



Kauno technologijos universitetas
Cheminės technologijos fakultetas



Lietuvos sveikatos mokslų universitetas
Farmacijos fakultetas

Šviesos parametrų efektai farmacijai aktualių metabolitų kaitai vaistiniuose augaluose, auginamuose kontroliuojamos aplinkos daržininkystės sistemose

Baigiamasis magistro projektas

Laurita Grigaitytė

Projekto autorė

Dr. Akvilė Viršilė

Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centras

Vadovė

Doc. dr. Eglė Arbačiauskienė

Vadovė

Kaunas, 2019



Kauno technologijos universitetas
Cheminės technologijos fakultetas

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas
Farmacijos fakultetas

Šviesos parametrų efektai farmacijai aktualių metabolitų kaitai vaistiniuose augaluose, auginamuose kontroliuojamos aplinkos daržininkystės sistemose

Baigiamasis magistro projektas
Medicininė chemija (6281CX001)

Laurita Grigaitytė

Projekto autorė

Dr. Akvilė Viršilė

Vadovė

Doc. dr. Eglė Arbačiauskienė

Vadovė

Doc. dr. Ilona Jonuškienė

Recenzentė

Kaunas, 2019



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

Farmacijos fakultetas

Laurita Grigaitytė

Šviesos parametrų efektai farmacijai aktualių metabolitų kaitai vaistiniuose augaluose, auginamuose kontroliuojamos aplinkos daržininkystės sistemose

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad mano, Lauritos Grigaitytės, baigiamasis projektas tema „Šviesos parametrų efektai farmacijai aktualių metabolitų kaitai vaistiniuose augaluose, auginamuose kontroliuojamos aplinkos daržininkystės sistemose“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

(parašas)

Grigaitytė, Laurita. Šviesos parametrų efektai farmacijai aktualių metabolitų kaitai vaistiniuose augaluose, auginamuose kontroliuojamos aplinkos daržininkystės sistemose. Baigiamasis magistro projektas / vadovė dr. Akvilė Viršilė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas; Lietuvos sveikatos mokslų fakultetas, Farmacijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): chemija, fiziniai mokslai.

Reikšminiai žodžiai: skopolaminas, vaistinė šunvyšnė, šviesą emituojantys diodai, augalų fabrikas.

Kaunas, 2019. 56 p.

Santrauka

Magistro baigiamajame projekte yra tiriamas ir analizuojamas farmacijai aktualus augalas – vaistinė šunvyšnė, kuris kaupia tropano alkaloidus skopolaminą, atropiną, hiosciaminą. Natūraliai augant gamtoje ar auginant jas lauko sąlygomis, augale sukaupiamas palyginti menkas alkaloidų kiekis, nes daug įtakos turi nepalankios aplinkos sąlygos, kurias kontroliuoti sudėtinga. Šiame darbe siekiama optimizuoti vaistinių šunvyšnių (*Atropa belladonna*) auginimo kontroliuojamos aplinkos daržininkystėje apšvietimo sąlygas, kad būtų gaunama stabili ir kokybiška žaliava, kaupianti didelį kiekį vertingų medžiagų. Šiame darbe ištirta apšvietimo trukmės, intensyvumo, spektro derinių įtaka vaistinės šunvyšnės augimo rodikliams, antioksidacinėms savybėms, sukauptų alkaloidų kiekiui. Gauti rezultatai rodo, jog koreguojant apšvietimo parametrus, galima keisti augalo augimo rodiklius ir alkaloidų kiekį audiniuose. Daugiausiai skopolamino ir atropino sukaupiami esant didžiausiam tirtam ($250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) apšvietimo intensyvumui ir 24 h fotoperiodui. Laisvųjų radikalų surišimo geba, kaip ir alkaloidų kiekis vaistinėse šunvyšnėse gali būti padidinti apšviečiant jas vien raudona šviesa. Antioksidacinės savybės didėja dėl augalų apsauginės sistemos reakcijos, šiems patiriant fotostresą, tačiau kartu nukenčia ir augimo rodikliai. Parenkant apšvietimo sąlygas kontroliuojamos aplinkos daržininkystės sistemose svarbu siekti pusiausvyros tarp natūralių augalo poreikių, ūkinių tikslų ir ekonominių aspektų.

Grigaitytė, Laurita. The Effects of Light Parameters on Pharmaceutically Important Metabolite Dynamics in Medicinal Plants, Cultivated in Plant Factories. Master's Final Degree Project / supervisor dr. Akvilė Viršilė; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology; Faculty of Pharmacy, Lithuanian Health Science University.

Study field and area (study field group): Chemistry, Physical Sciences.

Keywords: scopolamine, *Atropa belladonna*, light emitting diode, plant factory.

Kaunas, 2019. 56 pages.

Summary

The final thesis aims at describing and analysing the following research issues related with pharmaceutically important plant *Atropa belladonna*, which accumulates tropane alkaloids scopolamine, atropine, hyoscyamine. Plants, naturally growing in the wild or cultivated under field conditions, usually accumulate only small amounts of alkaloids, because of the negative environmental impacts that are difficult to control. The aim of this work is to optimize lighting conditions for the cultivation of deadly nightshade (*Atropa belladonna*) in plant factory, in order to obtain a stable and high quality raw material that accumulates large amount of valuable phytochemical compounds. In this work, the effects of illumination duration, intensity and spectral combinations on the growth rate, antioxidant properties, accumulated amount of alkaloids of Deadly nightshade were investigated. The results show that the plant growth parameters and the amount of alkaloids in the tissues can be tailored by adjusting the composition of the lighting parameters. . Most of the scopolamine and atropine were accumulated within the highest lighting intensity ($250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) and 24 h photoperiod. Free radical scavenging activity, as well as the amount of alkaloids in the deadly nightshade, can be increased by illuminating them with sole red light. The antioxidant properties increases due to the reaction of the plant antioxidant protection system, while experiencing photostress, but also slightly reduce growth indices. When choosing lighting conditions in controlled environmental horticultural systems, it is important to seek for a balance between natural plant needs, technological aims and economic aspects.

Turinys

Santrumpų ir terminų sąrašas	8
Įvadas.....	9
1. Literatūros apžvalga	11
1.1. Augalų fabriko idėja	11
1.1.1. Augalų fabriko reikšmė šiandieniniame pasaulyje.....	11
1.1.2. Kokias problemas nagrinėja augalų fabrikai	11
1.2. Ekonominiai ir ekologiniai kontroliuojamos aplinkos daržininkystės sistemų aspektai.....	13
1.3. Vaistiniams augalams auginti taikomi šviesos poveikiai	15
1.3.1. Šviesą emituojančiųjų diodų ypatumai augalams apšviesti.....	15
1.3.2. Šviesos parametrų poveikiai vaistiniams augalams	16
1.4. Tropano alkaloidai.....	18
1.4.1. Tropano alkaloidus kaupiantys augalai	18
1.4.2. Tropano alkaloidų kiekiui augaluose padidinti taikomi metodai	19
1.5. Literatūros apibendrinimas	21
2. Medžiagos ir tyrimų metodai.....	22
2.1. Medžiagos.....	22
2.1.1. Tyrimų objektas.....	22
2.1.2. Substratas ir trąšos	22
2.1.3. Neorganinės medžiagos.....	22
2.1.4. Organinės medžiagos.....	22
2.2. Auginimo sąlygos.....	23
2.3. Apšvietimo eksperimentai.....	23
2.3.1. Apšvietimo srauto ir trukmės įtaka.....	23
2.3.2. Apšvietimo spektro įtaka	23
2.4. Analizės ir matavimai	25
2.4.1. Antioksidacinių savybių nustatymas.....	25
2.4.2. Efektyviosios skysčių chromatografijos metodas alkaloidų kiekiui nustatyti.....	28
2.4.3. Statistinė duomenų analizė	30
2.5. Finansinės naudos analizė	31
3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas	32
3.1. Srautas ir fotoperiodas	32
3.1.1. Srauto ir fotoperiodo įtaka augimo rodikliams ir augalo lapų optiniams indeksams	32
3.1.2. Fotoperiodo ir srauto įtaka antioksidaciniam aktyvumui nustatyti DPPH, ABTS ir FRAP metodais.....	33
3.1.3. Fotoperiodo ir srauto įtaka alkaloidų kiekiui augale.....	34
3.1.4. Pagrindinių komponentų analizė apšvietimo srauto ir fotoperiodo įtakai įvertinti	35
3.2. Pagrindinių apšvietimo spektro komponentų poveikis.....	36
3.2.1. Pagrindinių apšvietimo spektro komponentų įtaka augimo rodikliams ir augalo lapų optiniams indeksams.....	36
3.2.2. Pagrindinių apšvietimo spektro komponentų įtaka antioksidaciniam aktyvumui nustatyti DPPH, ABTS ir FRAP metodais	38
3.2.3. Fotoperiodo ir srauto įtaka alkaloidų kiekiui augale	38
3.2.4. Pagrindinių komponentų analizė apšvietimo spektro poveikiams įvertinti.....	39
3.3. Papildomų apšvietimo spektro komponentų poveikis	40

