

BIOLOGICKÁ A CHEMICKÁ VARIABILITA MAKY A JAKONU

ALEŠ LEBEDA^a, IVANA DOLEŽALOVÁ^a,
KATEŘINA VALENTOVÁ^b,
MARTA DZIECHCIARKOVÁ^a,
MARIE GREPLOVÁ^c, HANA OPATOVÁ^d
a JITKA ULRICHOVÁ^b

^aKatedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc, ^bÚstav lékařské chemie a biochemie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc, ^cVýzkumný ústav bramborářský, s.r.o., Dobrovského 2366, 580 01 Havlíčkův Brod, ^dÚstav konzervace potravin a technologie masa, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3, 166 28 Praha 6
e-mail: lebeda@prfholnt.upol.cz

Došlo 7.4.03, přepracováno 20.5.03, přijato 28.5.03.

Klíčová slova: andské plodiny, *Lepidium meyenii*, *Smallanthus sonchifolius*, morfologické a výnosové znaky, *in vitro* kultury, isoenzymy, obsahové látky, funkční potraviny

Obsah

1. Úvod
2. Variabilita morfologických a výnosových znaků
3. Pěstování maky *in vitro*
4. Polymorfismus isoenzymů
5. Analýza obsahových látek a jejich účinky
6. Technologie zpracování hlíz jakonu
7. Závěr

1. Úvod

V souvislosti s otevřením trhu začátkem 90. let 20. století a jeho obohacením o nové druhy ovoce a zeleniny pocházející z různých geografických oblastí světa, byly znovu objeveny plodiny u nás do té doby jen velmi málo známé. Zatímco obě zeleniny maky (*Lepidium meyenii* Walp.) i jakon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robins.) byly po druhé světové válce oblíbeny a pěstovány hlavně v západní Evropě (Itálie, Německo), do České republiky byly dovezeny až v roce 1993, a možnost jejich pěstování ověřena poprvé v roce 1995 (cit.^{1,2}). Je skutečností, že popularita především jakonu, ale i maky značně vzrostla, a to díky antidiabetickým, nutričním, imunostimulačním a plodnost zvyšujícím vlastnostem jejich podzemních orgánů. Základní dostupné informace týkající se botanických vlastností, biologie a obsahových látek u obou druhů byly přehledně zpracovány v samostatném článku³. Předmětem této práce je shrnutí experimentálních poznatků autorů získaných v letech 2001 a 2002, které se týkají morfologické variability, výnosových parametrů, pěstování v podmínkách *in vitro*, variability proteinových markerů a někte-

rých nutričně významných látek u obou druhů rostlin doplněných o nejnovější údaje ze světové literatury. Poznatky o uvedených znacích a vlastnostech byly dosud poměrně omezené³⁻⁵. Proto hlubší poznání těchto znaků a vlastností představuje důležitou část komplexního výzkumu maky a jakonu realizovaného v ČR, jehož cílem bylo využití těchto plodin jako potenciálních funkčních potravin a potravních doplňků dostupných široké veřejnosti³.

2. Variabilita morfologických a výnosových znaků

Studovaný jedinečný soubor zahrnoval 15 genotypů maky (*Lepidium meyenii* Walp.) (tabulka I) pocházejících z Peru a 25 genotypů jakonu (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robins.) (tabulka I) dovezených z Nového Zélandu (primárním centrem původu je však Ekvádor). Tyto genotypy

Tabulka I
Variabilita tvaru (morfotypu) podzemních částí maky a jakonu pěstovaných v letech 2001 a 2002

Morfotyp	Rok pěstování/číslo genotypu	
	2001	2002
<i>Hypokotyly maky (L. meyenii), hodnoceno podle cit.¹⁰</i>		
„Kimsa kucho“	13,146	314
„Raku chupa“	13,29,136,145,146, 151,153, 168,265, 280,290,310,314	136,145,151,153, 265,290,Unalm
„Aqochinchay“	136,145,168,290,314	146,265,280
„Achka chupa“	145	
„Ruyru“		168
<i>Kořenové hlízy jakonu (S. sonchifolius), hodnoceno podle cit.²</i>		
1	84	
2		18
4	28,47,51,88,1237	18,25,28,47,51, 57,60,75,83,88, 92,1237
5	5,31,60,74,83,85,92	5,6,17,20,22,25, 31,57,68,85,1237
7	25	
8	83	88
11		17,22,64,68,75, 85,88,92,1237
12	18,22,57,75,88,90	6,18,12,20,25,28, 31,51,60,74,75,84, 88, 90,92, 1237
14	6,17,18,20,22,48, 64,68,83,84	17,18,31,14,48,60, 64,68,74,83,84,88

jsou uchovávány jako genové zdroje perspektivních plodin ve Výzkumném ústavu bramborářském, s.r.o., v Havlíčkově Brodě.

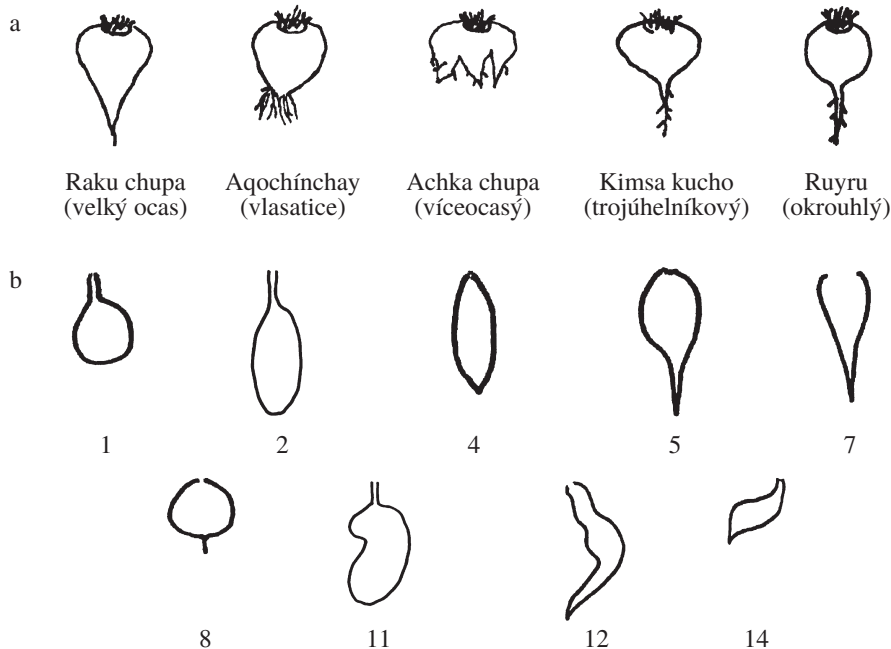
Rostliny byly pěstovány a hodnoceny (květen–říjen 2001 a 2002) v polních podmínkách regionu Haná (Olomouc–Holice, nadmořská výška 210 m). V průběhu vegetace byla průměrná denní teplota v roce 2001 16,3 °C, srážky 271,4 mm; v roce 2002 16,4 °C a srážky činily 387,9 mm. Maka byla pěstována na černé netkané textilii ve sponu 45×45 cm. Každý genotyp byl zastoupen 10 rostlinami. Paralelně byly některé genotypy maky pěstovány ve skleníku (teplota přes den 18–30 °C, v noci 12–16 °C). V roce 2002 byla maka pěstována bez textilie. V bezprostředním okolí rostlin pěstovaných na folii docházelo k přehřívání folie a půdy, což bylo spojeno s úžehem spodních listů růžice maky. Jakon byl pěstován v hrůbčích, 5 rostlin od každého genotypu, ve sponu 70×70 cm. V průběhu vegetace byl porost ošetřován tradiční agrotechnikou⁶.

