

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



**Vliv stresu suchem/vlhkém na obsah glykoalkaloidů hlíz
brambor (*Solanum tuberosum* L.)**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Vendula Tomčová

Obor studia: Kvalita a zpracování zemědělských produktů

Vedoucí práce: Ing. Matyáš Orsák, Ph.D.

© 2019 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv stresu suchem/vlhkem na obsah glykoalkaloidů hlíz brambor (*Solanum tuberosum* L.)" 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 _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala panu Ing. Matyáši Orsákovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a vstřícnost během vzniku této diplomové práce. Velmi děkuji také konzultantce paní Ing. Zoře Kotíkové, Ph.D. za pomoc při analýze vzorků. Za metodická doporučení během zpracování výsledků děkuji panu Ing. Janu Kubovi.

Vliv stresu suchem/vlhkem na obsah glykoalkaloidů hlíz brambor (*Solanum tuberosum* L.)

Souhrn

Brambory jsou třetí nejvíce pěstovanou plodinou na světě. Jejich nutriční složení přispívá k výživě obyvatel celého světa. V mnoha rozvojových zemích jsou primární součástí obživy i příjmů. Jsou ceněny pro svůj obsah vitamínu C, draslíku i proteinů. Nelze zanedbat také jejich význam v průmyslové výrobě krmiv, škrobu nebo alkoholu. Tato diplomová práce je zaměřena na antinutriční látky obsažené v rostlinách brambor, které nazýváme glykoalkaloidy. Tyto látky jsou pro člověka toxické a jejich obsah v hlízách nesmí překročit hladinu 200 mg/kg. Stanoveny byly metodou LC-MS u čtyř odlišných odrůd (Laura, Milva, Marabel a Valfi) pěstovaných ve skleníku v letech 2017 a 2018 za řízených podmínek vodního stresu (sucho, vlhko, kontrola). Analýza výsledků práce potvrdila hypotézu, dle které odrůdy brambor obsahují rozdílná množství glykoalkaloidů a tento obsah je geneticky podmíněn. Zaznamenaný rozdíl v obsahu α -solaninu mezi vybranými odrůdami dosáhl až 44 %, rozdíl v obsahu α -chaconinu až 35 %. Druhou stanovenou hypotézu, podle níž vodní stres suchem či přemokřením mění obsah glykoalkaloidů, přičemž odrůdy reagují na stres odlišným způsobem, nebylo možné potvrdit. Přesto v rámci grafického zpracování výsledků bylo možné pozorovat trend zvýšení nebo snížení obsahu glykoalkaloidů v závislosti na suchu nebo přemokření. U vybraných odrůd v roce 2017 byl za působení sucha zaznamenán nárůst obsahu oproti kontrole až o 50 % pro α -solanin a o 35 % pro α -chaconin. Největší zaznamenaný pokles v obsahu glykoalkaloidů v důsledku zamokření oproti kontrole byl o 52 % pro α -solanin a o 40 % pro α -chaconin.

Klíčová slova: α -solanin, α -chaconin, *Solanum tuberosum* L., LC-MS/MS, stres suchem

Effects of drought/water stress on glycoalkaloids content in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.)

Summary

Potatoes are the third most cultivated crop in the world. Their nutritional composition contributes to the diets of people around the world. In many developing countries, they are the primary component both of nutrition and income. Potato is valued for its vitamin C, potassium and protein content. The importance in industrial feed, starch and alcohol production is rather notable as well. This diploma thesis focuses on antinutritional substances contained in potato plants that we call glycoalkaloids. These substances are toxic to humans and their content in potato tubers must not exceed 200 mg/kg FW. These glycoalkaloids were determined using LC-MS method in four different potato varieties (Laura, Milva, Marabel and Valfi). The samples were grown in the greenhouse in 2017 and 2018 under controlled conditions with water stress (drought, excessive waterlogging, control). The analysis of the results confirmed the hypothesis according to which potato varieties contain different amounts of glycoalkaloids and this content is genetically determined. The observed difference in α -solanine content among the selected varieties reached up to 44 %, the difference in α -chaconine content went up to 35 %. The second hypothesis, according to which water stress by drought or excessive waterlogging changes the content of glycoalkaloids, while the varieties respond to stress in different ways, could not be confirmed. However, rising and falling trends in the glycoalkaloid content depending on drought or excessive waterlogging are apparent from the visualisations of results. Within the group of 2017 there was an increase of 50 % for α -solanine and 35 % for α -chaconine under drought in selected varieties. The most dramatic recorded decrease in glycoalkaloid content due to waterlogging in comparison to the control was 52 % for α -solanine and 40 % for α -chaconine.

Keywords: α -solanine, α -chaconine, *Solanum tuberosum* L., LC-MS/MS, drought stress

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Cíle práce	2
3	Literární rešerše.....	3
3.1	Obecná charakteristika brambor	3
3.2	Význam a využití brambor.....	4
3.2.1	Sortiment odrůd	4
3.2.1.1	Odrůdy stolní	4
3.2.1.2	Odrůdy průmyslové	4
3.3	Chemické složení hlíz brambor.....	5
3.3.1	Škrob.....	5
3.3.2	Proteiny	6
3.3.3	Lipidy.....	6
3.3.4	Vitaminy	7
3.3.5	Minerální látky.....	7
3.3.6	Monosacharidy.....	8
3.3.7	Barviva.....	8
3.4	Glykoalkaloidy.....	9
3.4.1	Chemická struktura	9
3.4.2	Biosyntéza glykoalkaloidů.....	10
3.4.3	Význam pro člověka	11
3.4.4	Účinky na člověka	12
3.5	Stres suchem.....	13
3.5.1	Stres suchem u brambor.....	13
3.5.2	Vliv sucha na obsah glykoalkaloidů	14
4	Praktická část	16

4.1	Materiál a metody	16
4.1.1	Odrůdy brambor.....	16
4.1.2	Popis podmínek pěstování	18
4.1.3	Příprava vzorků.....	19
4.1.4	Analýza vzorků	20
5	Výsledky	22
6	Diskuze.....	34
7	Závěr	38
8	Literatura.....	39

1 Úvod

V průběhu posledních několika staletí se brambory staly mimořádně významnou součástí jídelníčku světové populace. Coby jedna z nejčastěji konzumovaných plodin jsou přirozeně častým předmětem zájmu výzkumníků. Význam brambor však přesahuje oblast výživy. Jejich využití je mnohem širší a zahrnuje výrobu hospodářských krmiv, škrobu pro různá odvětví či alkoholu. Specifická využití této plodiny kladou nároky na poznávání jejich vlastností i ovlivňování ve prospěch daných odvětví.

Sucho již dnes představuje limitující faktor pro pěstování plodin v mnoha regionech po celém světě. Dostupnost vody pro zemědělství se stává stále vzácnější díky nedostatečným srážkám, vysokému obsahu solí v půdním roztoku a také upřednostnění měst a industrializace ve využití vodních zdrojů. Klimatický model navíc předpovídá, že oteplování přinese nárůst sucha v důsledku zvýšeného odpařování vody ze zemského povrchu do atmosféry (Obidiegwu et al, 2015). Nedostatek závlahy představuje omezení růstu, vývoje a především výnosu nejen pro brambory, ale pro všechny pěstované plodiny.

Práce se skládá ze dvou stěžejních částí. První z nich je literární přehled rozdělený do pěti kapitol, k jehož vypracování byly použity poznatky především ze zahraniční literatury z posledních několika let. První kapitola obsahuje stručný popis historie a morfologie brambor. Druhá kapitola se zaměřuje na seznámení s významem a využitím této plodiny. Kapitola třetí rozebírá chemické složení hlíz brambor. Dále navazuje zásadní kapitola popisující glykoalkaloidy, jejich strukturu, význam a účinky. Následuje šestá, závěrečná kapitola, která se věnuje stresu suchem. V druhé, experimentální části práce, bylo cílem stanovit a porovnat obsah glykoalkaloidů v hlízách jednotlivých odrůd brambor, přičemž byla stanovena hypotéza, že obsah glykoalkaloidů se mění při působení sucha či přemokření, přičemž jednotlivé odrůdy reagují na stres odlišně.

2 Cíle práce

- 1) studiem literatury zajistit dostatek podkladů pro vypracování literární rešerše na téma stresu suchem u brambor
- 2) stanovit obsahy glykoalkaloidů v hlízách brambor pěstovaných za řízených podmínek vodního stresu (sucho, vlhko)

Hypotézy

- 1) odrůdy brambor obsahují rozdílná množství glykoalkaloidů a tento obsah je geneticky podmíněn
- 2) vodní stres suchem či přemokřením mění obsah glykoalkaloidů, přičemž odrůdy reagují na stres odlišným způsobem
- 3) technika LC-MS je vhodná pro stanovení různých glykoalkaloidů v hlízách brambor

3 Literární rešerše

3.1 Obecná charakteristika brambor

Brambory jsou jednou z nejdůležitějších pěstovaných plodin mimo obilniny. Konkrétně třetí nejvíce pěstovanou plodinou po rýži a pšenici. Jejich světová produkce za rok 2016 dosáhla 330 milionů tun. Pro rozvojové země, ve kterých populace každý rok narůstá, představují brambory hlavní zdroj potravy a příjmů (Raymundo et al., 2018).

Brambory mají svůj původ v Andách Peru a Bolívie, kde před tisíciletími začala jejich domestikace a odkud se rychle rozšířily do Kolumbie, Ekvádoru a Chile. Do Evropy se brambory dostaly s největší pravděpodobností v podobě poddruhu *Solanum andigena* přes Španělsko - poprvé v roce 1570 a odtud byly vzorky poslány do Vídně, Itálie a později dalších zemí jako botanická zajímavost. V 16. století byly přivezeny do Anglie a odtud se šířily do britských kolonií (Levy et Rabinowitch, 2017).

Druh *Solanum tuberosum* L. (lilek brambor) řadíme do čeledi lilkovitých (*Solanaceae* Pers), rodu lilek (*Solanum* Tourn), do kterého spadá dalších 2000 druhů. Odrůda představuje nejnižší systematickou jednotku a charakterizujeme ji jako klon, který vzniká vegetativním množením (Hruška et al., 1974).

Vegetativní množení hlíz převládá ve způsobu pěstování kulturních brambor u nás i ve světě. Další možností je generativní množení, které má význam především při šlechtění nových odrůd brambor. Vegetativní množení v pěstitelské praxi zajišťuje zachování stále stejných vlastností, neboť se jedná o množení stále stejné rostliny. Při generativním množení začínáme život nové odrůdy (Vokál et al., 2000).

Morfologické části bramboru lze rozdělit na dvě skupiny. První část, nazvanou nadzemní, tvoří stonek, list, květenství a květ a plod. Druhou část, zvanou podzemní, pak tvoří kořeny, podzemní stonek a stolon a hlíza (Hruška et al., 1974).

3.2 Význam a využití brambor

Brambory jsou nepostradatelnou součástí našeho jídelníčku, ať už konzumujeme brambory samotné nebo formou výrobků z nich. V roce 2016 činila spotřeba brambor na obyvatele ČR 69,1 kg (ČSÚ, 2016) a za posledních deset let se nijak razantně nemění.

Mimo lidskou výživu jsou brambory dále velmi podstatnou surovinou pro výrobu krmiv pro hospodářská zvířata a také důležitou průmyslovou surovinou pro výrobu škrobu nebo alkoholu (Romano et al., 2018).

Výsledkem mnohaletého pěstování a šlechtění je existence více než 4000 různých odrůd brambor po celém světě. Každá z nich se liší tvarem, velikostí, barvou, chutí a v neposlední řadě nutričním obsahem - především podle něj se rozhoduje o budoucím použití dané odrůdy. Například pro zpracování brambor v podobě pečení, smažení nebo k výrobě kaše jsou vhodné odrůdy s obsahem škrobu alespoň 13 %. Stejná odrůda však může být zcela nevhodná pro výrobu salátů, proto řadíme odrůdy brambor do příslušných kategorií, díky kterým se v široké škále využití a účelů odrůd může lépe orientovat spotřebitel i pěstitel (Bond, 2014).

3.2.1 Sortiment odrůd

Existuje několik způsobů, podle kterých lze brambory třídit. Jedním z nich je rozdělení dle délky vegetační doby na odrůdy velmi rané, rané, polorané, polopozdní až pozdní. Druhým z nich je rozdělení podle způsobu využití na odrůdy stolní a průmyslové (Hruška et al., 1974).

3.2.1.1 Odrůdy stolní

U stolních odrůd brambor se zaměřujeme na několik odrůdových znaků. Nejvýznamnějším z nich je tzv. stolní hodnota, která popisuje zejména sensorické vlastnosti hlízy: konzistenci, strukturu, změnu barvy, moučnatost nebo vlhkost. Dalším významným znakem je varný typ, který předurčuje použití dané odrůdy. Varný typ A je ideální pro přípravu salátů a příloh. Varný typ B pak pro přípravu jídel všeho druhu, obecně bramborám tohoto typu říkáme přílohové. Varný typ C je dobrý na přípravu těst a kaší. Mezi další odrůdové znaky můžeme zařadit odolnost vůči mechanickému poškození nebo také odolnost vůči nemocem a škůdcům (Vokál et al., 2003).

3.2.1.2 Odrůdy průmyslové

Pěstitelé průmyslových odrůd se zajímají mimo odolnost proti škůdcům a nemocem ještě o další, pro průmyslové využití brambor důležitější znaky, mezi které patří zejména škrobnatost. S ohledem na vysoký obsah škrobu se dále zaměřují na vegetační období, které by

mělo být kratší z pohledu zpracovatele, zároveň však velmi rané odrůdy obecně nemají příliš vysoký obsah škrobu (Vokál et al., 2003).

3.3 Chemické složení hlíz brambor

Bramborová hlíza je pro člověka nejdůležitější částí rostliny. Představuje dobře stravitelný zdroj sacharidů, vitamínů, jako například vitamín C nebo B6, minerálních látek, jako je draslík a fosfor, ale i proteinů. Brambory jsou základem nejen ve výživě, ale představují také důležitou průmyslovou surovinu, například při výrobě škrobu (Ramadan, 2016).

Obsah bramborových hlíz je nejčastěji tvořen z 80 % vodou, zbývajících 20 % tvoří sušina. Tento obsah, podobně jako řada dalších vlastností brambor, je závislý na odrůdě. Existují barevné druhy brambor, které mohou mít obsah sušiny pouze kolem 9 % (Navarre et al., 2016).

