

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B4131 Zemědělství

Studijní obor: Zemědělské biotechnologie

Katedra: Katedra rostlinné výroby a agroekologie

Vedoucí katedry: prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Hodnocení chemického složení hlíz topinamburu z podzimní a jarní sklizně

Autor bakalářské práce: Anna Brabcová

Vedoucí bakalářské práce: doc. Ing. Jan Bárta, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: Ing. Adéla Brabcová

České Budějovice 2014

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Fakulta zemědělská
Akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Anna BRABCOVÁ**
Osobní číslo: **Z11335**
Studijní program: **B4131 Zemědělství**
Studijní obor: **Zemědělské biotechnologie**
Název tématu: **Hodnocení chemického složení hlíz topinamburu z podzimní a jarní sklizně**
Zadávající katedra: **Katedra rostlinné výroby a agroekologie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Bakalářská práce (BP) se bude zabývat hodnocením chemického složení hlíz u vybraného souboru genotypu topinamburu hlíznatého (*Helianthus tuberosus*L.). Vlastní řešení se bude skládat ze dvou částí.

První částí bude vypracování literárního přehledu z dostupných literárních a ostatních informačních zdrojů ohledně chemického složení hlíz topinamburu a efektů, které jej ovlivňují. Také bude míněn současný pohled na využití hlíz topinamburu a případné požadavky na chemické složení hlíz.


Druhou částí řešení BP bude experimentální hodnocení chemického složení hlíz souboru 5-8 genotypů z podzimní (po zmrznutí nadzemní hmoty rostlin) a jarní (těsně před začátkem vegetace) sklizně. Sklizené hlízy budou omyty, zváženy a budou vysušeny pomocí lyofilizace se stanovením obsahu sušiny. V suché hmotě pak bude stanoven obsah inulinu, obsah N látek a obsah bílkovin. Taktéž bude provedena analýza bílkovinného profilu pomocí metody SDS-PAGE eventuálně pomocí čipové elektroforesy a budou hledány případně změny napříč genotypy a termínem sklizně. Dosažené výsledky budou zpracovány do podoby tabulek a grafů či obrázků a budou taktéž statisticky vyhodnoceny.

Součástí práce bude diskuse dosažených výsledků s dostupnými výsledky z jiných prací a budou navrženy nosné body pro další výzkum v této oblasti. BP bude mít obvyklé formální členění sestávající z následujících částí: úvod, literární přehled, cíl práce, materiál a metody (metodika), výsledky, diskuse, závěr a seznam použitých literárních a informačních pramenů


Rozsah grafických prací: 5 - 10 stran
Rozsah pracovní zprávy: 30 - 40 stran
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná
Seznam odborné literatury:

Bárta J., Diviš J. (2008): Topinambur. In: Prugar J. et al. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský a.s., Praha, 327 p.
Bárta J., Bártová V. Diviš J., Peterka J. (2011): Topinambur hlíznatý. In: Moudrý J. et al. Alternativní plodiny. ProfiPress, Praha, 142 p.
Cabezas M. J., Robert C., Bravo S., Shene C. (2002): Inulin and sugar contents in Helianthus tuberosus and Cichorium intybus tubers: Effect of postharvest storage temperature. Journal of Food Science 67 (8): 2860-2865.
Seiler G. J. (1990): Protein and mineral concentrations in tubers of selected genotypes of wild and cultivated Jerusalem-artichoke (Helianthus tuberosus, Asteraceae). Economic Botany 44 (3): 322-335.

Vedoucí bakalářské práce: doc. Ing. Jan Bárta, Ph.D.
Katedra rostlinné výroby a agroekologie
Konzultant bakalářské práce: Ing. Adéla Brabcová
Katedra rostlinné výroby a agroekologie
Datum zadání bakalářské práce: 27. března 2013
Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2014


prof. Ing. Miroslav Soch, C.Sc.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13
370 05 České Budějovice


prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 27. března 2013

Prohlášení

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

V Českých Budějovicích dne

Podpis

Poděkování

Velice bych chtěla poděkovat svému vedoucímu bakalářské práce panu doc. Ing. Janu Bártovi, Ph.D. za odborné vedení a cenné připomínky v průběhu jejího řešení.

Dále bych poděkovala paní Ing. Adéle Brabcové za velkou pomoc při práci v laboratoři. Moje veliké dík patří i mojí rodině, přítelovi a kamarádům za jejich obrovskou podporu.

Abstrakt

Práce se zabývá zhodnocením chemického složení hlíz topinamburu u vybraného souboru 8 klonů (Lola, Refla, Gigant, Běloslupký, Úrodný, Völkenroder Spindel, C 63, Karina). Vzhledem k možnosti přezimování hlíz v půdě, byly analyzovány hlízy genotypů z podzimní (po zmrznutí nadzemní hmoty rostlin) a následně jarní sklizně (před samotným klíčením hlíz) a byly hledány případné změny způsobené vlivem přezimování. V hlízách všech genotypů byl analyzován obsah sušiny, obsah bílkovin, obsah dusíkatých látek a množství bezdusíkatých látek. Dále byla provedena analýza bílkovinného profilu pomocí metody SDS-PAGE. Nejvyšší obsah sušiny byl stanoven v hlízách klonu Gigant (29,1%), nejnižší obsah v hlízách klonu Lola (19,9%). Vlivem přezimování se snížil obsah sušiny, dusíkatých látek, bílkovin i bezdusíkatých látek v hlízách většiny klonů.

Klíčová slova: topinambur hlíznatý, klon, jarní a podzimní sklizeň, hlízy, chemické složení

Abstract

This bachelor's thesis deals with the evaluation of the chemical composition of tubers of Jerusalem artichoke for the selected set of 8 clones (Lola, Refla, Gigant, Běloslupký, Úrodný, Völkenroder Spindel, C 63, Karina). Due to the possibility of overwintering tubers in the soil, the tubers were analyzed genotypes of autumn (when dry above-ground plant matter) and then spring harvest (before the germination of tubers) were searched and any changes due to the influence of the winter. The tubers of all genotypes were analyzed for dry matter, protein content, crude protein content and the amount of nitrogen-free substances. Further, an analysis of protein profile by SDS-PAGE method. The highest dry matter content has been determined in tubers clone Gigant (29.1%) and the lowest dry matter content has been determined in tubers clone Lola (19.9%). Due to wintering have been decreased dry matter, crude protein, protein and nitrogen-free substances in the tubers of most the clones.

Key word: Jerusalem artichoke, clone, spring and autumn harvest, tubers, chemical composition

Obsah:

1. Úvod.....	8
2. Literární rešerše	9
2.1 Historie pěstování a původ topinamburu.....	9
2.2 Botanická charakteristika a taxonomie.....	9
2.2.1 Růstový cyklus topinamburu.....	10
2.2.2 Technologie pěstování	10
2.2.2.1 Technologický postup v rámci jednoletého pěstování.....	11
2.2.2.2 Technologický postup v rámci víceletého pěstování.....	13
2.2.2.3 Skladování hlíz	13
2.2.3 Morfologie oddenků a hlíz.....	14
2.3 Chemické složení hlíz	15
2.3.1 Sacharidy.....	17
2.3.1.1 Inulin.....	18
2.3.1.1.1 Struktura inulinu.....	18
2.3.1.1.2 Biosyntéza inulinu	19
2.3.1.1.3 Teplotní stabilita inulinu.....	22
2.3.1.2 Pektinové látky	22
2.3.2 Proteiny	22
2.3.3 Vitaminy a minerální látky.....	23
2.3.4 Organické kyseliny.....	23
2.4 Faktory působící na obsah a kvalitu složek v hlízách	23
2.4.1 Typ odrůdy a její vliv	23
2.4.2 Zralost hlíz	24
2.4.3 Způsob skladování hlíz	25
2.4.3.1 Vliv teploty při skladování	26
2.4.4 Přezimování hlíz v půdě.....	26
2.5 Využití hlíz topinamburu.....	27
2.5.1 Potravinářské využití hlíz.....	27
2.5.1.1 Produkce fruktózového sirupu.....	28
2.5.2 Krmivářské využití.....	28
2.5.3 Průmyslové využití	28
2.5.3.1 Produkce etanolu z hlíz.....	28

2.5.3.2	Hlízy jako substrát ve výrobě bioplynu	29
3.	Cíle práce	30
4.	Materiál a metody	31
4.1	Hlízový materiál	31
4.2	Příprava vzorků	33
4.2.1	Lyofilizace.....	33
4.2.1.1	Homogenizace vzorků	33
4.3	Stanovení obsahu dusíkatých látek v sušině hlíz topinamburu	33
4.4	Stanovení obsahu bílkovin v sušině topinambur	34
4.4.1	Příprava a extrakce vzorků.....	34
4.4.2	Sestrojení kalibrační křivky	34
4.4.3	Absorbance vzorků a stanovení koncentrace bílkovin.....	35
4.5	Elektroforetická analýza SDS-PAGE.....	36
4.5.1	Extrakce a příprava vzorků pro SDS-PAGE.....	36
4.5.2	Příprava gelu pro SDS-PAGE.....	36
4.5.3	Průběh SDS-PAGE	36
4.5.4	Vyhodnocení gelů	37
4.5.5	Statistické vyhodnocení výsledků	37
5.	Výsledky	38
5.1	Průměrná hmotnost hlízy.....	38
5.2	Obsah sušiny v hlízách	39
5.3	Obsah bílkovin v hlízách	41
5.4	Obsah dusíkatých látek v hlízách	43
5.5	Obsah bezdusíkatých látek v hlízách.....	44
5.6	Korelace mezi parametry.....	46
5.7	Vyhodnocení proteinového profilu pomocí SDS-PAGE	47
6.	Diskuze	52
7.	Závěr	56
8.	Seznam použité literatury	58
9.	Přílohy.....	64

1. Úvod

Topinambur hlíznatý (*Helianthus tuberosus* L.) je víceletá bylina z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*). Z botanického hlediska je tedy příbuzná známé slunečnici roční, konkrétně se jedná o její hlíznatou formu. Z hlediska nároků na podmínky prostředí je velmi skromnou a přizpůsobivou rostlinou. Je zcela adaptována na naše klimatické podmínky.

Tato netradiční plodina má mnoho využití. Zásobním biopolymerem v hlízách topinamburu není škrob, jako je tomu u brambor, ale polysacharid inulin. Právě díky obsahu inulinu v hlízách je topinambur považován za nízkoenergetickou dietní potravinu s řadou příznivých účinků na lidské zdraví.

Své upotřebení nacházejí hlízy i v krmivářském odvětví, lze jimi přikrmovat hospodářská zvířata i lesní zvěř.

Vzhledem k vysoké produkci biomasy je topinambur považován za plodinu s energetickým využitím. Příkladem je produkce bioetanolu, bioplynu, či využití celé nadzemní hmoty pro spalování.

Z hlediska pěstitelské technologie mají topinambury charakter okopaniny a jejich pěstování se velice podobá pěstování brambor. Hlízy topinamburu jsou mrazuvzdorné a díky tomu lze zvolit i jarní termín jejich sklizně (Hamouz, Lachman 2010).

Cílem práce je vyhodnotit vliv klonu a odlišného termínu sklizně (podzimní a jarní sklizeň) na vybrané parametry chemického složení hlíz topinamburu.

2. Literární rešerše

2.1 Historie pěstování a původ topinamburu

Topinambury mají svůj původ v Mexiku, kde se vyskytoval kmen *Topinambus*, od něhož byl převzat název pro topinambur. Z této oblasti se topinambury rozšířily do severní části amerického kontinentu. V Evropě se topinambury vyskytly až po objevení amerického kontinentu a to v roce 1605. Přivezl je sem Samuel de Champlain (Martin *et al.* 2002; Hamouz, Lachman 2010).

Nejstarší zmínky o pěstování topinamburu v Evropě přichází z Francie. Pokusy pěstování topinamburu v České republice, probíhaly v 60. letech minulého století na Třeboňsku, na místech kde, se nedařilo bramborám. V roce 1993 se topinambury pěstovaly na Lounsku (50ha) pro výrobu přírodního sladidla Vivahelp. (Hamouz, Lachman 2010)

2.2 Botanická charakteristika a taxonomie

Topinambur hlíznatý (*Helianthus tuberosus* L., angl. Jerusalem artichoke) je vytrvalá rostlina z čeledi hvězdnicovité (*Asteraceae*). Ačkoli je často označována jako “divoká slunečnice“ (angl. wild sunflowers), od ostatních druhů z rodu *Helianthus* se liší tím, že vytváří vytrvalé, podzemní, masité hlízy (Stauffer *et al.* 1980).

Hlavní sklizňový produkt, oddenkové hlízy, se vytváří na krátkých výběžcích pod zemí. Topinambur má mnoho žádoucích vlastností. Je tolerantní, dobře se vyrovnává se stresovými abiotickými faktory, jako je sucho, chlad, nebo vítr (Chi *et al.*, 2011).

Mohutným kořenovým systémem dokáže získávat živiny a vláhu z větších hloubek i z těžko přístupných vazeb. Největší nároky na vláhu má v srpnu a v září, kdy se intenzivně vytváří hlízy. Dobře roste na lehkých i na těžkých půdách.

Rostlina dosahuje vysokého vzrůstu. Její lodyha se větví, či nevětví a na konci hlavních stonků nese malé žluté kvítky, které vytváří malá, tvrdá semena. Produkce semen je často chudá (Stauffer *et al.* 1980).

U nás kvete pozdě na podzim a semena většinou nedozrávají (Pulkrábek, 2006).

2.2.1 Růstový cyklus topinamburu

Rostlina obvykle klíčí na jaře a vyvíjí silné nadzemní struktury, často rozvětvené s více stonky. Následuje tvorba hlíz. V cyklu rostliny lze rozlišit několik hlavních fází.

- Klíčení - emergence
- Tvorba stolonů
- Zahájení tvorby hlíz
- Zahájení tvorby květů
- Plnění hlíz
- Kvetení
- Zralost (dospělost)

Délka růstového cyklu je různá v závislosti na odrůdě (varietě), pohybuje se mezi 100 dny až 9 měsíci (180 dní). Rostliny s krátkým růstovým cyklem nazýváme jako rané variety, ty vytváří květy v letním období. Pozdními odrůdami míníme rostliny s dlouhým vývojovým cyklem, tyto rostliny vytváří poupata, ale dále nekvetou (Denoroy, 1996).

Stolonizace, neboli tvorba stolonů, je období, kdy se vytváří první oddenky. Děje se tak brzy po vzejití (vyklíčení rostliny). Časové údaje o zahájení tvorby oddenků se v literatuře liší, kolísají mezi 10 dny až 2 měsíci. Tvorba stolonů probíhá i v době tuberizace (tvorby samotných hlíz), ovšem s menší intenzitou. Stávající výhony se spíše větví, nežli by se tvořily nové a na nich se formují hlízy.

Tvorba výhonů je nejspíše ovlivněná celkovým růstem rostliny a zdá se, že neovlivňuje konečný počet hlíz.

První hlízy vznikají mezi 5. a 13. týdnem po vzejití rostliny v závislosti na odrůdě (raná či pozdní) a vnějších podmínkách prostředí (Denoroy, 1996).

2.2.2 Technologie pěstování

Topinambury vynikají vysokou produkcí biomasy. V závislosti na intenzitě pěstování, kvalitě sadby, úrovni výživy a dalších faktorech, se produkce podzemní

biomasy (hlíz) pohybuje mezi 15 – 50 t/ha, produkce nadzemní biomasy mezi 25 – 100 t/ha (Kára *et al.* 2005).

Jedinou registrovanou odrůdou u nás po roce 1958 byla odrůda Běloslupké (Pulkrábek, 2006). Ve světě je zaregistrováno velké množství odrůd, které jsou rozdílné ve velikosti výnosu hlíz a nadzemní fytomasy. Lze jmenovat několik odrůd například: Bárdi, Bianca, Blanc Commun atd. (Kára *et al.* 2005).

Topinambur hlíznatý lze pěstovat dvěma způsoby:

1) intenzivně – v rámci střídání plodin v osevním postupu (jednoleté rostliny - jeden rok na stanovišti)

2) extenzivně – několik let po sobě (víceleté rostliny) mimo osevní postup (Pulkrábek, 2006)

V závislosti na využití pěstovaných topinambur je můžeme rozdělit do několika skupin. Sadbové topinambury používáme pro zajištění sadby a následné rozmnožování rostlin. Tyto rostliny mohou být jednoleté, či víceleté a jejich hlízy sklízíme na jaře.

