

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zahradnictví



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Odrůdové rozdíly v obsahu dusičnanů u vybraného
sortimentu špenátu (*Spinacia oleracea*)**

Diplomová práce

Bc. Viktor Janouch

Výživa a potraviny

doc. Ing. Bc. Martin Koudela, Ph.D.

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Odrůdové rozdíly v obsahu dusičnanů u vybraného sortimentu špenátu (*Spinacia oleracea*)" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 26.4.2021

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval doc. Ing. Bc. Martinu Koudelovi, Ph.D. za jeho cenné rady a odborné vedení během zpracovávání diplomové práce. Dále bych rád poděkoval Ing. Věře Kofránkové a Ing. Marku Kubíčkoví za jejich ochotu a rady v průběhu celé experimentální části. V neposlední řadě patří velké díky mé rodině za veškerou podporu v průběhu celého studia.

Odrůdové rozdíly v obsahu dusičnanů u vybraného sortimentu špenátu (*Spinacia oleracea*)

Souhrn

V této diplomové práci byl zkoumán vliv termínu výsevu špenátu na obsah dusičnanů a askorbové kyseliny, včetně možných rozdílů mezi jednotlivými odrůdami. Špenát setý (*Spinacia oleracea*) slouží jako hospodářsky významná zelenina, která obsahuje celou řadu minerálů a vitamínů prospěšných pro člověka. Kultivace špenátu probíhala v Demonstrační a výzkumné stanici Troji katedry zahradnictví Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze. Během experimentu bylo použito pět odrůd špenátu setého – 'Harp F1', 'La Paz F1', 'Lorelay', 'Matador' a 'Winterriesen'; a byly určeny dva termíny výsevu – 13.8. a 27.8.2020. Ke slízení se přistoupilo v momentě, kdy všechny rostliny v rámci termínu dosáhly sklizňové zralosti. První termín pěstování byl sklizen v říjnu, za 68 dní od výsevu. Druhý termín byl pak sklizen v listopadu, za 89 dní od výsevu. Druhý termín špenátu tak potřeboval výrazně delší dobu kultivace. Obsah dusičnanů i askorbové kyseliny byl měřen pomocí metody Reflectoquant® System (Merck). Průměrný obsah dusičnanů byl v první termínu pěstování 266 mg/kg, u druhé termínu pak 156 mg/kg a došlo tak z významnému poklesu v obsahu dusičnanů. Průměrný obsah askorbové kyseliny byl v první termínu pěstování 1250 mg/kg, u druhé termínu pak 787 mg/kg a opět tak došlo z výraznému poklesu. Očekávali jsme, že obsah dusičnanů i askorbové kyseliny bude v pozdějším termínu vyšší. V obou případech jsme ale pozorovali přesně opačný výsledky. Snížené množství dusičnanů bylo pravděpodobně způsobeno delší kultivací špenátu z druhého termínu. Nižší obsah dusičnanů pak rostlina nepotřebovala kompenzovat zvýšenou tvorbou askorbové kyseliny. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny dvoufaktorovou analýzou variance v programu Statistica 12.0 (StatSoft). Na určení, zda jsou mezi odrůdami významné rozdíly, byly výsledky statisticky vyhodnoceny pomocí LSD testu. Rozdíly mezi odrůdami byly statisticky významné, a to jak v obsahu dusičnanů, tak i v obsahu askorbové kyseliny. Na závěr byl z výsledků měření vypočítán askorbát-nitrátový index. Všechny odrůdy u obou termínu pěstování byly vyhodnoceny jako zdravotně nezávadné. Volba určité odrůdy anebo optimalizace termínu výsevu a sklizně může mít značný vliv na nutriční kvalitu pěstovaného špenátu. Další prohloubení znalostí o vlivu odrůdy a termínu výsevu špenátu tak může přispět k lepší výživě i zdraví člověka.

Klíčová slova: špenát setý, dusičnany, askorbová kyselina, odrůdové rozdíly

Cultivar differences of nitrate content in selected spinach (*Spinacia oleracea*) assortment

Summary

In this diploma thesis, the influence of the sowing term of spinach on the content of nitrates and ascorbic acid was investigated, including possible differences between varieties. Spinach (*Spinacia oleracea*) is used as an economically important vegetable that contains a variety of minerals and vitamins beneficial to human health. Spinach cultivation took place in the Demonstration and Research Station Troja of the Department of Horticulture, Faculty of Agrobiological Sciences, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague. Five cultivars of spinach were used for the experiment – 'Harp F1', 'La Paz F1', 'Lorelay', 'Matador' and 'Winterriesen'; and two sowing dates were determined – 13.8. and 27.8.2020. The harvesting was started when all plants within one term reached harvest maturity. The first term of cultivation was harvested in October, 68 days after sowing. The second term was harvested in November, 89 days after sowing. The second term of spinach thus needed a significantly longer cultivation time. The content of nitrates and ascorbic acid was measured using the Reflectoquant® System (Merck). The average nitrate content in the first term of cultivation was 266 mg/kg, in the second term it was 156 mg/kg and there was a significant decrease in the nitrate content. The average content of ascorbic acid in the first term of cultivation was 1250 mg/kg, in the second term it was 787 mg/kg and there was a significant decrease in ascorbic acid. We expected that the content of nitrates and ascorbic acid would be higher in the second term of cultivation. In both cases, however, we observed the exact opposite results. The reduced amount of nitrates was probably caused by the longer cultivation of spinach from the second term of cultivation. The lower content of nitrates did not need to be compensated by the increased production of ascorbic acid and perhaps therefore there was a lower content of ascorbic acid as well. The results were statistically evaluated by two-factor analysis of variance in the program Statistica 12.0 (StatSoft). To determine whether there are significant differences between varieties, the results were statistically evaluated using the LSD test. The differences between the varieties were statistically significant, both in the nitrate content and in the ascorbic acid content. Finally, the ascorbate-nitrate index was assessed. All varieties in both terms of cultivation were evaluated as harmless to health. The choice of a certain variety or the optimization of the date of sowing and the time of harvest could have a significant effect on the nutritional quality of cultivated spinach. Further research might contribute to a better understanding the effects of different cultivars and sowing dates to nutrition and human health.

Keywords: spinach, nitrates, ascorbic acid, cultivar differences

Obsah

| | | |
|------------|--|-----------|
| 1 | Úvod | 8 |
| 2 | Vědecká hypotéza a cíle práce | 9 |
| 3 | Literární rešerše | 10 |
| 3.1 | Rod špenát (<i>Spinacia</i>) | 10 |
| 3.1.1 | Špenát setý (<i>Spinacia oleracea</i>) | 10 |
| 3.1.2 | Další druhy špenátu | 13 |
| 3.2 | Dusík | 14 |
| 3.2.1 | Koloběh dusíku..... | 15 |
| 3.3 | Dusičnany | 17 |
| 3.4 | Dusitany | 18 |
| 3.5 | Oxid dusnatý | 19 |
| 3.6 | Metabolismus vybraných sloučenin dusíku v lidském těle | 20 |
| 3.6.1 | Přeměna dusičnanů na dusitany a na oxid dusnatý..... | 20 |
| 3.6.2 | Syntéza oxidu dusnatého pomocí syntáz oxidu dusnatého..... | 21 |
| 3.7 | Rizika dusičnanů | 23 |
| 3.7.1 | Methemoglobinémie | 23 |
| 3.7.2 | Karcinogenita..... | 24 |
| 3.8 | Faktory ovlivňující morfologické znaky a nutriční složení špenátu | 25 |
| 3.8.1 | Odrůda | 25 |
| 3.8.2 | Způsob pěstování | 25 |
| 3.8.3 | Hnojení | 25 |
| 3.8.4 | Termín výsevu a vliv teploty | 26 |
| 3.8.5 | Zavlažování..... | 27 |
| 3.8.6 | Čas sklizně | 28 |
| 3.8.7 | Škůdci | 28 |
| 4 | Materiál a metody | 29 |
| 4.1 | Stanoviště | 29 |
| 4.2 | Předplodiny a hnojení | 29 |
| 4.3 | Meteorologická data | 29 |
| 4.4 | Rostlinný materiál | 30 |
| 4.5 | Výsev | 31 |
| 4.6 | Sklizeň | 31 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 4.7 | Laboratorní měření..... | 32 |
| 4.7.1 | Přístroje..... | 32 |
| 4.7.2 | Chemikálie..... | 32 |
| 4.7.3 | Stanovení obsahu dusičnanů..... | 32 |
| 4.7.4 | Stanovení obsahu askorbové kyseliny..... | 32 |
| 4.7.5 | Stanovení obsahu sušiny..... | 32 |
| 4.8 | Statistické vyhodnocení..... | 33 |
| 5 | Výsledky..... | 34 |
| 5.1 | Sklizeň a délka kultivace..... | 34 |
| 5.2 | Vyhodnocení obsahu dusičnanů..... | 35 |
| 5.3 | Vyhodnocení obsahu askorbové kyseliny..... | 38 |
| 5.4 | Vyhodnocení obsahu sušiny..... | 41 |
| 5.5 | Askorbát-nitrátový index..... | 44 |
| 6 | Diskuze..... | 45 |
| 7 | Závěr..... | 49 |
| 8 | Seznam literatury..... | 50 |
| 9 | Seznam tabulek a seznam obrázků..... | 60 |
| 10 | Seznam zkratk použitých v práci..... | 62 |
| 11 | Samostatné přílohy..... | I |

1 Úvod

Špenát setý neboli *Spinacia oleracea* je hospodářsky významná plodina. V Evropě se tato rostlina pěstuje již několik staletí nejen jako listová zelenina vhodná ke stravování, ale i jako léčivá bylina. Špenát se v tradiční medicíně používá proti bolesti kloubů, při léčbě horečky i zánětů nebo jako prevence proti arterioskleróze (Salehi et al. 2019).

Špenát vykazuje mimo jiné antioxidační účinky a obsahuje poměrně velké množství vitaminů a minerálů, které napomáhají ke zdraví člověka. Je to také jedna ze zelenin, která přirozeně obsahuje nejvíce dusičnanů.

Dusičnany se v těle snadno metabolizují na dusitany, potažmo až na oxid dusnatý. Dusičnany nepředstavují při vyváženém stravování žádné nebezpečí i proto, že se poměrně rychle vylučují z těla močí (Gupta et al. 2017). Dlouhodobé překročení doporučené denní dávky však může způsobit závažné onemocnění. Podle Fan (2014) mohou dusičnany ovlivňovat hormony štítné žlázy a způsobit tak mimo jiné celkové zhoršení imunitního systému těla. Nejvíce obezřetní bychom měli být u novorozenců a malých dětí, protože přijaté dusičnany a dusitany mohou vyvolat methemoglobinémii. Při tomto onemocnění dochází ke snížení přenosu kyslíku do tkání a projevuje se namodráním částí těla. Pokud by nedošlo k včasné léčbě může nastat kóma nebo až smrt (Kutayli & Silberstein 2007). Zvýšený příjem dusičnanů je také spojen se zvýšeným rizikem vzniku rakoviny. Dusičnany jako takové nejsou pro tělo karcinogenní, nicméně metabolity, které dusičnany v těle produkují, mohou tvořit karcinogenní N-nitrososloučeniny.

Dusičnany ale nepřestávají pouze zdravotní riziko, jejich význam pro správné fungování lidského těla je zcela zásadní. Oxid dusnatý, který je z části vytvářen přímo z dusičnanů a dusitanů, má v lidském těle významný vliv na celou řadu procesů jako je například regulace uvolňování hladkého svalstva nebo při reakci imunitního systému (Sindelar & Milkowski 2011).

Podle některých studií je také rozdíl mezi dusičnany zkonsumovanými ze zeleniny a těmi z masných výrobků. Dusičnany a dusitany zkonsumované ze zeleniny by dokonce mohly mít protirakovinotvorné účinky. Roli mohou hrát i další látky přítomné v zelenině jako jsou minerály nebo vitaminy včetně kyseliny askorbové. Askorbová kyselina je silný antioxidant, který působí proti kyslíkovým radikálům a podle Fan (2014) může snížit riziko rakoviny spojené s příjmem dusičnanů.

Hladinu dusičnanů ve špenátu ovlivňuje celá řada abiotických faktorů jako je termín výsevu, teplota, množství spadlých srážek, způsob hnojení půdy atd. Značné rozdíly lze pozorovat i mezi jednotlivých odrůdami špenátu. Lepší pochopení působení těchto faktorů může mít zásadní vliv na celkový obsah dusičnanů a tím i na výživu a zdraví člověka.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem této diplomové práce bylo vyhodnotit odrůdové rozdíly v obsahu dusičnanů u pěti vybraných odrůd špenátu setého (*Spinacia oleracea*) ve dvou různých termínech výsevu. Cíl práce byl doplněn o vyhodnocení obsahu askorbové kyseliny a sušiny v jednotlivých odrůdách.

Hypotézy:

1. Mezi odrůdami špenátu setého budou statisticky významné rozdíly v obsahu dusičnanů.
2. Termín výsevu významně ovlivní obsah dusičnanů ve špenátu.

3 Literární rešerše

3.1 Rod špenát (*Spinacia*)

Rod *Spinacia* neboli špenát patří do čeledi laskavcovitých (*Amaranthaceae*), ve starší taxonomii byl zařazen do čeledi merlíkovitých (*Chenopodiaceae*). Rod *Spinacia* pochází původně z jihozápadní Asie, pravděpodobně z Persie, což je oblast dnešního Íránu. Odtud se v 7. století našeho letopočtu rozšířil do Číny. Do Evropy se dostal o století později přes Španělsko a postupně se rozšířil i dál po Evropě (Vogel et al. 1996; Kiple & Ornelas 2000).

Nejnámějším a nejdůležitějším druhem špenátu je špenát setý.

3.1.1 Špenát setý (*Spinacia oleracea*)

Špenát setý, latinsky *Spinacia oleracea* L., někdy označován jako pravý špenát, běžně jen špenát (Obr. 1), patří mezi nejvíce výživnou listovou zeleninu. Je velmi univerzální, běžně se používá jako přísada do salátu, vařená příloha nebo jako součást mnoha dalších vařených masových a zeleninových pokrmů (Morelock & Correll 2008).



Obr. 1: *Spinacia oleracea* neboli špenát setý (Thromé 1885).

Jedná se o jednoletou diploidní rostlinu ($2n = 12$), která dorůstá do šířky 30–100 cm. Listy jsou jednoduché, převážně tmavě zelené barvy. Mohou být zaoblené až špičaté a ploché až zvlněné či bublinaté. Jsou uspořádané do růžice, ze které vychází lodyha. Uspořádání listů na stonku je střídavé. Typ květenství je lichoklas. Květy jsou nenápadné zelené barvy produkující malé suché plody – nažky. Původní tvar semene špenátu byl špičatý, dnes je standardním typem semeno kulaté (Morelock & Correll 2008; Britannica 2020; Pladias 2021).

Špenát roste nejlépe v mírně kyselé až mírně zásadité půdě (pH 6–8). Plodina má mělký kořenový systém a vyžaduje dobrou úroveň půdního dusíku, fosforu, draslíku a dostupnost vody, ale netoleruje přebytečnou vlhkost půdy (Morelock & Correll 2008).

Špenát se tradičně využívá nejen jako zdroj potravy, ale i pro své léčebné účely. Již od starověku se užívá v bylinkové medicíně, kde se používaly jeho listy proti únavě, nechutenství nebo k zrychlení rekonvalescence (Salehi et al. 2019).

Špenátu je přisuzováno nespočet biologických vlastností jako antimikrobiální, antifungální, protirakovinotvorné, hypoglykemické nebo kardioprotektivní. U některých odrůd špenátu bylo zjištěno, že dokážou regulovat expresi a aktivu několika genů, které se zapojují do metabolismu, proliferace nebo se podílí na antioxidační ochraně (Salehi et al. 2019).

Celá rostlina se používá jako lék na močové kameny. Listy se používají jako projímadlo, proti bolesti kloubů, nachlazení, zastavují zvracení nebo při léčbě horečky, zánětu střev a plic. Semena jsou užívána při léčbě horečky, vaginálních a močových výtocích nebo při onemocnění mozku a srdce. Špenát také pomáhá proti onemocnění ledvin, močového měchýře a jater. Obsahuje cholin a inositol, látky, které pomáhají při prevenci arteriosklerózy. Je také výborným zdrojem chlorofylu, který pomáhá při trávení a jedna z nejlepších zelenin na regulaci cholesterolu v krvi. Špenát je užíván i při prevenci nervových, jaterních a dýchacích onemocněních (Salehi et al. 2019).

Špenát je nutričně bohatá listová zelenina, protože obsahuje velké množství fytonutrientů jako jsou karotenoidy nebo polyfenoly včetně flavonoidů. Tyto fytonutrienty mají v lidském organismu protektivní účinky před řadou onemocnění a přispívají k celkovému zdraví člověka. Obsahuje velké množství dusičnanů, a tak jeho konzumace může mít kardioprotektivní efekt. Dochází totiž ke zvýšení koncentrace dusičnanů a dusitanů v těle a tím napomáhá snižovat krevní tlak. Vysoký příjem dusičnanů však může mít i negativní účinky (viz kapitola Rizika dusičnanů). Konzumace špenátu také nepřímo napomáhá proti obezitě. Tento efekt je způsoben jeho schopností indukovat sekreci hormonů sytosti a snižovat reakci glukózy po jídle (Bondonno et al. 2012; Rebello et al. 2015).

Špenát obsahuje folát a železité soli, které mají silný antiproliferační účinek v boji proti rakovině žaludku, tlustého střeva a plic. Tyto látky spolu s vlákninou a saponinem mohou mít také pozitivní vliv na anémii či zácpu. Rozpustná vláknina může sloužit jako prebiotikum, tzn. potrava pro střevní mikrobiom (Maeda et al. 2005; Gaikwad et al. 2010; Salehi et al. 2019).

Špenát obsahuje značnou koncentraci minerálních látek například železo, draslík, vápník, zinek, fosfor, hořčík, mangan anebo měď. Čerstvý špenát je také dobrým zdroje antioxidačních vitaminů a fytonutrientů jako vitamin A, C a E, lutein, zeaxanthin nebo β -karoten (Salehi et al. 2019).

Konkrétně naměřené hodnoty vybraných vitaminů a minerálů můžeme vidět na následující tabulce (Tab. 1).

Tab. 1: Výživové údaje špenátu setého včetně vybraných vitaminů a minerálů na 100 g jedlého podílu. Population Reference Intake (PRI) vyjadřuje příjem živin, který bude pravděpodobně dostatečný pro všechny zdravé lidi v populaci. Upraveno podle Salehi et al. (2019).

| Výživové údaje na 100 g | Nutriční hodnoty (USDA 2018) | PRI % (EFSA 2017) |
|-----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| Energie | 97 kJ/ 23 kcal | 1 |
| Tuky | 0,39 g | 0,5 |
| - z toho nasycené mastné kyseliny | 0,063 µg | - |
| Sacharidy | 3,63 g | 1,3 |
| - z toho cukry | 0,42 g | 0,1 |
| Bílkoviny | 2,86 g | 5 |
| Vláknina | 2,2 g | 9 |
| Vitaminy | | |
| Folát (listová kyselina B9) | 194 mg | 59 |
| Niacin (B3) | 0,724 mg | 45 |
| Pantotenová kyselina (B5) | 0,065 mg | 1 |
| Pyridoxin (B6) | 0,195 mg | 12 |
| Riboflavin (B2) | 0,189 mg | 12 |
| Thiamin (B1) | 0,078 mg | 78 |
| Vitamin A | 469 µg | 63 |
| Vitamin C | 28,1 mg | 26 |
| Vitamin E | 2,03 mg | 14 (DACH 2015) |
| Vitamin K | 482,9 µg | 690 |
| Minerály | | |
| Draslík | 558 mg | 16 |
| Fosfor | 49 mg | 9 |
| Hořčík | 79 mg | 23 |
| Mangan | 0,897 mg | 30 |
| Měď | 0,13 mg | 8 |
| Sodík | 79 mg | 4 (EFSA 2019) |
| Vápník | 99 mg | 10 |
| Zinek | 0,53 mg | 3 |
| Železo | 2,71 mg | 25 |
| Fytonutrienty | | |
| β-karoteny | 5 626 µg | - |
| Lutein a zeaxanthin | 12 198 µg | - |

Vitamin C neboli askorbová kyselina, která je poměrně hojně zastoupená ve špenátu, pomáhá předcházet kurdějím a udržuje zdravou pokožku, dásně a krevní cévy. Jedná se o silný antioxidant, který tělu pomáhá rozvíjet rezistenci vůči infekčním činitelům a působí proti kyslíkovým radikálům (ROS). Bylo zjištěno, že antioxidační vlastnosti vitaminu C můžou snižovat riziko arteriosklerózy, kardiovaskulárních onemocnění a některých typů rakoviny.

Kromě toho se zapojuje do tvorby kolagenu anebo se podílí na snižování hladiny cholesterolu v plazmě (Salehi et al. 2019).

Jedním z indikátorů bezpečnosti potravin je askorbát-nitrátový index (I_{AN}), který vyjadřuje poměr obsahu askorbové kyseliny ku obsahu dusičnanů. Čím vyššího čísla index nabývá, tím větší je obsah askorbové kyseliny vůči obsahu dusičnanů. Podle hodnot může být zelenina rozdělena na tři skupiny: menší než 0,5 – zelenina je považována za rizikovou; 0,5 až 1 – neutrální; větší než 1 – zcela bezpečná. Askorbát-nitrátový index je významně ovlivněn jak druhem a odrudou zeleniny, tak i způsobem hnojení, pěstováním nebo termínem výsevu (Wadas & Raczuk 2018).

Špenát obsahuje i menší množství šťavelanů (oxalátů). Šťavelany se vážou na molekuly vápníku za vzniku šťavelanu vápenatého, který brání absorpci a využití vápníku v těle a může způsobit křivici nebo ledvinové kameny. Jeden ze způsobů biosyntézy šťavelanů je degradace askorbové kyseliny. Podle Knight et al. (2016) existuje možnost, že zvýšené množství askorbové kyseliny vede ke zvýšené tvorbě oxalátů a tím i k větší pravděpodobnosti vzniku ledvinových kamenů (Mohan & Daffodil 2016).

Špenát setý je po celém světě ekonomicky důležitá rostlina. Podle statistik FAO (2019) bylo v roce 2019 na celém světě vyprodukováno přes 30 milionů tun špenátu. Mezi největší producenty patří Čína, která vyprodukovala 90 % světové produkce (27 milionů tun), následuje EU s 2 % (663 tisíc tun) a USA s 1,2 % (435 tisíc tun) (Correll et al. 2011).

Produkce semen špenátu je limitována na podnebné oblasti, kde jsou dlouhé dny, které vyvolávají kvetení a kde jsou mírné letní teploty. Nejvíce semen na produkci špenátu v USA a EU pochází z Dánska (75 % světové produkce), následované severozápadním regionem USA u pobřeží Pacifického oceánu (20 %). Ačkoliv je určování pohlaví u špenátu složité, špenát je v zásadě dvoudomý u samčích i samičích rostlin. Hybridní špenátové odrůdy byly původně vyvinuty s cílem vytvoření rezistentních odrůd na potlačení různých patogenů. Drtivá většina špenátových linií v Dánsku a v USA jsou hybridní kultivary produkované použitím samčích a samičích inbredních linií, z nich každá má jinou kombinaci rezistencí (Morelock & Correll 2008; Correll et al. 2011).

3.1.2 Další druhy špenátu

Dalšími druhy špenátu rodu *Spinacia*, které nalezneme v přírodě jsou *Spinacia tetrandra* Steven ex M. Bieb a *Spinacia turkestanica* Iljin. Jedná se o původní plané druhy špenátů, ze kterého byl *S. oleracea* vyšlechtěn. Oproti špenátu setému mají tyto druhy menší listy a jejich semena jsou násobně větší a špičatější. Vyskytují se převážně ve Východní Asii (*S. tetrandra*) a ve Střední Asii, v oblasti Zakavkazska (*S. turkestanica*) (Treuren et al. 2019; Ribera et al. 2020).

V současné době se tyto rostliny využívají primárně pro genetické studie, protože by mohly být cenným zdrojem genů rezistence vůči chorobám u pěstovaného špenátu setého (Andersen & Torp 2011).

Často se také slovem špenát označují druhy rostlin, které nemají se špenátem setým geneticky nic společného. Jedná se například o špenát novozélandský, špenát malabarský nebo vodní špenát.

Špenát novozélandský neboli čtyřboč rozložitá či rozpjatá (*Tetragonia tetragonoides* Pall.) je vzhledově i chuťově podobný špenátu setému, proto se i používá jako jeho náhražka,

patří ale do čeledi kosmatcovitých (*Aizoaceae*). Pěstuje se u pobřeží po celém světě jako rychle a snadno rostoucí listová zelenina (Wilson et al. 2000; CABI 2019).