3.3.1 Škrob

Škrob představuje nejvíce zastoupenou složku, jeho celkový obsah tvoří 15 - 20 % hmotnosti hlízy. Díky vlastnostem bramborového škrobu (mezi které patří poměrně vysoká čistota ve srovnání se škroby obilnin, velká a hladká škrobová zrna nebo například dlouhé amylopektinové řetězce) jsou brambory oblíbenou surovinou pro průmyslové zpracování. Škrobová zrna jsou velká v průměru 10-100 μm , tvoří je dva polysacharidy sestávající výhradně z monomerů glukózy. Více zastoupeným polymerem škrobu je amylopektin, který tvoří bohatě rozvětvené řetězce. Bramborový škrob je jím tvořen až z 80 %, zbývajících 20 % je zastoupeno amylózou, jejíž molekuly jsou lineární (Bertoft et Blennow, 2009).

V hlízách se nachází několik typů škrobu podle stravitelnosti - rychle přístupný škrob a tzv. rezistentní škrob. Obecně lze říci, že čím je vyšší obsah amylózy ve škrobu, tím je stravitelnost pomalejší (Navarre et al., 2016). Zatímco škrob brambor je pro člověka stravitelný po tepelné úpravě hlíz, rezistentní škrob není štěpen amylázami a nestrávený prochází až do tlustého střeva, kde představuje výživu pro střevní mikroorganismy. Zvyšuje tak obsah vlákniny hlíz brambor. Díky tvorbě máselnanů v tlustém střevě také podporuje látkovou výměnu střevních buněk, čímž napomáhá odumírání buněk nádorových (Vokál et al., 2003).

3.3.2 Proteiny

Bílkoviny v bramborových hlízách vynikají celou řadou pozitivních vlastností. Především jsou složeny z esenciálních aminokyselin threoninu, lysinu, tryptofanu a methioninu, které se často v rostlinných bílkovinách nevyskytují. Jejich obsah v hlízách se pohybuje kolem 1,7 %, což není mnoho, přesto jsou druhým největším producentem proteinů na hektar, hned po pšenici (Karboune et Waglay, 2016).

Rozpustné proteiny přítomné v bramborových hlízách se rozdělují do tří skupin. Nejvíce zastoupeny jsou inhibitory proteázy, dále zde nalezneme patatiny a poslední skupinou jsou ostatní proteiny jako např. enzymy podílející se na syntéze škrobu (Alting et al., 2011).

Patatin se vyznačuje nízkou stabilitou k pH a denaturuje už při 60 °C. Vykazuje aktivitu lipidové acylhydrolázy (EC 3.1.1.3), která je kritická pro jeho funkční vlastnosti a naznačuje, že patatin se účastní obranných mechanismů (Alting et al., 2011).

Inhibitory proteázy se obecně nachází v mnoha hlízách i semenech. Jsou považovány za zásobní proteiny a také za dobrý zdroj sirných aminokyselin. V hlízách brambor se mohou účastnit obranných mechanismů nebo kontrolovat endogenní proteiny. Jedná se o velmi heterogenní skupinu proteinů, která se dále dělí do sedmi podskupin podle specifických vlastností a také podle toho, který enzym inhibují (Alting et al., 2011).

Podle Navarre et al. (2014) jsou inhibitory proteázy rozpustné bílkoviny, jejichž hlavní funkcí v rostlině je obrana proti hmyzu a drobným škůdcům, nicméně po uvaření hlízy jsou dobrým zdrojem bílkovin pro člověka.

3.3.3 Lipidy

Lipidy jsou v hlíze obsaženy v množství od 0,1 do 0,5 % čerstvé váhy. Převážnou část lipidů tvoří fosfolipidy, které zastupují asi 47 % ze všech přítomných lipidů v hlíze. Dále zde najdeme také glykolipidy a neutrální lipidy. Lipidy izolované z brambor obsahují velké množství nenasycených mastných kyselin - olejové, linolové a linolenové, ty jsou významné z hlediska výživy člověka. Jejich obsah v hlízách je však tak nízký, že příjem těchto cenných látek z hlíz je zanedbatelný (Ramadan, 2016).

3.3.4 Vitaminy

Nejvíce obsaženým vitamínem v hlízách brambor je vitamin C nebo také askorbová kyselina. Konzumace 200 g vařených brambor dokáže pokrýt 47 % denního příjmu vitaminu C (Skrabule, 2013). Vitamin C je kofaktorem mnoha enzymů, je významným antioxidantem - má nezastupitelnou úlohu v ochraně organismu před reaktivními formami kyslíku (Navarre et al., 2016).

Hlízy brambor dokážou vitamin C nejen syntetizovat, ale navíc i kumulovat jeho obsah transportovaný z listů a stonku. Vysoký obsah vitaminu C v hlízách navíc může zvýšit absorpci železa, jehož nedostatek je celosvětovým problémem (Navarre et al., 2019).

V hlízách brambor je přítomno několik dalších, pro organismus významných vitaminů, které řadíme do skupiny B vitaminů: thiamin (vitamin B1), riboflavin (B2), niacin nebo niacinamid (B3), pantotenová kyselina (B5), pyridoxin (B6) a listová kyselina (B9) (Navarre et al., 2014).

3.3.5 Minerální látky

Brambory jsou obecně dobrým zdrojem minerálních látek. Jejich obsah však závisí nejen na odrůdě, ale také na způsobu a místě pěstování, pH půdy, hnojení nebo obsahu půdy (Navarre et al., 2014).

Nejvíce ceněným minerálem v hlízách brambor je draslík, nepostradatelný prvek v potravě člověka, ovšem ve většině potravin se vyskytuje vzácně. Bramborové hlízy obsahují dokonce více draslíku než banány, které jsou obecně známé jako jeho hlavní zdroj (Navarre et al., 2019).

Draslík přispívá k prevenci kardiovaskulárních onemocnění, mrtvici, osteoporóze nebo ledvinových kamenů. V rostlinách brambor je důležitý pro syntézu škrobu. Obsah draslíku v čerstvé hlíze se pohybuje v rozmezí od 3 do 8 mg/g (Navarre et al., 2019).

Mezi další minerální látky přítomné v hlízách patří železo, vápník, fosfor, zinek, hořčík a měď (Navarre et al., 2014).

3.3.6 Monosacharidy

Přítomnost jednoduchých cukrů (především fruktosy a glukosy) v hlízách brambor považujeme za nežádoucí. I když jejich obsah není příliš vysoký, pouze kolem 1 %, přesto způsobují řadu nežádoucích vlivů během zpracování. Fruktosa a glukosa jsou redukující cukry, které během smažení způsobují hnědnutí hlíz, dále při reakci s asparaginem vzniká Maillardovou reakcí akrylamid, který je v poslední době sledován kvůli potenciálně karcinogenním účinkům. Nežádoucím jevem je také to, že při nízkých teplotách během skladování dochází ke kumulaci monosacharidů v hlízách (Jarén et al., 2016).

3.3.7 Barviva

Hlavním zástupcem barviv v hlízách jsou karotenoidy. Ve velkém množství v nich najdeme zeaxantin, lutein, violaxantin a neoxantin. β -karoten je v hlízách přítomen pouze ve stopovém množství. Karotenoidy jsou lipofilní sloučeniny, syntetizovány v plastidech buněk z izoprenoidů (Jarén et al., 2016). V posledních letech jsou předmětem zájmu díky svým antioxidačním účinkům v těle člověka. Mají však celou řadu vlastností prospěšných pro zdraví - jsou důležité pro zdraví očí, jsou prekurzory vitamínu A, pomáhají předcházet řadě onemocnění (Navarre et al., 2016). Lutein a zeaxantin patří do podkategorie karotenoidů zvané xantofyly, o kterých je známo, že pohlcují UV záření a tím chrání sítnici oka, proto musí být přítomny v potravě člověka (Brown, 2008). Bramborové hlízy, převážně sytě zbarvené, jsou vynikajícím zdrojem těchto látek (Jarén et al., 2016).

Další významnou skupinou barviv přítomných v hlízách jsou antokyany. Nachází se převážně v odrůdách zbarvených v odstínech červené až fialové. Tyto sloučeniny jsou rozpustné ve vodě, taktéž mají antioxidační aktivitu a některé z nich navíc vykazují protizánětlivé účinky (Brown, 2008).

3.4 Glykoalkaloidy

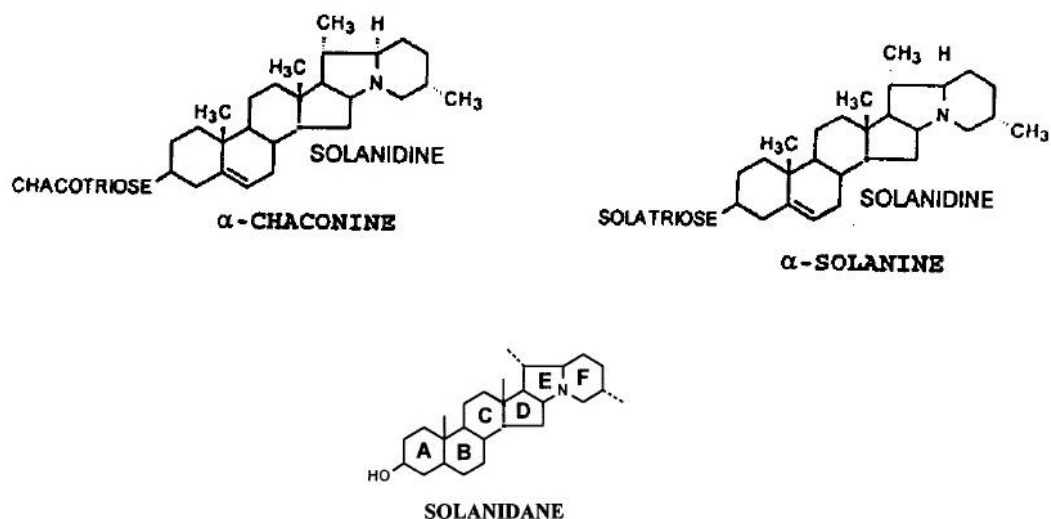
Brambory, stejně jako řada dalších rostlin z čeledi lilkovitých, produkují sekundární metabolity zvané glykoalkaloidy (GA). Tyto látky napomáhají rostlinám v obraně před patogeny a škůdci. Nejvíce jsou obsaženy v klíčcích, květech, plodech a listech. V hlízách jich nejvíce najdeme ve slupce. Hladina GA v hlízách je závislá na odrůdě, ale také na vnějších faktorech, jako je denní světlo, stres nebo stárnutí hlíz, které obsah GA zvyšují (Levy et Rabinowitch, 2017).

3.4.1 Chemická struktura

U glykoalkaloidů brambor rozlišujeme dva strukturní typy, jedná se buď o solanides, kam řadíme solanin a chaconin, nebo spirosolanes (Navarre et al., 2016). Nejvíce se v hlízách vyskytují právě α -solanin a α -chaconin (Friedman et Levin, 2016), které zabírají až 90 % celkového obsahu GA v hlíze (Navarre et al., 2016). Samotný solanin zabírá 0,01-0,10 % obsahu sušiny hlízy, přičemž ve slupce ho najdeme dvakrát více než v dužině (Talbert et al., 1987).

α -solanin a α -chaconin jsou odvozeny od aglykonu solanidinu (Friedman et al., 1997). Aglykony rodu *Solanum* obsahují steroidní jádro a jsou biosyntetickými produkty cholesterolu (Osman, 1983), představují nepolární část celého glykoalkaloidu (Friedman et al., 1997).

Obecně se glykoalkaloidy řadí mezi glykosidy, to znamená, že k jednotce aglykonu mají v postranním řetězci připojeny různě složené cukry. α -solanin i α -chaconin tedy mají společný solanidin, na kterém je navázán vždy jiný řetězec pro α -solanin a jiný pro α -chaconin (Friedman et al., 1997). U α -solaninu se jedná o triglykosid složený galaktosy, glukosy a rhamnosy, celá sacharidická část se nazývá solatriosa, zatímco u α -chaconinu se skládá z glukosy a dvou skupin rhamnosy. Sacharidická část se nazývá chacotriosa (Barceloux, 2009). Ve vodě rozpustné sacharidy představují polární část celého glykoalkaloidu (Friedman et al., 1997).



Obrázek 1: solanidin, α -solanin, α -chaconin, (Friedman et al., 1997)

3.4.2 Biosyntéza glykoalkaloidů

Glykoalkaloidy jsou syntetizovány ve všech částech rostliny. Jejich tvorba začíná už během klíčení a vrcholu dosahuje v období květu. Nejvíce GA je syntetizováno v částech rostliny s vysokou metabolickou aktivitou - tedy v mladých listech, plodech nebo klíčcích.

Přestože glykoalkaloidy mají významnou roli v bezpečnosti a kvalitě brambor, není jejich syntéza dosud zcela objasněna, a to ani u dvou nejvíce zastoupených druhů - tedy α -solaninu a α -chaconinu (Navarre et al., 2016). Za výchozí bod syntézy glykoalkaloidů je považován cholesterol, který se v rostlinách přirozeně neukládá a je okamžitě a zcela převeden na jiné látky. Cholesterol vzniká složitou cestou z mevalonové kyseliny, která je zodpovědná za vznik steroidů obecně (Friedman et al., 1997).

Bergensträhle (1995) jako důkaz syntézy solanidinu přes cholesterol uvádí fakt, že ke zvýšené akumulaci glykoalkaloidů došlo pouze tehdy, kdy současně předcházelo zvýšení obsahu cholesterolu. Pokud byl cholesterol inhibován přidávkem etefonu (postřikový přípravek), ke zvýšení akumulace glykoalkaloidů nedošlo. Navarre et al. (2016) navíc uvádí, že experimenty s označenými prekurzory prokázaly, že glykoalkaloidy jsou odvozeny z cholesterolu vzniklého mevalonátovou cestou. Vyskytují se v celé hlíze, ale primárně jsou syntetizovány ve felodermu.

3.4.3 Význam pro člověka

Glykoalkaloidy jsou látky pro člověka toxické. V závislosti na dávce mohou způsobit řadu zdravotních obtíží. I přes tento fakt nebyly tyto látky v minulosti zkoumány stejně důsledně, jako mnohé jiné syntetické sloučeniny, které se v dnešní době přidávají do potravin uměle, většinou za účelem zlepšení jejich sensorických vlastností. Ať už je důvodem přirozený výskyt těchto látek v hlízách nebo jejich po staletí ověřená konzumace (Smith et al., 1996), v každém případě dosud nebyly stanoveny hranice pro příjem těchto látek, jako například NOAEL (no observed adverse effect level) tedy dávka, při které ještě nebyl pozorován škodlivý účinek, nebo TDI (tolerable daily intake), což je hodnota, která udává množství denního příjmu látky, při kterém nehrozí riziko pro naše zdraví během konzumace v průběhu života (Mensinga et al., 2005).