3.3.1. Papildomų apšvietimo spektro komponentių įtaka augimo rodikliams ir augalo lapų optiniams indeksams.....	40
3.3.2. Papildomų apšvietimo spektro komponentių įtaka vaistinių šunvyšnių ir juodųjų drignių antioksidaciniam aktyvumui nustatyti DPPH, ABTS ir FRAP metodais.....	41
3.3.3. Papildomų apšvietimo spektro komponentių įtaka alkaloidų kiekiui vaistinėje šunvyšnėje	43
3.3.4. Šviesos poveikiai alkaloidų kiekiui žaliojoje ir sausojoje vaistinių šunvyšnių masėje palyginti.....	43
3.3.5. Šviesos poveikiai alkaloidų kiekiui skirtinguose bulvinių šeimos augaluose palyginti.....	44
3.3.6. Pagrindinių komponentių analizė papildomų apšvietimo spektro komponentių įtakai įvertinti.....	45
3.4. Baltos šviesos derinių poveikis	46
3.4.1. Baltos šviesos derinių įtaka augimo rodikliams ir augalo lapų optiniams indeksams	46
3.4.2. Baltos šviesos derinių įtaką antioksidaciniam aktyvumui nustatyti DPPH, ABTS ir FRAP metodais.....	47
3.4.3. Baltos šviesos derinių įtaka alkaloidų kiekiui augale.....	48
3.4.4. Pagrindinių komponentių analizė baltos šviesos derinių įtakai įvertinti	48
3.5. Rezultatų apibendrinimas ir rekomendacijos	49
3.6. Finansinės naudos analizė	50
Išvados	52
Literatūros sąrašas	53

Santrumpų ir terminų sąrašas

ABTS – 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolino-6-sulfoninė rūgštis

AF – augalų fabrikas (angl. *plant factory*)

B – baltos spalvos LED apšvietimas

DLI – suminis dienos šviesos kiekis, pasiekiantis augalus per parą (angl. *daily light integral*)

DPPH – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas

FAS – fotosintetiškai aktyvi spinduliuotė (angl. *photosynthetic photon flux density*)

FRAP – trivalentės geležies jonų redukcijos galia

HPS – aukšto slėgio natrio lempa (angl. *high pressure sodium lamp*)

KADS – kontroliuojamos aplinkos daržininkystės sistemos

LED – šviesos diodai (angl. *light emitting diodes*)

M – mėlynos spalvos LED apšvietimas

NBI - azoto balansas

PCA - pagrindinių komponentų analizė

R – raudonos spalvos LED apšvietimas

SM – sausoji masė (angl. *dry weight*)

TA – tropano alkaloidai

TEAG – trolokso ekvivalento antioksidantinė galia

TPTZ – 2,4,6-tripiridil-s-triazinas

TR – tolimosios raudonos LED apšvietimas

Ž – žalios spalvos LED apšvietimas

Įvadas

Tyrimų aktualumas. Sparčiai augant žmonių skaičiui ir kintant klimatui (dykumėjimas, karščio ir šalčio bangos, kiti kylantys klimato ekstremumai), augalinio maisto gavyba tampa pasauline problema. Aplinkos užterštumas, lemiantis galimą auginamos augalinės žaliavos toksiškumą, lauko augalų produktyvumo ir kokybės heterogeniškumas, kaip ir šviežios augalinės produkcijos neprieinamumas kai kuriose vietovėse lemia augantį uždarų kontroliuojamos aplinkos daržininkystės sistemų (KADS, angl. *controlled environment agriculture*) svarbumą [1]. Tankiai urbanizuotose teritorijose ar ekstremalaus daržininkystei klimato zonose augalų auginimas uždarose KADS, šviesos šaltiniu panaudojant šviesą emituojančiųjų diodų (LED, angl. *Light emitting diode*) technologiją, gali būti išeitis vietinei augalinio maisto produkcijai, kuri tenkintų ir ekonomiškumo bei ekologiškumo reikalavimus [2]. Aukštas technologinis KADS lygmuo leidžia keisti auginimo aplinkos parametrus ir taip sukurti augalui savitas apšvietimo, temperatūros, CO₂, drėgmės, mineralinės mitybos sąlygas. Keičiant aplinkos sąlygas, šviesą emituojančiųjų diodų apšvietimo spektrą, srautą ar periodiškumą, galima valdyti augalų augimo, vystymosi ir metabolizmo procesus, taip keičiant auginamos augalinės žaliavos kokybę ir užtikrinti optimalų bei nuo metų laiko nepriklausomą produktyvumą. Visgi, šiuo metu aukštas technologinis KADS lygmuo lemia ir santykinai aukštus auginamos augalinės produkcijos sąnaudas. Todėl tokioms auginimo sistemoms atsipirkti yra pasirenkami auginti aukštą vertę turintys, trumpo vegetacijos ciklo augalai, kaip išskirtinės kokybės žalumyninės daržovės, daiginiai (angl. *microgreens*) ar vaistiniai augalai. Pastaruoju metu ypač domimasi augalų, kaip tikslinių fitocheminių komponentų žaliavos, auginimu KADS. Pažinti ir valdyti tokių augalų metabolinius procesus, siekiant praturtinti augalinę žaliavą tiksliniais komponentais, svarbu tiek biologine, tiek ekonomine prasme. Visgi, augalų atsakas į kintančius aplinkos, o ypač, šviesos, parametrus yra savitas augalo rūšiai bei veislei, todėl iki šiol menkai ištirtas. Daugiausia mokslinių žinių sukaupta apie žalumyninių daržovių metabolitų valdymą, panaudojant šviesą [3]. Todėl šiame darbe siekiama ištirti, kaip LED šviesos parametrai veikia vaistinės šunvyšnės (*Atropa belladonna*) tropano alkaloidų (TA) kiekį audiniuose ir augalų produktyvumą KADS, kaip augalų fabrikai (AF, angl. *plant factory*). Žinoma, kad alkaloidų metabolizmas augaluose nėra tiesiogiai lemiamas šviesos, tačiau šios medžiagos dalyvauja augalo apsauginėse reakcijose, veikia kaip augimo reguliatoriai, todėl jų kaupimas augalinėje žaliavoje gali būti priklausomas nuo auginimo aplinkos sąlygų [4].

Tyrimų objektas – vaistinė šunvyšnė (*Atropa belladonna*), bulvinių (*Solanaceae*) šeimos augalas, kaupiantis TA, auginamas kontroliuojamo klimato kameroje po LED apšvietimu (imituojamomis KADS sąlygomis).

Problema keliamą klausimu: kaip keičiant apšvietimo sąlygas (apšvietimo srautą, spektrą, fotoperiodą) KADS galima koreguoti vaistinių augalų augimą, antrinį metabolizmą ir rūšiai savitomis apšvietimo sąlygomis išauginti aukštos vaistinės vertės, tiksliniais fitocheminiais komponentais praturtintą augalinę žaliavą?

Naujumas. Darbe atliekami tyrimai – tarpdisciplininė sritis, sujungianti augalų auginimo KADS biologinius, ekonominius ir technologinius aspektus. Nors šviesos poveikis augalų augimui ir metabolizmui pastaraisiais metais gausiai tyrinėtas, rūšiai saviti fotofiziologiniai aspektai nėra žinomi. Darbe pirmą kartą nagrinėjami dirbtinio apšvietimo parametrų (šviesos srauto, fotoperiodo ir spektro) poveikiai vaistinės šunvyšnės antioksidacinėms savybėms, TA kaupimuisi audiniuose, o gauti poveikiai vertinami ekonominiame kontekste.

Tikslas – ištirti fotofiziologinius poveikius ir įvertinti galimybes valdyti TA kiekį vaistinės šunvyšnės audiniuose keičiant apšvietimo sąlygas, siekiant išauginti aukštos vertės augalinę žaliavą KADS.

Uždaviniai:

1. ištirti apšvietimo intensyvumo ir trukmės įtaką vaistinės šunvyšnės antioksidacinėms savybėms, alkaloidų kiekiui audiniuose ir augimo parametrams;
1. ištirti apšvietimo spektro įtaką vaistinės šunvyšnės antioksidacinėms savybėms, alkaloidų kiekybinei sudėčiai ir augimo parametrams;
3. įvertinti galimybes valdyti alkaloidų kiekį audiniuose, atsižvelgiant į tirtų parametrų įtaką augalų produktyvumui;
4. parengti vaistinės šunvyšnės augalinės žaliavos, praturtintos TA, auginimo kontroliuojamos aplinkos daržininkystės sąlygomis LED apšvietimo rekomendacijas įvertinus ekonominius skaičiavimus.

1. Literatūros apžvalga

1.1. Augalų fabriko idėja

1.1.1. Augalų fabriko reikšmė šiandieniniame pasaulyje

Spartus populiacijos augimas ir urbanizacija jau netolimoje ateityje nulems maisto trūkumą miestuose. Didėjantys miestai nebeišgali patys aprūpinti gyventojų maistu, todėl dalį maisto produktų importuoja iš periferijos ar kitų pasaulio valstybių, tačiau dėl ribotų žemės, vandens, mineralinių medžiagų išteklių tarptautinės prekybos stabilumas nebėra patikimas [5]. Jungtinės tautos prognozuoja, jog 2050 metais daugiau nei du trečdaliai devynių milijardų pasaulio populiacijos gyvens miestuose. Šviežių vaisių ir daržovių tiekimas miestams pagal šį scenarijų taps tikru iššūkiu [6]. Dirbamos žemės plotų mažėjimas taip pat tampa pasauline problema. Todėl mažame plote išgauti didelį kiekį maisto produkcijos urbanizuotose teritorijose (tokiose kaip Japonija, Amerikos didmiesčiai) jau šiandien yra būtinybė [7]. Nuo ~2011 m. atliekami moksliniai tyrimai, siekiant sukurti novatoriškų metodų ir pakeisti tradicinę šiltnamių daržininkystę į auginimą KADS, pasitelkus išmaniąsias technologijas. Įvertinta, kad KADS ne tik tiektų daržoves miestų žmonėms, tačiau ir sumažintų šiltnamio efektą sukeliančiųjų dujų išsiskyrimą [5,6], lyginant su esamomis šiltnamių daržininkystės technologijomis ir kartu sumažinant daržovių transportavimo atstumus. Tokios auginimo sistemos leistų išgauti aukštos kokybės augalinio maisto už optimaliąją kainą. Didžiausi iššūkiai tokioms sistemoms diegti ir plėsti yra energijos valdymo automatizavimas, išorinių aplinkos sąlygų poveikio sumažinimas, atsinaujinančiųjų gamtos išteklių panaudojimas [5, 6].