Topinambury jsou rovněž pěstované pro potravinářské účely. Jakožto konzumní, pro produkci diavýrobků, nebo produkci výrobků racionální výživy. Tyto hlízy sklízíme na podzim - 10 dnů po zamrznutí nadzemní hmoty. V tomto období obsahují nejvíce kvalitního inulinu.

Dalším využitím natě a hlíz topinamburu je krmivářství. Ke krmivářským účelům lze využít jak natě rostlin, tak hlíz. Mohou se přikrmovat hospodářská zvířata, ale i lesní zvěř. V tomto případě lze sklízet nat' 1 – 2 ve vegetační sezóně a hlízy na jaře.

Nat' víceletých rostlin i hlízy mohou být využity pro energetické účely jako je výroba bioetanlu (Pulkrábek, 2006).

2.2.2.1 Technologický postup v rámci jednoletého pěstování

Na podzim po předplodině se provádí podmítka a ošetření půdy. V této době se aplikují organická hnojiva. Lze využít chlévský hnůj, kejdu skotu, či některá další organická hnojiva, jako jsou stabilizované kaly z čistíren vod, nebo digestát

z bioplynových stanic. Při využívání a aplikaci hnojiv je nutné postupovat v souladu s legislativou. Fosforečná a draselná hnojiva se aplikují těsně před podzimní hlubokou orbou a hnojení těmito hnojivy se řídí podle množství zásob těchto látek v půdě.

Jarní práce se zahajují v technologicky časném termínu, stejně jako u brambor. Pokud má půda vhodnou vlhkost startují první zásahy jako je smykování, vláčení společně v agregaci smyků a bran. Následně aplikovaný dusík je do půdy zapraven kypřením (Kasal *et al.* 2013).

Výsadba topinamburu se zahajuje co nejdříve, během března až dubna, při vhodných klimatických i půdních podmínkách. Lze využít sazečů brambor s nabíracím ústrojím vhodných pro tvarově odlišné hlízy topinambur na hloubku 120 – 140 mm. Pro produkci hlíz je vhodnější větší vzdálenost hlíz v řádku a to nejméně 0,35 m. Užší spon, 0,25m, se používá při pěstování pro produkci nadzemní hmoty (Kasal *et al.* 2013).

V pokusu, kde byl hodnocen vliv sponu, tj. vzdálenost hlíz v řádku a vzdálenost mezi jednotlivými řádky, byly zvoleny dva typy sponů: 0,35 x 0,75 [m], 0,70 x 0,75 [m]. Množství rostlin u menšího sponu bylo 38 095, u většího poloviční 19 047. Ve všech letech sledování výnos sponu s dvojnásobnou roztečí (poloviční počet rostlin na 1 ha) nedosáhl produkce menšího sponu, avšak v průměru všech let se ukázalo, že větší spon produkoval v průměru pouze o 19% méně hlíz. Uvedené výsledky v tabulce č. 1 byly získány při základní úrovni hnojení 100kg N/ha (Kasal *et al.* 2013).

Tabulka č. 1 - Produkce hlíz klonu Karina (t/ha). Přepočováno a upraveno podle Kasal *et al.* 2013

Spon výsadby [m]	2008	2009	2010	2011	2012	Průměr let
0,35 x 0,75	62,2	34,8	18,9	40,3	43,6	39,96
0,70 x 0,75	48,9	27,5	14,0	32,6	38,9	32,40

Sklizeň topinamburu na podzim je velice náročná. Hlízy společně s kořeny a zeminou jsou obtížně narušované a v celku prochází sklízecím ústrojím sklízečů brambor. V podzimní sklizni je proto nutný vysoký podíl ruční práce.

Na jaře je sklizeň jednodušší. Špatně rozrušitelné celky, zemina společně s kořeny a hlízami, jsou v průběhu zimy rozrušeny mrazem a práce sklízečů brambor je mnohem efektivnější a spolehlivější. Není nutné vynakládat další ruční práce (Kasal *et al.* 2013).

2.2.2.2 Technologický postup v rámci víceletého pěstování

Při víceletém pěstování topinamburu se využívá tzv. samoobnovy porostu, což znamená, že v druhém roce a následujících letech není třeba další výsadby hlíz. Tento způsob je optimální technologií. Existuje předpoklad, že minimálně po dobu pěti let porost poskytuje srovnatelný výnos hlíz s výnosem získaným při každoročním založení porostu.

Při zakládání porostu určeného k víceletému pěstování využíváme v prvním roce stejných postupů jako u jednoletého pěstování. V rámci víceletého pěstování je vhodnější sklízet hlízy na jaře a na místě vědomě ponechat určitou část hlíz určenou, pro obnovu porostu (Kasal *et al.* 2013).

2.2.2.3 Skladování hlíz

Dlouhodobější skladování v běžných podmínkách je nemožné. Pouze s možností regulace teploty a vlhkosti vzduchu lze hlízy uchovat po delší časové období. V důsledku teplot běžných ve sklepních prostorách topinambury hnijí a plesniví. Vhodná teplota pro dlouhodobější pěstování by neměla přesáhnout 0 – 2 °C.

Řešením problému se skladováním je ponechání hlíz na stanovišti přes zimu. V příhodných podmínkách lze sklídit množství brambor i v zimním období, nebo na začátku jara. Je tedy vhodné sklízet postupně takovou část, kterou lze zpracovat během následujících 2-4 týdnů (Hamouz, Lachman 2010).

Klíčky topinamburu jsou na rozdíl od klíčků bramboru, které obsahují solanin, zdravotně nezávadné (Pulkrábek, 2006).

2.2.3 Morfologie oddenků a hlíz

Oddenky – až 1,5 m dlouhé podzemní stonky jsou obvykle bílé a na koncích vytváří hlízy. Během růstu se oddenky větví a vytvářejí se oddenky druhého i třetího řádu. Toto větvení výrazně rozhoduje o množství hlíz, vytvořené jednou rostlinou. Pokud je růst oddenků a jejich větvení inhibováno může dojít k drastickému snížení výnosu. Příkladem je růst rostlin v jílovitých, velice utužených půdách, kde oddenky nemohou prostupovat hlouběji do půdy a hlízy tvoří pouze těsně pod povrchem.

Změny v délce a průměru oddenku můžeme pozorovat mezi divokými klony a klony určenými k pěstování. Divoké klony mají více delších oddenků (vyšší celkovou suchou hmotnost oddenků), než pěstované druhy (Kays, Nottingham 2007).

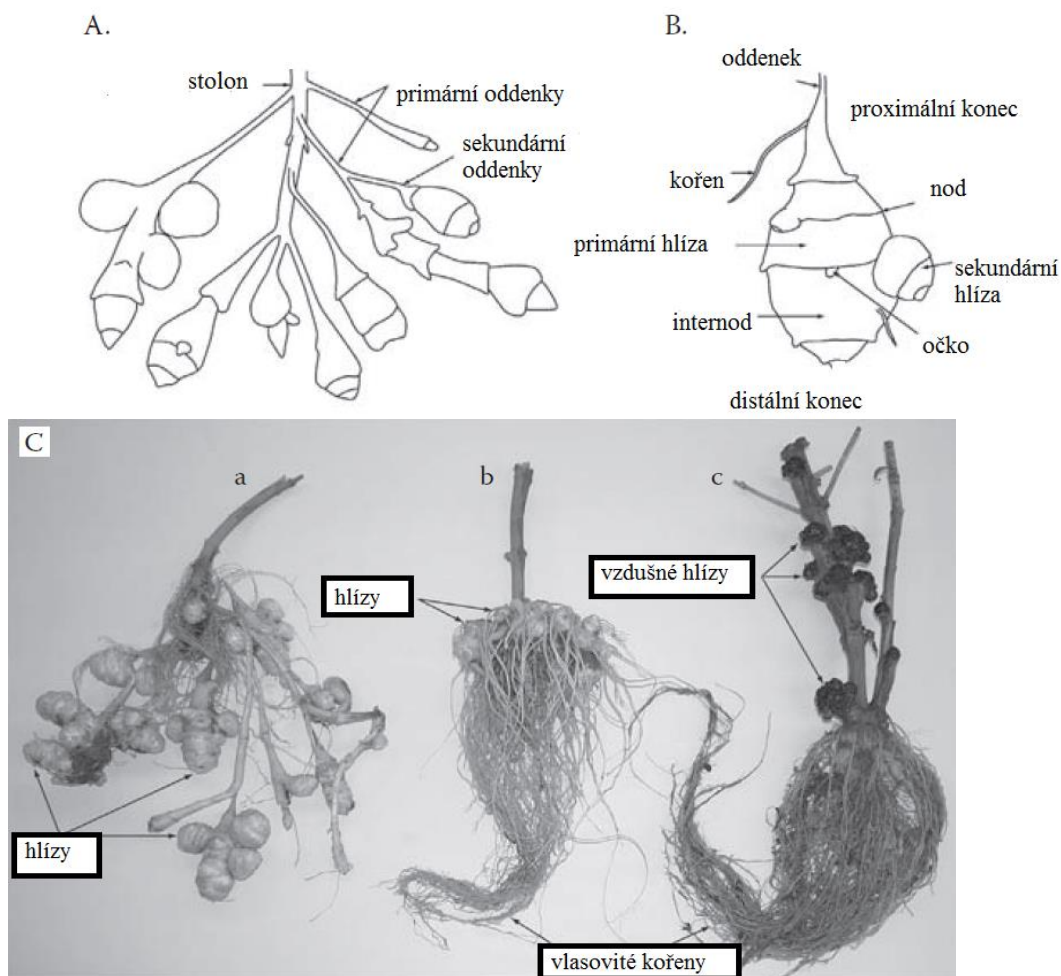
Hlízy u planě rostoucích rostlin jsou štíhlé, na koních rozšířené a běžně mají červenou barvu. Domestikované formy topinamburu vytváří hlízy silnější s často barevně odlišnou slupkou. Bílé, nažloutlé, či načervenalé hlízy mají kyjovitý, oválný nebo sférický tvar s četnými knoflíkovitými výběžky. U většiny odrůd průměr hlíz dosahuje 8 cm a délka hlíz 10 cm (Munro, Small 1997).

Spojení hlíz se stolony je poměrně pevné, na rozdíl od brambor (Hamouz, Lachman 2010).

Hlízy jsou křehké a jejich hmotnost dosahuje 20 – 140 g. Hektarový výnos plodiny se pohybuje okolo 5,4 tun (Li, Chan-halbrecht 2009).

Slupka hlíz topinamburu je mnohem tenčí než slupka brambor a navíc tyto hlízy nemají korovou vrstvu a tak dochází k jejich snadnému vysychání (Bárta, Diviš 2008; Hamouz, Lachman 2010).

Tvar, popis a změny v závislosti na fyzikálních podmínkách půdního prostředí jsou znázorněny na obrázku č. 1.



Obr. č. 1 – morfologie podzemních částí (Převzato a upraveno dle Kays, Nottingham 2007) A. – morfologie stolonu a oddenků, B. – morfologie hlízy C. – Vliv vlastností půdy na tvorbu oddenků a hlíz. Rostliny pěstované v kompaktním jílu s perlitem v poměru: a – (1:1), b – (3:1) c – 100% jíl.

2.3 Chemické složení hlíz

Rostliny topinamburu izolují uhlík ve specializovaných reprodukčních orgánech – oddenkových hlízách. Ty jsou zdrojem uhlíku pro rostlinu na počátku vegetační sezóny.

Nejznámějším zásobním biopolymerem je škrob - zdroj uhlíku, polymer glukózy, je nejrozšířenější zásobní látkou u rostlin. Skládá se z přímých řetězců amylozy a z postranních molekul amylopektinu. Poměr těchto složek je řízen geneticky (Kays, Nottingham 2007).

Inulin, zásobní polysacharid topinamburu, je řazen mezi glukofruktany (Bárta, Diviš 2008).

Jeho molekula je polymerem složeným z jednotek fruktózy. Jako zdroj je tento biopolymer, inulin, využívám u mnoha druhů rostlin, ale jako primární, jediný zdroj, je využívám jen u několika málo druhů, mezi které patří topinambur (Kays, Nottingham 2007).

Zásobní hlízy topinamburu obvykle obsahují následující poměr látek: 80 % vody, 15 % sacharidů a 1 – 2 % bílkovin. Údaje o chemickém složení hlíz topinamburu, se značnými rozdíly u některých parametrů, jsou v literatuře poměrně řídké, na rozdíl od popisu složení jiných typů zeleniny (Kays, Nottingham 2007).

Obsah vody v hlízách je v různých podmínkách rozdílný. Liší se například podle vlhkosti půdy (větší poměr vody). Hlízy v utužené půdě mají menší podíl vody (vyšší obsah sušiny), s tím souvisí menší množství tekutin v hlízách pěstovaných ve větších nadmořských výškách (Denoroy, 1996).

Sacharidy tvoří 60 – 80 % sušiny hlíz topinamburu (Bárta, Diviš 2008). V tabulce č. 2 jsou podrobněji rozepsány jednotlivé složky obsažené v hlízách topinamburu.

Tabulka č. 2 - Průměrné látkové složení hlíz topinamburu (Bárta, Diviš 2008)

složka	vyjádření	Obsah v čerstvé hmotě hlíz
Voda	%	75,0-85,0
Sušina	%	15,0-25,0
N-látky	%	1,16-2,44
Tuky	%	0,1-0,4
Sacharidy (inulin , glukosa, fruktosa)	%	13,0-20,0
Vláknina	%	0,7-1,0
Popeloviny	%	1,0-2,0
Popeloviny	(mg/100g)	73-96
K	(mg/100g)	478-676
Mg	(mg/100g)	17-20
Ca	(mg/100g)	10-228
Na	(mg/100g)	1,78-3,49
Fe	(mg/100g)	1,48-3,70
B1	(mg/100g)	0,2
B2	(mg/100g)	0,2
Niacin	(mg/100g)	1,3
L-askorbát	(mg/100g)	4,0

2.3.1 Sacharidy

Názvem sacharidy se souhrnně označují polyhydroxyaldehydy a polyhydroxyketony, které obsahují v molekule minimálně tři alifaticky vázané uhlíkové atomy a také sloučeniny, které se z nich tvoří vzájemnou kondenzací za vzniku acetalových vazeb. Do této skupiny se řadí i sloučeniny, které vznikají ze sacharidů oxidačními, substitučními, redukčními a jinými reakcemi. V buňkách fotoautotrofních organismů, tedy i topinamburu, vznikají sacharidy asimilací vzdušného oxidu uhličitého v přítomnosti vody za využití energie denního světla.

Sacharidy jsou tedy stálou složkou všech buněk. V buňce mají několik funkcí: jsou zdroje energie, patří mezi základní stavební jednotky buňky a jsou biologicky aktivní (Velíšek, 2002).

Největší část sušiny hlíz tvoří zásobní polysacharid inulin. Zaujímá mezi 49,5 – 56,5 % sušiny, což je 11,3 - 14,2 g ve 100g čerstvé hmoty hlíz. Vedle polysacharidu (oligosacharidu) inulinu jsou v hlízách zastoupeny: deriváty fruktooligosacharidů, jednoduché cukry - glukóza, fruktóza a sacharóza. Dalšími polysacharidy, které se nachází v buňkách hlíz, jsou celulóza, hemicelulózy a pektiny (Ciešlik *et al.* 2005).

2.3.1.1 Inulin

Patří do skupiny fruktanů. Fruktany jsou oligomery, nebo polymery fruktózy, které slouží jako zásobní biopolymer uhlíku v 15% kvetoucích rostlin. Inulin je nejprozkoumanějším a nejznámějším fruktanem (Van laere, Van den ende 2002).

Ve studii Bárta, Diviš (2008) uvádí, že označení fruktany je nesprávné. Píše že inulin zařazujeme do skupiny glukofruktanů, jelikož řetězec fruktózových podjednotek je zakončen jednou glukózovou podjednotkou.

