



WPŁYW JAKOŚCI ŚWIATŁA NA WZROST *EX VITRO* I JAKOŚĆ MIKROSADZONEK RABARBARU

WSTĘP

Specyficzne warunki podczas wzrostu *in vitro* (aseptyczność, wysoka wilgotność, niskie natężenia światła, wysoki poziom sacharozy i soli mineralnych) wpływają na tworzenie roślin o niskiej aktywności fotosyntetycznej, ze słabo wykształconą kutikulą i nieprawidłowo funkcjonującymi aparatami szparkowymi [Pospisilova i in. 1999]. Etap przeniesienia z warunków *in vitro* do *ex vitro* często uważany jest jako najtrudniejszy, gdyż delikatne rośliny uzyskane w sterylnych warunkach *in vitro* muszą przestawić się na autotroficzny metabolizm i funkcjonowanie w warunkach obniżonej wilgotności i wyższej intensywności światła [Donnelly, Tisdall 1993; Pospisilova i in. 1999]. Są wtedy bardzo podatne na różne stresy abiotyczne i biotyczne. Przy braku właściwego traktowania nie rozwijają się prawidłowo i zamierają.

Podczas wzrostu w szklarni delikatnych roślin rozmnożonych *in vitro* bardzo ważne jest doświetlanie. Światło pełni w życiu roślin fundamentalną rolę stanowiąc źródło energii do fotosyntezy oraz bodziec w procesach fotomorfogenetycznych. Wiele danych wskazuje, że dzięki zastosowaniu promieniowania świetlnego o odpowiednim składzie spektralnym (barwie) i intensywności, można sterować przebiegiem morfogenezy i stymulować syntezę substancji fenolowych [Galvão, Fankhauser 2015; Ma i in. 2021]. Możliwość wytwarzania selektywnego spektrum światła dostosowanego do potrzeb roślin dają źródła światła oparte na diodach elektroluminescencyjnych (lampy LED) [Massa i in. 2008; Viršile i in. 2017]. W związku z różnymi reakcjami roślin na poszczególne barwy i ich proporcje ważne jest dopasowanie widma do genotypu.

MATERIAŁY I METODY

Celem badań była ocena wpływu doświetlania mikrosadzonek rabarbaru 'Malinowy' lampami LED w szklarni w okresie zimowym na wczesny wzrost *ex vitro* i poziom substancji fenolowych w ogonkach liściowych, a w konsekwencji na uzyskanie wysokiej jakości sadzonek wyselekcjonowanego genotypu na plantacje. Mikrosadzonki były uprawiane w szklarni, w temp. 21/18°C (dzień/noc), w podłożu torfowym, z zastosowaniem 4 wariantów widma światła LED (Tab. 1), o natężeniu 125 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ i 16-h fotoperiodzie. Kombinację kontrolną stanowiły rośliny uprawiane w warunkach naturalnych, bez doświetlania (9-h fotoperiod).

Po 1, 6 i 10 tygodniach wzrostu w szklarni wykonano pomiary masy i długości ogonków liściowych, oceniono przeżywalność i rozwój systemu korzeniowego sadzonek na podstawie trzystopniowej skali bonitacyjnej, a także oznaczono zawartość cukrów rozpuszczalnych, substancji fenolowych i aktywność antyoksydacyjną. Analizy biochemiczne wykonano z wykorzystaniem metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej (system HPLC Agilent 1200 wyposażony w detektor DAD).

Tab. 1. Rozkład spektralny (%) światła emitowanego przez lampy LED.