Během vegetace byla u obou druhů sledována variabilita nadzemní a podzemní části rostlin^{6–9}. V době sklizně byla u genotypů maky stanovena hmotnost a proveden popis tvaru hypokotyly podle platného deskriptoru¹⁰ s přihlédnutím na morfologický deskriptor ředkvičky¹¹. U podzemní části jakonu byla zjišťována hmotnost kořenových hlíz a kaudexů. Tvar kořenových hlíz byl popsán podle základního morfologického deskriptoru².

Morfologická variabilita hypokotylů maky byla výrazně závislá na ročníku pěstování. U studovaného souboru genotypů maky bylo během obou vegetačních sezón popsáno celkem pět základních tvarů (morfortypů) hypokotyly (tabulka I, obr. 1a). Nejčastější morfortyp maky v roce 2001 „Raku chupa“ byl zaznamenán u 13 genotypů, tvar „Aqochínchay“ u pěti genotypů (tabulka I). Ve druhém roce pěstování patřil k nejčastěji se vyskytujícím morfortypům opět „Raku chupa“ (cel-

kem 17 genotypů), dále pak „Aqochínchay“ (tabulka I). Zároveň u většiny genotypů byly morfortypy hypokotyly variabilní, pouze u šesti genotypů zůstal původní tvar „Aqochínchay“ nezměněn (tabulka I). Z dosud získaných výsledků vyplývá otázka stability, resp. nestability tohoto znaku, tzn. zda si některé genotypy uchovávají svůj morfortyp v různých podmínkách prostředí, nebo jej mění v závislosti na klimatických a půdních faktorech. Rovněž v hmotnosti hypokotylů maky byla zjištěna značná variabilita (obr. 2a). V roce 2001 měly největší hmotnost hypokotyly genotypy 145 a 168, naopak u genotypů 29 a 265 byla zjištěna nejmenší hmotnost hypokotyly^{6–9}. Ve druhém roce pěstování se jako neúspěšnější jeví genotypy 280 a 265, nejmenší hmotnost hypokotyly měly genotypy 310 a Unalm amarylla (obr. 2a). Největší hmotnost hypokotyly byla v obou letech pěstování zaznamenána u genotypu 265. Ve druhém roce pokusu však byly hodnoceny rostliny, které se vysazovaly na pole až v září, takže hypokotyly byly ve srovnání s prvním rokem malé.

U souboru genotypů jakonu bylo zaznamenáno celkem devět základních morfortypů hlíz (tabulka I, obr. 1b). V roce 2001 byly nejčastěji popsány morfortypy 14, 12, 5 a morfortyp 4. Morfortypy 1, 7 a 8 měl pouze jeden genotyp jakonu^{6–9} (tabulka I). V roce 2002 (tabulka I) se nejčastěji vyskytovaly morfortypy 12, 14, 5, 4 a 11. Morfortypy 2 a 8 byly zaznamenány pouze u jednoho genotypu. Zajímavé je, že u deseti genotypů byly popsány více než dva morfortypy kořenových hlíz, v případě genotypu 88 dokonce pět (tabulka I). Tato skutečnost je rozdílná ve srovnání s rokem 2001, kdy byly jednotlivé genotypy jakonu podstatně homogennější z hlediska morfologické variability tvaru hlíz. Pouze malá část genotypů studovaného souboru měla jednotný tvar hlíz (morfortypy 4, 5, 12 a 14) v obou letech pěstování. V roce 2002 byly nově popsány morfortypy 2 a 11, které se v předchozím roce nevyskytovaly, naopak nebyly zaznamenány morfortypy 1 a 7. Z dosud získa-



Obr. 1. Základní tvary (morfortypy) maky a jakonu zjištěné při studiu morfologické variability; a – hypokotyly maky (*L. meyenii*), podle cit.¹⁰, b – kořenové hlízy jakonu (*S. sonchifolius*), podle cit.²

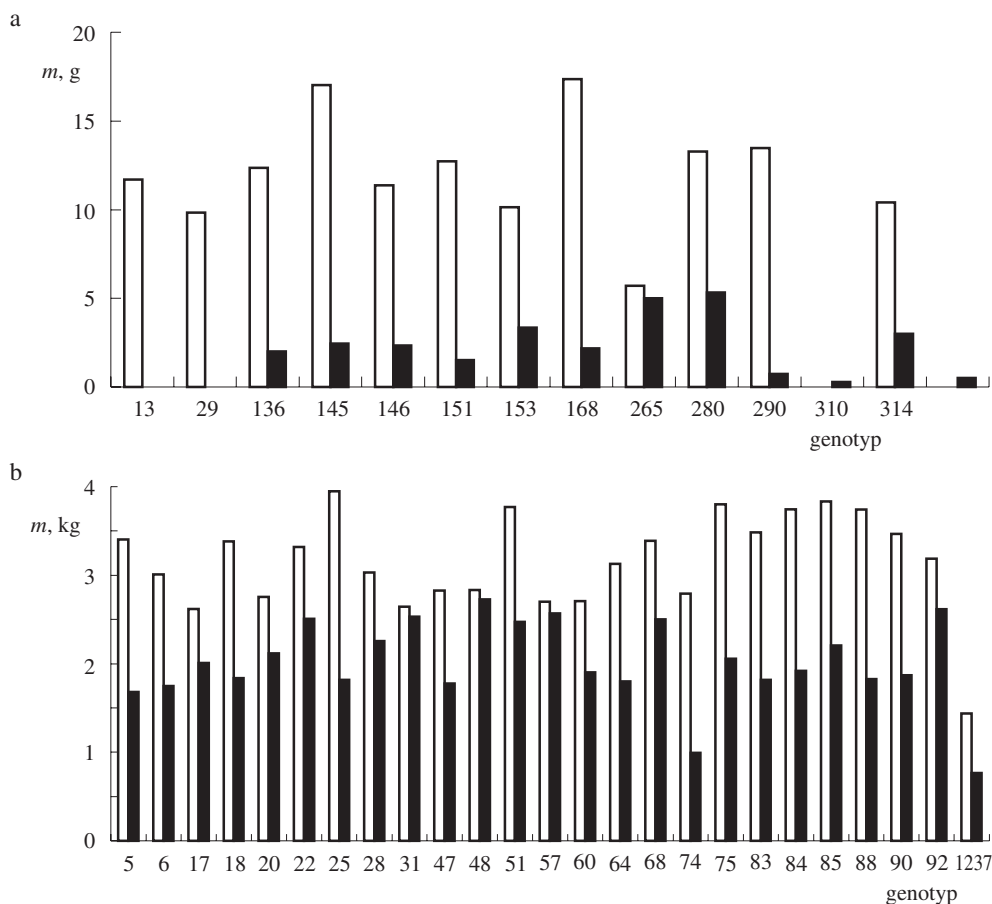
ných výsledků je zřejmé, že stabilita tohoto znaku je poměrně malá a je významně závislá na podmínkách prostředí. Hmotnost kořenových hlíz jakonu se ukázala jako velmi variabilní vlastnost a to jednak mezi jednotlivými genotypy, ale i v rámci ročníků (obr. 2b). V roce 2001 patřily k nejvýnosnějším genotypy 25, 51, 75 a 85, naopak genotyp 1237 měl hmotnost hlíz nejmenší⁶⁻⁹. Podstatně menší byla produkce kořenových hlíz v roce 2002. Nejvýnosnější genotypy byly 48, 92 a 57. Stejně jako v předešlém roce, nejméně výnosný byl genotyp 1237.

