

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra botaniky a fyziologie rostlin



Betalainy plevelné řepy (*Beta vulgaris* L.):

možnost včasné detekce na pozemcích

## **Diplomová práce**

**Autor práce:** Bc. Romana Vindušková

**Vedoucí práce:** Mgr. Milan Skalický, Ph.D.

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Betalainy plevelné řepy (*Beta vulgaris* L.): možnost včasné detekce na pozemcích" jsem vypracovala 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 autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne:

.....

Romana Vindušková

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala panu Mgr. Milanu Skalickému, Ph.D. za zajímavé téma diplomové práce a cenné připomínky a návrhy k jejímu vypracování. Chtěla bych zvlášť poděkovat za poskytnutí materiálů a informací k vytvoření této práce.

## **Betalainy plevelné řepy (*Beta vulgaris* L.): možnost včasné detekce na pozemcích**

Betalains by weed beet (*Beta vulgaris* L.): possibilities for early detection in sugar beet fields

### **Souhrn**

Plevelná řepa se pro sklizeň cukrovky a následnou výrobu cukru stala obávaným a vážným škodlivým činitelem, se kterým se pěstitelé a posléze i zpracovatelé potýkají již zhruba tři desítky let. Bohužel i v České republice byl v mnoha řepářských oblastech zaznamenán její hojný výskyt a rozšíření.

Problémem je její škodlivé působení na vegetující cukrovce, zejména negativně působí na technologickou jakost, růst a celkový fyziologický vývoj kulturní řepy. Další potíže představuje odčerpávání vody a živin z půdy, zastíňování porostu, a negativně ovlivňuje fotosyntézu (biosyntézu sacharózy).

Cílem této práce je pomocí specifické chemické metody spektrofotometrie zjistit obsah betalainů u plevelné řepy. Stanovení koncentrace betalainů je jedna z možností včasné detekce plevelné řepy, která tak umožňuje okamžité použití vhodných postupů, vedoucích k její regulaci.

Na základě získaných výsledků lze uvést, že naměřená absorbance i celkový obsah betalainů se liší barevností vzorků plevelné řepy a také bylo zjištěno, že čerstvé vzorky vykazují vyšší obsah betalainů i naměřenou absorbanci v porovnání s konzervovanými. Dále bylo vyzorováno, že delší skladování vzorků vede k úbytku barevných pigmentů. Také lze potvrdit silnou dřevnatost lodyh plevelné řepy, která je velkým problémem při sklizni, kdy dochází k poškození zařízení při zpracování.

Pro omezení rozšiřování plevelných řep je nezbytné zaujmout nekompromisní komplexní postoj, rozšířit povědomí o jejich škodlivosti mezi pěstiteli a zvolit společný postup na celém území České republiky.

**Klíčová slova:** betalainy, plevelná řepa, potravinová barviva, regulace plevelné řepy

## Summary

Weet beet has been considered as one of the main difficulty of beet's cultivation, its harvest and consequential sugar production. The cultivator and producer have wrestled with it for almost 30 years. There is regrettably abundant incidence of weet beet in many beet's regions in Czech Republic.

Weet beet negatively influence growing sugarbeet, primarily its technological quality, grow and general physiological evolution of sugar beet. Among other problems belongs: water and nutrient outflowing, shading of the growth and negative interference with photosynthesis (mainly biosynthesis of sacharosis).

The aim of this project is betalains detection in weet beet. betalains detection is one of the possibilities of early weet beet's discovering in the fields of cultural sugarbeet. Early discovering of this weet plants affords oportunity to use activities for weet beet's regulation.

According to results, it can be said that: measured absorbance and general content of betalains differ from colourfulness of weet beet sample. Fresh samples have higher content of betalains compared to preserved ones and the values of measured absorbance are also higher. The longer is the samples storage the less amount of colored pigments occure in weet beet. It has been affirmed that weet beet stalks are strongly ligneous and this is the reason of damage on the harvest arrangements and harvest machines.

Generally it is important to assume an uncompromising global attitude to dissemination of weet beet. The farmers and cultivators should extend the consciousness and knowledge about weet beet and they should cooperate to restrict weet beet growth.

**Keywords:** betalains, weet beet, food colourants, regulation of weet beet

## Obsah

1. Úvod.....	7
2. Vědecká hypotéza a cíle práce.....	7
3. Literární rešerše .....	8
3.1 Cukrová řepa – význam a postavení .....	8
3.2 Plevelná řepa .....	10
3.2.1 Plevelná řepa – popis a technologická jakost .....	10
3.2.2 Vyběhlice, vykvetlice a plevelná řepa.....	12
3.2.3 Identifikace a nároky plevelné řepy .....	13
3.2.4 Plevelná řepa – původ a vznik.....	15
3.2.5 Plevelná řepa – výskyt a rozšíření v ČR.....	17
3.2.6 Škodlivé účinky plevelné řepy .....	19
3.2.7 Současná úroveň infestace pozemků z půdní zásoby .....	20
3.2.8 Ochrana proti plevelné řepě (regulace) .....	22
3.2.9 Ekonomická náročnost regulace plevelných řep .....	24
3.3 Betalainy .....	25
3.3.1 Struktura a názvosloví .....	26
3.3.2 Betacyaniny .....	26
3.3.3 Betaxanthiny .....	27
3.3.4 Výskyt.....	27
3.3.5 Betalainy – potravinová barviva .....	28
3.3.6 Stabilita a biosyntéza betalainů.....	29
3.3.7 Antioxidační vlastnosti betalainů.....	29
4. Materiál a metody .....	31
5. Výsledky .....	38
5.1 Statistické zhodnocení získaných dat.....	44
6. Diskuze .....	48
6.1 Porovnání výsledků s předchozími a současnými výzkumy.....	49
7. Závěr .....	51
8. Seznam literatury .....	52

## 1. Úvod

V posledním desetiletí se na řepných polích stále častěji objevují koncem června a začátkem července kvetoucí řepné rostliny. V závislosti na průběhu teplot v době počátečního růstu a vývoje cukrové řepy jde o vykvetlice, vyběhlíce a plevelné jednoleté řepy. S ohledem na jejich velmi obtížné rozlišování a stejnou škodlivost v porostech technické cukrovky mohou být označovány souborným názvem plevelné řepy. Plevelné řepy negativně ovlivňují sklizeň porostu, výnos a kvalitu sklizených bulev a v mnoha případech jsou zdrojem infekce i řady chorob. Zatím je v cukrové řepě nelze hubit pomocí herbicidního ošetření využívaného k regulaci ostatních plevelů. Jejich zdrojem je v poslední době především půdní zásoba semen a v omezené míře to může být vysévané osivo cukrové řepy (Pulkrábek a kol., 2007).

V České republice se plevelná řepa ve větší míře začala vyskytovat koncem 80. let v souvislosti s dovozem osiva z jihoevropských zemí. Pro svou škodlivost a negativní působení na čistotu porostů byla v roce 1992 zařazena mezi karanténní plevele. Důvodem výraznějšího rozšíření byl zvyšující se dovoz osiva cukrové řepy, ústup od mechanické meziřádkové kultivace, opakované pěstování cukrovky na stejném poli a nedostatek pracovníků pro selekci vyběhlic a plevelných řep (Skalický a kol., 2008).

## 2. Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem této práce je pomocí specifické chemické metody spektrofotometrie zjistit obsah betalainů u plevelné řepy. Součástí výzkumu je také srovnání výsledků s předchozími výzkumy. Stanovení koncentrace betalainů je jedna z možností včasné detekce plevelné řepy, která tak umožňuje okamžité použití vhodných postupů, vedoucích k regulaci plevelné řepy. Cílem je též v rámci literární rešerše charakterizovat problematiku plevelné řepy.

Cílem této diplomové práce bylo také ověřit následující hypotézy formulované na základě studia odborné literatury zabývající se problematikou plevelné řepy a také díky informacím, které byly zjištěny při laboratorním stanovení:

1. Obsah barevných pigmentů - betalainů je vyšší u čerstvých vzorků plevelné řepy (*Beta vulgaris* L.) v porovnání s mrazem konzervovanými vzorky plevelné řepy.
2. Koncentrace barevných pigmentů - betalainů obsažených v plevelné řepě se při konzervaci vzorků snižuje.
3. Obsah betalainů roste u plevelné řepy s intenzitou červeného zbarvení.

### 3. Literární rešerše

#### 3.1 Cukrová řepa – význam a postavení

Cukrovka je v ČR pěstována především jako technická plodina (surovina na výrobu cukru). V malé míře je využívána ke krmným účelům (bulvy, chrást a vedlejší produkty z cukrovaru – řízky a melasa). V poslední době jsou sledovány možnosti využít cukrovku k výrobě lihu, respektive ETBE (etyl-terciál-butyl-eter), který je využitelný v pohonných hmotách (Pulkrábek, 2001).

Prugar (2008) taktéž přiznává, že vyprodukovaný cukr a vedlejší produkty jsou cennou obnovitelnou surovinou pro potravinářský a fermentační průmysl i pro produkci pohonných látek (etanolu). Nemalou naději však dává i dalším možnostem využití řepy v malotonážní chemii. Její nepotravinářské využití je na vzestupu. Dá se předpokládat, že např. širší uplatnění budou mít biodegradabilní plasty, vlákninové přísady do potravin snižující tvorbu cholesterolu, řepný tuk v kosmetice atd.

Produkce cukru v ČR je využívána především k přímě spotřebě a je významným dílem i v potravinářském průmyslu. Celková spotřeba cukru v ČR je cca 400 tisíc tun za rok, což představuje spotřebu na jednoho obyvatele kolem 39 – 40 kg ročně. Stávající spotřebu cukru po ČR lze zajistit na ploše 60 – 70 tis. ha při cukernatosti 16 % za předpokladu stabilizovaného hektarového výnosu na úrovni 42 až 45 tun z hektaru. Odbyt cukrovky vychází z dohody s cukrovarem. Vzájemné vztahy mezi pěstitelem a cukrovarem musí být jasně formulovány v uzavřené kupní smlouvě.

Cukr, ve většině zemí světa nejběžnější sladidlo, je v podstatě velmi čistá chemická sloučenina – sacharóza. Světová produkce cukru se pohybuje kolem 120 – 130 milionů tun. Spotřeba je zpravidla o 1 až 2 miliony tun nižší. Největšími producenty cukru jsou Indie, Brazílie, Kuba, Čína, USA, Německo a Francie. Hlavním biologickým zdrojem na výrobu sacharózy je cukrová třtina a cukrovka. Obě tyto plodiny se střetávají v limitních oblastech jejich pěstování – subtropích (Pulkrábek, 2001).



- **Současná situace ve výrobě cukru z cukrové řepy**

Ročník 2011/12 v pěstování cukrové řepy a ve výrobě cukru zaznamenal nejlepší výsledky České republiky v těchto komoditách v celé historii. Podle údajů MZe v roce 2011/12 byla cukrová řepa v ČR sklizena z celkové plochy 59 243 ha. Z této plochy bylo 50 184 ha použito na výrobu cukru, přičemž průměrný výnos bulev dosáhl historicky nejvyšší úrovně 71,26 t/ha, a dále z plochy 9 059 ha byla cukrová řepa použita k účelům - na výrobu kvasného lihu, jenž byl dále zpracován na potravinářský a nepotravinářský líh (např. jako palivo).

K výrobě cukru bylo v roce 2011/12 celkem zpracováno 3 576 082 tun řepy s průměrnou cukernatostí 17,32 %. Množství vyrobeného bílého cukru dosáhlo hodnoty 564 440 tun. Kromě tohoto množství, bylo vyrobeno také 51 000 tun bílého cukru, mimo území ČR na základě dohody o provedení práce podnikem podle čl. 6, odst. 3 NK č. 952/2006 z řepy vypěstované mimo území ČR, konkrétně ve Francii a Polsku. Celkem tak bylo vyrobeno 615 440 tun bílého cukru. V porovnání s předchozím rokem se jedná o nárůst výroby o 156 534 tun cukru (Froněk a kol., 2012).

**Tab. 1. – Nároky na stanoviště pro cukrovou řepu**

Ukazatel	Vhodné stanoviště
Půdní typ	černozemě, hnědozemě, nivní půdy, rendziny, ilimerizované půdy
Půdní druh	Písčito - hlinité půdy, hlinité půdy, jílovito - hlinité půdy
Půdní reakce (pH)	6,8 až 7,3
Využitelný profil půdy (cm)	nad 50
Sklonitost pozemku (%)	do 2
Klimatický region	T2, T3, MT1, MT2, MT3 průměrné roční teploty vzduchu 7 až 9 °C Průměrný roční úhrn srážek 500 až 900 mm
Vodní režim	vyrovnaný
Náchylnost k erozi	žádná nebo slabá
Počet dní vegetace	nad 180
Hád'átko řepné (počet cyst v 1 kg)	do 5
Plevelé (pokryvnost v %)	slabý výskyt (do 20)

**Zdroj:** upraveno dle Pulkrábek a kol. (2007)

## 3.2 Plevelná řepa

### 3.2.1 Plevelná řepa – popis a technologická jakost

Vášová (1995) označuje termínem plevelná řepa hybridy mezi kulturními a planými formami rodu *Beta* s různou genetickou skladbou. Převážně se jedná o diploidní formy s výrazným sklonem k jednoletosti a velmi intenzivním generativním vývojem.

Rod *Beta* zahrnuje dle Nováka (1943) byliny s nepravidelným tloušťnutím v kořenech a lodyhách. Proterandrické a větrosnubné květy jsou v chudých klubičkách naspoju srostlé, oboupohlavné, pravidelné, pětičetné. Listy i kořeny hromadí v pletivech sacharidy.

Skalický a Pulkrábek (2006) podávají velmi podrobný popis plevelné řepy a uvádí, že jedním z jejích typických znaků je přítomnost jedinců v meziřádcích, což lze pozorovat již při vzházení kultury. Problémem zůstává rozpoznání plevelné řepy v řádcích, kde nám může pomoci charakteristické červenavé zbarvení hypokotylu u většiny mladých plevelných řep. V dalších růstových fázích je základním příznakem vybíhavost. Sřelkování plevelné řepy je při vyšším výskytu v porostu technické cukrovky patrné nápadnými žlutozelenými polygony. Počátek sřelkování nejranějších biotypů v našich podmínkách je již od 2. dekády června – plné kvetení v 1. dekádě července. Výška plně kvetoucích rostlin plevelné řepy je nejčastěji mezi 110 – 140 cm, zbarvení lodyh je zelené nebo jsou antokyanově zbarvené žilky na stonku a v paždí větví, některé rostlin jsou celé tzv. „antokyanově naběhlé“. Listy jsou nápadně redukováné, kosníkovité. Velká variabilita je ve tvaru kořene – tužkovitý (velmi dlouhý a štíhlý), větvenovitý s výrazným horizontálním rozvětvením, řepovitý. Délka kořene osciluje mezi 20 – 30 cm. Barva kořene je také různá - bílá, žlutá, červená, karmínová. Okvětní lístky zelenavé, kápoovitě ohnuté a zřetelně kýlnaté, květy jsou vícekvěté (2 - 5 květů) a fertillní.

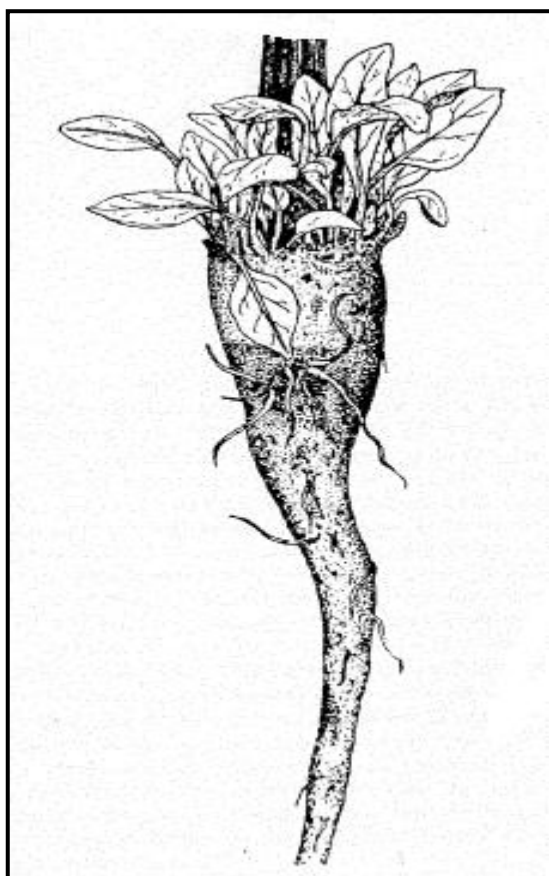
Důležité je neopomenout technologickou jakost, která je definovaná jako souhrn biologických, chemických, fyzikálně – chemických a mechanických vlastností řepné bulvy, které rozhodují o vhodném skladování a továrním zpracování a dosažení maximální výtěžnosti a výnosu rafinády (bílého cukru) – je u plevelné řepy výrazně horší. Oproti kulturní řepě cukrové obsahuje plevelná řepa podstatně méně sacharózy a na druhé straně několikanásobně vyšší obsah balastních látek a technologicky škodlivých necukrů (Zahradníček a kol., 2005).