Špenát malabarský, čínský či indonéský neboli bazela bílá (*Basella alba* L.) je rostlina patřící do čeledi bazelovitých (*Basellaceae*). Pěstuje se v tropických a subtropických oblastech Afriky a jižní Asie jako listová zelenina. *B. alba* se hojně využívá v léčitelství při střevních problémech, potížích s kůží nebo u hojení ran a popálenin (Deshmukh & Gaikwad 2014).

Vodní špenát neboli povíjnice vodní (*Ipomoea aquatica* Forssk.) patří do čeledi svlačcovitých (*Convolvulaceae*). Původně se pěstoval převážně v jihovýchodní Asii, ale rychle se rozšířil i do Austrálie nebo Afriky, kde je široce konzumován nejen jako čerstvá, ale i nakládaná zelenina. V Indii se tradičně využívá při intoxikaci těžkými kovy. Obsahuje také řadu vitaminů a antioxidantů a užívá se tak při střevních a žaludečních potížích (Austin 2007; Dewanjee et al. 2015).

3.2 Dusík

Dusík, anglicky nitrogen, je chemický prvek s atomovým číslem 7 a značí se písmenem N. Byl objeven roku 1772 několika vědci nezávisle na sobě, běžně se ale s objevením dusíku skloňuje jméno skotského fyzika Daniela Rutherforda. Dusík patří mezi nejrozšířenější prvky na Zemi, nalezneme ho ve své elementární formě v atmosféře nebo jako součást různých organických či anorganických sloučenin v půdě nebo v organismech. V atmosféře obvykle dochází ke spojení dvou atomů dusíku dohromady a vytvoří dinitrogen (N_2), mezi kterými vzniká kovalentní trojná vazba ($N\equiv N$). N_2 tvoří okolo 78 % zemské atmosféry. Dusík se řadí i mezi biogenní prvky, tedy takové, které jsou nutné pro život. Tvoří dusíkaté báze, které jsou součástí DNA i RNA, je základní složkou aminokyselin, které formují všechna rostlinná pletiva i všechny živočišné tkáně, enzymy, hormony a je součástí například i vysoce důležité energetické molekuly adenosintrifosfátu (ATP) (Hanrahan & Chan 2005; Verkhatsky & Krishtal 2009; House & House 2016).

Dusík je bezbarvý plyn bez zápachu, není hořlavý ani toxický. Používá se při zpracování potravin, při údržbě klimatizací a chladicích systémů nebo při natlakování leteckých pneumatik. Dusík se může vyskytovat při nízkých teplotách i v tekutém skupenství, hovoříme pak o kryogenní kapalině, která je stejně jako plyn bezbarvá i bez zápachu. Kapalný dusík, který má obvykle teplotu $-196\text{ }^\circ\text{C}$ se používá ke zamrazování potravin, k uchování krve a dalších biologicky aktivních látek či jako chladicí kapalina (NCBI 2021a).

Dusík je základní makroživina pro růst a vývoj rostlin a hraje důležitou roli v celém vývoji rostliny. Je důležitou složkou aminokyselin, chlorofylu, rostlinných hormonů i sekundárních metabolitů. Pro růst rostlin je dusík obvykle nejvíce omezující živinou v přírodě. Jeho nedostatek vede k časnému stárnutí rostlin, což je doprovázeno změnami genové exprese, metabolismu, růstu a vývoje rostliny (Hanrahan & Chan 2005; Kerry et al. 2018; Binbin et al. 2020).

3.2.1 Koloběh dusíku

Přeměna dusíku ze vzduchu na dusík, který je součástí sloučenin v půdě a biomase, se v přírodě děje několika různými způsoby. Díky těmto přírodním procesům mohou rostliny zpracovat fixovaný dusík, který by jinak využit nemohly. Pojem fixovaný dusík představuje dusík, který je ve využitelné formě. Nelze ho však zaměnit s termínem fixace dusíku, který pojednává o konkrétní přeměně atmosférického dusíku pomocí symbiotického či nesymbiotického vztahu mezi určitými druhy rostlin a mikroorganismů, a nejedná se tak o obecný výraz pro všechny typy přeměn popsány níže.

Koloběh dusíku (Obr. 2) zahrnuje mimo biotických také abiotické reakce produkující oxidy dusíku skrze blesky a fotochemické reakce. Nejjednodušší způsob přeměny je pomocí blesků (Obr. 2.1), které vytvářejí z atmosférického dusíku (N_2) oxid dusnatý (NO), oxid dusičný (NO_2), dusičnany (NO_3^-) nebo dusitany (NO_2^-). Podle měření Drapcho et al. (1983) může záblesk jednoho blesku vyprodukovat přibližně 4×10^{26} molekul NO_x (Cabello et al. 2009).

Fixace dusíku (Obr. 2.2) je proces, při kterém dochází k rozbití trojné vazby N_2 za vzniku amonia (NH_4^+). Tento proces je závislý jak na nesymbiotických (volně žijící v půdě), tak symbiotických mikroorganismech. Mikroorganismům, které dokážou přeměnit dusík na využitelnější formu se říká diazotrofové, je to například *Nitrobacter*, který udržuje s rostlinami symbiotický vztah, nebo *Azotobacter*, který v žádném vztahu s rostlinami není. Na přeměnu dusíku používají tyto mikroorganismy svůj enzym nitrogenázu. Nitrogenáza katalyzuje přeměnu elementárního dusíku na dvě molekuly amonia (zjednodušeně: $N_2 \rightarrow 2NH_4^+$). Do reakce vstupuje ještě několik molekul vodíku (H_2) a je zapotřebí velké množství energie ve formě ATP. Kromě této přeměny je nitrogenáza schopna vytvořit amonium i rozkladem acetyleny spolu s kyanidem (CN^-).

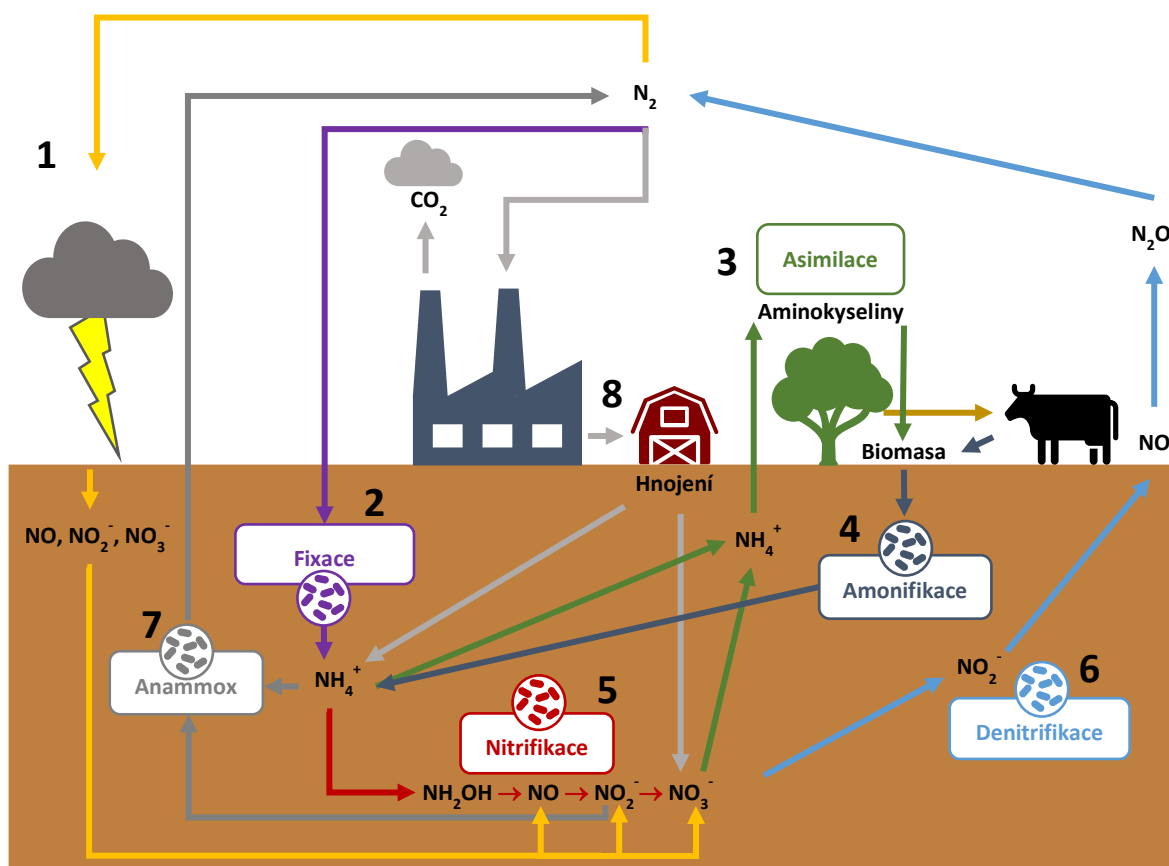
Typickým příkladem rostliny, která má symbiotický vztah s mikroorganismy je vojtěška (*Medicago* sp., alfalfa). Takovéto rostliny obecně zvyšují obsah fixovaného dusíku v půdě, proto se hojně používají jako podsev při střídání plodin během pěstování obilovin. Mimo jiné se vojtěška využívá jako krmivo pro dobytek, který tak pastvou získá velké množství nejen vitaminů a minerálů ale především bílkovin, které obsahují kromě jiného i dusík.

Asimilace (Obr. 2.3) neboli začleňování dusíku do organismu se odehrává ve dvou následných reakcích. Nejprve se dusičnan (NO_3^-) přemění na dusitan (NO_2^-) a ten pak následně na amonium (NH_4^+). Tyto reakce mají na svědomí některé druhy archeí, bakterií, ale i hub nebo řas, a dokonce i sama rostlina.

Amonium (NH_4^+) je jedinou anorganickou dusíkovou sloučeninou, která se zabudovává do uhlíkového řetězce rostlin. Jako první se v rostlině začne formovat aminokyselina glutamin, která právě obsahuje několik molekul dusíku. Glutamin se následně využívá jako hlavní dárce dusíku pro syntézu dalších buněčných komponentů. Amonium je také preferovaný zdroj dusíku pro růst mikroorganismů. Ačkoliv mikroorganismy dokážou využít i jiné zdroje dusíku jako N_2 nebo dusičnany, předtím než můžou dusík zakomponovat do uhlíkového řetězce, musí být tyto sloučeniny nejprve přeměněny právě na amonium (Cabello et al. 2009).

Dalším zdroje amonia je degradace organické hmoty (Obr. 2.4) na anorganické sloučeniny, kterou způsobují saprofytické mikroorganismy rozkládající půdu. Typickým saprofytem může být například plíseň *Mucor*. Tento proces je běžně znám jako mineralizace, ale v rámci koloběhu dusíku hovoříme o amonifikaci – uvolnění dusíku z organických

sloučenin. Ionty amonia jsou při degradaci rozpuštěny a zachovány v půdě, následně jsou imobilizovány nebo absorbovány a asimilovány mikroorganismy. V příliš alkalickém prostředí se ale významná část vypaří do ovzduší ve formě plynného amonia (Cabello et al. 2009).



Obr. 2: Koloběh dusíku, upraveno podle Lehnert et al. (2015). 1 – Přeměna dusíku blesky; 2 – Fixace dusíku; 3 – Asimilace dusíku; 4 – Degradace organické hmoty; 5 – Nitrifikace; 6 – Denitrifikace; 7 – Anammox; 8 – Hnojení půdy.

Zatímco asimilační procesy dělají dusík dostupný pro organismy, tyto tři následující procesy, nitrifikace, denitrifikace a anammox, naopak způsobují ztrátu fixovaného dusíku z prostředí.

Nitrifikace (Obr. 2.5) je proces dvojstupňové oxidace amonia přes meziprodukt hydroxylamin (NH_2OH) na dusitan ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^-$) a následně dusitan na dusičnan ($\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$). Tento proces se odehrává u některých druhů bakterií, které využívají energii vytvořenou během těchto reakcí na svůj růst a při fixaci oxidu uhličitého (CO_2).

Denitrifikace (Obr. 2.6) je postupná přeměna dusičnan \rightarrow dusitan \rightarrow oxid dusnatý \rightarrow oxid dusný (N_2O) \rightarrow dusík ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$) katalyzovaná specifickými reduktázami v prokaryotických organismech. Většina denitrifikujících mikroorganismů jsou fakultativně anaerobní bakterie, které se množí v anoxickém prostředí (absence volně vázaného kyslíku) (Cabello et al. 2009).

Anaerobní oxidace amonia neboli anammox (Obr. 2.7), je anaerobní proces, který generuje molekulární dusík a vodu spojením amonia a dusitanu ($\text{NH}_4^+ + \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$) (Lehnert et al. 2015).

3.3 Dusičnany

Dusičnany neboli nitráty, chemicky značené NO_3^- , jsou anorganické sloučeniny většinou rozpustné ve vodě. Dusičnany můžeme nalézt v půdních vodách, horninách, rozkládajících se organických látkách nebo v kořenové a listové zelenině jako je například řepa, ředkvička, salát, celer a špenát (Prathibha 2005; NCBI 2020b).

Dusičnany i dusitany nalezneme i v pitné vodě, ta však podléhá přísnou kontrolou kvality, která se sleduje od jejího zdroje až po domácnost. Podle zákona o ochraně veřejného zdraví 258/2000 Sb. a vyhlášky 252/2004 Sb. jsou stanoveny limity určitých chemických parametrů v objemu jednoho litru vody. Limitní obsah dusičnanů je určen na 50 mg, u dusitanů je to 0,5 mg (Bezpečnost potravin 2018a).

Průměrný člověk přijme okolo 60–90 mg dusičnanů denně. Pokud se stravuje převážně rostlinou stravou anebo ve velké míře konzumuje masné výrobky, může se příjem dusičnanů pohybovat až okolo 200 mg. Podle Vědeckého výboru pro potraviny (Scientific Committee on Food – SCF) a Společného výboru expertů FAO/WHO pro potravinářská aditiva (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives – JECFA) je současný přijatelný denní příjem (Acceptable daily intake – ADI) dusičnanů 3,7 mg na kilogram tělesné hmotnosti na den. Průměrný člověk vážící 70 kg tak může přijmout přibližně 260 mg dusičnanů denně. Denní příjem u kojenců a malých dětí by se měl pohybovat okolo 7–8 mg na den (Fan 2014; Karwowska & Kononiuk 2020).

Příjem dusičnanů v jídle a pití je spojen s určitými zdravotními riziky. Dusičnany mohou překonat prostředí žaludku a dostat se do oběhového systému. Řada vysoce bioaktivních reaktivních oxidů dusíku se tvoří za kyselých podmínek v žaludku nebo v krvi a v tkáních a ty mohou se podílet na tvorbě karcinogenních nitrosaminů.

Podle měření Evropského úřadu pro bezpečnost potravin EFSA (2008a), který stanovoval obsah dusičnanů napříč kořenovou a listovou zeleninou, obsahuje špenát průměrně 1066 mg/kg, rukola 4677 mg/kg, listový salát 1324 mg/kg, ředkev 1297 mg/kg anebo například mrkev 296 mg/kg, vždy vztaženo na čerstvou váhu. Podle jiných měření může špenát obsahovat i přes 2000 mg/kg čerstvé váhy. Evropská legislativa podle Nařízení Komise (EU) č. 1258/2011 stanovuje maximální povolené množství v čerstvě sklizeném salátu na 3500 mg/kg. U špenátu zmrazeného nebo konzervovaného je hodnota stanovena na 2000 mg/kg (Úřední věstník Evropské unie 2011).

Metody zpracování jako je tepelná úprava nebo způsob skladování způsobují ztrátu dusičnanů. Byl prokázán účinek zvýšené teploty skladování na snížení obsahu dusičnanů v důsledku zvýšené bakteriální přeměny dusičnanů na dusitany. Výzkum hodnotící množství dusičnanů a dusitanů v nakládaných výrobcích (řepa, květák, mrkev, růžičková kapusta) stanovil, že obsah byl ve srovnání s čerstvou zeleninou obecně nižší. Ke snížení dochází pravděpodobně v důsledku použitých výrobních procesů jako je okyselování, solení, pasterace anebo stabilizace (Prasad & Chetty 2011; Ding et al. 2018; Karwowska & Kononiuk 2020).

Dusičnany jsou spolu s amoniem hlavními formami dusíku, které jsou rostliny schopny absorbovat. Dusičnany jsou také nejsnadněji vstřebatelným živným prvkem a hlavní složkou pro růst, vývoj a morfologii většiny rostlin. Dusičnany mohou rychle podpořit transport a asimilaci živin a zlepšit plasticitu rostlin tak, aby se přizpůsobily měnícímu se prostředí (Eloísa et al. 2010; Meng et al. 2016; Nazir et al. 2016; Binbin et al. 2020).

Mezi nejběžnější zástupce dusičnanů patří dusičnan sodný (NaNO_3) a dusičnan amonný (NH_4NO_3). Jedná se o bílé krystalické látky, sami o sobě jsou nehořlavé, ale podporují hoření. Využívají se jako tuhá paliva, pro výrobu výbušnin nebo jako hnojiva v zemědělství (NCBI 2021c; NCBI 2021d).

3.4 Dusitany

Dusitany neboli nitrity jsou anorganické látky, které nalezneme převážně jako bezbarvé roztoky nebo krystalické látky. Jedná se o dusíkové oxoanionty značené NO_2^- , které vznikly ztrátou vodíku z kyseliny dusité HNO_2 (NCBI 2020a).

Dusitany se v přírodě vyskytují převážně v zelenině, většinou však ale pouze v malých koncentracích okolo 1–2 mg na 1 kg čerstvé váhy, v ojedinělých případech i okolo 10 mg na 1 kg čerstvé váhy. Dusitany se vyskytují především v těch druzích zeleniny, kde je i větší množství dusičnanů, tedy listová a kořenová zelenina například špenát, salát, celer nebo ředkvičky (Abdollahi & Khaksar 2014).

S dusitany se můžeme především setkat jako s potravinovými aditivy. Běžně se vyskytují v sýrech, rybích, a především v masných výrobcích. Potravinová aditiva musí být na výrobcích značena a zároveň musí splňovat zákonem dané limitní obsahy. Aditiva se označují písmenem E a třemi až čtyřmi číslicemi. Dusitany a dusičnany se přidávají do výrobků jako konzervanty, které se značí od E 200 až do E 299. Během výroby se setkáme především s dusitanem sodným a draselným, které se značí E 250, resp. E 249, a s dusičnanem sodným a draselným, které jsou označeny E 251, resp. E 252 (Bezpečnost potravin 2018a; Bezpečnost potravin 2018b).

Dusitany se využívají jako součást solicích směsí spolu s kuchyňskou solí (NaCl) především při výrobě uzenin. Dříve se na solení využívaly směsi převážně s dusičnanem sodným a dusičnanem draselným. U dusičnanového solení ale docházelo ke častějšímu kažení, a navíc bylo oproti dusitanovému nákladnější. Dnes se dusičnany v solicích směsí využívají pouze u domácího zpracování masných výrobků nebo u výrobku vyrábějící se tradiční recepturou, jako je například Parmská šunka (Český svaz zpracovatelů masa 2009; Bezpečnost potravin 2020).

Hlavními zástupci dusitanů jsou dusitan sodný (NaNO_2) a dusitan amylnatý ($\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2$). Dusitan sodný má v lidském těle schopnost vazodilatace, proto se hojně využívá při léčbě ischemické choroby srdeční (*angina pectoris*). Využívá se také při léčbě infarktů, plicní hypertenzi kojenců nebo při aneuryzmat mozku (Abdollahi & Khaksar 2014).

Dusitan amylnatý neboli amylnitrit má v medicíně podobné využití jako dusitan sodný. Mimo jiné se ale používá jako protijed při otravě kyanidem. Amylnitrit má také psychoaktivní účinky, proto se často zneužívá jako inhalační droga, která způsobuje extázi, malátnost či sexuální touhu (Alcohol and Drug Foundation 2020; NCBI 2021b).

3.5 Oxid dusnatý

Oxid dusnatý, anglicky nitric oxid (NO), je v lidském těle vysoce aktivní a signální molekula. Zúčastňuje se například regulace uvolňování hladkého svalstva, neurotransmise, působí při léčení různých poranění nebo i při reakci imunitního systému (Sindelar & Milkowski 2011).

Oxid dusnatý se v lidském těle může tvořit v zásadě dvěma možnými způsoby, a to buď z aminokyseliny L-argininu pomocí NO syntázy nebo skrze dusičnany a dusitany, které přijmeme z potravy (McSorley & Liew 1998; Carlsson et al. 2001; Förstermann & Sessa 2012).

Oxid dusnatý je produkován třemi izoformami NO syntázy (NOS). Těmito izoformami jsou neuronální NOS (nNOS, NOS I), indukovatelná NOS (iNOS, NOS II) a endoteliální NOS (eNOS, NOS III).

Neuronální NOS je převážně exprimována v centrálních a periferních neuronech a v některých dalších typech buněk. Mezi její funkce patří synaptická plasticita (vývoj a změny) v centrálním nervovém systému (CNS), centrální regulace krevního tlaku, uvolňování hladkého svalstva a vazodilatace (rozšiřování cév) periferními nitrergickými nervy. Nitrergické nervy mají zvláštní význam při relaxaci topořivých tělísek a erekci penisu. Pro tyto účinky se oxid dusnatý používá mimo jiné jako součást léků typu Viagra, kde podporuje rozšíření krevních cév, což vede k lepšímu průtoku krve do penisu, a tak i lepší erekci u mužů (Nall 2019).

Indukovatelná NOS může být exprimován v mnoha buněčných typech v reakci na lipopolysacharid, cytokininy nebo jiná činidla. iNOS generuje velké množství NO, který má cytostatické účinky (zastavení růstu nádorových buněk) na parazitické buňky. iNOS přispívá k patofyziologii zánětlivých onemocnění a septického šoku.

Endoteliální NOS je většinou exprimována v endotelových buňkách. Udržuje krevní cévy rozšířené, reguluje krevní tlak a má řadu dalších vazoprotektivních a antiaterosklerotických účinků. Mnoho kardiovaskulárních rizikových faktorů vede k oxidativnímu stresu, omezení eNOS a endoteliální dysfunkci vaskulatury (Förstermann & Sessa 2012).

Oxid dusnatý se zúčastňuje řady důležitých fyziologických a patobiologických procesů v oblasti gastroenterologie a hepatologie. V gastrointestinálním traktu (GIT) se NO podílí na modulaci tonusu hladkého svalstva, jako je regulace střevní peristaltiky, vyprazdňování a pohyblivost žaludku. Reguluje také sekreci kyselého a žaludečního hlenu, produkci alkalických látek a podílí se na udržování průtoku krve sliznicí. Za fyziologických podmínek působí NO jako endogenní mediátor, který moduluje jak opravu, tak integritu tkání a vykazuje gastroprotektivní vlastnosti proti různým typům agresivních látek. Epidemiologické studie navíc ukázaly, že použití látek obsahující NO s aspirinem vedlo ke snížení rizika gastrointestinálního krvácení. Vysoké koncentrace NO však mohou souviset s řadou patologických procesů GIT (Shah et al. 2004; Lanas 2008; Kochar et al. 2011).

Inaktivace oxidu dusnatého reakcí se superoxidovým aniontem O_2^- vznikne silné oxidační činidlo peroxynitrit ($ONOO^-$). Tato sloučenina může způsobit oxidační poškození, nitraci anebo S-nitrosylaci biomolekul včetně proteinů, lipidů nebo DNA. Stres způsobený $ONOO^-$ se může dokonce podílet na rozpadu jednořetězcové DNA. Peroxynitrit se reakcí s proteiny podílí na tvorbě nitrotyrosinu. Zvýšené množství peroxynitritu a nitrotyrosinu souvisí s řadou lidských kožních onemocnění jako je rakovina kůže, lupénka, kopřivka, atopická dermatitida nebo

systémový lupus erythematoses (Lee et al. 2003; Mikkelsen & Wardman 2003; Pacher et al. 2007; Förstermann & Sessa 2012; Karwowska & Kononiuk 2020).