Warianty widma światła LED	UV-A 340-400 nm	Niebieskie 400-500 nm	Zielone (G) 500-600 nm	Czerwone 600-700 nm	Daleka czerwień (FR) 700-780 nm	R:FR
Kontrola	3,9	22,1	28,0	27,4	16,8	1,6
Czerwone (R)	-	-	-	100,0	-	-
Białe (W)	0,1	24,4	44,4	28,9	2,2	11,3
R+B+G+FR	0,2	16,3	10,3	49,4	23,8	2,1
Niebieskie (B)	-	100,0	-	-	-	-

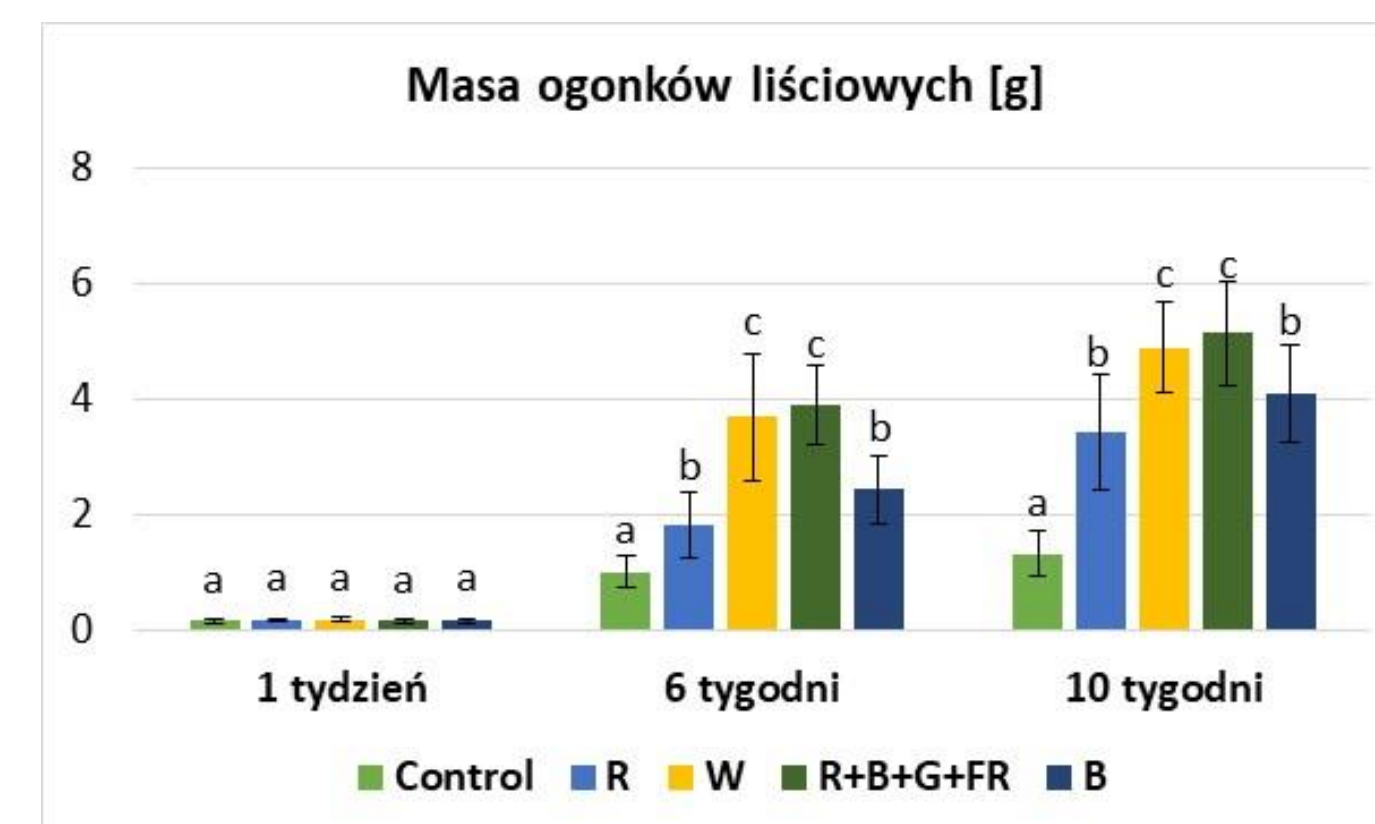
PODSUMOWANIE

Wykazano, że poprzez regulację spektrum światła emitowanego przez lampy LED można znacząco wpływać na wczesny wzrost *ex vitro* (zwiększenie biomasy części nadziemnej i systemu korzeniowego) młodych roślin rabarbaru rozmnożonych *in vitro* i stymulować produkcję substancji bioaktywnych (głównie antocyjanów i katechin) w ogonkach liściowych.