**Tab. 2 – Chemicko-technologické složení plevelné řepy**

Cukernatost – obsah sacharózy (%)	9,82
Průměrná hmotnost kořene (g)	286
Obsah konduktometrického popele (%)	1,94
Obsah K (mmol/100g)	10,86
Obsah Na (mmol/100g)	1,61
Obsah dřeně (%)	11,24
Obsah redukujících látek - invertu (%)	2,41
Výtěžnost rafinády (%)	7,51

Zdroj: Zahradníček a kol. (2005)

**Obr. 1 – Habitus plevelné řepy**



Zdroj: Weishaupt (1994)

### 3.2.2 Vyběhlice, vykvetlice a plevelná řepa

Na mnoha řepných polích je každoročně zaznamenán velký výskyt vyběhlic, vykvetlic a také plevelné řepy. V této souvislosti se však lze setkat s tím, že někteří pěstitelé často zaměňují vyběhlice za plevelnou řepu a naopak, což má pak negativní dopady.

Řepa cukrová je rostlina botanicky dvouletá, avšak kulturou jednoletá. V prvním roce vytváří za normálních podmínek pouze bulvu (kořen), z níž po přezimování (jarovizačním stadiu) vyrůstá ve druhém vegetačním roce lodyha, která nese květenství (semenačku). Na ní uzrávají v řepných klubičkách semena. Někdy se stává, že menší počet řep vyhání na květ již v prvním vegetačním roce, obvykle již koncem června, většinou až v červenci, méně v srpnu a září. Ontogeneticky se rozeznává raný (letní) typ vyběhlic s vyvinutým květenstvím a menší bulvou a pozdní (podzimní) typ vyběhlic s květenstvím méně vyvinutým a větší bulvou, kde je snížení výnosu menší. Z botanického hlediska lze považovat za vyběhlici řepu, která vytvoří v prvním vegetačním roce pouze květonosnou lodyhu bez generativních orgánů. Za vykvetlici pak rostlinu s květonosnou lodyhou s vyvinutými generativními orgány, na které v prvním vegetačním roce dozrávají semena. Příčina vybíhání je víceméně genetická vlastnost, která variabilně reaguje na změny povětrnostních podmínek a ekologické poruchy (mimořádně chladné nebo suché počasí, poranění škůdci, fyziologické stresy, nadbytek nebo nedostatek živin v půdě a jiné) (Zahradníček a kol., 2008).

Vyběhlice a vykvetlice jsou velmi podobné, jejich znakem je, že se vyskytují pouze v řádcích, později střílkuje i tvoří semena, jejich lodyhy nemají výrazné antokyanové zbarvení. Listy v dolní polovině lodyhy jsou podobné jako u technické cukrovky. Vzhledem k tomu, že se plevelné řepy, vyběhlice a vykvetlice mezi sebou lehce kříží a tím vytváří různé přechodné formy je v praxi přesné rozlišení plevelné řepy od vyběhlic a vykvetlic kulturních řep velmi obtížné, proto je nezbytné z porostu technické cukrovky odstranit i je (Skalický a Pulkrábek, 2006).

**Tab. 3 – Botanický rozdíl mezi vyběhlicí a plevelnou řepou**

Znak	Plevelná řepa	Vyběhlice
Vývoj	časnější tvorba lodyhy	pozdější tvorba lodyhy a semen
Kořen	podstatně menší, dlouhý a štíhlý	bulva tvarově a velikostně podobná cukrovce
Zabarvení kořene	žluté, červené, antokyanové	bílé
Větvení postranních kořínků	vodorovné, úhel k ose kořene přibližně 80°	úhel k ose kořene asi 45°
Počet cévních svazků	obvykle 5 až 6, maximálně 7	8 až 10
Barva lodyhy	antokyanové zbarvení	zelená
Listy	podstatně menší, úzké, redukované	spodní listy stejné velikosti jako cukrovka
Květy (počet)	dva a více	jeden až dva
Klubíčko (počet)	dvousemenné až vícesemenné	jednosemenné a dvousemenné

Zdroj: Zahradníček a kol. (2005)

### 3.2.3 Identifikace a nároky plevelné řepy

Dle Vášové (1995) lze první výskyty plevelné řepy v porostech cukrovky zjistit již v průběhu vzcházení, kdy mezi řádky cukrovky mohou vzcházet rostliny plevelných řep z půdní zásoby. Růst plevelných řep mezi řádky je i signálem pro jejich výskyt v řádcích. První výskyt plevelných řep je možné zjistit již koncem června nebo začátkem července. Mají obvykle velmi rychlý vývoj, daleko rychlejší než vyběhlice nebo vykvetlice.

Až doposud byla za plevelnou řepu považována každá vyběhlice se znaky této řepy (ranost vybíhaní, tužkovitý nebo kolmo se větvicí dužnatý či dřevnatý kořen, barevně zbarvené kořeny, červené paždí listů, maximálně šest cévních svazků apod.)

Vzhledem k tomu, že se v současné populaci vyběhlice vyskytují jak klasické typy plevelné řepy a klasické typy vyběhlice kulturní řepy, tak i celé spektrum přechodných typů s méně či více identifikovatelnými znaky plevelné řepy, je třeba považovat každou vyběhlici za plevelnou řepu, neboť z osiva těchto řep pravděpodobně vyroste vyběhlice.

Plevelná řepa v širším slova smyslu je každá rostlina, která má sklon k jednoletosti a v prvním roce vyprodukuje životaschopná semena, jež dále zamořují půdu.

Dalším průkazným důkazem plevelné řepy je časnější tvorba lodyhy a semene a to, že roste v řádcích i meziřádcích. Vyběhlice se od ní odlišují pozdější tvorbou lodyhy a semen.

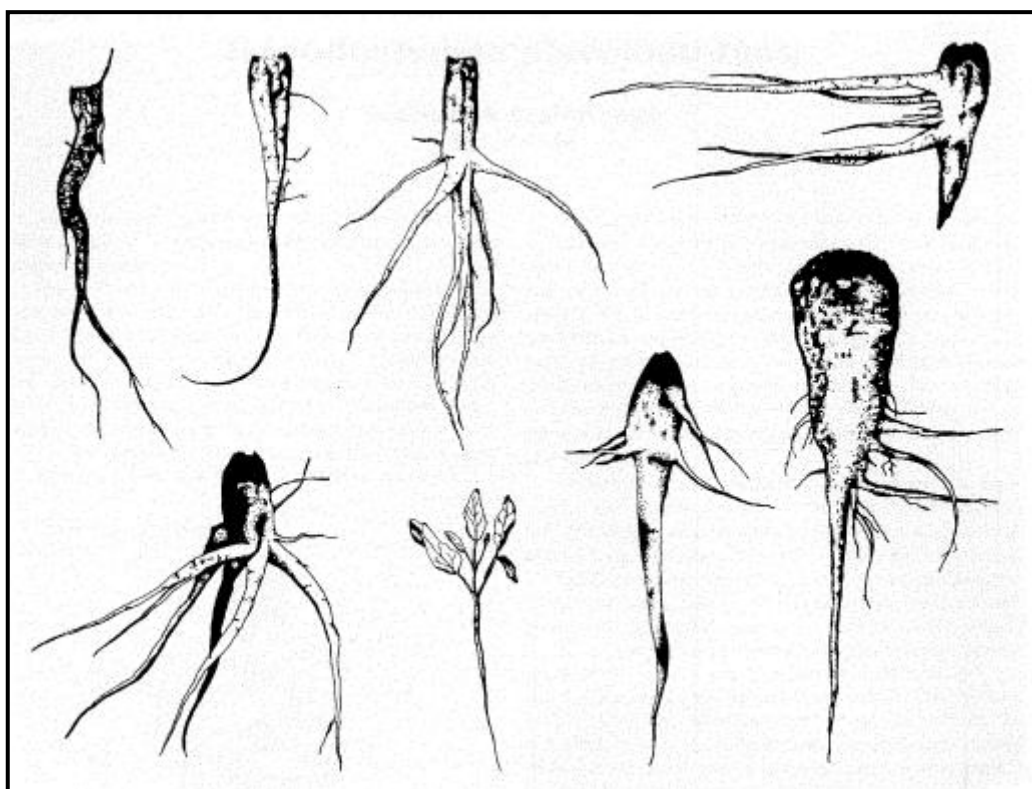
Vyběhllice rostou pouze v řádcích a mají antokyanové zbarvení lodyhy nevýrazné. Plevelná řepa má zcela odlišný tvar kořene, často i různě deformovaný (Zahradníček a kol., 2008).

Longden (1982) uvádí, že nároky na světlo, vodu a živiny má plevelná řepa shodné s cukrovkou. Přítomnost již jedné plevelné rostliny na 1 m<sup>2</sup> představuje snížení výnosů z této plochy o 12 %.

Krouský (2001) na tuto skutečnost reaguje tím, že pokud je pozemek zaplevelený 1000 vyběhlic na ha, a zaplevelení není zlikvidováno, je následující pěstování cukrové řepy na stejném pozemku neekonomické.

Hnilička a Pulkrábek (2008) popisují rostliny jako živé organismy, jejichž specifickou vlastností je získávat energii dvěma odlišnými způsoby: fotosyntézou a dýcháním. Zatímco při fotosyntéze je energie získávána prostřednictvím energie slunečního záření, dýchání reprezentuje reakce organického substrátu s molekulárním kyslíkem. V obou případech se vytváří krátkodobá zásoba ATP. To platí nejen pro řepu cukrovou, ale i plevelnou. Jak již bylo výše uvedeno obě tyto rostliny jsou si jak z morfologického tak fyziologického hlediska podobné a na příslušné lokalitě si tedy silně konkurují, což se autoři snažili dokázat na průběhu fotosyntézy u těchto rostlin. Bylo tak zjištěno, že v případě plevelné řepy byla intenzita fotosyntézy srovnatelná s cukrovkou a některé naměřené hodnoty byly dokonce vyšší, což potvrzuje větší konkurenční schopnost plevelné řepy. Autory také bylo dokázáno, že u plevelné řepy zejména v dopoledních hodinách probíhá fotosyntéza intenzivněji.

**Obr. 2 – Tužkovitý tvar kořene a horizontální větvení bulvy plevelné řepy**



Zdroj: Weishaupt (1994)

### **3.2.4 Plevelná řepa – původ a vznik**

Stehlík (1982) uvádí, že tak jako jiné kulturní rostliny měly i řepy consp. *Beta vulgaris* L. své předky v planých druzích. Kulturní řepu consp. *B. vulgaris*, pěstovanou ve všech kontinentech, zařadil roku 1953 Linné do systematiky rostlin, neboť byla známa již ve starověku. Vytváření jednotlivých planých druhů probíhalo nejintenzivněji na konci třetihor a ve čtvrtohorách v pásmu středomořské geosynklinály. Z původních polokeřovitých a mnoholetých bylinných forem vznikly jednoleté ozimé i jarní formy.

Původ plevelné řepy lze nalézt ve Středozeří a Přední Asii, kde se vyskytuje planě rostoucí druh řepa přímořská (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*). V současné době je v Evropě rozšířena v přímořských oblastech nejen ve středomoří, ale i na pobřeží Atlantického oceánu a Severního a Baltského moře, ve východní části svého areálu i na březích řek a horských stepích. Z přímořské řepy byly pravděpodobně odvozeny v současnosti pěstované kultivary řepy.

Díky tomu, že se přímořská řepa snadno kříží s kulturními formami rodu *Beta* – řepa, byla využívána pro šlechtění těchto kulturních forem: *B. vulgaris* ssp. *vulgaris* var. *altissima* – cukrovka, *B. vulgaris* ssp. *vulgaris* var. *rapacea* – krmná řepa, *B. vulgaris* ssp. *vulgaris* var. *vulgaris* – červená řepa, *B. vulgaris* ssp. *cicla* – řepa obecná listová (Soukup et al., 2002).

Dle Hniličky a Pulkrábka (2008) je v odborných kruzích diskutována existence dvou možných zdrojů původu a vzniku plevelných řep. Prvním z nich je rozmnožení ekotypů náchylných k vybíhání a spontánně vyselektovaných z povolených odrůd. Kulturní řepy vznikaly 2000 let přirozenou a umělou selekcí z původně jednoleté plané přímořské řepy. Dvouletost je tedy znak získaný. Druhým zdrojem je zavlečení osivem kontaminovaným jednoletými planými formami řep z množitelských oblastí ve Středomoří. Z praktického hlediska jde zcela jednoznačně o druhý způsob, neboť problém plevelných řep se ve všech evropských řepařských oblastech objevil až s použitím jednoklíčkového osiva.

Rozdíly v původu vyplývají z rozdílného způsobu, jakým byly tyto řepy zpočátku klasifikovány. Někteří autoři je popisovali jako výdrol, jiní jako plané nebo jednoleté řepy či poslední jako křížence mezi planými a kulturními formami. Ačkoli toto rozdělení může být učiněno v prvních generacích, v následných generacích se charakteristika jedné populace bude postupně slučovat s další. Z tohoto důvodu je upřednostňováno používání termínu „plevelná řepa“ (Nováková, 2007).

Boudry et al. (1993) a Soukup et al. (2002) se shodují v rozdělení plevelné řepy na primární a sekundární typ. Do oblastí a na pozemky, kde se kulturní resp. krmná řepa pěstuje, je plevelná řepa, zavlékána osivem a dochází tak ke křížení planě rostoucích řep s kulturními odrůdami pěstovanými k produkci osiva a ke křížení hybridů navzájem. Vzniklé potomstvo – tzv. primární typ plevelné řepy je spolu s osivem cukrovky distribuován do pěstitelských oblastí. V případě odkvetení a vytvoření semen rostlinami plevelné řepy primárního typu, k tomuto případu dochází již v samotných oblastech pěstování cukrové řepy, jsou vytvořeny tzv. sekundární typy plevelné řepy, které vykazují značně morfologicky rozdílné rostliny. Populace těchto řep zamožuje prakticky všechny produkční oblasti Evropy pro pěstování technické cukrovky.

První zprávy o výskytu plevelné řepy v kulturách pocházejí z Velké Británie, kde byly objeveny jednoleté formy řepy s dormantními semeny. V letech 1978 – 81 bylo 18 – 27 % polí ve Velké Británii zamoženo semenáčky rodu *Beta* (Maughan, 1984), které byly náhodně zaneseny do polí následkem kontaminace osiva a nazvány „plevelná řepa“. Později byla plevelná řepa objevena také v ostatních evropských zemích (Skalický a Pulkrábek, 2006).



Champion (2000) podává informaci o vzniku plevelné řepy z tzv. „groundkeepers“, termín vysvětluje jako kousky kořene či hypokotyly, které zůstávají na okrajích pole při sklizni. Řepy pocházejících z tzv. groundkeepers se mohou objevit i v jiné kultuře než v cukrové řepě, protože cukrovka se nesmí pěstovat ve 2 po sobě následujících letech.

### **3.2.5 Plevelná řepa – výskyt a rozšíření v ČR**

Krouský (2001) publikoval, že klasická plevelná řepa byla do Čech zavlečena z jižních množitelských oblastí Evropy v době počátku masových dovozů geneticky jednoklíčkových odrůd. Příčinou infestace bylo nakřížení kulturní cukrovky s plevelnou řepou, která je běžným plevelem jižních oblastí, nebo přímo sklizní osiva této řepy s množitelským porostem. Počátkem 80. let se jednalo o dovážená osiva západoevropských odrůd, později byla zdrojem plevelné řepy i osiva domácích odrůd množená v Jugoslávii a v Maďarsku. Invaze plevelné řepy pokračovala počátkem 90. let v porevolučním období, kdy zavládl v distribuci osiva chaos a do České republiky byla dovážena, často pokoutně nebo na výjimku, osiva nepovolených odrůd.

V souvislosti s osivem cukrovky kontaminovaným plevelnou řepou, které v minulosti nakoupilo mnoho zemědělských podniků, se po letech znovu obrací pozornost k této problematice. V zemědělských podnicích, kde nevěnovali šíření a hubení plevelné řepy dostatečnou pozornost, je nyní situace natolik vážná, že je na některých pozemcích na dlouhou dobu pěstování cukrovky zcela vyloučeno (Vostrovský a Štůsek, 2011).

Skalický a Pulkrábek (2006) se domnívají, že na začátku 90. let bylo více jak 50 % polí používaných pro pěstování cukrovky kontaminováno plevelnou řepou. Dnes se cukrová řepa pěstuje v České republice na 60 000 ha a veškeré osivo je dováženo. Na základě informací, které poskytly Cukrovary TTD a.s. a také díky terénnímu průzkumu autoři dále předpokládají, že v současnosti je více jak 80 % pozemků vhodných pro pěstování cukrové řepy zamořeno plevelnou řepou.

I přes velmi důkladnou kontrolu osiva je některé osivo kontaminované plevelnou řepou. Hlavní příčinou jejího trvalého výskytu je, ale především zásoba semen v půdě.