3.6 Metabolismus vybraných sloučenin dusíku v lidském těle

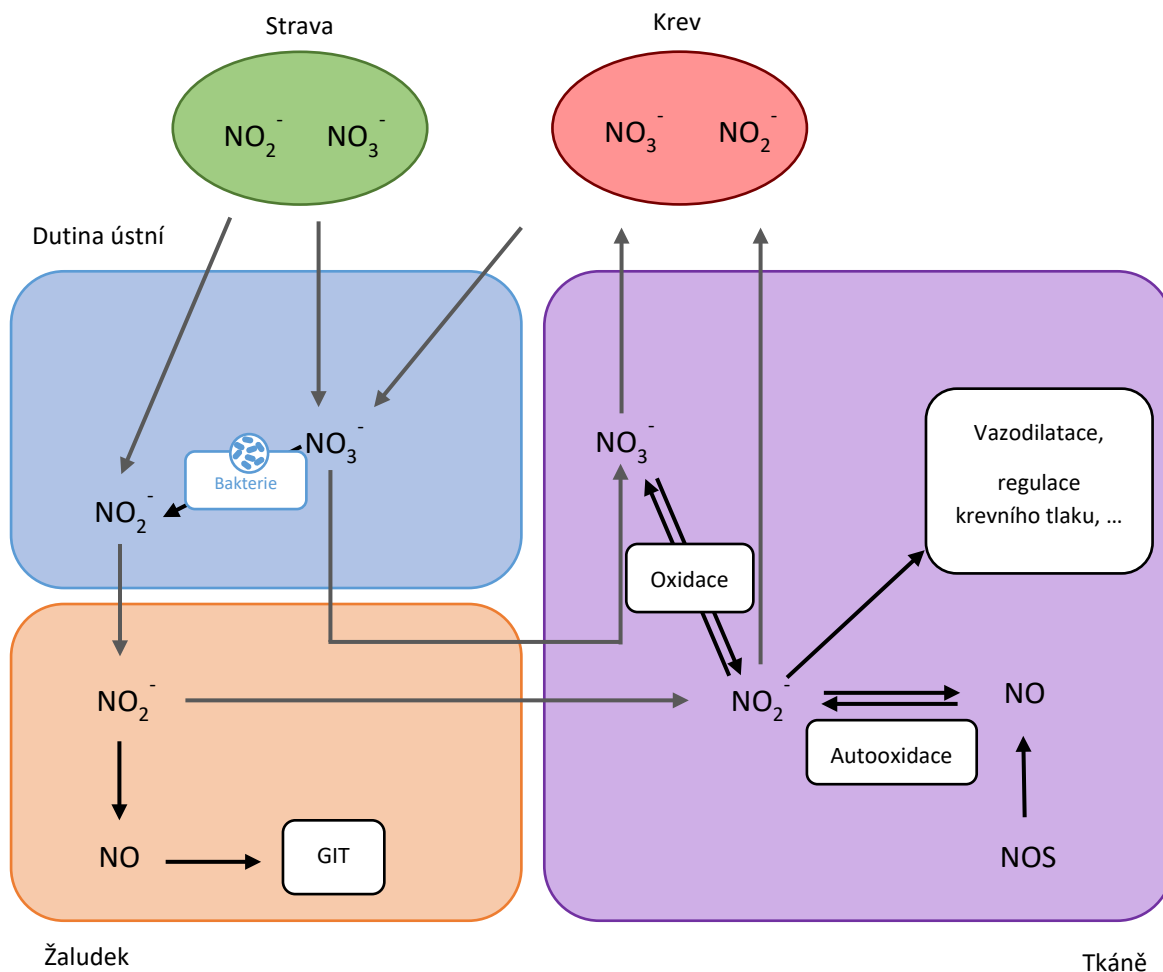
3.6.1 Přeměna dusičnanů na dusitany a na oxid dusnatý

Dusík se do lidského těla dostává především z potravy konzumací kořenové a listové zeleniny nejčastěji ve formě dusičnanů a dusitanů. Velká část dusičnanů je pohlcena slinnými žlázami, následně jsou vyloučeny slinami a přeměněny na dusitany pomocí symbiotických bakterií v dutině ústní (Obr. 3). Lidské tělo nedokáže samo zpracovat dusičnany z potravy, protože na rozdíl od bakterií, postrádá gen pro enzym nitrátreduktázu. Mezi nejčastější zástupce bakterií, které mají tento enzym patří *Veillonella*, *Actinomyces*, *Staphylococcus* nebo *Propionibacterium*. Jedná se zpravidla o fakultativně anaerobní bakterie, které pomocí nitrátreduktázy dokážou redukovat dva elektrony z dusičnanů za vzniku dusitanů. Bylo zjištěno, že lidé, kteří postrádají tyto specifické bakterie, mají sníženou hladinu NO v těle, což může mít za následek i zvýšení rizika kardiovaskulárních onemocnění. Stejně tak nebezpečné může být i nadužívání antibiotik či časté používání antiseptické ústní vody (Sindelar & Milkowski 2011; Brayn & Petrosino 2017).

Dusitany jsou následně spolknuty a postupují dále trávicím traktem do žaludku. Část dusitanů se dostává do tkání, a u části z nich dochází vlivem kyselého prostředí k další redukcí jednoho elektronu z dusitanu za vzniku oxidu dusnatého. Tato reakce je katalyzována deoxyhemoglobinem, deoxymyoglobinem, aldehydoxidázou, xantinoxidázou a cytochromem P450 (CYP), což je označení pro rozsáhlou skupinu hemoproteinových enzymů, které obsahují hem jako kofaktor (Bailey et al. 2012).

Do tkání se dostává i část dusičnanů z dutiny ústní, které nejsou přeměněny na dusitany v dutině ústní ani v žaludku. Mohou však oxidovat na dusitany až v tkáních. Dusitany se mohou vytvářet v tkáních přímo z NO pomocí autooxidace, při níž dochází k reakci NO s kyslíkem. Tento proces je katalyzován plasmatickým proteinem ceruloplasminem. Oxid dusnatý se do tkáně dostává i pomocí NO syntázy přeměnou z L-argininu (Lundberg et al. 2011).

Příjem dusíku z potravy je stejně důležitý jako jeho tvorba skrze NOS systém (viz následující kapitola). Podíl dusičnanů z endogenních i exogenních zdrojů velmi závisí na stravě, fyzické aktivitě, nemoci i medikaci. Zánětlivé podmínky, které v extrémní míře aktivují iNOS, nebo fyzické cvičení, které aktivují eNOS, mají za následek zvýšení endogenní hladiny dusičnanů. Naopak dusičnany přijaté v potravě mohou dramaticky zvýšit hladinu exogenních dusičnanů (Lundberg et al. 2009; Lundberg et al. 2011).

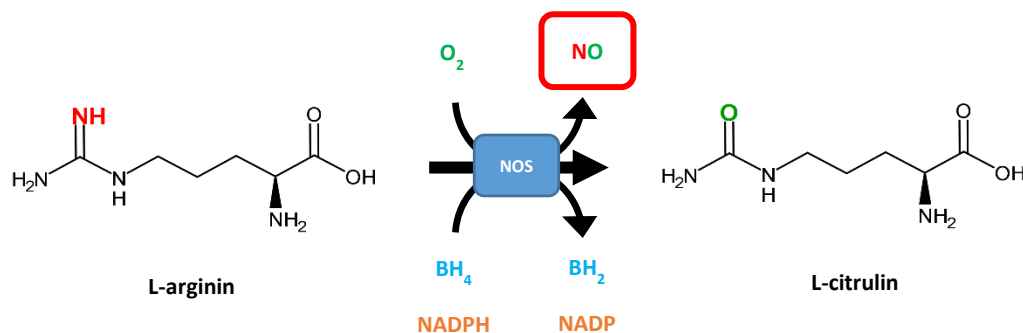


Obr. 3: Proces přeměny dusičnanu na dusitan a následně na oxid dusnatý, upraveno podle Gladwin et al. (2005).

3.6.2 Syntéza oxidu dusnatého pomocí syntáz oxidu dusnatého

Syntéza oxidu dusnatého je proces, při kterém lidské tělo samo vytváří oxid dusnatý. Jak již bylo zmíněno výše, oxid dusnatý je produkován třemi NO syntázami. Všechny NOS využívají L-arginin a kyslík (O_2) jako substráty a vyžadují kofaktory nikotinamidadenindinukleotidfosfát (NADPH), flavinadenindinukleotid (FAD), favinmononukleotid (FMN) a tetrahydrobiopterin (BH_4). Všechny NOS obsahují hem a kalmodulin, který váže vápenaté (Ca^{2+}) ionty a následně se podílí na aktivaci dalších proteinů (Kaetzel & Dedman 2003; Förstermann & Sessa 2012).

Na následujícím obrázku (Obr. 4) můžeme vidět zjednodušenou reakci, při které vzniká oxid dusnatý. Z dusíku navázaného na aminokyselině L-argininu a kyslíku, který vstupuje do reakce vznikne oxid dusnatý. Druhý kyslík účastníci se reakce se naváže na místo aminokyseliny, odkud se odštěpil dusík, za vzniku aminokyseliny L-citrulinu.



Obr. 4: Syntéza NO z L-argininu, upraveno podle Johnson (2019).

L-arginin je aminokyselina sloužící jako stavební blok proteinů, vyskytuje se především v červeném mase, mléčných výrobcích nebo rybách. L-citrulin je aminokyselina nacházející se v mase, ořechách nebo luštěninách. L-arginin a L-citrulin jsou pro svoji spojitost v metabolismem oxidu dusnatého hojně využívány jako suplementace ve sportu, především ve fitness a kulturistice. Suplementace obou aminokyselin má pozitivní vliv na hladinu NO v těle. Vyšší hladina NO může mít pozitivní vliv na anaerobní silový výkon, stimulaci produkce růstového hormonu a inzulínu, snížení únavy nebo zlepšení regenerace. Suplementace L-argininu může také zlepšit endoteliální dysfunkci, což je typ ischemické choroby srdeční, při které dochází k zužování velkých krevních cév. Produkce L-argininu není ale závislá jen na jeho příjmu z extracelulárního prostoru, lidské tělo dokáže pomocí endoteliálních buněk recyklovat L-citrulin na L-arginin, případě ho dokáže vytvořit i během proteolýzy (Hecker et al. 1990; Simon et al. 2003; Förstermann & Sessa 2012; Nall 2019).

Jak již bylo zmíněno, tento proces je závislý na přítomnosti kyslíku, proto při hypoxii organismu je tato reakce inhibována a místo ní je upřednostněn proces tvorby NO přes dusičnan a dusitan z potravy (viz předchozí kapitola), který může mít navíc větší akutní účinek na procesy v těle. Například jedna porce listového salátu nebo špenátu obsahuje více dusičnanů, než kolik generuje systém NOS za celý den (Vanin et al. 2007; Lundberg et al. 2011).

3.7 Rizika dusičnanů

Do lidského těla se dusičnany dostávají převážně stravou nebo vodou, v menší míře i dýcháním. Akutní toxicita po vdechnutí může způsobit bezvědomí, zvracení, duševní zmatek, ucpání dýchacích cest nebo plicní otok (Gupta et al. 2017).

Dusičnany nejsou při běžné konzumaci nebezpečné pro dospělé osoby. Přibližně 60–70 % absorbovaného množství dusičnanů se rychle vylučuje močí, z toho asi 3 % tvoří močovina a amoniak. Část dusičnanů se dokonce v těle přemění na dusíkové plyny, které jsou vyloučeny plicemi (Gupta et al. 2017; Bezpečnost potravin 2018a).

Většině lidí stravující se pestrým jídelníčkem nehrozí překročení přijatelné denní dávky. Rizika se objevují při velké dávce nebo při dlouhodobě zvýšeném příjmu.

Studie u savců poukazují, že dusičnan může působit jako goitrogen, tedy látka, která ovlivňuje hormony štítné žlázy. Zdá se, že dusičnany inhibují využití jódu, který má zásadní účinek na správnou funkci štítné žlázy. Zvýšený příjem dusičnanů z potravy a vody způsobuje funkční a histologické poruchy štítné žlázy, což vede ke zvýšení hmotnosti anebo změnám u ovariálního folikulu (Fan 2014).

Dlouhodobě zvýšený příjem dusičnanů může mít za následky vznik rakoviny, zvýšenou kojeneckou úmrtnost, potraty, vrozené vady, opakující se průjem, opakující se stomatitidu, histopatologické změny srdečních svalů, plicní sklípky, zhoršení imunitního systému těla, infekci dýchacích cest nebo raný nástup diabetes mellitus u dětí (Fan 2014; Gupta et al. 2017).

Mezi hlavní obavy akutní toxicity patří methemoglobinémie, u chronické toxicity je to pak karcinogenita.

3.7.1 Methemoglobinémie

Methemoglobinémie je stav, kdy železo navázané na hemoglobin je oxidováno ze stavu F^{2+} (železnatý) na stav F^{3+} (železitý) za tvorby methemoglobinu. Methemoglobin má omezenou schopnost navázat a transportovat kyslík, a snižuje tak hladinu kyslíku v krvi (Kutayli & Silberstein 2007).

Lidé trpící methemoglobinémií nemusí projevovat žádné symptomy, nebo se může projevit cyanóza, což je onemocnění způsobené nedostatečným přenosem kyslíku v krvi a projevuje se namodráním některých částí těla. Pokud methemoglobin dosáhne v těle 30 % hrozí hypoxémie (snížené množství kyslíku v tepenné krvi), zmatení, zvýšená frekvence dýchání, záchvaty, acidóza nebo kóma. Jestliže se hladina methemoglobinu dostane na 60–70 % dochází většinou ke smrti (Kutayli & Silberstein 2007).

Ve většině případů dochází k methemoglobinémii v důsledku vystavení látkám, které mohou způsobit oxidaci železa jako benzokain, dusičnany, dusitany, antimalarika a další. Jinou možností vzniku methemoglobinémie je acidóza, která se vyskytuje u kojenců mladší šesti měsíců jako sekundární důsledek průjmu a dehydratace (Kutayli & Silberstein 2007).

Největší nebezpečí hrozí kojencům a malým dětem, které mají ve střevech vyšší hladinu gramnegativních bakterií podílející se na přeměně dusičnanů na dusitany, které způsobují vznik methemoglobinu. Předpokládá se, že hemoglobin u dětí je snadněji oxidován než hemoglobin u dospělého člověka. Na pozoru by se měly mít i kojící matky, jelikož dusičnany jsou vylučovány pasivní difuzí do mateřského mléka, a je tak během tohoto období potřeba snížit příjem dusičnanů a dusitanů ve stravě (Kutayli & Silberstein 2007; Fan 2014).

3.7.2 Karcinogenita

Podle řady studií existuje spojení mezi příjmem dusičnanů a dusitanů a zvýšeným rizikem vzniku rakoviny prsu, trávicího traktu, konečníku, jícnu, štítné žlázy nebo vzniku nádoru v mozku a míše (Karwowska & Kononiuk 2020).

Dusičnany a dusitany sami o sobě karcinogenní nejsou, nicméně můžou reagovat s dalšími sloučeninami za vzniku karcinogenních látek. Nebezpečí představují převážně nitrosační činidla jako je kyselina dusitá (HNO_2) a oxid dusitý (N_2O_3), které mohou být přijímány přímo z potravy a pitné vody, nebo syntetizovány za kyselých žaludečních podmínek z dusičnanů a dusitanů. Nitrosační činidla mohou reagovat s aminy nebo amidy, u kterých byla prokázána indukce nádorů u zvířat prostřednictvím endogenní syntézy N-nitrososloučenin (N-nitrosaminy a N-nitrosamidy). Nitrosaminy je třeba metabolicky aktivovat pomocí enzymů CYP na elektrofilní meziprodukty, aby měly karcinogenní účinek, zatímco nitrosamidy působí jako karcinogeny přímo (Fan 2014).

Podle hodnocení provedených metaanalýz však není vliv dusičnanů a dusitanů na vznik rakoviny jednoznačný. Zajímavá je například metaanalýza Song et al. (2015), která dokonce naznačuje souvislost mezi příjmem dusičnanů ze zeleniny a snížením pravděpodobnosti vzniku rakoviny trávicího traktu. Tento jev by mohl být způsoben tím, že zelenina neobsahuje pouze dusičnany, ale i řadu antioxidantů a vitamínů, které můžou mít ochranný účinek. Naopak několik studií poukazuje, že příjem dusičnanů a dusitanů z masných výrobků je spojen s karcinomem ledvin (Karwowska & Kononiuk 2020).

Kyselina askorbová funguje jako inhibitor nitrosačních reakcí. V epidemiologických studiích se ukázalo, že snižuje výskyt nádorů u zvířat a snižuje riziko rakoviny spojené s požitím dusičnanů a dusitanů (Fan 2014).

3.8 Faktory ovlivňující morfologické znaky a nutriční složení špenátu

Kvalitu listové zeleniny ovlivňuje řada faktorů prostředí včetně světla, teploty, dostupnosti minerálních látek, vlhkosti nebo i přítomnost parazitů. Různé podmínky pěstování mohou ovlivnit obsah vitaminů, minerálů, fytonutrientů, trvanlivost špenátu nebo anatomii a složení listů (Gutiérrez-Rodríguez et al. 2013).

3.8.1 Odrůda

Odrůda může hrát zásadní roli u variability morfologických znaků i nutričních hodnot špenátu. Nejviditelnější změnou, na kterou má odrůda vliv, je odstín zelené barvy listů, jejich tvar i velikost. Je možná i korelace mezi barvami listu a koncentrací vitamínu C a dusičnanů, pro ověření však nebylo dostatek dat (Fujiwara et al. 2005).

Nejvýznamnější rozdíly v odrůdách byly naměřeny v obsahu askorbové kyseliny. Při analýze 27 odrůd špenátu se hodnoty lišily i o více než 50 % (Koh et al. 2012).

Gutiérrez-Rodríguez et al. (2013) pozoroval také různou tloušťku buněčné stěny mezi odrůdami.

Odrůda může mít i vliv na rychlost růstu. Rychle rostoucí kultivary obsahovaly vyšší obsah dusičnanů a nižší obsah oxalátů, zatímco pomalu rostoucí kultivary obsahovaly nižší množství dusičnanů a vyšší množství oxalátů. Tyto výsledky ukazují, že rychlost růstu odpovídá koncentraci dusičnanů a oxalátů, které tak mají protichůdné účinky (Kamanishi & Kita 2006).

3.8.2 Způsob pěstování

Nutriční kvalita špenátu závisí i na tom, zda se pěstuje ve skleníku nebo na poli. Špenát pěstovaný ve skleníku má kratší dobu kultivace oproti špenátu pěstovanému na poli a mohlo by se tak zdát, že se jedná o efektivní kultivační strategii. Nicméně kvalita špenátu ze skleníku je oproti polnímu špenátu obecně horší. Vzhledem k tomu, že ve skleníku je teplota běžně vyšší ale kvalita horší, zdá se tak, že chlad má zásadní účinky na kvalitu špenátu (Yoon et al. 2017).

Špenát se ve skleníku často pěstuje pod umělým světlem. Určitý vliv na růst rostliny má nejen intenzita světla, ale i spektrální složení. Intenzita světla pozitivně ovlivnila celkový růst rostlin, jejich hmotnost i počet listů. Při použití bílého světla společně s modrou složkou bylo dosaženo vysokého podílu obsahu bílkovin a askorbové kyseliny. Při pěstování pod bílým světlem společně s dalekou infračervenou složkou byla v listech naměřena zvýšená akumulace cukrů a železa, zatímco hladina draslíku poklesla (Utasi et al. 2019).

3.8.3 Hnojení

Způsob a intenzita hnojení má zásadní vliv na růst špenátu i nutriční složení. Hnojiva obsahují především dusík, draslík a fosfor nebo i vápník a síru. Jako organická hnojiva se používá slepičí trus, hnůj, kostní a krevní moučka, kompost, luskoobilná směska, močůvka nebo odpadní zbytky cukrovarnického průmyslu. Průmyslově vyráběná hnojiva jsou produkty s přesně definovanými poměry látek. Běžně se setkáme například s dusičnanem sodným (chilský ledek), dusičnanem amonným (leděk amonný), močovinou nebo s různými směsí amonia a dusičnanu (Britannica 2019).

Průmyslově vyráběná hnojiva se obecně používají na zvýšení výtěžnosti plodin, nicméně mohou vést ke kontaminaci vodních ploch, půdy nebo přilehlé vegetace. Organická hnojiva jsou v tomto ohledu přívětivější.

Při porovnání vlivu organických a průmyslově vyráběných hnojiv na výnos špenátu se ukázalo, že špenát ošetřený průmyslově vyráběnými hnojivy měl výnos největší, nicméně rozdíl výnosu oproti použití organických hnojiv byl velmi nízký (Abubaker et al. 2010).

Tlak na zvyšování výnosů je jedním z faktorů přispívajících k tendenci pro nadměrné hnojení dusíkovými látkami. Tyto postupy jsou spojeny se sníženou tloušťkou buněčné stěny v důsledku rychlého růstu, sníženou absorpcí makro a mikroživin a větší alokací dusíku na buněčné stěně. Všechny tyto fyziologické korelace mohou mít negativní vliv zejména proto, že tloušťka buněčné stěny je spojena s delší trvanlivostí po sklizni a také s větší odolností proti poškození (Gutiérrez-Rodríguez et al. 2013).

V experimentu podle Gutiérrez-Rodríguez et al. (2013) se hodnotil vliv hnojení u špenátu, kde se jako hnojivo používala směs dusičnanů a amonia (80:20) o různé koncentraci. Koncentrace hnojící směsi významně ovlivnila anatomii listů špenátu. Mezofyl byl diferencován na palisádový a houbový parenchym. Palisádový parenchym se skládal ze dvou až čtyř vrstev buněk v závislosti na koncentraci směsi. Pletivové buňky měly při menší koncentraci hnojiva izodiametrický tvar (ve všech směrech stejný průměr), při vyšší koncentraci měly prodloužený válcovitý tvar. Buňky při vyšší koncentraci měly větší průměr s méně vrstvami palisádového parenchymu a obecně většími listy. U některých odrůd byly pozorovány silnější listy při vyšších koncentracích. Pomocí sondy bylo ale zjištěno, že koncentrace směsi nemá vliv na křehkost listu. Při vyšších koncentracích hnojící směsi byl také naměřen větší obsah fruktózy, karotenoidů nebo chlorofylu a i b (Gutiérrez-Rodríguez et al. 2013).

Citak & Sonmez (2010) uvádí, že při použití organických hnojiv (hnůj a slepičí trus) byla naměřena vyšší koncentrace vitamínu C, a naopak nižší koncentrace dusičnanů. Použití průmyslově vyráběných hnojiv ukázalo rychlejší růst a výtěžek špenátu. Koncentrace dusičnanů u průmyslově vyráběných hnojiv byla řádově větší než u organických. Oproti organickému hnojení totiž dochází k rychlejší mineralizaci půdy, která zvyšuje teplotu půdy, a proto může být obsah dusičnanů větší (Citak & Sonmez 2010).

Při použití krevní a kostní moučky došlo k okamžitému a významnému zvýšení koncentrace dusíku v půdě, nicméně velké množství NH_4^+ v půdě vedlo v některých případech k dočasným nepříznivým účinkům na růst a nitrifikaci biomasy (Cayuela et al. 2009).

3.8.4 Termín výsevu a vliv teploty

Špenát je listová zelenina obecně vhodná pro celoroční pěstování. Porovnání letní a podzimní/zimní kultivace ale ukazuje velké rozdíly v kvalitě špenátu. Podle Fujiwara et al. (2005) byla při pěstování v zimních měsících koncentrace vitamínu C až několikanásobně vyšší než v letních měsících.

V experimentu Ito et al. (2013) bylo zjištěno, že při pěstování špenátu při teplotách 10 °C a 25 °C, došlo u nižší teploty ke zvýšení hladiny askorbové kyseliny až o 41 %.

Při analyzování vztahu mezi obsahem cukrů a vitamínem C při kultivaci v zimním období výsledky ukázaly, že vliv teploty deset dní před sklizní, může ovlivnit obsah cukrů i vitamínu C. Pokud byla teplota vyšší než 10 °C, obsah cukru ani vitamínu C se po sklizni nezměnil. Když

však teplota vzduchu před sklizní klesla pod 5 °C, obě látky se s klesající teplotou lineárně zvyšovaly (Akira 2004).

Obecně se u zeleniny a ovoce předpokládá, že snížení sluneční intenzity povede k poklesu askorbové kyseliny. Jinak tomu může být ale například u zeleniny, která obsahuje více dusičnanů. Snížením sluneční intenzity a teploty, dochází k nárůstu dusičnanů a kyslíkových radikálů, a tak je rostlina nucena kompenzovat tento fakt tím, že zvýší svoji produkci askorbové kyseliny (Proietti et al. 2009)

Na druhou stranu Kamanishi & Kita (2006) uvádí, že průměrné koncentrace dusičnanů ve špenátu v zimě byly nižší (3797 mg/kg čerstvé hmoty) ve srovnání s ostatními třemi obdobími (4122–4328 mg/kg čerstvé hmoty). Kamanishi & Kita (2006) zároveň popsali důvod, proč by mohla koncentrace dusičnanů klesat. Při nízkých teplotách dochází ke kryoprotektivní funkci, při které je absorpce vody a živin z půdy potlačena a tím může být snížena i absorpce dusičnanů.