Z uvedených výsledků je zřejmé, že u obou rostlin existuje mezi jednotlivými genotypy značná morfologická a výnosová variabilita, která je významně ovlivňována podmínkami prostředí. Vzhledem k tomu, že se jedná o první výsledky zjištěné během dvou let experimentální práce, nelze z nich dělat jednoznačné závěry z hlediska homogenity, stability a vlivu faktorů prostředí. Ukazuje se však, že podmínky prostředí střední Evropy pro pěstování maky nejsou zcela optimální a jejich výkyvy výrazně ovlivňují nejen výnos, ale i kvalitu produktu.

3. Pěstování maky *in vitro*

Experimenty s pěstováním maky v podmínkách *in vitro* byly zahájeny v roce 2001. Maka je v našich podmínkách

dvouletá plodina, která v prvním roce vytváří přízemní listovou růžici, v druhém roce kvete a produkuje semena. Přestože maka poskytuje množství semen, její pěstování v podmínkách *in vitro* nebylo studováno. *In vitro* udržování a klonování maky považujeme za účelné a nezbytné pro případné další výzkumné záměry. Pro zavedení do kultury *in vitro* byla použita povrchově desinfikovaná semena (velikost 0,8 mm). Nejlepší výsledky klíčení byly dosaženy na standardním MS médiu¹² bez přídavku růstových regulátorů. V průběhu 3–4 dnů došlo ke klíčení a vývoji děložních listů. Na médiu MS lze rostlinky ponechat bez pasáže až 3 měsíce, během nichž postupně dochází k odumírání starých listů a přirůstání nových, a tím prodlužování epikotylu. Po zkrácení kořenů mohou být rostliny přeneseny (pasážovány) na čerstvé standardní MS médium, kde pokračují v růstu. Schopnost regenerace spících úžlabních pupenů na epikotylu souvisí s vitalitou daného genotypu. K podpoře růstu výchozích rostlin byl testován přípravek Alar 85 (dimethylhydrazid kyseliny jantarové, SADH) v dávkce 0,1–1,5 mg.l⁻¹ média a kinetin (6-furfurylaminopurin, KIN) v koncentraci 0,1–10 μM. Je známo, že Alar a KIN mohou podporovat tvorbu chlorofylu a zpomalovat stárnutí (senescenci) rostlin, KIN navíc stimuluje tvorbu nových pupenů^{13,14}. Na médiu s Alarem se tvořil větší počet zelených listů (5–6), na médiu s KIN byl počet listů stejný jako u kontroly (3–4), ale listy byly mohutnější. Při převodu rostlin



Obr. 2. Srovnání průměrné hmotnosti podzemních částí maky a jakonu u rostlinných genotypů pěstovaných v letech 2001 (□) a 2002 (■) (hodnoceny hypokotylu rostlin vysetých v červnu 2002); a – hypokotylu maky (*L. meyenii*), b – kořenové hlízy jakonu (*S. sonchifolius*)

z média o nižší koncentraci KIN (0,1 μM , resp. 0,5 μM) na médium s jeho vyšší koncentrací (0,5 μM resp. 10 μM) došlo k prouzení úžlabních pupenů. Meristémy však byly malé, nedocházelo k jejich dalšímu růstu, a díky tomu se i obtížně extirpovaly (izolovaly). Pro stimulaci tvorby úžlabních pupenů byly testovány růstové regulátory 6-(benzylamino)purin (BAP), zeatin ((*E*)-2-methyl-4-(9*H*-purin-6-ylamino)but-2-en-1-ol, Z) a KIN v koncentračním rozmezí 0,2–1 μM . Při použití KIN se opakoval výše uvedený jev, podobné výsledky byly i na médiu s BAP. V obou případech byly získány maximálně tři prorůstající pupeny resp. meristémy na rostlinu, bez ohledu na použitou koncentraci. Na komerčním multiplikačním médiu A (Sigma) bylo dosaženo iniciace tvorby úžlabních pupenů v rozsahu 4–5 na rostlinu. Působení Z (0,8–1 μM) bylo efektivnější, celkem bylo dosaženo iniciace tvorby až 7 meristémů na rostlině. Nicméně i na tomto médiu došlo k předčasnému zastavení růstu a regenerace rostlin. K nejintenzivnějšímu prorůstání meristémů na epikotylu (a to i v případě kultivace samotného epikotylu bez kořenů a vrcholových listů) docházelo při kultivaci na médiu E podle Sheparda¹⁵, které obsahuje 0,5 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ BAP a 0,1 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ kyseliny gibberelové (GA3). Na tomto médiu došlo k prodlužovacímu růstu, který byl zárukou snadné extirpace meristémů, případně mladých rostlinek o velikosti 7–8 mm. Z uvedeného vyplývá potřeba ověřit vyšší dávku BAP (1,5–2 μM) v kombinaci se standardním MS médiem (nejvyšší testovaná dávka BAP byla 1 μM tj. 0,387 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ na rozdíl od 0,5 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ BAP v médiu E podle Sheparda¹⁵). Extirpované meristémy byly kultivovány na MS médiu s přidavkem: a) indol-3-ylacetic kyseliny (IAA, 2,3 μM), b) 1-naftylacetic kyseliny (NAA, 0,1 μM) (cit.¹⁶), c) vitamínů podle Gamborga¹⁷ a přidavkem 0,1 μM GA3, 0,1 μM IAA a 0,1 μM KIN, d) 4-indol-3-ylbutanové kyseliny (IBA, 1 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$), NAA (1 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) a 2,4-dichlorofenoxyacetic kyseliny (2,4-D, 0,1 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$), e) bílkovinných extraktů z pšenice, sóji a sójové sывátky v dávkách 50 $\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}$ média a f) L-askorbové kyseliny (5 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$), thiaminu (5 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) a CaCl_2 (44,1 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$). Všechna testovaná média se ukázala jako nevyhovující, ani na jednom z nich nedošlo k úplné

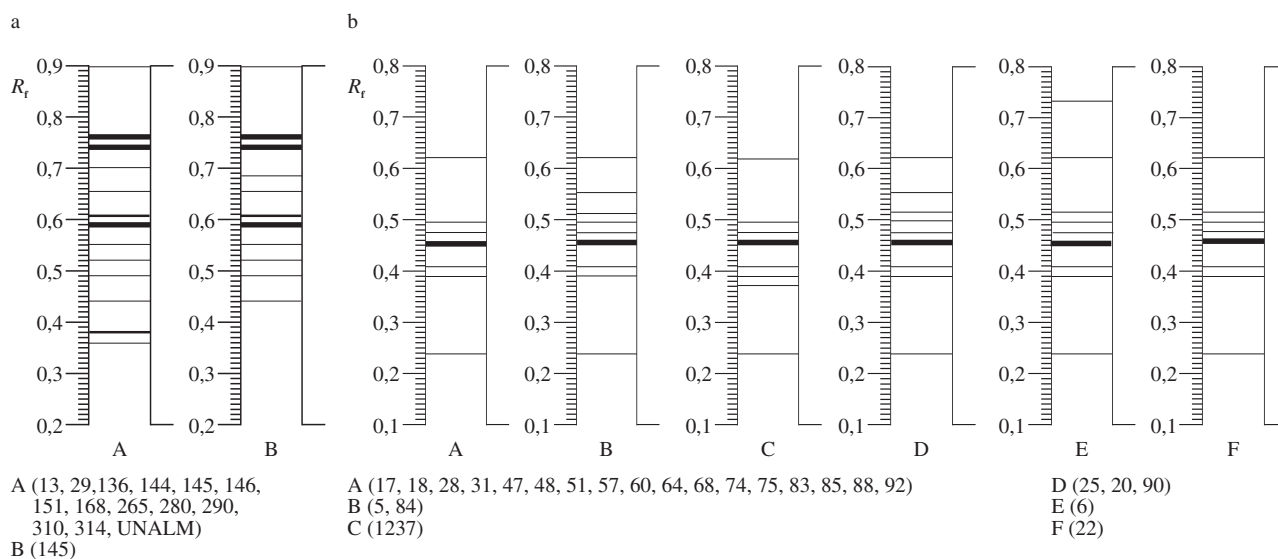
regeneraci rostlin. V současné době probíhá testování kultivace odebraných meristémů (mladých rostlinek) na plném MS médiu s přidavkem 0,02–0,1 μM NAA nebo 0,05–0,1 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ IAA nebo na poloviční koncentraci MS média s přidavkem 1–5 μM NAA. V několika případech bylo pozorováno kořenění, a to při dávce 2 nebo 3 μM NAA a 0,05 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ IAA.