KADS (populiariai vadinamos AF ar vertikalia daržininkyste (angl. *vertical farming*)) – tai uždaros augalų auginimo sistemos, kuriose skaitmeniniu būdu kontroliuojami apšvietimo parametrai, drėgmė, temperatūra [8]. AF užtikrina maisto saugą, tvarumą, išteklių optimizavimą; augalai gali būti auginami ištisus metus nepriklausomai nuo gamtos sąlygų net ir tose vietovėse, kur nėra tinkamas dirvožemis [9]. AF gali būti statomi ant bet kokios žemės, nepriklausomai nuo jos derlingumo ar vandens kiekio aplink, taip pat ant pastatų stogų, po žeme, miesto teritorijose. Čia augalai yra apsaugomi nuo ligų sukėlėjų ir išvengiama insekticidų, fungicidų naudojimo, gaunama stabili, saugi ir aukštos kokybės produkcija [7]; sumažinama augalų natūralioje aplinkoje nuolat patiriama stresinė įtampa [10].

Pagal apšvietimo tipą AF gali būti trijų tipų: naudojama tik saulės šviesa, naudojama tik dalis saulės šviesos ir tik dirbtinio apšvietimo. Esant dirbtiniam apšvietimui augaluose sukaupiamas didesnis kiekis vitaminų ir kitų bioaktyvių medžiagų, tačiau saulės šviesa pigesnė, nei dirbtinis apšvietimas [10]. Šviesą emituojančiųjų diodų (LED) apšvietimo pritaikymas AF suteikė naujų perspektyvų ateities AF verslams. Tokios sistemos ne tik aprūpins vartotojus saugiu ir užtikrintu maistu, tačiau skatins naujų pramonijų plėtrą, tokių kaip augalų auginimas kosmoso erdvėje. NASA, ESA jau atliekami įvairūs bandymai [11, 12].

1.1.2. Kokias problemas nagrinėja augalų fabrikai

AF, kaip KADS tipas, leidžia auginti augalus be dirvožemio, tai išsprendžia žemės stygiaus, pesticidų, herbicidų vartojimo problemas, užauginami augalai yra saugūs, organiškai, be chemikalų [13]. AF sumažina neatsinaujinančiųjų išteklių suvartojimą maistui auginti, tokių kaip natrio, kalio, fosforo trąšos, vanduo, žemės plotai naudojant papildomas energijos sąnaudas [7]. Kitas privalumas – augalai auga pačiame mieste arba netoli miesto, todėl yra sumažinamos transportavimo sąnaudos ir

CO₂ emisija į aplinką. Produkcija gaunama visus metus be pertraukų, nepriklausomai nuo metų laiko, nebelieka neigiamų išorinės aplinkos poveikių. Augalų kokybė gerinama tiksliai reguliuojant temperatūrą, drėgmę, apšvietimo sąlygas. KADS būdingos gerokai mažesnės vandens sąnaudos nei auginant atviraime lauke dėl panaudojamos vandens recirkuliacijos sistemos, taip pat sumažinamas vandens išgarinimas. Atsižvelgiant į metų laiką, taip pat gali būti panaudojamas surinktas lietaus vanduo. Aeroponinė ir hidroponinė auginimo sistemos gali sumažinti vandens sąnaudas iki 97 % lyginant su tradicine žemdirbyste [13].

Nuolatinis subalansuotas CO₂ tiekimas, naudojant oro kondicionavimo sistemą turi įtaką greitesniam augalų augimui, didesniai produktyvumui. Optimizuotas LED apšvietimas taip pat gali padidinti derlingumą. AF gali sumažinti iškastinio kuro poreikį jį pakeitus į saulės kolektorių, vėjo turbinų energiją, kas taip pat sumažintų energijos ir produkcijos sąnaudas. Sukuriamos naujos darbo vietos aukštos kvalifikacijos darbuotojams ūkio inžinerijos, biochemijos, biotechnologijos, statybos, priežiūros ir mokslinių tyrimų srityse, vystomos įvairių sričių technologijos [13].

Auginant maisto produkciją kontroliuojamomis sąlygomis galima koreguoti žalumyninių daržovių kokybę: galima išauginti mažai kalio kaupiančias daržoves turintiesiems inkstų problemų, o mikroelementais ir natūraliais antioksidantais praturtintos daržovės yra svarbios sveikai mitybai. AF sistemose, esant galimybei kontroliuoti aplinkos sąlygas, apšvietimo srautą, spektrą, sukuriamos augalo rūšiai savitos auginimo receptūros, dėl kurių išauginami išskirtinės kokybės, aukštas tikslinių fitocheminių medžiagų koncentracijas kaupianti augalinė žaliava vaistų pramonei [7, 14, 3].

AF (1.1 pav.) dažniausiai naudojami lapinių žalumynų komercinei produkcijai. Jų sąlyginai trumpas vegetacijos ciklas leidžia užauginti daugiau derlių per metus, o jų trumpas galiojimo laikas po derliaus nuėmimo įprasmina vietinės produkcijos poreikį. Toks augalų auginimo būdas kuriasi įvairiuose miestuose visame pasaulyje ir sulaukia nemažai žmonių susidomėjimo. Jau yra susiformavęs naujas vartotojų tipas, kurie nori šviežio, geros kokybės maisto, kurio gamybos (auginimo) procese nedaroma jokios žalos gamtai [13].

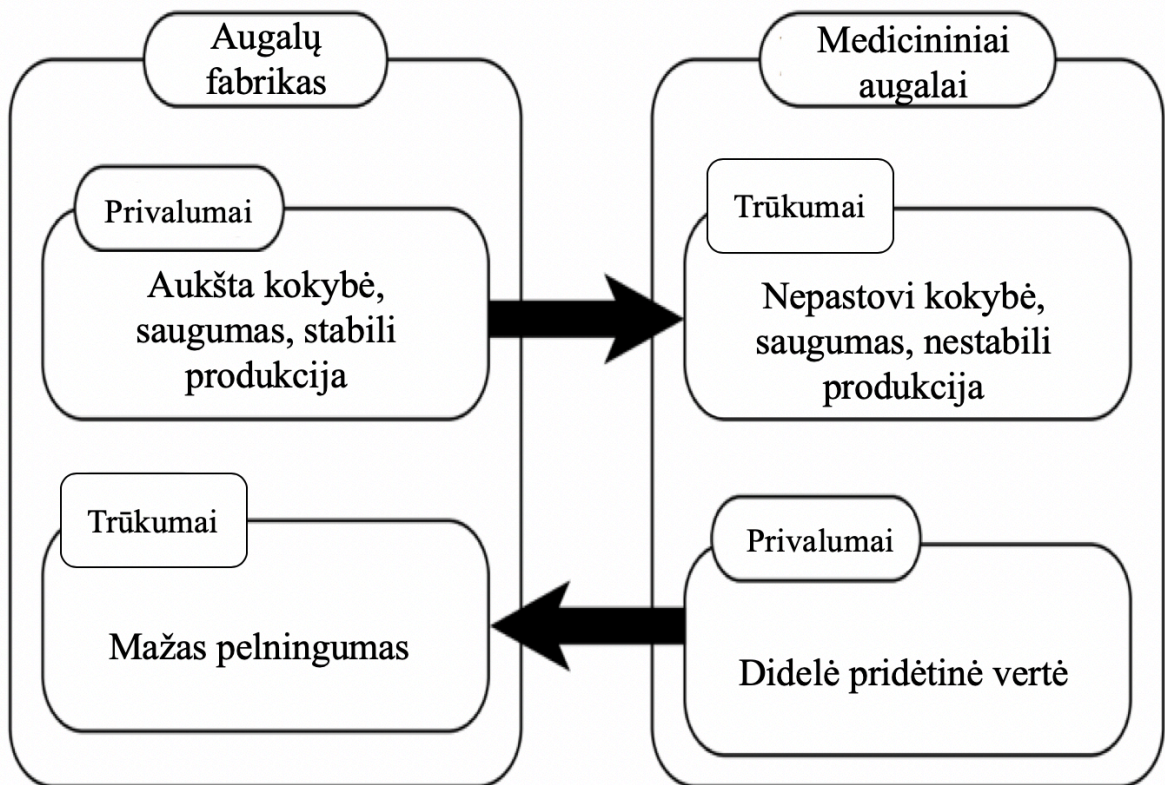


1.1 pav. AF, naudojantis LED apšvietimą [15]