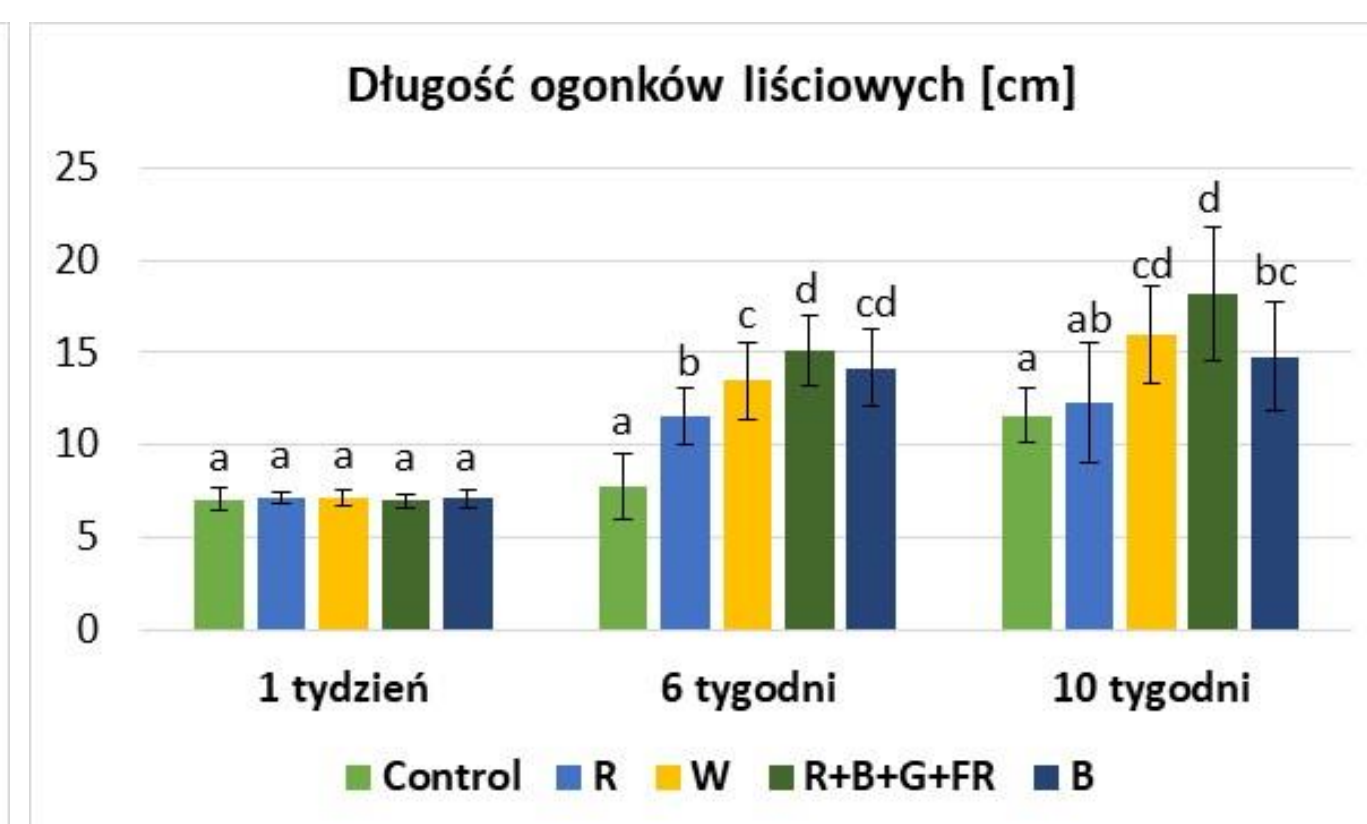
Analizując działanie światła LED o różnym składzie spektralnym na wczesny wzrost *ex vitro* i produkcję substancji fenolowych jako optymalne uznano światło białe o szerokim spectrum (44,4% zielone, 24,4% niebieskie, 28,9% czerwone; 2,2% daleka czerwień).