Inulin obsahuje relativně velké množství rostlinných druhů, ale pouze v čekance a v topinamburu je zastoupen v takovém množství, aby mohl být považován za primární zdroj uhlíku. Obsah inulinu v hlízách se pohybuje mezi 7 – 30 % celkové čerstvé hmoty hlíz (okolo 50 % v sušině) (Kays, Nottingham 2007).

Poprvé byl inulin popsán v roce 1818, čemuž předcházela objev fruktózy - asi o 30 let dříve. Lineární struktura molekuly inulinu nebyla objasněna až do 50. let minulého století (Kays, Nottingham 2007).

2.3.1.1.1 Struktura inulinu

Molekula inulinu se skládá z lineárního řetězce D-fruktóz a z jedné koncové molekuly D-glukózy. Počet molekul fruktózy udává tzv. polymerizační stupeň (Hamouz, Lachman 2010). Molekuly fruktózy jsou v řetězci inulinu spojeny β (1 \rightarrow 2) vazbami (Van laere, Van den ende 2002).

Údaje o polymerizačním stupni inulinu se v literatuře poměrně liší. Kays a Nottingham (2007) uvádí stupeň polymerizace, tj. počet fruktózových podjednotek, 2 – 70, Hamouz, Lachman (2010) uvádí 4 – 40 fruktózových podjednotek. Krivorotova, Sereikaite (2014) popisují, že terminologie fruktanů, jakožto sacharidů, je značně matoucí. Krátké řetězce o stupni polymerizace mezi 2 – 9 podjednotkami

se podle studie nazývají fruktooligosacharidy (FOS). Delší řetězce, se stupněm polymerizace 10 a více fruktózových podjednotek, jsou považovány za inulin.

V tabulce č. 3 je uvedeno množství inulinu a stupeň polymerizace u různých rostlinných druhů.

Tabulka č. 3 - Obsah inulinu v různých rostlinách a stupeň polymerizace. (Převzato a upraveno dle Muzzarelli *et al.* 2011)

Rostlinný druh	Obsah inulinu v FM (%)	Stupeň polymerizace inulinu
Cibule	1-8	2-12
Pórek	3-10	-
Česnek	9-16	2-50
Pšenice	1-4	2-8
Ječmen	0,5-1,5	-
Banán	0,3-0,7	2,5
Topinambur	16-20	2-50
Čekanka	15-20	2-60

Pozn. FM – čerstvá hmota

2.3.1.1.2 Biosyntéza inulinu

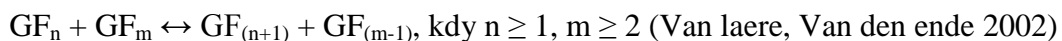
Velké množství inulinu napovídá o jeho lokalizaci ve vakuolách, kde probíhá i jeho syntéza. Současné studie uvádí, že se nachází i v apoplastu a cévních svazcích (Van laere, Van den ende 2002).

Edelman a Jefford (1968) navrhli model biosyntézy inulinu. Uvádí, že do děje nejsou zapojeny žádné fosforylované prekurzory a jediným substrátem pro tvorbu inulinu je

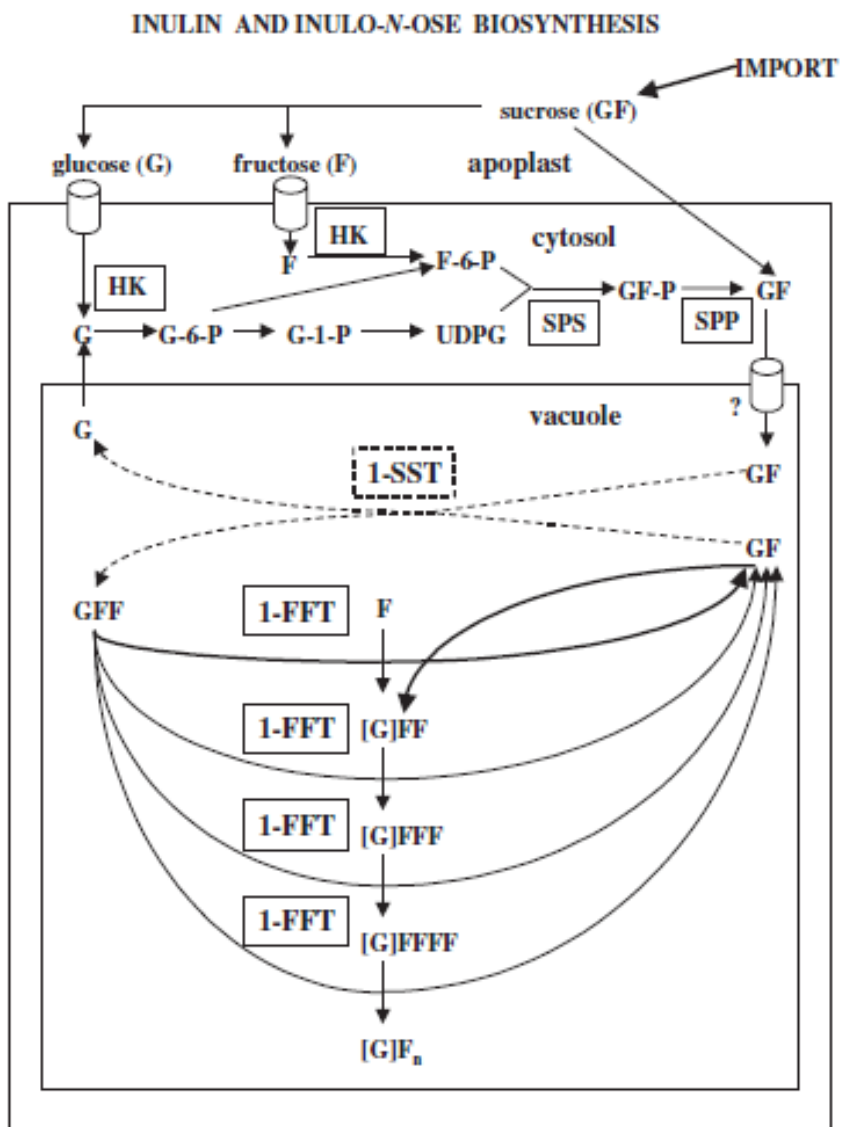
sacharóza (GF). Proces zahrnuje dva vakuolární enzymy, které se nazývají fruktosyltransferázy.

Prvním enzymem je sacharóza: sacharóza 1- fruktosyltransferáza (1-SST), tento enzym přenáší fruktózu (F) ze sacharózy (GF) na C1 uhlík jiné molekuly sacharózy (GF), za vzniku trisacharidu 1- kestózy (GFF). ($GF + GF \rightarrow GFF + G$) Tato reakce je irreverzibilní, tedy nevratná.

Dalším enzymem v biosyntéze inulinu je fruktóza: fruktóza 1- fruktosyltransferáza (1-FFT), která zajišťuje přenos fruktózy z 1-kestózy (trisacharidu), nebo jiného fruktanu, na sacharózu (GF), nebo jiný fruktan ($GF_{(n+1)}$). Celou biosyntézu inulinu můžeme popsat následujícím schématem:



Obrázek č. 2 znázorňuje biosyntézu inulinu.



Obr. č. 2 – Schéma biosyntézy inulinu (Převzato dle Van laere, Van den ende 2002)

HK (hexokináza)

G-6-P (glukóza - 6 - fosfát)

G-1-P (glukóza - 1 - fosfát)

SPS (sacharózafosfátsyntetáza)

SPP (sacharózafosfátfosfatáza)

FFT (fruktóza 1 - fruktosyltransferáza)

SST (sacharóza 1 - fruktosyltransferáza)

2.3.1.1.3 Teplotní stabilita inulinu

Inulin má pozitivní vliv na lidské zdraví. Proto se využívá při výrobě potravin. Některé z nich, např. cukrářské výrobky a pekařské výrobky, prochází tepelným zpracováním. Z tohoto hlediska je tepelná stabilita velice významnou vlastností inulinu. Ke změnám ve struktuře molekul dochází po překročení 152 °C (zjištěno metodou diferenční kompenzační kalorimetrie). Pomocí diferenční termické analýzy byla zjištěna jiná mez teplotní stability polysacharidu, konkrétně 166°C. V důsledku teploty dochází k degradaci řetězců inulinu (Panchev *et al.* 2011).

2.3.1.2 Pektinové látky

Společným názvem pektinové látky se dnes označují pektinové kyseliny, jejich soli pektinany, pektové kyseliny, soli pektových kyselin tzv. pektáty a další neutrální doprovodné polysacharidy jako jsou arabany a arabinogalaktany s různou strukturou (Velíšek, 2002).

Pektin se nachází v buněčných stěnách rostlin a je nejsložitější makromolekulou v přírodě. Přestože byl objeven před mnoha lety, stále nebyla úplně rozluštěna struktura jeho molekuly. To je částečně způsobeno druhem rostliny, ve které je nalezen, vývojovou fází rostliny, jeho umístěním v rostlině a také jeho velmi složitou molekulární architekturou (Muzzarelli *et al.* 2011).

Celkově tvoří pektinové látky asi 11% sušiny topinamburu. Pektin byl poprvé získán před více než 200 lety právě z hlíz topinamburu. Působí profylakticky při styku se sloučeninami těžkých kovů, pesticidy, radioaktivními látkami a snižuje ukládání tuku v cévách (Hamouz, Lachman 2010).

2.3.2 Proteiny

Ciešlik a kol. (2011) uvádí, že nové odrůdy topinambur (Topstar), obsahují mezi 0,8 – 1,4 g proteinů (bílkovin) ve 100g čerstvé hmoty hlíz.

Hamouz, Lachman (2010) píše, že množství bílkovin v sušině topinamburu tvoří 3,2% sušiny.

Vysoká nutriční hodnota topinamburu je rovněž dána zastoupením aminokyselin v bílkovinách. Poměr esenciálních a neesenciálních aminokyselin je dobře vyvážený (Rakhimov *et al.* 2011).

Limitující aminokyselinou je lyzin, což je pro všechny rostliny charakteristické (Hamouz, Lachman 2010).

2.3.3 Vitaminy a minerální látky

Aktivní akumulace křemíku z půdy je vlastnost křemíkofilních rostlin, mezi které patří i topinambur. Sušina topinamburu obsahuje okolo 8 % prvku. Křemík je snadno vstřebatelný a cenný prvek, nezbytný pro zajištění pevnosti kostní tkáně, tvorby kolagenu a vstřebávání dalších prvků v našem organismu. Hlízy jsou významným zdrojem železa, hořčíku, draslíku, zinku, fosforu, nebo vápníku. Fosfor, vápník a hořčík jsou stavebními kameny kostí a zubů. Draslík je nezbytný pro správnou funkci svalů. Ve stopových množstvích jsou zastoupeny také bór, měď, mangan a zinek, které plní důležitou roli v uskutečnění látkové výměně těla (Hamouz, Lachman 2010).

Topinambur je polyvitaminovou plodinou, která obsahuje hodně vitaminů B-komplexu (především niacinu), askorbové kyseliny známé jako vitamin C, β -karotenu (provitamin vitaminu A) a cenný biotin (Hamouz, Lachman 2010).

2.3.4 Organické kyseliny

V hlízách topinamburu jsou zastoupeny tyto organické kyseliny: fumarová, jablečná, jantarová, malonová a citrónová. Zaujímají mezi 6-8 % sušiny (Hamouz, Lachman, 2010).

2.4 Faktory působící na obsah a kvalitu složek v hlízách

2.4.1 Typ odrůdy a její vliv

Odlišnosti v genotypu rostlin mají vliv především na celkový výnos, koncentraci některých prvků (N, P, Ca, S, Cu) a koncentraci fruktanů, tedy inulinu v hlízách (Soja *et al.* 1990).

Celkový obsah sacharidů je vysoký v období rozvoje hlíz. Ke změnám dochází v průběhu vývoje především v závislosti na odrůdě. Jednotlivé odrůdy lze rozdělit do skupin podle délky zrání hlíz (Soja *et al.* 1990; Kocsis *et al.* 2007).

Ve studii, která se zabývala změnami složení a obsahu sacharidů v hlízách, byly využity odrůdy topinamburu s rozdílným obdobím zrání. Polní pokusy odrůd probíhaly na pokusných pozemcích ve Vídni, kde panují stejné klimatické podmínky jako v České republice.

Hlízy raných odrůd (Bella a Bianka) jsou plně zralé 22. týden po vysazení, o něco později cca. 3 týdny, jsou ke sklizni připraveny hlízy polopozdních variet (Topstar, Gigant). Nejdelší období vývoje hlíz (až 33 týdnů) vyžadují pozdní variety (Violet de Rennes, Waldspindel, Rozo).

Ukázalo se, že celkový obsah rozpustných sacharidů (inulin, sacharóza, glukóza, fruktóza) v hlízách raných a polopozdních variet dosahuje vysokých hodnot už během jejich zrání. Příkladem může být odrůda Bella, celkový obsah sacharidů ve zrajících hlízách (14. – 17. týden po vysazení) byl stanoven na 55,2 % obsahu DM. Velice podobné (stejně) hodnoty byly naměřeny i ve zralých hlízách (22. týden po vysazení) odrůdy. Jak bylo předesláno, podobné výsledky byly stanoveny u všech raných (early) a polopozdních (middle late) variet.

Výše uvedené vlastnosti neplatí pro pozdní variety, kde nejvyšší obsah sacharidů v sušině byl stanoven až v plně zralých hlízách (29. – 33. týden po výsadbě). Hlízy jsou tedy zcela připraveny ke sklizni na konci listopadu, nebo v průběhu prosince, což může působit problémy s technologií sklizně, z důvodu nepříznivých teplotních podmínek (Kocsis *et al.* 2007).

2.4.2 Zralost hlíz

Období sklizně (rozdílná zralost hlíz) může rovněž ovlivnit některé kvantitativní a i kvalitativní vlastnosti hlíz.

Množství pevných, nerozpustných látek je v různých fázích zralosti stejné, ale zastoupení sacharidů se mění. Hlízy sklizené v rozdílné zralosti (studie uvádí 3 rozdílné termíny sklizně – 16., 18., 20., týden) vykazují změny ve struktuře

inulinu. Množství inulinu s nižším stupněm polymerizace (3-10) se v závislosti na zralosti hlíz nemění, ale množství delších řetězců (DP 11-20) klesá. V důsledku jeho depolymerizace dochází ke změnám v obsahu glukózy a fruktózy. Množství fruktózy rapidně stoupá společně se zralostí hlíz. Obsah glukózy ve vyšší zralosti klesá.

Ve studii je uvedeno, že průměrná teplota při pěstování byla 28°C a období kvetení, které souvisí s přesunem asimilátů do hlíz (Denoroy 1996), startovalo ve 12. týdnu po výsadbě. Hlízy byly sklizeny v rozdílných termínech (16. 18. 20. týden po výsadbě). Pro produkci inulinu z hlíz topinamburu, stanovili optimální dobu sklizně mezi 16. a 18. týdnem (Saengthongpinit, Sajjaanantakul 2005).

2.4.3 Způsob skladování hlíz

Přezimování hlíz na stanovišti je v polohách s chladným podnebím riskantní. V důsledku mrazu může dojít k porušení hlíz a jednou z nevýhod je, že hlízy nelze vytáhnout z půdy během zimy. Možností je skladování hlíz v určitých podmínkách. Podmínky skladování ovlivňují parametry kvality hlíz, jako procentuální zastoupení sušiny a zastoupení sacharidů v sušině (Danilčenko *et al.* 2008).

Danilčenko a kol. (2008) studovali tři možnosti skladování hlíz, konkrétně použili odrůdu Swojecki. Část hlíz skladovaly v polypropylenových pytlích, jako se tomu využívá komerčně, další hlízy skladovali pod 10 cm vrstvou písku a třetí možností skladování byly hlízy ukryté pod rašelinou. Vzorky byly uskladněny ve 2°C a vzdušné vlhkosti 90 – 95% popsánymi způsoby po dobu 4 měsíců a analýza změn byla prováděna každý měsíc. Ukrytí hlíz pod pískem, nebo rašelinou by mělo simulovat proces přezimování.

Výsledkem této studie je, že metoda skladování hlíz silně ovlivňuje jejich parametry kvality. Největší ztráty hmotnosti vykazovaly hlízy po dvou měsících v polypropylenových pytlích, úbytek hmotnosti byl úspěšně regulován použitím ostatních dvou metod skladování. U hlíz uložených v polypropylenových pytlích byl zaznamenán největší podíl redukcí cukrů.