3.8.5 Zavlažování

Listová zelenina jako je špenát je obvykle velmi citlivá na nedostatek vody. Rostliny reagují na stres suchem fyziologickými i biochemickými změnami, jejíž cílem je zadržení vody proti vysokému vnějšímu osmotickému tlaku a udržování fotosyntetické aktivity. K nejčastějším reakcím na sucho patří uzavření průduchů, které chrání rostlinu před rozsáhlými ztrátami vody. Silný stres suchem vyvolá ve většině případů změny, které vedou k neprodejnosti plodin. Deficit vody inhibuje růst rostlin snížením absorpce vody do růstových buněk a enzymaticky mění robustnost a plasticitu buněčné stěny. Zejména u listové zeleniny je zásadní konstantní množství dostupné vody. Nicméně mírný stres suchem vede k mírnějším změnám, který by podle Koyama et al. (2012) mohl dokonce podpořit tvorbu prospěšných antioxidantů (Preece & Read 2005; Cramer et al. 2011; Schlering et al. 2020).

V tříletém experimentu se ukázalo, že mírný environmentální stres v podobě snížení množství dostupné vody (o 4, 6 a 10 % oproti kontrole) vedl k významnému snížení výnosu čerstvě sklizeného špenátu. Při analýze špenátu bylo ale na druhou stranu zjištěno, že došlo ke zvýšení obsahu sušiny, polyfenolů, askorbové kyseliny, dusíku, fosforu, draslíku, zinku, manganu i flavonoidů a karotenoidů, a naopak došlo ke snížení obsahu jablečné kyseliny (Schlering et al. 2020).

V Pákistánu, Indii nebo Bangladéši je kvůli nedostatečným zásobám pitné vody pro pěstování plodin široce praktikováno zavlažování splaškovými vodami. Používání splaškové vody převážně v rozvojových zemích je považováno na vysoce ekonomické, protože snižuje náklady na použitou pitnou a podzemní vodu, hnojiva i zpracování odpadu. Ve výzkumu studující vhodnost splaškové vody bylo zjištěno, že zavlažování mělo za následek akumulaci těžkých kovů v kořenech i jedlých listech špenátu. Vzhledem k vysokému nahromadění kovů, vykazovaly rostliny snížený obsah pigmentu, silný oxidační stres a docházelo k indukci peroxidace a oxidace lipidů. Používání splaškové vody jako zdroje zavlažování může být v zemědělských postupech přínosné, může však vést k rizikům pro lidské zdraví v důsledku konzumace potravin s těžkými kovy (Khalid et al. 2018; Khan et al. 2019; Sardar et al. 2020; Sarwar et al. 2020).

Za účelem snížení spotřeby pitné vody byl proveden experiment, při kterém byly rostliny *S. oleracea* pěstovány v hydroponickém systému s roztokem, který obsahoval 10 %, resp. 20 %

slané mořské vody. U obou skupin byl oproti kontrole pozorován rychlejší růst rostlin, došlo k významnému zvýšení sodíku v čerstvém špenátu a obsah dusičnanů se při zvyšující se slanosti vody snižoval. U rostlin ošetřených s 20 % mořské vody byly však pozorovány i negativní morfologické změny, jako snížený obsah vody v listech, velikost listu, snížená hmotnost a větší dužnatost (Caparrotta et al. 2019).

3.8.6 Čas sklizně

Na nutriční vlastnosti špenátu může mít také vliv doba jeho sklizení. Při pěstování polního špenátu byly v průběhu dne zaznamenány určité rozdíly v obsahu dusičnanů, dusitanů i askorbové kyseliny. Obsah dusičnanů se velmi výrazně lišil u špenátu sklizeného v 0.30 (3,9 mg/kg) a v 9.30 (159,4 mg/kg). Vzhledem k tomu, že pěstování probíhalo v zimních měsících, k největší intenzitě světla docházelo po poledni, tedy až tři hodiny po naměření nejvyšší hodnoty obsahu dusičnanů. S narůstající intenzitou světla tak docházelo k postupnému snižování tohoto obsahu. Podobné výsledky zaznamenal i Proietti et al. (2004) ve skleníku, kdy při nižší intenzitě světla byl obsah dusičnanů větší. Obsah dusitanů byl celkově nízký, lehce se ale zvýšil, když zapadlo slunce. Obsah askorbové kyseliny byl víceméně konstantní, s klesající intenzitou světla se snižoval, ale po západu slunce se hladina začala opět vyrovnávat (Chang et al. 2013).

3.8.7 Škůdci

U špenátu byla pozorována celé řada biotických onemocnění, naštěstí ale většina z nich nezpůsobuje vážnější produkční ztráty. Nejčastěji se můžeme setkat s plísní špenátovou (*Peronospora farinosa* f. sp. *spinaciae*) a bílou rzí (*Albugo occidentalis*) způsobující vážné listové onemocnění, které se může hojně šířit po plantážích (Morelock & Correll 2008).

Plísní špenátové se daří především v chladných a vlhčích oblastech. Na spodní straně listu způsobuje bílé, šedé až namodralé plísňové skvrny. Na horní straně jsou zelené, žluté až hnědé. Napadené listy vadnou, chřadnou a odumírají. Plíseň může napadat i stonky, květy či plody rostliny (Britannica 2017).

Bílá rez je způsobena oomycetovým obligátním patogenem, který napadá vegetativní a kvetoucí struktury postižených rostlin a způsobuje žluté léze na horním povrchu listů a bílé pustuly na spodní straně, což vede k vážným ztrátám výnosu (Awika et al. 2019).

Několik patogenů žijících v půdě může způsobovat i chorobu sazenic. Mezi takové patogeny patří *Fusarium* spp. nebo *Pythium* sp. Na špenátu se také mohou vyskytovat onemocnění způsobené viry. Nejpodstatnějším virem je virus mozaiky okurky (Cucumber mosaic virus – CMV). CMV napadá široké spektrum rostlin a infikuje důležité produkční plodiny, a je tak jedním z nejvíce ekonomicky významných rostlinných virů. Na rostlině způsobuje světle nebo tmavě zelenou mozaiku, chlorózu, zakrnění nebo nekrotické léze (Yang et al. 1997; Regenmortel & Mahy 2009).

4 Materiál a metody

4.1 Stanoviště

Tento experiment probíhal v Demonstrační a výzkumné stanici katedry zahradnictví České zemědělské univerzity v Praze Troji během měsíců srpna až listopadu 2020. Stanice se nachází v těsné blízkosti vodního toku Vltavy, na jejím pravém břehu.

Podle Zprávy o průzkumu pozemků v pokusné stanici Troja zpracované Výzkumným ústavem meliorací a ochrany půdy, v. v. i. (2008) byl zhodnocen popis půdního pokryvu. Na všech pozemcích výzkumné stanice byla zjištěna fluvizem modální na nevápnité nivní uloženině. Na pozemku, kde byl umístěn náš experiment je fluvizem rázu kultizemě hortické, tj. velmi kultivované zahradnické půdy. Svrchní část profilu je výrazně obohacena zapravenými organickými látkami různých melioračních hmot (Němeček et al. 2004).

pH půdy je neutrální (6,6–6,9). Sorpční kapacita je střední, sorpční komplex je nasycen dvojmocnými kationy vápníku Ca^{2+} a hořčíku Mg^{2+} , obsah výměnných bází je velmi dobrý, obsah humusu je střední. Poměr uhlíku a dusíku C:N ovlivňuje využitelnost dusíku rostlinami. Při poměru C:N větší než 25:1, nemají rostliny k dispozici dostatek dusíku. Při poměru C:N menší než 25:1 dochází k uvolnění dusíku a rostliny ho mohou využít. Na ploše stanice byl naměřen poměr C:N 10:1, což značí velmi kvalitní půdu s dobrými zásobami půdního dusíku. Kvalitní půdu potvrzuje i vysoký obsah minerálů (Ca, K, P, Mg) v půdě (Ernfors et al. 2008; Mendelova univerzita v Brně 2021).

V zrnitostním složení půdy stanice převládá jemný a střední písek (0,025–0,05 mm, resp. 0,25–2,0 mm) s obsahem jílnatých částí a jílu (<0,01 mm, resp. <0,001 mm). Půda tak má relativně dobrou retenční vodní kapacitu (okolo 100–200 mm), rostlinami využitelná vodní kapacita je tak přibližně 60–70 mm. Znamená to tedy, že zavlažování v období sucha je nutné (Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy 2008).

4.2 Předplodiny a hnojení

Před špenátem byla na našem stanovišti pěstována luskoobilná směska – hrách, oves, peluška. Před směskou byla na pozemku školka – růže a ovocné stromky.

Během posledních tří let se pozemek nehnojil žádnými průmyslově vyráběnými hnojivy. Pouze jako organické zelené hnojení se použila výše zmíněná luskoobilná směska. Ani v průběhu samotného experimentu nedoházelo k žádnému hnojení.

4.3 Meteorologická data

Během celého experimentu byla sbírána data z meteorologické stanice ve výzkumné stanici Troja. Měřené veličiny, se kterými byly konfrontovány výsledky této práce, byly intenzita slunečního záření, teplota vzduchu a množství srážek. Hodnoty byly v rámci jednotlivých měsíců zprůměrovány a porovnány s dlouhodobým normálem.

Stanice se nachází ve výšce 196 m n. m. Měření probíhalo ve standardním travnatém povrchu, teplotní čidlo se nachází ve výšce dvou metrů. Provoz meteorologické stanice zajišťuje Katedra zahradnictví Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze a technicky ji zabezpečuje firma EMS Brno (EMS Brno 2021).

Pomocí databáze Českého hydrometeorologického ústavu byla porovnána průměrná měsíční teplota a průměrné měsíční množství srážek s dlouhodobým normálem v Praze a Středočeském kraji z let 1981–2010. Průměrné teploty v měsících srpna až listopadu 2020 byly ve stanici Troja přibližně o 2 °C větší, než byl dlouhodobý průměr. (příloha Obr. 17) (Český hydrometeorologický ústav 2020a; Český hydrometeorologický ústav 2020b).

Při srovnání spadlých srážek ve stanici Troja s dlouhodobým průměrem bylo zjištěno, že v srpnu, září i říjnu 2020 spadlo srážek více než normálně. Nejvýznamnější rozdíl byl v měsíci říjnu, kdy bylo celkem naměřeno 65,6 mm srážek oproti dlouhodobému normálu 34 mm. V tomto měsíci tak spadlo téměř dvojnásobek srážek. Naopak v listopadu spadlo srážek nejméně v porovnání s dlouhodobým normálem. V listopadu 2020 spadlo pouze 20 % srážek oproti dlouhodobému průměru (příloha Obr.18)

Průměrná intenzita slunečního záření (Global Radiation) byla porovnána s naměřenými údaji Fotovoltaického geografického informačního systému (PVGIS) Společného výzkumného střediska (JRC) Evropské komise. Data pocházejí konkrétně z databáze PVGIS-SARAH z let 2005–2016. Průměrné hodnoty sluneční intenzity v jednotlivých měsících byly stanici Troja v roce 2020 byly v měsících srpna, září a listopadu lehce vyšší, a naopak v říjnu nižší, než dlouhodobý průměr z let 2005–2016. Nejvýznamnější rozdíl byl v měsíci září, kdy bylo naměřeno 122,5 W/m² oproti průměru 105,27 W/m². Došlo tak ke zvýšení na 116 % průměrné hodnoty. V říjnu a listopadu byl však rozdíl intenzity slunečního záření ve stanici Troja a dlouhodobým průměrem minimální (příloha Obr. 19) (JRC 2019).

Z dat meteostanice byla také zjištěna sluneční intenzita v průběhu celého dne sklizně (příloha Obr. 20). V říjnu byla nejvyšší intenzita slunečního záření ve 13.00, v listopadu pak mezi 11.00 až 13.00.

4.4 Rostlinný materiál

Při tomto experimentu byla použita semena pěti odrůd špenátu setého (*S. oleracea*) – 'Harp F1', 'La Paz F1', 'Lorelay', 'Matador' a 'Winterriesen'.

'Harp F1' je orientální hybridní odrůda se silnými zoubkovanými listy s hladkým povrchem a tmavě zelenou barvou. Jedná se o odrůdu s výbornou odolností k vybíhání, velmi rychlým růstem a odolností proti plísni špenátové. Je ideální pro pěstování po celou vegetační sezónu a ke sklizni mladých listů (Moles Seeds 2021; Semo 2021a).

'La Paz F1' má veliké zelené bublinaté listy. Jedná se hybridní odrůdu vysoce rezistentní k vybíhání do květu a proti plísni špenátové. Je vhodná k jarnímu i podzimnímu výsevu (Kukačka 2021; Semo 2021b).

'Lorelay' má polovzpřímené kudrnaté listy s tmavě zelenou barvou. Dobře snáší teplo letních měsíců, ale i spolehlivě přezimuje a může se pěstovat po celou sezónu. Je odolná proti poškození při mechanizované sklizni (Annies Heirloom Seeds 2021; Semo 2021c).

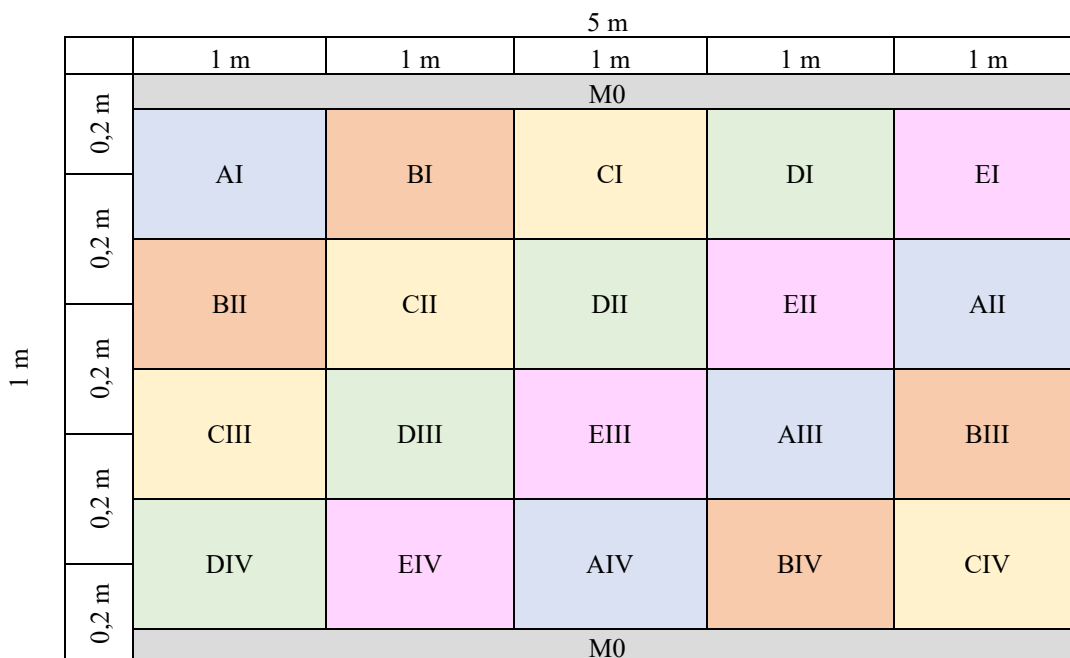
'Matador' je tmavě zelená odrůda s lehce bublinatými listy oválného tvaru. Má výbornou odolnost proti omrzání při nízkých teplotách. Dobře zvládá i vyšší teploty v létě a lze ji tak pěstovat celoročně. Při použití v kuchyni se vyznačuje sladší chutí (Botanical Interests 2021; Semo 2021d).

'Winterriesen' má velké špičaté listy uspořádané do mohutné růžici ve středně zeleném odstínu. Spolehlivě přezimuje a je vhodný k jarnímu i podzimnímu výsevu. Jedná se o velmi aromatickou odrůdu ideální na použití ve studené kuchyni (ReinSaat 2021; Semo 2021e).

4.5 Výsev

Termín prvního výsevu byl proveden 13.8.2020. Druhý termín výsevu byl založen o dva týdny později, tedy 27.8.2020. Oba výsevy byly 2 metry od sebe tak, aby měly co nejpodobnější podmínky kultivace a byla snížena možnost ovlivnění výsledků abiotickými faktory.

Jednotlivé poličko u obou výsevů mělo rozměry 1x5 metrů. Celkově bylo vyseto 6 řádků špenátu, z toho 4 řádky (4 opakování I–IV) pro vlastní experiment a 2 řádky okrajové. Jednotlivá opakování byla vyseta metodou znáhodněných bloků, díky kterým byl eliminován vliv heterogenity pozemku. Spon byl stanoven na 20x2 cm, resp. 20x5 cm. Vzdálenost mezi řádky tak byla 20 cm, vzdálenost mezi semeny špenátu v jednom řádku byla 2 nebo 5 cm v závislosti na odrůdě. Spon mezi odrůdami byl určen na základně doporučení prodejce Semo – u odrůd 'Lorelay' a 'Matador' byl 2 cm, u odrůd 'Harp F1', 'La Paz F1' a 'Winterriesen' byl 5 cm. Jeden řádek byl rozdělen na 5 stanovišť, kde se po jednom metru střídaly jednotlivé odrůdy.



Obr. 5: Design polního experimentu. Odrůdy – 'Harp F1' (A), 'La Paz F1' (B), 'Lorelay' (C), 'Matador' (D) a 'Winterriesen' (E). Jako odrůda v okrajových řádcích byl použit 'Matador' (M0).

4.6 Sklizeň

Sklizeň byla zahájena po dosažení sklizňové zralosti všech rostlin špenátu. Sklizeň probíhala vždy v dopoledních hodinách mezi 9.00 až 11.00. Z každého stanoviště byly odebrány vždy 3 reprezentativní vzorky na analýzu obsahu dusičnanů, 3 reprezentativní vzorky na analýzu obsahu askorbové kyseliny a 3 reprezentativní vzorky na stanovení obsahu sušiny. Při čtyřech opakováních od každé odrůdy (I až IV) bylo tedy na jednu analýzu u každé odrůdy použito 12 vzorků.

Vzorky pro analýzu obsahu dusičnanů byly ihned po sklizni zamrazeny, aby nedošlo k žádným významným změnám v obsahu dusičnanů. Vzhledem k tomu, že askorbová kyselina je náchylnější k poklesu během skladování (Bergquist et al. 2006; Ito et al. 2013), byly vzorky pro analýzu obsahu askorbové kyseliny zpracovány hned v den sklizně. Vzorky pro stanovení obsahu sušiny ve špenátu byly zpracovány rovněž v den sklizně.

4.7 Laboratorní měření

Na analýzu pro vyhodnocení obsahu dusičnanů a askorbové kyseliny byla použita metoda reflektometrie, konkrétně Reflectoquant[®] System od společnosti Merck (2021).

4.7.1 Přístroje

Analytické váhy SBC 41 (Scaltec)

Elektrický dvouplotýnkový vařič SCP 2250 (Sencor)

Reflektometr RQflex[®] plus 10 (Merck)

Sušicí pec UFP 500 (Mettler)

Tyčový mixér HR 1613 (Philips)

4.7.2 Chemikálie

Kyselina šťavelová odměrný roztok 0,5 mol/l (1 N) (Penta Chemicals Unlimited)

4.7.3 Stanovení obsahu dusičnanů

Pro stanovení se postupovalo podle protokolu Merck (2012). Na analýzu obsahu dusičnanů bylo potřeba 5–15 g čerstvé hmoty špenátu. Vzorky byly přesně odváženy a přidány do baněk se 100 ml destilované vody. Pomocí tyčového mixéru (Philips) byl obsah homogenizován. Vzorky byly umístěny na plotýnkový vařič (Sencor), kde se vařily po dobu 15 m. Po zchlazení (na cca 15–30 °C) se do vzorků vložil testovací proužek na 2 s, který se následně po 60 s zasunul do reflektometru (Merck). Výsledek byl v jednotkách mg/l a bylo tak potřeba hodnotu převést na mg/kg pomocí následujícího vzorce:

$$x = \text{naměřená hodnota (mg/l)} \times \text{objem destilované vody (ml)} / \text{navážka vzorku (g)}$$

4.7.4 Stanovení obsahu askorbové kyseliny

Pro stanovení se postupovalo podle protokolu Merck (2018). Na analýzu obsahu askorbové kyseliny bylo potřeba 5–15 g čerstvé hmoty špenátu. Po přesném zvážení čerstvé hmoty se do nádoby se špenátem přidalo 50 ml šťavelové kyseliny a obsah se 30 s mixoval pomocí tyčového mixéru (Philips). Po mixování se obsah přefiltroval přes PVC sítko opět po dobu 30 s. Následně se do přefiltrované roztoku se na 2 s vložil testovací proužek, který se po 60 s zasunul do reflektometru (Merck). Naměřená hodnota byla v jednotkách mg/l a bylo tak potřeba výsledek převést na mg/kg pomocí následujícího vzorce:

$$x = \text{naměřená hodnota (mg/l)} \times \text{objem šťavelové kyseliny (ml)} / \text{navážka vzorku (g)}$$

4.7.5 Stanovení obsahu sušiny

Pro analýzu obsahu sušiny bylo potřeba 5–15 g čerstvé hmoty špenátu. Vzorky špenátu byly zváženy a následně uloženy do sušicí pece (Mettler) a sušeny po dobu 4 h při teplotě

± 103 °C. Po vysušení byly vzorky opět zváženy a výsledky byly vypočítány jako rozdíl hmotnosti sušiny ku hmotnosti čerstvé hmoty a vyjádřeny v procentech.

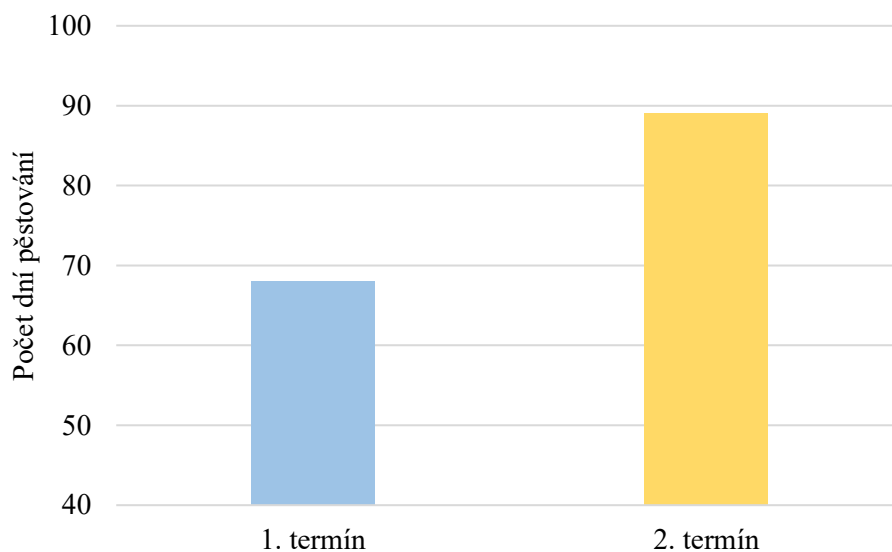
4.8 Statistické vyhodnocení

Vliv odrůdy a termínu pěstování byl vyhodnocen dvoufaktorovou analýzou variance v programu Statistica 12.0 (StatSoft). Testy nejmenšího významného rozdílu (LSD) byly použity k výpočtu statisticky významných rozdílů mezi jednotlivými odrůdami. Pro všechny statistické testy byla použita hladina významnosti $\alpha = 0,05$.

5 Výsledky

5.1 Sklizeň a délka kultivace

První termín pěstování špenátu byl vyset 13.8.2020 a jeho sklizeň proběhla za 68 dní, tedy 20.10.2020. Druhý termín výsevu byl založen o čtrnáct dní později, 27.10. a ke sklizni došlo za 89 dní, tedy 24.11.2020 (viz Tab. 2). Ke každé sklizni se přistoupilo až tehdy, když byly všechny rostliny ve sklizňové zralosti. Jak je vidět na Obr. 6, 2. termín výsevu potřeboval delší dobu kultivace. Rozdíl mezi sklizněmi obou termínů pěstování byl 21 dnů.