1.2. Ekonominiai ir ekologiniai kontroliuojamos aplinkos daržininkystės sistemų aspektai

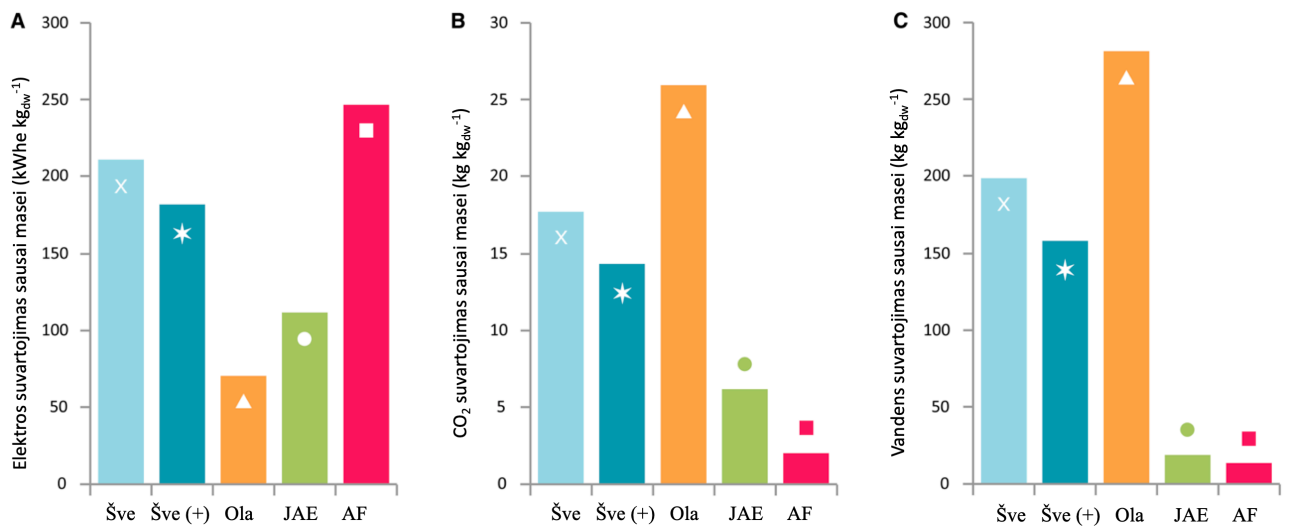
Uždaros auginimo sistemos sukurtos padidinti gamybos tankį, produktyvumą ir naudojamų resursų efektyvumą. Aukštas produktyvumas pasiekiamas koreguojant aplinkos sąlygas viduje, suvienodinus temperatūrą, apšvietimą, drėgmės kiekį ir sumažinus išorinio klimato poveikį [16]. Koreguojant AF parametrus pagal ūkinį tikslą ir technologines galimybes galima reikšmingai padidinti investicinį patrauklumą. Maži AF miestuose gali sustiprinti mažmeninę rinką, skatinti naujų verslų sukūrimą, įdarbinimo galimybių padidėjimą. Turėtų teigiamą poveikį aplinkosaugai, nes AF leidžia sumažinti vandens, trąšų, pesticidų sunaudojimą, taip pat šiltnamio efektą sukeliančiųjų dujų išskyrimo sumažėjimą dėl sumažėjusio produktų transportavimo poreikio [9]. Japonijoje 2017 metais buvo registruoti 208 AF. Per 2011-2017 metus šis skaičius padidėjo 2,6 karto. Tačiau 50 % dirbtinio apšvietimo ir 35 % mišraus tipo apšvietimo fabrikų 2016 metais veikė nuostolingai. Augintojai esant verslų pertekliui nustatė šias problemas: ligų ir kenkėjų kontrolė, derliaus stabilizavimas, auginimo technikos patobulinimai, pardavimo kainos koregavimas padidinus pridėtinę vertę. AF pelningumui reikia padidinti auginamos produkcijos pridėtinę vertę. Pridėtinę vertę galima padidinti ir pagerinus daržovių maistinę vertę, kvapą, spalvą, šviežumą, tai yra, auginant išskirtinės vertės (angl. *high-end*) augalinę produkciją maistui [17]. AF produkcijos vertė yra aukšta ir todėl, kad sumažinamas aplinkos poveikis augalams, ligų sukėlėjų patekimo rizika ir apsauginių cheminių medžiagų naudojimas. Tai padidina auginamų augalų saugą vartotojui ir jų rinkos kainą [16]. Pavyzdžiui, vidutinė salotų kaina 2016 metais Japonijos rinkoje pakilo dėl mažo kiekio saulės ir kelių taifūnų vasaros metu iki 1400 JPY/kg, o AF gali tiekti salotas už 1000 JPY/kg. Reikia paminėti, jog daržovės, auginamos AF pasižymi stabilia kaina, kokybe ir produktyvumu, savalaikiu derliumi [7].

Apšvietimas yra vienas pagrindinių veiksnių, lemiančiųjų produkcijos sąnaudas AF [11]. Teigiama, kad LED yra efektyvus apšvietimo šaltinis ir ~30 % sumažina produkcijos kainą lyginant su tradiciniu daržininkystėje aukšto slėgio natrio lempų (HPS angl. *High pressure sodium*) apšvietimu [9]. Dar daugiau, LED tarnavimo pusamžis yra ~50000 val., kai HPS – 3000 val. Vis dėlto, vertinant modernius, efektyviausius HPS ir LED įrenginius, jų elektrinis ir fotonų efektyvumas yra labai panašus, tačiau pradinė turto kaina, tenkanti vienam fotonui, LED šviestuvams yra nuo penkių iki dešimties kartų didesnė nei HPS. Tai rodo, jog nuo pirkimo dienos penkerių metų laikotarpiu LED apšvietimo kaina išlieka perpus didesnė už HPS. Gamintojai stengiasi pagerinti visų rūšių apšvietimo technologijas ir išlaidos vienam fotonui palaipsniui mažėja [18]. AF (1.2 pav.) leidžia auginti aukštos kokybės ir saugius augalus, nors auginimo sąnaudos yra santykinai didelės. Kita vertus, vaistiniai augalai taip pat turi didelį potencialą auginimui AF, nes jie turi didesnę pridėtinę vertę už daržoves, o juos sudėtinga išauginti aukštos kokybės ir saugius auginant atviraime lauke. Vaistiniai augalai yra tinkami auginti AF siekiant išgauti aukštos kokybės produkciją, o jų auginimas AF įvertintas pelningesniu, nei auginimas šiltnamyje [17].



1.2 pav. Medicininių augalų šiltnamiuose ir AF privalumai bei trūkumai [17]

Atlikti tyrimai [16], kurių metu buvo lyginamos išteklių sąnaudos, auginant augalus AF ir šiltnamiuose Švedijoje, Olandijoje ir Jungtiniuose Arabų Emyratuose (1.3 pav.). Energijos sąnaudos augalo SM produkcijai AF reikalingos didesnės: nuo 14 % daugiau energijos nei šiltnamyje Švedijoje iki 251 % daugiau energijos nei šiltnamyje Olandijoje. Nustatyta, kad AF yra tinkamesni salotoms auginti, nei šiltnamiai aukštesnių platumų teritorijose, nes šildymas reikalauja gerokai daugiau elektros energijos sąnaudų, nei apšvietimas AF. Ši prielaida sutampa su idėja, jog ypač tamsiuose ir šaltuose regionuose AF sumažintų elektros sąnaudas, tačiau karštuose ir sausuose regionuose tokiuose kaip Jungtiniuose Arabų Emyratuose, patalpoms vėsinti sunaudojama mažiau elektros energijos nei sunaudoja dirbtinis apšvietimas. AF gali sumažinti vandens sunaudojimą nuo 28 % (Jungtiniuose Arabų Emyratuose) iki 95 % (Olandijoje) ir CO₂ sąnaudas nuo 67 % (Jungtiniuose Arabų Emyratuose) iki 92 % (Olandijoje), lyginant su augalų auginimu šiltnamiuose [16].