Bez ohledu na způsob skladování, obsah veškerých cukrů v hlízách byl nejmenší po dvou měsících skladování.

Ve srovnání s tradiční metodou uchovávání v polypropylenových pytlích jsou metody s využitím písku nebo rašeliny dobrými způsoby jak zachovat nutriční hodnotu a zpomalit proces degradace složek v hlízách.

2.4.3.1 Vliv teploty při skladování

Při skladovacích teplotách mezi 2 a 5 °C si hlízy po dobu deseti týdnů zachovávají svojí pevnost a nevykazují žádné známky poškození. V tomto období skladování dochází vlivem teplot ke změnám v chemické struktuře molekul inulinu a v zastoupení sacharózy a monosacharidů v hlízách.

V hlízách uskladněných při teplotě 5°C, probíhají poměrně zásadní změny. Po čtyřech týdnech se začne snižovat množství inulinu s dlouhými řetězci o DP > 10 a následkem toho roste podíl inulinu s krátkými řetězci o DP 3-10. Také byl zaznamenán nárůst množství sacharózy a pokles počtu molekul monosacharidů.

Většina enzymatických a chemických reakcí je zastavena při teplotách pod bodem mrazu (-18 °C). Charakteristika inulinu se v hlízách díky těmto nízkým teplotám nemění. Složení hlíz zůstává stejné i v průběhu dlouhodobého skladování.

Enzymatické a chemické pochody v hlízách jsou velkou měrou omezeny při teplotě 2 °C. K určitým změnám dochází, ale nejsou tak extrémní jako ty, které probíhají v hlízách skladovaných při 5 °C (Saengthongpinit, Sajjaanantakul 2005).

2.4.4 Přezimování hlíz v půdě

Hlízy mohou být na stanovišti ponechány přes celou zimu. Proces přezimování ovlivňuje množství a strukturu sacharidů v hlízách (Kocsis *et al.* 2007; Krivorotova, Sereikaite 2013).

Profil inulinu a ostatních sacharidů v hlízách je během přezimování ovlivněn především jejich asimilační aktivitou. Následkem nízkých teplot půdy (< 4 °C) je zvýšena aktivita enzymu FFT (fruktóza 1-fruktosyltransferáza), který působí depolymerizaci dlouhých molekul inulinu, na krátké molekuly a sacharózu. Zvýšení obsahu jednoduchých cukrů podporuje osmotické regulace působící proti poškození tkání pletiv. Sacharóza může být využita také přímo v metabolismu samotných buněk, pro stabilizaci životních procesů. Dochází například k lignifikaci tedy zesílení

pokožky hlíz. Z těchto důvodů se nejedná jen o kvalitativní změny, ale i kvantitativní – redukce výnosu sušiny (Kocsis *et al.* 2007).

Ve studiích byl během procesu přezimování hlíz prokázán pokles obsahu inulinu s dlouhými řetězci a zvýšení obsahu krátkých řetězců inulinu (fruktooligosacharidy) – proces depolymerizace. Zároveň bylo vysledováno, že nejvyšší obsah sacharózy (disacharid) obsahovaly hlízy také na jaře, po zimě, což souvisí s procesem depolymerizace řetězců inulinu. Statistickými metodami byla prokázána závislost mezi množstvím sacharózy a stupněm polymerizace inulinu v hlízách, které přezimovaly v půdě (Kocsis *et al.* 2007; Clausen *et al.* 2012; Krivorotova, Sereikaite 2013).

2.5 Využití hlíz topinamburu

Hlízy topinamburu nacházejí své využití v potravinářském, krmivářském, ale i průmyslovém odvětví.

2.5.1 Potravinářské využití hlíz

Je mnoho způsobů jakými lze upravovat hlízy pro lidskou spotřebu, mohou se vařit, smažit, péct, nebo nakládat. Čerstvé hlízy jsou vhodné do salátů, nebo samotné. Jejich chuť můžeme připodobnit k chuti ořechů. Kalorická hodnota hlíz je velice nízká. Mezi významné živiny a vitaminy v hlízách patří především draslík a thiamin (Lee 1973).

Z potravinářského hlediska jsou hlízy ceněny především pro jejich vysoký obsah inulinu a právě tato vlastnost činí z topinamburu nízkoenergetickou plodinu. Inulin má v lidském organismu řadu blahodárných účinků. (Hamouz, Lachman 2010).

Tento polysacharid, lze řadit mezi potravinovou vlákninu. Trávicími enzymy člověka není hydrolyzovatelný, a proto prochází beze změn žaludkem i tenkým střevem. Až v tlustém střevě je mikrobiálně fermentován a napomáhá pomnožení užitečných střevních bakterií rodu *Bifidus*. Ty syntetizují vitaminy skupiny B a podporují vstřebávání některých důležitých iontů (Ca, Fe). Ze stejného důvodu (nestravitelnost) je doporučován lidem s nadváhou, jelikož navozuje pocit sytosti. Pravidelná konzumace topinamburu působí preventivně proti chorobám způsobeným

nevhodnou výživou, jako je dna nebo revmatismus, mírní žlučové koliky. Mezi další výhody konzumace můžeme zařadit protiastmatický účinek, snižování hladiny cholesterolu, regulaci krevního tlaku a celkové zlepšování činnosti trávicí soustavy (Hamouz, Lachman 2010).

2.5.1.1 Produkce fruktózového sirupu

Fruktóza je vedle glukózy a xylulózy nejrozšířenějším cukrem v přírodě. Běžně se vyskytuje jako stavební složka sacharidů. Molekula sacharózy je z 50 % procent tvořena fruktózou a tedy i inulin, polymerní sacharid v hlízách topinamburu se skládá z molekul fruktózy. Všechny tyto sacharidy mohou být rozděleny na stavební jednotky (fruktózu) působením kyselin, nebo enzymů. Topinambur hlíznatý je dobrým zdrojem fruktózy, především díky jeho nízkým nárokům na podmínky pěstování (Lee, 1973).

V potravinářském průmyslu má široké využití fruktózový sirup, jehož výroba spočívá právě v chemické, či enzymatické hydrolýze inulinu. Fruktózový sirup má široké využití, především díky specifickým vlastnostem fruktózy, jako je intenzita sladkosti, nutriční hodnota a technologické vlastnosti.

2.5.2 Krmivářské využití

Hlízy se dají využít jako velice vhodné krmivo pro hospodářská zvířata. Zkrmování hlíz podporuje některé vlastnosti hospodářských zvířat, u skotu dochází k vyšší produkci smetany v mléce, drůbež produkuje více vajec o větší velikosti (Lee, 1973). Pro krmivářské účely se obecně využívají hlízy sklizené na jaře (Hamouz, Lachman 2010).

2.5.3 Průmyslové využití

2.5.3.1 Produkce etanolu z hlíz

Vzhledem k narůstajícím cenám nafty stoupá zájem o produkci etanolu jako alternativního paliva. Výroba etanolu biotechnologickými procesy je běžná, ale z důvodu vysokých nákladů nízká. Materiál pro výrobu etanolu by měl být levný a procesy fermentace optimalizované. Z možných zdrojů pro výrobu etanolu mají

topinambury řadu výhod, mezi které patří vysoký obsah sacharidů (80% v sušině) tvořených především inulinem. Vzhledem k vlastnostem topinamburu je tato surovina k dispozici v poměrně velkém množství za dobrou cenu.

Proces přeměny sacharidů na etanol probíhá díky přítomnosti mikroorganismu, jehož volba je pro efektivitu celého děje klíčová. Mezi vlastnosti, které jsou posuzovány při jeho výběru, patří rychlost růstu, rychlost produkce etanolu a tolerance k etanolu. Z důvodu optimalizace procesu, tedy i snížení jeho ceny, je vhodné použít mikroorganismus, který dokáže přeměnit inulin na etanol bez předcházejících enzymatických zásahů. Vhodnými organismy jsou bakterie rodu *Zymomonas* a kvasinky rodu *Kluyveromyces* (Barthomeuf *et al.* 1991).

V článku s názvem Topinambur hlíznatý (*Helianthus tuberosus* L.) - netradiční alternativní plodina pro průmyslové a energetické využití je uvedeno, že před samotnou výrobou bioetanolu z hlíz je třeba provést hydrolýzu, nebo enzymatické zpracování inulinu na jednoduché cukry, které jsou využitelné kvasinkami. Uvádí se, že v procesu odpadá paření hlíz, jako je tomu u výroby etanolu z brambor.

2.5.3.2 Hlízy jako substrát ve výrobě bioplynu

V České republice i v Evropě se stále hledají vhodné substráty do bioplynových stanic. Hlavní hledisko, které je hodnoceno při využití určitého materiálu, je množství vyprodukovaného bioplynu. Proces tvorby bioplynu z hlíz topinamburu má charakteristický průběh, na počátku je rychlost tvorby vysoká a v jeho průběhu se snižuje. To je dáno snadnou přístupností sacharidů z hlíz (Škoda 2010).

3. Cíle práce

Bakalářská práce je zaměřena na analýzu a vyhodnocení chemického složení hlíz určených genotypů topinamburu (*Helianthus tuberosus* L.) z podzimní a jarní sklizně. Cílem práce bylo:

- 1) Stanovení obsahu sušiny v hlízách z podzimní a jarní sklizně a poté posouzení případných změn, ke kterým došlo.
- 2) Stanovení dusíkatých látek v čerstvé hmotě hlíz 8 klonů topinamburu z podzimní i jarní sklizně a následné porovnání rozdílů.
- 3) Stanovení celkového množství bílkovin v sušině hlíz jednotlivých klonů topinamburu hlíznatého (*Helianthus tuberosus* L.) z podzimní a jarní sklizně a následně jejich porovnání.
- 4) Analýza proteinového profilu v hlízách topinamburu pomocí SDS-PAGE.

Výsledky by měly být zpracovány statistickými metodami, uspořádány do tabulek a grafů pro jejich přehlednost a jasnost.

4. Materiál a metody

4.1 Hlízový materiál

V experimentální části byly analyzovány vzorky 8 klonů topinamburu – REFLA, LOLA, VÖLKENRODER SPINDEL, ÚRODNÝ, KARINA, BĚLOSLUPKÝ, GIGANT a C63.

Jednotlivé klony byly vypěstované na pozemku Zemědělské fakulty, který je spravován Katedrou rostlinné výroby a agroekologie.

V souvislosti s přezimováním hlíz topinamburu (*Helianthus tuberosus* L.) byly získány vzorky z podzimní i jarní sklizně. Konkrétně se jednalo o hlízy z pěstitelského roku 2013, sklizené na podzim (15. 11. 2013) a na jaře (1. 3. 2014). Období přezimování hlíz v půdě trvalo 107 dní a podmínky byly v porovnání s jinými ročníky mírné.

Hlízy jednotlivých klonů byly vyfoceny. Mezi jejich tvarem jsou viditelné určité odlišnosti (fotografie 1 – 8).

Obrázek č. 3 – Fotografie hlíz jednotlivých testovaných klonů. Foto: J. Bárta



REFLA



BĚLOSLUPKÝ



ÚRODNÝ



KARINA



GIGANT



V. SPINDEL



LOLA



C 63

4.2 Příprava vzorků

Z důvodu reprezentativnosti hlíz a následně i samotných vzorků, byly vzorky připravovány co nejdříve po sklizni.

Hlízy připravené pro zpracování vzorků byly rozdělené v síťových pytlích podle genotypu. Od každého genotypu bylo vybráno deset hlíz, ty byly zbaveny zeminy, omyty, osušeny a následně zváženy na laboratorních vahách.

Od každého klonu byly vytvořeny dvě opakování následujícím způsobem: Hlíza byla překrojena středovým řezem, následně byl z každé půlky odkrojen plátek o šířce max. 2 mm. Plátky byly vkládány do předvážených dóz, jeden do dózy pro první opakování, druhý do dózy pro druhé opakování. Celý proces byl opakován s každou hlízou.

Zvážené a uzavřené dózy s materiálem, byly zmrazeny při teplotě – 80 °C po dobu delší než 24 hodin.

4.2.1 Lyofilizace

Lyofilizace probíhala na přístroji Alpha 1-4 LSC, (Martin Christ, Germany), za následujících podmínek: - 65 °C, tlak 0,420 mbar, trvání (doba) asi 72 h (do neměnné hmotnosti)

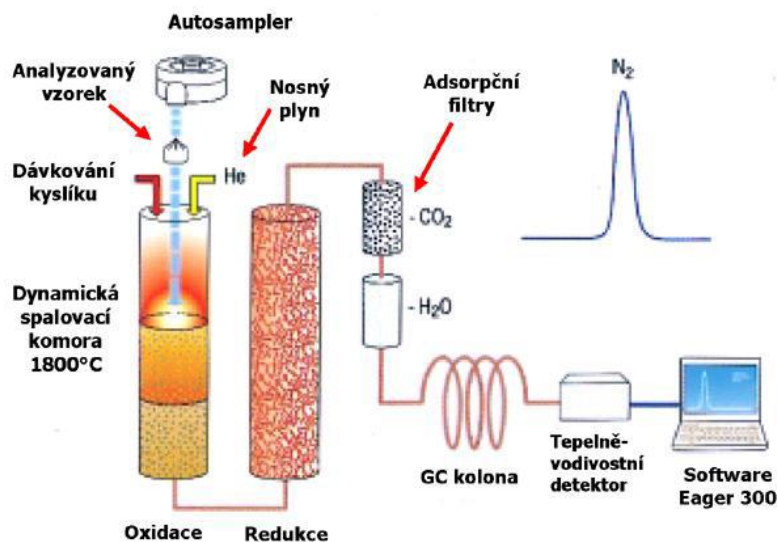
Po procesu lyofilizace byly dózy se suchým materiálem opět zváženy.

4.2.1.1 Homogenizace vzorků

Homogenizace, tedy rozmělnění vzorků, bylo provedeno na laboratorním mlýnku. V průběhu procesu byla nutná údržba mlýnku, v podobě čištění nožů a částí stýkajících se s materiálem, z důvodu kontaminace vzorků.

4.3 Stanovení obsahu dusíkatých látek v sušině hlíz topinamburu

Bylo naváženo 50 mg vzorku z každého opakování. Následně proběhla analýza obsahu dusíku na přístroji s názvem FLASH EA 1112, který pracuje na principu Dumasovy metody. Schéma přístroje je uvedené na obrázku č. 4.



Obr. č. 4 – Schéma analýzy dusíkatých látek na přístroji Flash EA 1112 (Zdroj: upraveno dle materiálů firmy ThermoQuest)

Analyzované množství dusíku bylo vynásobeno koeficientem 6,25, tak aby bylo stanoveno celkové množství dusíkatých látek.

4.4 Stanovení obsahu bílkovin v sušině topinambur

4.4.1 Příprava a extrakce vzorků

1) Do mikrozkušavek o objemu 2 ml bylo naváženo 50 mg homogenizované sušiny a následně přidáno 0,5 ml extrakčního pufru. (složení extrakčního pufru: 0,0625M Tris-HCl (pH=6,8) + 2 % SDS). Přesná navážka sušiny byla zaznamenána z důvodu dosazení do kalibrační křivky.

2) Mikrozkušavky byly umístěny na led, kde probíhala extrakce po dobu 2h.