Rostliny maky v podmínkách *in vitro* lze bez pasáže udržovat až 3 měsíce na MS médiu. Experimenty zaměřené na zjištění možnosti dlouhodobé kultivace maky *in vitro* ukázaly, že rostliny ponechané po dobu 10 měsíců na médiu bez pasáže (16 h fotoperioda, 21 °C) většinou zasychají. Pouze několik rostlin přežilo, přešlo do prodlužovacího růstu a vykvetlo. Při kultivaci v chladových podmínkách (10 °C a 8 h fotoperioda) nebyl pozorován zásadní vliv nízké teploty na prodloužení životnosti. U starších a opakovaně pasážovaných rostlin nastupovala rychleji senescence. Ukazuje se, že rostliny maky převedené z *in vitro* do *in vivo* podmínek jsou schopny dalšího růstu a vývoje.

4. Polymorfismus isoenzymů

Směsný vzorek pravých listů odebraných z přizemní růžice pěti mladých rostlin maky byl analyzován standardní metodou^{6,9,18} a PAGE gely byla specificky detegována aktivita 17 enzymů: alkoholdehydrogenasa (ADH), diaforasa (DIA), esterasa (EST), fosfoglukomutasa (PGM), glutamát-oxalacetáttransaminasa (GOT), glutamátdehydrogenasa (GDH), glukosofosfátisomerasa (GPI), glukosa-6-fosfátdehydrogenasa (GPD), kyselá fosfatasa (ACP), isocitrátdehydrogenasa (IDH), leucinaminopeptidasa (LAP), malátdehydrogenasa NAD^+ (MDH), malátdehydrogenasa NADP^+ (ME), NADH dehydrogenasa (NADH DH), superoxididismutasa (SOD), šikimátdehydrogenasa (SHDH), 6-fosfoglukonátdehydrogenasa (PGD).

Ze 17 enzymů stanovených u genotypů maky jich bylo pět vyloučeno (ADH, MDH, PGM, GPI, PGD), protože jejich výsledky nebylo možné interpretovat z důvodu špatné de-



Obr. 3. Zymogramy isoenzymových spekter esteras; a – *L. meyenii*, b – *S. sonchifolius*

tekce. Ze zbývajících 12 enzymů pouze esterasa (EST; EC 3.1.1.1.) vykazovala určitý, i když velmi nízký, stupeň polymorfismu, přičemž na jeho základě bylo možné genotypy maky rozdělit do dvou skupin (obr. 3a). V rámci celého souboru 12 enzymů bylo zaznamenáno 64 pruhů (isoforem). Zymogramy stanovených isoenzymových spekter EST jsou uvedeny na obr. 3a. I když byla u souboru genotypů *L. meyenii* zjištěna relativně velká variabilita v morfologických znacích hypokotylu i výnosových parametrech (tabulka I, obr. 1a, 2a), nelze ji dát zcela jednoznačně do souvislosti s dosud zjištěným polymorfismem isoenzymů (obr. 3a). Pouze genotyp 145 se svým spektrem odlišoval od všech ostatních. Srovnáme-li tuto odlišnost s hlavními znaky variability hypokotylu (tabulka I) je zřejmé, že v případě tvaru⁴ se tento genotyp odlišoval od ostatních pouze v prvním roce pěstování. Pokud jde o hodnocení tvaru ve druhém roce pokusu, můžeme tento genotyp zařadit do skupiny nejčastěji se vyskytujících morfotypů. Od ostatních genotypů se tvarem odlišovaly genotypy 314 a 168. Zajímavé je, že předchozí předběžné analýzy⁸ diferencovaly stejný soubor genotypů na základě polymorfismu EST na tři skupiny (A, B, C), přičemž součástí skupiny B byly genotypy 145, 146, 151, 280 a 310, naopak Unalm amarilla byl pouze jediným zástupcem skupiny C. Jiné spektrum zymogramů stanovené v této analýze je však podmíněno použitím odlišného metodického přístupu. Ukazuje se tedy, v souladu s řadou předchozích studií realizovaných u různých rostlinných druhů^{19,20}, že polymorfismus zjištěný na bázi proteinů může být velmi variabilní, nemusí vykazovat stejné výsledky, a to v závislosti na celé řadě faktorů⁶.

U souboru 25 genotypů *S. sonchifolius* byla stanovována přítomnost 16 enzymů (ADH, DIA, EST, PGM, GOT, GDH, GPI, IDH, ACP, LAP, MDH, ME, NADH DH, SOD, SHDH, PGD). Tři z nich (ADH, MDH, PGM) byly vyloučeny z analýz z důvodu špatné vizualizace. Ze zbývajících enzymů bylo 11 homonomních. U 13 sledovaných enzymů bylo celkem zaznamenáno 55 pruhů (isoforem). Pouze kyselá fosfatasa (ACP; EC 3.1.3.2.) a esterasa (EST; EC 3.1.1.1.) však vykazovaly u testovaných genotypů polymorfismus. Zymogramy stanovených isoenzymových spekter EST jsou na obr. 3b. Jak je zřejmé z části hodnotící variability kořenových hlíz souboru 25 genotypů *S. sonchifolius* (tabulka I, obr. 1b, 2b), lze na jejím základě diferencovat několik hlavních skupin, a to zejména z hlediska tvaru². Tato variabilita však velmi málo koresponduje se zjištěným polymorfismem EST, na jehož základě byl studovaný soubor rozdělen do šesti skupin (obr. 3b). Nejrozsaáhlejší je skupina A, kterou reprezentuje cca 70 % všech studovaných genotypů. V této skupině je však zahrnuta většina morfotypů zjištěných v rámci dosud realizovaných pokusů (tabulka I). Ostatní isoformy reprezentují pouze 1–3 genotypy (obr. 3b). Odlišnosti zymogramů jednotlivých skupin jsou velmi malé a mají proto patrně relativně malou vypovídací schopnost o variabilitě v komplexním pojetí. Obdobné závěry lze učinit i o polymorfismu ACP, i když můžeme říci (tabulka I), že genotypy jakonu zahrnuté do skupiny B tvoří společnou skupinu morfotypů vykazující tvar 5. Tento fakt však platí pouze pro druhý rok pěstování. Současné výsledky o variabilitě EST relativně dobře korespondují s našimi dřívějšími poznatky^{6–9}, kdy byl stejný soubor genotypů rozdělen na základě polymorfismu EST do čtyř skupin.