Vzhledem ke stále se zvyšujícímu rozsahu pěstování cukrovky z osiva množného v jižní Evropě nebo v podmínkách s výskytem plevelných řep je nutná i další semenářská kontrola dováženého osiva, jejímž cílem je omezení výskytu plevelných řep. Normou bylo upraveno i množství a obsah semen plevelných řep v dováženém osivu, který byl stanoven

na 0,05 % (Vášová, 1995). To znamená 13 řep na hektar. Těchto 13 řep může vyprodukovat (pokud se nezlikvidují) až 20 000 životaschopných semen. Dle autorova zjištění ze zahraničních zdrojů je roční mortalita 50 % semen. To znamená, že po třech letech je v půdě ještě potenciálně 2000 životaschopných semen (Konečný, 2001). Evropská norma povoluje 0,2 %. Naše hranice je tedy vzhledem k nebezpečnosti plevelných řep čtyřikrát přísnější než EU (Vášová, 1995).

Konečný (2001) dále uvádí, že při větším výskytu plevelných řep v dané partii, než připouští výjimka z ČSN, je dodavatel osiva povinen se podílet na zvýšených nákladech spojených s odstraňováním rostlin. Pro úplnost je nutno uvést, že norma ČSN nepřipouští žádnou příměs plevelných řep. MZe povolilo výjimku z této normy na hodnotu 0,05 % příměsí semen plevelných řep, norma EU připouští hodnotu 0,2 %, jak již bylo výše zmíněno. Ačkoli byl tento parametr kritizován osivářskými firmami jako velmi tvrdý (s odůvodněním, že norma EU je vyšší), dařilo se dosáhnout stavu, kdy v testech všechny firmy splnily normu. Z toho lze odvodit, že v posledním desetiletí je podíl osiva na zaplevelení plevelnou řepou minimální (Krouský, 2001).

**Foto. 1 – Zaplevelený porost cukrovky plevelnou řepou (*Beta vulgaris* L.) 26. 6. 2012 v oblasti Praha – Přední kopanina**



### 3.2.6 Škodlivé účinky plevelné řepy

Plevelná řepa je pro pěstitele cukrovky velkou hrozbou, se kterou se potýkají více, než patnáct let. Zodpovědným pěstitelům se daří výskyt plevelných řep kontrolovat jejich systematickou likvidací. Extrémní plošný výskyt vyběhlic v loňských letech ukazuje, jakou hrozbou může být plevelná řepa, zavlečená na pole nedostatečně prověřeným osivem. Stejným nebezpečím je podcenění likvidace plevelné řepy z půdní zásoby (Krouský, 2001).

Dle Weishaupta (1994) je plevelná řepa nebezpečná především tím, že se jedná na rozdíl od kulturní řepy, o jednoletou rostlinu s velmi krátkou vegetační dobou a velkým počtem semen. Ta jsou vysoce dormantní, tzn., že v půdě zůstávají několik let, aniž by se poškodila a za příhodných podmínek vyklíčí a znovu zaplevelí porost.

Sester et al. (2006) shodně uvádí, že pokud jsou plevelné řepy ponechány v porostu cukrové řepy, mohou růst a produkovat velké množství semen, a to může vést k obrovskému rozšíření populace plevelné řepy v porostech cukrovky pro další roky.

Zahradníček a kol. (2008) získali výsledky, které potvrzují negativní působení plevelné řepy na vegetující cukrovce tím, že kulturní plodně odčerpává vodu a živiny z půdy, zastíňuje porost, snižuje asimilační plochu, narušuje růst a fyziologický vývoj kulturní řepy a negativně ovlivňuje fotosyntézu (biosyntézu sacharózy) a tvorbu technologické jakosti řepy. Zvláště škodlivě se projevuje přítomnost plevelné řepy při sklizni cukrovky. Dochází zde k poškození vyorávacího a ořezávacího ústrojí, k ucpávání separačního (čisticího) zařízení a vyšším sklizňovým ztrátám. Je narušována kvalita řepy jako základní suroviny. Tovární zpracování plevelné řepy v cukrovaru je značně horší a obtížné, zejména na řezačkách, kde dochází k ulamování nožů.

Předchozí zjištění jsou v souladu s Bittner a Seed (2001), kteří také uvádí, že plevelné řepy se hůře zpracovávají na řezačkách v cukrovaru a mají výrazný obsah melasotvorných látek, čímž výrazně negativně ovlivňují i výtěžnost při zpracování cukrovky. Uvádí také, že ztráta na výnosu bílého cukru o 0,5 % se odhaduje už při výskytu 1 % plevelných řep. Východiskem z celého problému se pro ně zdá být dodržování základního pravidla – nedovolit dalšímu zvyšování počtu životaschopných semen v půdě, která zde mohou přežít několik let.

Dle Zahradníčka a kol. (2005) je důležité objasnit škodlivý účinek vyběhání, který způsobuje negativní dopady při sklizni a zpracování cukrovky. Vlivem vyběhání bulva dřevnatí, cukernatost se snižuje a chemicko – technologické složení řepy se nepříznivě mění. Výnos bulv a cukernatost klesá tím více, čím řepa dříve vyběhá a květní lodyha je

vyvinutější. Odstranění květonosné rostliny začátkem srpna ovlivňuje příznivě hmotnost kořene a obsah sacharózy. Seříznutím vyběhlice vzrůstá při sklizni nejen výnos kořene, ale i obsah sacharózy a výtěžnost rafinády (bílého rafinovaného cukru). Také obsah organických kyselin a redukujících monosacharidů (invertního cukru) je u vyběhlic oproti kulturní řepě výrazně vyšší. Analogicky je tomu i v obsahu dřeně, celulózy (ve kterých jsou lokalizovány arabinóza, xylóza a další pentosany. Jak již bylo zmíněno výše i sklizeň a tovární zpracování vyběhlic je horší neboť zdřevnatělé bulvy narušují difúzi (extrakci), eporaci, a hlavně působí potíže na řezačkách.

### **3.2.7 Současná úroveň infestace pozemků z půdní zásoby**

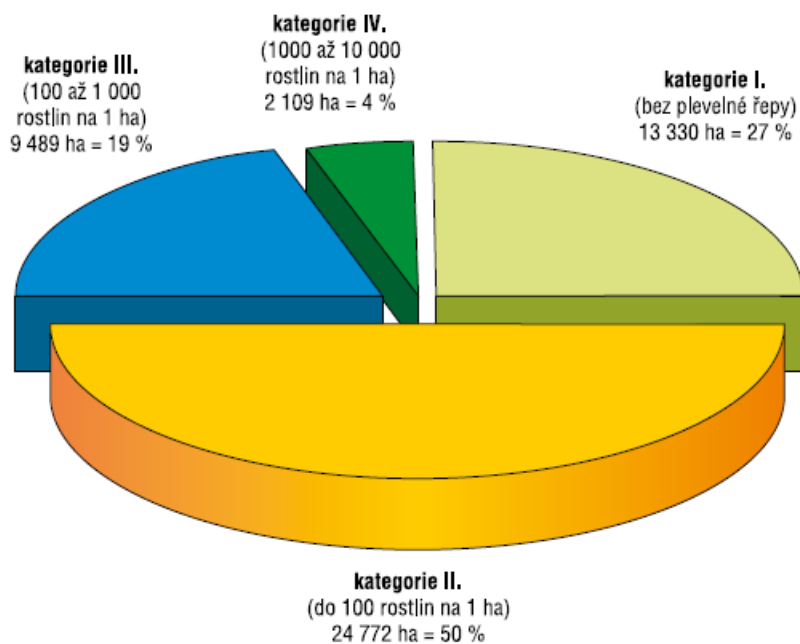
Běžné bylo široké rozmezí úrovně zaplevelení plevelnou řepou jednotlivých pozemků v rámci půdního fondu jednoho podniku. Z celkové výměry 50 770 ha přiřadili pěstitelé do kategorie silně zaplevelených půd (nad 1 000 rostlin na hektar) celkem 2 019 ha, tj. 4 % celkové výměry. Dalších 9 489 ha, tj. 19 % celkové výměry, zařadili do kategorie středně zaplevelených půd (100 – 1 000 ks.ha<sup>-1</sup>). Nejčastěji byla zastoupena kategorie nízkého zaplevelení do 100 ks.ha<sup>-1</sup>), kam bylo zařazeno 24 772 ha, ta tvořila 50 % celkové výměry všech podniků.

Absenci plevelné řepy pěstitelé deklarovali na 13 330 ha, tj. 27 % výměry. Mezi oslovenými podniky se nevyskytl ani jediný, ve kterém by se plevelná řepa vůbec nevyskytovala, tj. nenachází se ve stavu, kdy celá výměra podniku odpovídá I. kategorii – bez plevelné řepy. Téměř polovina (43 % oslovených podniků) uvedla v I. kategorii zaplevelení 0 ha, což znamená, že plevelná řepa se na všech pozemcích jimi obhospodařovaných vyskytuje.

U poloviny (50 %) sledovaných podniků přesáhla úroveň zaplevelení plevelnou řepou 1 000 rostlin na hektar (IV. kategorie zaplevelení, viz obr. 3).

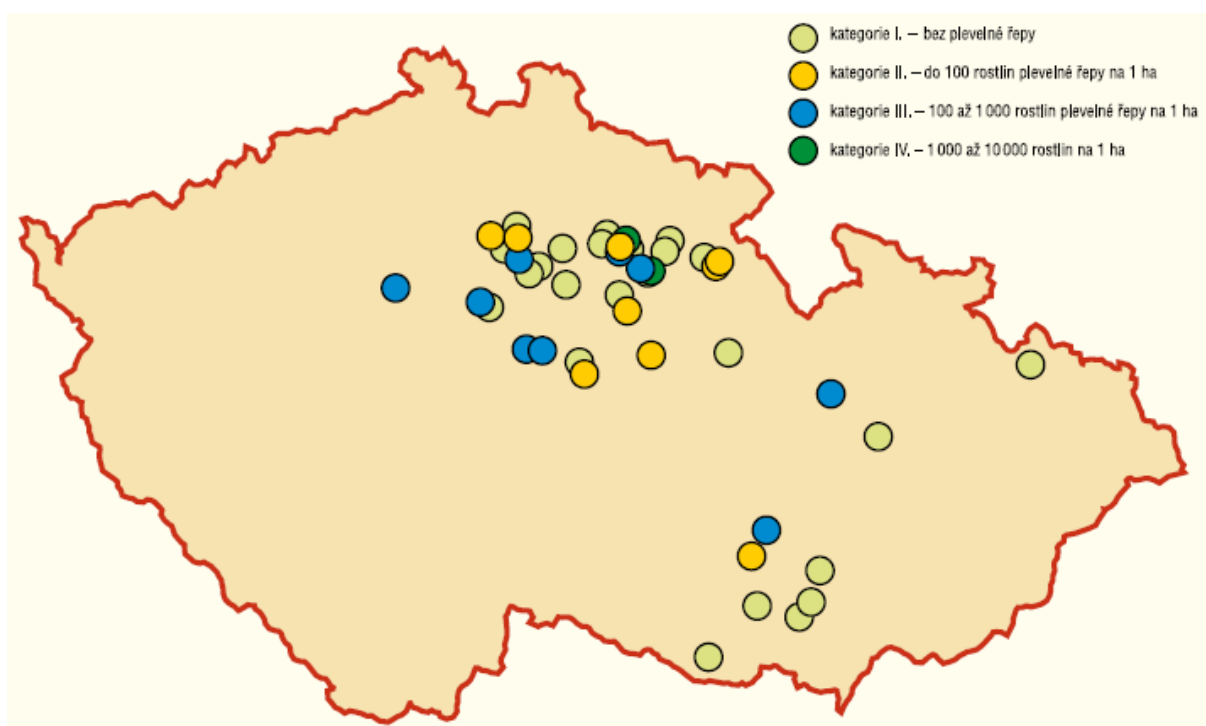
Průměrné zaplevelení pozemků jednotlivých podniků plevelnou řepou se pohybovalo od 0 do 3 217 rostlin na hektar, přičemž u největšího počtu podniků vycházely hodnoty průměrného zaplevelení do 500 rostlin plevelných řep na hektar. Hranici průměrného zaplevelení 1 000 rostlin na 1 ha překročilo 11 % oslovených podniků. Průměrné zaplevelení jednotlivých podniků plevelnou řepou ilustruje obr. 4 (Landová a kol., 2010).

**Obr. 3 – Úroveň infestace pozemků z půdní zásoby v roce 2006**



Zdroj: Landová a kol. (2010)

**Obr. 4 – Zaplevelení podniků zahrnutých do dotazníkového šetření roce 2006 plevelnou řepou – průměrný počet rostlin plevelných řep na 1 ha – v celé ČR**



Zdroj: Landová a kol. (2010)

### 3.2.8 Ochrana proti plevelné řepě (regulace)

Pro likvidaci plevelné řepy musí být uplatňován celý systém opatření. Základem ochrany proti jednoleté plevelné řepě je systém preventivních kontrol osiva uváděného do oběhu. Pokud plevelné řepy vyrůstají v řádku a prokáže se, že pocházejí z nakoupeného osiva cukrové řepy (kontrolní zkouška ÚKZÚZ), má pěstitel možnost uplatnit reklamaci na osivo a náhradu za výskyt plevelných řep. Pokud se ovšem vyskytují v meziřádcích, vyrostly z půdní zásoby, k zamoření došlo v minulosti, náklady na odplevelení nese pěstitel (Pulkrábek, 2007).

Skalický a Pulkrábek (2006) vidí základní možnost regulace plevelné řepy také v kontrole osiva, která je uzákoněna pro veškeré dodávané osivo. Úspěšné potlačování a omezení výskytu plevelných řep na pozemcích spočívá ve využití souboru preventivních, především biologických metod a přímých metod ochrany. Přímá ochrana znamená: plečkování, ruční vytrhávání a lokální použití neselektivních herbicidů na plevelné řepy a vyběhlíce. Kombinace výše zmiňovaných opatření nemusí být na silně zaplevelených pozemcích účinná.

Z agrotechnických opatření je to především mělké zpracování půdy, aby se semena po dozrání a vypadnutí na půdu nedostala do celého orničního profilu, ale zůstala na povrchu a byla kdykoli za příznivých podmínek vyprovokována ke vzcházení. Při osevu následných plodin je pak možno řepu likvidovat mechanicky nebo chemicky. Mělké zpracování půdy k regulaci plevelné řepy lze využít nejen po cukrové řepě, ale i po dalších plodinách, ve kterých její klubička dozrála a jsou potenciálním zdrojem zaplevelení. Pokud se jedná o likvidaci přímo v porostech cukrové řepy, snažíme se ji zničit již při zakládání porostu tím, že potenciaálně zaplevelené pozemky sejeme jako poslední a jedním průjezdem kompaktoru před setím zničíme část v té době klíčících semen plevelné řepy. Z prostoru meziřádků ničíme vzcházející rostliny plevelné řepy plečkováním (Pulkrábek, 2007).

- **Plečkování**

Plečkování je nutno provádět při výskytu plevelných řep v meziřádcích. První plečkování by mělo proběhnout ve fázi dvou pravých listů a další se čtrnáctidenním odstupem. U velmi zaplevelených pozemků (1000 a více plevelných řep na ha) se plečkování doporučuje nejméně třikrát. Zcela nezbytné je správné nastavení radliček plečky, takto lze snížit výskyt plevelných řep v meziřádcích až o 75 %. Při výskytu plevelných řep na pozemku i v minulých letech a menším než 100 jedinců/ha není tato metoda nejvhodnější – plečkování prokypří půdu a následkem toho vyklíčí mnoho semen z půdní zásoby (Skalický a Pulkrábek, 2006).

- **Ruční vytrhávání**

Sester et al. (2006) uvádí ruční vytrhávání jako tradiční, jediný a účinný způsob odstranění plevelné řepy z porostu cukrovky.

Odstranění rostlin je nutno provádět při prvních známkách vybíhavosti řep (zpravidla začátek června) a za vhodných vláhových podmínek, aby nedocházelo k přetrhávání kořenů a lodyh. Rostliny plevelných řep vynášíme z pole nebo je alespoň pokládáme do „srdíčka“ chrástu kořene nahoru proto, aby nemohly rostliny znovu zakořenit a růst (Skalický a Pulkrábek, 2006). Tento způsob doporučuje též Pulkrábek (2007) a dodává, že rostliny musíme odstranit do doby tvorby semen. Při pozdější likvidaci se musí z pole odnést (při ponechání na poli některá semena dozrají a jsou klíčivá).

Ruční vytrhávání rostliny se doporučuje několikrát opakovat (podle toho, jak rostliny vzchází z půdní zásoby a vybíhají). Snazší způsob je vysekávání rostlin mačetou či motykou. Účinnost je zde závislá na hloubce vyseknutí rostliny, z důvodu obrázení zbytku kořene a růstu dalších nových postranních stonků. Pokud chceme zajistit použitelnost honu pro pěstování cukrové řepy i v dalších letech, je nutné všechny rostliny plevelné řepy vynést mimo tyto pozemky a zneškodnit. Všechny způsoby ručního odstraňování rostlin jsou velmi účinné, ale vždy přímo závisí na kvalitě prováděné selekce (Skalický a Pulkrábek, 2006).