WYNIKI

- Doświetlanie mikrosadzonek rabarbaru lampami LED w okresie zimowym wpłynęło na wzrost długości liści o 91%, powierzchni blaszki liściowej o 319%, efektywności ukorzenia o 129%, masy ogonków liściowych o 290% i produkcji związków fenolowych o 271% (Rys. 1-5).
- Wykazano, iż światło o szerokim spectrum miało lepszy wpływ na wzrost i rozwój pędów (liści) i systemu korzeniowego sadzonek rabarbaru w porównaniu ze światłem monochromatycznym. Biorąc pod uwagę wszystkie parametry wzrostu najlepsze wyniki uzyskano w przypadku doświetlania mikrosadzonek lampami LED emitującego światło czerwone, niebieskie, zielone i dalekiej czerwieni, w proporcjach 49,4%, 16,3%, 10,3% i 23,8% (R+B+G+FR), natomiast najgorsze w obecności światła czerwonego (Rys. 1-5).



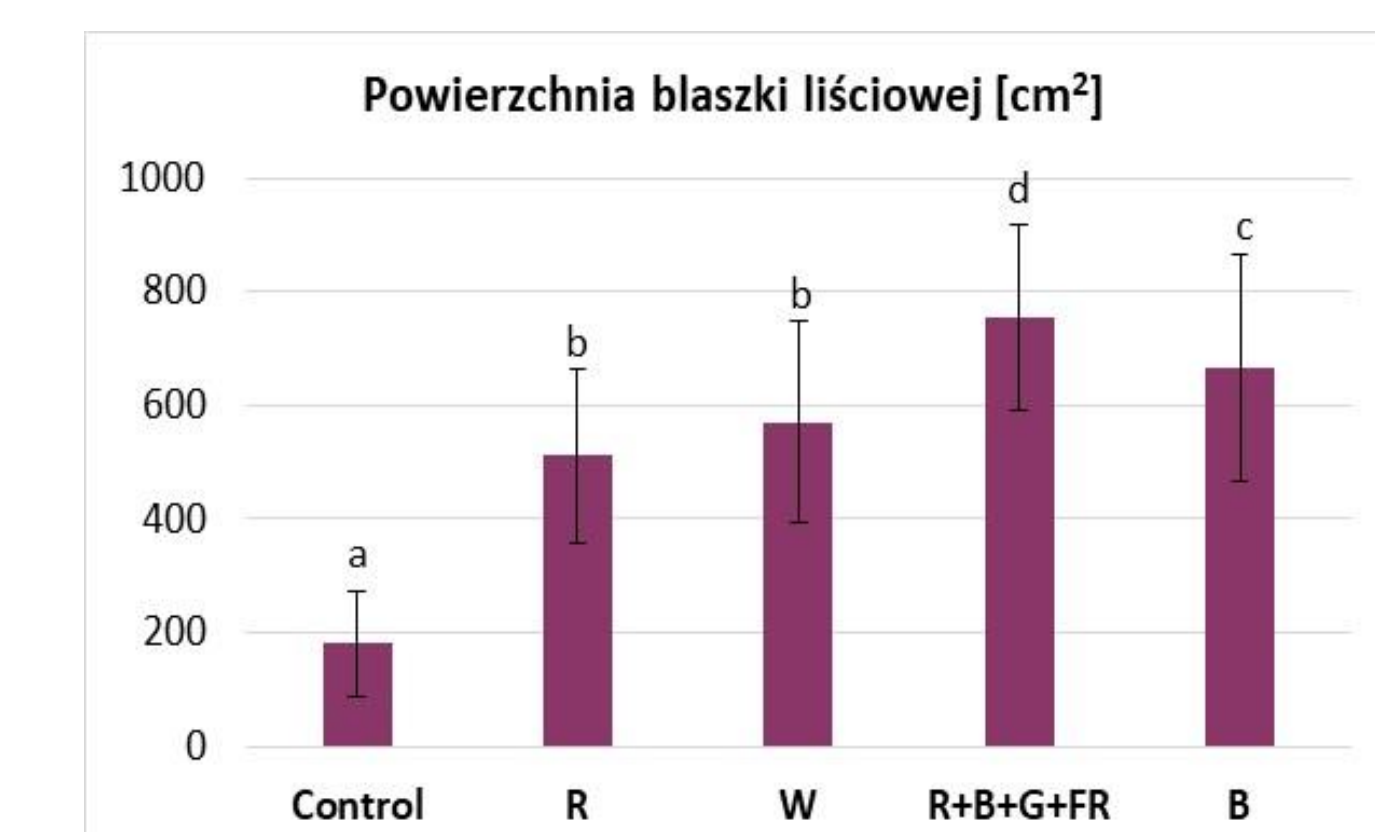
RYS 1. Wpływ rodzaju światła na masę pędów (ogonków liściowych) mikrosadzonek rabarbaru po 1, 6 i 10 tygodniach wzrostu w szklarni.