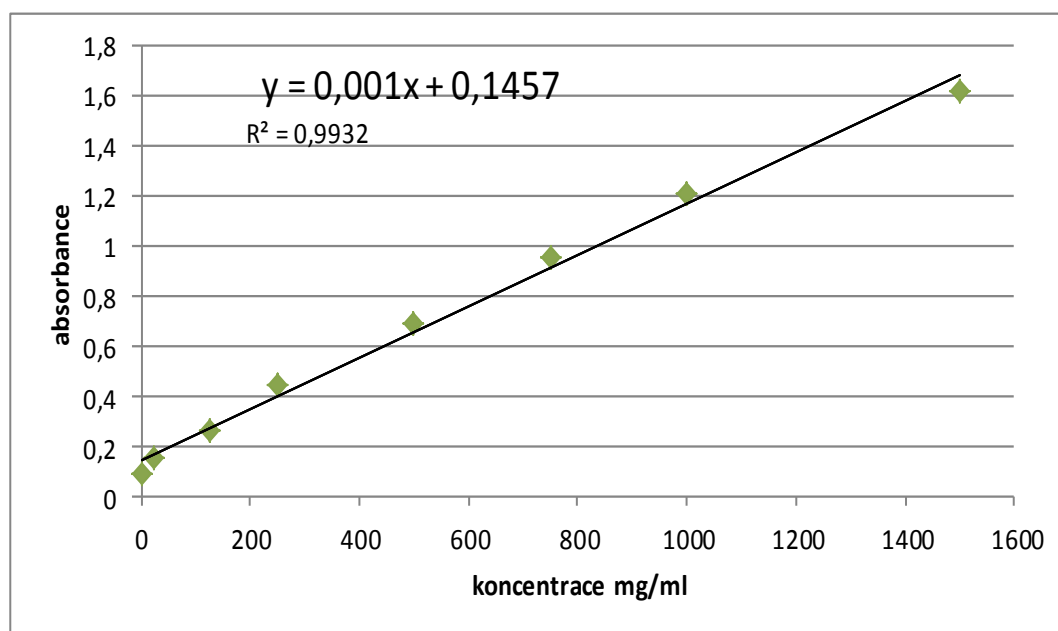
3) Po dokončení extrakce, byla provedena centrifugace vzorků. (Parametry centrifugace: 10 min., 10 000 rpm) Vzniklý supernatant byl převeden do nových mikrozkušavek a pelety byly vyhozeny.

4.4.2 Sestrojení kalibrační křivky

Pro stanovení celkového obsahu bílkovin byl použit kit, konkrétně Pierce BCA Protein assay kit. Měření probíhalo v souladu s jeho návodem.

Jednotlivé koncentrace standardu (BSA - bovine serum albumin, hovězí sérový albumin) byly připraveny pomocí zředování. Absorbance jednotlivých ředění byly měřeny spektrofotometrem při vlnové délce 562 nm. Výsledná data byla zdrojem pro sestavení kalibrační řady. Standard BSA je součástí komerčního kitu.

Graf č. 1: Kalibrační závislost (Stanovení celkového obsahu bílkovin v sušině topinamburu)



4.4.3 Absorbance vzorků a stanovení koncentrace bílkovin

Komerčně vyrobený kit (Pierce BCA Protein Assay kit) obsahuje dva typy reagensí – BCA reagensie A, BCA reagensie B. Tato činidla byly smíchány v poměru 1:50 (1 díl reagensie B, 50 dílů reagensie A). K 1 ml směsi reagensí bylo přidáno 0,05 ml 10x zředěného supernatantu.

Mikrozkumavky s takto připravenými vzorky byly řádně promíchány a kultivovány při teplotě 37 °C po dobu 30 minut.

Po inkubaci vzorky byly převedeny do jednorázových kyvet určených pro měření ve spektrofotometru. Následně jsme změřili jejich absorbance při vlnové délce 562 nm a pomocí vzorce určili procentuální zastoupení bílkovin v 1 mg sušiny vzorku.

Vzorec pro přepočítání: obsah bílkovin v sušině (%) = $(C \cdot V) / (M \cdot V)$, kde

C = zjištěná koncentrace bílkovin podle rovnice (viz. graf č. 1)

V = celkový extrakční objem v ml (0,5 ml)

M = navážka lyofilizované sušiny hlíz v mg

4.5 Elektroforetická analýza SDS-PAGE

4.5.1 Extrakce a příprava vzorků pro SDS-PAGE

Stejně jako pro BCA analýzu, bylo do mikrozkušavek naváženo 50 mg lyofilizované sušiny hlíz topinambur, dále bylo do zkumavek přidáno 0,5 ml extrakčního pufru s přísadkou merkaptoethanolu. Vzorky byly řádně promíchány a umístěny na led.

Extrakce probíhala po dobu 2 hodin, poté proběhla centrifugace (10 min.; 10 000 rpm) extrahovaných vzorků a vzniklé supernatanty byly přelity do nových zkumavek.

Supernatanty, tedy vzorky, byly naředěny v poměru: 80 μ l vzorku, 20 μ l nanášecího pufru s přísadkou merkaptoethanolu. Vzniklé směsi byly ponořeny do vroucí vody a vařeny po dobu 3 minut. Na 15% gel bylo poté nanášeno množství 50 μ l.

4.5.2 Příprava gelu pro SDS-PAGE

Pro tento denaturační systém byl připraven 15% separační gel a 3,75% zaostřovací gel. Gely obsahovaly vodu, akrylamid, SDS, siřičitan sodný a síran amonný v určeném poměru.

Pro snadné stanovení případných změn souvisejících s rozdílným obdobím sklizně, byly vzorky stejných odrůd nanášeny na gel vedle sebe.

4.5.3 Průběh SDS-PAGE

Gel s nanesenými vzorky byl vložen do vertikální elektroforetické vany s pufrům o složení: 192 mM glycin + 25 mM Tris + 0,1 % SDS (dodecylsírán sodný). Celá soustava byla zapojena do elektrického proudu a vložena do chladničky, z důvodu chlazení sestavy.

4.5.4 Vyhodnocení gelů

Gely byly po proběhnutí elektroforézy odbarveny a digitalizovány. Pomocí programu Picaso upraveny, tak aby byly proteinové pruhy lépe zřetelné.

4.5.5 Statistické vyhodnocení výsledků

Výsledky byly statisticky vyhodnoceny analýzou rozptylu dat a Fisherovým LSD testem, zároveň byly nalezeny korelační vztahy mezi jednotlivými parametry. Veškeré vyhodnocování proběhlo v programu Statistika.

5. Výsledky

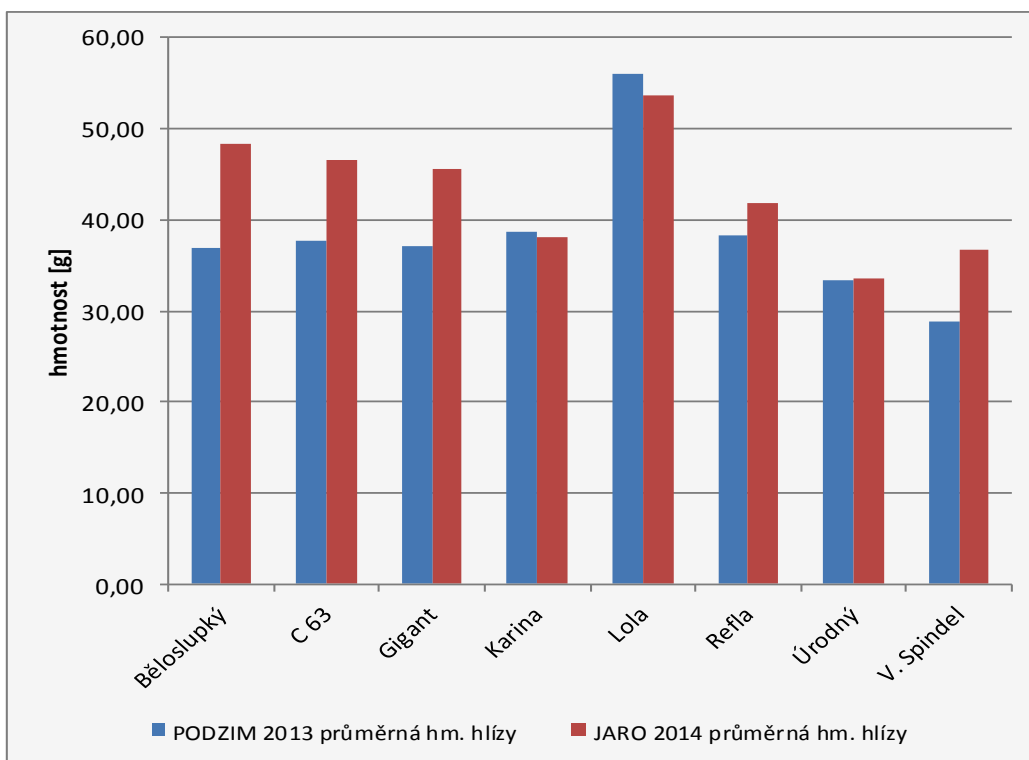
Jak už bylo předesláno, byly analyzovány vzorky získané z různých sklizní topinamburu. Příprava vzorků pro chemické stanovení vybraných parametrů byla provedena ihned po dané sklizni, aby se předešlo změnám způsobených v důsledku skladování. Byly analyzovány následující odrůdy: Refla, Gigant, C 63, Völkenroder Spindel, Úrodný, Lola, Běloslupký, Karina. Z výnosových parametrů byly stanoveny průměrná hmotnost jedné hlízy klonu a procentuální zastoupení sušiny u konkrétního genotypu. Dále byly určeny některé chemické parametry hlíz, jako je procentuální zastoupení bílkovin v sušině a zastoupení dusíkatých látek v sušině. Výsledky byly převedeny do tabulek a grafů. Pozornost byla věnována rozdílům mezi podzimní sklizní (15. 11. 2013) a jarní sklizní (1. 3. 2014). Literatura uvádí, že v průběhu přezimování, v našem případě travající 107 dní, dochází k určitým změnám v chemickém složení hlíz. Grafy č. 2 - 6 obsahují hodnoty stanovovaných parametrů, zároveň jsou z grafů zřetelné změny, ke kterým došlo v průběhu přezimování.

5.1 Průměrná hmotnost hlízy

Mezi jednotlivými sklizněmi hlíz klonů byly zaznamenány určité rozdíly průměrné hmotnosti hlízy na jaře a na podzim. Tento jev je způsoben výběrem hlíz určených pro analýzu, tedy lidským faktorem a neměl by žádným způsobem ovlivnit chemické složení hlíz.

Průměrné hmotnosti hlíz jsou uvedeny v grafu č. 2.

Graf č. 2 – Průměrná hmotnost hlízy [g] klonů



V rámci podzimní sklizně se nejvíce odlišovala hmotnost jedné hlízy genotypu Lola a genotypu V. Spindel.

5.2 Obsah sušiny v hlízách

U hlíz sklizených na podzim byl nejvyšší obsah sušiny naměřen u klonu Gigant (29%), naopak nejnižší v hlízách genotypu Lola (19,9%). V rámci jarní sklizně, vlivem přezimování, došlo ke snížení obsahu sušiny u většiny klonů, pouze v hlízách klonu Karina a Lola byl zaznamenán malý nárůst. Nejvyšší obsah sušiny, i přes jeho pokles (4,10 %), byl stanoven znovu v hlízách klonu Gigant (25%). Nejnižší procentuální zastoupení sušiny bylo analyzováno u klonu Lola (20,4%). Hodnoty obsahu sušiny v hlízách všech klonů, na jaře i na podzim, jsou uvedeny v grafu č. 3.

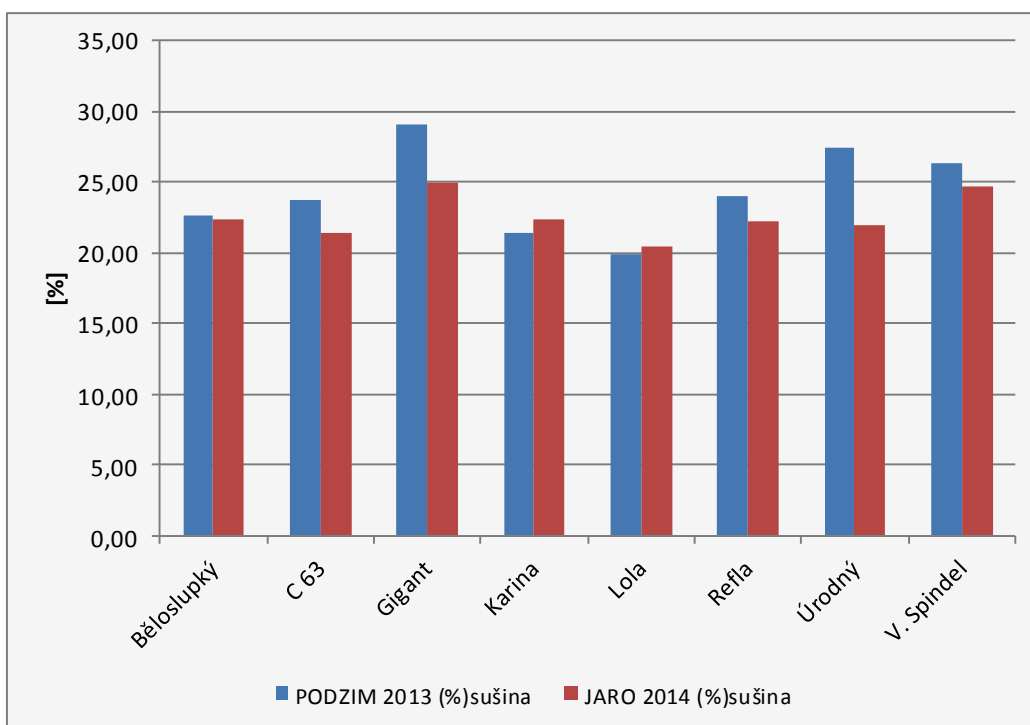
Z grafu č. 3 je zřejmé, že nejvíce se snížil obsah sušiny v hlízách klonu Úrodný, dá se tedy usuzovat o jeho nevhodnosti pro využití hlíz z jarní sklizně.

Tabulka č. 4 - ANOVA test – Vyhodnocení závislosti obsahu sušiny na klonu a době sklizně

efekt interakce	suma čtverců	stupeň volnosti	čtverec	F	p
Absolutní člen	17582,81	1	17582,81	57589,56	0,000000
klon	135,87	7	19,41	63,58	0,000000
sklizeň	24,68	1	24,68	80,82	0,000000
Klon x sklizeň	35,22	7	5,03	16,48	0,000003
chyba	4,88	16	0,31	-	-

Na hladině významnosti, $p < 0,05$, byla závislost obsahu sušiny na klonu a zároveň době sklizně statisticky prokázána.

Graf č. 3 - Obsah sušiny [%] v hlízách



Analýzou rozptylu bylo zjištěno, že zastoupení sušiny v hlízách jednotlivých klonů sklizených na podzim se poměrně zásadně liší. Na jedné straně je tu klon Gigant, jehož hlízy sklizené na podzim obsahovaly 29,1 % sušiny a na druhé straně je tu klon Lola, jehož hlízy, rovněž sklizené na podzim, obsahovaly jen 19,9 % sušiny.

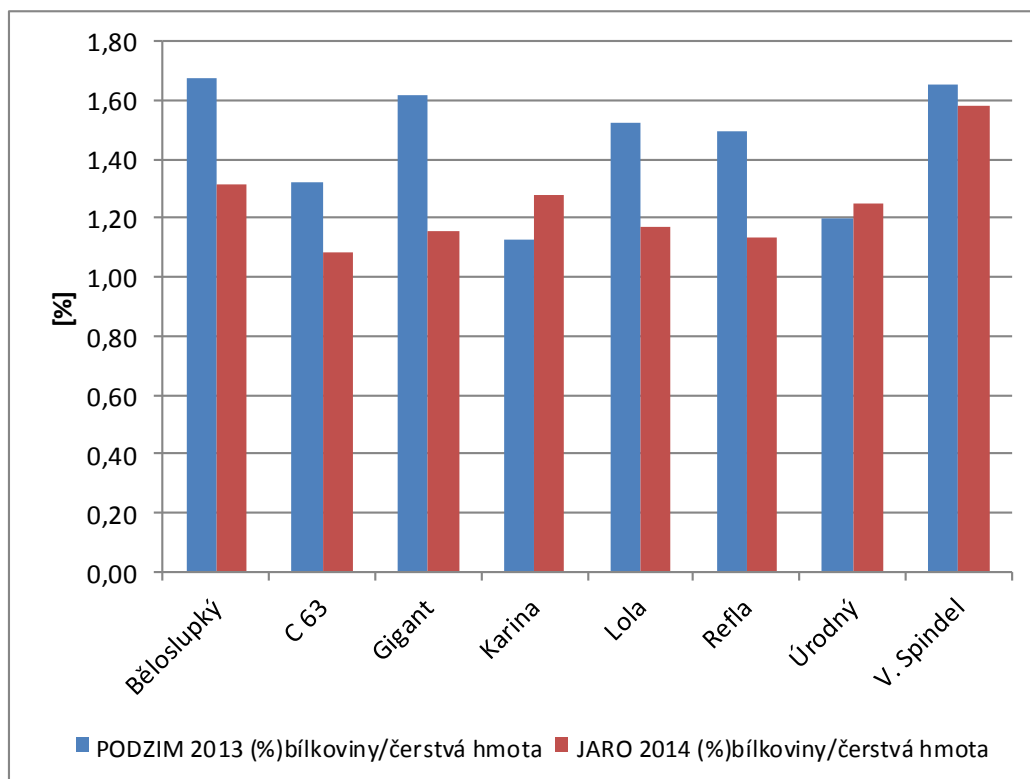
Z výsledků je zřejmé, že výběr klonu má velký vliv na produkci sušiny, z tohoto hlediska se nejvýhodněji jeví využití klonů Úrodný a V. Spindel a to i při zvolení jarní sklizně.