- **Chemická ochrana**

Chemická ochrana má nejvyšší účinnost na značně zaplevelených pozemcích. Použití neselektivních herbicidů (Roundup, Dominátor) je možné pomocí knotových aplikátorů nebo pomocí současně nejmodernějšího aplikátoru KAH-04 (pro místní podmínky inovovaný Rotowiper TTC), kde dochází k soustavnému smáčení rotujícího válce. Při použití aplikátoru KAH-04 je vhodné dodržet tato doporučení: plevelná řepa je vyšší než porost technické cukrovky minimálně o 30 cm, vhodné klimatické podmínky (sucho, mírné teploty) a zkušený řidič (obsluha stroje) – nejdůležitější podmínka. Část rostlin, a tím i semen, přežívá i při velmi vysoké účinnosti této chemické ochrany. Některá zasažená semena (klubíčka) přežívají i po opakovaném herbicidním ošetření. I z toho důvodu je nutno aplikaci opakovat po cca 3 týdnech s tím, že stroj jezdí protisměrně vůči předchozí aplikaci (Skalický a Pulkrábek, 2006).

Pro stanovení způsobů, vedoucích k omezení napadání porostů cukrové řepy plevelnými řepami, je nutné zlepšit poznatky o různých fázích životního cyklu (Sester et al., 2004). Tato otázka bude stále důležitější v případě povolení pro geneticky modifikované kultivary cukrové řepy. Zejména je důležité vyšlechtit geneticky modifikované typy, které budou tolerantní k těm herbicidům, ke kterým bude mít plevelná řepa sníženou odolnost. Tato otázka je klíčová zvláště proto, že ve skutečnosti plevelná řepa patří ke stejným druhům jako cukrová řepa, a proto je také tolerantní k používání stejných herbicidů (Sester et al., 2006).

### **3.2.9 Ekonomická náročnost regulace plevelných řep**

Plevelná řepa negativně působí na porost technické cukrovky zejména její konkurencí v potřebě živin, vody a světla. Právě tyto faktory významně ovlivňují výnos. Při výskytu 1 % plevelných řep na pozemku je odhadované snížení výnosu (po konzultaci s agronomy ZD) o 0,5 – 0,7 %. Nyní relativně zanedbatelné číslo, ale velké nebezpečí v následujících letech. Ekonomická náročnost jednotlivých způsobů regulace je odvislá od průměrné hodinové mzdy zaměstnanců (brigádníků) a ceny služeb. Na základě získaných údajů je nejehospodárnější využívání ruční likvidace při výskytu 0 – 300 plevelných řep na 1 hektar. U vyššího zaplevelení pozemků je výhodnější chemická ochrana. Plečkování lze doporučit na každém zapleveleném pozemku (Skalický a Pulkrábek, 2006).



Dnes představuje likvidace plevelných řep nezbytnou operaci v technologii pěstování cukrovky, náklady kolísají v rozpětí 0 – 5000 Kč/ha a průměr odhadujeme na cca 800 Kč/ha. Likvidace plevelných řep musí být důsledná – jedna rostlina může mít 2000 semen a několik ponechaných rostlin tak může zaplevelení pozemku reprodukovat. Nelze se proto spolehnout na jeden zásah – např. knotovou aplikaci totálního herbicidu nebo jednorázové vytrhání – protože účinnost není stoprocentní a rostliny vzcházejí a vykvétají postupně. Pozemek s plevelnou řepou musí být kontrolován během celé vegetace. Teprve u rostlin, které vzejdou až počátkem července, lze předpokládat, že nedokončí vývoj a jejich semena už nebudou klíčivá (Chochola, 2010).

**Tab. 4 – Možnost regulace plevelných řep a jejich ekonomická náročnost**

Způsoby likvidace	Plečkování	Ruční likvidace (vytrhávání, vysekávání motykou, mačetou)				KAH – 04 (Rotowiper TCC)
		100	500	1000	10 000	
Termín aplikace	od 2. dekády května	od 2. dekády června				od 1. dekády července
Počet plevelných řep na 1 ha	nemá vliv (konstantní cena)	100	500	1000	10 000	nemá vliv (konstantní cena)
Náklady [Kč. ha <sup>-1</sup> ]	1200 (3 x)	160	800	1600	16 000	2 200 (2.aplikace)

Zdroj: Pulkrábek a kol. (2007)

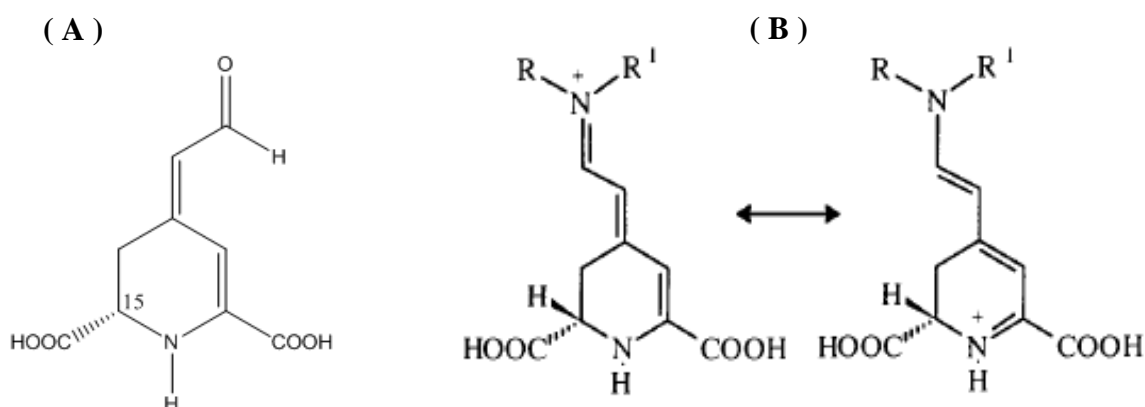
### 3.3 Betalainy

Betalainy jsou skupinou asi 70 ve vodě rozpustných červených, oranžových a žlutých barviv (Velíšek, 2002), patří mezi ně rostlinná barviva obsahující dusík a jsou odvozené od betalamové kyseliny (obr. 6), která je v nich navázána na různé imino- a aminokyseliny nebo aminy. Nejdůležitější dvě skupiny betalainů jsou červeno-fialové betacyaniny a žluto-oranžové betaxanthiny. Hlavními zástupci je betanin, sytě červené barvivo červené řepy (odrůdy druhu *Beta vulgaris*), podle které skupina dostala své pojmenování (Vodrážka, 2002).

### 3.3.1 Struktura a názvosloví

Všechny betalainy mají stejnou základní strukturu. Jejich chromofor s konjugovaným systémem dvojných vazeb je odvozen od dyhydropyridinu a tvoří tak základní strukturu betalainů (obr. 6). Jednotlivé sloučeniny se vzájemně liší strukturou substituentů R a R<sup>1</sup>, které jsou alifatické nebo součástí dusíkatých heterocyklů (Velíšek, 2002).

Obr. 5, 6 – betalamová kyselina (A), základní struktura betalainů (B)



zdroj: Velíšek (2002)

### 3.3.2 Betacyaniny

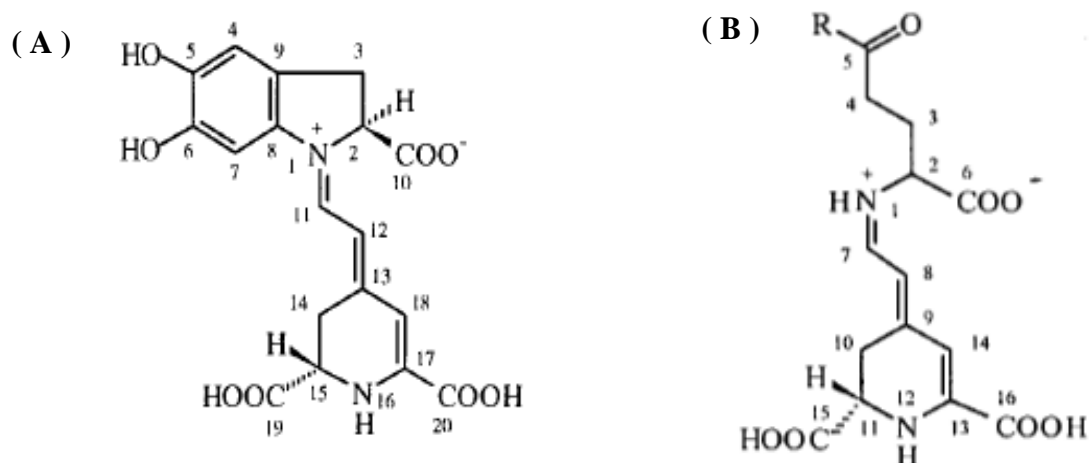
Betacyaniny jsou glykosidy, jejichž aglykon se odvozuje od betanidinu (obr. 7) případně isobetanidinu a liší se vzájemně způsobem glykolace (Vodrážka, 2002).

Betanidin vzniká kondenzací aminokyseliny 3,4 - dihydroxyfenylalaninu (L-dopa, resp. cyklodopa) s betalamovou kyselinou. Asi 75 - 95 % všech betacyaninů reprezentuje betanin. Betacyaniny červené řepy mají velmi intenzivní, červenou - fialovou barvu. Nejvyšší stabilitu vykazují v roztocích o pH 4 - 5. Při pH > 7 dochází k jejich rychlé degradaci. V současné době je známo asi 50 sloučenin betacyaninů (Velíšek, 2002).

### 3.3.3 Betaxanthiny

Betaxanthiny jsou dihydropyridinové deriváty, produkty kondenzace betalamové kyseliny s aminokyselinami nebo biogenními aminy. Příkladem těchto vesměs žlutých barviv je vulgaxanthin (obr. 8) (Velíšek, 2002).

Obr. 7, 8 – struktura betanidinu (A), struktura vulgaxanthinu (B)



Zdroj: Velíšek (2002)

### 3.3.4 Výskyt

Betalainy se vyskytují v přírodě v poměrně malém počtu rostlinných druhů většinou několika příbuzných čeledí. Nejvýznamnějšími zdroji jsou odrůdy červené salátové řepy z čeledi merlíkovitých (*Beta vulgaris*, *Chenopodiaceae*) a ličidlo americké, keř s červenými květy z čeledi ličidlovitých (*Phytolacca americana*, *Phytolaccaceae*). Barvivo ličidla bylo původně nazýváno fytolakkanin, ale později se zjistilo, že se jedná o betanin.

Hlavním pigmentem květů, listů a stonků laskavce trojbarevného (*Amaranthus tricolor*), aj. druhů čeledi laskavcovitých (*Amaranthaceae*), které se konzumují pro svá semena, je červený amaranthin, doprovázený isoamaranthinem odvozeným od isobetainu.

Betalainy se vyskytují také v plodech jedlých opuncí (kaktusů rodu *Opuntia*) např. plody kaktusu *O. ficus-indica* obsahují červený betanin.

Betaxanthiny můžeme také nalézt u květů, původem amerických rostlin nocenky jalapovité (*Mirabilis jalapa*).

K betalainům se řadí také pigmenty některých hub. Houby obsahují ve velmi malém množství stejné pigmenty, jako jsou pigmenty červené řepy (např. žampiony, *Agaricus biosporus*). Při poškození pletiva se světle růžová barva houby mění na šedočernou, což je způsobeno oxidací. V muchomůrkách (*Amanita sp.*) a v některých dalších rodech hub se nacházejí příbuzné pigmenty betalainů, vzniklé kondenzací betalamové kyseliny s typickými aminokyselinami hub (Velíšek, 2002).

### **3.3.5 Betalainy – potravinová barviva**

Spotřebitelé se stále více vyhýbají potravinám, které obsahují syntetická barviva, což vede potravinářský průmysl k tomu, aby tato syntetická barviva nahrazoval přírodními pigmenty (Azeredo, 2006).

Dle Downham a Collins (2000) jsou tyto požadavky základem pro regulační změny po celém světě. Například v USA byl seznam povolených syntetických barviv snížen z počtu 700 na pouhých 7. Lze ale konstatovat, že přírodní barviva mají řadu nevýhod v porovnání se syntetickými, mezi ně patří vyšší náklady na využití a nižší stabilita.

Významné praktické použití mají pigmenty červené řepy, které se nazývají betaninová červeně nebo také betanin. Ty jsou využívány jako přírodní potravinářská barviva, v České republice pod označením E 162. Vzhledem k malé stabilitě se používají k barvení potravin s kratší trvanlivostí, jako jsou mléčné a masné výrobky (např. párky z drůbežího masa), a kyselých potravin, jako jsou např. nealkoholické nápoje. Jsou také použitelné pro některé cukrovinky. Na trh se dodává barvivo buď ve formě koncentrovaného sirupu, nebo prášku. Nepříznivé účinky betalainů nebyly zjištěny, a proto jsou pigmenty červené řepy všeobecně povoleny jako potravinářské barvivo. Maximální jednorázové konzumované množství betalainů přidávaných jako barvivo je navíc mnohem nižší než množství běžně konzumované prostřednictvím červené řepy (Velíšek, 2002).

Současný trh pro všechna potravinářská barviva je odhadován na jeden bilion amerických dolarů, přírodní barviva zastupují čtvrtinu tohoto celkového počtu. Nicméně současná situace poukazuje na to, že trh syntetických barviv má tendenci klesat, což je ve prospěch barviv přírodních (Azeredo, 2006).

### **3.3.6 Stabilita a biosyntéza betalainů**

Ze zjištění Tesoriere et al. (2002) vyplývá, že pro všechny zástupce betalainů jsou zjištěné poznatky ohledně jejich stability stejné.

Betalainy jsou relativně stabilní v širším rozsahu 3 – 7 pH (Jackmann and Smith, 1996), což umožňuje jejich použití do málo kyselých potravin. Nejvyšší stabilitu pak vykazují při pH v rozmezí 5 – 6. Při zvyšujícím se pH (kolem 7), dochází k jejich rychlé degradaci (Huang and von Elbe, 1985).

Attoe a von Elbe (1981) uvádí, že stabilita betalainů může být zhoršena působením světla, avšak degradace betalainů je proces závislý na kyslíku, protože účinky světelné expozice jsou v anaerobních podmínkách zanedbatelné.

Teplota je nejdůležitějším faktorem, který ovlivňuje stabilitu betalainů při zpracování a skladování potravin či potravinových surovin (Saguy et al., 1978). S rostoucí teplotou se zvyšuje riziko degradace. Během tepelného zpracování může být betanin degradován pomocí izomerace, dekarboxylace či jiným štěpením, což má za následek postupné snižování červené barvy, která se mění až na světle hnědou, popřípadě při dehydrogenaci betaninu na neobetanin na barvu žlutou (Huang and von Elbe, 1985). Rozklad betalainů také způsobuje oxid siřičitý, který též způsobuje jejich rychlé odbarvení (Velíšek, 2002).

Jako látky zvyšující stabilitu betalainů se ukázaly některé potravinové antioxidanty – především kyselina askorbová a isoaskorbová (Attoe and von Elbe, 1982).

Dle Azeredo (2006) probíhá biosyntéza betalainů v cytoplasmě, poté jsou pigmenty ukládány do vakuol a dochází k jejich hromadění hlavně v květech a ovoci. Ústředním meziproduktem při syntéze betalainů je betalamová kyselina. Z betalamové kyseliny poté vznikají betacyaniny a betaxanthiny.

### **3.3.7 Antioxidační vlastnosti betalainů**

Kanner et al. (2001) uvádí, že existuje stále více důkazů, že oxidativní stres vede k biochemickým změnám, které přispívají k rozvoji několika degenerativních onemocnění, jako je například rakovina či srdeční onemocnění. Antioxidační molekuly, z nichž některé jsou odvozeny ze stravy, potenciálně chrání před škodlivým účinkem oxidačního stresu.

Právě díky rostoucímu zájmu o antioxidační vlastnosti betalainů, se některé výzkumy zaměřují na jejich přínos pro zdraví. Betaxantiny byly například v potravinářství ve výrobních

procesech použity jako doplněk stravy, aby byly posíleny esenciální aminokyseliny obsažené v potravinách (Leathers et al., 1992).

Kapadia et al. (1996) popisují významný inhibiční účinek řepy ve vztahu k rakovině kůže a plic u myši. Po pár letech Kapadia et al. (2003) demonstrují účinnost betaninu, který po delší časové období potlačí vznik jaterních nádorů také u myši, vyvolaný různými chemickými karcinogeny.

Gentile et al. (2004) pozorovali schopnost betalainů (v *in vitro* podmínkách) chránit endoteliální buňky (tvoří tkáň, regulující cévní napětí) před oxidací, vztahující se k zánětlivé reakci.

Lee et al. (2005) podali zprávu o schopnosti betalainů vyvolat chinonovou reduktázu, jedná se o účinný detoxikační enzym, spojený s chemoprevencí rakoviny (snaha o oddálení vzniku nádoru).

Kanner et al. (2001) publikovali informace o schopnosti betalainů, které jsou schopné již při velmi malých koncentracích inhibovat peroxidace lipidů a hemu v *in vitro* podmínkách.

Tesoriere et al. (2005) předložili důkazy o tom, že lidské červené krvinky mohou díky betalainům chránit buňky a také že tyto barevné pigmenty zabraňují hemolýze (rozpadu červených krvinek).