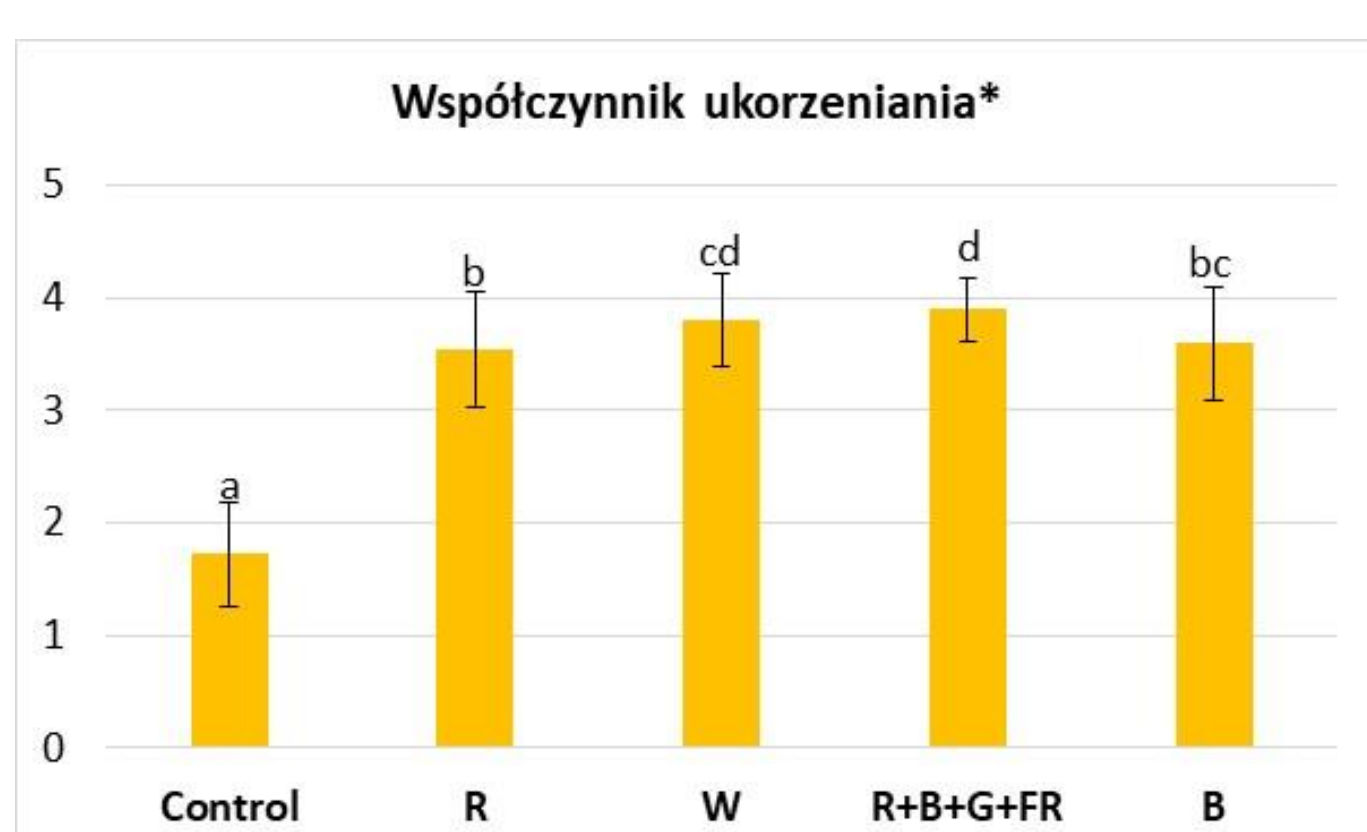
RYS 2. Wpływ rodzaju światła na długość pędów (ogonków liściowych) mikrosadzonek rabarbaru po 1, 6 i 10 tygodniach wzrostu w szklarni.