Podle dostupných zdrojů je náchylnost člověka k otravě glykoalkaloidy vysoká a velice variabilní. Orální dávky od 1 do 5 mg glykoalkaloidů na kg tělesné hmotnosti člověka mohou být velmi toxické, zatímco dávky 3-6 mg/ kg tělesné hmotnosti člověka mohou být smrtelné (Smith et al., 1996). Z těchto údajů je patrné, že hranice mezi přijatelnou dávkou, toxickou a smrtelnou dávkou může být velice úzká (Langkilde et al., 2009). Mensinga et al. (2005) uvádí, že příznaky otravy GA se ve většině případů projevují po uplynutí 24 hodin. To by mohlo znamenat, že toxické účinky se mohou kumulovat, pokud by docházelo během této doby k další konzumaci potravin obsahujících GA.

Přestože vážné otravy glykoalkaloidy jsou vzácné (dosud bylo zaznamenáno asi 30 fatálních případů) existuje podezření, že mírné otravy těmito látkami jsou mnohem častější. Vzhledem k fyziologickým projevům jako jsou např. bolesti břicha, zvracení, průjem, může být mírná otrava GA často zaměňována za střevní obtíže způsobené jiným původcem (Smith et al., 1996).

Obecně akceptovaný obsah GA v hlízách brambor je nanejvýš 200 mg/kg jedlé hmoty. Tento limit byl stanoven před více než 80 lety, v době, kdy se o toxicitě GA příliš nevědělo. Kvůli značným a často nepředvídatelným rozdílům v množstvích GA obsažených v hlízách, které mohou být způsobeny řadou faktorů jako je lokalita pěstování, období růstu, stresové faktory, biochemické procesy, jejichž přesný vliv na změnu obsahu GA není znám, byla doporučená hladina obsahu GA snížena na 60 - 70 mg/ kg (Smith et al., 1996).

3.4.4 Účinky na člověka

Projevy otrav GA u člověka jsou velmi rozsáhlé. Za počáteční projevy slabé otravy se považuje nevolnost, zvracení, bolesti žaludku, pocení, zažívací potíže. Vážnější otravy provází zmatenost, apatie, halucinace, poruchy vidění, potíže s dýcháním, částečná paralýza nebo křeče, srdeční selhání, konečnou fází je kóma a smrt (Mensinga et al., 2005; Korpan et al., 2004). Z vyjmenovaných příznaků jsou ty neurologické způsobeny inhibicí enzymu acetylcholinesteráza (EC 3.1.1.7), který je zodpovědný za hydrolýzu neurotransmiteru acetylcholinu. Acetylcholin je klíčový při přenosu vzruchu v centrální nervové soustavě. Zažívací potíže jsou způsobeny schopností glykoalkaloidů narušovat membrány obsahující sterol, což vede k poškození buněk gastrointestinálního traktu (Langkilde et al., 2009). Při transportu GA krví pak dochází k poškození dalších tkání a orgánů, například jater (Smith et al., 1996). Při pokusech prováděných na zvířatech bylo zjištěno, že GA mohou negativně ovlivnit propustnost střevní stěny. Při opakované konzumaci vyšších dávek GA by to mohlo vést ke zhoršení a přetrvání chronických zánětlivých onemocnění střev u člověka. GA mohou mít také negativní účinky na kinetiku léků prostřednictvím inhibice acetylcholinesterázy, podobně jako neuromuskulární blokátory (Ruprich et al., 2009).

Poslední studie však ukazují, že účinky GA nemusí být nutně pouze negativní. Lee et al. (2004) provedli studii zaměřenou na působení glykoalkaloidů proti rakovinným buňkám lidského střeva a jater. Zaměřili se na celou řadu GA nejen z brambor, jako α -chaconin, α -solanin, β 1-chaconin, β 2-chaconin a β 2-solanin, ale také na GA přítomné v rajčatech, konkrétně α -tomatin, β 1-tomatin a jejich společný aglykon tomatidin, dále na GA lilku - solamargin a solasonin a jejich společný aglykon solasodin. Výsledky studie uvádí překvapivý účinek u α -chaconinu a α -tomatinu, u kterých byla účinnost proti rakovinným buňkám při koncentraci 1 μ g/ml dokonce vyšší, než u protinádorových léčiv. Také byla zaznamenána větší účinnost proti rakovinným buňkám jater oproti rakovinným buňkám střeva. Autoři však upozorňují na skutečnost, že GA současně s rakovinnými buňkami inhibují také zdravé buňky jater. Kozukue et al. (2005) se ve své studii zaměřují na protirakovinné účinky α -chaconinu a α -solaninu izolovaných z několika odrůd brambor. Zkoumali inhibici cervikálních, jaterních, lymfomových nádorových buněk a nádorových buněk žaludku, přičemž α -chaconin se ukázal jako účinnější proti všem těmto typům rakovinných buněk. Potvrzují však účinky proti zdravým jaterním buňkám, i když v menší míře než proti rakovinným.

3.5 Stres suchem

Sucho patří mezi nejzávažnější abiotické faktory ovlivňující růst rostlin. Při působení stresových faktorů není rostlina schopna správně růst a dosáhnout požadované zralosti, což má následně negativní vliv na produkci a výnos (Andre et al., 2009). V zemědělství je sucho definováno jako takový nedostatek vlhkosti v půdě, při kterém je narušen normální růst rostlin, které pak nedokážou dokončit svůj životní cyklus (Farooq et al., 2012).

Sucho u rostlin narušuje vodní vztahy a snižuje efektivitu hospodaření s vodou. Rostliny však mají celou řadu fyziologických a biochemických mechanismů jak na buněčné úrovni, tak v celém svém těle, díky kterým se přizpůsobují a odolávají nepříznivým vnějším podmínkám (Farooq et al., 2012).

3.5.1 Stres suchem u brambor

Konkrétně u brambor sucho způsobuje snížení růstu rostliny, zkrácení růstového cyklu a především snižuje počet a velikost hlíz (George et al., 2017). Podobně Levy et Rabinowitch (2017) uvádí nejčastěji pozorovatelné reakce rostlin bramboru na působení sucha: uzavření průduchů, snížení fotosyntézy, snížení produkce škrobu, pokles turgoru a vadnutí listů, inhibice růstu jak nadzemních částí, tak hlíz, hromadění rozpustných částic pro udržení turgoru, deformované a prasklé hlízy, zrychlené stárnutí rostliny.

Brambory jsou považovány za plodiny citlivé k suchu - především kvůli mělkému kořenovému systému a nízké schopnosti napravit škody způsobené vysokými teplotami a nedostatkem závlahy (George et al., 2017). Jejich udržitelná produkce je často ohrožena dlouhými obdobími sucha. To je důvodem řady výzkumů fyziologického, biochemického a genetického základu tolerance brambor vůči suchu a následného zlepšení produkce (Obidiegwu et al., 2015).

Rostliny reagují na stres způsobený suchem alespoň jedním ze tří následujících opatření: inhibicí růstu, udržení osmotické homeostázy a detoxikací. Poslední zmíněný způsob obrany je jedním z klíčových. Rostliny za normálních podmínek produkují jisté množství reaktivních forem kyslíku. Během sucha se však toto množství značně zvyšuje a pro rostlinu je v takové chvíli velmi podstatné chránit tkáň před poškozením způsobeným oxidačními reakcemi. Proto mají rostliny značně vyvinutý antioxidační obranný systém, na kterém se účastní řada enzymů, jako je superoxid dismutáza (EC 1.15.1.1), kataláza (EC 1.11.1.6) nebo askorbátová

peroxidáza (EC 1.11.1.11). Dále se těchto procesů účastní i neenzymatické antioxidanty, jako jsou askorbáty, glutathiony, karotenoidy, polyfenoly nebo tokoferoly (Andre et al., 2009).

Vysycháním půdy se mění kořenový systém brambor. Dochází ke zkrácení kořenů, narůstá tloušťka kořenů a tvoří se více kořenových chloupků. Vodivost vody v kořenovém systému je různá v závislosti na věku tkáně a typu kořene a je řízena propustností buněčných membrán za účasti proteinu akvapaporinu. V tkáních kořenů brambor se při jejich zkracování vytváří fytohormon ABA (abscisová kyselina), která je xylémem dopravena do tkání listů, kde způsobuje snížení dýchání rostliny a uzavírání průduchů (George et al., 2017).

Uzavírání průduchů souvisí s omezením přísunu CO₂ a tím pádem i s omezením fotosyntézy a metabolismu sacharidů v rostlině (Evers et al., 2010). To je konkrétně u brambor velký problém, jelikož maximální fixace CO₂ je nezbytná pro správnou produkci brambor (Levy et al., 2013).

Hlízy odrůd náchylných k suchu mají tendence při jeho působení akumulovat prolin (Levy et al., 2013). Knipp et Honermeier (2006) ve své studii uvádí, že akumulace prolinu je spjata s vodním potenciálem listů brambor. Vodní stres u brambor stimuluje tvorbu prolinu. Ve všech testovaných liniích brambor došlo ke zvýšení vodního potenciálu současně se zvýšenou akumulací prolinu.

Prolin je aminokyselina, která se po pominutí období sucha snadno metabolizuje v listech rostliny. Během období sucha je akumulován v cytoplasmě a jeho úkolem je chránit rostlinné tkáně před denaturačními procesy (Crusciol et al., 2009).

3.5.2 Vliv sucha na obsah glykoalkaloidů

Během posledních let proběhlo několik studií zaměřených na sledování změny obsahu glykoalkaloidů v hlízách vlivem extrémní závlahy nebo extrémního sucha.

Papathanasiou et al. (1999) se ve své studii zaměřují na zkoumání změny obsahu glykoalkaloidů u několika odrůd brambor. Dle jejich závěrů se obsah glykoalkaloidů výrazně zvýšil během působení sucha u jedné ze zkoumaných odrůd, zatímco u druhé nebyl nárůst tak znatelný a obsah glykoalkaloidů třetí zkoumané odrůdy se nezměnil vůbec. Také uvádí, že závlaha za nízkých teplot zvýšila u jedné z odrůd obsah GA, zatímco samotné působení nízké teploty nevyvolalo žádnou změnu v obsahu GA.

Andre et al. (2009) svou studií potvrzují vliv sucha na obsah GA v závislosti na odrůdě brambor. Navíc uvádí, že vliv sucha na poměr mezi více toxickým α -chaconinem a méně toxickým α -solaninem nebyl prokázán. Dále zmiňují, že během skladování došlo ke značnému

zvýšení obsahu GA u hlíz, které byly během pěstování vystaveny působení sucha, zatímco u dobře zavlažovaných hlíz nemělo skladování na obsah GA žádný vliv. Z tohoto faktu vyvozují, že působením sucha urychlený fyziologický vývoj rostlin může ovlivnit hladinu GA v hlízách.

Bejarano et al. (2000) ve své studii stanovili obsah α -chaconinu a α -solaninu ve slupce i v dužině hlíz tří odrůd odolných vůči suchu a tří běžně pěstovaných odrůd. Sledovali, zda sucho způsobí zvýšení obsahu jednotlivých GA. U většiny odrůd došlo k výraznému zvýšení obsahu obou typů GA v průměru o 43 - 50 %. U všech testovaných odrůd byl obsah glykoalkaloidů výrazně vyšší ve slupce než v dužině. V žádném z případů však nepřekročil limit 200 mg/kg.

4 Praktická část

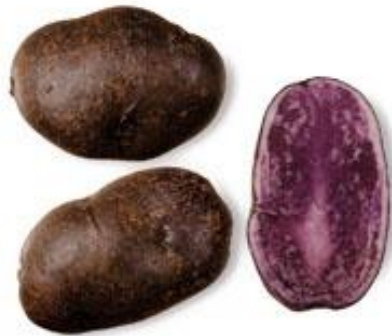
4.1 Materiál a metody

Předmětem této diplomové práce byly čtyři odlišné odrůdy brambor, které jsou níže krátce charakterizovány. Sadbu odrůd Marabel, Laura a Milva poskytl Europlant šlechtitelská spol. s. r. o. Sadba pro odrůdu Valfi byla získána od dodavatele VÚB Havlíčkův Brod. Tyto odrůdy byly pěstovány za stanovených podmínek.

4.1.1 Odrůdy brambor

4.1.1.1 Valfi

Jedná se o speciální poloranou až polopozdní konzumní odrůdu. Z hlediska konzumní jakosti ji řadíme k varnému typu BC. Vyznačuje se modrofialovou slupkou a modrofialovou mramorovanou dužinou. Tvar hlíz je většinou oválný, velikost hlíz lze určit jako středně velkou až velkou. Slabou stránkou této odrůdy je její náchylnost k aktinomycetové obecné strupovitosti (Českomoravský svaz šlechtitelů, 2010).



Obr. 2: Odrůda Valfi (Českomoravský svaz šlechtitelů, 2010)

4.1.1.2 Marabel

Marabel řadíme mezi odrůdy rané stolní, varný typ BA-B. Slupka je hladká, světlá, očka mělká, barva dužiny žlutá, tvar hlíz oválný. Mezi její přednosti patří velmi dobrá chuť, vysoký výnos a odolnost vůči hád'átku a virovým chorobám (viru A a Y). Slabinou této odrůdy je náchylnost k rakovině (Vokál et al., 2003) (EUROPLANT, 2003).



Obr. 3: Odrůda Marabel (EUROPLANT, 2018)

4.1.1.3 Laura

Je charakterizovaná jako poloraná konzumní odrůda, varného typu B. Jejím typickým znakem je červená slupka s mimořádně sytě žlutou barvou dužiny. Tvar hlíz je dlouze oválný, hlízy jsou vzhledné s mělkými očky, po uvaření zůstávají pevné, dužina netmavne. Tato odrůda je oblíbená zejména proto, že je vhodná k balení umytých hlíz a využívá se k výrobě hranolků. Odrůda Laura je odolná vůči virovým chorobám, hád'átku i vůči hnilobám. Proti rakovině je však odolná pouze slabě (Vokál et al., 2003).



Obr. 4: Odrůda Laura (EUROPLANT, 2018)

4.1.1.4 Milva

Poslední blíže popsanou odrůdou je Milva. Jedná se o poloranou jakostní salátovou odrůdu s vynikající chutí, kterou řadíme k varnému typu AB. Její dužina je sytě žlutá a neztrácí svou barvu (netmavne) jak v syrovém stavu, tak po uvaření. Hlízy mají kulovitooválný tvar, který zůstává pevný po uvaření. Stejně jako předchozí odrůda i Milva je vhodná k balení umytých hlíz. Je charakteristická vysokým výnosem, odolností vůči hád'átku a strupovitosti, avšak je méně odolná vůči virovým chorobám (viru Y) a silně náchylná k rakovině (Vokál et al., 2003) (EUROPLANT, 2003).