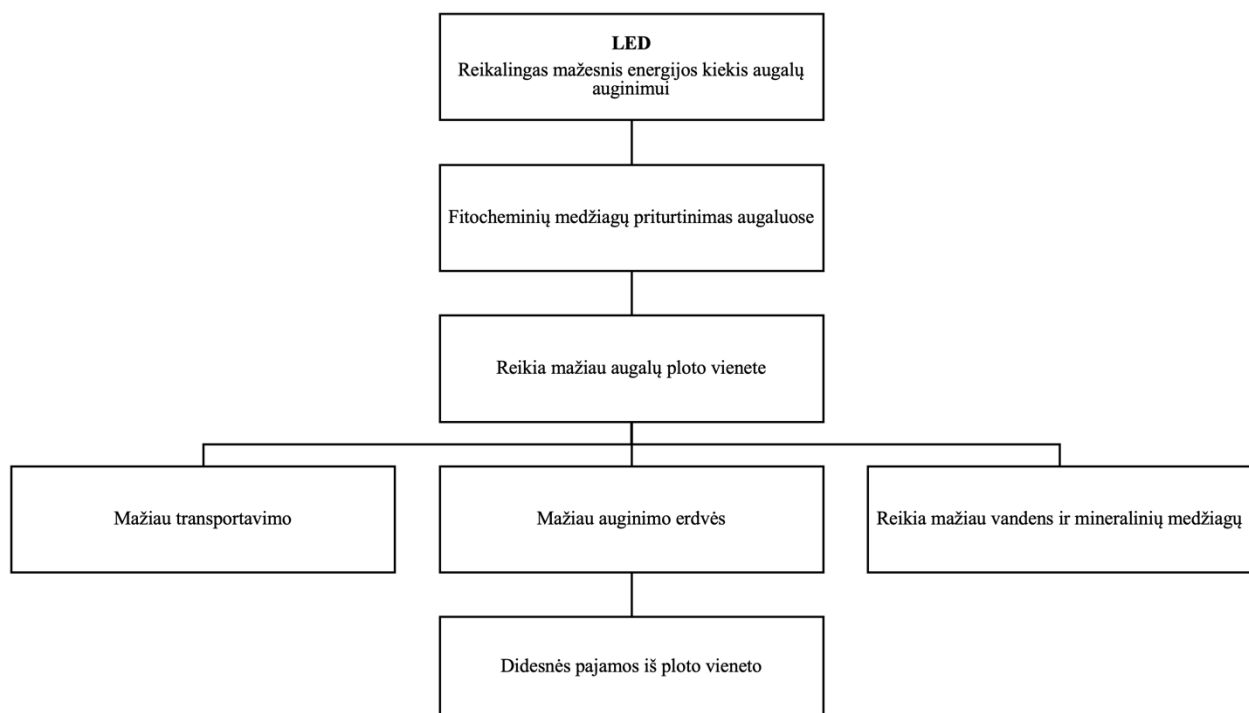


1.3 pav. Elektros (A), CO₂ (B), vandens (C) išteklių suvartojimas bendrai SM produkcijai (kg_{SM}) AF lyginant su auginimu šiltnamiuose Švedijoje be ir su pridėtinu dirbtiniu apšvietimu (Šve, Šve (+), Olandijoje (Ola), Jungtiniuose Arabų Emyratuose (JAE) [16]

1.3. Vaistiniams augalams auginti taikomi šviesos poveikiai

1.3.1. Šviesą emituojančiųjų diodų ypatumai augalams apšviesti

Auginant augalus kontroliuojamomis aplinkos sąlygomis apšvietimui naudojami įvairių spalvų šviesos diodai (LED) dėl elektros energijos konversijos į šviesą efektyvumo, tarnavimo pusamžio ir sąlyginai mažesnio elektros energijos sunaudojimo. LED yra ekonomiškai ir draugiškai aplinkai įrenginiai, jie turi daug praktinių privalumų lyginant su kitais lempų tipais (aukšto slėgio natrio (HPS) arba fluorescencinėmis lempomis ir kt. LED maksimalus srautas pasiekiamas jau įjungimo metu, kai fluorescencinių lempų ir HPS įsilimas trunka atitinkamai 3 min arba net 10 - 20 min. Ilgalaikis atsparumas mechaniniam poveikiui ir LED kompaktiškumas yra puikus, palyginus su kitais lempų tipais. Papildoma reikšminga LED nauda – sumažėję šilumos nuostoliai ir infraraudonųjų spindulių išsiskyrimas, todėl sumažėja nepageidaujamų ir neigiamų šilumos padarinių augalų kokybei [2]. Dar daugiau, komponuojant skirtingų spalvų (šviesos bangų ilgių) LED šviestukus, galima sukurti skirtingą apšvietimo spektrą įvairiems augalams. Optimizuojant apšvietimo spektro sąlygas, savitas skirtingoms augalų rūšims, galima ne tik pagerinti jų augimo parametrus, bet ir praturtinti augalų audinius fitocheminiais junginiais (1.4 pav.) [19, 20, 21].



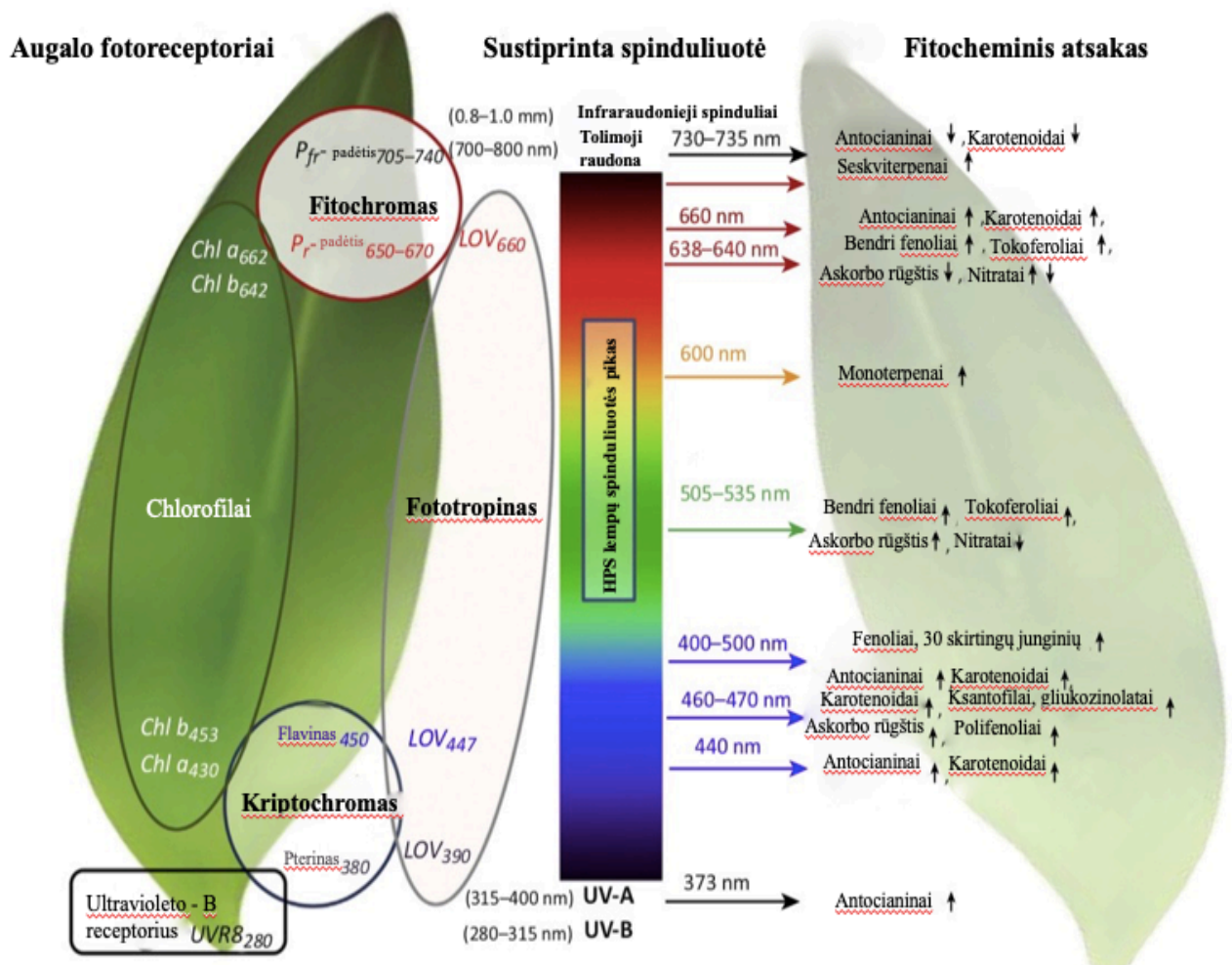
1.4 pav. LED taikymo augalams apšviesti taupumo atžvilgiai [2]

Išskiriamos keturios svarios LED funkcijos jų taikymui KADS:

1. apšvietimo spektro valdymas. Augalams spektrai gali būti parinkti taip, kad skatintų fotobiologinius atsakus, ir keistų augalų morfologiją, padidintų fotosintezės intensyvumą ir pagerintų maistinę vertę;
2. patogus šviesos intensyvumo valdymas;
3. maža temperatūros emisija spinduline kryptimi augalų link, dėl ko net esant dideliame LED apšvietimo srautui, sklindanti šviesa nekaitina augalo, todėl šviestuvai gali būti kabinami arti augalo. Dėl šios priežasties LED, priešingai nei HPS, yra pirmo pasirinkimo šviesos šaltinis lentynose auginamiems augalams apšviesti;
4. gera integracija su kitomis technologijomis. Pavyzdžiui, belaidžio ir laidinio ryšio lustai; fotografijų, vaizdo, chemijos, temperatūros ar drėgmės jutikliai; mikroprocesorius bei atminties lustai vietiniam intelektui. Tai privalu integruojant apšvietimą į išmanias aplinkos kontrolės sistemas KADS [2].

1.3.2. Šviesos parametrų poveikiai vaistiniams augalams

Augalai reaguoja į šviesą dažniausiai kitaip nei žmonės ir naudoja daugiau nei tuziną fotoreceptorių. Šviesos fotonai panaudojami tiek kaip energija fotosintezei (apšvietimo srautas), tiek kaip signalas (apšvietimo spektras), kuris keičia augalų morfologiją, fotosintezės vyksmą ir metabolizmą [22]. Išskirtini metaboliniai šviesos poveikio augalams aspektai (1.5 pav.), kadangi keičiant augalų metabolizmo kryptingumą, juos galima praturtinti tiksliniais fitocheminiais junginiais [23]. LED yra įrankis, leidžiantis apšviesti augalus tik siaura bangos ilgių sritimi arba netgi viena šviesos spektro smaile. Tai švaresniausia ir ekonomiškiausia technologija šiam tikslui [2].