RYS 3. Wpływ rodzaju światła na długość ogonków liściowych mikrosadzonek rabarbaru po 10 tygodniach wzrostu w szklarni.



RYS 4. Wpływ rodzaju światła na powierzchnię blaszki liściowej mikrosadzonek rabarbaru po 6 tygodniach wzrostu w szklarni.



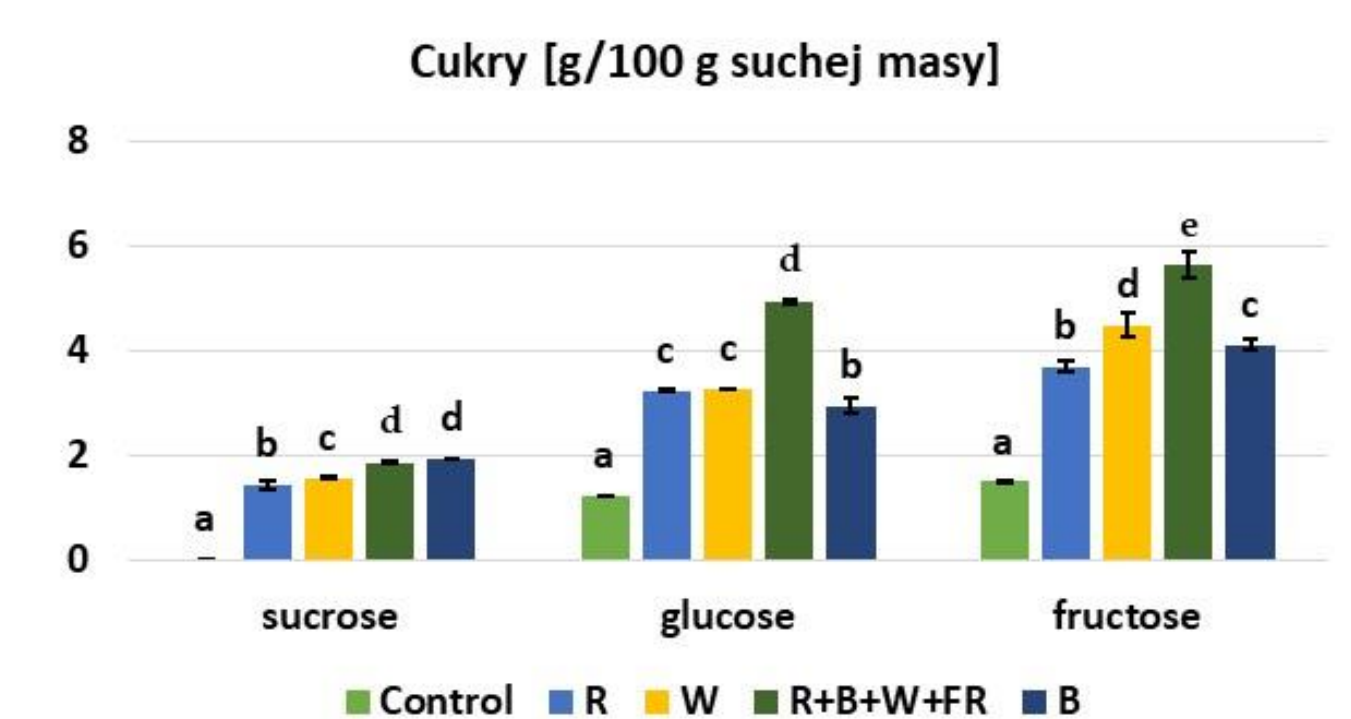
RYS 5. Wpływ rodzaju światła na rozwój systemu korzeniowego mikrosadzonek po 6 tygodniach wzrostu w szklarni. Wzrost korzeni oceniano na podstawie trzystopniowej skali bonitacyjnej: 1- brak widocznych korzeni lub pojedyncze korzenie, 2- słabo rozwinięty system korzeniowy i 3- dobrze rozwinięty system korzeniowy.