5.3 Obsah bílkovin v hlízách

Výsledky stanovené BCA metodou, tedy procentuální obsah bílkovin v sušině hlíz, byly přepočítány z důvodu transparence na procentuální zastoupení v celkové čerstvé hmotě.

Z hlíz klonů sklizených na podzim byl nejvyšší obsah bílkovin naměřen u hlíz genotypu Běloslupký (1,68%). Nejnižší obsah bílkovin, 1,13 %, byl v tomto období stanoven v hlízách klonu Karina. Z výsledků jarní sklizně hlíz vyplývá, že vlivem přezimování došlo k poklesu množství bílkovin u klonů Gigant, V. Spindel, Lola, Refla, C 63 a Běloslupký. Opačný trend byl analyzován u klonů Karina a Úrodný. V jarní sklizni obsahovaly nejvíce bílkovin hlízy klonu V. Spindel (1,59 %) a nejméně hlízy klonu C 63 (1,08 %). V grafu č. 4 jsou jasně viditelné rozdíly obsahu bílkovin v hlízách sklizených na podzim a na jaře.

Graf č. 4 – Obsah bílkovin [%] v čerstvé hmotě hlíz



U hlíz klonů Úrodný a V. Spindel došlo k nejmenším změnám v obsahu bílkovin v čerstvé hmotě vlivem přezimování.

Tabulka č. 5 – ANOVA test – Vyhodnocení vlivu klonu a období sklizně na obsah bílkovin v čerstvé hmotě hlíz

faktor interakce	suma čtverců	stupeň volnosti	čtverec	F	p
Absolutní člen	58,24067	1	58,24067	12238,03	0,000000
klon	0,62546	7	0,08935	18,78	0,000001
sklizeň	0,34280	1	0,34280	72,03	0,000000
Klon x sklizeň	0,34976	7	0,04997	10,50	0,000060
chyba	0,07614	16	0,00476	-	-

Prostřednictvím analýzy rozptylu byl ($p < 0,05$) potvrzen vliv klonu a zároveň doby sklizně na obsah bílkovin v čerstvé hmotě hlíz.

5.4 Obsah dusíkatých látek v hlízách

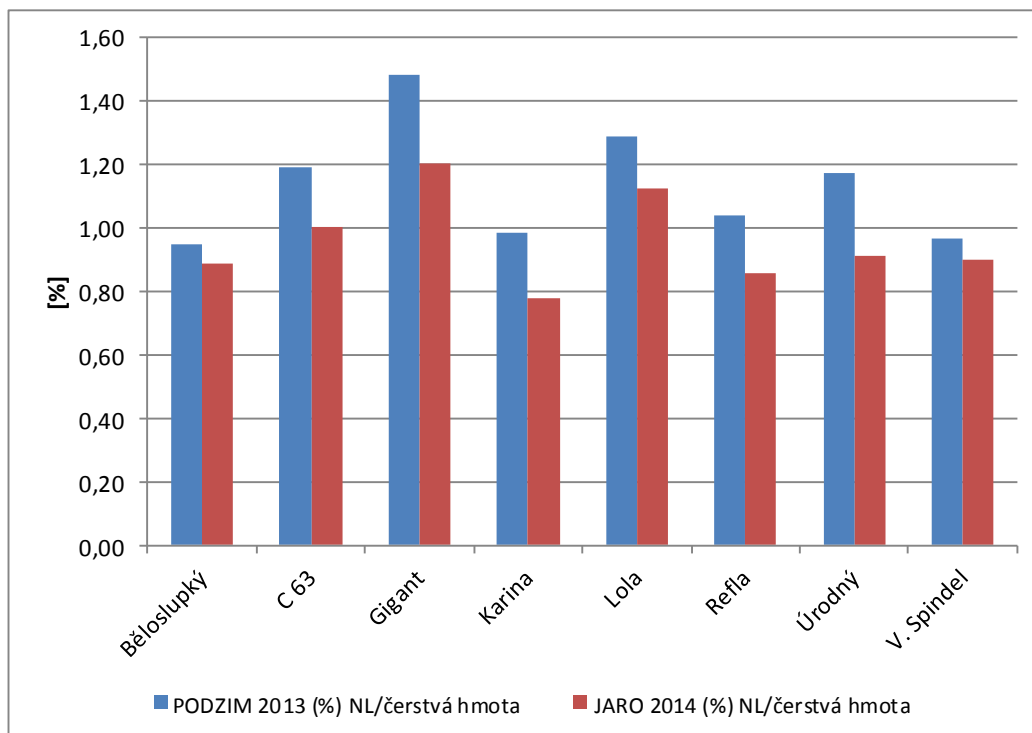
Obsah dusíku v sušině hlíz byl stanoven Dumasovou metodou. Stanovené množství dusíku bylo vynásobeno koeficientem 6,25. Výsledkem je procentuální zastoupení dusíkatých látek v sušině hlíz. Obsah dusíkatých látek v sušině byl přepočítán na obsah dusíkatých látek v čerstvé hmotě hlíz.

Mezi všemi 8 klony sklizenými na podzim byl největší obsah dusíkatých látek v čerstvé hmotě hlíz stanoven u klonu Gigant (1,48%). Nejmenším obsahem dusíkatých látek disponovaly hlízy klonu Běloslupký (0,95%).

Během přezimování hlíz v půdě došlo ke snížení obsahu dusíkatých látek u všech klonů. V jarních hlízách klonu Gigant bylo nalezeno o 0,27 % méně dusíkatých látek, než v podzimních hlízách a i přes tento pokles byly jarní hlízy na obsah dusíkatých látek nejbohatší (1,48 %). Nejméně dusíkatých látek v jarní sklizni klonů bylo nalezeno v hlízách klonu Karina (0,78 %).

Z následujícího grafu (č. 5) je zřetelné, že podmínky přezimování nejméně ovlivnily obsah dusíkatých látek v hlízách genotypu V. Spindel.

Graf č. 5 – Obsah dusíkatých látek [%] v čerstvé hmotě hlíz



Tabulka č. 6 – ANOVA test – Vyhodnocení vlivu klonu a období sklizně na obsah NL v čerstvé hmotě hlíz

Faktor interakce	suma čtverců	stupeň volnosti	čtverec	F	p
Absolutní člen	35,12301	1	35,12301	44619,25	0,000000
klon	0,73348	7	0,10478	133,11	0,000000
sklizeň	0,24840	1	0,24840	315,56	0,000000
Klon x sklizeň	0,04518	7	0,00645	8,20	0,000265
chyba	0,01259	16	0,00079	-	-

Analýzou rozptylu byl potvrzen ($p < 0,05$) vliv rozdílné doby sklizně a genotypu na obsah dusíkatých látek v čerstvé hmotě hlíz.

5.5 Obsah bezdusíkatých látek v hlízách

BNL, neboli bezdusíkaté látky, byly stanoveny nepřímou cestou. Od celkového obsahu sušiny v hlízách, byl odečten celkový obsah dusíkatých látek v sušině. Následně byly přepočítány vzhledem k čerstvé hmotě hlíz.

Mezi hlízami klonů sklizených na podzim byl největší obsah bezdusíkatých látek analyzován v hlízách klonu Gigant (27,62%) a nejmenší obsah v hlízách klonu Lola (18,61%).

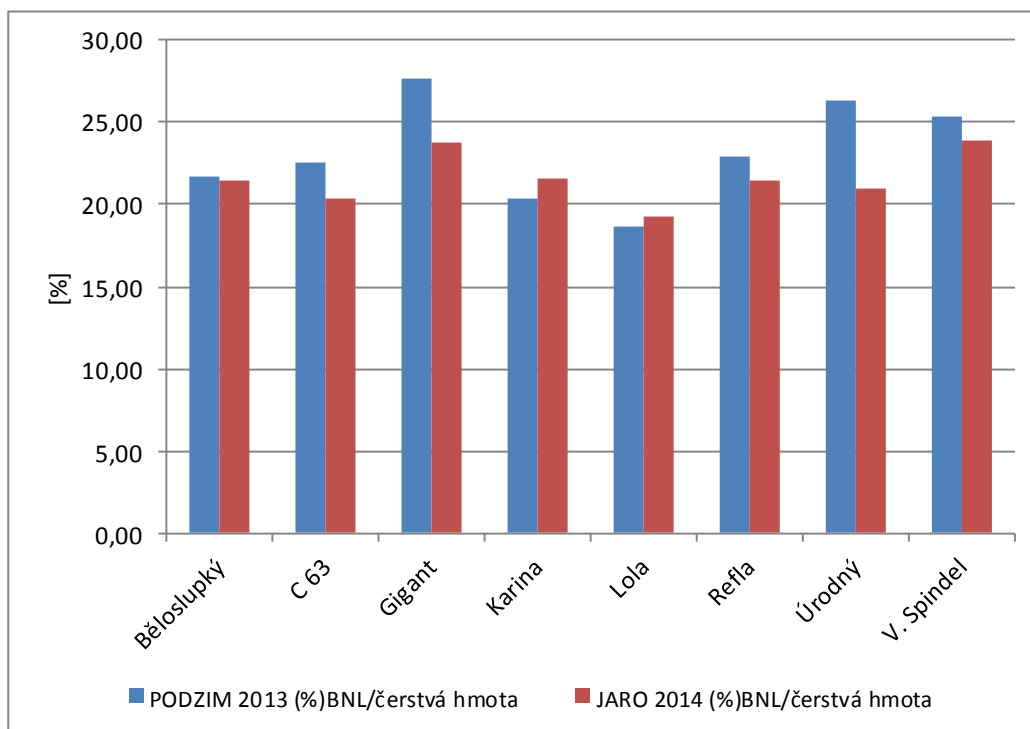
V grafu č. 6 jsou znázorněny změny, ke kterým došlo v důsledku přezimování. U většiny klonů došlo k poklesu bezdusíkatých látek v čerstvé hmotě hlíz, což souvisí s poklesem celkového obsahu sušiny. Pouze u klonů Lola a Karina tomu bylo naopak a u těchto klonů došlo ke zvýšení obsahu bezdusíkatých látek. Změny v obsahu BNL by mohly souviset se změnami sacharidů v hlízách během přezimování, jelikož sacharidy jsou jednou ze složek bezdusíkatých látek.

Tabulka č. 7 – ANOVA test – Vyhodnocení vlivu klonu a rozdílné doby sklizně na obsah BNL v čerstvé hmotě hlíz

efekt interakce	suma čtverců	stupeň volnosti	čtverec	F	p
Absolutní člen	16046,23	1	16046,23	53072,15	0,000000
klon	131,31	7	18,76	62,04	0,000000
sklizeň	19,97	1	19,97	66,06	0,000000
Klon x sklizeň	33,81	7	4,83	15,98	0,000004
chyba	4,84	16	0,30	-	-

Statistickou metodou, ANOVA test, byl prokázán vliv genotypu a doby sklizně na obsah bezdusíkatých látek v čerstvé hmotě hlíz.

Graf č. 6 – Obsah bezdusíkatých látek [%] v čerstvé hmotě



5.6 Korelace mezi parametry

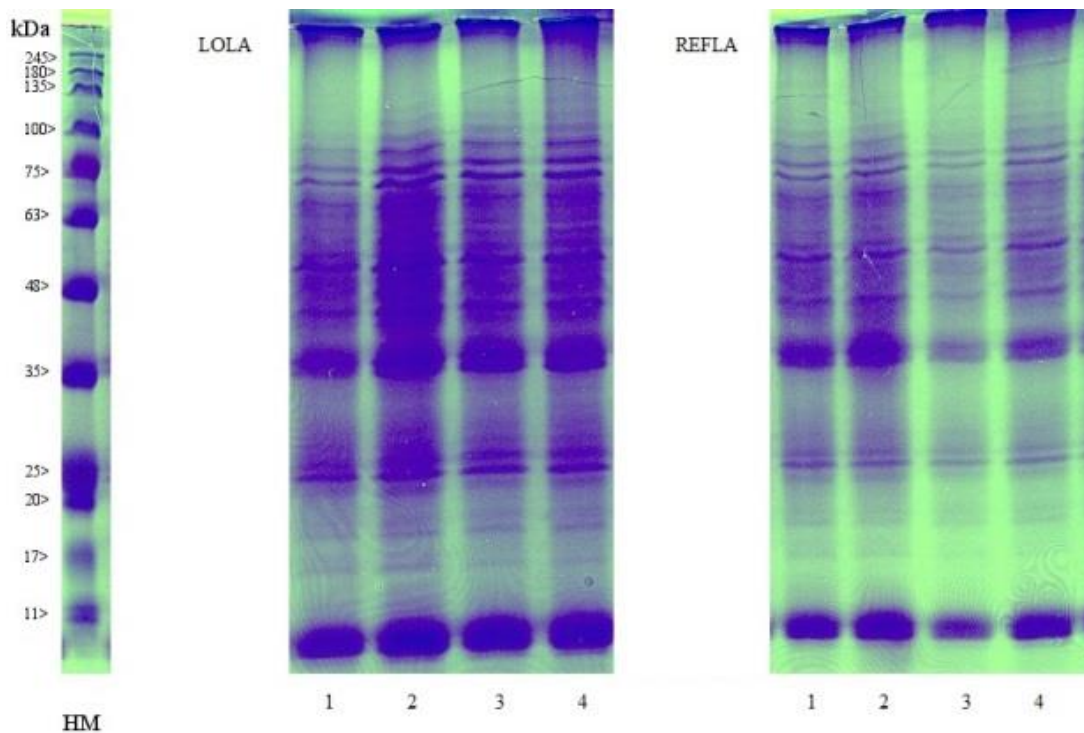
Statistickými metodami byly nalezeny následující vztahy mezi analyzovanými parametry.

Obsah dusíkatých látek v čerstvé hmotě hlíz je závislý (41 %) na obsahu sušiny v hlízách. Pokud se obsah sušiny zvýší, obsah dusíkatých látek v čerstvé hmotě hlíz se rovněž zvýší. Další přímá korelace (38%) byla určena mezi obsahem sušiny a obsahem bílkovin v čerstvé hmotě hlíz, když se obsah sušiny v hlízách zvýší, obsah bílkovin také stoupne. Posledním přímým vztahem, který byl stanoven, je korelace (99%) mezi obsahem sušiny v hlízách a obsahem bezdusíkatých látek v čerstvé hmotě hlíz.