Obr. 5: Odrůda Milva (EUROPLANT, 2018)

4.1.2 Popis podmínek pěstování

Po dobu dvou let byly brambory pěstovány za následujících podmínek:

Získaná sadba pro každou odrůdu byla ponechána 3 týdny v chladu při teplotě 4 – 5 °C, aby mohla proběhnout jarovizace. Hlízy byly vysázeny do kontejnerů o objemu 5 l a ponechány do doby, dokud nedosáhly 60% vláhové jistoty. Od této chvíle došlo k zahájení pokusu.

Hlízy každé ze čtyř odrůd byly pěstovány ve třech různých variantách: první variantou byla anoxie – tedy rostliny byly hojně zavlažovány, dále ve stresové variantě – suchu a třetí variantou byla kontrola – tedy bez úprav závlahy.

Teplota ve skleníku se pohybovala mezi 18 °C během noci a 22 až 24 °C během dne. Relativní vlhkost vzduchu dosahovala 60 %. Během celého pokusu byl jednou aplikován insekticid a jednou fungicid. Sklizně hlíz proběhly 17. 5. 2017 a 19.5.2018.

4.1.3 Příprava vzorků

4.1.3.1 Seznam chemikálií

- α -Solanin \geq 95 % (Sigma-Aldrich, USA)
- α -Chaconin \geq 95 % (Sigma-Aldrich, USA)
- Metanol p.a. (Lachner, Česká republika)
- Acetonitril HPLC grade, (Lachner, Česká republika)
- Methanol HPLC grade, (Lachner, Česká republika)
- Kyselina mravenčí 99 % (Acros Organics, USA)
- Octan amonný 99,999 % (Sigma-Aldrich, USA)
- Deionizovaná voda

4.1.3.2 Seznam přístrojů

- Analytické váhy (Kern&Sohn GmbH, Německo)
- Lyofilizátor (Lyovac GT2, Steris, Německo)
- Laboratorní mlýnek HR 2185 (Philips, Nizozemsko)
- Vortex (Basic 3, IKA, KG, Německo)
- Ultrazvuková lázeň (PS 04, Powersonic-Notus, Ltd., Slovensko)
- Centrifuga (5810R, Eppendorf, Německo)
- Simplicity UV (Merck Millipore, KGaA, Německo)
- Kapalinový chromatograf (UltiMate 3000 RS, Thermo Fisher Scientific, Inc., USA) spojený s hmotnostním detektorem (A 3200 QTRAP trojitý kvadrupól, AB Sciex, Inc., USA)

4.1.3.3 Příprava vzorku

Samotné přípravě vzorků předcházela lyofilizace po dobu 120 h.

Na analytických vahách bylo naváženo 0,3 g lyofilizovaného homogenizovaného vzorku do plastové uzavíratelné kyvety. Ke vzorku bylo přidáno 20 ml 80% metanolu. Vzorek byl promíchán na vortexu (1 min), poté byl umístěn na 10 minut do ultrazvukové lázně k podpoře homogenizace a rozpustnosti částic. Následovalo odstředění vzorku po dobu 7 min

při 5000 rpm a 20 °C. Supernatant byl převeden do 50 ml odměrné baňky. Ke zbylému sedimentu bylo přidáno dalších 20 ml 80% methanolu a celý postup extrakce byl proveden ještě jednou. Supernatant v 50 ml odměrné baňce byl doplněn po rysku 80% metanolem a řádně promíchán. V další fázi byl vzorek přefiltrován přes nylonový mikrofiltr NY 0,22 µm a v poměru 1:1 byl naředěn deionizovanou vodou do vialky. Obsah α-solaninu a α-chaconinu ve vzorcích byl stanoven metodou UHPLC-ESI-MS/MS. Každý vzorek z roku 2018 byl analyzován ve třech opakováních, každý vzorek z roku 2017 byl analyzován ve dvou opakováních.

4.1.4 Analýza vzorků

4.1.4.1 Podmínky LC-ESI-MS/MS analýzy

- Analytická kolona: Kinetex C18 (30 x 2,1 mm; S = 1,7 µm; Phenomenex, USA)
- Mobilní fáze: acetonitril : methanol : voda : 0,1M octan amonný (200:100:550:50) (v/v/v/v), pH=3,8 (mravenčí kyselina)
- Eluce: izokratická
- Průtok: 0,3 ml/min
- Nástřik: 1 µl
- Teplota kolony: 40 °C
- Doba analýzy: 6 min
- Detekce: ESI-MS/MS

Tabulka č. 1: Podmínky ve zdroji

Ochranný plyn	30 psi
Kolizní plyn	střední
Napětí zdroje	5500 V
Teplota	650 °C
Zmlžovací plyn	60 psi
Turboplyn	60 psi

Tabulka č. 2: Parametry metody pro stanovení glykoalkaloidů

MRM pozitivní iontový mód									
analyt	přechod	Q1 hmota [Da]	Q3 hmota [Da]	čas [ms]	DP [V]	EP [V]	CEP [V]	CE [V]	CXP [V]
α -chaconin	kvantifikační	852,64	98,2	100	166	10,5	32	121	4
	konfirmační	852,64	380,4	100	166	10,5	32	101	4
α -solanin	kvantifikační	868,62	98,1	100	136	10,5	46	121	4
	konfirmační	868,62	398,5	100	136	10,5	46	97	6

DP – deklasterační potenciál; EP – vstupní potenciál; CEP – vstupní potenciál do cely; CE - kolizní energie; CXP – výstupní potenciál z cely

4.1.4.2 Identifikace a kvantifikace

Identifikace analytů ve vzorcích byla provedena porovnáním kvantifikačního a konfirmačního přechodu a retenčního času vzorků a retenčních časů standardů. Výsledky byly vyhodnoceny metodou kalibrační přímky. Rozsah kalibrační přímky byl 0,05-10 $\mu\text{g/ml}$ pro α -chaconin i α -solanin.

5 Výsledky

Ke statistickému zpracování získaných hodnot měření byl použit program IBM SPSS Statistics 2.0. K porovnání výsledků byly použity následující vyhodnocovací metody: korelace, jednofaktorová a dvoufaktorová ANOVA. Interval spolehlivosti α byl stanoven na 95 %.

5.1 Odrůdy brambor obsahují rozdílná množství glykoalkaloidů a tento obsah je geneticky podmíněn

Tabulka č. 3: Průměrný obsah solaninu a chaconinu jednotlivých odrůd

		N	Mean
Solanin [$\mu\text{g/g}$ sušiny]	Marabel	15	322,009176
	Milva	15	294,339092
	Laura	15	526,973186
	Valfi	15	428,681722
	Total	60	393,000794
Chaconin [$\mu\text{g/g}$ sušiny]	Marabel	15	583,068934
	Milva	15	610,520214
	Laura	15	891,863552
	Valfi	15	620,044249
	Total	60	676,374237

Z tabulky č. 3 je patrné, že obsah solaninu i chaconinu se liší v závislosti na odrůdě brambor. V tabulce jsou uvedeny průměrné obsahy solaninu a chaconinu dle příslušnosti k odrůdě. Hodnoty α -solaninu se pohybují v rozmezí od 294,34 $\mu\text{g/g}$ sušiny do 526,97 $\mu\text{g/g}$ sušiny. Obsah α -chaconinu v hodnotách od 583,07 $\mu\text{g/g}$ sušiny do 891,86 $\mu\text{g/g}$ sušiny.

Odrůda Laura zde obsahuje o 44 % více α -solaninu než odrůda Milva a o 35 % více α -chaconinu než odrůda Marabel. Zatímco odrůda Milva obsahuje pouze o 9 % méně α -solaninu a o 4 % více α -chaconinu než odrůda Marabel.

Tabulka č. 4: Korelační analýza pro zjištění závislosti mezi obsahem alkaloidu a odrůdou

		Solanin	Chaconin	Odrůda
Solanin	Pearson Correlation	1	,943**	,357**
	Sig. (2-tailed)		,000	,005
	N	60	60	60
Chaconin	Pearson Correlation	,943**	1	,170
	Sig. (2-tailed)	,000		,193
	N	60	60	60
Odrůda	Pearson Correlation	,357**	,170	1
	Sig. (2-tailed)	,005	,193	
	N	60	60	60

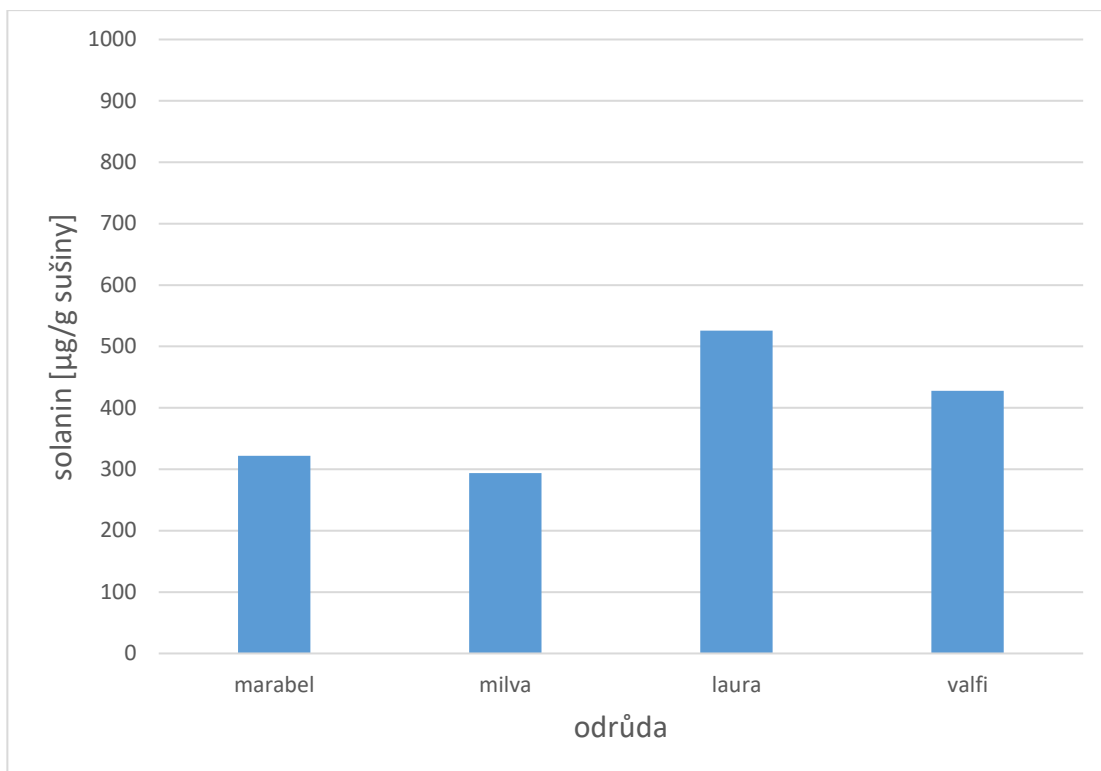
** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Z tabulky č. 4 - korelační analýzy pro zjištění závislosti mezi jednotlivými alkaloidy a odrůdou - vyplývá, že obsah chaconinu vykazuje silnou závislost na odrůdě brambor. Závislost obsahu solaninu na odrůdě brambor se potvrzuje, je ale slabší než závislost obsahu chaconinu na odrůdě.

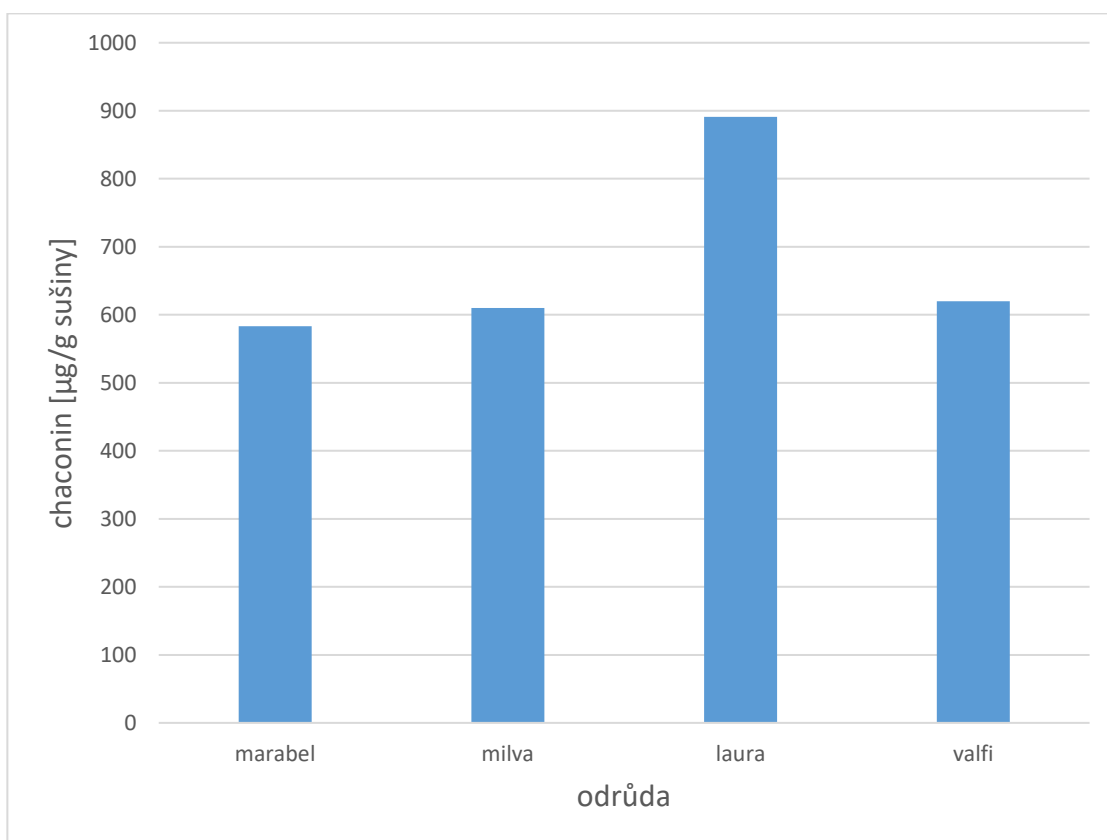
Tabulka č. 5: Výsledek jednofaktorové ANOVY - obsah alkaloidu geneticky podmíněn

		Sig.
Solanin	Between Groups	0,000
	Within Groups	
	Total	
Chaconin	Between Groups	0,002
	Within Groups	
	Total	

Tabulka č. 5 znázorňuje výsledky provedení jednofaktorové ANOVY, která na stanoveném intervalu spolehlivosti potvrzuje, že obsah solaninu je závislý na odrůdě brambor. Totéž vyplývá také pro chaconin.