Dosavadní výsledky studia polymorfismu enzymových markerů u maky a jakonu jednoznačně ukázaly, že variabilita

na této úrovni je v obou případech relativně velmi malá na rozdíl od široké variability v morfologických znacích. Další výzkum by měl zodpovědět otázky týkající se variability proteinů na úrovni jednotlivých rostlin, vlivu faktorů prostředí na homogenitu a stabilitu znaků u jednotlivých genotypů obou plodin, stejně jako na problém výběru nejvhodnějšího genotypu pro komerční pěstování, a to i v souvislosti s obsahem některých nutričně významných látek u obou studovaných druhů.

5. Analýza obsahových látek a jejich účinky

Pro srovnání obsahových látek v mace byl jako standard pro analýzu použit komerčně vyráběný dehydratovaný práškový produkt Maca andina naturalfa (QUIMICA SUIZA) pocházející z Peru. Pro vlastní analýzu obsahových látek byl připraven směsný vzorek hypokotylů maky pěstované v jednotlivých letech (2000–2002), které byly usušeny a rozemlety. Výsledky analýzy základních nutričních složek, minerálů a kontaminujících složek stanovených v potravinách v jednotlivých letech ve srovnání s komerčně dodávanou surovinou jsou shrnuty v tabulce II.

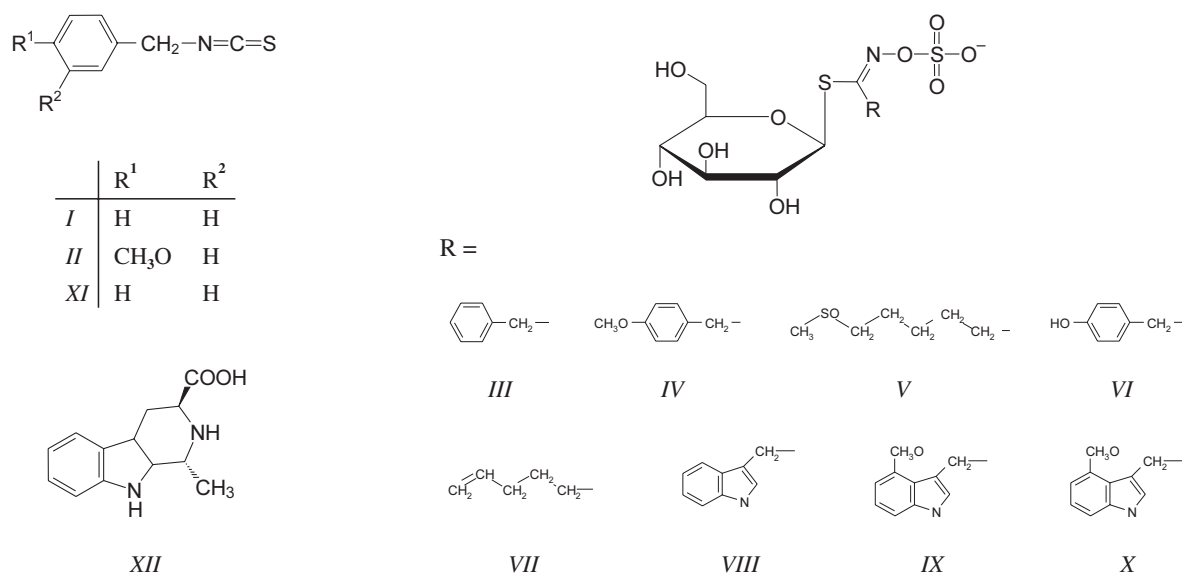
O složení a biologické aktivitě látek v hypokotylu *L. meyenii* bylo do roku 2000 málo informací³. Bylo známo složení steroidní frakce, obsahující 9,1 % brassikasterolu, 13,6 % ergosterolu, 27,3 % kampesterolu, 4,5 % ergostadienolu, 45,5 % sitosterolu²¹ a popsány struktury dvou isothiokyanátů, benzylisothiokyanátu *I* a 4-methoxybenzylisothiokyanátu *II* (cit.²²). Tyto látky vznikají v rostlinách hydrolyzou glukosinolátů enzymem myrosinase a byla u nich popsána protinádorová aktivita²². V nedávné době byl analyzován obsah a složení glukosinolátů v semenech, rašicích a dospělých rostlinách a v komerčních produktech maky²³. Ve všech testovaných vzorcích byly v různém poměru nalezeny benzylglukosinolát *III* (glukotropeolin), (4-methoxybenzyl)glukosinolát *IV*, 5-methylsulfinylpentylglukosinolát *V* (glukoalysin), 4-hydroxybenzylglukosinolát *VI*, (pent-4-en-1-yl)glukosinolát *VII* (glukobrassicin), (indol-3-ylmethyl)glukosinolát *VIII* (glukobrassicin) a (4-methoxyindol-3-ylmethyl)glukosinolát *IX*. Hypokotyly a nať maky mají díky těmto látkám velmi nepřijemnou vůni. V methanolickém extraktu z hypokotylů maky byly nalezeny glukosinoláty (glukotropeolin *III* a 3-methoxyglukotropeolin *X*), isothiokyanáty (benzylisothiokyanát *I* a 3-methoxybenzylisothiokyanát *XI*) a další látky (uridin, kyselina jablečná, benzoyljablečná, (1*R*,3*S*)-1-methyl-1,2,3,4,4a,8a-hexahydro-9*H*- β -karbolin-3-karboxylová kyselina *XII*; obr. 4) (cit.²⁴), benzylovaný derivát 1-hydroxy-1,2-dihydropyridinu, nazývaný makaridin *XIII*, benzylované amidy (makamidy), (*E,E*)-*N*-benzyl-5-oxooktadeka-6,8-dienamid *XIV*, *N*-benzylhexadekanamid *XV* a acyklický makaen – kyselina (*E,E*)-5-oxooktadeka-6,8-dienová *XVI* (cit.²⁵) (obr. 5). Látky *XIII*–*XVI* spolu s kyselinami linolenovou a linolovou jsou používány k charakterizaci a standardizaci komerčních přípravků obsahujících maku²⁶. Metodou GC/MS byl analyzován esenciální olej z nadzemní části maky a bylo identifikováno celkem 53 komponent²⁷. Nejvíce jsou v něm zastoupeny fenylacetonitril (85,9 %), benzaldehyd (3,1 %), (3-methoxyfenyl)acetonitril (2,1 %) a benzylisothiokyanát (0,6 %).