1.5 pav. Augalo atsakas į šviesos kokybę. Augalo fotoreceptoriniai pigmentai (chlorofilas a ir b, fitochromai, fototropinai ir UVB receptoriai) yra pateikiami kairėje pusėje, spinduliuotės poveikis – dešinėje pusėje. Čia: Chl – chlorofilas; HPS – aukšto slėgio natrio lempa; LED – šviesos diodai; LOV – šviesos-deguonies-įtampas poveikį jaučiantys baltymai; P_{fr} – fitochromai absorbuojantys tolimosios raudonos šviesos bangos ilgius; P_r - fitochromai absorbuojantys raudonos šviesos bangos ilgius [23]

Įvairūs atlikti tyrimai rodo, kad augalų augimas reikšmingai priklauso nuo apšvietimo kokybės (spektro pasiskirstymo arba spalvų santykio). Nustatyta, jog oranžinių ir raudonų fotonų santykis tarp 600 ir 630 nm gali 20 - 30 % padidinti fotosintezės intensyvumą augaluose palyginus su mėlynos spalvos fotonais 400 - 540 nm, tačiau mėlyna šviesa skatina ląstelių dalijimąsi, lapų ploto augimą, stiebo ir šaknų sistemos tvirtumą [18]. Nustatyta, kad mėlynos spalvos LED apšvietimas (M), esant 400–500 nm bangos ilgiui, padidina fenolinių junginių kiekį grikių daiguose, kurie yra populiarūs maisto produktai daugelyje šalių. Papildoma M šviesa taip pat padidina fenolinių junginių kiekį vynuogių ir citrusinių vaisių odelėje ir minkštyme. Daugelyje tyrimų fenolinių junginių kiekio padidėjimas naudojant papildomą M yra susijęs su padidėjusiu antioksidaciniu augalinės žaliavos aktyvumu. Panašiai, nustatyta, kad mėlyna taip pat padidina bendrą fenolių ir flavonoidų kiekį ir antioksidacinių fermentų aktyvumą farmacijai svarbių žolelių plunksninių kalankių lapuose ir šaknyse [2, 24]

Mėlyna šviesa skatina antocianinų sintezę mėlynių vaisiuose, grikiuose, braškių vaisiuose. Taip pat padidina monoterpenų kiekį augaluose, kurie auginami po baltos spalvos LED arba fluorescencine

šviesa. Eterinio aliejaus kiekis, praturtintas seskviterpenais, padidėja ksilopijose (*Xylopija aromatica*). Aminorūgštys, organinės rūgštys, riebalų rūgštys ir favonoidų glikozidai taip pat yra gausiau kaupiami esant mėlynos šviesos poveikiui. Nustatyta, kad mėlyna šviesa padidina C vitamino kiekį 2,5 karto, o M ir R santykiui esant 3: 7 padidinama karotinoidų koncentracija [2].

Myiagi ir kiti parodė, jog LED kartu su aukšta koncentracija CO₂ ir mikroelementais reikšmingai padidina salotų produktyvumą AF. Shimokawa ir kiti nustatė, jog R ir M naudojama kartu pagerino augimą lyginant tik su monochromatinės ar fluorescencinės šviesos spinduliuote, įvairių rūšių salotų žalioji masė buvo perpus didesnė nei naudojant įprastinius LED metodus [6, 25]. Parodyta, kad pridėjus prie M ir R spektro papildomos geltonos spalvos padidėja salotų biomasė lyginant su balta šviesa arba tik M su R. Terpenoidų kiekis mėtos eteriniuose aliejuose ryškiai padidėjo auginant po apšvietimu, kurio R:M LED šviesos santykis 70:30 lyginant su tiesioginiu saulės spinduliuotės spektru. Nurinktą pomidorų, mėlynių derlių sandėliuojant po siauro spektro M, R, tolimosios raudonos (TR) deriniu nustatytas kintančiųjų fitocheminių komponentų praturtinimas ir santykio pokytis priešingai nei sandėliuojant tamsoje arba po baltos spalvos apšvietimu. Carvalho su kolegomis nustatė, jog kai prie R ir M pridedama geltonos, žalios (Ž) arba TR šviesos, maksimaliai padidėja bazilikų lapų paviršiaus plotas ir žalia masė. Šviesos spektro modifikacijos efektyviausiai veikia vaistažolių metabolizmą ankstyvu augimo laikotarpiu [23].

Per didelis apšvietimo srautas taip pat gali turėti neigiamos įtakos augalams: pažeisti fotosintezės aparatą ir fotosintezės pigmentų sintezę. Tačiau esant per mažam apšvietimui fotosintezė tampa neefektyvi. Šviesos intensyvumas veikia chlorofilo kiekį, sukelia antioksidacinės apsauginės sistemos reakciją, kas pasižymi dažniausiai fenolinių junginių kaupimusi augale. Visgi, šviesos srauto poveikis augalams yra neatsiejamas nuo spektro ir spektro komponentų santykio. Mėlynos ir raudonos LED šviesos derinys yra dažniausiai augalams apšviesti naudojamas santykinai elektriškai efektyviausias spektras [18]. R ir M santykis svarbus tiek morfogenezei, tiek fenolinių junginių sintezei, antriniam metabolizmui. Mirtos (*Myrtus communis*) ir remanijos (*Rehmannia glutinosa*) augaluose augintuose *in vitro* sąlygomis po LED apšvietimu didžiausias kiekis flavonoidų buvo nustatytas auginant po 100 % R lempomis. Pridėtinė mėlyna šviesa spektre sumažino flavonoidų kiekį, tačiau padidino lapų skaičių ir turėjo įtakos morfogenezei. Padidėjęs fenolių kiekis auginant po R gali būti siejamas su padidėjusiu citokininių lygiu dėl raudonos šviesos [26].

Vis dar sudėtinga suprasti kaip augalai reaguoja į šviesos kokybės pokyčius, kadangi specifiniai LED lempų spektro komponentų santykiai skirtingoms augalų rūšims turi skirtingų poveikių, tačiau visais atvejais apšvietimo pagrindą sudaro raudonos ir mėlynos šviesos mišinys, kur M veikia chlorofilo formavimąsi ir chloroplastų vystymąsi, o R, kaip pagrindinė energija fotosintezei, turi tiesioginį poveikį biomasės akumuliacijai, elongacijai, augimui [27, 28, 29].

1.4. Tropano alkaloidai

1.4.1. Tropano alkaloidus kaupiantys augalai

Alkaloidai atlieka apsauginę augalo funkciją. Jie gali blokuoti jonų kanalus, sumažinti fermentų veikimą, reguliuoti metabolizmą streso sąlygomis [30]. TA, skopolaminas ir jo pirmtakas hiosciaminas, kaupiami bulvinių (*Solanaceae*) šeimos augaluose: šunvyšnės (*Atropa*), durnaropės (*Datura*), žiaumio (*Duboisia*), drignės (*Hyoscyamus*) ir skopolijos (*Scopolia*) gentyse.

Naudojami kaip anticholinerginiai veiksniai, anestetikai ir motorikos ligoms gydyti [31]. Dažniausiai naudojami lapai ir sėklos kaip vaistai nuo astmos, gydo nudegimus, raumenų spazmus, kosulį, hemorojų, odos opas. Tyrimo metu alkaloidai, esantys durnaropių lapuose parodė ryškų priešvėžinį ir antimitozinį potencialą [32]. Visos augalo dalys tiek žaliosios masės, tiek SM gali būti labai nuodingos gyvūnams ir žmonėms. Toksiškumą lemia TA – atropinas, hiosciaminas, skopolaminas [33]. Skopolaminas turi mažiau šalutinių poveikių nei hiosciaminas, todėl vartojamas dažniau. Augalo struktūroje skopolaminas atlieka apsauginę funkciją nuo vabzdžių. Jis gaminasi šaknyse ir vėliau perduodamas į kitus augalo organus. Šių alkaloidų kiekis augaluose yra mažas, tad siekiant išgauti vaistines medžiagas reikalingi dideli auginimo plotai [31].

Didžiausias kiekis TA buvo nustatytas drignių (*H. Reticulatus* ir kitose *Hyoscyamus* rūšyse tokiose kaip *H. Muticus*) lapuose žydėjimo metu [34]. Nustatyta, jog mažiausiai alkaloidų (0,38 % SM) šunvyšnėse susikaupė trečiame organogenezės tarpsnyje, kai yra 50 % žydėjimas, apatiniai lapai visiškai subrendę, 40 dienų po sudygimo. Daugiausia alkaloidų (0,67 % SM) buvo sukaupta 9 vystymosi etape praėjus 130 dienoms po pirmos gėlės pasirodymo [35].

Nustatyta, jog hiosciamino ir skopolamino kiekis diploidiniuose drignių augaluose buvo 0,26 ir 0,23 % (SM) atitinkamai. Hiosciamino nebuvo nustatyta tetraploidiniuose augaluose, tačiau alkaloido skopolamino kiekis smarkiai padidėjo (8,66 % SM). Išaugęs skopolamino ir sumažėjęs hiosciamino kiekis gali būti dėl padidėjusios hiosciamino-6-beta hidroksilazės aktyvumo, kuri katalizuoja hiosciamino vartimą į skopolaminą. Šio tyrimo metu TA buvo ekstrahuoti iš lapų augalo žydėjimo fazės metu [36].

