiky, Bakalářská práce, Mendelova univerzita v Brně, 2015, dostupné na https://theses.cz/id/91y9t8/zaverecna_prace.pdf, staženo 7.11.2017.

Picard, K., Tirill, Y., Benhamou, N.: Cytological effects of cellulases in the parasitism of *Phytophthora parasitica* by *Pythium oligandrum*, *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 4305–4314 (2000)

Prokinová, E., Kazda, J.: Choroby a škůdci máku, 2001, dostupné na <http://uroda.cz/choroby-a-skudci-maku/>, staženo 11.10.2017.

Rida, P.C., LiVecche, D., Ogden, A., et al.: The noscapine chronicle: A pharmaco-historic biography of the opiate alkaloid family and its clinical applications, *Medicinal research reviews*, 35, 1072-1096 (2015).

Rod, J., Hluchý, M., Zavadil, K., Prášil, J., a kol.: *Obrazový atlas chorob a škůdců zeleniny střední Evropy: Ochrana zeleniny v integrované produkci včetně prostředků biologické ochrany rostlin*, Biocont Laboratory ve spolupráci se Semo Smržice, Brno 2005.

Röslerová, L.: Vliv agrotechniky a biologické ochrany rostlin na produkci sekundárních metabolitů *Papaver somniferum* L., *diplomová práce*, Univerzita Karlova v Praze, Hradec Králové 2013.

Rotrekl, J.: Krytonosec kořenový (*Stenocarus ruficornis*) na máku a možnosti ochrany, Výzkumný ústav pícninářský, 8 s., dostupné z http://www.vupt.cz/content/files/pub_06/rot_06_10.pdf, staženo 14.10.2017

Rotrekl, J.: Ochrana máku setého (*Papaver somniferum* L.) před některými hmyzími škůdci, Výzkumný ústav pícninářský, 2008, 14 s., dostupné na <http://docplayer.cz/25907864-Ochrana-maku-seteho-papaver-somniferum-l-pred-nekterymi-hmyzimi-skudci.html>, staženo 16.10.2017.

Schiff Jr., P. L.: Opium and Its Alkaloids, *American Association of Colleges of Pharmacy*, 2, 186-194 (2002).

Stranska, I., Skalicky, M.: Analysis of selected poppy (*Papaver somniferum* L.) cultivars: Pharmaceutically important alkaloids, *Industrial Crops and Products*, 41, 120-126 (2013).

ÚKZÚZ, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, http://eagri.cz/public/web/file/297072/Olejniny_2014.pdf, staženo 14.10.2017

Urban, J., Šarapatka, B. et al.: *Ekologické zemědělství, učebnice pro školy i praxi, I. díl, Základy ekologického zemědělství, agroenvironmentální aspekty a pěstování rostlin*, Ministerstvo životního prostředí, Praha 2003.

Vašák, J. (Ed) et al.: *Mák*, Powerprint, Praha 2010.

Vašák, J., Kosek, Z., Cihlář, P.: Český mák a jeho perspektivy, *Sborník „Řepka, Mák, Hořčice“*, 2003, s. 128-133.

Vašák, J., Kosek, Z.: Mák ve struktuře rostlinné výroby, Česká zemědělská univerzita v Praze a Sdružení český mák Praha, 2001, dostupné na <http://uroda.cz/mak-ve-strukture-rostlinne-vyroby/>, staženo 2.12.2017

Vlažný, P., Cihlář, P., Vašák, J.: Vliv termínu aplikace insekticidu na poškození kořenů jarního máku (*Papaver somniferum* L.) larvami krytonosce kořenového (*Stenocarus ruficornis*), *Sborník z konference „Prosperující olejniny“*, 9. - 10. 12. 2010, s. 86-88.

Weid, M., Ziegler, J., Kuchta, M.: The roles of latex and the vascular bundle in morphine biosynthesis in the opium poppy, *Papaver somniferum*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *101*, 13957-13962 (2004).

Wink, M.: Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective, *Phytochemistry*, *64*, 3-19 (2003).

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

Zdroje obrázků:

Obrázek č. 9: Šedá plísňovitost:

<https://www.agromanual.cz/cz/atlas/choroby/choroba/plisen-seda-mak>, staženo 5.11.2017

Obrázek č. 10: Bílá hniloba máku:

<https://www.agromanual.cz/cz/atlas/choroby/choroba/hlizenka-obecna-na-maku-sklerotiniova-hniloba-maku>, staženo 5.11.2017

Obrázek č. 11: Plíseň maková:

<https://www.agromanual.cz/cz/atlas/choroby/choroba/plisen-makova>, staženo 5.11.2017

Obrázek č. 12: Helmintosporióza:

<https://www.agromanual.cz/cz/atlas/choroby/choroba/helmintosporioza-maku>, staženo 5.11.2017

Obrázek č. 13: Bakterióza máku:

<https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/neobvykla-abioticka-a-bioticka-poskozeni-maku>, staženo 5.11.2017

Obrázek č. 14: Klopůška dvojtečná:

<https://www.biolib.cz/cz/taxonimage/id71141/?taxonid=72600>, staženo 5.11.2017

Obrázek č. 15: Krytonosec kořenový:

<https://www.biolib.cz/cz/taxonimage/id140693/?taxonid=13692>, staženo 5.11.2017

Obrázek č. 16: Housenka můry zelné:

http://www.lepiforum.de/webbbs/images/f1_2007/pic33317.jpg, staženo 5.11.2017

Obrázek č. 17: Krytonosec makovicový:

<https://www.biolib.cz/cz/taxonimage/id104830/?taxonid=13623>, staženo 5.11.2017

Obrázek č. 18: Oospory *Pythium oligandrum*: [http://www.technopark-](http://www.technopark-kralupy.cz/mikrobiologie#/images/0!0/uzel/0027955/MzRS8M8vLsgvqlQlqCzJyCzNVcjPyUxPzEspKs0FAA.jpg)

[kralupy.cz/mikrobiologie#/images/0!0/uzel/0027955/MzRS8M8vLsgvqlQlqCzJyCzNVcjPyUxPzEspKs0FAA.jpg](http://www.technopark-kralupy.cz/mikrobiologie#/images/0!0/uzel/0027955/MzRS8M8vLsgvqlQlqCzJyCzNVcjPyUxPzEspKs0FAA.jpg), staženo 1.11.2017

Obrázek č. 19: Letecký snímek rozvržení parcel:

<https://www.google.cz/maps/@50.20358,15.8394677,144m/data=!3m1!1e3?hl=cs>, staženo 1.11.2017

ABSTRAKT

Kaman, P.: Vliv biologické ochrany rostlin na produkci sekundárních metabolitů *Papaver somniferum* III. Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické botaniky, Hradec Králové 2018, 77 s.

Práce si kladla za úkol ověřit vliv biologické ochrany na produkci opiových alkaloidů máku setého (*Papaver somniferum*, L.). Za tímto účelem byl vybrán biofungicidní přípravek Polyversum, jehož účinnou složkou je oomyceta *Pythium oligandrum*. Zkoušenými odrůdami máku byly vysokomorfinové odrůdy Orbis a Lazur. Z jednotlivých vzorků byly připraveny extrakty, které byly podrobeny analýze metodou HPLC. Sledovanými alkaloidy byly morfin, kodein, papaverin, noskapin a thebain. Průměrný obsah morfinu se pohyboval okolo 0,5 %. Největší množství 0,62 % bylo naměřeno v makovicích neošetřené varianty odrůdy Orbis. Kodein u obou odrůd dosahoval v průměru 0,07 % v makovicích u neošetřených variant. Ošetřené rostliny dosahovaly o málo nižších hodnot. Průměrný obsah papaverinu se pohyboval okolo 0,01 % v ošetřené i neošetřené variantě, ale pouze v makovicích odrůdy Lazur. Vyšší obsah noskapinu byl naměřen u makovic odrůdy Lazur, kde dosahoval v průměru 0,06 %. U odrůdy Orbis se obsah pohyboval pouze okolo 0,01 %. Obsah alkaloidů byl ve stoncích vždy nižší než v makovicích. Přítomnost thebainu nebyla prokázána ani u jednoho vzorku. Ukázalo se, že u obou odrůd měly stejný, anebo vyšší obsah alkaloidů neošetřené parcely. Z toho důvodu nelze biologickou ochranu ve formě oomycet *Pythium oligandrum* doporučit pro zvýšení výnosu alkaloidů. Během pokusu nebyl porost napaden houbovými onemocněními, proto nebylo možné ověřit vliv *Pythium oligandrum* na ochranu máku proti houbovým patogenům.

Klíčová slova: *Papaver somniferum* L., alkaloidy, biologická ochrana, *Pythium oligandrum*, HPLC.

ABSTRACT

Kaman, P.: Influence of plant biological protection on production of secondary metabolites of *Papaver somniferum* III. Diploma thesis. Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Pharmaceutical Botany, Hradec Králové, 2018, 77 pp.

Diploma thesis was aimed to verify the impact of biological protection on the production of alkaloids of the opium poppy (*Papaver somniferum*, L.). Polyversum biofungicide was selected for this purpose, the active ingredient of which is oomycete *Pythium oligandrum*. The poppy tested were Orbis and Lazur high-morphine varieties. Extracts were prepared from the individual samples which were analyzed by HPLC. The following alkaloids were morphine, codeine, papaverine, noscapine and thebain. The average morphine content was around 0,5 %. The largest amount of 0,62 % was found in the poppyhead of untreated variant of the Orbis variety. Codeine for both varieties averaged 0,07 % in the poppyhead of untreated variant. Treated plants reached slightly lower values. The average papaverine content was around 0,01 % in the treated and also untreated variant, but only in poppyhead of the Lazur variety. Higher noscapine content was measured in the Lazur poppyheads, averaging 0,06 %. The content was only around 0,01 % for Orbis variety. The alkaloid content was always lower in the stem samples, than in the poppyhead samples. The presence of thebain was not proven in any sample. It also turned out that both varieties had the same or higher alkaloid content of untreated parcels. Therefore, biological protection in the form of oomycete *Pythium oligandrum* can not be recommended to increase the yield of alkaloids. The growth was not infected with fungal diseases during the experiment, so it was not possible to verify the effect of *Pythium oligandrum* and its protection of poppy against fungal pathogens.

Keywords: *Papaver somniferum* L., alkaloids, biological protection, *Pythium oligandrum*, HPLC.