V literatuře se v posledních dvou letech objevila řada prací popisujících účinky maky na parametry sexuálního výkonu

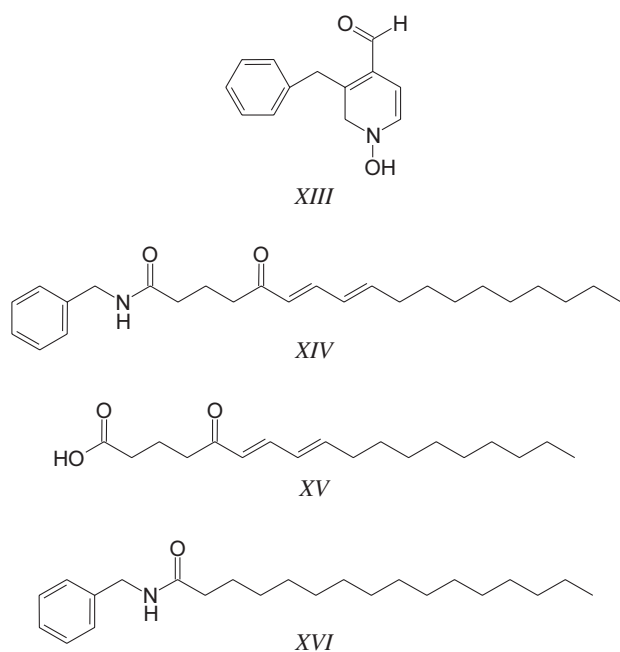
Tabulka II

Základní nutriční složky (%) a vybrané minerální a kontaminující látky (mg.kg⁻¹) v sušené mace a jakonu

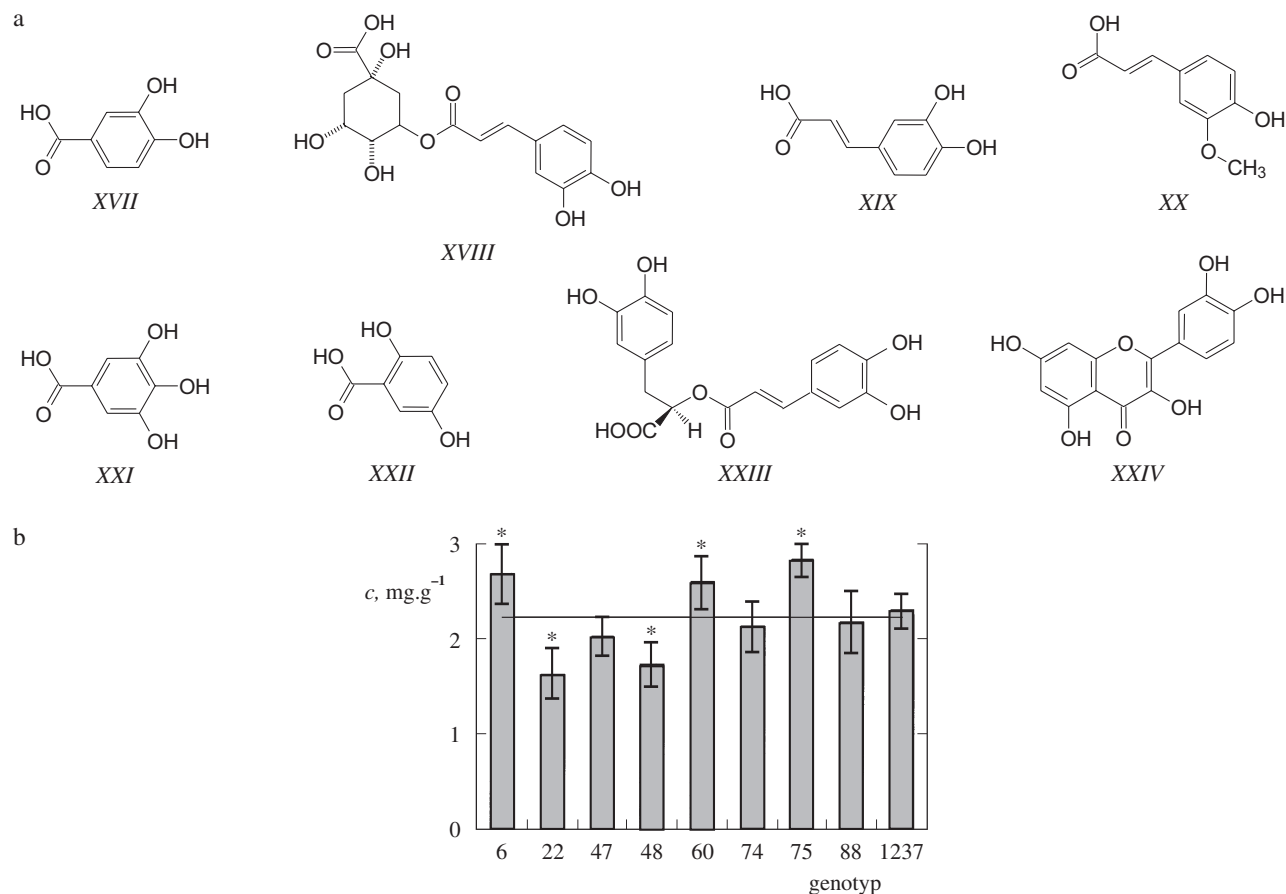
Složky	Maka			Andina	Jakon		Lit. ⁴	Metoda
	2000	2001	2002		2001	2002		
<i>Základní nutriční složky a minerály</i>								
Dusík	6,55	7,63	4,08	1,86	0,73	0,62	–	Kjeldahl
Bílkoviny	40,9	47,7	25,5	11,6	4,6	3,8	6,7	N x 6,25
Sacharidy	9,82	3,25	7,21	25,0	35,2	27,3	58,2	HPLC
Glukosa	2,86	0,92	0,63	1,6	8,98	4,58	35,0	
Fruktosa	0,67	0,35	0,18	0	22,9	16,3	15,8	
Sacharosa	6,29	1,98	6,40	23,4	3,30	6,40	7,4	
Oligosacharidy (jako sacharosa)	0,44	1,24	0,17	4,56	12,0	41,4	22,2	HPLC
Tuky	1,67	1,48	1,66	1,09	0,30	0,56	1,0	Soxhlet
Hrubá vláknina	17,7	15,1	–	9,1	7,1	9,5	5,7	Scharrer
Energetická hodnota, kJ na 100 g	924	921	617	663	687	550	–	Vyhláška 293/1997 Sb.
Draslík	12 980	14 730	16 220	16 200	19 400	14 980	23 200	AAS
Sodík	610	1050	670	260	140	120	119	AAS
<i>Kontaminanty stanovované v potravinách</i>								
Arzen	0,61	0,58	0,15	0,59	0,04	0,17	3 ^a	ICP-MS
Kadmium	0,18	0,15	0,15	0,56	0,25	0,03	0,5 ^a	ICP-MS
Olovo	0,92	1,43	0,48	2,47	0,04	0,05	8 ^a	ICP-MS
Měď	8,0	10,3	7,0	5,14	4,5	4,6	80 ^a	ICP-MS
Nikl	1,9	2,7	1,1	0,49	1,5	0,56	6 ^a	ICP-MS
Zinek	61,8	67,5	40,9	58,4	8,5	7,6	80 ^a	ICP-MS
Železo	385	865	223	72,3	11	23	80 ^a	ICP-MS
Dusičnany	2860	7080	2870	<100	1720	100	2000 ^a	kapilární isotachoforéza

^a Přípustné množství dle vyhlášky 298/1997 Sb.

Obr. 4. Benzylisothiokyanáty, glukosinoláty a (1R,3S)-1-methyl-1,2,3,4,4a,8a-hexahydro-9H-β-karbolin-3-karboxylová kyselina XII



Obr. 5. Makaridin, makaeny a makamidy

Obr. 6. Fenolové sloučeniny identifikované v listech jakonu a celkový obsah fenolových látek; a – struktury, b – celkový obsah fenolových látek (mg.g⁻¹ suché drogy) v genotypech jakonu pěstovaných v Olomouci–Holici (* $P < 0,01$)

u zvířat, zejména potkanů a myši^{28–31} a na kvalitu spermatu u lidských dobrovolníků³². Žádná z citovaných prací však neuvádí mechanismus účinku tohoto tradičního andského afrodisiaka a adaptogenu.