Graf č. 1: Grafické znázornění obsahu solaninu [$\mu\text{g/g}$ sušiny] v závislosti na odrůdě



Graf č. 2: Grafické znázornění obsahu chaconinu [$\mu\text{g/g}$ sušiny] v závislosti na odrůdě

Tabulka č. 6: Post hoc analýza – statisticky významné rozdíly mezi odrůdami

Bonferroni

Dependent Variable	(I) Odrůda	(J) Odrůda	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Solaniin	Marabel	Milva	27,6700842	55,4428039	1,000
		Laura	-204,964010*	55,4428039	,003
		Valfi	-106,6725464	55,4428039	,357
	Milva	Marabel	-27,6700842	55,4428039	1,000
		Laura	-232,634094*	55,4428039	,001
		Valfi	-134,3426306	55,4428039	,112
	Laura	Marabel	204,9640099*	55,4428039	,003
		Milva	232,6340941*	55,4428039	,001
		Valfi	98,2914635	55,4428039	,490
	Valfi	Marabel	106,6725464	55,4428039	,357
		Milva	134,3426306	55,4428039	,112
		Laura	-98,2914635	55,4428039	,490
Chaconin	Marabel	Milva	-27,4512799	84,9818433	1,000
		Laura	-308,794618*	84,9818433	,004
		Valfi	-36,9753149	84,9818433	1,000
	Milva	Marabel	27,4512799	84,9818433	1,000
		Laura	-281,343338*	84,9818433	,010
		Valfi	-9,5240350	84,9818433	1,000
	Laura	Marabel	308,7946180*	84,9818433	,004
		Milva	281,3433381*	84,9818433	,010
		Valfi	271,8193031*	84,9818433	,014
	Valfi	Marabel	36,9753149	84,9818433	1,000
		Milva	9,5240350	84,9818433	1,000
		Laura	-271,819303*	84,9818433	,014

Z tabulky č. 6 je patrné, že statisticky významný rozdíl v obsahu solaninu byl zaznamenán mezi odrůdami Marabel a Laurou a dále mezi Milvou a Laurou. Statisticky významný rozdíl v obsahu chaconinu byl zaznamenán taktéž mezi Marabel a Laurou, mezi Milvou a Laurou a navíc ještě i mezi odrůdami Valfi a Laurou.

5.2 Vodní stres suchem či přemokřením mění obsah glykoalkaloidů, přičemž odrůdy reagují na stres odlišným způsobem

Tabulka č. 7: Korelační analýza pro zjištění závislosti mezi obsahem alkaloidu a variantou

		Solanin ?g/g suš.	Chaconin ?g/g suš.	Varianta
Solanin ?g/g suš.	Pearson Correlation	1	,943**	,163
	Sig. (2-tailed)		,000	,215
	N	60	60	60
Chaconin ?g/g suš.	Pearson Correlation	,943**	1	,200
	Sig. (2-tailed)	,000		,126
	N	60	60	60
Varianta	Pearson Correlation	,163	,200	1
	Sig. (2-tailed)	,215	,126	
	N	60	60	60

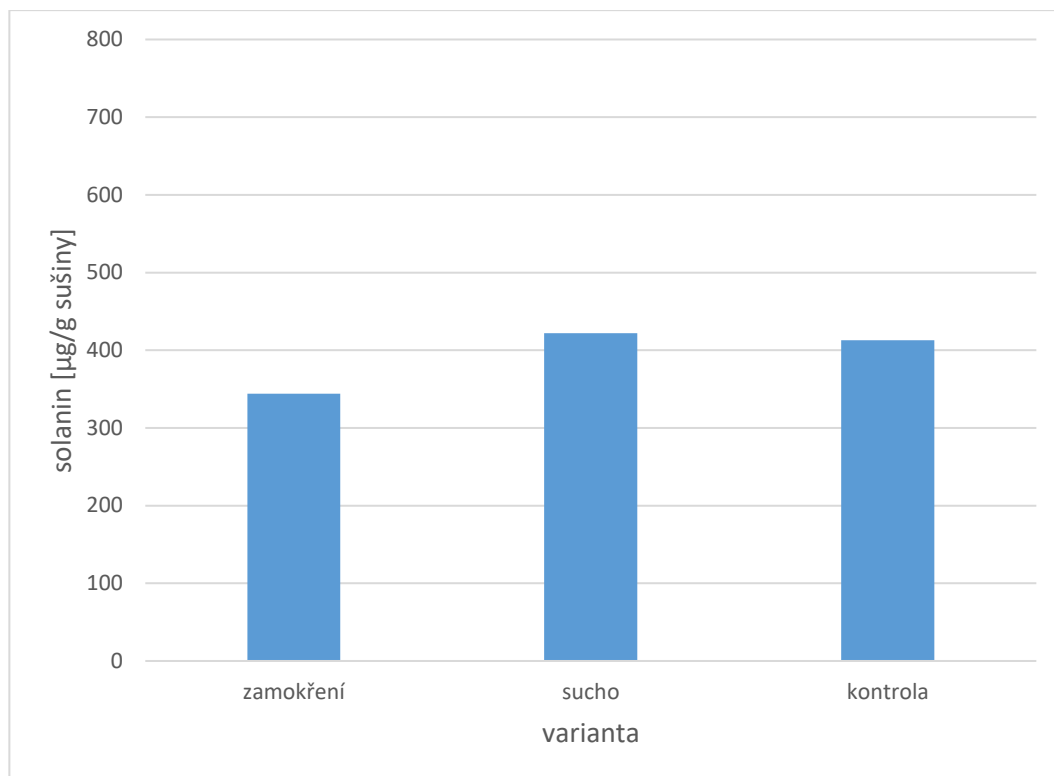
** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tabulka č. 7 znázorňuje výsledek korelační analýzy pro zjištění závislosti mezi obsahem glykoalkaloidu a způsobem závlahy. Mezi těmito proměnnými nebyla nalezena závislost, nebo alespoň tato závislost není lineární. Z tabulky ale můžeme vypozorovat, že existuje silná závislost mezi obsahy samotných glykoalkaloidů.

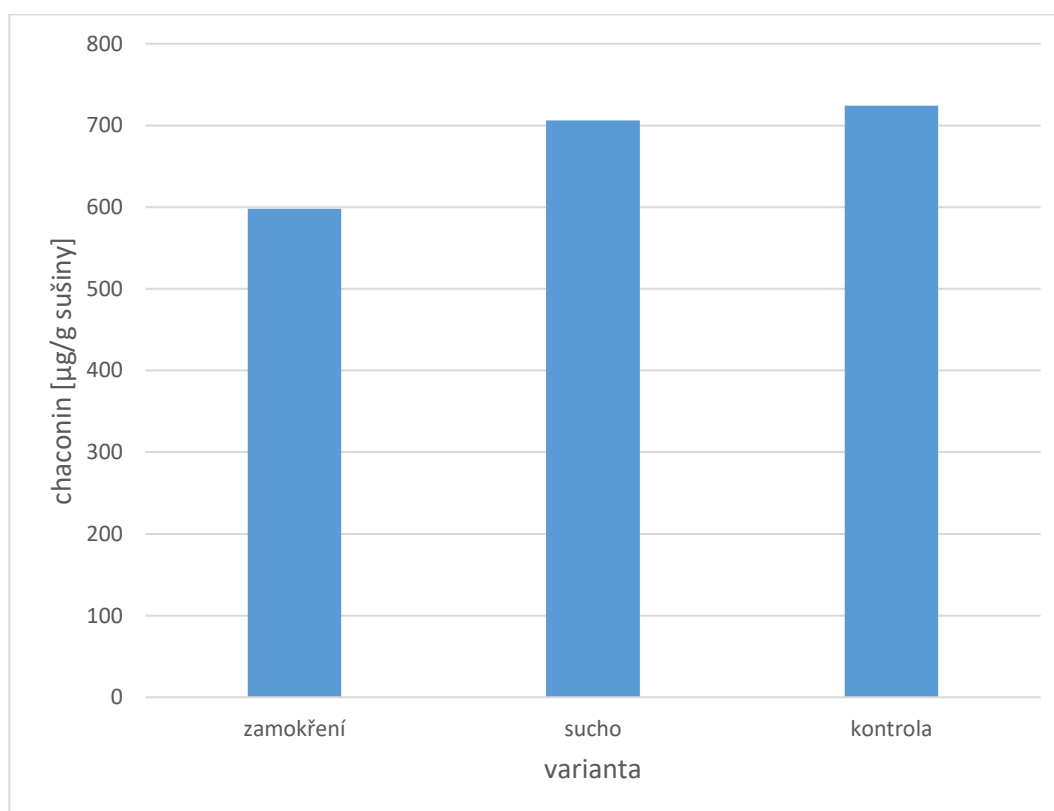
Tabulka č. 8: Výsledek jednofaktorové ANOVY – obsah alkaloidu je ovlivněn způsobem závlahy

		Sig.
Solanin	Between Groups	0,306
	Within Groups	
	Total	
Chaconin	Between Groups	0,254
	Within Groups	
	Total	

Tabulka č. 8 dokazuje, že při zkoumání, zda způsob závlahy ovlivnil obsah glykoalkaloidů, nebyl prokázán statisticky průkazný rozdíl na stanovené hladině významnosti.



Graf č. 3: Grafické znázornění obsahu solaninu [$\mu\text{g/g}$ sušiny] v závislosti na variantě závlahy



Graf č. 4: Grafické znázornění obsahu chaconinu [$\mu\text{g/g}$ sušiny] v závislosti na variantě závlahy

Z grafů č. 3 a 4 je patrné, že obsahy jednotlivých glykoalkaloidů nezůstávají neměnné. Lze pozorovat trend snížení jejich obsahu v důsledku zamokření a naopak zvýšení v důsledku sucha. Změna obsahu v závislosti na způsobu závlahy je ovšem malá, statisticky neprůkazná.

Tabulka č. 9: Výsledek dvoufaktorové ANOVY pro alkaloid solanin

Dependent Variable: Solanin

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	9266977,449	1	9266977,449	56,821	,009
	Error	408599,196	2,505	163089,962 ^a		
Odrůda	Hypothesis	509935,076	3	169978,359	3,907	,073
	Error	261012,727	6	43502,121 ^b		
Varianta	Hypothesis	73227,448	2	36613,724	,842	,476
	Error	261012,727	6	43502,121 ^b		
Odrůda * Varianta	Hypothesis	261012,727	6	43502,121	2,182	,061
	Error	956799,718	48	19933,327 ^c		

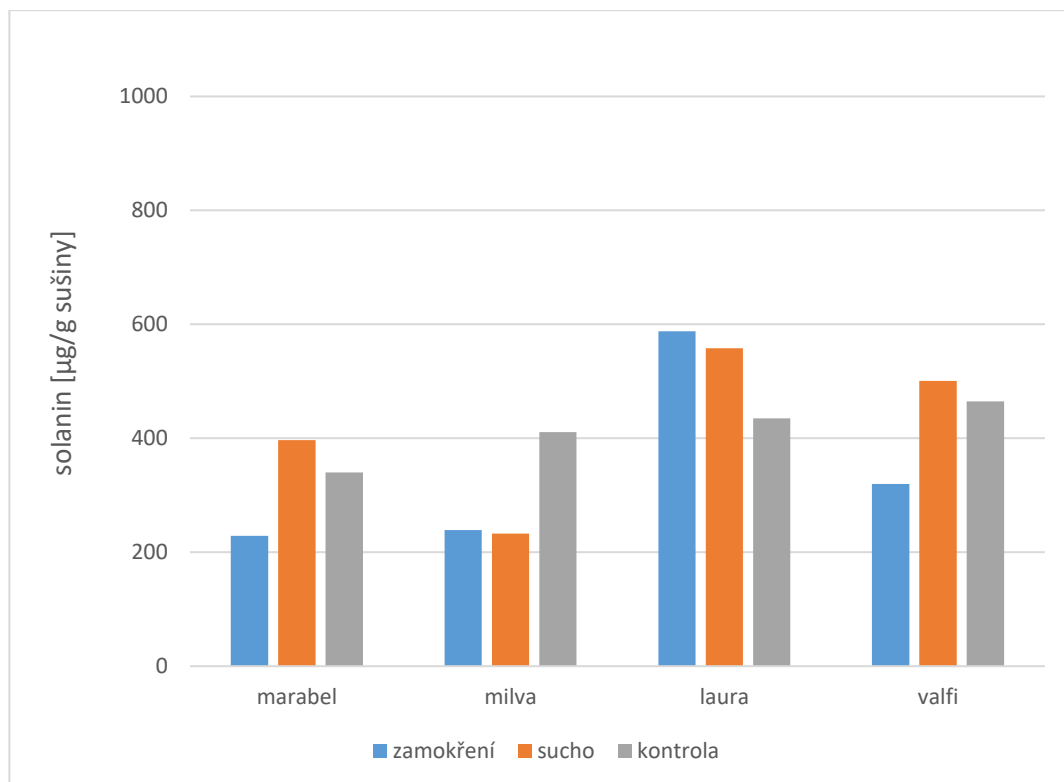
Tabulka č. 9 znázorňuje výsledek dvoufaktorové ANOVY, přičemž byl zkoumán vliv odrůdy a závlahy na obsah solaninu v hlízách. Závěr testu nepotvrzuje, že by tyto faktory měly za následek statisticky významný rozdíl v obsahu solaninu na stanovené hladině významnosti.