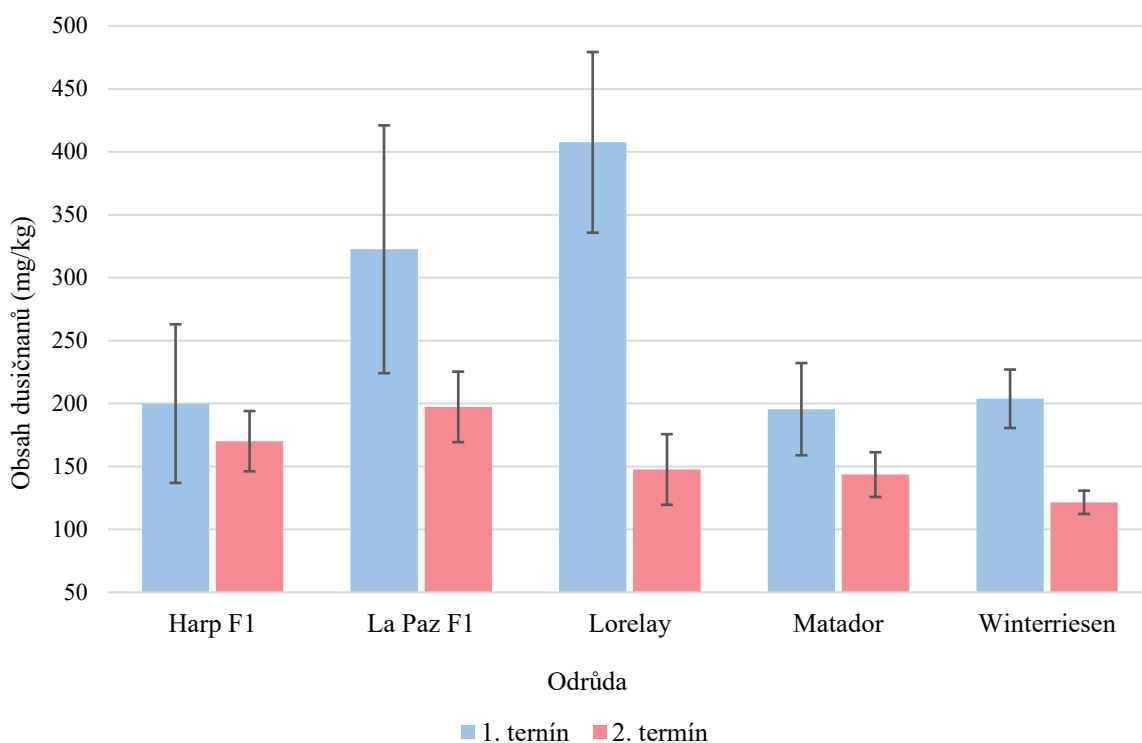
Obr. 6: Porovnání délky kultivace špenátu z 1. a 2. termínu pěstování.

Tab. 2: Datum výsevu a sklizně 1. a 2. termínu pěstování včetně délky kultivace.

| Termín | Výsev | Sklizeň | Délka kultivace (dny) |
|-----------|-------|---------|-----------------------|
| 1. termín | 13.8. | 20.10. | 68 |
| 2. termín | 27.8. | 24.11. | 89 |

5.2 Vyhodnocení obsahu dusičnanů

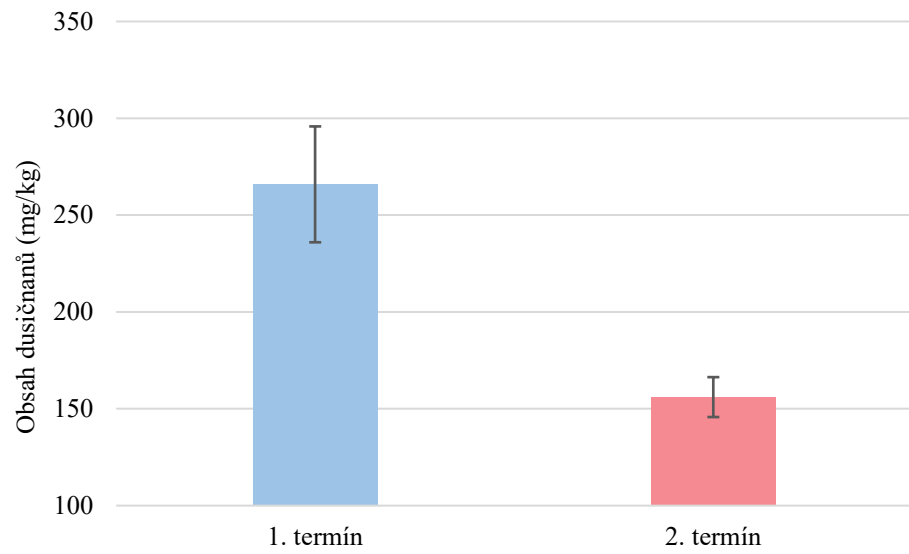
Vyhodnocení vlivu odrůdy i termínu výsevu na obsah dusičnanů můžeme vidět na následujícím obrázku (Obr. 7) a v příložené tabulce (Tab. 3). Na první pohled vidíme, že průměrný obsah dusičnanů byl v 1. termínu u všech odrůd větší, než v 2. termínu. Největší průměrný obsah dusičnanů v 1. termínu pěstování (407,58 mg/kg) jsme naměřili u odrůdy 'Lorelay', následované odrůdou 'La Paz F1' s průměrným obsahem 322,59 mg/kg. U těchto odrůd byly zároveň největší rozdíly mezi pěstováním v 1. a 2. termínu, mezi kterými byl pozorován 64%, resp. 39% pokles v průměrném obsahu dusičnanů. Tyto odrůdy však měly i největší směrodatné chyby. V 2. termínu pěstování měly největší obsah dusičnanů odrůdy 'La Paz F1' a 'Harp F1' se 197,38 mg/kg, resp. 170,12 mg/kg. Odrůda 'Harp F1' vykazovala v obou termínech velmi podobné hodnoty průměrného obsahu dusičnanů. Mezi odrůdami ve 2. termínu výsevu byly podstatně menší rozdíly než mezi odrůdami v 1. termínu. Celkový přehled vlivu termínu na obsah dusičnanů můžeme pozorovat na Obr. 8. Obsah dusičnanů v 1. termínu pěstování byl o 70 % větší než ve 2. termínu pěstování. Vliv odrůdy na obsah dusičnanů v obou termínech je znázorněn na Obr. 9.



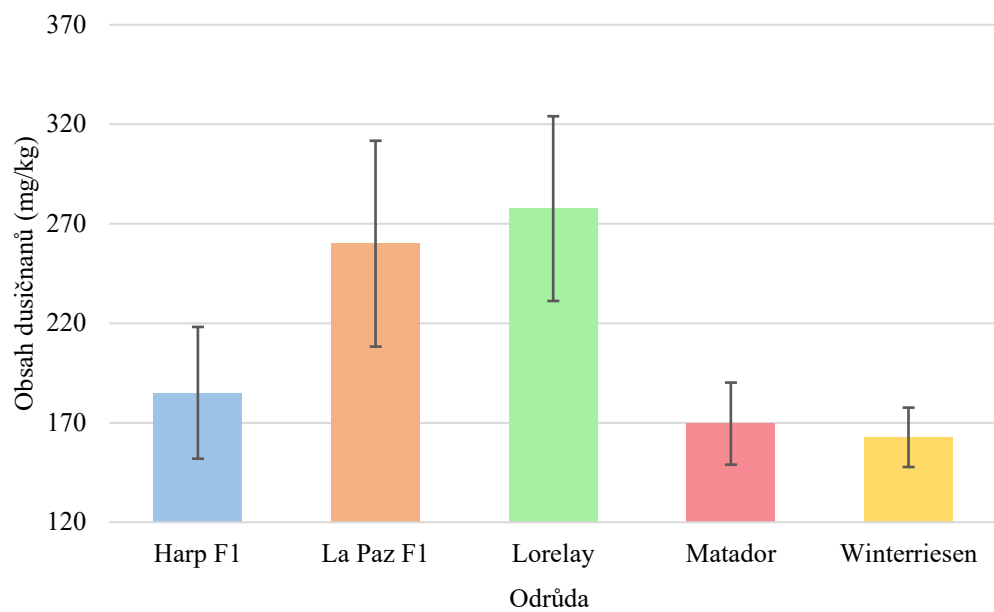
Obr. 7: Porovnání vlivu odrůdy a termínu výsevu na obsah dusičnanů u špenátu.

Tab. 3: Podrobněji naměřené hodnoty obsahu dusičnanů a porovnání odrůd pěstovaných v 1. a 2. termínu výsevu.

| Termín | Odrůda | Obsah dusičnanů (mg/kg) | | - Sm. ch. | + Sm. ch. |
|-----------|---------------------|-------------------------|------------------|-----------|-----------|
| | | Průměr | Směrodatná chyba | | |
| 1. termín | Harp F1 | 199,96 | 63,02 | 136,94 | 262,99 |
| | La Paz F1 | 322,59 | 98,44 | 224,15 | 421,04 |
| | Lorelay | 407,58 | 71,78 | 335,80 | 479,36 |
| | Matador | 195,57 | 36,63 | 158,95 | 232,20 |
| | Winterriesen | 203,81 | 23,21 | 180,59 | 227,02 |
| | Dohromady | 265,90 | 29,92 | 235,98 | 295,82 |
| 2. termín | Harp F1 | 170,12 | 23,93 | 146,18 | 194,05 |
| | La Paz F1 | 197,38 | 27,99 | 169,40 | 225,37 |
| | Lorelay | 147,64 | 28,07 | 119,57 | 175,71 |
| | Matador | 143,54 | 17,78 | 125,76 | 161,32 |
| | Winterriesen | 121,55 | 9,26 | 112,29 | 130,81 |
| | Dohromady | 156,05 | 10,31 | 145,74 | 166,35 |



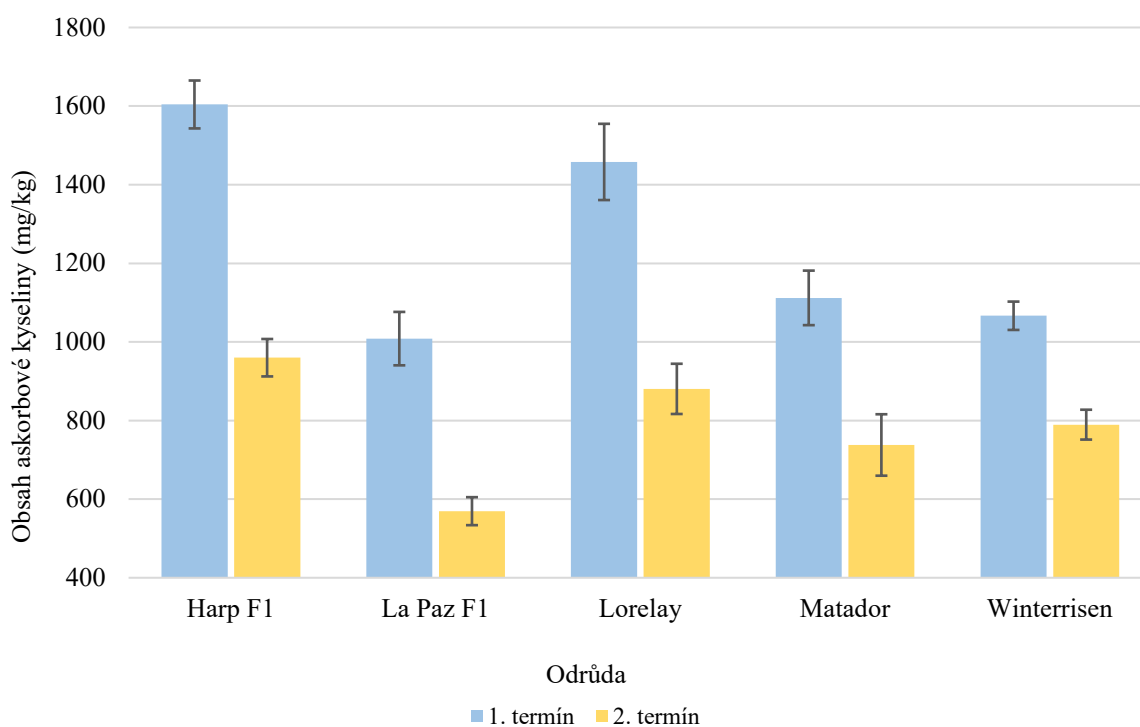
Obr. 8: Porovnání vlivu termínu výsevu na obsah dusičnanů u špenátu.



Obr. 9: Porovnání vlivu odrůdy v obou termínech pěstování na obsah dusičnanů u špenátu.

5.3 Vyhodnocení obsahu askorbové kyseliny

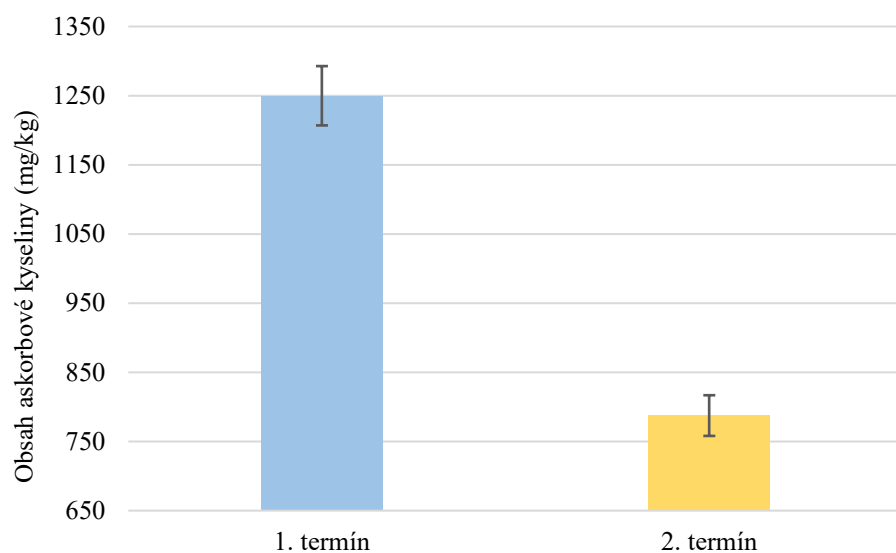
Vliv odrůdy a termínu výsevu na obsah askorbové kyseliny je zaznamenán na následujícím Obr. 10. Obsah askorbové kyseliny byl v 1. termínu u všech odrůd výrazně vyšší než u pěstování v 2. termínu. Průměrně tak došlo ke 37% poklesu mezi 1. a 2. termínem výsevu. Největší průměrný obsah askorbové kyseliny v 1. termínu měly odrůdy 'Harp F1' a 'Lorelay', které obsahovaly 1604,17 mg/kg, resp. 1457,96 mg/kg. Největší obsah askorbové kyseliny v 2. termínu pěstování měly opět odrůdy 'Harp F1' a 'Lorelay', ale tentokrát obsahovaly průměrně 959,85 mg/kg, resp. 880,56 mg/kg. V druhém termínu byly rozdíly mezi odrůdami celkově menší. Nejmenší průměrný obsah askorbové kyseliny, 569,4 mg/kg, jsme naměřili u odrůdy 'La Paz F1' během pěstování v 2. termínu. Jak můžeme vidět na Obr. 11, v 2. termínu pěstování došlo k výraznému 37% poklesu v obsahu askorbové kyseliny. Vliv odrůdy na obsah askorbové kyseliny u obou termínů pěstování je vyznačen na Obr. 12. Podrobněji naměřené hodnoty nalezneme v následující Tab. 4.



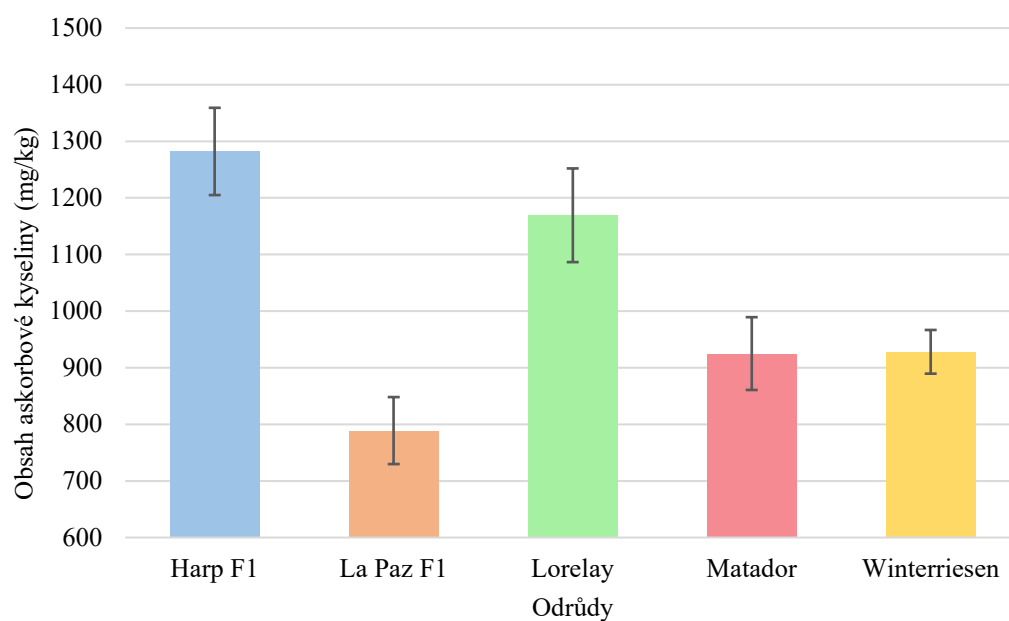
Obr. 10: Porovnání vlivu odrůdy a termínu výsevu na obsah askorbové kyseliny u špenátu.

Tab. 4: Podrobněji naměřené hodnoty obsahu askorbové kyseliny a porovnání odrůd pěstovaných v 1. a 2. termínu výsevu.

| Obsah askorbové kyseliny (mg/kg) | | | | | |
|---|---------------------|---------------|-------------------------|------------------|------------------|
| Termín | Odrůda | Průměr | Směrodatná chyba | - Sm. ch. | + Sm. ch. |
| 1. termín | Harp F1 | 1604,17 | 60,95 | 1543,22 | 1665,11 |
| | La Paz F1 | 1008,44 | 67,95 | 940,49 | 1076,39 |
| | Lorelay | 1457,96 | 96,98 | 1360,97 | 1554,94 |
| | Matador | 1112,07 | 69,37 | 1042,70 | 1181,44 |
| | Winterriesen | 1066,58 | 36,04 | 1030,54 | 1102,62 |
| | Dohromady | 1249,84 | 42,87 | 1206,98 | 1292,71 |
| 2. termín | Harp F1 | 959,85 | 47,62 | 912,24 | 1007,47 |
| | La Paz F1 | 569,40 | 35,59 | 533,81 | 604,99 |
| | Lorelay | 880,56 | 63,89 | 816,67 | 944,45 |
| | Matador | 737,85 | 78,15 | 659,70 | 816,00 |
| | Winterriesen | 789,54 | 37,99 | 751,55 | 827,53 |
| | Dohromady | 787,44 | 29,41 | 758,03 | 816,85 |



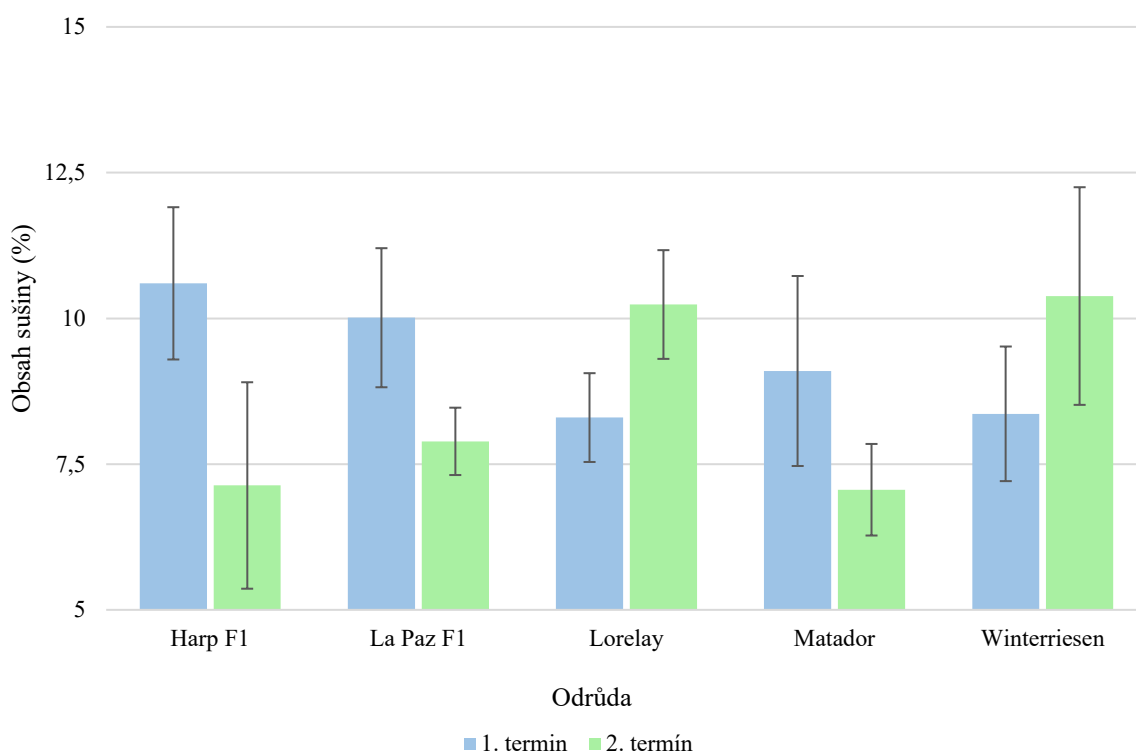
Obr. 11: Porovnání vlivu termínu výsevu na obsah askorbové kyseliny u špenátu.



Obr. 12: Porovnání vlivu odrůdy v obou termínech pěstování na obsah askorbové kyseliny u špenátu.

5.4 Vyhodnocení obsahu sušiny

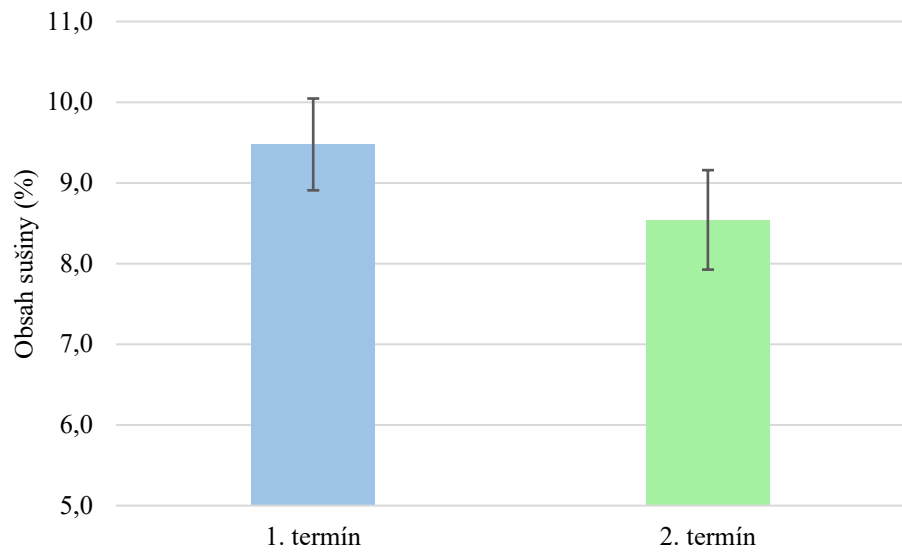
Průměrný obsah sušiny (Obr. 13) se u všech odrůd pohyboval se mezi 7–11 %. Největší průměrný obsah sušiny u 1. termínu pěstování byl naměřen u odrůdy 'Harp F1' (10,6 %), nejmenší průměrný podíl sušiny měly odrůdy 'Lorelay' (8,3 %) a 'Winterriesen' (8,36 %). Největší průměrný obsah sušiny v 2. termínu pěstování byl pozorován u odrůdy 'Winterriesen' (10,38 %) a 'Lorelay' (10,24 %). Podrobnější přehled naměřených hodnot můžeme vidět v následující Tab. 5. Jak můžeme vidět na Obr. 14, termínu pěstování měl minimální vliv na obsah sušiny u špenátu. Vliv odrůdy na obsah sušiny u obou termínů pěstování je vyznačen na Obr. 12.



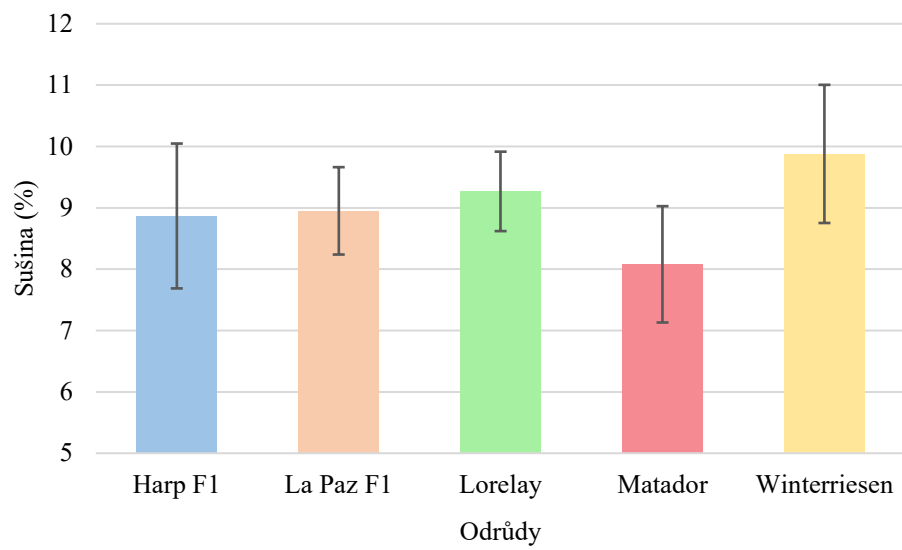
Obr. 13: Porovnání vlivu odrůdy a termínu výsevu na obsah sušiny u špenátu.