1.4.2. Tropano alkaloidų kiekiui augaluose padidinti taikomi metodai

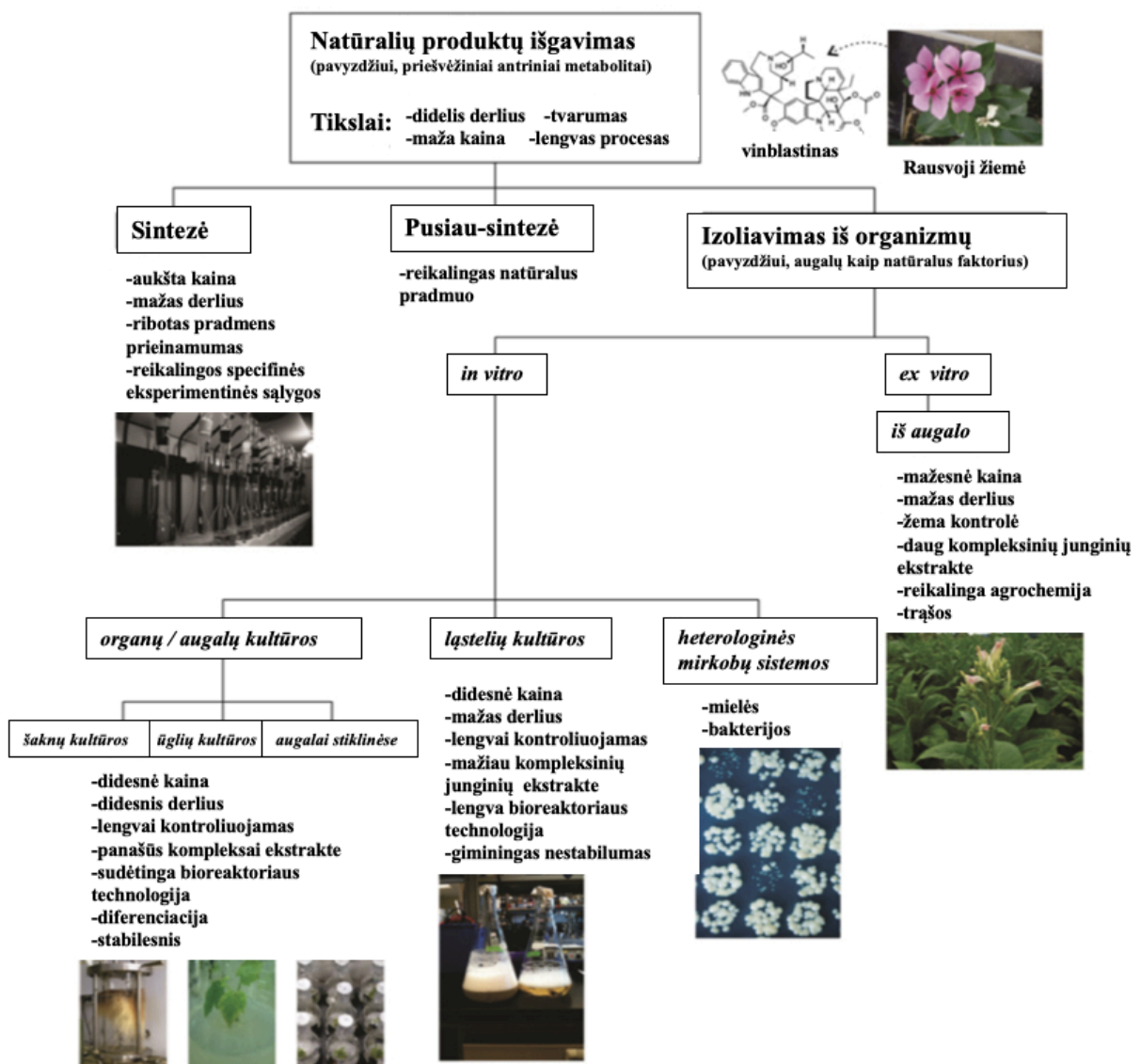
Skopolaminas vertingiausias iš visų TA dėl didelio farmakologinio aktyvumo, mažų šalutinių poveikių, ribotos pasiūlos. Nustačius, jog hiosciaminas turi nepageidaujamų šalutinių poveikių centrinei nervų sistemai, skopolamino poreikis padidėjo dešimt kartų lyginant su hiosciaminu ir jo racemine forma atropinu ir buvo pradėta ieškoti galimybių skopolamino komercinei gamybai [37, 38].

Auginant TA kaupiančius augalus lauko sąlygomis ar šiltnamyje, nustatyta, kad alkaloidų kiekį veikia dirvos drėgnis ir mineralinė mityba. Nustatyta, kad trūkstant drėgmės dirvoje, nepriklausomai nuo taikytų tręšimo azotu normų, skopolamino kiekis šunvyšnių šaknyse padidėjo perpus daugiau lyginant su kontrole. Esant vidutiniam dirvos drėgmeniui skopolamino kiekis išlieka menkas. Maksimalus hiosciamino (0,41 % SM) ir skopolamino (0,07 % SM) šunvyšnių šaknyse buvo nustatytas sausos streso sąlygomis (esant 5 % dirvožemio drėgmei), azoto kiekis 1,60 g/vegetaciniam indui. Visgi, sausros stresas reikšmingai sumažino šaknų biomasę, kas kartu neigiamai paveikė galutinę alkaloido išeigą [35]. Taip pat augalo šaknis paveikus NaCl ir NiCl₂ atropino kiekis šaknyse buvo padidintas apie du kartus, tačiau sumažėjo ūgliuose.

Mokslininkai tyrė augalų potencialą kaupti TA naudojant hidroponikos arba aeroponikos sistemą sumontuotą šiltnamyje. Buvo nustatyta, jog TA kiekis durnaropėse daug skyrėsi auginant hidroponinėje sistemoje steriliomis ir nesteriliomis sąlygomis. Nustatyta, kad hiosciamino bei skopolamino kiekis augale gali būti net 7 kartus didesnis jei auginant hidroponinėje sistemoje šaknys sąveikauja su *Agrobacterium rhizogenes*. Toks metodas efektyvus auginant pramoniniu būdu [39].

Pastaraisiais metais pradėti tyrimai pritaikius įvairius biotechnologinius metodus, siekiant palengvinti TA gamybą kalniais ir šaknų kultūrose. Vykdytuose tyrimuose su augalų ląstelėmis ir organų kultūromis nenustatytas reikšmingas alkaloidų kaupimosi padidėjimas, tad komercinė gamyba būtų nuostolinga [31].

Nors *in vitro* sąlygos (1.6 pav.) alkaloidų gamybai dar nėra tinkamos dideliu mastu, tačiau šie tyrimai leidžia geriau suprasti TA biosintezės kelio reguliavimą [38]. Geras metabolizmo supratimas yra būtinas siekiant plėsti farmacijai svarbių alkaloidų, tokių kaip hiosciaminas ir skopolaminas, kiekio augale padidinimo strategijas [40]. Cheminė TA sintezė taip pat nėra ekonomiškai galima dėl per didelės kainos, laiko sąnaudų, proceso sudėtingumo, todėl šie alkaloidai farmacijos pramonei vis dar išgaunami tiesiai iš augalų, tokių kaip: šunvyšnės, durnaropės, drignės [37, 38], o KADS leistų išgauti aukštos kokybės augalinę žaliavą už mažiausiąją kainą, nes pasiekama efektyvios kokybės kontrolės ir gausaus derliaus, sumažinamas vandens, dirvožemio, trąšų poreikis [6].



1.6 pav. Antrinių metabolitų išskyrimo strategijų privalumai ir trūkumai [41]

1.5. Literatūros apibendrinimas

Svarbus AF pelningumo atžvilgis – auginamo objekto pasirinkimas. Daržovių yra sąlyginai maža rinkos kaina, todėl jų auginimas AF yra pelningas tik išimtiniais atvejais (auginant išskirtinės vertės produkciją, auginant teritorijose, kuriose šviežios daržovės kitaip nepasiekiamos). Ieškant aukštos vertės augalinės produkcijos auginti AF, buvo atsižvelgta į vaistinius augalus. AF galima išauginti pastovios kokybės vaistinę žaliavą, nepriklausomai nuo metų laiko. Taip pat, keičianti auginimo aplinkos parametrus, galima išauginti augalinę žaliavą, praturtintą tiksliniais komponentais. Visgi, tokia tikslinių vaistinių komponentų produkcija AF reikalauja didelio mokslinių tyrimo indėlio, kadangi kiekvienai tikslinei fitocheminių komponentų grupei reikalinga parinkti augalų biologijos duomenimis pagrįstas auginimo strategijas. Kai kurie tiksliniai komponentai (askorbo rūgštis, tokoferoliai, karotinoidai) yra augalo antioksidacinės apsauginės sistemos dalis [14]. Todėl sukelti augalui stresinę įtampą (aukštas apšvietimo srautas, trumpalaikė žemesnė temperatūra, ar kt.) galima sukelti apsauginę augalo reakciją ir padidinti šių komponentų kaupimąsi audiniuose. Visgi tiksliniai farmacijai svarbūs fitocheminiai junginiai (alkaloidai, glikozidai ir kt.) nėra tiesiogiai susiję su augalo antioksidaciniu atsaku, todėl reikalinga atskirai ištirti AF kontroliuojamų aplinkos parametrų galimus efektus jų metabolizmui ir kaupimuisi audiniuose. Šviesa yra vienas pagrindinių veiksnių, veikiančių augalų augimą, vystymąsi ir metabolizmą. Dirbtinis apšvietimas AF – taip pat vienas svarbiausių atžvilgių auginamos augalinės žaliavos kokybei. Todėl šiame darbe siekiama augalų fiziologiniais tyrimais pagrįsti apšvietimo parametrų (apšvietimo srauto, spektro ir fotoperiodo) efektus kokybiškų ir produktyvių vaistinių šunvyšnių auginimui AF ir TA alkaloidų gavybai.