Informace o obsahových látkách v nadzemních částech jakonu, na rozdíl od jeho hlíz a maky, dosud v literatuře chybí, a proto jim byla věnována naše pozornost. Směsný vzorek listů jakonu byl sušen za pokojové teploty do konstantní hmotnosti. Byly připraveny extrakty z listů za použití několika extrakčních procedur a jako nejvhodnější byla vybrána extrakce methanolem v Soxhletově ekstraktu, přičemž výsledný extrakt byl zahuštěn, dispergován ve vodě a odmaštěn extrakcí v petroletheru. Vodná vrstva byla posléze okyslena 0,1 M-H₂SO₄ a extrahována ethyl-acetátem. Výsledný ethyl-acetátový extrakt (celkový výtěžek po odpaření rozpouštědla cca 13 mg.g⁻¹ suché drogy) byl použit pro vlastní analýzu. V extraktu byly identifikovány a kvantifikovány kyseliny protokatechová XVII, chlorogenová XVIII, kávová XIX, ferulová XX, galová XXI, gentisová XXII a ve formě glykosidu kyselina rozmarýnová XXIII; dále pak kvercetin XXIV, včetně jeho glykosidu a další čtyři neidentifikované komponenty^{33–35} (obr. 6a). Deriváty kyseliny kávové a její estery kyseliny oktulosoové³⁷ byly nedávno nalezeny také v hlízách jakonu³⁵. Fenolovým látkám prokázáním analýzou připisujeme pozorované antioxidační a cytoprotektivní účinky extraktů z listů jakonu^{33,38}.

V listech vybraných jednotlivých genotypů jakonu (sběr červenec 2002) byl analyzován celkový obsah fenolových látek. Suchá droga byla zpracována dle výše popsaného postupu a v extraktu byly tyto látky stanoveny Folino-Ciocalteauovým činidlem³⁹. Výsledky stanovení, přepočítané na výchozí suchou drogu (obr. 6b), umožnily rozdělení analyzovaných klonů do tří skupin: *a*) hodnoty signifikantně vyšší než průměr (genotypy 6, 60 a 75), *b*) průměrné hodnoty (genotypy 47, 74, 88, 1237) a *c*) signifikantně podprůměrné hodnoty (genotypy 22 a 48). Zjištěné rozdíly v zastoupení fytochemicky významných látek však přímo nekorelovaly s polymorfismem isoenzymů ani morfotypů jakonu.

6. Technologie zpracování hlíz jakonu

Z hlediska dalšího zpracování se největším problémem stala nízká trvanlivost hlíz, které jsou velmi křehké, při sklizni se snadno poškodí, polámou, případně dochází k odřeni jejich tenké slupky. V místech poškození může snadno a rychle dojít k napadení plísněmi a projevům hniloby. Rovněž i v mechanicky nepoškozených hlízách dochází poměrně brzy k nežádoucím procesům. Hlízy ztrácejí vodu, stávají se gumovitými, postrádají typickou křupavost a dochází k podstatným změnám ve složení sacharidů⁴⁰, což je důležité z hlediska jejich uplatnění jako potraviny pro diabetiky. Zdraví prospěšné, ale nestravitelné β -oligofruktany hydrolyzují na glukosu a fruktosu, čímž upotřebení hlíz pro diabetiky klesá. Z těchto důvodů jsme se snažili vypracovat technologický postup zpracování hlíz jakonu do trvanlivé formy vhodné pro další použití. Hlavním cílem byla snaha zachovat vysoký obsah vody v hlízách jakonu a pokusit se o jeho zpracování na dřevě několika technologickými postupy. Rozváření používané při výrobě jablečné dřeně se neosvědčilo z důvodu špatné rozvářivosti hlíz. Navíc se při tomto postupu vyluhovalo velké množství sacharidů do varné tekutiny a výsledný produkt byl zcela nevhodný ze senzorického hlediska. Nezdarem skončil také pokus o zpracování hlíz v lince na výrobu špenátového protlaku. Při mletí dochází k oxidaci fenolových látek, a tím ke změně barvy suroviny z krémově bílé na nepříjemně hnědozelenou až hnědou. Mikrobiologická analýza takto zpracované suroviny navíc prokázala vysoký obsah koliformních bakterií. Vzhledem k těmto skutečnostem byl tento postup zpracování shledán rovněž jako nevyhovující. V laboratorním měřítku bylo dosaženo uspokojivého výsledku sušením pokrájených oloupaných hlíz podobně jako při domácí výrobě sušených jablek, a proto byl pro další zpracování zvolen tento způsob. Technologický postup byl následující: předmáčení hlíz, praní v pračce, parní loupání, praní v kartáčové pračce, kostkování, sprchování, předsušení (cca 12 min, 115 °C), sušení ve třech krocích (30 min při 107 °C, 95 min při 100 °C a 100 min při 75 °C). Výsledkem tohoto postupu byly lupínky o velikosti 2–3 mm. Poměr suchých lupínek k původní surovině je 1:9–1:8,5 a závisí zejména na původní velikosti hlíz vzhledem k odpadu při loupání. Lupínky jsou ve výsledné formě stabilní již téměř dva roky, jsou příjemně křupavé s nasládlou chutí. Také při tomto zpracování dochází k částečné změně barvy suroviny, ve formě lupínek však nepůsobí natolik nepříznivě. Lupínky byly použity pro analýzu základních nutričních složek, vybraných minerálů a kontaminantů (tabulka II) a pro analýzu složení cukrů⁴¹.

7. Závěr

Z dosavadních poznatků je zřejmé, že jakon lze v našich podmínkách pěstovat bez větších problémů. Analýzou hlíz jakonu pěstovaného v České republice bylo zjištěno, že složení jeho obsahových látek se podstatně neliší od údajů nalezených v literatuře. Rozdíly zjištěné v zastoupení jednotlivých sacharidů byly nejspíše ovlivněny způsobem skladování a zpracování, neboť přítomné β -polyfruktany podléhají po sklizni hydrolytickým změnám.

V případě pěstování maky jsou výsledky méně příznivé. V opakovaných polních pokusech byly dosaženy jen relativně nízké výnosy, spojené s tvorbou drobných hypokotylů. Rovněž se ukazuje, že výnosy mohou významně kolísat mezi jednotlivými ročníky pěstování. V chemickém složení hypokotylů byly zjištěny významné rozdíly. Ve srovnání s komerčním vzorkem byl opakovaně zjištěn vyšší obsah bílkovin a nižší obsah sacharidů. Za negativní poznatek lze považovat vysokou kumulaci dusičnanů v hypokotylech, výraznou zejména ve sklizni z roku 2001, kdy maky byla pěstována na čerstvě vyhnojeném pozemku.

Z dosud získaných výsledků vyplývá, že studované genotypy maky a jakonu vykazují značnou morfologickou, výnosovou i chemickou variabilitu, přičemž však u nich nebyla prokázána přímá závislost mezi jednotlivými sledovanými znaky. Hlubší poznání těchto souvislostí by mělo být předmětem dalšího výzkumu. V budoucnu se rovněž hodláme zaměřit zejména na studium variability obsahu jednotlivých sacharidů v hlízách různých genotypů jakonu ve vztahu k jejich morfologické variabilitě. Cílem takto zaměřeného výzkumu bude výběr vhodných genotypů z hlediska technologického zpracování (vliv tvaru hlíz) a jejich využití v potravních doplncích a funkčních potravinách. U listů jakonu plánujeme dokončení identifikace obsahových látek, srovnání obsahu celkových fenolových látek v jednotlivých vývojových stádiích rostlin a pokračování testů biologické aktivity *in vitro* a *in vivo*.