Tab. 5: Podrobněji naměřené hodnoty obsahu sušiny a porovnání odrůd pěstovaných v 1. a 2. termínu výsevu.

| Sušina (%) | | | | | |
|-------------------|---------------------|---------------|-------------------------|------------------|------------------|
| Termín | Odrůda | Průměr | Směrodatná chyba | - Sm. ch. | + Sm. ch. |
| 1. termín | Harp F1 | 10,60 | 1,31 | 9,29 | 11,91 |
| | La Paz F1 | 10,01 | 1,19 | 8,82 | 11,20 |
| | Lorelay | 8,30 | 0,76 | 7,54 | 9,06 |
| | Matador | 9,10 | 1,63 | 7,47 | 10,73 |
| | Winterriesen | 8,36 | 1,15 | 7,21 | 9,52 |
| | Dohromady | 9,27 | 1,21 | 8,07 | 10,48 |
| 2. termín | Harp F1 | 7,13 | 1,77 | 5,36 | 8,90 |
| | La Paz F1 | 7,89 | 0,58 | 7,31 | 8,47 |
| | Lorelay | 10,24 | 0,93 | 9,31 | 11,17 |
| | Matador | 7,06 | 0,79 | 6,28 | 7,85 |
| | Winterriesen | 10,38 | 1,87 | 8,52 | 12,25 |
| | Dohromady | 8,54 | 1,19 | 7,35 | 9,73 |



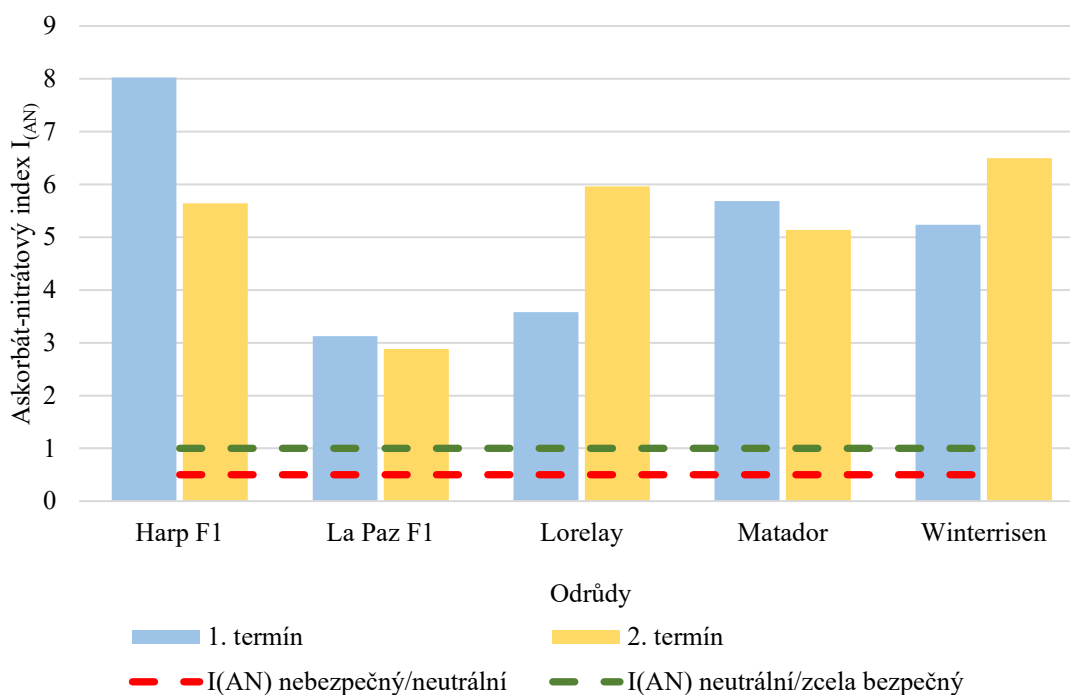
Obr. 14: Vliv termínu na obsah sušiny u špenátu.



Obr. 15: Vliv odrůdy na obsah sušiny u špenátu.

5.5 Askorbát-nitrátový index

Jak můžeme vidět na Obr. 16, všechny odrůdy špenátu v 1. i 2. termínu výsevu měly hodnotu indexu (I_{AN}) větší než 1. Největší hodnotu indexu (8,02) měla v 1. termínu výsevu odrůda 'Harp F1', ve 2. termínu výsevu pak odrůda 'Winterriesen' (6,50). Nejmenší hodnoty indexu v 1. i 2. termínu výsevu měla odrůda 'La Paz F1' (3,13, resp. 2,88). Podrobněji vypočítané hodnoty jsou k dispozici v následující Tab. 6.



Obr. 16: Askorbát-nitrátový index u odrůd pěstovaných v 1. a 2. termínu výsevu. Červená linie značí hodnotu indexu 0,5, zelená linie pak hodnotu 1.

Tab. 6: Podrobněji vypočítané hodnoty askorbát-nitrátového indexu (I_{AN}) u odrůd pěstovaných v 1. a 2. termínu výsevu.

| Termín | Odrůda | Průměrný obsah askorbové kyseliny | Průměrný obsah dusičnanů | I_{AN} |
|-----------|---------------------|-----------------------------------|--------------------------|----------|
| 1. termín | Harp F1 | 1604,17 | 199,96 | 8,02 |
| | La Paz F1 | 1008,44 | 322,59 | 3,13 |
| | Lorelay | 1457,96 | 407,58 | 3,58 |
| | Matador | 1112,07 | 195,57 | 5,69 |
| | Winterriesen | 1066,58 | 203,81 | 5,23 |
| | Dohromady | 1249,84 | 265,90 | 5,13 |
| 2. termín | Harp F1 | 959,85 | 170,12 | 5,64 |
| | La Paz F1 | 569,40 | 197,38 | 2,88 |
| | Lorelay | 880,56 | 147,64 | 5,96 |
| | Matador | 737,85 | 143,54 | 5,14 |
| | Winterriesen | 789,54 | 121,55 | 6,50 |
| | Dohromady | 787,44 | 156,05 | 5,23 |

6 Diskuze

Termín výsevu u špenátu setého měl významný vliv na obsah analyzovaných látek i na celkovou dobu pěstování. Rostliny špenátu z 1. termínu pěstování byly sklizeny za 68 dní od výsevu, druhý termín za 89 dní. Vegetační doba špenátu z druhém termínu musela být o 21 dní delší, aby špenát dosáhl potřebné sklizňové zralosti. Podobné výsledky byly pozorovány ve studii Kamanishi & Kita (2006), kde byl sledován vliv termínu pěstování na dobu kultivace špenátu. Bylo zjištěno, že špenát pěstovaný v létě (červenec–srpen) potřeboval průměrně 32,7 dní, zatímco špenát pěstovaný v zimě (říjen–prosinec) potřeboval k dozrání průměrně 85,7 dní. Rozdíl mezi oběma termíny sklizně byl tak v tomto případě 53 dní. V našem případě byl počet dní mezi sklizněmi menší, což může být způsobeno především tím, že mezi našimi termíny výsevu byl rozdíl pouze 14 dní. Rozdílné doby kultivace může způsobovat postupné snižování množství spadlých srážek či zásadní snížení průměrné sluneční intenzity záření viz příloha Obr. 18 a Obr. 19. Vzhledem k nastupujícímu podzimu, docházelo také ke snižování teploty vzduchu (příloha Obr. 17). Špenát se však běžně pěstuje i na podzim a snižující se teploty by tak v jeho pěstování významně vadit neměly.

Termín výsevu měl také průkazný vliv na obsah dusičnanů. Špenát v první termínu výsevu měl průměrný obsah dusičnanů vyšší než o čtrnáct dní pozdnější špenát z druhého termínu. Průměrný obsah dusičnanů v 1. termínu byl 266 mg/kg a v 2. termínu 156 mg/kg viz Obr. 8. Při naměření obsahu dusičnanů byla pozorována velká variabilita hodnot. Hodnoty dusičnanů v obou termínech se pohybovaly od 42 mg/kg až do 1369 mg/kg. Jeden z faktorů ovlivňující rozsah hodnot může být použití analytické metody reflektometrie, konkrétně Reflectoquant[®] System od společnosti Merck (2021). Tato metoda se vyznačuje svojí relativní snadností a rychlostí zjištění výsledků a je ideální na poměrové porovnávání naměřených výsledků mezi sebou, čemuž jsme se věnovali v této diplomové práci. Nicméně i další studie, které se zabývaly měřením dusičnanů ve špenátu pomocí různých metod, zjistily, že obsah dusičnanů značně kolísá. Podle Vědeckého stanoviska komise pro kontaminující látky v potravinovém řetězci (EFSA 2008b) se mohou hodnoty obsahu dusičnanů u špenátu pohybovat od 64 mg/kg až po 3048 mg/kg. I přes rozdílné metody měření, se rozsahy hodnot se v naší práci řádově shodují s předchozí studií. Podle Nařízení Komise (EU) č. 1258/2011 je maximální povolené množství dusičnanů pro čerstvý špenát 3500 mg/kg (Úřední věstník Evropské unie 2011). Tuto limitní hodnotu tak náš špenát v žádném měření nepřekročil.

Hodnoty dusičnanů může také ovlivnit denní doba sklizení špenátu. Chang et al. (2013) analyzovali špenát pomocí molekulární absorpční spektrometrické v průběhu celého dne. V této studii byl největší obsah dusičnanů naměřen tři hodiny před největší sluneční intenzitou dne. V našem experimentu probíhala sklizeň špenátu mezi 9.00 až 11.00 hodinou u obou termínů. Sklizeň špenátu pěstovaného v 1. termínu probíhala ve čtvrtém týdnu měsíce října a v den sklizně byla největší sluneční intenzita okolo 13.00 hodiny (viz příloha Obr. 20). Špenát tak byl sklizen čtyři až dvě hodiny před začátkem největší sluneční intenzity záření. Druhý termín výsevu špenátu byl sklizen čtvrtý týden v listopadu a k největší sluneční intenzitě záření v den sklizně došlo mezi 11.00 až 13.00 hodinou (viz příloha Obr. 20). Sklizeň špenátu tak v tomto případě začala dvě hodiny před začátkem největší sluneční intenzity záření. S ohledem na výše zmíněnou studii (Chang et al. 2013) je tedy možné, že kdybychom špenát z 2. termínu sklídili v ranějších hodinách, mohli bychom naměřit vyšší hodnoty obsahu dusičnanů.

Stanovením času sklizně s ohledem na očekávaný čas největší sluneční intenzity záření v den sklizně, bychom mohli dostat lépe porovnatelné výsledky. Rozdíly by se také mohly zmenšit v případě sklizení všech rostlin špenátu v jeden čas nebo v menším časovém rozmezí. To však vzhledem k počtu rostlin a omezené pracovní síle nebylo možné.

Dle předchozích studií (Ito et al. 2013, Brkić et al. 2017) jsme se domnívali, že obsah dusičnanů bude u pozdějšího termínu vyšší. Předpokládá se, že snižující se intenzita světla má za následek zvyšující se hladinu dusičnanů v rostlinách. Nicméně, jak už bylo popsáno výše, obsah dusičnanů u špenátu ve 2. termínu pěstování byl nižší v porovnání s 1. termínem výsevu. Hodnoty, které jsme naměřili v 1. termínu výsevu byly dokonce o 70 % vyšší než v 2. termínu výsevu. Většina studií zabývajících se podobným tématem porovnávala obsah dusičnanů u špenátu pěstovaného v různých ročních obdobích s rozestupem několika měsíců, například léto × zima. V našem experimentu jsme měli rozdíl termínu výsevu pouze čtrnáct dní. To může být důvod, proč jsme vzrůstající trend v obsahu dusičnanů nepozorovali i my.

Jestliže oba termíny pěstování špenátu byly vysety příliš krátce za sebou, měli bychom pozorovat velmi podobné výsledky. S 2. termínem výsevu jsme ale zaznamenali snižující se tendenci obsahu dusičnanů. Vliv by mohla sehrát i délka samotné kultivace. Podle Ryu et al. (2008) špenát pěstovaný delší dobu měl nižší obsah dusičnanů než ten pěstovaný v kratším časovém úseku. Jak již bylo zmíněno, špenát ze 2. termínu byl pěstován na poli déle, než špenát z 1. termínu pěstování, a to by mohl být důvod snížení obsahu dusičnanů.

Významný vliv na obsah dusičnanů měla i odrůda. Největší průměrný obsah dusičnanů v obou termínech výsevu měly odrůdy 'Lorelay' a 'La Paz F1' (278 mg/kg, resp. 260 mg/kg) viz Obr 12. Naopak nejmenší průměrný obsah dusičnanů měly odrůdy 'Winterriesen' a 'Matador' (163 mg/kg, resp. 170 mg/kg) viz Obr 12. Rozdíly mezi odrůdami byly testovány pomocí LSD testu a byly vyhodnoceny jako statisticky významné. Je zajímavé, že průkazné rozdíly mezi odrůdami byly také pozorovávány ve studii Kamanishi & Kita (2006) u špenátu pěstovaného na podzim, nicméně u špenátu pěstovaného na jaře, v létě a v zimě už tyto rozdíly statisticky významné nebyly.

Ke změnám v obsahu dusičnanů mohlo vést i to, že některé odrůdy rostou rychleji než jiné. Kamanishi & Kita (2006) uvádí, že rychle rostoucí kultivary měly větší obsah dusičnanů oproti pomaleji rostoucím odrůdám, které měly nižší obsah dusičnanů. Sklizeň všech odrůd ale probíhala ve stejný den, což u některých rychle rostoucích odrůd mohlo zase vést ke snížení obsahu dusičnanů.

Hnojení půdy by mohlo v pokusech hrát významnou roli na hladinu dusičnanů v rostlinách. V průběhu pěstování našeho špenátu ale nebyla použita žádná hnojiva a ani během posledních tří let nebyla na pozemku aplikována žádná průmyslově vyráběná hnojiva. Před naším experimentem byla na pozemku pěstována luskoobilná směska, která slouží jako mezplodina obohacující půdu dusíkem. Nicméně obě stanoviště jak 1., tak 2. termínu výsevu byly vedle sebe a měly tak stejné půdní podmínky a nemělo by tak dojít k žádnému zkreslení výsledků vlivem hnojení.

Genotyp je jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňující hladinu askorbové kyseliny. Největší průměrný obsah v 1. i 2. termínu pěstování měla odrůda 'Harp F1', která obsahovala 1604 mg/kg, resp. 960 mg/kg askorbové kyseliny (Obr. 10). Nejmenší průměrný obsah v 1. i 2. termínu pěstování měla odrůda 'La Paz F1', která obsahovala 1008 mg/kg, resp. 569 mg/kg askorbové kyseliny (Obr. 10). Při porovnání hodnot jednotlivých odrůd pomocí LDS testu jsme

zjistili, že mezi odrůdami byl statisticky významný rozdíl v obsahu askorbové kyseliny. V porovnání s odbornou literaturou jsou tyto hodnoty poměrně vysoké. Bergquist et al. (2006) i Koh et al. (2012) uvádí, že jimi naměřené hodnoty se pohybovaly přibližně od 130 mg/kg do 460 mg/kg, resp. 630 mg/kg čerstvé váhy. Jedna z možností, proč naše výsledky byly tak vysoké, je použití metody Reflectoquant® System od společnosti Merck (2021), kterou jsme pro stanovení askorbové kyseliny využili.

Podobně jako u dusičnanů, dochází v průběhu dne ke kolísání hladiny askorbové kyseliny v rostlině, avšak v menší míře. Podle měření Chang et al. (2013) byl obsah askorbové kyseliny během dne relativně konstantní, ale krátce poté, co začala klesat intenzita slunečního záření docházelo i k mírnému poklesu obsahu askorbové kyseliny. Během pár hodin se hodnota askorbové kyseliny opět vyrovnala. Sklizení špenátu v dopoledních hodinách v našem experimentu, tak pravděpodobně neovlivnilo obsah askorbové kyseliny ve špenátu.

Obsah askorbové kyseliny byl také průkazně ovlivněn termínem výsevu. Špenát pěstovaný v 1. termínu měl průměrný obsah 1250 mg/kg, zatímco špenát z 2. termínu pěstování obsahoval průměrně 787 mg/kg viz. Obr. 11. Průměrný obsah se tak v 2. termínu pěstování snížil o 37 %. Očekávali jsme však opačný trend. Podle několika studií jsme se domnívali, že obsah askorbové kyseliny bude v pozdějším termínu pěstování vyšší. Fujiwara et al. (2005) uvádí, že koncentrace askorbové kyseliny byla v létě (červenec–srpen) nižší než v zimě (leden–březen). Tato koncentrace askorbové kyseliny byla dokonce sedmkrát větší u špenátu pěstovaného v zimě. Podobné výsledky pozorovali i Citak & Sonmez (2010) u špenátu pěstovaného na podzim a v zimě, kdy špenát pěstovaný v zimě měl přibližně dvojnásobnou koncentraci askorbové kyseliny než špenát pěstovaný na podzim.

K nárůstu hladiny askorbové kyseliny dochází pravděpodobně vlivem snižující se teploty a intenzity slunečního záření na podzim a v zimě citace. Ve špenátu se začíná akumulovat více dusičnanů a tím se tvoří větší množství volných kyslíkových radikálů, proti kterým se rostlina brání tím, že zvýší tvorbu askorbové kyseliny (Proietti et al. 2009). Vzhledem k tomu, že v našem experimentu se hladina dusičnanů u pozdějšího termínu snížila, je možné, že v rostlině nedošlo k nárůstu kyslíkových radikálů, a proto rostlina nemusela vytvářet větší množství askorbové kyseliny.

Průměrný obsah sušiny u špenátu v se pohyboval od 7 po 11 %, rozdíly mezi odrůdami ani mezi termíny však nejsou statisticky významné. V práci Lefrud et al. (2008) byly pozorovány podobné výsledky, špenát zde obsahoval 6–13 % sušiny. Podle Qiu et al. (2014) má zelenina s větším obsah vody i větší obsah dusičnanů, žádnou takovou korelaci jsme v našem experimentu ale nezaznamenali.

V rámci této práce byl také hodnocen askorbát-nitrátový index (I_{AN}). Askorbát-nitrátový index je poměr mezi obsahem kyseliny askorbové a dusičnany a udává, jak je potravinu bezpečná. Nejmenší hodnoty indexu nabývala odrůda 'La Paz F1' a to jak v 1., tak 2. termínu pěstování (3,1, resp. 2,9) viz Obr. 16. Průměrné hodnoty mezi oběma termíny se ale významně nelišily (5,1 a 5,2) viz Tab. 6. Všechny odrůdy v 1. i 2. termínu pěstování měly hodnotu indexu větší než 1 a špenát tak může být vyhodnocen jako zdravotně nezávadný. V jiných studiích (Pokluda 2006; Vábková & Neugebauerová 2011) byl askorbát-nitrátový index určen u několika druhů listové a kořenové zeleniny, například čínské zelí (0,29), ledový salát (0,35), ředkev (0,7), petržel (1,3), kedlubna (1,5) nebo kopr vonný (7,1). Hodnoty indexu se tak

pohybovaly ve všech oblastech I_{AN} , od rizikové ($< 0,5$), přes neutrální ($0,5-1$), až po zdravotně nezávadnou (> 1).

7 Závěr

- Mezi odrůdami byly pozorovány rozdíly v obsahu dusičnanů a výsledky byly statisticky vyhodnoceny. Hypotéza, že mezi odrůdami špenátu budou statisticky významné rozdíly v obsahu dusičnanů byla potvrzena. Největší obsah dusičnanů byla naměřena u odrůdy 'Lorelay' a naopak nejmenší obsah byl zaznamenán u odrůdy 'Winterriesen'. Odrůda 'Lorelay' měla průkazně vyšší hladiny obsahu dusičnanů než odrůdy 'Harp F1', 'Matador' a 'Winterriesen'.
- Statisticky významné rozdíly byly zaznamenány i v obsahu askorbové kyseliny. Největší obsah askorbové kyseliny měla odrůda 'Harp F1' a 'Lorelay', naopak nejmenší obsah měla odrůda 'La Paz F1'. Odrůdy 'Harp F1' a 'Lorelay' měly prokazatelně vyšší obsah askorbové kyseliny oproti zbylým třem odrůdám.
- Termín výsevu měl průkazný vliv na obsah dusičnanů ve špenátu. Dle literatury bylo očekáváno, že druhý pozdější termín výsevu bude mít podstatně vyšší obsah dusičnanů. Měření této studie ale přineslo přesně opačné výsledky a v druhém termínu pěstování byl pozorován signifikantní pokles hladiny dusičnanů. V první termínu pěstování byla naměřena o 70 % větší hladina dusičnanů než ve druhém termínu pěstování. Nicméně hypotéza, že termín výsevu významně ovlivní obsah dusičnanů ve špenátu, byla potvrzena.
- S pozdějším termínem výsevu byl zároveň očekáván významný nárůst askorbové kyseliny v pěstovaném špenátu. I v tomto případě byly pozorovány přesně opačné výsledky. V druhém termínu pěstování byla hladina askorbové kyseliny průkazně nižší než u špenátu z prvního termínu pěstování. Obsah askorbové kyseliny byl ve druhém termínu pěstování špenátu o 37 % nižší než v prvním termínu pěstování.
- Odrůda ani termín výsevu neměly vliv na obsah sušiny ve špenátu. Rozdíly mezi odrůdami a ani mezi termíny pěstování nebyly statisticky významné.
- V rámci této práce byl také zhodnocen askorbát-nitrátový index. Všechny odrůdy v obou termínech pěstování byly vyhodnoceny jako zdravotně nezávadné.
- Měnicí se sluneční intenzita v průběhu dne může mít vliv na obsah dusičnanů ve špenátu. Při opakování experimentu je tak potřeba sklídit špenát v co nejkratším čase a ve stejnou dobu od největší sluneční intenzity dne, aby se zabránilo nežádoucím změnám v obsahu látek.
- Výsledky naznačují, že výběr odrůdy má významný vliv na obsah dusičnanů. V této studii bylo pozorováno, že některé odrůdy mají sklon kumulovat dusičnany více než jiné. Špenát, jako jedna ze zelenin, která obsahuje nejvíce dusičnanů, může představovat riziko převážně pro těhotné ženy a malé děti a bylo tak vhodné, zařadit volbu odrůdy mezi kritéria, která budou zohledněna při vybírání odrůdy pěstitelem.
- Volba určité odrůdy anebo optimalizace termínu výsevu a času sklizně může mít podstatný vliv na nutriční kvalitu pěstovaného špenátu. Tento experiment byl ale proveden v úzkém časovém období v rámci jednoho roku a na ověření výsledků je tak nutné víceleté pozorování.

8 Seznam literatury

- Abdollahi M, Khaksar MR. 2014. Sodium Nitrite. Pages 334-337 in Wexler P, editor. Encyclopedia of Toxicology. Academic Press, Cambridge.
- Abubaker S, Abu-Zahra T, Alzu'bi YA, Ammari TG. 2010. Nitrate accumulation in spinach (*Spinacia oleracea* L.) tissues under different fertilization regimes. Journal of Food Agriculture and Environment **2**:778-780.
- Acikgoz FE, Altintas S. 2011. Seasonal variations in vitamin C and mineral contents and some yield and quality. Journal of Food, Agriculture and Environment **2**:289-291.
- Akira T. 2004. Effect of Air Temperature on the Content of Sugar and Vitamin C of Spinach and Komatsuna. Horticultural Research (Japan) **2**:187-190.
- Alcohol and Drug Foundation, 2020. ADF. Available from <https://adf.org.au/drug-facts/amyl-nitrite/> (accessed January 2021).
- Andersen SB, Torp AM. 2011. *Spinacia*. Pages 273-276 in Kole Ch, editor. Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Springer, Berlin.
- Annies Heirloom Seeds. 2021. Lorelay Spinach. Available from <https://www.anniesheirloomseeds.com/lorelay-spinach/> (accessed January 2021).
- Austin DF. 2007. Water Spinach (*Ipomoea*). Ethnobotany Research & Applications **5**:123-146.
- Awika HO, Marconi TG, Bedre R, Mandadi K, Avila CA. 2019. Minor alleles are associated with white rust (*Albugo occidentalis*) susceptibility in spinach (*Spinacia oleracea*). Horticulture Research **6** DIO: 10.1038/s41438-019-0214-7.
- Bailey SJ, Vanhatalo A, Winyard PG, Jones AM. 2012. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway: Its role in human exercise physiology. European Journal of Sport Science **4**:309-320.
- Bergquist SA, Gertsson UE, Olsson ME. 2006. Influence of growth stage and postharvest storage on ascorbic acid and carotenoid content and visual quality of baby spinach (*Spinacia oleracea* L.). Journal of the Science of Food and Agriculture **86**:346-355.
- Binbin W, Qin M, Dongmei L, Xiude Ch, Hongyu W, Ling L, Futian P. 2020. How does nitrate regulate plant senescence?. Plant Physiology and Biochemistry **157**: 60-69.
- Bondonno CP, Yang X, Croft K, Conside MJ, Hodgson J. 2012. Flavonoid-rich apples and nitrate-rich spinach augment nitric oxide status and improve endothelial function in healthy men and women: a randomized controlled trial. Free Radical Biology and Medicine **1**:95-102.
- Botanical Interests. 2021. Matador spinach seeds. Botanical Interests. Available from <https://www.botanicalinterests.com/product/Matador-Spinach-Seeds> (accessed January 2021).
- Brayn NS, Petrosino JF. 2017. Nitrate-Reducing Oral Bacteria: Linking Oral and Systemic Health. Pages 21-31 in Brayn NS, Loscalzo J, editors. Nitrite and Nitrate in Human Health and Disease. Humana Press, Totowa.