Tabulka č. 10: Výsledek dvoufaktorové ANOVY pro alkaloid chaconin

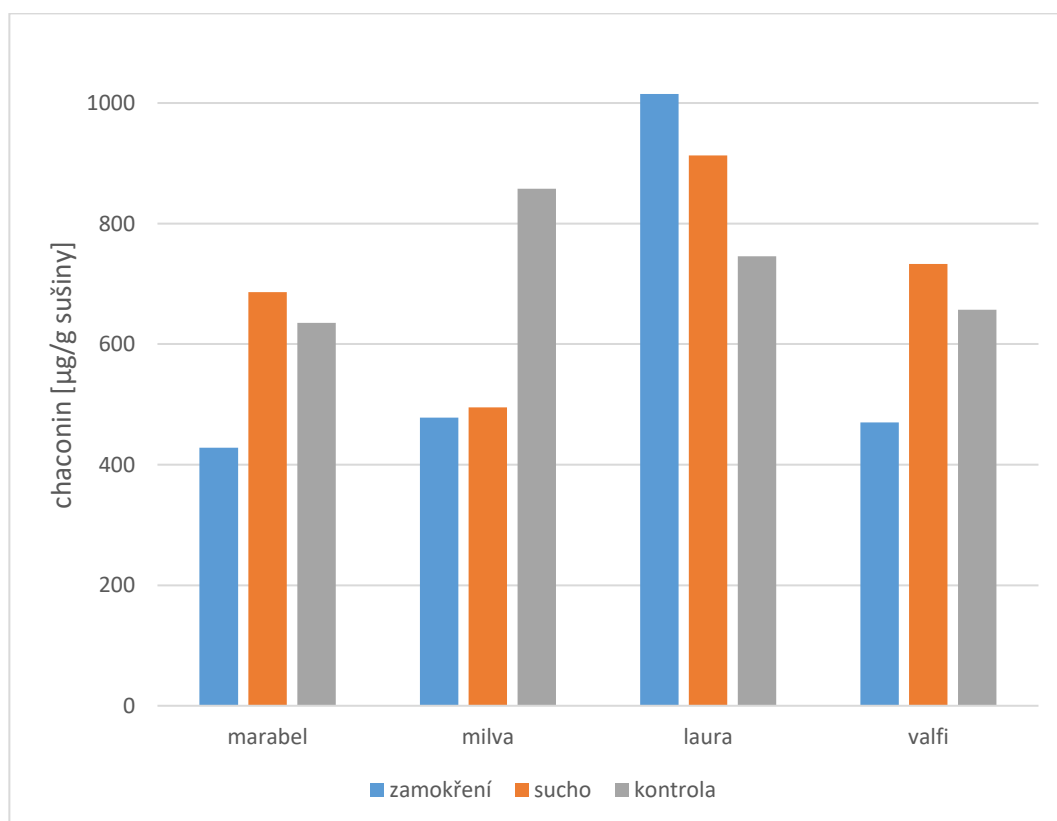
Dependent Variable: Chaconin

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	27448926,53	1	27448926,53	102,110	,014
	Error	482916,463	1,796	268817,742 ^a		
Odrůda	Hypothesis	939770,165	3	313256,722	2,274	,180
	Error	826483,705	6	137747,284 ^b		
Varianta	Hypothesis	186616,609	2	93308,305	,677	,543
	Error	826483,705	6	137747,284 ^b		
Odrůda * Varianta	Hypothesis	826483,705	6	137747,284	3,273	,009
	Error	2020103,435	48	42085,488 ^c		

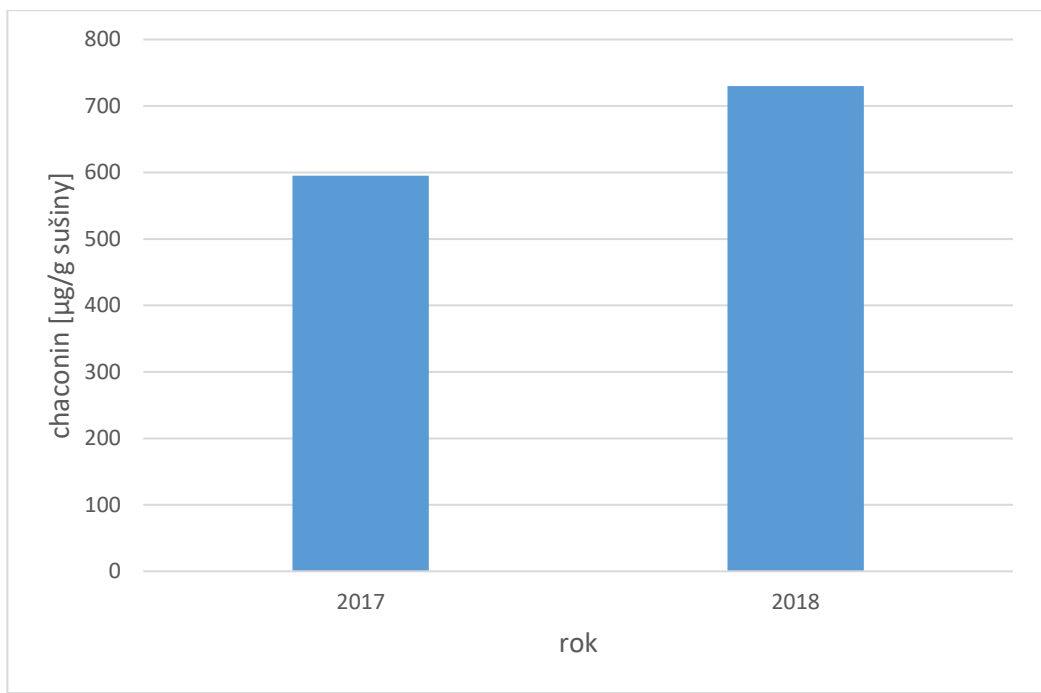
Tabulka č. 10 znázorňuje výsledek dvoufaktorové ANOVY, kdy byl zkoumán vliv odrůdy a závlahy na obsah chaconinu v hlízách. I když se výsledek velmi blíží, přesto závěr testu nepotvrzuje statisticky významný rozdíl v obsahu chaconinu na stanovené hladině významnosti.



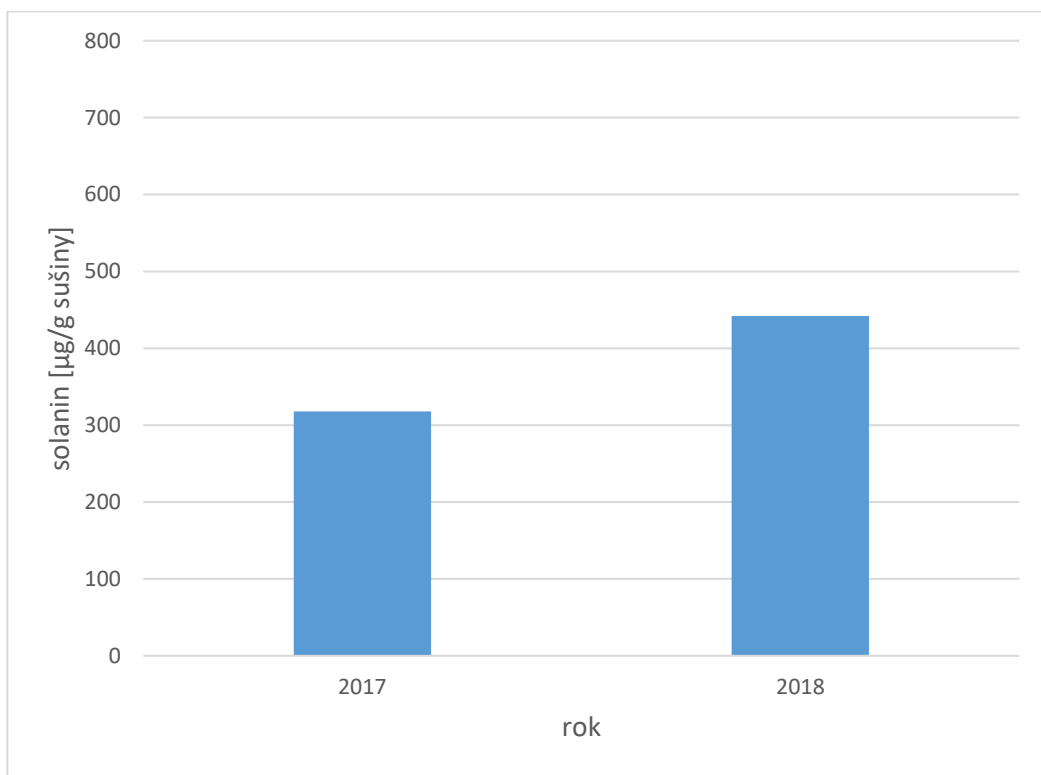
Graf č. 5: Grafické znázornění obsahu solaninu [$\mu\text{g/g}$ sušiny] v závislosti na variantě závlahy a odrůd v letech 2017 a 2018



Graf č. 5: Grafické znázornění obsahu chaconinu [$\mu\text{g/g}$ sušiny] v závislosti na variantě závlahy a odrůd v letech 2017 a 2018



Graf č. 6: Grafické znázornění obsahu chaconinu [µg/g sušiny] v jednotlivých letech

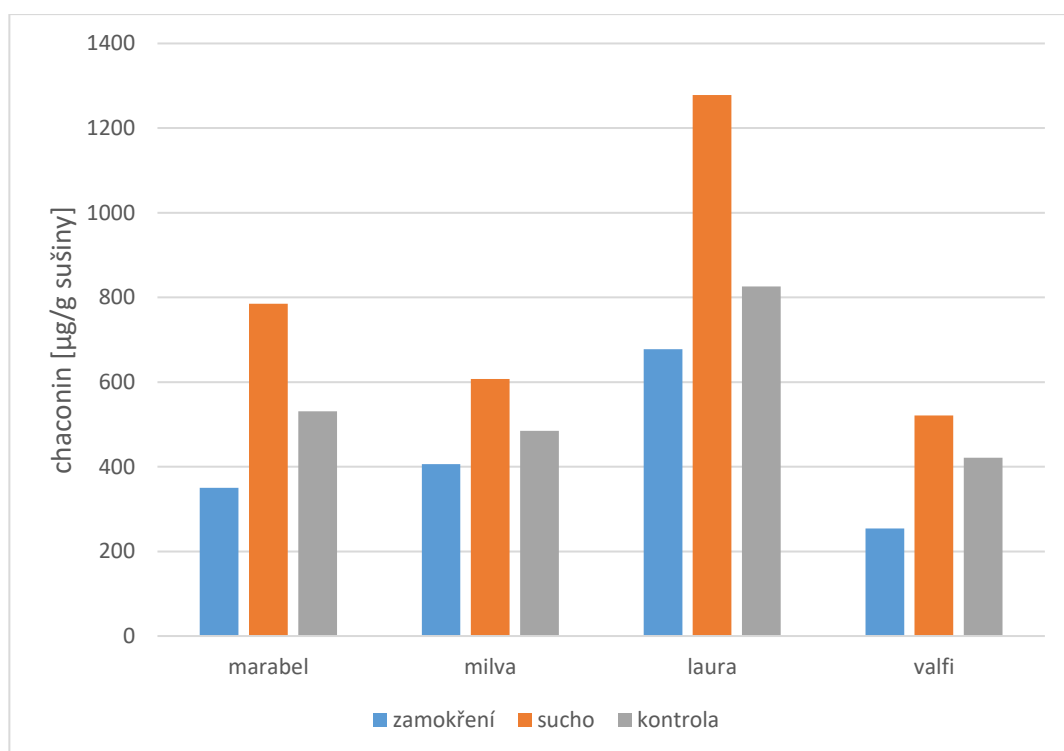


Graf č. 7: Grafické znázornění obsahu solaninu [µg/g sušiny] v jednotlivých letech

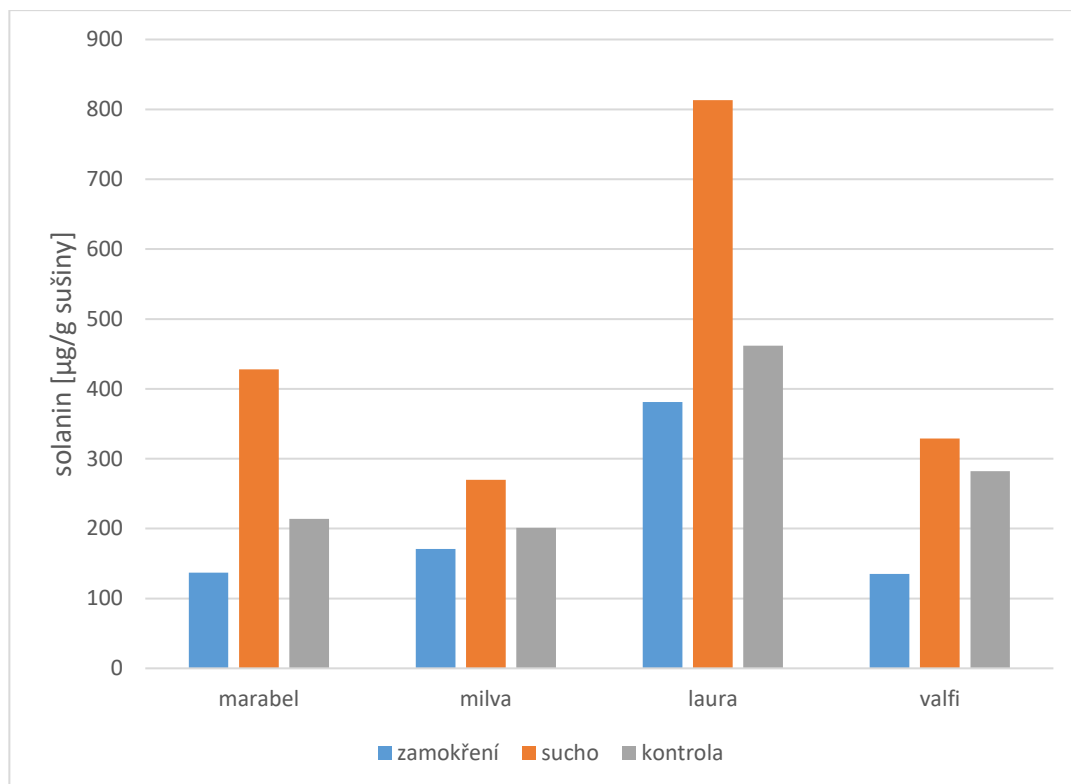
Tabulka č. 11: Výsledek jednofaktorové ANOVY – průkazný rozdíl mezi roky

		Sig.
Solaniin	Between Groups	0,006
	Within Groups	
	Total	
Chaconin	Between Groups	0,047
	Within Groups	
	Total	

Z výše uvedených grafů č. 6 a 7 a také z tabulky č. 11 vyplývá, že na stanovené hladině významnosti byl statisticky průkazný rozdíl v obsahu glykoalkaloidů v roce 2017 a v roce 2018. Z tohoto důvodu jsou obsahy jednotlivých glykoalkaloidů níže graficky znázorněny odděleně v letech 2017 a 2018.