Autoři děkují paní D. Vondrákové, I. Tiefenbachové a panu V. Všetěčkovu za vynikající technickou spolupráci a Ing. Janu Frčekovi, CSc. za poskytnutí rostlinného materiálu a technologie pěstování. Výzkum je podporován projektem GA ČR (grant č. 303/01/0171).

LITERATURA

- Frček J., Michl J., Pavlas J., Šupichová J., v knize: *Plant Genetic Resources* (Annual report 1995), str. 73. University of Agriculture in Nitra, Nitra 1995.
- Frček J.: nepublikované výsledky.
- Valentová K., Frček J., Ulrichová J.: *Chem. Listy* 95, 594 (2001).
- Quirós C. F., Cárdenas R. A., v knize: *Andean Roots and Tubers Ahipa, Arracacha, Maca and Yacon* (Hermann M., Heller J., ed.), str. 173. International Plant Genetic Resources Institute, Rome 1997.
- Tyukavin G. B.: *Selskoch. Biol.* 3, 81 (2002).
- Lebeda A., Doležalová I., Dzięchciarková M., Doležal K., Frček J.: *Využití molekulárních markerů v biologii, šlechtění a uchovávání genových zdrojů rostlin, Šumperk, 4.–6. listopad 2002*, str. 84.
- Lebeda A., Doležalová I., Doležal K.: *XXVth Internatio-*

- nal Horticultural Congress and Exhibition (IHC2002), Toronto 11.–17. srpna 2002, Abstracts, str. 199.*
8. Lebeda A., Doležalová I., Doležal K.: Acta Hort., v tisku.
 9. Lebeda A., Doležalová I., Dziechciarková M., Doležal K., Frček J.: Czech J. Genet. Plant Breed. 439, 1 (2003).
 10. Echegeray M. P., v knize: *Resumenes de Curso Taller Internacional sobre Maca „Cultivo, aprovechamiento y conservación“* (Palomino M. E., ed.). Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), Lima 1999.
 11. IBPGR: *Descriptors for Brassica and Raphanus*. International Board for Plant Genetic Resources, Rome 1990.
 12. Murashige T., Skoog F.: Physiol. Plant. 15, 473 (1962).
 13. Kutina J.: *Regulátory růstu a jejich využití v zemědělství a zahradnictví*. SZN, Praha 1988.
 14. Procházka S., Šebánek J.: *Regulátory rostlinného růstu*. Academia, Praha 1997.
 15. Shepard J. F., Toten R. E.: Plant Physiol. 60, 313 (1977).
 16. Votruba et al.: *Explantátové techniky*, skripta VŠZ Praha, Praha 1987.
 17. Gamborg O. L., Miller R. A., Ojima K.: Exp. Cell Res. 50, 151 (1968).
 18. Vallejos C. E., v knize: *Isozymes in Plant Genetics and Breeding, Part A* (Tanksley D. S., Orton T. J., ed.), str. 469. Elsevier, New York 1983.
 19. Soltis D. E., Soltis P. S.: *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press, Portland 1989.
 20. Manchenko G. P.: *Handbook of Detection of Enzymes on Electrophoretic Gels*. CRC Press, London 1994.
 21. Dini A., Migliuolo G., Rastrelli L., Saturnino P., Schettino O.: Food Chem. 49, 347 (1994).
 22. Johns T.: J. Ethnobiol. 1, 208 (1981).
 23. Li G., Ammermann U., Quirós C. F.: Econ. Bot. 55, 255 (2001).
 24. Piacente S., Carbone V., Plaza A., Zampelli A., Pizza C.: J. Agric. Food Chem. 50, 5621 (2002).
 25. Muhammad I., Zhao J., Dunbar D. C., Khan I. A.: Phytochemistry 59, 105 (2002).
 26. Ganzera M., Zhao J., Muhammad I., Khan I. A.: Chem. Pharm. Bull. 50, 988 (2002).
 27. Tellez M. R., Khan I. A., Kobaisy M., Schrader K. K., Dayan F. E., Osbrink W.: Phytochemistry 61, 149 (2002).
 28. Cicero A. F. G., Bandieri E., Arletti R.: J. Ethnopharmacol. 75, 225 (2001).
 29. Cicero A. F. G., Piacente S., Plaza A., Sala E., Arletti R., Pizza C.: Andrologia 34, 177 (2002).
 30. Gonzales G. F., Ruiz A., Gonzales C., Villegas L., Cordova A.: Asian J. Androl. 3, 231 (2001).
 31. Zheng B. L., He K., Kim C. H., Rogers L., Shao Y., Huang Z. Y., Qien L. C., Zheng Q. Y.: Urology 55, 598 (2000).
 32. Gonzales G. F., Cordova A., Gonzales C., Chung A., Vega K.: Asian J. Androl. 3, 301 (2001).
 33. Valentová K., Cvak L., Muck A., Ulrichová J., Šimánek V.: Eur. J. Nutr. 42, 61 (2003).
 34. Jirovský D., Horáková D., Kotouček M., Valentová K., Ulrichová J.: J. Sep. Sci. 26, 739 (2003).
 35. Muck A., Valentová K., Kohoutová J., Harmatha J., Ulrichová J., Šimánek V.: nepublikované výsledky.
 36. Takenaka M., Yan X., Ono H., Mitsuru Y., Nagata T., Nakanishi T.: J. Agric. Food Chem. 51, 793 (2003).
 37. Takenaka M., Ono H.: Tetrahedron Lett. 44, 999 (2003).
 38. Valentová K., Ulrichová J.: nepublikované výsledky.
 39. Singleton V. L., Rossi J. A.: Am. J. Enol. Vitic. 16, 416 (1965).
 40. Goto K., Fukai K., Hikida J., Nanjo F., Hara Y.: Biosci., Biotechnol., Biochem. 59, 2346 (1995).
 41. Valentová K., Příkrylová V., Křen V., Halada P., Ulrichová J., Šimánek V.: Chem. Listy 96, 496 (2002).
- A. Lebeda^a, I. Doležalová^a, K. Valentová^b, M. Dziechciarková^a, M. Greplová^c, H. Opatová^d, and J. Ulrichová^c** (^a*Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University, Olomouc*, ^b*Institute of Medical Chemistry and Biochemistry, Faculty of Medicine, Palacký University, Olomouc*, ^c*Potato Research Institute Ltd., Havlíčkův Brod*, ^d*Department of Food Preservation and Meat Technology, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Biological and Chemical Variability of Maca and Yacon**
- A set of 15 maca and 25 yacon genotypes cultivated under field conditions were assessed as to relationships between morphotypes of underground organs, yield parameters, and polymorphism of isozymes. *In vitro* cultivation and the content of some chemical compounds were also studied. Underground organs of both crops showed a wide variety strongly dependent on environmental factors. The results showed that maca forms small-weight hypocotyls. Differences in chemical composition compared with a commercial source were observed. The highest production (3.8 kg/plant) of yacon tubers was observed in four genotypes. Drying of yacon chips was found to be a good method of preservation. Of 17 analysed enzymatic systems, only esterases showed some degree of polymorphism in both crops, dividing genotypes of maca into two and yacon into six groups. Polymorphism of esterases does not correspond with morphological characters of underground organs of both crops or with total phenolic contents in different genotypes of yacon leaves. Screening of cultivation media demonstrated that concentration of regulators must be optimised to be suitable for *in vitro* cultivation of maca. The results showed that yacon can be successfully cultivated in Europe in contrast to maca.