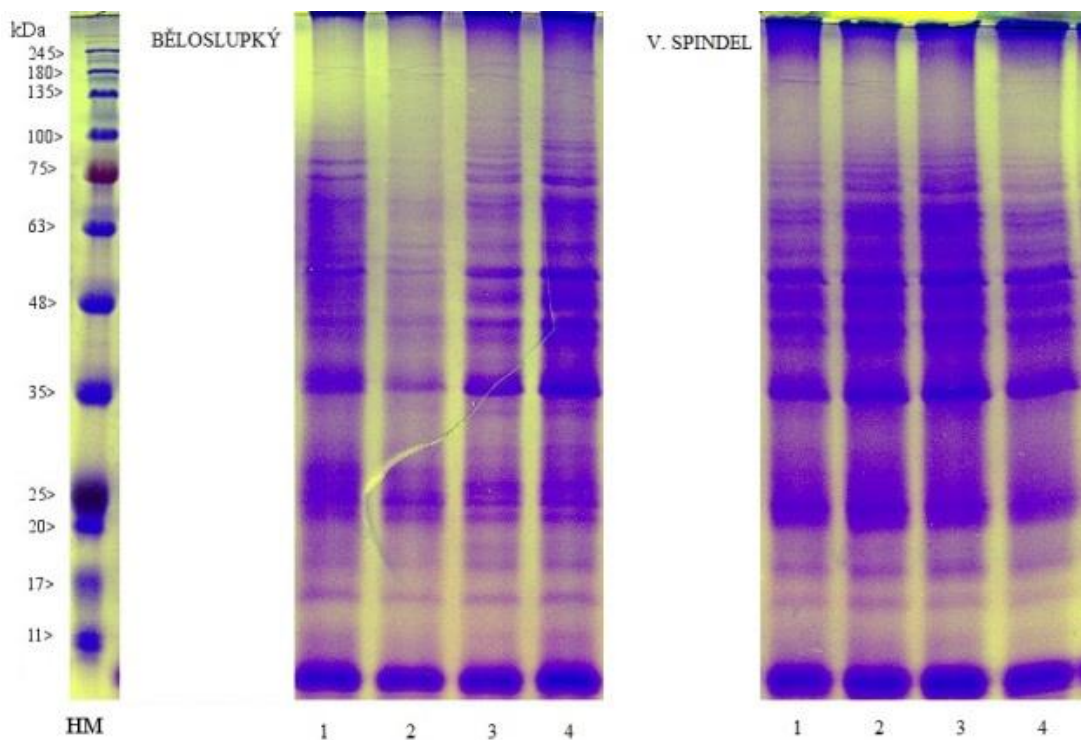
5.7 Vyhodnocení proteinového profilu pomocí SDS-PAGE

Nejvýraznější proteinové pruhy jsou viditelné v profilu na úrovni < 11, 25, 35, 45, 50, 70, 75, 85, 100 kDa. Tyto pruhy jsou jasné u vzorků všech klonů a to i v rámci rozdílné doby sklizně (jaro, podzim). Z již uvedených proteinů jsou nejvýrazněji zastoupeny ty o molekulové hmotnosti < 11 kDa. V těchto místech jsou na gelech zóny zahrnující, patrně více pruhů. Určité rozdíly mezi klony lze pozorovat v oblasti proteinů o hmotnosti 100 – 125 kDa. Tyto pruhy se neobjevují, či nejsou zřetelné u klonu Karina, C63, Běloslupký, V. Spindel, to napovídá o absenci proteinů o této molekulové hmotnosti, či o malém množství takovýchto proteinů u těchto klonů. Další rozdíly mezi klony jsou patrné v oblasti proteinových pruhů o hmotnosti 15 – 18 kDa, intenzivněji jsou zabarvené u genotypů Lola, Refla, Běloslupký, V. Spindel a Gigant a lze podle toho soudit, že sušina těchto genotypů obsahuje větší množství proteinů o této hmotnosti.

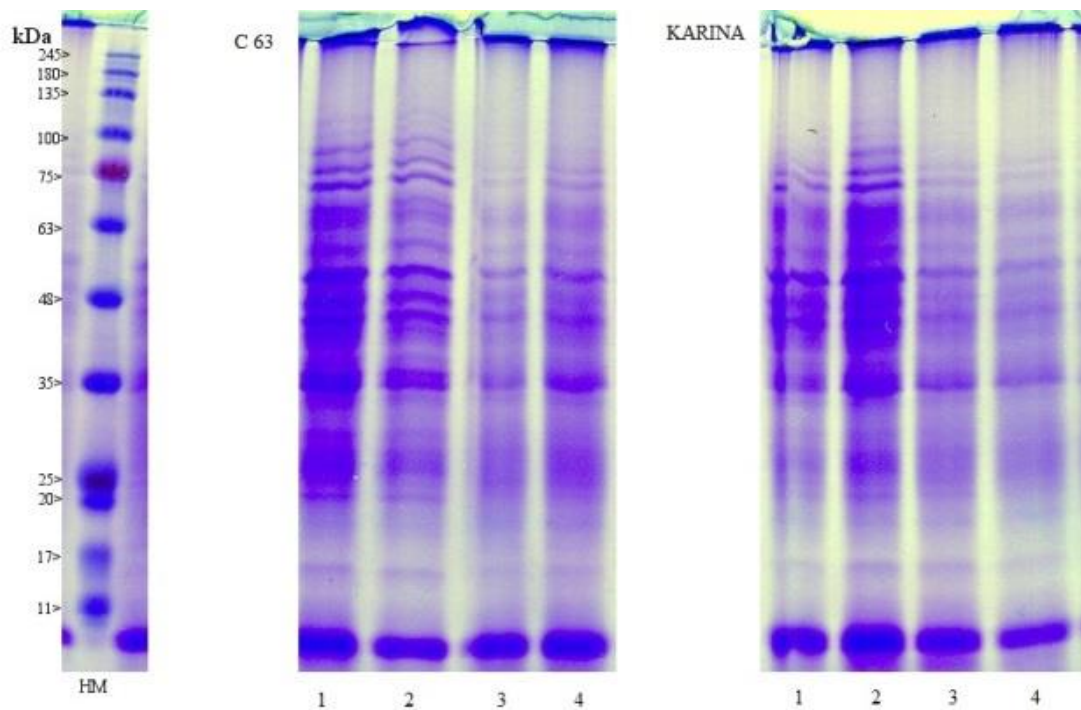
Rozdíly mezi jednotlivými sklizněmi vzorků jsou špatně zřetelné. Například u klonů C63 a Karina dochází vlivem rozdílné sklizně k odbourání proteinů o hmotnostech 58 – 100 kDa. Dalším důsledkem přezimování může být celkové snížení obsahu proteinů celého spektra. Ukázkou jsou klony Refla, Karina a C63, kdy je u vzorků z jarní sklizně snížena intenzita zabarvení proteinových pruhů.



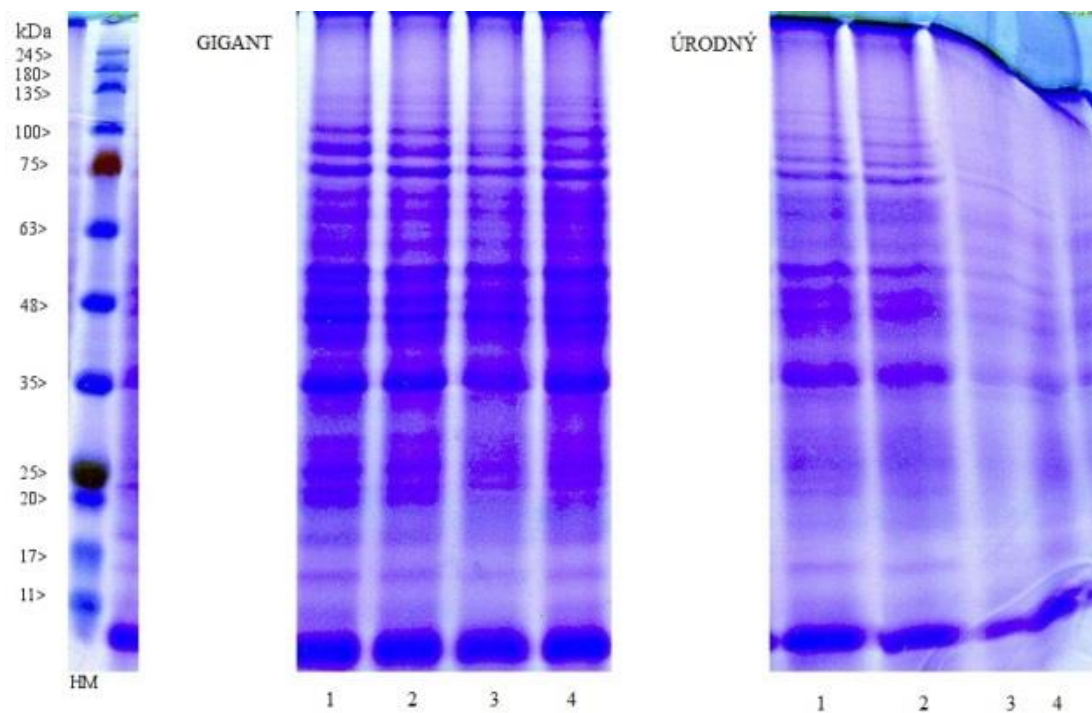
Obr. č. 4 – Digitalizovaný a upravený gel se vzorky nanesenými v tomto pořadí: klon LOLA 1-2 sklizeň podzim 2013, 3-4 sklizeň jaro 2014 (vždy dvě opakování); klon REFLA 1-2 sklizeň podzim 2013, 3-4 sklizeň jaro 2014 (vždy dvě opakování). Pozn. HM – hmotnostní marker



Obr. č. 5 – Digitalizovaný a upravený gel se vzorky nanesenými v tomto pořadí: klon BĚLOSLUPKÝ 1-2 sklizeň podzim 2013, 3-4 sklizeň jaro 2014 (vždy dvě opakování); klon V. SPINDEL 1-2 sklizeň podzim 2013, 3-4 sklizeň jaro 2014 (vždy dvě opakování). Pozn. HM – hmotnostní marker



Obr. č. 6 – Digitalizovaný a upravený gel se vzorky nanesenými v tomto pořadí: klon C 63 1-2 sklizeň podzim 2013, 3-4 sklizeň jaro 2014, (vždy dvě opakování); klon KARINA 1-2 sklizeň podzim 2013, 3-4 sklizeň jaro 2014 (vždy dvě opakování). Pozn. HM – hmotnostní marker



Obr. č. 7 – Digitalizovaný a upravený gel se vzorky nanesenými v tomto pořadí: klon GIGANT 1-2 sklizeň podzim 2013, 3-4 sklizeň jaro 2014 (vždy dvě opakování); klon ÚRODNÝ 1-2 sklizeň podzim 2013, 3-4 sklizeň jaro 2014 (vždy dvě opakování). Pozn. HM – hmotnostní marker

6. Diskuze

Průměrná hmotnost hlízy klonu

Průměrná hmotnost jedné hlízy z podzimní sklizně kolísala v závislosti na klonu mezi hodnotami 28,9 – 56,1 g, největší hodnota byla u genotypu Lola, nejnižší u V. Spindel. Literatura uvádí, že průměrná hmotnost hlízy topinamburu hlíznatého se pohybuje mezi 20 – 140 g a v mé studii to bylo potvrzeno (Li, Chan-halbrendt 2009). V bakalářské práci Vaněček (2013) je dáno, že průměrná hmotnost hlízy jednotlivých klonů (stejný soubor genotypů), sklizených na podzim, byla mezi hodnotami 34,7 – 73,6 g. Genotyp s největší průměrnou hmotností hlízy je Úrodný a genotyp s nejmenší průměrnou hmotností V. Spindel. Hodnoty naměřené v mé studii jsou podobné (28,9 – 56,1 g), u obou prací dosahuje nejmenší průměrné hmotnosti v rámci podzimní sklizně právě klon V. Spindel, což by mohlo být způsobeno vlivem genotypu. Rozdílná velikost parametru u klonu Lola je s největší pravděpodobností způsobena podmínkami pěstování v roce 2013.

Variabilita hlíz topinamburu, ve smyslu tvaru, velikosti a tedy i jejich hmotnosti je v rámci klonu vysoká (Hamouz, Lachman 2010). Vzestup průměrné hmotnosti hlízy během přezimování nemohl být způsoben přírůstkem hlíz, jelikož v průběhu zimy jsou v dormantním stavu, kdy metabolická aktivita hlíz je pozastavena (Kays, Nottingham 2007). Vzestup průměrné hmotnosti hlízy u klonů jarní sklizně mohl být způsoben lidským faktorem, tj. výběrem hlíz určených k našim účelům.

Zastoupení sušiny v hlízách

Dalším analyzovaným parametrem bylo procentuální zastoupení sušiny v hlízách jednotlivých klonů. Bárta, Diviš (2008) uvádí, že procentuální zastoupení sušiny se v hlízách topinamburu pohybuje mezi 15 – 25 %, k přibližně stejným výsledkům jsem dospěla i já (19,9 – 29,9%).

Kasal a kol. (2013) stanovili nejvyšší obsah sušiny v hlízách klonu Gigant (23%) a nejnižší obsah sušiny u genotypu C 63 (20,3%). V práci Vaněček (2013) byl stanoven nejvyšší obsah sušiny v hlízách variety V. Spindel (22,36%) a nejnižší obsah v hlízách genotypu Lola (18,85%). V rámci mé studie bylo zjištěno, že

nejvyšší obsah sušiny byl u klonu Gigant (29,10%) a nejnižší obsah u klonu Lola (19,9%). Rozdíly v mé studii a studiích Vaněček (2013) a Kasal (2013) jsou s největší pravděpodobností způsobené odlišnými podmínkami prostředí při pěstování rostlin (Denoroy, 1996), popřípadě zprůměrováním hodnot mezi jednotlivými ročníky v práci Kasal (2013).

Statisticky nejvyšší obsah sušiny v hlízách klonu Gigant by mohl být způsoben vlivem rozdílné ranosti této odrůdy (Vaněček, 2013).

Z pohledu změn mezi sklizněmi docházelo ke snížení obsahu sušiny u většiny klonů. Tento trend odpovídá výsledkům studie, kterou provedli Bacon a Loxley (1952).

Obsah bílkovin v čerstvé hmotě hlíz

V rámci podzimní sklizně se obsah bílkovin v čerstvé hmotě hlíz pohyboval mezi hodnotami 1,13 – 1,68 %. Nejvyšší obsah byl stanoven u klonu Běloslupký a nejnižší u klonu Karina. Výsledky korespondují s tvrzením, že obsah bílkovin v čerstvé hmotě hlíz topinamburu se pohybuje okolo 2 % (Terzić, Atlagić 2009).

Obsah bílkovin v čerstvé hmotě hlíz se u většiny klonů vlivem přezimování snížil, pouze u genotypu Karina a Úrodný tomu bylo naopak. Del Duca a kol. (2000) sledovali změny obsahu bílkovin v čerstvé hmotě hlíz během dormance (přezimování) a zjistili, že obsah bílkovin v průběhu klesá. V mé studii jsem dospěla ke stejným závěrům.

Obsah dusíkatých látek v čerstvé hmotě hlíz

Pomocí Dumasovy metody byl stanoven celkový obsah dusíku v sušině, který byl přepočítán koeficientem 6,25 na obsah dusíkatých látek v sušině hlíz. Obsah dusíkatých látek v sušině byl na závěr převeden na procento zastoupení v čerstvé hmotě.

Obsah dusíkatých látek v hlízách klonů sklizených na podzim se pohyboval mezi hodnotami 0,97 % (Běloslupký) a 1,48 % (Gigant). Mnou stanovené hodnoty přibližně odpovídají hodnotám 1,16 – 2,44 % udávaných ve studii Bárta, Diviš (2008).

Během přezimování hlíz došlo k poklesu obsahu dusíkatých látek v hlízách všech analyzovaných klonů. S tímto trendem souvisí pokles bílkovin v hlízách topinamburu, který byl u většiny klonů potvrzen.

Vzhledem k výsledkům mé studie a výsledkům studie Vaněček (2013), kdy procentuální zastoupení dusíkatých látek bylo nižší, než procentuální zastoupení bílkovin, by se případné další studium mělo věnovat vhodnosti použití koeficientu 6,25. Koeficient je využíván za předpokladu, že bílkoviny obsažené v analyzovaném materiálu jsou z 16 % tvořené dusíkem a běžně se používá pro stanovení dusíkatých látek v hlízách bramboru. Jiné koeficienty jsou stanoveny například pro mléko a živočišné moučky (Jeroch *et al.* 2006).

Další možnou příčinou problému by mohlo být využití metody BCA (využito ve studii Vaněček, 2013) pro stanovení bílkovin. Reagencie kitu, který je používán pro BCA metodu mohou interferovat (být v rozporu) s určitými látkami ve vzorku. Mezi tyto látky patří železo, tuky, kyselina askorbová a další (manuál - Pierce protein assay kit).

Vhodnost využití metody BCA pro stanovení celkového množství bílkovin v hlízách topinamburu hlíznatého, popřípadě využití koeficientu 6,25 pro přepočítání celkového dusíku na obsah dusíkatých látek v hlízách, by měla být tématem dalšího výzkumu.

Obsah bezdusíkatých látek

Obsah bezdusíkatých látek byl stanoven jako rozdíl celkového množství sušiny a dusíkatých látek. Důvodem stanovení bezdusíkatých látek nepřímou cestou bylo přiblížení se obsahu sacharidů v hlízách topinamburu, jelikož sacharidy jsou součástí BNL.