Betalainy, jak je patrné z výše uvedených příkladů, vykazují antioxidační účinky a jsou tedy příznivé pro lidské zdraví. Díky těmto vlastnostem a přírodnímu původu těchto pigmentů o ně v současné době vzrostl zájem. Vzhledem k vysokému zájmu o tato barviva se hledají i alternativní použitelné zdroje (Kozáková, 2012).

## 4. Materiál a metody

Metodika byla stanovena a částečně upravena na základě studie dle von Elbe (2001), která se zabývá laboratorním stanovením koncentrace barviv plevelné řepy - betalainů, pomocí chemické metody viditelné spektrofotometrie. Použitá metodika byla shodná s Vlková (v tisku).

Celková koncentrace betalainů byla zjišťována z koncentrace pigmentových složek tj. betacyaninů a betaxanthinů, pro které bylo nutné nejprve vypočítat hodnoty betaninu (pro betacyaniny) a vulgaxanthinu (pro betaxanthiny).

K laboratornímu stanovení byly použity vzorky plevelné řepy, které byly vybrány náhodnou selekcí v polních podmínkách oblasti Praha – Přední Kopanina (50°7'27.551"N, 14°17'21.938"E). Na lokalitě byly odebrány vzorky cca 10 rostlin dle odlišného červeno – fialového zbarvení – zelené, lehce karmínově žíhané, sytě karmínové.

Během laboratorního stanovení a odběru vzorků byla autorem provedena fotodokumentace plevelné řepy s využitím digitálního fotoaparátu značky Panasonic, typ DMC – FX2. Měřené parametry u vzorků plevelné řepy jsou shrnuty v následující tabulce.

**Tab. 5 – Sledované parametry u plevelné řepy (*Beta vulgaris* L.)**

Vysvětlivky: experiment I – zelené vzorky

experiment II – lehce karmínově žíhané vzorky

experiment III – sytě karmínové vzorky

varianta 0 – konzervované vzorky (-18 °C)

varianta 1 – čerstvé vzorky (20 °C)

PARAMETR					
experiment	I		II	III	
varianta	0/ 1	1	0/ 1	0/ 1	1
část rostliny	lodyha	hypokotyl	lodyha	lodyha	hypokotyl
absorbance (nm)	476/ 538/ 600		476/ 538/ 600	476/ 538/ 600	
obsah pigmentů (mg/ 100 ml)	betaniny vulgaxanthiny betalainy		betaniny vulgaxanthiny betalainy	betaniny vulgaxanthiny betalainy	



**Foto 2 - EXPERIMENT I - vzorky plevelné řepy (*Beta vulgaris* L.) při odběru 26.6. 2012**



**Foto 3 - EXPERIMENT II - vzorky plevelné řepy při odběru 26. 6. 2012**





**Foto 4 - EXPERIMENT III - vzorky plevelné řepy při odběru 26. 6. 2012**



Odběr vzorků probíhal v termínech 26. 6. 2012 a 19. 7. 2012. Při prvním odběru byly vzorky připraveny k následnému využití a poté zakonzervovány mrazem po dobu 14 dnů při teplotě  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . V druhém termínu odběru byly vzorky zpracovány a použity ke stanovení ihned. Bylo tedy možné porovnat kolísavý obsah betalainů, jak bude podrobněji popsáno viz kap.6 - Diskuze.

Analýza betalainů je v současné době do značné míry omezena na stanovení obsahu pigmentů v tkáních řepy – pigmenty jsou snadno extrahovány vodou, protože všechny betalainy jsou rozpustné ve vodě (von Elbe, 2001).

Pro stanovení betalainů byly použity celé lodyhy, které byly následně pokrájeny na malé kousky a rozmělněny spolu s destilovanou vodou tyčovým mixerm značky ETA 1015 90000 Spesso po dobu 1 minuty.

Pro porovnání s průzkumem na zjišťování obsahu betalainů u kulturních druhů řepy, který prováděla také v roce 2012 Vlková (v tisku), byly ke zvláštnímu stanovení stejnou metodou použity části hypokotylů plevelné řepy s 2 cm růžice těsně nad hypokotylem.

Foto 5, 6, 7 – Vzorke lodyh plevelné řepy připravené k rozmělnění (experiment I, II, III)

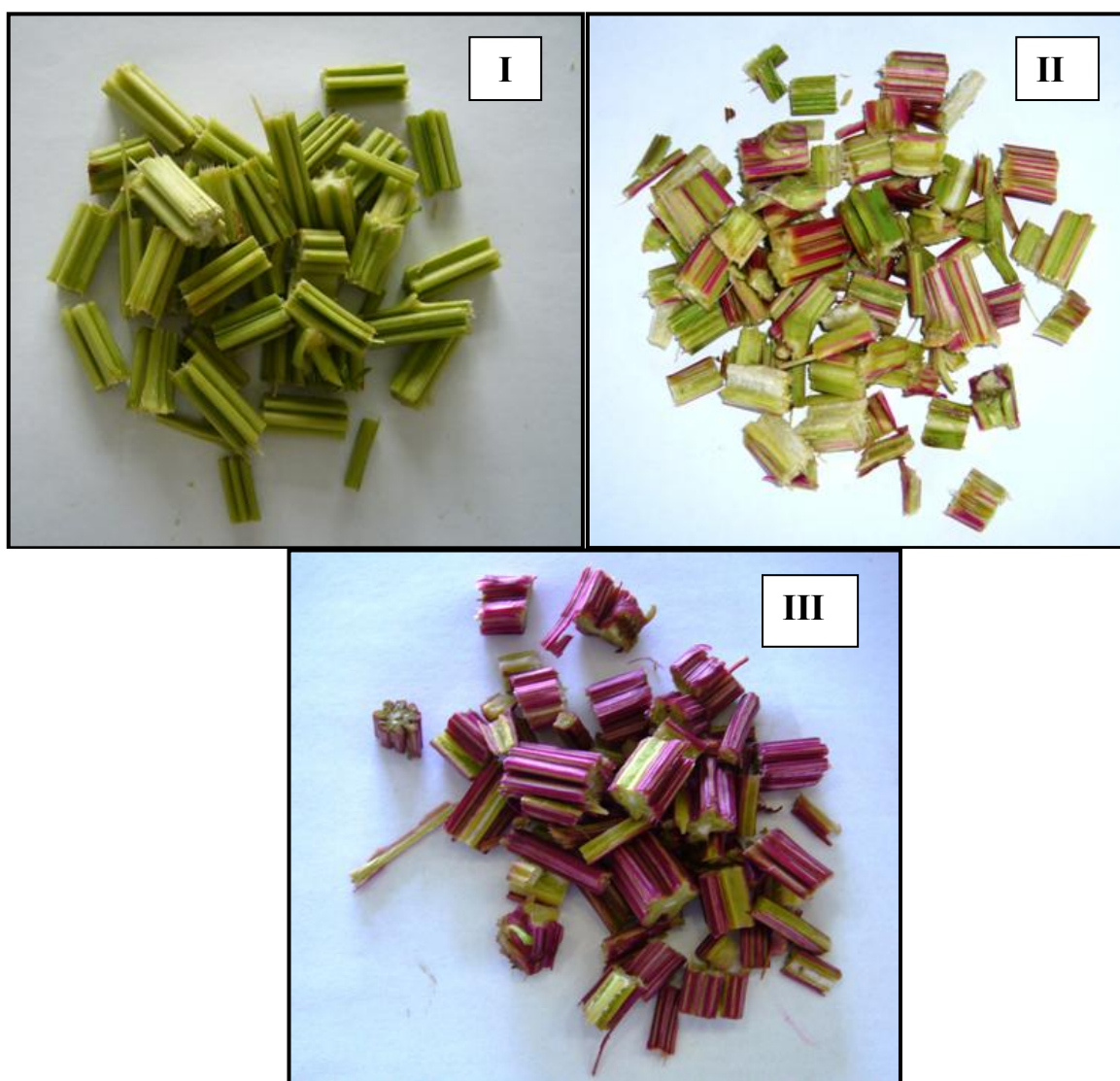
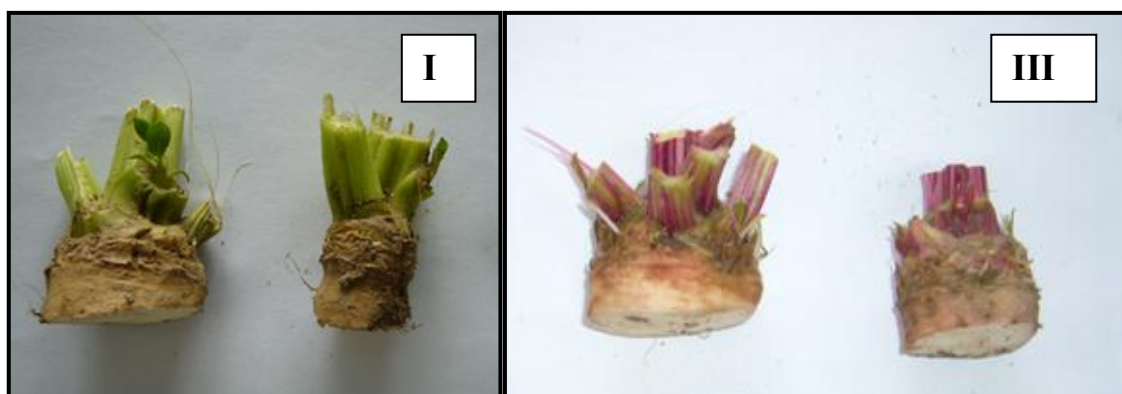


Foto. 8, 9 – Vzorke hypokotylů plevelné řepy (experiment I, III)



Pro stanovení jednoho vzorku bylo použito 50 g řepné tkáně a 150 ml destilované vody. Získané pyré (mix řepy) bylo kvantitativně převedeno do Buchnerovy nálevky, kde bylo pomocí podtlaku přefiltrováno přes filtrační papír pro kvalitativní analýzu s vysokou filtrační rychlostí o průměru 25 mm. Takto získaný extrakt byl dále převeden do zkumavek, které byly vloženy do odstředivky, aby se extrakt vyčiřil a poté byl extrakt znovu zfiltrován přes mikrofiltr značky Target, typ PVDF 0,45 mikrometrů. Následně získaný vzorek byl převeden do kyvety a poté proběhlo vlastní spektrofotometrické měření absorbance s využitím přístroje Spectronic Helios  $\lambda$  (Gamma) UV-VIS spektrofotometr. Měřeno bylo při vlnových délkách 476, 538 a 600 nm. Hodnoty zjištěné při vlnových délkách 538 nm a 476 nm byly poté využity pro výpočet koncentrací betaninu a vulgaxantinu. Měření při vlnové délce 600 nm se používá ke korekci malého množství nečistot.

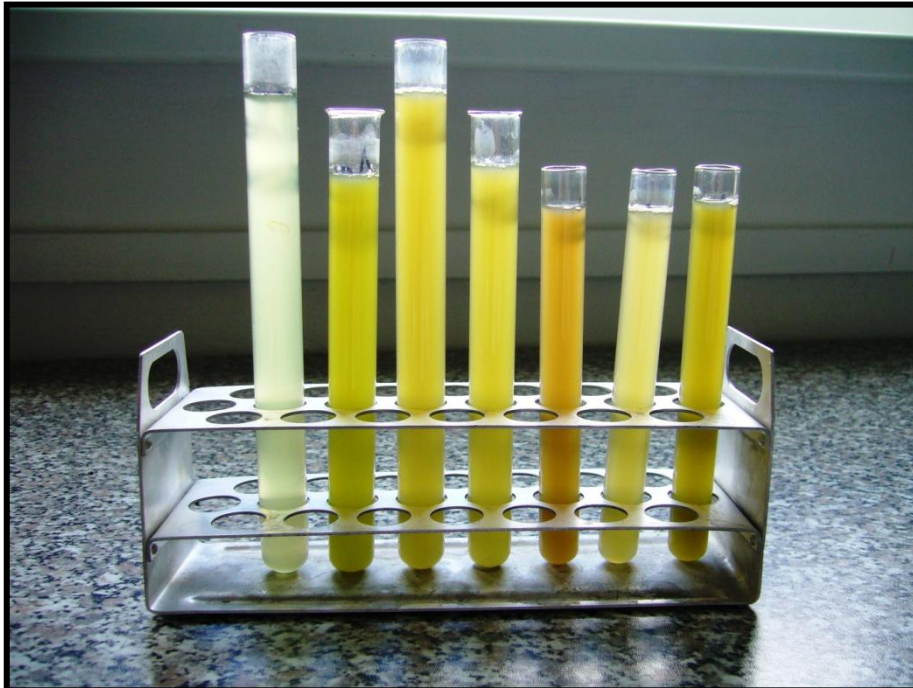
Pokud byla naměřena absorbance při 538 nm nad hodnotu 0,5, bylo potřebné ředění 0,05 M fosfátovým pufrům o 6,5 pH, který byl namíchán v hmotnostním poměru 4/9,4 - 8,863 g/l  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  / 6,773 g/l  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a který byl také použit k vynulování spektrofotometru před každým měřením daného vzorku.

Stanovení každého měřeného vzorku bylo opakováno třikrát z hlediska statistického zhodnocení.



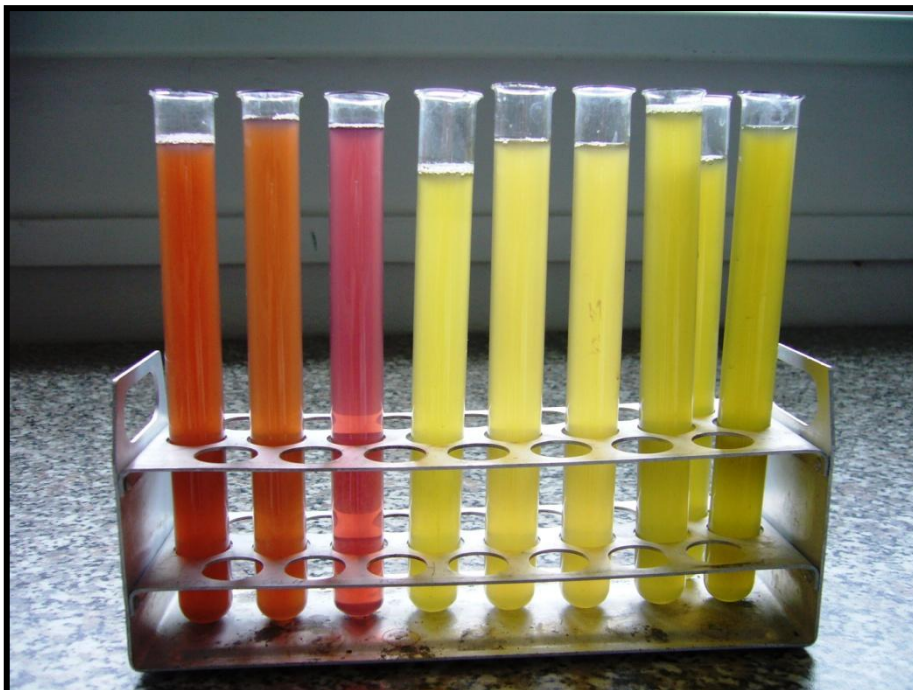
**Foto. 10**

**Experiment I,II, III, varianta 0 - vzorky připravené k proměření na spektrofotometru**



**Foto. 11**

**Experiment I,II, III, varianta 1 - vzorky připravené k proměření na spektrofotometru**



Pro zjišťování koncentrace betalainů byl použit výpočet betaninu a vulgaxanthinu (v mg/ 100g) z naměřených hodnot dle sady rovnic:

$$\mathbf{x = 1,095x (a - c)}$$

$$\mathbf{z = a - x}$$

$$\mathbf{y = b - z - x/ 3,1}$$

kde:

- **a** = absorpce světla při 538 nm
- **b** = absorpce světla při 476 nm
- **c** = absorpce světla při 600 nm
- **x** = absorpce světla betaninů minus barevné nečistoty
- **y** = absorpce světla vulgaxanthinů
- **z** = absorpce světla nečistot

Vypočtené hodnoty koncentrací betaninů (x) a vulgaxanthinů (y) byly následně převedeny na jednotky mg/ 100 ml. Celkový obsah pigmentů – betalainů byl vyjádřen jako součet betaninů a vulgaxanthinů.

Po zjištění výsledků z laboratorního stanovení proběhlo statistické zhodnocení získaných dat – zda existuje statisticky průkazný rozdíl v rámci jednotlivých experimentů a variant. Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí softwarového programu STATISTICA 9.