- Britannica. 2017. Downy mildew. Encyclopædia Britannica, Inc. Available from <https://www.britannica.com/science/downy-mildew> (accessed March 2021).
- Britannica. 2019. Fertilizer. Encyclopædia Britannica, Inc. Available from <https://www.britannica.com/topic/fertilizer> (accessed January 2021).
- Britannica. 2020. Spinach. Encyclopædia Britannica, Inc. Available from <https://www.britannica.com/plant/spinach> (accessed March 2021).
- Brkić D, Bevardi M, Bošković AG, Miloš S, Lasić D, Krivohlavek A, Racz A, Čuić AM, Trestenjak NU. 2017. Nitrate in leafy green vegetables and estimated intake. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* **3**:31-41.
- Cabello P, Roldán MD, Castillo F, Moreno-Vivián C. 2009. Nitrogen Cycle. Pages 299-321 in Schaechter M, editor. *Encyclopedia of Microbiology*. Academic Press, San Diego.
- CABI. 2019. Invasive Species Compendium – *Tetragonia tetragonioides* (New Zealand spinach). CAB International. Available from <https://www.cabi.org/isc/datasheet/52942> (accessed March 2021).
- Caparrotta S, Masi E, Azori G, Diamanti I, Azzarello E, Mancuso S, Pandolfi C. 2019. Growing spinach (*Spinacia oleracea*) with different seawater concentrations: Effects on fresh, boiled and steamed leaves. *Scientia Horticulturae* **256** (108540) DOI: 10.1016/j.scienta.2019.05.067.
- Carlsson S, Wiklund NP, Engstrand L, Weitzberg E, Lundberg JO. 2001. Effects of pH, nitrite, and ascorbic acid on nonenzymatic nitric oxide generation and bacterial growth in urine. *Nitric Oxide* **5**:580-586.
- Cayuela M L, Sinicco T, Mondini C. 2009. Mineralization dynamics and biochemical properties during initial decomposition of plant and animal residues in soil. *Applied Soil Ecology* **1**:118-127.
- Citak S., Sonmez S. 2010. Effects of conventional and organic fertilization on spinach (*Spinacea oleracea* L.) growth, yield, vitamin C and nitrate concentration during two successive seasons. *Scientia Horticulturae* **4**:415-520.
- Correll JC, Bluhm BH, Feng C, Lamour K, Toit LJ, Koike ST. 2011. Spinach: better management of downy mildew and white rust through genomics. *European Journal of Plant Pathology* Issue **129**:193-205.
- Cramer GR, Urano K, Delrot S, Pezzotti M, Shinozaki K. 2011. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *BMC Plant Biology* **11** DOI: 10.1186/1471-2229-11-163.
- Český hydrometeorologický ústav. 2020. Historická data – Uzemní srážky. CHMI. Available from <https://www.chmi.cz/historicka-data/pocasi/uzemni-srazky> (accessed February 2021).
- Český hydrometeorologický ústav. 2020. Historická data – Územní teploty. CHMI. Available from <https://www.chmi.cz/historicka-data/pocasi/uzemni-teploty#> (accessed February 2021).

- Český svaz zpracovatelů masa. 2009. Dusitany a masné výrobky. ČSZM. Available from <http://www.cszm.cz/clanek.asp?typ=5&id=1136> (accessed January 202).
- DACH. 2015. Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. DGE, Bonn.
- Deshmukh SA, Gaikwad DK. 2014. A review of the taxonomy, ethnobotany, phytochemistry and. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* **4**:153-165.
- Dewanjee S, Dua TK, Khanra R, Das S, Bhattacharjee N. 2015. Water Spinach, *Ipomoea aquatica* (Convolvulaceae), Ameliorates Lead Toxicity by Inhibiting Oxidative Stress and Apoptosis. *The PLOS ONE* **11** (e 0139831) DOI: 10.1371/journal.pone.0139831.
- Ding Z, Johannigsmeier SD, Price R, Breidt F. 2018. Evaluation of nitrate and nitrite contents in pickled fruit and vegetable products. *Food Control* **90**:304-311.
- Drapcho DL, Sisterson D, Kumar R. 1983. Nitrogen fixation by lightning activity in a thunderstorm. *Atmospheric Environment* **4**:729-734.
- EFSA. 2008a. Nitrate in vegetables. *The EFSA Journal* **689**:1-79.
- EFSA. 2008b. Vědecké stanovisko komise pro kontaminující látky v potravinovém řetězci. *The EFSA Journal*:1-79.
- EFSA. 2017. Dietary Reference Values for nutrients. European Food Safety Authority. Available from <https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/e15121> (accessed March 2021).
- EFSA. 2019. Dietary reference values for sodium. *EFSA Journal* **9** DOI: 10.2903/j.efsa.2019.5778.
- Eloísa A, Purificación C, Haba DL. 2010. Induction of leaf senescence by low nitrogen nutrition in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *Physiologia Plantarum* **138**:256-267.
- EMS Brno. 2021. Meteorologická stanice: Výzkumná stanice Troja. Available from <http://www.emsbrno.cz/p.axd/cs/Troja.CZUKZ.html> (accessed March 2021).
- Ernfors M, Arnold K, Stendahl J, Olsson M, Klemedtsson L. 2008. Nitrous oxide emissions from drained organic forest soils—an up-scaling based on C:N ratios. *Biogeochemistry* **89**:29-41.
- Fan AM. 2014. Nitrate. Pages 523-527 in Wexler P, editor. *Encyclopedia of Toxicology*. Academic Press, Cambridge.
- FAO. 2019. FAOSTAT – Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO. Available from <http://www.fao.org/faostat> (accessed March 2021).
- Förstermann U, Sessa WC. 2012. Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal* **7**:829-837.
- Fujiwara T, Kumakura H, Ohta S, Yoshida Y, Kameno T. 2005. Seasonal Variation of L-Ascorbic Acid and Nitrate Content of Commercially Available Spinach. *Human Issues in Horticulture* **3**:347-352.

- Gaikwad PS, Shere RV, Otari KV. 2010. *Spinacia oleracea* Linn: a pharmacognostic and pharmacological overview. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy* **1**:78-84.
- Gladwin M. T. Schechter AN, Kim-Shapiro DB, Patel R, Lundber JO. 2005. The emerging biology of the nitrite anion. *Nature Chemical Biology* **6**:308-314.
- Gupta SK, Gupta A, Gupta R. 2017. Pathophysiology of Nitrate Toxicity in Humans in View of the Changing Trends of the Global Nitrogen Cycle With Special Reference to India. Pages 459-469 in Abrol YP, Adhya TK, Singh B, editors. *The Indian Nitrogen Assessment*. Elsevier, Dausa.
- Gutiérrez-Rodríguez E, Lieth HJ, Jernstedt JA, Labavitch JM, Suslow TV, Cantwell MI. 2013. Texture, composition and anatomy of spinach. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2**:227-237.
- Hanrahan G, Chan G. 2005. Nitrogen. Pages 191-196 in Worsfold P, Townshend, Poole C, editors. *Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition)*. Elsevier, Amsterdam.
- Hecker M, Sessa WC, Harris HJ, Anggard EE, Vane JR. 1990. The metabolism of L-arginine and its significance for the biosynthesis of endothelium-derived relaxing factor: cultured endothelial cells recycle L-citrulline to L-arginine. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **21**:8612-8616.
- House JE, House KA. 2016. Nitrogen. Pages 197-214 in House J, House K, editors. *Descriptive Inorganic Chemistry*. Academic Press, Univerzita Illinois v Urbana Champaign.
- Chang AC, Yang TY, Riskowski G. 2013. Ascorbic acid, nitrate, and nitrite concentration relationship to the 24 hour light/dark cycle for spinach grown in different conditions. *Food Chemistry* **1**:382-388.
- Ito A, Shimizu H, Hiroki R, Nakashima H, Miyasaka J, Ohdoi K. 2013. Effect of Acclimation of Root Area to Low Temperature on Nutritional Quality of Spinach. *IFAC Proceedings Volumes* **4**:29-32.
- Johnson DA. 2019. Nitric Oxide Synthesis Pathway Arginine Lowers Blood Pressure. Available from <https://www.youtube.com/watch?v=TGdQ7TOB5RE> (accessed March 2021).
- JRC. 2019. Photovoltaic Geographical Information System (PVGIS). Joint Research Centre. Available from https://re.jrc.ec.europa.eu/pvg_tools/en/#MR (accessed March 2021).
- Kaetzel MA, Dedman JR. 2003. Calmodulin. Pages 241-245 in Henry HL, Norman AW, editors. *Encyclopedia of Hormones*. Academic Press, Cincinnati.
- Kamanishi A, Kita N. 2006. Seasonal Change of Nitrate and Oxalate Concentration in Relation to the Growth Rate of Spinach Cultivars. *HortScience* **7**:1589–1595.
- Karwowska M, Kononiuk A. 2020. Nitrates/Nitrites in Food—Risk for Nitrosative Stress and Benefits. *Antioxidants* **3**:241.

- Kerry RG, Mahapatra GP, Sushmita P, Santi LS, Chinmay P, Bijan KP, Rout JR. 2018. Proteomic and genomic responses of plants to nutritional stress. *BioMetals* **31**:161-187.
- Khalid S, Shahid M, Natasha, Bibi I, Sarwar T, Shah AH, Niazi NK. 2018. A Review of Environmental Contamination and Health Risk Assessment of Wastewater Use for Crop Irrigation with a Focus on Low and High-Income Countries. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **5** DOI: 10.3390/ijerph15050895.
- Khan ZI, Ahmad K, Batool F, Wajid K, Mehmood N, Ashfaq N, Bashir H, Nadeem M, Ullah S. 2019. Evaluation of toxic potential of metals in wheat crop grown in wastewater-contaminated soil in Punjab, Pakistan. *Environmental Science and Pollution Research* **26**:24958-24966.
- Knight J, Madduma-Liyanage K, Mobley JA, Assimos DG, Holmes RP. 2016. Ascorbic Acid Intake and Oxalate Synthesis. *Urolithiasis* **4**:289-297.
- Koh E, Charoenprasert S, Mitchell AE. 2012. Effect of Organic and Conventional Cropping Systems on Ascorbic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **12**:3144-3150.
- Kochar NI, Chandewal AV, Bakal RL, Kochar PN. 2011. Nitric Oxide and the Gastrointestinal Tract. *International Journal of Pharmacology* **7**:31-39.
- Koyama R, Itoh H, Kimura S, Morioka A, Uno Y. 2012. Augmentation of Antioxidant Constituents by Drought Stress to Roots in Leafy Vegetables. *HortTechnology* **1**:121-125.
- Kukačka. 2021. Semo Špenát – Clarinet (La Paz) F1. Available from <https://www.kuckacka.cz/semo-spenat-clarinet-la-paz-f1-celorocni-300s-vyprodej/1655a> (accessed February 2021).
- Kutayli MW, Silberstein P. 2007. Methemoglobinemia. Pages 1-5 in Enna SJ, Bylund DB, editors. *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*. Elsevier, Omaha.
- Lanas A. 2008. Role of nitric oxide in the gastrointestinal tract. *Arthritis Research & Therapy* **10** DOI: 10.1186/ar2465.
- Lee JH, Yang ES, Park JW. 2003. Inactivation of NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase by peroxynitrite. Implications for cytotoxicity and alcohol-induced liver injury. *Journal of Biological Chemistry* **51**:51360-51371.
- Lefrud M, Kopsell DA, Sams C, Wills J. 2008. Dry Matter Content and Stability of Carotenoids in Kale and Spinach During Drying. *HortScience* **6**:1731-1736.
- Lehnert N, Coruzzi G, Seefeldt L, Stein L. 2015. Feeding the World in the 21st Century: Grand Challenges in the Nitrogen Cycle. National Science Foundation, Arlington.
- Lundberg JO, Gladwin MT, Bryan NS, Ahluwalia A, Benjamin N, Weitzberg E. 2009. Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics. *Nature Chemical Biology*, **12**:865-869.
- Lundberg JO, Weitzberg E, Shiva S, Gladwin MT. 2011. The Nitrate–Nitrite–Nitric Oxide Pathway in Mammals. Pages 24-48 in Bryan NS, Loscalzo J, editors. *Nitrite and Nitrate in Human Health and Disease*. Humana Press, Totowa.

- Maeda N, Hada T, Murakami-Nakai Ch, Sakaguchi K, Mizushina Y. 2005. Effects of DNA polymerase inhibitory and antitumor activities of lipase-hydrolyzed glycolipid fractions from spinach. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **2**:121-128.
- McArdle F, Pattwell DM, Vasilaki A, McArdle A, Jackson MJ. 2005. Intracellular generation of reactive oxygen species by contracting skeletal muscle cells. *Free Radical Biology & Medicine* **5**:651-657.
- McSorley SJ, Liew FY. 1998. Nitric Oxide. Pages 1859-1861 in Delves P, editor. *Encyclopedia of Immunology*. Elsevier, London.
- Mendelova univerzita v Brně. 2021. Available from https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=5052&typ=html (accessed February 2021).
- Meng S, Peng JS, He YN, Zhang GB, Yi HY, Fu YL, Gong JM. 2016. Arabidopsis NRT1.5 Mediates the Suppression of Nitrate Starvation-Induced Leaf Senescence by Modulating Foliar Potassium Level. *Molecular Plant* **3**:461-470.
- Merck. 2012. Nitrate in Vegetables. Merck KGaA. Available from https://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/static/WFS/Merck-Site/-/Merck/en_US/Freestyle/LE-Lab-Essentials/Test%20Kits/Reflectometry-200605084.pdf (accessed March 2021).
- Merck. 2018. Ascorbic Acid in Kiwi Fruit. Merck KGaA. Available from https://www.merckmillipore.com/CZ/cs/product/Ascorbic-Acid-Test,MDA_CHEM-116981#anchor_APPL (accessed March 2021).
- Merck. 2021. Reflectoquant® System. Merck KGaA. Available from https://www.merckmillipore.com/CZ/cs/products/analytcs-sample-prep/test-kits-and-photometric-methods/instrumental-test-systems-for-quantitative-analyses/reflectoquant-system/ILOb.qB.OjIAAAE_Jhh3.Lxj,nav (accessed April 2021).
- Mikkelsen RB, Wardman P. 2003. Biological chemistry of reactive oxygen and nitrogen and radiation-induced signal transduction mechanisms. *Oncogene* **22**:5734-3754.
- Bezpečnost potravin. 2018a. Dusičnany a dusitany. Ministerstvo zemědělství. Available from <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76479.aspx> (accessed December 2020).
- Bezpečnost potravin. 2018b. Konzervanty. Ministerstvo zemědělství. Available from <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76496.aspx> (accessed January 2021).
- Bezpečnost potravin. 2020. Solení masa. Ministerstvo zemědělství. Available from <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76639.aspx> (accessed January 2021).
- Mohan VR, Daffodil ED. 2016. Antinutritional Factors in Legume Seeds: Characteristics and Determination. Pages 211-220 in Caballero B, Finglas PM, Toldrá F, editors. *Encyclopedia of Food and Health*. Academic Press, Cambridge.
- Moles Seeds. 2021. Spinach F1 Harp (VSP22). Moles Seeds (UK) Ltd, Colchester. Available from <https://www.wholesale.molesseeds.co.uk/spinach-f1-harp-vsp22/> (accessed February 2021).

- Morelock TE, Correll JC. 2008. Spinach. Pages 198-218 in Prohens J, Nuez F, editors. *Vegetables I: Asteraceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae, and Cucurbitaceae*. Springer, New York.
- Nall R. 2019. What to know about nitric oxide supplements. *Medical News Today*. <https://www.medicalnewstoday.com/articles/326381#benefits> (accessed January 2021).
- Nazir M, Pandey R, Siddiqi TO, Ahmad A. 2016. Nitrogen-Deficiency Stress Induces Protein Expression Differentially in Low-N Tolerant and Low-N Sensitive Maize Genotypes. *Frontiers in Plant Science* **7** DOI: 10.3389/fpls.2016.00298.
- NCBI. 2020a. PubChem Compound Summary for CID 946, Nitrite. National Center for Biotechnology Information. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nitrite> (accessed December 2020).
- NCBI. 2020b. PubChem Compound Summary for CID 943, Nitrate. National Center for Biotechnology Information. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nitrate> (accessed December 2020).
- NCBI. 2021a. PubChem Compound Summary for CID 947, Nitrogen. National Center for Biotechnology Information. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nitrogen> (accessed January 2021).
- NCBI. 2021b. PubChem Compound Summary for CID 10026, Amyl nitrite. National Center for Biotechnology Information. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Amyl-nitrite> (accessed January 2021).
- NCBI. 2021c. PubChem Compound Summary for CID 22985, Ammonium nitrate. National Center for Biotechnology Information. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ammonium-nitrate> (accessed January 2021).
- NCBI. 2021d. PubChem Compound Summary for CID 24268, Sodium nitrate. National Center for Biotechnology Information. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sodium-nitrate> (accessed January 2021).
- Němeček J, Vokoun J, Smejkal J, Macků J, Kozák J, Němeček K, Borůvka L. 2004. Taxonomický klasifikační systém půd ČR. Available from https://klasifikace.pedologie.cz/index.php?action=showPudniSubtypy&id_categoryNode=176 (accessed January 2021).
- Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. 2007. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews* **1**:315-424.
- Pladias. 2021. Databáze české flóry a vegetace. Pladias. Available from <https://pladias.cz/taxon/data/Spinacia%20oleracea> (accessed March 2021).
- Pokluda R. 2006. An assessment of the nutritional value of vegetables using an ascorbate-nitrate index. *Vegetable Crops Research Bulletin* **64**:29-37.
- Prasad S, Chetty AA. 2011. Flow injection assessment of nitrate contents in fresh and cooked fruits and vegetables grown in Fiji. *Journal of Food Science* **8**:1143-1148.

- Prathibha RS. 2005. Encyclopedia of Toxicology. Elsevier, New Jersey.
- Preece JE, Read PE. 2005. The Biology of Horticulture: An Introductory Textbook. John Wiley & Sons, Hoboken.
- Proietti S, Moscatello S, Leccese A, Colla G. 2004. The effect of growing spinach (*Spinacia oleracea* L.) at two light intensities on the amounts of oxalate, ascorbate and nitrate in their leaves. Journal of Horticultural Science and Biotechnology **4**:606-609.
- Proietti S, Mosvatello S, Famiani F, Battistelli A. 2009. Increase of ascorbic acid content and nutritional quality in spinach leaves during physiological acclimation to low temperature. Plant Physiology and Biochemistry **8**:717-723.
- Qiu W, Wang Z, Huang C, Chen B, Yang R. 2014. Nitrate accumulation in leafy vegetables and its relationship with water. Journal of soil science and plant nutrition **4**:761-768.
- Rebello CJ, Chu J, Beyl R, Greenway FL. 2015. Acute Effects of a Spinach Extract Rich in Thylakoids on Satiety: A Randomized Controlled Crossover Trial. Journal of the American College of Nutrition **6**:470-477.
- Regenmortel M, Mahy B. 2009. Desk Encyclopedia of Plant and Fungal Virology. Academic Press, Strasbourg.
- ReinSaat. 2021. Winterriesen/Verdil. Reinsaat KG. Available from https://www.reinsaat.at/shop/EN/spinat/winterriesen_stamm_verdil/ (accessed February 2021).
- Ribera A, Bai Y, Wolters AMA, Treuren R, Kik Ch. 2020. A review on the genetic resources, domestication and breeding history of spinach (*Spinacia oleracea* L.). Euphytica **48** DOI: 10.1007/s10681-020-02585-y.
- Roila R, Branciaro R, Staccini B, Ranucci D, Miraglia D, Haouet NM. 2018. Contribution of vegetables and cured meat to dietary nitrate and nitrite intake in Italian population: Safe level for cured meat and controversial role of vegetables. Italian Journal of Food Safety **3**:7692.
- Ryu K, Inoue K, Moriyama T, Oku K. 2008. Varietal differences in nitrate concentration among fall sowing spinach cultivars [*Spinacia oleracea*]. Bulletin of the Fukuoka Agricultural Research Center (Japan) **26**:57-60.
- Salehi B, Tumer TB, Ozleyen A, Peron G, Rajkovic J, Martorell M, Martins N. 2019. Plants of the genus *Spinacia*: From bioactive molecules to food and phytopharmacological applications. Trends in Food Science & Technology **88**:260-273.
- Sardar A, Shahid M, Natasha, Khalid S, Anwar H, Tahir M, Shah GM, Mubeen M. 2020. Risk assessment of heavy metal(loid)s via *Spinacia oleracea* ingestion after sewage water irrigation practices in Vehari District. Environmental Science and Pollution Research volume, **27**:39841-39851.

- Sarwar T, Shahid M, Natasha, Khalid S, Shah AH, Ahmad N, Naeem MA, Haq ZU, Murtaza B, Bakhat UF. 2020. Quantification and risk assessment of heavy metal build-up in soil-plant system after irrigation with untreated city wastewater in Vehari, Pakistan. *Environmental Geochemistry and Health* **12**:4281-4297.
- Semo. 2021a. Špenát setý Harp F1. Semo a.s. Available from <https://www.semo.cz/eshop/spenat-sety-harp-f1-3947/> (accessed February 2021).
- Semo. 2021b. Špenát La Paz F1. Semo a.s. Available from <https://www.semo.cz/eshop/spenat-la-paz-f1-p3912/> (accessed February 2021).
- Semo. 2021c. Špenát setý Lorelay. Semo a.s. Available from <https://www.semo.cz/eshop/spenat-sety-lorelay-3903/> (accessed February 2021).
- Semo. 2021d. Špenát setý Matador. Semo a.s. Available from <https://www.semo.cz/eshop/spenat-sety-matador-3902/> (accessed February 2021).
- Semo. 2021e. Špenát setý Winterriesen. Semo a.s. Available from <https://www.semo.cz/eshop/spenat-sety-winterriesen-3904/> (accessed February 2021).
- Shah V, Lyford G, Gores G, Farrugia G. 2004. Nitric oxide in gastrointestinal health and disease. *Special Reports and Reviews* **3**:909-913.
- Schlering C, Zinkerangel J, Dietrich H, Frisch M, Schweiggert R. 2020. Alterations in the Chemical Composition of Spinach (*Spinacia oleracea* L.) as Provoked by Season and Moderately Limited Water Supply in Open Field Cultivation. *Horticulturae* **2**:6020025.
- Simon A, Plies L, Habermeier A, Habermeier U, Reining U, Closs EI. 2003. Role of neutral amino acid transport and protein breakdown for substrate supply of nitric oxide synthase in human endothelial cells. *Circulation Research* **9**:813-820.
- Sindelar JJ, Milkowski AL. 2011. Sodium Nitrite in Processed Meat and Poultry Meats. *American Meat Science Association White Paper Series* **3**.
- Song P, Wu L, Guan W. 2015. Dietary Nitrates, Nitrites, and Nitrosamines Intake and the Risk of Gastric Cancer: A Meta-Analysis. *Nutrients* **12**:9872-9895.
- Thromé OW. 1885. *Flora von Deutschland Österreich und der Schweiz*. Reuss, Gera.
- Treuren R, Groot L, Hisoriev H, Khassanov F, Dijkstra J; Kik. 2019. Acquisition and regeneration of *Spinacia turkestanica* Iljin and *S. tetrandra* Steven ex M. Bieb. to improve a spinach gene bank collection. *Genetic Resources and Crop Evolution* **67**: 549-559.
- Evropská komise. 2011. Nařízení Komise (EU) č. 1258/2011. Pages 1-3 in *Úřední věstník Evropské unie*. Brusel.
- USDA. 2018. FoodData Central – Spinach, raw. U. S. Department of Agriculture. Available from <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/168462/nutria> (accessed March 2021).
- Utasi L, Monostori I, Balázs V, Pék Z. 2019. Effects of light intensity and spectral composition on the growth and metabolism of spinach (*SPINACIA OLERACEA* L.). *Acta Biologica Plantarum Agriensis* **7**:3-18.