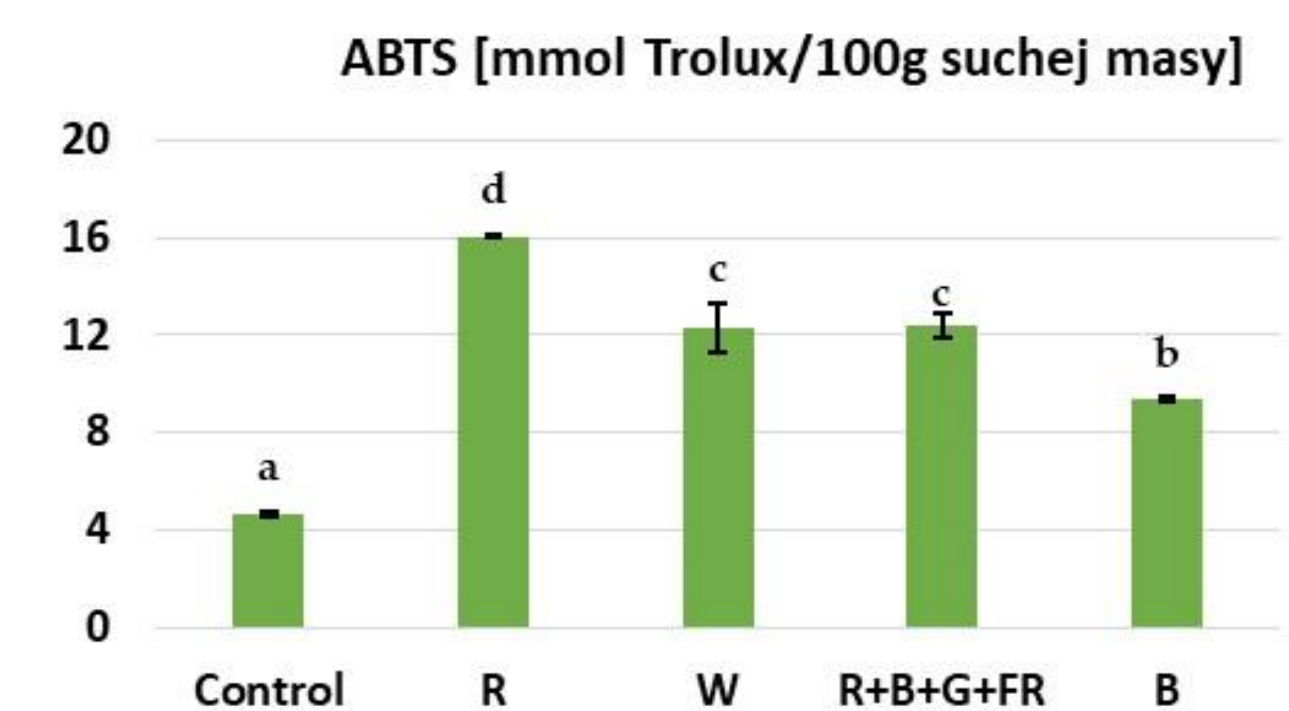
- Mikrosadzonki rabarbaru doświetlane lampami LED emitującymi światło RBG+FR charakteryzowały się także najwyższą zawartością cukrów rozpuszczalnych wskazującą na wysoką efektywność fotosyntezy roślin w tym traktowaniu.
- W ogonkach liściowych mikrosadzonek rabarbaru zaobserwowano większy udział fruktozy (46%) niż glukozy (37%) i sacharozy (17%) (Rys. 6).
- Wykazano, że doświetlanie lampami LED wpłynęło na znaczący wzrost (271%) zawartości substancji fenolowych w ogonkach liściowych w porównaniu z roślinami kontrolnymi (Tab.2).
- Antocyjany (głównie rutozyd-3-cyjanidyny), stanowiły najbardziej liczną grupę substancji fenolowych w ogonkach liściowych rabarbaru, ale obecne były także katechiny, flawonole i kwasy fenolowe.
- Najwięcej antocyjanów tworzyło się w obecności światła białego i czerwonego, kolejno 585 i 561 $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ sm.
- Doświetlanie lampami LED miało znaczący wpływ na aktywność przeciwutleniającą sadzonek rabarbaru (Rys. 7).
- Wykazano, iż mikrosadzonki rosnące w świetle czerwonym wyróżniały się wysoką aktywnością antyoksydacyjną, ale równocześnie cechowały się zahamowanym wzrostem, niską biomasa i poziomem cukrów rozpuszczalnych.
- U sadzonek rosnących w świetle białym o szerokim spectrum (44,4% zielone, 24,4% niebieskie, 28,9% czerwone; 2,2% daleka czerwień), wysoka produkcja antocyjanów korelowała z wysoką aktywnością antyoksydacyjną i wysoką aktywnością wzrostową.