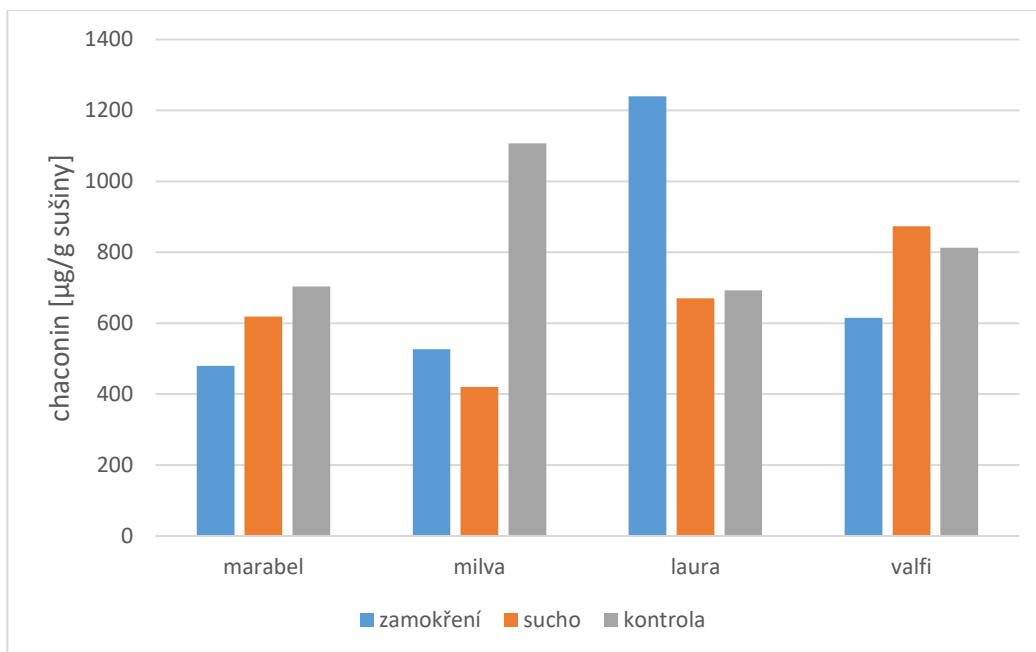
Graf č. 8: Grafické znázornění obsahu chaconinu [µg/g sušiny] v roce 2017



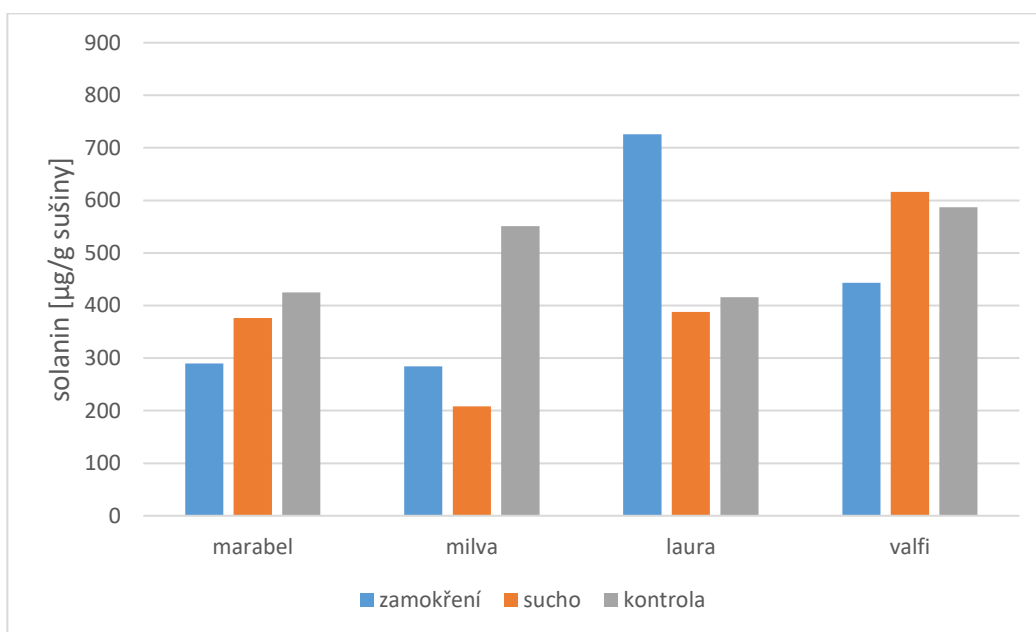
Graf č. 9: Grafické znázornění obsahu solaninu [µg/g sušiny] v roce 2017

Grafy č. 8 a 9 znázorňují chování obsahů chaconinu a solaninu v závislosti na odrůdě při působení různých typů závlah během pokusu, který probíhal v roce 2017. Z obou grafů je patrný trend zvyšování obsahu glykoalkaloidů působením sucha a naopak snížení jejich obsahu v důsledku zamokření. Z grafu je také patrné, že i když odrůdy reagují podobným způsobem, změna v množství obsahu GA je různá v závislosti na odrůdě.

Největší změny během zatížení suchem jsou pozorovatelné u odrůd Marabel a Laury. U odrůdy Marabel obsah α -chaconinu během působení sucha vzrostl o 32 % oproti kontrole a obsah α -solaninu vzrostl o 50 % pro tytéž varianty. U odrůdy Laura obsah α -chaconinu během působení sucha vzrostl o 35 % oproti kontrole a obsah α -solaninu pro tytéž varianty vzrostl o 43 %. Největší pokles glykoalkaloidů během zamokření pozorujeme u odrůdy Valfi, kde se obsah α -chaconinu snížil o 40 % a obsah α -solaninu se snížil o 52 % oproti kontrole. Odrůda Valfi také vykazuje nejmenší nárůst hladiny glykoalkaloidů při zatížení suchem. U α -chaconinu pouze o 19 % oproti kontrole a u α -solaninu pouze o 14 % oproti kontrole.



Graf č. 10: Grafické znázornění obsahu chaconinu [µg/g sušiny] v roce 2018



Graf č. 11: Grafické znázornění obsahu solaninu [µg/g sušiny] v roce 2018

Grafy č. 10 a 11 znázorňují chování obsahů chaconinu a solaninu v závislosti na odrůdě při působení různých typů závlah v roce 2018. Trend v tomto roce není stejný jako v roce 2017. Vzorky z roku 2018 byly patrně zatíženy chybou.

6 Diskuze

Jak uvádějí George et al. (2017), brambory jsou plodiny citlivé vůči suchu. Kvůli stále intenzivnějším obdobím sucha je proto třeba pochopit chování rostlin v závislosti na působení tohoto faktoru. Pro potřeby zkoumání, zda sucho významně ovlivňuje obsah pro člověka jedovatých látek – glykoalkaloidů v hlízách brambor, byla pro stanovení obsahu jednotlivých glykoalkaloidů použita separační metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s hmotnostním spektrometrem (MS) jako detektorem.

6.1 Technika LC-MS je vhodná pro stanovení různých glykoalkaloidů v hlízách brambor

Zatímco separační metoda HPLC se jeví jako nejčastěji volený způsob separace, volba detektoru se různí. Autoři studií Bushway et Storch (1982) a Bushway (1982) potvrzují, že HPLC je vhodná metoda separace pro stanovení glykoalkaloidů. Jedná se o rychlou, přesnou, opakovatelnou metodu, kterou lze použít jak pro stanovení celkových, tak pro stanovení jednotlivých glykoalkaloidů. Odlišný způsob detekce zvolili ve svých studiích např. autoři Bejarano et al. (2000) i Romanucci et al. (2016), kteří upřednostnili UV-VIS spektrometr. Stejný způsob detekce jako v této diplomové práci zvolili autoři Andre et al. (2009). Cahill et al. (2010) uvádí LC-MS/MS jako jednu z metod vyvinutých pro stanovení glykoalkaloidů, jako další zmiňují GC-MS a kapilární elektroforézu s MS detektorem.

6.2 Odrůdy brambor obsahují rozdílná množství glykoalkaloidů a tento obsah je geneticky podmíněn

V této diplomové práci byl stanoven obsah glykoalkaloidů ve čtyřech různých odrůdách brambor – Marabel, Milva, Laura a Valfi. Po zpracování výsledků se potvrdilo, že obsah α -solaninu i α -chaconinu je u každé odrůdy odlišný, a tento rozdíl je statisticky významný.

Nejvíce α -solaninu i α -chaconinu obsahovala odrůda Laura, nejméně α -solaninu obsahovala odrůda Milva a nejméně α -chaconinu odrůda Marabel. K velmi podobným závěrům došli i autoři Romanucci et al. (2016), kteří stanovovali obsah obou glykoalkaloidů v celkem 15 odrůdách brambor, z toho také v odrůdách Laura, Marabel a Milva. Stanovení glykoalkaloidů ihned po sklizni odpovídá výsledkům stanovení v této diplomové práci, především co se úrovně obsahů týče – odrůda Laura obsahovala nejvíce obou glykoalkaloidů ze tří zmíněných odrůd a odrůda Marabel obsahovala nejméně α -chaconinu ze tří zmíněných

odrud. Nicméně pokud se zaměříme na přesná množství jednotlivých glykoalkaloidů, zde se již obsahy liší. Z grafů číslo 6 a 7 v této diplomové práci je patrné, že množství glykoalkaloidů ve sklizených hlízách v roce 2017 a 2018 bylo odlišné.

Papathanasiou et al. (1999) zkoumali obsah α -solaninu i α -chaconinu ve dvou odlišných odrůdách (Estima, Pentland Dell) v letech 1994 a 1995. Ve své studii potvrzují, že obsah obou glykoalkaloidů je odlišný v závislosti na odrůdě. Navíc odrůda Pentland Dell měla vyšší (pro α -chaconin dojnásobný) obsah celkových glykoalkaloidů v roce 1995 než v roce 1994. Autoři uvádí, že důvod tohoto nárůstu není přesně znám, ovšem usuzují, že byl pravděpodobně způsoben výrazně teplejšími a suššími podmínkami pěstování v roce 1995.

Můžeme tedy potvrdit, že různé odrůdy brambor obsahují rozdílná množství glykoalkaloidů. Jak již bylo zmíněno výše, kulturní brambory jsou množeny vegetativně, tedy dochází k množení stále stejné rostliny. Přesto však nelze očekávat, že v jednotlivých oblastech či letech budou mít hlízy určité odrůdy stále stejný výchozí obsah glykoalkaloidů. Z toho lze usoudit, že vnější vlivy, které působí na rostlinu během pěstování, do jisté míry ovlivňují obsah celkových glykoalkaloidů v rostlinách brambor.

6.3 Vodní stres suchem či přemokřením mění obsah glykoalkaloidů, přičemž odrůdy reagují na stres odlišným způsobem

Jako první krok pro zjištění závislosti mezi působením typu závlahy a obsahem glykoalkaloidů byla provedena korelační analýza, jejíž výsledek je uveden v tabulce č. 7. Závislost mezi těmito proměnnými se nepotvrdila, i přesto je však z tabulky zřetelná silná závislost mezi obsahem α -solaninu a α -chaconinu. Jednofaktorová ANOVA potvrdila, že vliv způsobu závlahy na obsah glykoalkaloidů není z výsledků této diplomové práce statisticky průkazný.

Pokud se zaměříme na grafy č. 8 a 9 a porovnáme je s grafy č. 10 a 11, nelze si nevšimnout, že v roce 2018 došlo pravděpodobně k záměně vzorků, nejspíš již v době jejich sklizně. Je velmi nepravděpodobné, že by hlízy jedné odrůdy, pěstované za řízených podmínek ve dvou po sobě jdoucích letech, vykazovaly tak rozdílné reakce v obsahu glykoalkaloidů. Například odrůda Laura, která ze všech testovaných odrůd obsahuje nejvíce glykoalkaloidů, vykazuje podobné hodnoty kontroly v obsahu solaninu v letech 2017 (462 $\mu\text{g/g}$ sušiny) i 2018 (416 $\mu\text{g/g}$ sušiny). Je těžké si představit, že by se v roce 2017 při působení sucha zvýšil obsah solaninu na 813 $\mu\text{g/g}$ sušiny, zatímco při zamokření ve stejném roce by dosahoval obsah solaninu pouhých 381 $\mu\text{g/g}$ sušiny a následně při zachování podmínek pěstování by v roce 2018

obsah solaninu klesl na 388 $\mu\text{g/g}$ sušiny při působení sucha a zvýšil se na 723 $\mu\text{g/g}$ sušiny během zamokření. Vzhledem k nápadně podobným hodnotám jednotlivých variant lze usoudit, že u odrůdy Laura došlo k záměně vzorků vystavených působení sucha za vzorky vystavené působení zamokření.

Pokud se tedy zaměříme pouze na výsledky z roku 2017, i přesto, že vliv variant závlahy na obsah glykoalkaloidů není statisticky průkazný, trend zvýšení α -solaninu a α -chaconinu při působení sucha a naopak mírné snížení těchto látek při zamokření je zjevný z grafů č. 8 a 9. Z těchto grafů je také patrné, že každá odrůda reaguje odlišně. I když ze závěrů dvoufaktorové ANOVY uvedených v tabulkách č. 9 a 10 víme, že působení variant závlahy a odrůdy nemělo statisticky významný vliv na obsah glykoalkaloidů v hlízách, přesto v grafu č. 9 můžeme pozorovat, že zatímco u odrůdy Laura dochází k téměř dvojnásobnému zvýšení obsahu α -solaninu při působení sucha, u odrůdy Valfi došlo ke zvýšení o pouhých 47 $\mu\text{g/g}$ sušiny.

Skutečnost, že odrůdy reagují na stres suchem co do obsahu glykoalkaloidů odlišně, potvrzují ve své studii i Papathanasiou et al. (1999). Zatímco u odrůdy British Queen došlo k výraznému zvýšení obsahu GA v hlízách vystavených působení sucha oproti hlízám s normální závlahou, další dvě zkoumané odrůdy, jejichž hlízy měly přibližně stejnou velikost, nevykazovaly žádné zřetelné změny v obsahu GA u hlíz vystavených suchu oproti hlízám s normální závlahou. Papathanasiou et al. (1999) dále uvádí, že statisticky průkazné bylo jak zvýšení hladiny GA v hlízách odrůdy British Queen zatížené suchem, tak současně snížení obsahu GA u hlíz odrůdy Home Guard taktéž zatížených suchem. Andre et al. (2009) taktéž potvrzují, že hladina glykoalkaloidů v hlízách vystavených suchu se mění v závislosti na odrůdě. V závěrech své studie uvádí, že u dvou z pěti zkoumaných odrůd brambor nedošlo k výrazné změně obsahu GA v hlízách vystavených suchem oproti kontrole, zatímco u tří z pěti zkoumaných odrůd došlo ke zvýšení obsahu celkových GA u hlíz zatížených suchem oproti kontrole. Obdobné závěry uvádí také Bejarano et al. (2000), kteří zkoumali vliv stresu suchem na obsah glykoalkaloidů v hlízách (konkrétně ve slupce a dužině). Autoři v závěru práce uvádí, že bylo zajímavé pozorovat velice rozdílné reakce odrůd vzhledem ke změnám obsahu GA hlíz pod vlivem sucha. Největší nárůst zaznamenali u odrůdy Desiree, u které se obsah celkových glykoalkaloidů (α -solaninu a α -chaconinu) zvýšil o 75 %. Obsah GA v hlízách odrůdy Potosina naopak zůstal zcela nezměněn během působení sucha.