## 5. Výsledky

Zjištěné výsledky byly zaznamenány v následujících tabulkách:

Vysvětlivky:

- experiment I – zelené vzorky
- experiment II – lehce karmínově žíhané vzorky
- experiment III – sytě karmínové vzorky
- varianta 0 – konzervované vzorky
- varianta 1 – čerstvé vzorky

**Tab. 6**

Přehled naměřených absorbancí u vzorků lodyh plevelné řepy při 476,538, 600 nm

EXPERIMENT	VARIANTA	476 nm	538 nm	600 nm	ŘEDĚNO
I	0	0,315	0,11	0,231	
I	0	0,104	0,06	0,037	
I	0	0,258	0,154	0,102	
Průměr:		<b>0,226</b>	<b>0,108</b>	<b>0,124</b>	
I	1	0,534	0,353	0,254	
I	1	0,414	0,266	0,179	
I	1	0,506	0,338	0,246	
Průměr:		<b>0,485</b>	<b>0,319</b>	<b>0,226</b>	
II	0	0,243	0,15	0,092	
II	0	0,211	0,127	0,079	
II	0	0,235	0,12	0,072	
Průměr:		<b>0,23</b>	<b>0,132</b>	<b>0,081</b>	
II	1	0,473	0,292	0,188	
II	1	0,45	0,286	0,182	
II	1	0,435	0,272	0,182	
Průměr:		<b>0,453</b>	<b>0,284</b>	<b>0,184</b>	
III	0	0,642	0,481	0,329	ANO
III	0	0,322	0,219	0,133	
III	0	0,395	0,235	0,145	
Průměr:		<b>0,453</b>	<b>0,312</b>	<b>0,202</b>	
III	1	0,443	0,431	0,198	ANO
III	1	0,558	0,494	0,397	ANO
III	1	0,368	0,398	0,162	ANO
Průměr:		<b>0,456</b>	<b>0,441</b>	<b>0,252</b>	

**Tab. 7**

Přehled vypočítaných hodnot betaninů, vulgaxanthinů a celkové koncentrace betalainů ve vzorcích lodyh plevelné řepy

EXPERIMENT	VARIANTA	x = betaniny (mg/100 ml)	y = vulgaxanthiny (mg/100 ml)	BETALAINY (mg/100 ml)
I	0	0,049	0,088	
I	0	0,022	0,019	
I	0	0,051	0,045	
Průměr:		<b>0,041</b>	<b>0,051</b>	<b>0,092</b>
I	1	0,096	0,077	
I	1	0,085	0,064	
I	1	0,090	0,072	
Průměr:		<b>0,090</b>	<b>0,071</b>	<b>0,161</b>
II	0	0,057	0,040	
II	0	0,047	0,036	
II	0	0,047	0,049	
Průměr:		<b>0,051</b>	<b>0,042</b>	<b>0,093</b>
II	1	0,102	0,077	
II	1	0,102	0,071	
II	1	0,095	0,071	
Průměr:		<b>0,100</b>	<b>0,073</b>	<b>0,173</b>
III	0	0,124	0,058	
III	0	0,084	0,044	
III	0	0,088	0,069	
Průměr:		<b>0,099</b>	<b>0,057</b>	<b>0,156</b>
III	1	0,312	0,072	
III	1	0,189	0,056	
III	1	0,345	0,046	
Průměr:		<b>0,282</b>	<b>0,058</b>	<b>0,340</b>

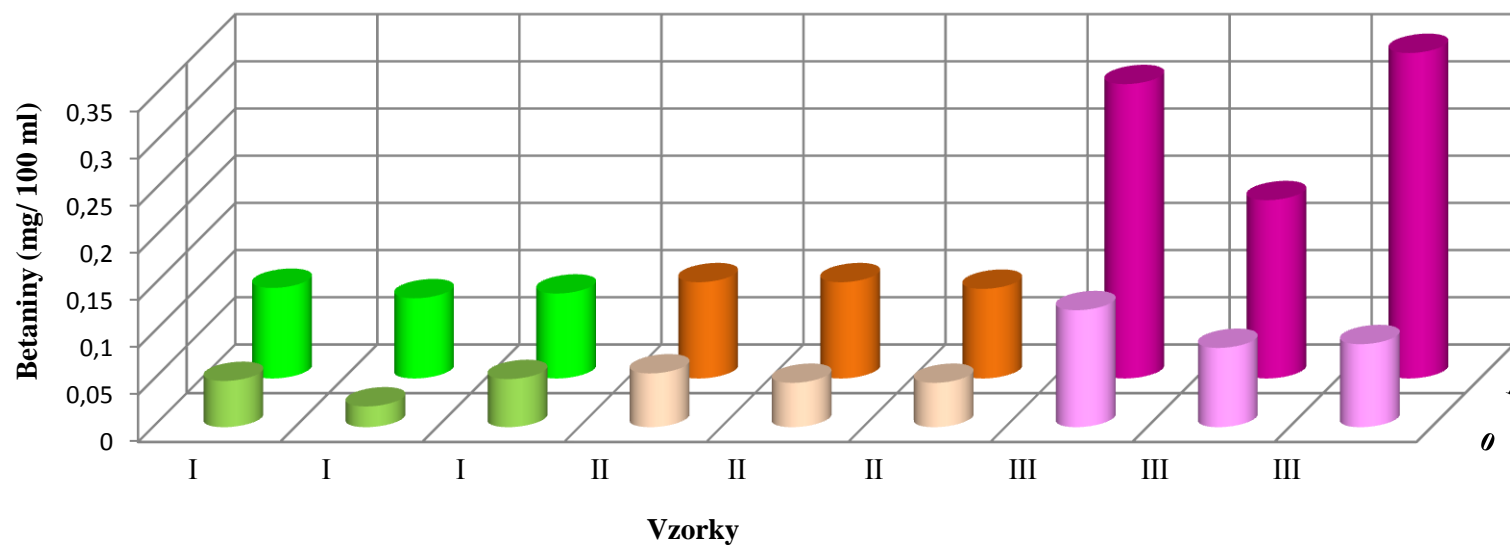
**Tab. 8**

Přehled naměřených absorbancí a vypočtených hodnot betaninů, vulgaxanthinů a celkové koncentrace betalainů u čerstvých vzorků hypokotylů s 2 cm růžice nad hypokotylem

experiment/ varianta	476 nm	538 nm	600 nm	x = betaniny (mg/100 ml)	y = vulgaxanthiny (mg/100 ml)	BETALAINY (mg/100 ml)	
I /1	0,564	0,423	0,312	0,109	0,061		
I /1	0,640	0,498	0,384	0,112	0,064		
I /1	0,680	0,500	0,407	0,091	0,077		
Průměr:		<b>0,628</b>	<b>0,474</b>	<b>0,368</b>	<b>0,104</b>	<b>0,067</b>	<b>0,171</b>
III /1	0,535	0,450	0,268	0,178	0,036		
III /1	0,551	0,467	0,310	0,153	0,036		
III /1	0,517	0,419	0,270	0,146	0,043		
Průměr:		<b>0,534</b>	<b>0,445</b>	<b>0,283</b>	<b>0,159</b>	<b>0,038</b>	<b>0,197</b>

Vysvětlivky: ■ ■ = experiment I ■ ■ = experiment II  
■ ■ = experiment III

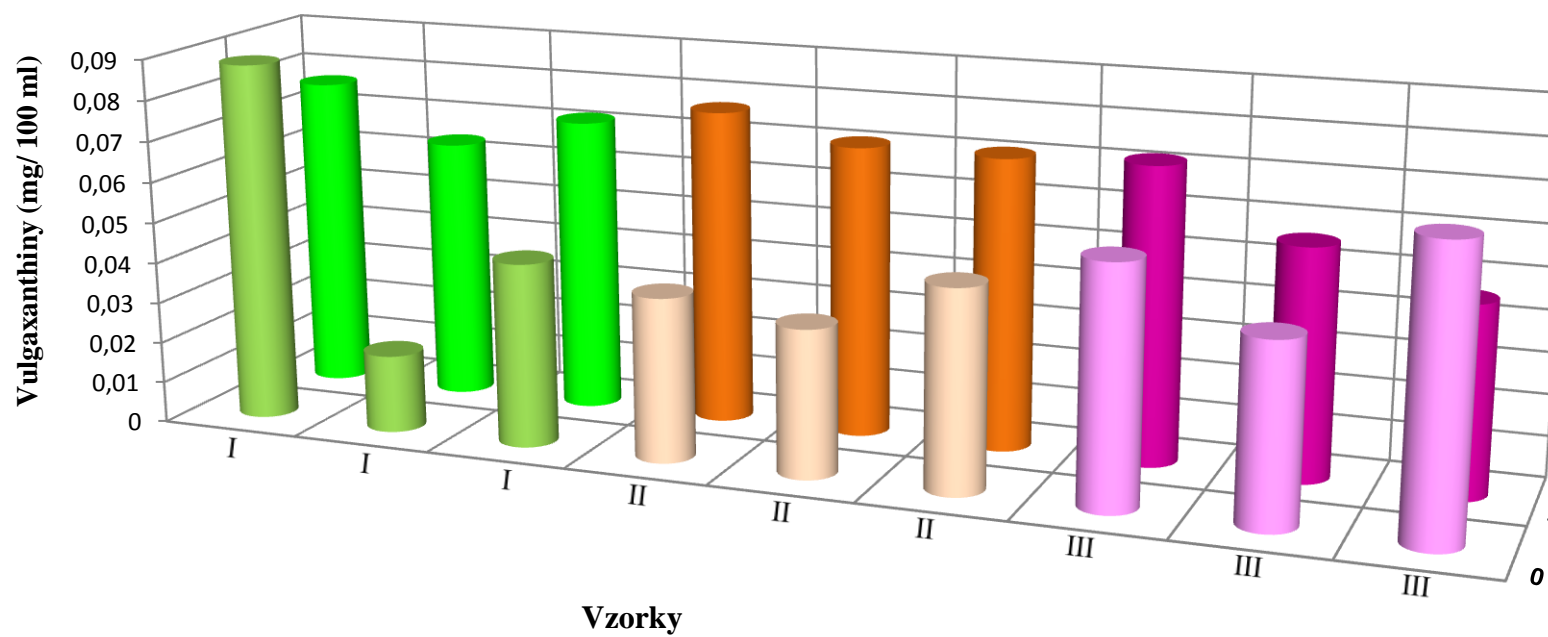
Obr. 9 - Rozdíl obsahu betaninu ve třech sadách u variant 0 a 1











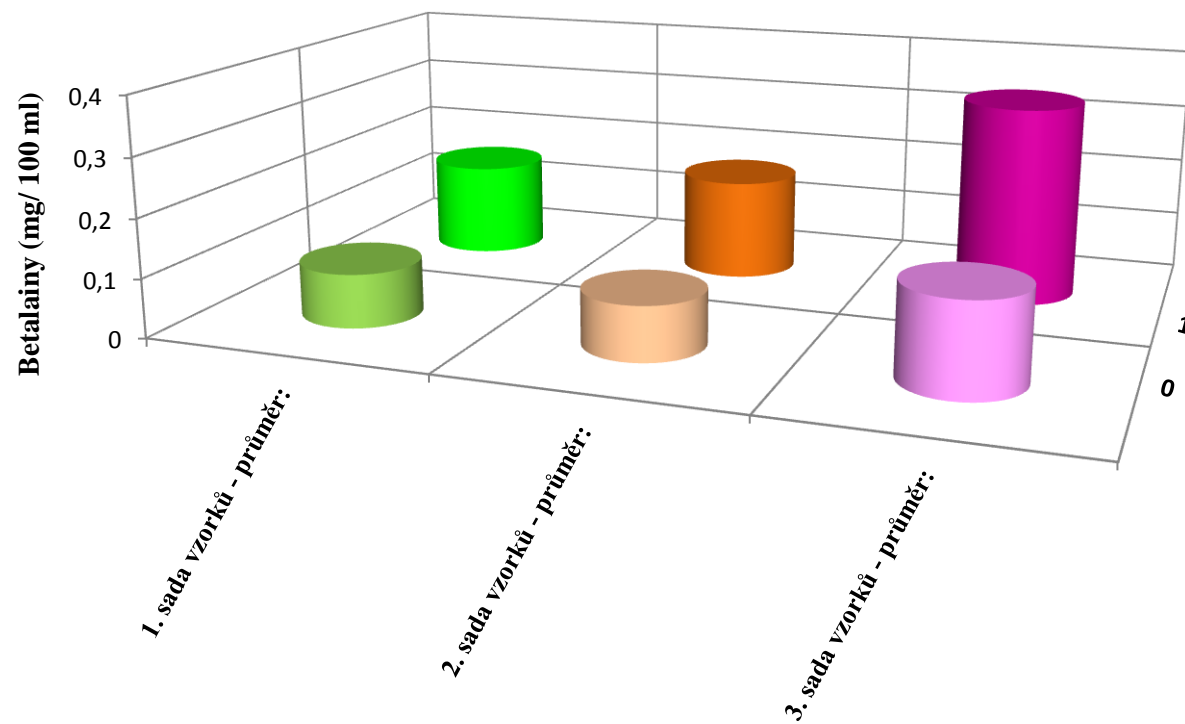
Vysvětlivky: ■ ■ = experiment I ■ ■ = experiment II  
■ ■ = experiment III

**Obr. 10 - Rozdíl obsahu vulgaxanthinu ve třech sadách u variant 0 a 1**



Vysvětlivky:   = experiment I   = experiment II  
  = experiment III

Obr. 11 - Celkový průměrný obsahu betalainů u variant 0 a 1

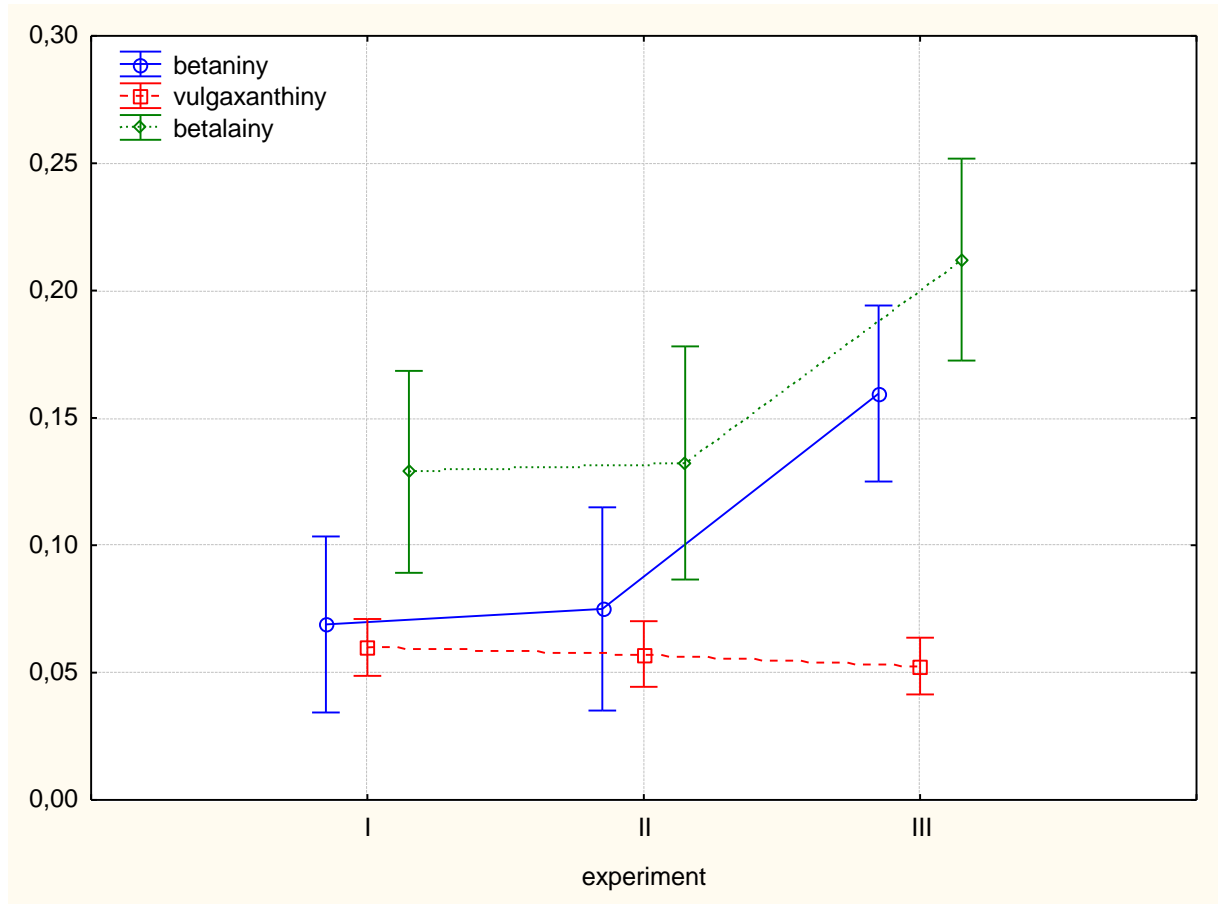


Na základě vyhodnocení získaných měření a výpočtů a ze samotné manipulace s plevelnou řepou lze reprodukovat:

- Naměřená absorbance se liší barevností vzorků, roste ve směru: zelené (experiment I) < lehce karmínově žíhané (experiment II) < sytě karmínové vzorky (experiment III).
- Naměřená absorbance je výrazně vyšší u čerstvých vzorků v porovnání s konzervovanými.
- Obsahy betaninů a vulgaxanthinů a také celkový obsah betalainů jsou diferencovány na základě rozdílné barevnosti vzorků, která opět roste ve směru: zelené (experiment I) < lehce karmínově žíhané (experiment II) < sytě karmínové vzorky (experiment III).
- U čerstvých vzorků je celkový obsah betalainů značně vyšší než u konzervovaných.
- Lze říci, že také rozdíl v koncentracích betaninu (obr. 9) a vulgaxanthinu (obr. 10) mezi čerstvými a konzervovanými vzorky byl patrný.
- Naměřené průměrné hodnoty betalainů u konzervovaných vzorků jsou 0,092 mg/ 100 ml (experiment I), 0,093 mg/ 100 ml (experiment II), 0,156 mg/ 100 ml (experiment III).
- Průměrné hodnoty betalainů u čerstvých vzorků jsou u 0,161mg/ 100 ml (experiment I), 0,173 mg/100 ml (experiment II), 0,340 mg/ 100 ml (experiment III).
- V rámci porovnání mezi konzervovanými a poté i mezi čerstvými vzorky nebyly rozdíly v naměřené absorbanci a obsahu barevných pigmentů tak značné.
- Delší skladování vzorků vede k úbytku barevných pigmentů.
- Lze potvrdit silnou dřevnatost lodyh plevelné řepy, která je velkým problémem při sklizni, kdy dochází k poškozování vyorávacího a ořezávacího zařízení.