Nejvyšší obsah bezdusíkatých látek byl stanoven v hlízách klonu Gigant (27%), nejnižší v hlízách klonu Lola (18,61%). Vlivem přezimování se obsah bezdusíkatých látek v hlízách většiny klonů snížil, pouze u klonu Karina a Lola došlo k jejich nárůstu. V dostupné literatuře se neobjevují údaje o parametru BNL.

Většina studií se zabývá samotným obsahem sacharidů, který je pro využití hlíz stěžejní, proto by měl být zhodnocen vliv genotypu (stejný soubor klonů) a období sklizně především na obsah a strukturu sacharidů zastoupených v hlízách.

Proteinový profil SDS - PAGE

Pomocí proteinové analýzy SDS-PAGE byly vytvořeny proteinové profily jednotlivých analyzovaných klonů. Z hlediska kvality, tedy hmotnosti (kDa) proteinů, které se v hlízách vyskytují, se klony mezi sebou výrazně neliší. Nejvíce viditelné jsou proteinové pruhy o velikosti < 11, 25, 35, 45, 50, 70, 75, 85, 100 kDa.

V proteinovém profilu vzorků z odlišných sklizní, lze určit mírné rozdíly v množství proteinů. Konkrétně došlo ke snížení obsahu proteinů, což je patrné jen u některých odrůd.

Závěrem celé diskuze bych chtěla poznamenat, že změny všech parametrů způsobených vlivem přezimování by měly být potvrzeny ročníkovým opakováním.

7. Závěr

Výsledky experimentálního hodnocení parametrů chemického složení hlíz vybraných genotypů v rámci podzimní sklizně a jejich změny v průběhu přezimování jsou následující:

1) Nejvyšší obsah sušiny byl analyzován v hlízách klonu Gigant (29,1%), nejnižší obsah sušiny byl stanoven v hlízách klonu Lola (19,9%). Vlivem přezimování obsah sušiny v hlízách většiny klonů klesl, pouze u klonů Karina a Lola tomu bylo naopak. V rámci jarní sklizně byl nevyšší obsah sušiny analyzován v hlízách klonu Gigant (25,0%), nejnižší v hlízách klonu Lola (20,4%).

2) Nejvyšší obsah bílkovin v čerstvé hmotě hlíz byl analyzován u klonu Běloslupký (1,68%). Nejmenší množství bílkovin obsahovaly hlízy klonu Karina (1,13%). Vlivem rozdílné sklizně hlíz byl zaznamenán pokles obsahu bílkovin u pěti z osmi klonů. U dvojice klonů Karina a Úrodný se množství bílkovin v sušině zvýšilo. Statistickými metodami byl prokázán přímý vztah mezi obsahem sušiny v hlízách a obsahem bílkovin. Současně byl potvrzen vliv genotypu a doby sklizně na tento parametr.

3) V rámci podzimní sklizně byl nejvyšší obsah dusíkatých látek stanoven v hlízách klonu Gigant (1,48%). Nejnižší obsah dusíkatých látek byl určen v hlízách klonu Běloslupký (0,95%). Během přezimování se procento dusíkatých látek v hlízách všech klonů snížilo.

4) Největší část čerstvé hmoty hlíz tvořily bezdusíkaté látky u klonu Gigant (27,62%), nejmenší část u klonu Karina (20,42%). Během přezimování se obsah bezdusíkatých látek snížil u 6 z 8 klonů, pouze u klonů Karina a Lola bylo analyzováno mírné zvýšení.

5) Proteinové profily vytvořené pomocí metody SDS-PAGE se mezi jednotlivými klony příliš nelišily. U všech klonů byly na gelech zřetelné proteinové pruhy o velikostech <11, 25, 35, 45, 50, 70, 75, 85, 100 kDa. U proteinových profilů klonů Gigant, Úrodný Lola a Refla jsou špatně zřetelné i proteiny o velikostech 100 – 125

kDa. Snížení celkového obsahu proteinů vlivem přezimování je zřejmé pouze u klonu Refla, Karina a C 63.

Pro ověření výsledků by bylo vhodné analyzovat vzorky hlíz z několika dalších ročních opakování.

8. Seznam použité literatury

Bacon, J. S. D., Loxley, R. (1952) Seasonal changes in the carbonhydrates of the Jerusalem artichoke tubers, *Biochem* 51, s. 208-213

Bárta, J., Diviš, J. (2008) Topinambur, In: Prugar J. et al. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. Tisíciletí, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský a.s., Praha, 327 s.

Barthomeuf, C., Regeat, F., Pourrat, H. (1991) High-yield ethanol production from Jerusalem artichoke tuber, *World journal of microbiology and biotechnology* 7, s. 490-493

Ciešlik, E., Kopeć, A., Praznik, W. (2005) Healthy properties of Jerusalem artichoke flour (*Helianthus tuberosus*), *Elektronic journal of Polish Agricultural universities* 8 (2)

Ciešlik, E., Gebusia, A., Florkiewicz, A. (2001) The content of protein and of amino acids in Jerusalem artichoke tubers (*Helianthus tuberosus* L.) of red variety rote zonenkugel, *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 10 (4), s. 433-441

Clausen, R. M., Bach, V., Edelenbos, M. a Bertram, C. M. (2012) Metabolomic Reveals Drastic compositional Changes during Overwintering of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) Tubers, *J. Agric. Food Chem.* 66 (37), s. 9495-9501, DOI 10.1021/jf302067

Danilčenko, H., Jariene, E., Aleknavičiene, P. a Gajewski, M. (2008) Quality of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) Tuber in Relation to Storage Conditions, *Not. Hort. Agrobot* 32 (2), s. 23-27. ISSN 1842.4309

Del Duca, S., Creus, J. A., D'Orazi, D., Dondini L., Bregoli, A. M., Sarafini-Fracassini, D. (2002) Tubers Vegetative Stages and Cell Cycle in *Helianthus tuberosus*: Protein Pattern and their Modifications by Spermidine, *J. Plant Physiol* 156, s. 17-25

Denoroy, P. (1996) Physiology of *Helianthus tuberosus* L.; A model orientated view, *Biomass and bioenergy* 11 (1), s. 11-32

Edelman, J. a Jefford, T. G. (1968) The mechanism of fructans metabolism in higher plants as exemplified in *Helianthus tuberosus*, *New Phytol.* 67, s. 517-539

Hamouz, K., Lachman, J. (2010) Topinambur hlíznatý – *Helianthus tuberosus* L. In: Fernández, C. E., Viehmannová, I., Lachman, J., Hamouz, K., Pulkrábek, J., Brunerová, L. (ed.), *Netradiční plodiny pro diabetiky*, Grada Publishing, s. 29 – 49, ISBN 978-80-247-2811-7

Chi, Z. M., Zhang, T., Cao, T. S., Liu, X. Y., Cui, W. a Zhao, Ch. H. (2011) Biotechnological potential of inulin for bioprocesses, *Bioresource technology* 102, s. 4295-4303

Jeroch, H., Čermák, B., Kroupová, V. *Základy výživy a krmení hospodářských zvířat*, vyd. 1, České Budějovice, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Zemědělská fakulta, 2006, s. 290, ISBN 80-7040-873-1

Kára, J., Stražil, Z., Hutla, P., Ušáček, S., *Energetické rostliny, technologie pro pěstování a využití*, vyd. 3, Praha, Výzkumný ústav zemědělské techniky Praha, 2005, s. 81, ISBN 80-86884-06-6

Kasal, P., Čepl, J., Čížek, M. (2013) Metodika pro výběr optimálních technologických postupů pěstování topinamburu s důrazem na užitkový směr pěstování, Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s. r. o., Havlíčkův Brod, s. 21, ISBN 978-80-86940-45-8

Kays, S. J., Nottingham, S. F. (2008) Biology and Chemistry of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.), CRC Press, New York, 478 s., ISBN: 978-1-4200-4495-9

Kocisis, L., Liebhard P. a Praznik, W. (2007) Effect of seasonal changes on Content and Profile of Soluble Carbohydrates in Tubers of Different Varieties of Jerusalem Artichoke, *J. Agric. Food chem.* 55 (23), s. 9401-9408

Krivorotova, T. a Sereikaite, J. (2014) Seasonal changes of carbohydrates composition in the tubers of Jerusalem artichoke, *Acta Physiol plant* 36, s. 79-83, DOI 10.1007/s11738-013-1388-5

Lee, Chao-chou, A potential solar crop for food and energy supplies , National Taiwan University, 1973

Li, S. Z., Chan-Halbrendt, C., (2009) Ethanol production in (the) People's Republic of China: potential and technologies, *Appl. Energy* 86, s. 162–169

Martin, J. H., Waldren, R. P., Stamp, D. L. (2002) Principles of Field Crop Production, Pearson Prentice Hall, New Jersey (4. vyd.), s. 954, ISBN 9780130259677

Munro, D.B., a Small, E. (1997) Vegetables of Canada. NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada, s. 417

Muzzarelli, R. A. A., Boudrant, J., Meyer, D., Manno, N., DeMarchis, M. (2011) Current views on fungal chitin/chitinosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: A tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial, *Carbohydrate Polymers* 87, s. 995-1012

Panchev, I., Delchev, N., Kovacheva, D. a Slavov, A. (2011) Physicochemical characteristics of inulins obtained from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.), *Eur Food Res Technol* 233, s. 889-896

Pierce BCA Protein Assay kit – instructions [online], thermo scientific, [cit. 2014-05-03], Dostupné z WWW: <www.thermoscientific.com/pierce>

Pulkrábek, J., Okopaniny [online], Praha ČZU katedra rostlinné výroby, [cit. 2013-09-03], SMEP – skripta ČZU. Dostupné z WWW: <http://etext.czu.cz/php/skripta/skriptum.php?titul_key=5>

Rakhimov, D. A., Zhauynbaeva, K. S., Mezhlumyan, L. G., Syrov, V. N., Khushbaktova, Z. A., Salikhov, S. A., Mavlyanova, R. F. (2001) Carbohydrate and protein components of *Helianthus tuberosus* and their biological activity, *Chemistry of Natural Compounds* 47 (4), s. 504-506

Saengthongpinit, W., Sajjaanantakul, T. (2005) Influence of harvest time and storage temperature on characteristics of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers, *Postharvest Biology and technology* 37, s. 93-100, ISSN 1842.4309

Soja, G., Dersch, G., Praznik, W. (1990) Harvest Dates, Fertilizer and Varietal Effects on Yield, Concentration and Molecular Distribution of Fructan in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.), *J. Agronomy & crop science* 165, s. 181-189, ISSN 0931-2250

Stauffer, M. D., Chubey, B. B., Dorrell, D. G. (1980) Growth, yield and compositional characteristics of Jerusalem artichoke as it relates to biomass production, s. 193-203

Škoda, A., Záborská, J., Pokorná, D., Dohányos, M. (2010) Topinambur hlíznatý jako substrát pro bioplynové stanice. *Biom.cz* [online], [cit. 2014-04-01]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/topinambur-hliznaty-jako-substrat-pro-bioplynove-stanice>>. ISSN: 1801-2655

Terzić, S., Atlagić, J. (2009) Nitrogen and sugar content variability in tubers of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*), *Genetika* 41 (3), s. 289-295

Topinambur hlíznatý (*Helianthus tuberosus* L.) - netradiční alternativní plodina pro průmyslové a energetické využití. *Biom.cz* [online], [cit. 2014-04-12]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/topinambur-hliznaty-helianthus-tuberosus-l-netradicni-alternativni-plodina-pro-prumyslove-a-energeticke-vyuziti>>. ISSN: 1801-2655

Van Laere, A. a Van den Ende, W. (2002) Inulin metabolism in dicots: chicory as a model system, *Plant, Cell, and environment* 25, s. 803-813

Vaněček Petr, Hodnocení vlivu genotypu na strukturu výnosu a vybrané parametry hlíz u topinamburu (*Helianthus tuberosus* L.), České Budějovice, Jihočeská univerzita – Zemědělská fakulta, 2013, s. 48, vedoucí: doc. Ing. Jan Bárta, Ph.D.

Velíšek, J. (2002) Chemie potravin 1. Vydání 2. Tábor: OSSIS, s. 331, ISBN 80-86659-00-3

9. Přílohy

Tabulka č. 8 – Fisherův LSD test – genotypy a období jejich sklizně z hlediska procentuálního obsahu sušiny v hlízách

klon	sklizeň	obsah sušiny	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Lola	podzim	19,90	A									A
Lola	jaro	20,40	A	B								AB
Karina	podzim	21,40		B	C							BC
C 63	jaro	21,40		B	C							BC
Úrodný	jaro	21,90			C	D						CD
Refla	jaro	22,30			C	D						CD
Běloslupký	jaro	22,35			C	D						CD
Karina	jaro	22,40			C	D						CD
Běloslupký	podzim	22,60				D	E					DE
C 63	podzim	23,75					E	F				EF
Refla	podzim	24,00						F	G			FG
V Spindel	jaro	24,75						F	G			FG
Gigant	jaro	25,00							G			G
V Spindel	podzim	26,35								H		H
Úrodný	podzim	27,45								H		H
Gigant	podzim	29,10									CH	CH

Tabulka č. 9 – Fisherův LSD test - genotypy a období jejich sklizně vzhledem k procentuálnímu zastoupení bílkovin v čerstvé hmotě

klon	sklizeň	obsah bílkovin (% č.hm.)	1	2	3	4	5	6	7	8	
C 63	jaro	1,08	A								A
Karina	podzim	1,13	A	B							AB
Refla	jaro	1,13	A	B							AB
Gigant	jaro	1,15	A	B	C						ABC
Lola	jaro	1,17	A	B	C	D					ABCD
Úrodný	podzim	1,19	A	B	C	D	E				ABCDE
Úrodný	jaro	1,25		B	C	D	E				BCDE
Karina	jaro	1,29			C	D	E				CDE
Běloslupký	jaro	1,31				D	E				DE
C 63	podzim	1,32					E				E
Refla	podzim	1,49						F			F
Lola	podzim	1,52						F	G		FG
V spindel	jaro	1,58						F	G	H	FGH
Gigant	podzim	1,62						F	G	H	FGH
V spindel	podzim	1,66							G	H	GH
Běloslupký	podzim	1,68								H	H

Tabulka č. 10 – Fisherův LSD test - genotypy a období jejich sklizně vzhledem k procentuálnímu zastoupení dusíkatých látek v čerstvé hmotě

klon	sklizeň	obsah NL - N*6,25 (% č.hm.)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Karina	jaro	0,78	A										A
Refla	jaro	0,86		B									B
Běloslupký	jaro	0,89		B									B
V spindel	jaro	0,90		B	C								BC
Úrodný	jaro	0,91		B	C	D							BCD
Běloslupký	podzim	0,95			C	D	E						CDE
V spindel	podzim	0,97				D	E						DE
Karina	podzim	0,98					E	F					EF
C 63	jaro	1,00					E	F					EF
Refla	podzim	1,04						F					F
Lola	jaro	1,13							G				G
Úrodný	podzim	1,18							G	H			GH
C 63	podzim	1,19								H			H
Gigant	jaro	1,21								H			H
Lola	podzim	1,29									CH		CH
Gigant	podzim	1,48										I	I

Tabulka č. 11 – Fisherův LSD test - genotypy a období jejich sklizně vzhledem k obsahu bezdusíkatých látek v čerstvé hmotě

klon	sklizeň	obsah BNL (% č.hm.)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Lola	podzim	18,61	A									A
Lola	jaro	19,27	A	B								AB
C 63	jaro	20,40		B	C							BC
Karina	podzim	20,42		B	C							BC
Úrodný	jaro	20,99			C	D						CD
Refla	jaro	21,44			C	D	E					CDE
Běloslupký	jaro	21,46			C	D	E					CDE
Karina	jaro	21,62				D	E					DE
Běloslupký	podzim	21,65				D	E					DE
C 63	podzim	22,56					E	F				EF
Refla	podzim	22,96						F	G			FG
Gigant	jaro	23,79							G			G
V spindel	jaro	23,85							G			G
V spindel	podzim	25,38								H		H
Úrodný	podzim	26,27								H		H
Gigant	podzim	27,62									CH	CH