- Vábková J, Neugebauerová J. 2011. Vliv způsobu pěstování na vnitřní kvalitu *Anethum graveolens* L. Pages 647-651 in Salaš P, editor. Rostliny v podmínkách měnícího se klimatu. Mendelova univerzita, Lednice.
- Vanin AF, Bevers LM, Slama-Schwok A, Faassen EE. 2007. Cellular and Molecular Life Sciences. Nitric oxide synthase reduces nitrite to NO under anoxia **1**:96-103.
- Verkhatsky A, Krishtal O. 2009. Adenosine Triphosphate (ATP) as a Neurotransmitter. Pages 115-123 in Squire LR, editor. Encyclopedia of Neuroscience. Academic Press, San Diego.
- Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy. 2008. Zpráva o průzkumu pozemků v pokusné stanici Trója. Praha.
- Wadas W, Raczuk J. 2018. Assessment of the nutritional safety of new potatoes imported to Poland using an ascorbate-nitrate index. *Rocz Panstw Zakl Hig* **3**:243-249.
- Wilson C, Lesch SM, Grieve CM. 2000. Growth Stage Modulates Salinity Tolerance of New Zealand Spinach (*Tetragonia tetragonioides*, Pall.) and Red Orach (*Atriplex hortensis* L.). *Annals of Botany* **4**:501-509.
- Yang Y, Kim KS, Anderson EJ. 1997. Seed Transmission of Cucumber Mosaic Virus in Spinach. *Phytopathology* **9**:924-931.
- Kuppusamy, Saranya; Cho, Key Man; Kim, Pil Joo; Kwack, Yong-Bum; Lee, Yong Bok
- Yoon YE, Kuppusamy S, Cho KM, Kim PJ, Kwack YB, Lee YB. 2017. Influence of cold stress on contents of soluble sugars, vitamin C and free amino acids including gamma-aminobutyric acid (GABA) in spinach (*Spinacia oleracea*). *Food Chemistry* **215**:185-192.

9 Seznam tabulek a seznam obrázků

| | |
|---|-----|
| Obr. 1: <i>Spinacia oleracea</i> neboli špenát setý | 10 |
| Obr. 2: Koloběh dusíku..... | 16 |
| Obr. 3: Proces přeměny dusičnanu na dusitan a následně na oxid dusnatý..... | 21 |
| Obr. 4: Syntéza NO z L-argininu..... | 22 |
| Obr. 5: Design polního experimentu | 31 |
| Obr. 6: Porovnání délky kultivace špenátu z 1. a 2. termínu pěstování | 34 |
| Obr. 7: Porovnání vlivu odrůdy a termínu výsevu na obsah dusičnanů u špenátu..... | 35 |
| Obr. 8: Porovnání vlivu termínu výsevu na obsah dusičnanů u špenátu..... | 37 |
| Obr. 9: Porovnání vlivu odrůdy v obou termínech pěstování na obsah dusičnanů u špenátu | 37 |
| Obr. 10: Porovnání vlivu odrůdy a termínu výsevu na obsah askorbové kyseliny u špenátu | 38 |
| Obr. 11: Porovnání vlivu termínu výsevu na obsah askorbové kyseliny u špenátu | 40 |
| Obr. 12: Porovnání vlivu odrůdy v obou termínech pěstování na obsah askorbové kyseliny u špenátu..... | 40 |
| Obr. 13: Porovnání vlivu odrůdy a termínu výsevu na obsah sušiny u špenátu..... | 41 |
| Obr. 14: Vliv termínu na obsah sušiny u špenátu..... | 43 |
| Obr. 15: Vliv odrůdy na obsah sušiny u špenátu | 43 |
| Obr. 16: Askorbát-nitrátový index u odrůd pěstovaných v 1. a 2. termínu výsevu..... | 44 |
| Obr. 17: Porovnání průměrné měsíční teploty ve stanici Troja a Prahy a Středočeského kraje spolu s dlouhodobým normálem | I |
| Obr. 18: Porovnání průměrného množství spadlých srážek ve stanici Troja a Prahy a Středočeského kraje spolu s dlouhodobým normálem | II |
| Obr. 19: Porovnání průměrné měsíční intenzity slunečního záření ve stanici Troja a Prahy a Středočeského kraje spolu s dlouhodobým průměrem..... | III |
| Obr. 20: Porovnání největší sluneční intenzity v průběhu celého dne, ve kterém probíhala sklizeň ve stanici Troja..... | IV |
| Obr. 21: Špenát setý 'Harp F1' | V |
| Obr. 22: Špenát setý 'La Paz F1' | V |
| Obr. 23: Špenát setý 'Lorelay' | VI |
| Obr. 24: Špenát setý 'Matador'..... | VI |
| Obr. 25: Špenát setý 'Winterriesen'..... | VII |
| Obr. 26: Špenát setý z 1. termínu pěstování – Výsev | VII |
| Obr. 27: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 14 dní od výsevu..... | VII |
| Obr. 28: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 28 dní od výsevu..... | VII |
| Obr. 29: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 35 dní od výsevu..... | VII |
| Obr. 30: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 56 dní od výsevu..... | IX |
| Obr. 31: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 68 dní od výsevu – sklizeň | IX |
| Obr. 32: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 21 dní od výsevu..... | X |
| Obr. 33: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 35 dní od výsevu..... | X |
| Obr. 34: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 49 dní od výsevu..... | XI |
| Obr. 35: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 68 dní od výsevu – sklizeň | XI |

| | |
|--|-----|
| Tab. 1: Výživové údaje špenátu setého včetně vybraných vitaminů a minerálů na 100 g jedlého podílu | 12 |
| Tab. 2: Datum výsevu a sklizně 1. a 2. termínu pěstování včetně délky kultivace | 34 |
| Tab. 3: Podrobněji naměřené hodnoty obsahu dusičnanů a porovnání odrůd pěstovaných v 1. a 2. termínu výsevu..... | 36 |
| Tab. 4: Podrobněji naměřené hodnoty obsahu askorbové kyseliny a porovnání odrůd pěstovaných v 1. a 2. termínu výsevu..... | 39 |
| Tab. 5: Podrobněji naměřené hodnoty obsahu sušiny a porovnání odrůd pěstovaných v 1. a 2. termínu výsevu | 42 |
| Tab. 6: Podrobněji vypočítané hodnoty askorbát-nitrátového indexu (I_{AN}) u odrůd pěstovaných v 1. a 2. termínu výsevu..... | 43 |
| Tab. 7: Naměřené průměrné měsíční teploty ve stanici Troja a Prahy a Středočeského kraje spolu s dlouhodobým normálem..... | I |
| Tab. 8: Naměřené průměrné množství spadlých srážek ve stanici Troja a Prahy a Středočeského kraje spolu s dlouhodobým normálem | II |
| Tab. 9: Naměřené průměrné měsíční intenzity slunečního záření ve stanici Troja a Prahy a Středočeského kraje spolu s dlouhodobým průměrem | III |

10 Seznam zkratek použitých v práci

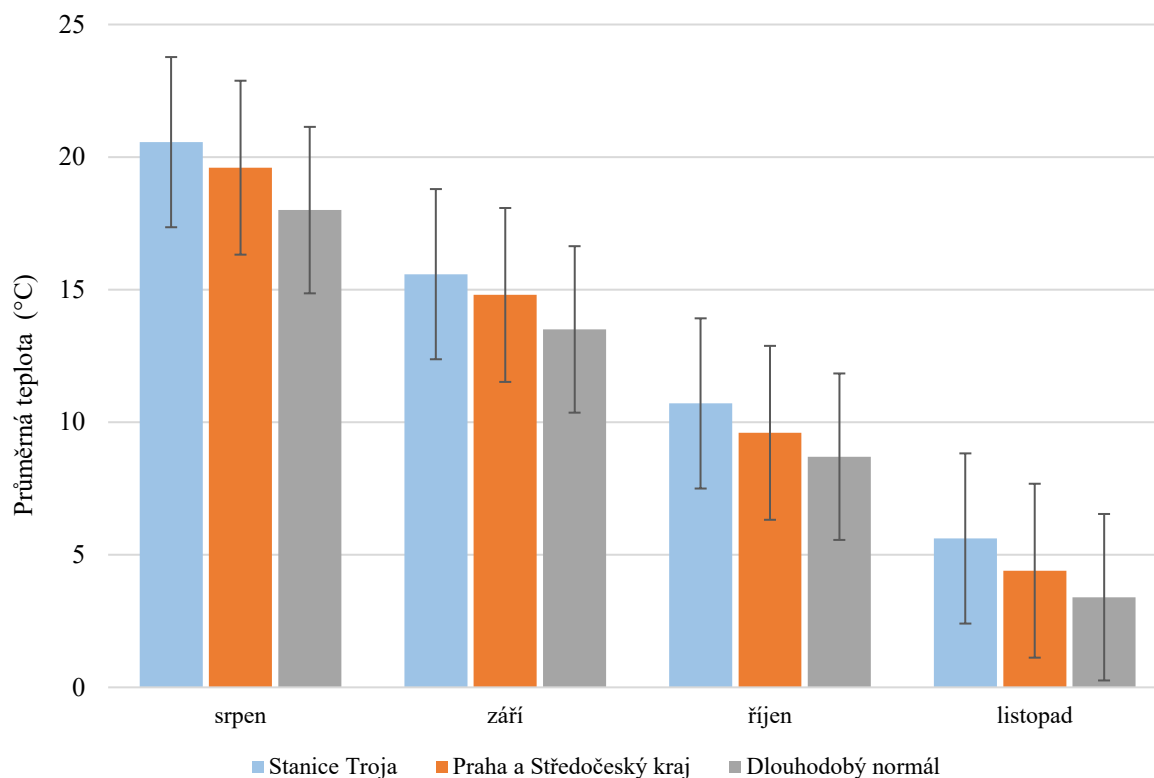
| | |
|-------------------------------|---|
| ADI | Acceptable Daily Intake – přijatelný denní příjem |
| ATP | adenosintrifosfát |
| BH ₂ | 7,8-dihydrobiopterin |
| BH ₄ | tetrahydrobiopterin |
| Ca ₂ ⁺ | vápenaté ionty |
| CMV | Virus mozaiky okurky |
| CN ⁻ | kyanid |
| CNS | centrální nervová soustava |
| CO ₂ | oxid uhličitý |
| CYP | cytochrom P450 |
| DNA | deoxyribonukleová kyselina |
| eNOS | Endoteliální oxid dusnatý syntáza |
| FAD | flavinadenindinukleotid |
| FMN | flavinmononukleotid |
| GIT | gastrointestinální trakt |
| H ₂ O | voda |
| HNO ₂ | kyselina dusitá |
| I _{AN} | askorbát-nitrátový index |
| iNOS | Indukovatelná oxid dusnatý syntáza |
| JECFA | Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives – Společný výbor expertů FAO/WHO pro potravinářská aditiva |
| JRC | Joint Research Centre – Společné výzkumné středisko Evropské komise |
| Mg ²⁺ | hořčíkové ionty |
| N | dusík, nitrogen |
| N ₂ | dinitrogen |
| N ₂ O | oxid dusný |
| N ₂ O ₃ | oxid dusitý |
| NADP | oxidovaná forma nikotinamidadenindinukleotidfosfátu |

| | |
|------------------------------|--|
| NADPH | nikotinamidadeninukleotidfosfát |
| nNOS | Neuronální oxid dusnatý syntáza |
| NO | nitric oxid – oxid dusnatý |
| NO ₂ | oxid dusičitý |
| NO ₂ ⁻ | dusitan |
| NO ₃ ⁻ | dusičnan |
| NOS | oxid dusnatý syntáza |
| O ₂ | kyslík |
| ONOO | peroxynitrit |
| PRI | Population Reference Intake |
| PVGIS | Photovoltaic Geographical Information System – Fotovoltaický geografický informační systém |
| RNA | ribonukleová kyselina |
| ROS | reaktivní kyslíkové radikály |
| SCF | Scientific Committee on Food – Vědecký výbor pro potraviny |

11 Samostatné přílohy

11.1 Meteorologická data

11.1.1 Teplota

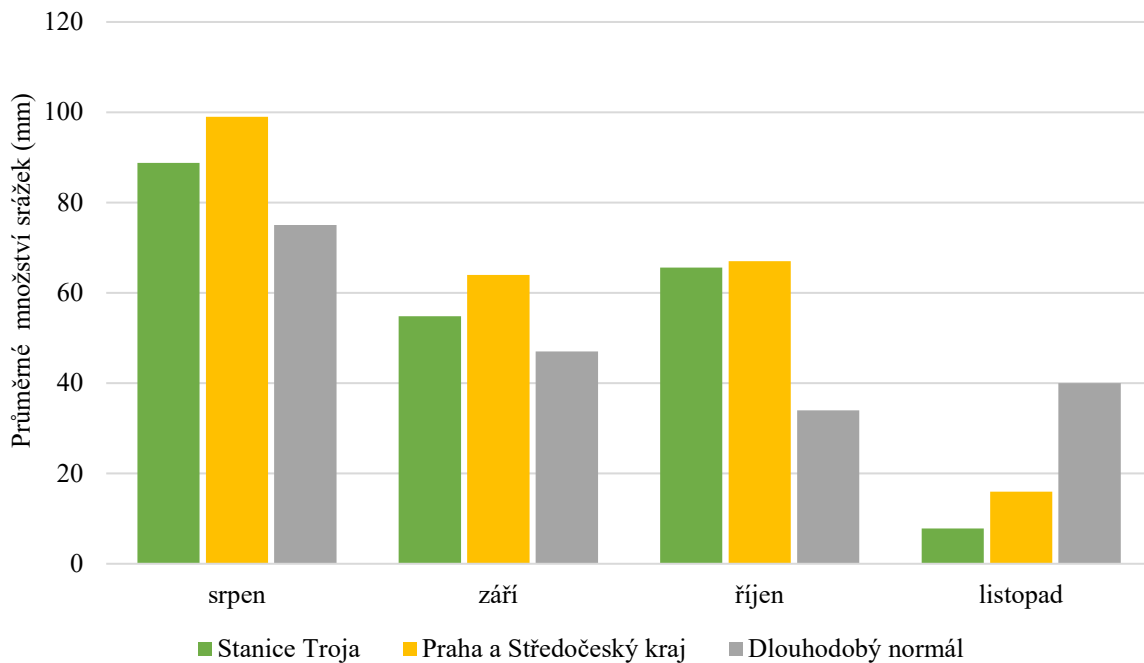


Obr. 17: Porovnání průměrné měsíční teploty ve stanici Troja a Prahy a Středočeského kraje spolu s dlouhodobým normálem.

Tab. 7: Naměřené průměrné měsíční teploty ve stanici Troja a Prahy a Středočeského kraje spolu s dlouhodobým normálem.

| Měsíc | Teplota (°C) | | | |
|----------|---------------|--------------------------|-------------------|-----------------------------------|
| | Stanice Troja | Praha a Středočeský kraj | Dlouhodobý normál | Odchylka stanice Troja od normálu |
| srpen | 20,6 | 19,6 | 18,0 | 2,6 |
| září | 15,6 | 14,8 | 13,5 | 2,1 |
| říjen | 10,7 | 9,6 | 8,7 | 2,0 |
| listopad | 5,6 | 4,4 | 3,4 | 2,2 |

11.1.2 Srážky

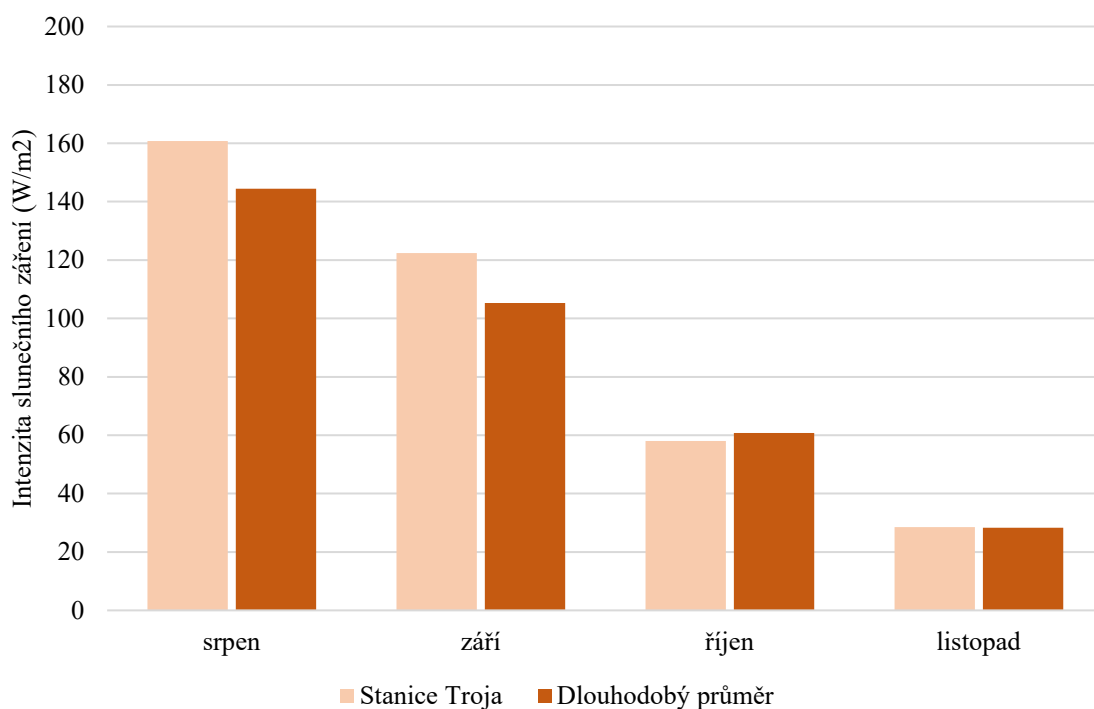


Obr. 18: Porovnání průměrného množství spadlých srážek ve stanici Troja a Prahy a Středočeského kraje spolu s dlouhodobým normálem.

Tab. 8: Naměřené průměrné množství spadlých srážek ve stanici Troja a Prahy a Středočeského kraje spolu s dlouhodobým normálem.

| Měsíc | Spadlé srážky (mm) | | | % z dlouhodobého normálu a stanice Troja |
|----------|--------------------|--------------------------|-------------------|--|
| | Stanice Troja | Praha a Středočeský kraj | Dlouhodobý normál | |
| srpen | 88,8 | 99,0 | 75,0 | 118 |
| září | 54,8 | 64,0 | 47,0 | 117 |
| říjen | 65,6 | 67,0 | 34,0 | 193 |
| listopad | 7,8 | 16,0 | 40,0 | 20 |

11.1.3 Sluneční intenzita (měsíční)

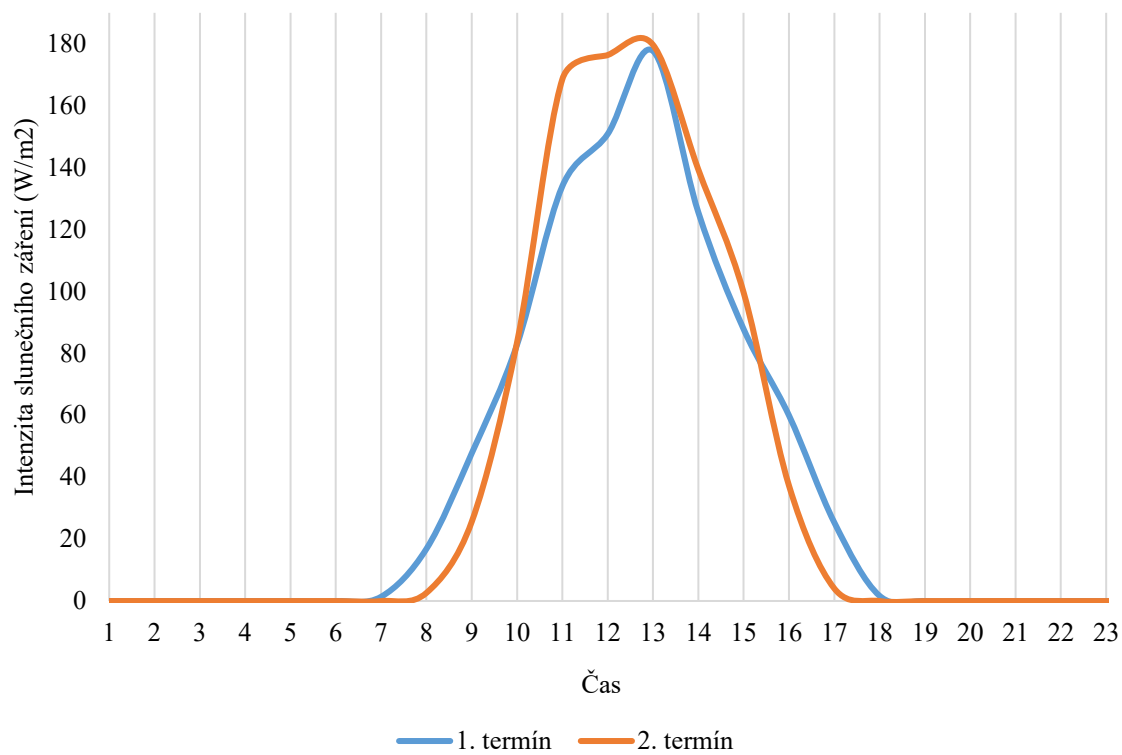


Obr. 19: Porovnání průměrné měsíční intenzity slunečního záření ve stanici Troja a Prahy a Středočeského kraje spolu s dlouhodobým průměrem.

Tab. 9: Naměřené průměrné měsíční intenzity slunečního záření ve stanici Troja a Prahy a Středočeského kraje spolu s dlouhodobým průměrem.

| Měsíc | Intenzita slunečního záření (W/m ²) | | % z dlouhodobého průměru a stanice Troja |
|----------|---|-------------------|--|
| | Stanice Troja | Dlouhodobý průměr | |
| srpen | 160,79 | 144,48 | 111 |
| září | 122,45 | 105,27 | 116 |
| říjen | 58,03 | 60,81 | 95 |
| listopad | 28,57 | 28,33 | 101 |

11.1.4 Sluneční intenzita v den sklizně



Obr. 20: Porovnání největší sluneční intenzity v průběhu celého dne, ve kterém probíhala sklizeň ve stanici Troja.

11.2 Fotodokumentace pěstování špenátu

11.2.1 Listy jednotlivých odrůd špenátu setého



Obr. 21: Špenát setý 'Harp F1'.



Obr. 22: Špenát setý 'La Paz F1'.



Obr. 23: Špenát setý 'Lorelay'.



Obr. 24: Špenát setý 'Matador'.



Obr. 25: Špenát setý 'Winterriesen'.

11.3 Průběh pěstování špenátu z 1. termínu výsevu



Obr. 26: Špenát setý z 1. termínu pěstování. Výsev. V první řadě zleva: 'Matador', 'Harp F1', 'La Paz F1', 'Lorelay', 'Matador', 'Winterriesen', 'Matador'.



Obr. 27: Špenát setý z 1. termínu pěstování. 14 dní od výsevu. V první řadě zleva: 'Matador', 'Harp F1', 'La Paz F1', 'Lorelay', 'Matador', 'Winterriesen', 'Matador'.



Obr. 28: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 21 dní od výsevu. V první řadě zleva: 'Matador', 'Harp F1', 'La Paz F1', 'Lorelay', 'Matador', 'Winterriesen', 'Matador'.



Obr. 29: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 35 dní od výsevu. V první řadě zleva: 'Matador', 'Harp F1', 'La Paz F1', 'Lorelay', 'Matador', 'Winterriesen', 'Matador'.



Obr. 30: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 56 dní od výsevu. V první řadě zleva: 'Matador', 'Harp F1', 'La Paz F1', 'Lorelay', 'Matador', 'Winterriesen', 'Matador'.



Obr. 31: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 68 dní od výsevu – sklizeň. V první řadě zleva: 'Matador', 'Harp F1', 'La Paz F1', 'Lorelay', 'Matador', 'Winterriesen', 'Matador'.



Obr. 32: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 21 dní od výsevu. Ze shora: 'Matador', 'Harp F1', 'La Paz F1', 'Lorelay', 'Matador', 'Winterriesen', 'Matador'.



Obr. 33: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 35 dní od výsevu. Ze shora: 'Matador', 'Harp F1', 'La Paz F1', 'Lorelay', 'Matador', 'Winterriesen', 'Matador'.



Obr. 34: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 49 dní od výsevu. Ze shora: 'Matador', 'Harp F1', 'La Paz F1', 'Lorelay', 'Matador', 'Winterriesen', 'Matador'.



Obr. 35: Špenát setý z 1. termínu pěstování – 68 dní od výsevu – sklizeň. Ze shora: 'Matador', 'Harp F1', 'La Paz F1', 'Lorelay', 'Matador', 'Winterriesen', 'Matador'.