Tab. 2. Wpływ rodzaju światła na zawartość substancji fenolowych w ogonkach liściowych mikrosadzonek rabarbaru podczas wzrostu *ex vitro* w szklarni

Substancje fenolowe [mg/100 g suchej masy]	Control	R	W	R+B+G+FR	B
Antocyjany:					
Rutozyd-3-O-cyjanidyny	200,8 a	488,4 d	503,2 e	332,2 b	387,7
Glukozyd-3-O-cyjanidyny	10,8 a	59,9 d	68,8 e	33,0 b	38,4 c
Rutozyd-3-O-delfinidyny	4,8 a	12,7 c	13,0 c	8,9 b	9,2 b
Flawonole					
Flawonole	3,1 a	4,4 d	4,1 c	3,6 b	3,4 b
Katechiny					
Katechiny	12,7 a	32,3 c	30,8 c	36,5 d	23,4 b
Kwasy fenolowe					
Kwasy fenolowe	1,9 a	4,1 d	3,0 c	2,1 b	2,1 b
Razem	234,0 a	601,8 d	622,8 e	414,4 b	464,4 c



RYS 6. Wpływ rodzaju światła na zawartość cukrów rozpuszczalnych w ogonkach liściowych mikrosadzonek rabarbaru po 10 tygodniach wzrostu w szklarni.



RYS 7. Wpływ rodzaju światła na aktywność antyoksydacyjną mikrosadzonek rabarbaru.