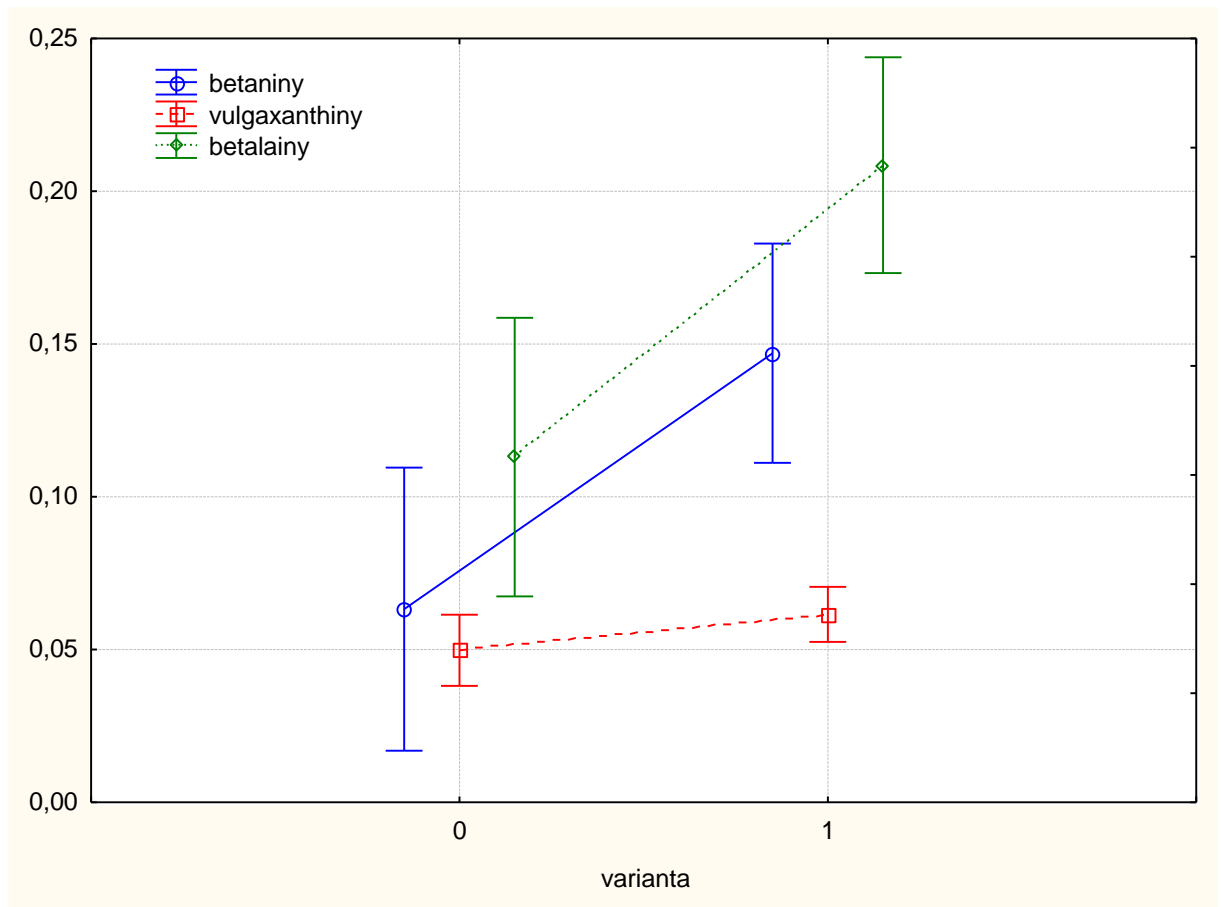
## 5.1 Statistické zhodnocení získaných dat

**Graf 1. - Porovnání hodnot barviv (betaniny, vulgaxanthiny, betalainy) v mg/ 100 ml u experimentu I, II, III**



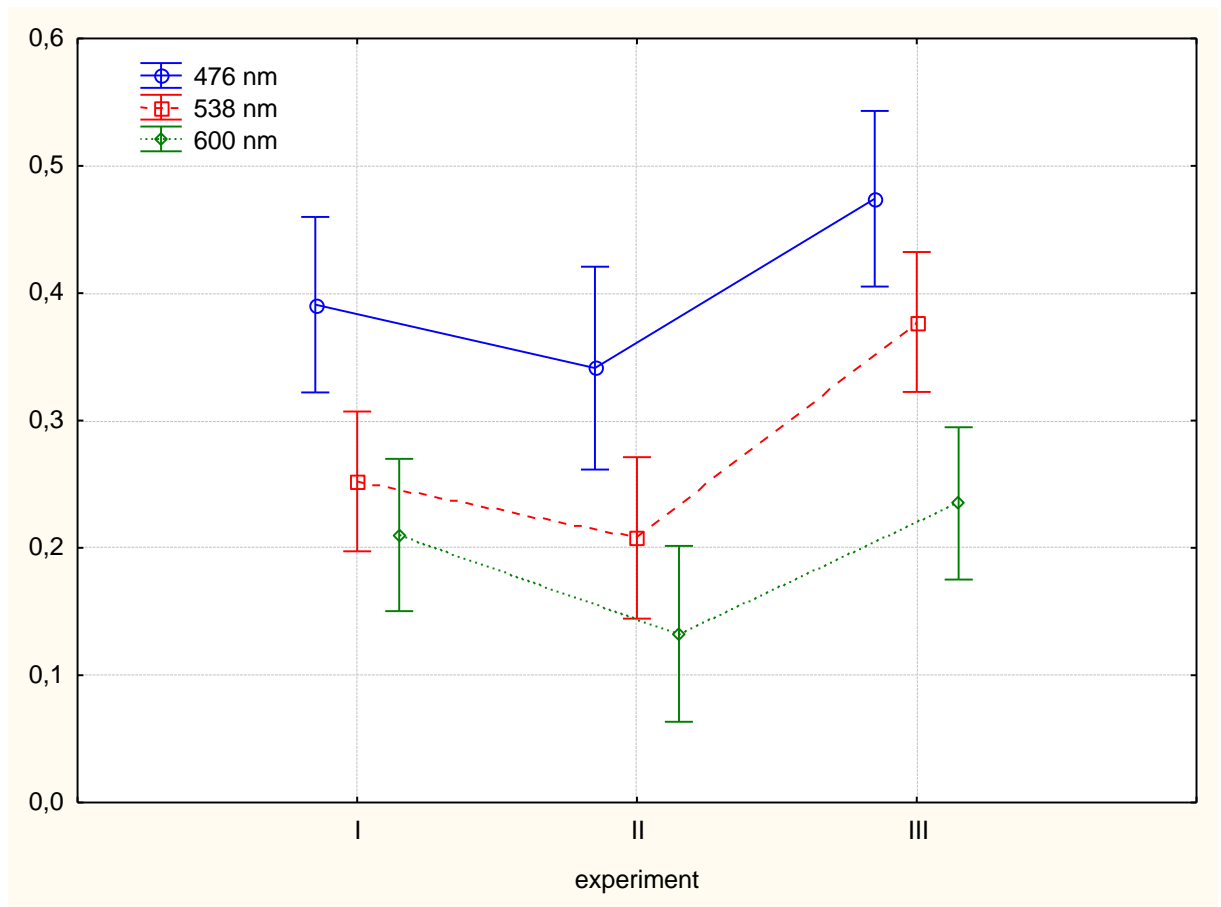
Na základě vyhodnocení získaných dat v programu STATISTICA (softwarová verze 9), byl potvrzen statisticky průkazný rozdíl mezi barvivy betaninem a vulgaxanthinem pouze u experimentu III na hladině významnosti  $\alpha$  (0,05) s 95 % pravděpodobností (p).

**Graf 2. – Porovnání hodnot barviv (betaniny, vulgaxanthiny, betalainy) v mg/ 100 ml u variant 0 a 1**



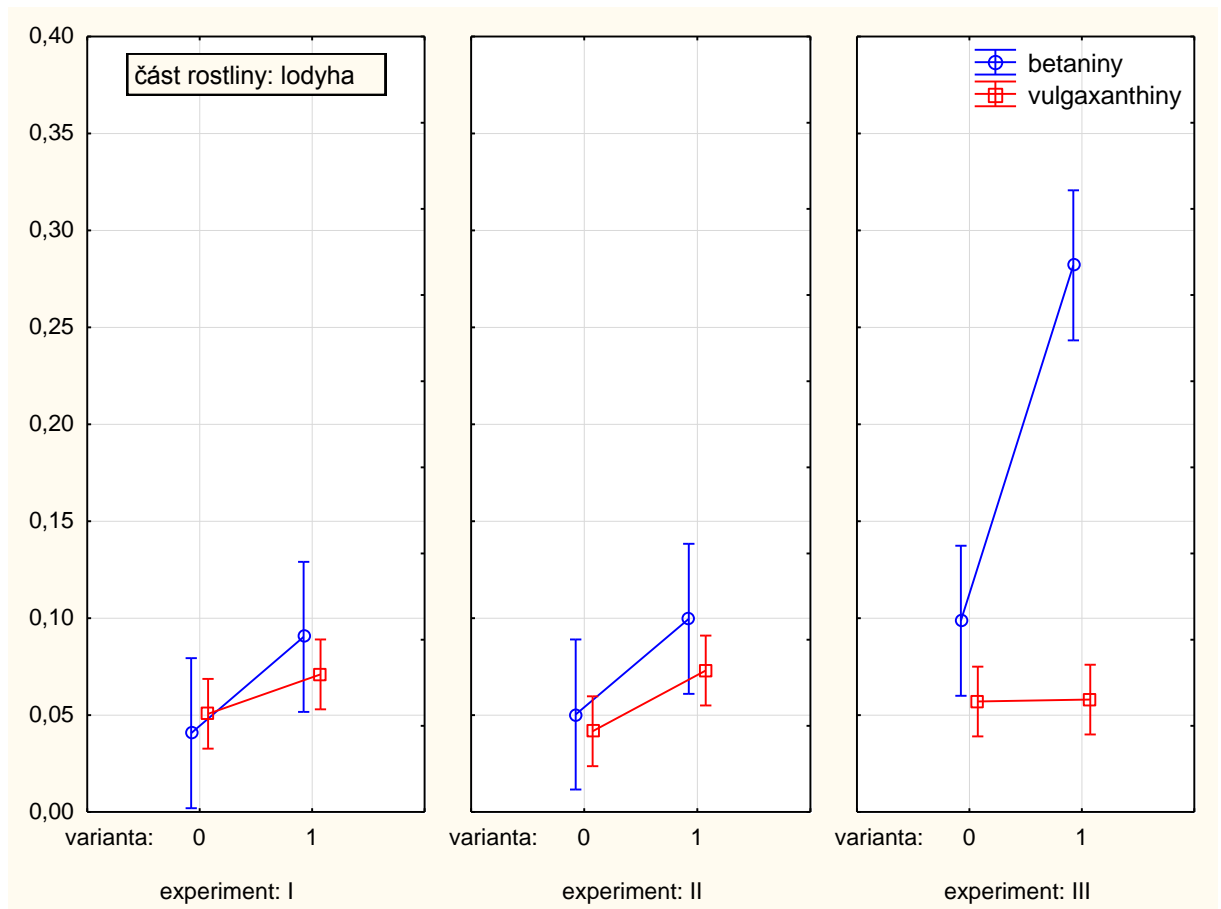
Statistické zhodnocení na hladině významnosti  $\alpha$  (0,05) s 95 % pravděpodobností (p) u variant 0 a 1 v programu STATISTICA (softwarová verze 9) přineslo zjištění, že statisticky průkazný rozdíl u těchto variant vykazuje obsah betaninu. Obsah barviva vulgaxanthinu, jako u předchozího případu, nelze statisticky vyhodnotit. Lze ale reprodukovat, že celkový obsah betalainů mezi variantami 0 a 1 je statisticky průkazný.

**Graf 3. - Porovnání naměřených hodnot absorpance při 476, 538, 600 nm v rámci experimentu I, II, III**



Hodnoty absorpance byly také statisticky hodnocené na hladině významnosti  $\alpha$  (0,05) s 95 % pravděpodobností (p). Statisticky průkazné ve všech případech, tedy u experimentu I, II, III, byly vyhodnoceny hodnoty absorpance u 476 nm a 600 nm.

**Graf 4. – Porovnání obsahu betaninu a vulgaxanthinu v mg/ 100 ml u lodyh plevelné řepy v rámci experimentu I, II, III u variant 0 a 1**



Tento graf doplňuje předchozí zjištění, že statisticky průkazný je pouze experiment III a to právě v obsahu betaninu v mg/ 100 ml.

## 6. Diskuze

Na základě literární rešerše lze odvodit, že problematika plevelné řepy je poměrně komplikovaná a její likvidace v porostu cukrové řepy není stále pro české i zahraniční pěstitele zcela zvládnutá. Proto se také tímto problémem zaobírá již mnoho vědeckých publikací. Jednou z hlavních metod detekce plevelné řepy v porostu cukrovky je časté a charakteristické, i když ne vždy přítomné, načervenalé zbarvení hypokotylů a lodyh. A právě na základě tohoto zjištění byla provedena laboratorní analýza červených pigmentů – betalainů. Jedním z cílů bylo dokázat jejich přítomnost u plevelné řepy jako hlavní determinační znak.

Dle von Elbe (2001) byl vytvořen metodický postup na stanovení těchto pigmentů. A prostřednictvím této metody se zdařilo prokázat určitý obsah betalainů ve vzorcích plevelné řepy dle odlišného zbarvení hypokotylů a lodyh (experimenty I, II, III). Zajímavým zjištěním u experimentu I, kde nebylo patrné žádné červené zbarvení, bylo, že byl také prokázán malý obsah těchto červených pigmentů. Tato skutečnost by mohla být předmětem dalšího zkoumání.

Jak je již v práci výše uvedeno, betalainy jsou součtem barviv – betaninu a vulgaxanthinu, z grafu 1. jsou patrné jen velmi malé rozdíly vulgaxanthinu v rámci všech tří experimentů, proto nelze toto barvivo statisticky vyhodnotit. Betanin má vyšší koncentraci pouze u experimentu III (sytě karmínové vzorky) a lze také v rámci experimentu III dokázat statistickou průkaznost. Statisticky průkazný rozdíl mezi barvivy betaninem a vulgaxanthinem vykazuje pouze experiment III (sytě karmínové vzorky). Fakt, že statisticky průkazný byl pouze experiment III, může být způsobeno tím, že vzorky experimentů I a II nebyly tak barevně odlišné.

Na základě statistického zhodnocení (viz graf 2) u varianty 0 (konzervované vzorky) a varianty 1 (čerstvé vzorky) mohla být potvrzena hypotéza, že existuje průkazný rozdíl mezi čerstvými a konzervovanými vzorky v rámci obsahu betalainů. Jako statisticky průkazný byl zjištěn obsah betaninu v rámci variant 0 a 1, toto zjištění se ovšem nedalo potvrdit u vulgaxanthinu.

Statistickým vyhodnocením prošly také hodnoty absorbance (graf 3). Toto zhodnocení přineslo závěr, že statisticky průkazné ve všech případech, tedy u experimentu I, II, III, byly hodnoty absorbance u 476 nm a 600 nm.



## 6.1 Porovnání výsledků s předchozími a současnými výzkumy

Dle Velíška (2002) má červená řepa průměrný obsah betalainů 0,1 %, na základě této práce lze uvést, že průměrný podíl těchto barviv u plevelné řepy je zastoupen 0,022 %.

Dále Velíšek (2002) zmiňuje, že betanin výrazně dominuje nad žlutými vulgaxanthiny. Dle tab. 7 lze toto tvrzení jednoznačně potvrdit. Průměrný obsah betaninu lze stanovit na 0,112 mg/ 100 ml a průměrný obsah vulgaxanthinu na 0,059 mg/ 100 ml. Větší rozdíl mezi těmito barvivy vykazovaly čerstvé vzorky, zvláště pak čerstvé vzorky karmínové barvy, které nejvíce korespondují se samotnou červenou řepou.