Pokud se zaměříme na tabulku č. 7 v této diplomové práci, která zobrazuje výsledek korelační analýzy pro zjištění závislosti mezi obsahem glykoalkaloidu a variantou závlahy, můžeme v ní pozorovat silnou lineární závislost mezi α -solaninem a α -chaconinem. Tento jev

souhlasí s tvrzením, které uvádí Andre et al. (2009), že sucho nemělo vliv na vzájemný poměr obsahu α -solaninu a α -chaconinu.

Vzhledem k počtu zkoumaných vzorků v této diplomové práci nebylo možné podrobit výsledky hlubšímu statistickému zkoumání. I když z grafů jsou tendence změn obsahů jednotlivých glykoalkaloidů patrné, bohužel nebyly statisticky průkazné, jako tomu bylo v několika jiných výše zmíněných studiích. Pro více specifické závěry by bylo nutné analyzovat větší počet vzorků a jejich opakování. Pak by bylo možné například vyhodnotit statisticky významné změny obsahu α -solaninu a α -chaconinu pro jednotlivé odrůdy zvlášť a odhalit tak potenciálně nevhodné odrůdy pro pěstování v oblastech s častým výskytem sucha.

7 Závěr

- Předmětem zkoumání této diplomové práce byl obsah glykoalkaloidů v hlízách brambor (*Solanum tuberosum* L.). Cílem bylo obsah těchto látek stanovit a poté vyhodnotit, jak je ovlivněn v závislosti na několika faktorech.
- Na základě analýzy byla potvrzena hypotéza, že odlišné odrůdy brambor obsahují rozdílná množství glykoalkaloidů α -solaninu a α -chaconinu a tento obsah je geneticky podmíněn. Změny obsahu glykoalkaloidů u daných odrůd mohou nastat působením vnějších vlivů během pěstování.
- Zpracování výsledků nepotvrdilo hypotézu, podle které stres suchem či přemokřením mění obsah glykoalkaloidů, přičemž odrůdy reagují na stres odlišným způsobem. Bylo pouze možné pozorovat trend zvýšení nebo snížení obsahu glykoalkaloidů v závislosti na suchu nebo přemokření.
- Vzhledem k rozdílnému obsahu glykoalkaloidů v pěstovaných odrůdách brambor a vzhledem k faktu, že v řadě studií byl prokázán vliv nejen sucha, ale i řady dalších faktorů na zvyšování obsahu glykoalkaloidů v hlízách brambor, je vhodné vyhnout se v oblastech s výskytem sucha odrůdám s geneticky daným vysokým obsahem glykoalkaloidů.

8 Literatura

- Alting, A.C., Pouvreau, L., Giuseppin, M.L.F., van Nieuwenhuijzen, N.H. 2011. Chapter 12 - Potato proteins. In: Phillips, G.O., Williams, P.A. (eds.) Handbook of Food Proteins. Woodhead Publishing. Cambridge. p.316-334. ISBN: 978-1-84569-758-7.
- Andre, C. M., Schafleitner, R., Guignard, C., Oufir, M., Aliaga, C. A. A., Nomberto, G., Larondelle, Y. 2009. Modification of the Health-Promoting Value of Potato Tubers Field Grown under Drought Stress: Emphasis on Dietary Antioxidant and Glycoalkaloid Contents in Five Native Andean Cultivars (*Solanum tuberosum* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 57(2). 599–609.
- Barceloux, D. G. 2009. Potatoes, Tomatoes, and Solanine Toxicity (*Solanum tuberosum* L., *Solanum lycopersicum* L.). Disease-a-month. 55 (6). 391-402.
- Bejarano L., Mignolet, E., Devaux A., Espinola, N., Carrasco, E., Larondelle, Y. 2000. Glycoalkaloids in potato tubers: the effect of variety and drought stress on the α -solanine and α -chaconine contents of potatoes. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80 (14). 2096-2100.
- Bergenstråhle, A. 1995. Glykoalkaloid Synthesis in Potato Tubers. Sveriges Lantbruksuniversitet. Uppsala. 28 s. ISBN: 91-576-4963-4.
- Bertoft, E., Blennow, A. 2009. Chapter 4 - Structure of Potato Starch. In: Jaspreet, S., Lovedeep, K. (eds.). Advances in Potato Chemistry and Technology. Academic Press. San Diego.p.83-98. ISBN: 978-0-12-374349-7.
- Bond, J.K. 2014. Potato Utilization and Markets. In: Navarre, R., Pavek, M. (eds.). The Potato botany, production and uses. CAB International. Boston. p.29-45. ISBN: 978-1-78064-280-2.
- Brown, C.R. 2008. Breeding for Phytonutrient Enhancement of Potato. American Journal of Potato Research. 85(4). 298-307.
- Bushway, R.J. 1982. High-performance liquid chromatographic determination of the metabolites of the potato glycoalkaloids, α -chaconine and α -solanine, in potato tubers and potato products. Journal of liquid chromatography. 5(7). 1313-1322.
- Bushway, R.J., Storch, R.H. 1982. Semi-preparative high-performance liquid chromatographic separation of potato glycoalkaloids. Journal of liquid chromatography. 5(4). 731-742.

- Cahill, M. G., Caprioli, G., Vittori, S., James, K. J. 2010. Elucidation of the mass fragmentation pathways of potato glycoalkaloids and aglycons using Orbitrap mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*. 45(9). 1019–1025.
- Crusciol, C. A. C., Pulz, A. L., Lemos, L. B., Soratto, R. P., Lima, G. P. P. 2009. Effects of Silicon and Drought Stress on Tuber Yield and Leaf Biochemical Characteristics in Potato. *Crop Science*. 49(3). 949-954.
- Českomoravský svaz šlechtitelů. 2010. České odrůdy konzumních brambor. Vydal Českomoravský svaz šlechtitelů, Přízová 8-10, Brno. 16 s.
- ČSÚ. Spotřeba potravin – 2017 [online]. Český statistický úřad. 4. prosince 2018 [cit. 2019-01-27]. Dostupné z <<https://www.czso.cz/csu/czso/spotreba-potravin-2017>>.
- EUROPLANT šlechtitelská spol. s.r.o. 2003. Přehled odrůd konzumních brambor. Horní Počernice.
- Europlant šlechtitelská, s. r. o. Katalog odrůd brambor [online]. Europlant šlechtitelská, s. r. o. 2018 [cit. 2019-01-19]. Dostupné z <<https://europlant.cz/katalog-odrud>>.
- Evers, D., Lefèvre, I., Legay, S., Lamoureux, D., Hausman, J.-F., Rosales, R. O. G., Schafleitner, R. 2010. Identification of drought-responsive compounds in potato through a combined transcriptomic and targeted metabolite approach. *Journal of Experimental Botany*. 61(9). 2327–2343.
- Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A., Siddique, K. H. M. 2012. Drought Stress in Plants: An Overview. In: Aroca, R. (ed.) *Plant Responses to Drought Stress From morphological to Molecular Features*. Springer-Verlag. Heidelberg. p. 1-37. ISBN 978-3-642-32652-3.
- Friendam, M., Levin, C.E. 2016. Chapter 7 – Glycoalkaloids and Calystegine Alkaloids in Potatoes. In: Jaspreet, S., Lovedeep, K. (eds.). *Advances in Potato Chemistry and Technology (Second Edition)*. Academic Press. San Diego. p.167-194. ISBN: 9780128000021.
- Friedman, M., McDonald, G. M., Filadelfi-Keszi, M. 1997. Potato Glycoalkaloids: Chemistry, Analysis, Safety, and Plant Physiology. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 16(1). 55–132.
- George, T. S., Taylor, M. A., Dodd, I. C., White, P. J. 2017. Climate Change and Consequences for Potato Production: a Review of Tolerance to Emerging Abiotic Stress. *Potato Research*. 60(3). 239–268.

- Hruška, L., Beránek, J., Míča, B. 1974. Brambory. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 416 s.
- Jarén, C., López, A., Arazuri, S. 2016. Chapter 19 - Advanced Analytical Techniques for Quality Evaluation of Potato and Its Products. In: Jaspreet, S., Lovedeep, K. (eds.). Advances in Potato Chemistry and Technology (Second Edition). Academic Press. San Diego. p.563-602. ISBN: 9780128000021.
- Karboune, S., Waglay, A. 2016. Chapter 4 - Potato Proteins: Functional Food Ingredients. In: Jaspreet, S., Lovedeep, K. (eds.). Advances in Potato Chemistry and Technology (Second Edition). Academic Press. San Diego. p.75-104. ISBN: 9780128000021.
- Knipp, G., Honermeier, B. 2006. Effect of water stress on proline accumulation of genetically modified potatoes (*Solanum tuberosum* L.) generating fructans. Journal of Plant Physiology. 163(4). 392–397.
- Korpan, Y.I., Nazarenko, E.A., Skryshevskaya, I.V., Martelet, C., Jaffrezic-Renault, N., El'skaya, A.V. 2004. Potato glycoalkaloids: true safety or false sense of security?. Trends in Biotechnology. 22(3). 147-151.
- Kozukue, N., Friedman, M., Lee, K., Kim, H., Lee, I. 2005. Anticarcinogenic Effects of Glycoalkaloids from Potatoes against Human Cervical, Liver, Lymphoma, and Stomach Cancer Cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53 (15). 6162-6169.
- Langkilde, S., Mandimika, T., Schrøder, M., Meyer, O., Slob, W., Peijnenburg, A., Poulsen, M. 2009. A 28-day repeat dose toxicity study of steroidal glycoalkaloids, α -solanine and α -chaconine in the Syrian Golden hamster. Food and Chemical Toxicology. 47 (6). 1099-1108.
- Lee, K., Kozukue, N., Han, J., Park, J., Chang, E., Baek, E., Friedman, M. 2004. Glycoalkaloids and Metabolites Inhibit the Growth of Human Colon (HT29) and Liver (HepG2) Cancer Cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52 (10). 20832-2839.
- Levy, D., Coleman, W.K., Veilleux, R.E. 2013. Adaptation of Potato to Water Shortage: Irrigation Management and Enhancement of Tolerance to Drought and Salinity. American Journal of Potato Research. 90(2). 186-206.
- Levy, D., Rabinowitch, H.D. 2017. Potatoes. Encyclopedia of Applied Plant Sciences (Second Edition). 3. 39-44.

- Mensinga, T.T., Sips, A.J.A.M., Rompelberg, C.J.M., Twillert, K., Meulenbelt, J., Top, H.J., Egmond, H.P. 2005. Potato glycoalkaloids and adverse effects in humans: an ascending dose study. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 41 (1). 66-72.
- Navarre, D. A., Brown, C. R., Sathuvalli, V. R. 2019. Potato Vitamins, Minerals and Phytonutrients from a Plant Biology Perspective. *American Journal of Potato Research*.
- Navarre, D., Goyer, A., Payyavula, R., Hellman, H. 2014. Nutritional Characteristics of Potato. In: Navarre, R., Pavek, M. (eds.). *The Potato botany, production and uses*. CAB International. Boston. p.310-345. ISBN: 978-1-78064-280-2.
- Navarre, D.A., Shakya, R., Hellmann, H. 2016. Chapter 6 – Vitamins, Phytonutrients, and Minerals in Potato. In: Jaspreet, S., Lovedeep, K. (eds.). *Advances in Potato Chemistry and Technology (Second Edition)*. Academic Press. San Diego. p.117-166. ISBN: 780128000021.
- Obidiegwu, J. E., Bryan, G.J., Jones, H.G., Prashar, A. 2015. Coping with drought: stress and adaptive responses in potato and perspectives for improvement. *Frontiers in Plant Science*. 6(542). 1-23.
- Osman, S.F. 1983. Glycoalkaloids in potatoes. *Food Chemistry*. 11 (4). 235-247.
- Papathanasiou, F., Mitchell, S. H., Harvey, B. M. R. 1999. Variation in glycoalkaloid concentration of potato tubers harvested from mature plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 79(1). 32–36.
- Papathanasiou, F., Mitchell, S. H., Watson, S., Harvey, B. M. 1999. Effect of environmental stress during tuber development on accumulation of glycoalkaloids in potato (*Solanum tuberosum* L). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 79(9). 1183–1189.
- Ramadan, F.M. 2016. Chapter 5 – Potato lipids. In: Jaspreet, S., Lovedeep, K. (eds.). *Advances in Potato Chemistry and Technology (Second Edition)*. Academic Press. San Diego. p.105-116. ISBN: 9780128000021.
- Raymundo, R., Asseng, S., Robertson, R., Petsakos, A., Hoogenboom, G., Quiroz, R., Hareau, G., Wolf, J. 2018. Climate change impact on global potato production. *European Journal of Agronomy*. 100. 87-98.
- Romano, A., Masi, P., Aversano, R., Carucci, F., Palomba, S., Carputo, D. 2018. Microstructure and tuber properties of potato varieties with different genetic profiles. *Food Chemistry*. 239. 789–796.

- Romanucci, V., Pisanti, A., Di Fabio, G., Davinelli, S., Scapagnini, G., Guaragna, A., Zarrelli, A. 2016. Toxin levels in different variety of potatoes: Alarming contents of α -chaconine. *Phytochemistry Letters*. 16. 103–107.
- Ruprich, J., Rehurkova, I., Boon, P.E., Svensson, K., Moussavian, S., Van der Voet, H., Bosgra, S., Van Klaveren, J.D., Busk, L. 2009. Probabilistic modelling of exposure doses and implications for health risk characterization: Glycoalkaloids from potatoes. *Food and Chemical Toxicology*. 47 (12). 2899-2905.
- Skrabule, I., Muceniece, R., & Kirhnere, I. 2013. Evaluation of Vitamins and Glycoalkaloids in Potato Genotypes Grown Under Organic and Conventional Farming Systems. *Potato Research*. 56(4). 259–276.
- Smith, D.B., Roddick, J.G., Jones, J.L. 1996. Potato glycoalkaloids: Some unanswered questions. *Trends in Food Science & Technology*. 7(4). 126-131.
- Talburt, W.F., Burr, H.K., Schwimmer, S. 1987. Structure and Chemical Composition of the Potato Tuber. In: Smith, O., Talburt, W.F. (eds.). *Potato processing Fourth Edition*. An AVI Book. New York. p.11-46. ISBN: 0-442-28315-6.
- Vokál, B., Cvrček, M., Čepl, J., Čížek, M., Domkářová, J., Fér, J., Hausvater, E., Králíček, J., Prugar, J., Rasocha, V., Zrůst, J. 2000. *Brambory*. Agrospoj. Praha. 245 s.
- Vokál, B., Čepl, J., Hausvater, E., Rasocha, V. 2003. *Pěstujeme brambory*. Grada Publishing a. s. Praha. 103 s. ISBN: 80-247-0567-2.