Von Elbe (2001) ve své studii (dle které byla zpracována metodika) zaznamenal úbytek betalainů, pokud vzorky nebyly zpracovány do 24 hodin. Tento poznatek tato práce také potvrzuje. Průměrný obsah barviv u experimentu I byl stanoven 0,092 mg/ 100 ml (pro konzervované) a 0,161 mg/ 100 ml (pro čerstvé). Experiment II také vykazoval patrný rozdíl - 0,093 mg/ 100 ml (pro konzervované) a 0,173 mg/ 100 ml (pro čerstvé). Markantní úbytek pigmentů kvůli konzervaci vykazoval experiment III – 0,156 mg/ 100 ml (pro konzervované) a 0,340 mg/ 100 ml (pro čerstvé).

Studie von Elbe (2001) dále popisuje použití filtračního papíru Whatman č. 1 ke zfiltrování rozmixované řepné tkáně s destilovanou vodou. Tento filtr ovšem nezaznamenal požadovanou propustnost, velmi rychle byl znehodnocen a musel tedy být nahrazen. Dle autora studie je takto získaný extrakt (po filtraci) připraven k proměření na spektrofotometru. Z poznatků při laboratorním stanovení lze uvést, že vzorky po jednom zfiltrování byly z cca 60 % zakalené a k měření absorbance tedy nevhodné. Po poradě s členy katedry chemie na FAPPZ byly tyto vzorky vloženy do odstředivky a poté znovu zfiltrovány přes mikrofiltry. Následně získané vzorky již bylo možné na spektrofotometru proměřit.

Dle shodné metodiky prováděla výzkum betalainů u kulturních druhů řepy (konkrétně u cukrové, červené salátové a krmné řepy) Vlková (v tisku). Mohl být tedy porovnán rozdíl v obsahu betalainů mezi kulturními druhy řepy a plevelnou řepou.

Vlková (v tisku) měřila průměrný obsah betalainů u hypokotylů cukrové řepy (u 4 různých odrůd) s výsledky 0,328 mg/ 100 ml, 0,287 mg/ 100 ml, 0,212 mg/ 100 ml, 0,214 mg/ 100 ml. Průměrný obsah byl tedy stanoven na 0, 260 mg/ 100 ml. Tento výsledek je možný porovnat s průměrným obsahem betalainů u zelených vzorků hypokotylu plevelné řepy (experiment I), který byl vypočten na 0, 171 mg/ 100 ml.

Dále Vlková (v tisku) provedla stanovení obsahu betalainů u hypokotylů červené salátové řepy (u 5 různých odrůd) s výsledky 3,807 mg/ 100 ml, 2,675 mg/ 100 ml, 4,833 mg/ 100 ml,

9,462 mg/ 100 ml, 10,270 mg/ 100 ml. Stanovený průměrný obsah je 6,209 mg/ 100 ml. Tento výsledek byl porovnán s průměrným obsahem u sytě karmínového vzorku hypokotylu plevelné řepy (experiment III) – 0,197 mg/ 100 ml.

Porovnání výsledků jasně poukazuje na vyšší obsah betalainů u kulturních druhů řepy v porovnání s řepou plevelnou.

Další zjišťování obsahu betalainů z upravených vzorků plevelné řepy provedl Šremr (2007). Vzorky připravoval z hypokotylů a řapíků mladých rostlin ve fázi přizemní růžice a také z červeně zbarvených žilek na lodyze a v paždí listů. Množství betalainů ve vzorcích (připravených z hypokotylů a řapíků) uvádí Šremr (2007) v rozmezí 0,151 – 0,377 mg/ 100 ml a obsah barviv u vzorků (připravených jak z hypokotylů, tak z červených žilek na lodyze) se pohyboval v intervalu 0,052 – 0,177 mg/ 100 ml. Tyto výsledky jsou relativně srovnatelné s výsledky uvedené v této práci, i přesto, že vzorky byly odebrány v různé životní fázi rostliny – průměrný obsah betalainů, naměřených u hypokotylů stanoven na 0, 171 mg/ 100 ml a u lodyh 0, 113 mg/ 100 ml.

Czapski et al. (2009) zjišťovali obsah červených a žlutých pigmentů ve šťávě z kořenů červené řepy v rámci porovnávání antioxidační aktivity řepy s ostatními druhy zeleniny. Jejich výsledky ukazují na vysokou antioxidační schopnost (která dle autorů souvisí s množstvím barevných pigmentů) a uvádí naměřené množství červených pigmentů (betaninu) v rozmezí 57 – 163 mg/ 100 ml a množství žlutých pigmentů (vulgaxanthinu) v rozsahu od 31 do 95 mg/ 100 ml.

Pro porovnání: množství betaninu uváděné v této práci u čerstvých vzorků (varianta 1) kolísá mezi 0,085 – 0,345 mg/ 100 ml, u konzervovaných vzorků (varianta 0) je rozmezí nižší a to mezi 0, 022 – 0, 124 mg/ 100 ml.

Obsah vulgaxanthinu je stanoven hranicemi: u čerstvých vzorků se pohybují od 0,064 do 0,077 mg/ 100 ml a u konzervovaných vzorků od 0,019 do 0,069 mg/ 100 ml. Opět je patrný markantní rozdíl mezi vzorky plevelné řepy a vzorky červené řepy.

Z dosažených poznatků s ohledem na problematiku zjišťování obsahu betalainů lze říci, že obsah betalainů je rozdílný v rámci porovnávání plevelné řepy s kulturními druhy řepy (cukrová a červená salátová řepa). Množství betalainů u plevelné řepy jen lehce kolísá dle životní fáze rostliny, v které je odebrána. Zjišťovaný obsah barviv se také může odlišovat dle použité metodiky. Obecně tedy platí, že obsah betalainů je výrazně nižší u plevelné řepy v porovnání s kulturními druhy řepy.

## 7. Závěr

Z předchozích získaných výsledků a zjištění lze uvést následující závěry:

- Na základě vyhodnocení získaných dat v programu STATISTICA (graf 2) a také na základě obr. 11, byla potvrzena hypotéza 1, že obsah barevných pigmentů je vyšší u čerstvých vzorků (varianta 1) v porovnání se vzorky konzervovanými mrazem (varianta 0).
- V rámci zjištěných laboratorních měření (tab. 7) a na základě potvrzené hypotézy 1, lze také potvrdit hypotézu 2, že koncentrace barevných pigmentů obsažených v plevelné řepě, při konzervaci vzorků klesá.
- Obsahy betaninů a vulgaxanthinů a také celkový obsah betalainů jsou diferencovány na základě rozdílné barevnosti vzorků, která roste ve směru: zelené (experiment I) < lehce karmínově žíhané (experiment II) < sytě karmínové vzorky (experiment III).
- Na základě předchozího bodu můžeme potvrdit hypotézu 3, že obsah betalainů roste s intenzitou červeného zbarvení plevelné řepy.
- Při porovnávání množství betalainů u vzorků plevelné řepy (naměřených v této práci) a kulturních druhů řep (hodnoty měřené jinými autory), bylo zjištěno, že plevelná řepa vykazuje výrazně nižší obsah těchto barviv.
- Lze potvrdit silnou dřevnatost lodyh plevelné řepy, která je velkým problémem při sklizni, kdy dochází k poškozování vyorávacího a ořezávacího zařízení.
- K rozpoznání plevelné řepy v řádcích, může sloužit charakteristické červenavé zbarvení u většiny mladých plevelných řep, což je opravdu jedna z hlavních možností detekce plevelných řep.
- Současná kontrola osiva cukrové řepy je velmi důsledná a zdrojem zaplevelení pozemku plevelnou řepou je ve veliké převaze půdní zásoba semen.
- Boj proti plevelné řepě bude účinný pouze tehdy, pokud budou zničeny všechny její rostliny.
- Zatím se zdá být jako jediný dostatečně účinný a spolehlivý způsob boje proti plevelné řepě ruční odstranění rostlin.
- Zanedbání likvidace plevelných řep je do budoucna limitující faktor nejen výnosu, ale samotné možnosti pěstování cukrovky na daném poli!

## 8. Seznam literatury

- Attoe, E. L., von Elbe, J. H. 1981. Photochemical degradation of betanine and selected anthocyanins. *Journal of Food Science*. 46. 1934-1937.
- Attoe, E. L., von Elbe, J. H. 1982. Degradation kinetics of betanine in solution as influence by oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 30. 708-712.
- Azeredo, H. M. C. 2006. Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *International Journal of Food Science and Technology*. 44. 2365-2376.
- Bittner, V., Seed, D. 2001. Nová řešení v likvidaci plevelných řep a vyběhlic. *Listy cukrovarnické a řepářské*. 117 (5-6). 128-129.
- Boudry, P., Mörchen, M., Saumitou-Laprade, P., Vernet, P., Van Dijk, H. 1993. The origin and evolution of weed beets: consequences for the breeding and repase of herbicide-resistant transgenic sugar-beets. *Theoretical and Applied Genetics*. 87. 471-478.
- Czapski, J., Mikolajczyk, K., Kaczmarek, M. 2009. Relationship between antioxidant capacity of red beet juice and contents of its betalainů pigments. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 59 (2). 119-122.
- Downham, A., Collins, P. 2000. Colouring our fous in the last and next milenium. *International Journal of Food Science and Technology*. 35. 5-22.
- Froněk, D., Trnková, J., Hanák, J., Divišová, E. 2012. Situační a výhledová zpráva cukr a cukrová řepa. Ministerstvo zemědělství. Praha. 38 s. ISBN: 9788074340444.
- Gentile, C., Tesoriere, L., Allegra, M., Livrea, M. A., D'Alessis, P. 2004. Antioxidant betalains from cactus pear (*Opuntia ficus – indica*) inhibic endothelial ICAM-1 expression. *Signal Transduction and Communication in Cancer Cells*. 1028. 481-486.
- Hnilička, R., Pulkrábek, J. 2008. Porovnání fotosyntetické aktivity plevelných a kulturních řep. *Listy cukrovarnické a řepářské*. 124 (12). 335-337.
- Huang, A. S., von Elbe, J. H. 1985. Kinetics of the degradation and regeneration of betanine. *Journal of Food Science*. 50. 1115-1120.
- Champion, G. 2000. The biology of weed beet. *British sugar beet review*. 68 (2). 53-55.
- Chochola, J. Průvodce pěstováním cukrové řepy [online]. Semčice. 2010. [cit. 2013-02-21]. Dostupné z < <http://www.semce.cz/Pruvodce.pdf>>
- Jackman, R. L., Smith, J. L. 1996. Anthocyanins and betalains. *Blackie Academic & Professional*. 244-309.
- Kanner, J., Harel, S. & Granit, R. 2001. Betalains – a new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49. 5178-5185.
- Kapadia, G. J., Azuine, M. A., Sridhar, R. 2003. Chemoprevention of DMBA – induced UV – B promoted, NOR – 1 – induced TPA promoted skin carcinogenesis, and DEN – induced fenobarbital promoted liver tumors in mice by extract of beetroot. *Pharmacological Research*. 47. 141-148.
- Kapadia, G. J., Tokuda, H., Konoshima, T. & Nishino, H. 1996. Chemoprevention of lung and skin cancer by Beta vulgaris (beet) root extract. *Cancer Letters*. 100. 211-214.

- Konečný, I. 2001. Plevelná řepa – stále aktuální problém. Rostlinolékař. 12 (2). 20-24.
- Kozáková, S. 2012. Hmotnostní spektrometrie betalainových barviv. Diplomová práce. Univerzita Palackého v Olomouci. Fakulta přírodovědecká. Olomouc. 51 s.
- Krouský, J. 2001. Plevelná řepa, staronový nepřítel. Listy cukrovarnické a řepářské. 117 (9-10). 208-210.
- Landová, M., Soukup, J., Hamouzová, K., Holec, J., Kolářová, M. 2010. Výskyt plevelné řepy v České republice a faktory ovlivňující její šíření. Listy cukrovarnické a řepářské. 126 (12). 436-441.
- Leathers, R. R., Davin, C., Zryd, J. P. 1992. Betalain producing cell cultures of *Beta vulgaris* L. Var. Bikores Monogerm (red beet). In vitro Cellular & Development Biology. 28. 39-45.
- Lee, C. H., Wettasinghe, M., Bolling, B. W., Ji, L. L., Parkin, K. L. 2005. Betalains, phase – II enzyme – inducing components from red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts. Nutrition and Cancer. 53. 91-103.
- Longden, P. C. 1982. Understanding how to kontrol weed beet in sugar beet. In: Proceedings British Crop Protection Society – Weeds, Brighton, UK. 55-60.
- Maughan, G. L. 1984. Survey of weed beet in sugar beet in England 1978-81. Crop protection. 3. 315 -325.
- Novák, F. A. 1943. Systematická botanika, svazek IX. J. R. Vilímek. Praha. 1046 s.
- Nováková, K. 2007. Studium biologie plevelné řepy s přihlédnutím k zavádění transgenních odrůd cukrovky. Disertační práce. Česká zemědělská univerzita. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Praha. 130 s.
- Prugar, J. 2008. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s. Praha. 327 s. ISBN: 9788086576282.
- Pulkrábek, J. Metodika pěstování cukrovky [online]. Praha. 2001. [cit. 2013-02-04]. Dostupné z [http://www.agrokrom.cz/texty/metodiky/Cukrovka/metodika\\_cukrovky\\_Pulkrabek/metod\\_cukrovka.pdf](http://www.agrokrom.cz/texty/metodiky/Cukrovka/metodika_cukrovky_Pulkrabek/metod_cukrovka.pdf)
- Pulkrábek, J., Urban, J., Bečková, L., Valenta, J. 2007. Řepa cukrová – Pěstitelský rádce. Kurent, s.r.o. Praha. 64 s. ISBN: 9788087111000.
- Saguy, I., Kopelman, I. J., Mizrahi, S. 1978. Thermal kinetic degradation of betanin and betalamic acid. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 26. 360-362.
- Sester, M., Delanoy, M., Colbach, N., Darmency, H. 2004. Crop and density effect on weed beet growth and production. Weed res. 44. 50-59.
- Sester, M., Dürr, C., Darmency, H., Colbach, N. 2006. Evolution of weed beet (*Beta vulgaris* L.) seed bank: Quantification of seed survival, dormancy, germination and pre-emergence growth. European Journal of Agronomy. 24. 19-25.
- Skalický, M., Pulkrábek, J. 2006. Možnosti regulace plevelné řepy. Sborník z konference „Úspěšné plodiny pro velký trh“ - Cukrovka a ječmen“. 112-113.
- Skalický, M., Pulkrábek, J., Hejnák, V. 2008. Charakteristika plevelné řepy a regulace šíření. Úroda. 56 (8). 33-35.

- Soukup, J., Holec, J., Vejl, P., Skupinová, S., Sedlák, P. 2002. Diversity and distribution of weed beet in the Czech republic. *Journal of plant Diseases and Protection*. Special Issue. 67-74.
- Stehlík, V. 1982. *Biologie druhů, variet a forem řep rodu Beta L. se zřetelem k novodobé socialistické velkovýrobě*. Academia. Praha. 448 s.
- Šremr, L. 2007. Detekce plevelné řepy s využitím spektrofotometrického stanovení obsahu antokyanů. *Bakalářská práce*. Česká zemědělská univerzita. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Praha. 40 s.
- Tesoriere, L., Butera, D., Arpa, D. 2002. Increased Resistance to Oxidation of Betalain - enriched Human Low Density Lipoproteins. *Free Radical Research*. 37 (6). 689–696.
- Tesoriere, L., Butera, L., Allegra, M., Fazzari, M., Livrea, M. A. 2005. Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53. 1266-1270.
- Vášová, Z. 1995. Plevelná řepa v cukrovce. *Úroda*. 43 (7). 36-37
- Velíšek, J. 2002. *Chemie potravin 3*. Osis. Tábor. 343 s. ISBN: 8086659023.
- Vlková, S. 2013. *Betalainy – charakteristika, hodnocení a metody stanovení u vybraných zástupců rodu Beta L*. Diplomová práce. Česká zemědělská univerzita. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Praha. (v tisku).
- Vodrážka, Z. 2002. *Biochemie*. Academia. Praha. 192 s. ISBN: 8020004386.
- Von Elbe, J. H. 2001. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* [online]. Wisconsin. [cit. 2. Dubna 2012]. Dostupné z <<http://www.nshvn.org/ebook/molbio/Current%20Protocols/CPFAC/faf0301.pdf>> .
- Vostrovský, V., Štůsek, J. 2011. Geografická analýza výskytu plevelné řepy. *Listy cukrovarnické a řepařské*. 127 (3). 100-103.
- Weishaupt, F. 1994. Nepodceňujme plevelnou řepu. *Listy cukrovarnické a řepařské*. 110 (6). 154-155.
- Zahradníček, J., Holec, J., Soukup, J., Příbyl, P. 2005. Plevelná řepa se dál zákeřně šíří. *Zemědělec*. 13 (32). 14-15.
- Zahradníček, J., Kožnarová, V., Holec, J., Kotyk, A., Pour, V. 2008. Pozor na vyběhlice a plevelnou řepu. *Farmář*. 14 (11). 26-28.