2. Medžiagos ir tyrimų metodai

Tyrimai atlikti Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centro Sodininkystės ir daržininkystės institute, Augalų fiziologijos laboratorijoje 2018 – 2019 m.

2.1. Medžiagos

2.1.1. Tyrimų objektas

Tyrimų objektas – vaistinės šunvyšnės (*Atropa belladonna*), išaugintos po skirtingų parametru kietakūniui apšvietimu kontroliuojamos aplinkos klimato kameroje (2.1 pav.), imituojant AF. Papildomų spektro komponentų efektų atkuriamumui įvertinti papildomai eksperimentai atlikti su juodąja drigne (*Hyoscyamus niger*). Sėklos gautos iš Rare Seeds (Vokietija).



2.1 pav. Vaistinės šunvyšnės kontroliuojamo aplinkos klimato kameroje

2.1.2. Substratas ir trąšos

- durpių substratas (Profi mix, Durpeta, Lietuva), pH 6-6,5; N 115 mg L⁻¹, P₂O₅ 55 mg L⁻¹, K₂O 160 mg L⁻¹ su mikroelementais Fe, Mn, Cu, B, Mo, Zn;
- trąšos – NPK 3-1-3 su mikroelementais (Plagron Terra grow, Olandija).

2.1.3. Neorganinės medžiagos

Medžiagos, naudojamos antioksidaciniam aktyvumui nustatyti K₂S₂O₈, HCl, FeCl₃·6H₂O, Fe₂SO₄, įsigyti iš Sigma-Aldrich (Vokietija).

2.1.4. Organinės medžiagos

- metanolis – naudojamas ekstraktams paruošti ir spektrofotometrinių analizių kontrolinio mėginiui paruošti, įsigytas iš Sigma-Aldrich (Vokietija);
- 2,2-difenil-1-pikrihidrazil hidratas (DPPH) – naudojamas antioksidaciniam aktyvumui nustatyti, įsigytas iš Sigma-Aldrich (Vokietija);
- 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfono rūgštis (ABTS) – naudojamas antioksidaciniam aktyvumui nustatyti, įsigytas iš Sigma-Aldrich (Vokietija);
- 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazinas (TPTZ) - naudojamas antioksidaciniam aktyvumui nustatyti, įsigyti iš Sigma-Aldrich (Vokietija);

- natrio acetatas, acto rūgštis, įsigyti iš Sigma-Aldrich (Vokietija);
- troloksas – naudojamas kalibracinėms kreivėms nustatyti, įsigytas iš Sigma-Aldrich (Vokietija);
- metanolis, forminė rūgštis, įsigyti iš Sigma-Aldrich (Vokietija);
- atropino, skopolamino standartai įsigyti iš Sigma-Aldrich (Vokietija), naudojami kiekybinei analizei atlikti.

2.2. Auginimo sąlygos.

Augalai auginami uždaroje kontroliuojamojo klimato kameroje, imituojant AF sąlygas. Buvo palaikoma $\sim 18 \pm 2 / 21 \pm 2$ °C nakties/dienos temperatūra ir 60-70 % santykinė drėgmė, 800 ppm CO₂ koncentracija. Vaistinės šunvyšnės ir juodosios drignės pasėtos ir auginamos durpių substrate 0,45 L tūrio plastikiniuose vazonuose. Laistoma pagal poreikį. Kartą per savaitę tręšiama NPK 3-1-3 trąšomis su mikroelementais. Augalų apšvietimo sąlygos detalizuotos atskiruose eksperimentuose 2.3 skyrelyje.

2.3. Apšvietimo eksperimentai.

2.3.1. Apšvietimo srauto ir trukmės įtaka.

Kontroliuojamojo klimato kameroje tirta apšvietimo fotosintetiškai aktyvios spinduliuotės (FAS) ir fotoperiodo (apšvietimo trukmės) įtaka vaistinių šunvyšnių augimo parametrų, antioksidacinei gebai ir alkaloidų kiekiui audiniuose. Apšvietimo šaltinis – LED pramoninės lempos HLFC 06, 180 W ir HLFC 08, 230 W (Hortiled, Lietuva). Lempų spektras vienodas, sudarytas iš raudonų (620-630 ir 660-670 nm), mėlynų (440-470 nm), oranžinių (610-615 nm), violetinių (420-430 nm) ir baltų (6500 K) LED. Apšvietimo spektre yra 20 % mėlynos šviesos. Šviestuvai pakabinti 1,5 m aukštyje virš augalo. Tokiu būdu sukurtos 150 (HLFC 06) ir 250 (HLFC 08) $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ apšvietimo srauto (FAS) sąlygos. Taikytas 18 h ir 24 h fotoperiodas. Skirtingo apšvietimo FAS ir fotoperiodo sąlygomis šunvyšnės auginamos 30 dienų.

2.1 lent. Apšvietimo srauto ir trukmės įtaka augalo suminiam dienos šviesos kiekiui

Fotoperiodas, h	FAS, $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	DLI, mol m^{-2} per dieną
18	150	9,72
18	250	16,20
24	150	12,96
24	250	21,60

Srauto ir spektro eksperimentams skaičiuojame suminį dienos šviesos kiekį, pasiekiantį augalus per parą (DLI), kuris apskaičiuojamas pagal formulę (1) [42]:

$$DLI = \text{fotoperiodas} [h \cdot d^{-1}] \cdot \text{srautas} [\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}] \cdot 60 [s \cdot \text{min}^{-1}] \cdot 60 [\text{min} \cdot \text{h}^{-1}] \cdot 10^{-6} [\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}], \text{ mol m}^{-2} d^{-1} \quad (1)$$

2.3.2. Apšvietimo spektro įtaka

Tyrimai atlikti trimis etapais:

- tirta raudonos ir mėlynos šviesos derinių įtaka vaistinių šunvyšnių augimui, antioksidacinėms žaliavos savybėms ir alkaloidų kiekiui. Raudona ir mėlyna šviesa yra pagrindinės augalų apšvietimo spektro komponentės;

- įvertinta papildomų spektro komponentių (Ž, TR) įtaka vaistinių šunvyšnių žaliavos kokybei;
- įvertintas baltos šviesos derinių efektyvumas vaistinių šunvyšnių augimui, antioksidacinėms savybėms ir alkaloidų kiekiui žaliavoje.

2.3.2.1. Pagrindinių apšvietimo spektro komponentių poveikis.

Raudona ir mėlyna šviesa yra pagrindinės augalų apšvietimui. Eksperimentams naudoti kontroliuojamojo spektro LED apšvietimo įrenginiai [43]. Palygintas vien raudonų LED ($\lambda=660$ nm) ir raudonų bei mėlynų ($\lambda=660$ nm; 445 nm) LED derinio įtaka šunvyšnių augimui ir alkaloidų kiekiui audiniuose. Augalai apšviesti LED nuo sėjos. Bendras fotosintetiškai aktyvios spinduliuotės FAS srautas abiem atvejais – $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ties augalo viršūne (2.2 lent.). Fotoperiodas – 18 h.

2.2 lent. Pagrindinių apšvietimo spektro komponentių deriniai, čia: R – raudona, M – mėlyna

Derinys	FAS, $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$		
	R 660 nm	M 445 nm	Bendras
R	250	-	250
R+M	225	25	250

2.3.2.2. Papildomų apšvietimo spektro komponentių įtaka.

Tirta, kaip keičiasi augalo augimas, antioksidacinės savybės ir tikslinių alkaloidų kaita pagrindinių raudonos ir mėlynos LED šviesos spektrą ($\lambda=660$ nm; 447 nm), papildžius žaliaja ($\lambda=523$ nm) ar tolimąja raudonąja šviesa ($\lambda=740$ nm) (2.3 lent.). Apšvietimui naudotos valdomo apšvietimo spektro ir srauto LED lempos Hortiled HLRD (Energenas, Lietuva) [44, 45]. Bendras FAS srautas – $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ties augalo viršūne (raudonos šviesos srautas atitinkamai sumažintas, palaikant vienodą bendrą FAS). Fotoperiodas – 18 h.

2.3 lent. Papildomų apšvietimo spektro deriniai, čia: R – raudona, M – mėlyna, Ž – žalia, TR – tolimoji raudona

Derinys	FAS, $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$				
	R 660 nm	M 445 nm	Ž 523 nm	TR 740 nm	Bendras
R+M	200	50	-	-	250
R+M+Ž	150	50	50	-	250
R+M+TR	150	50	-	50	250

2.3.2.3. Baltos šviesos derinių poveikiai.

Tirtas baltos LED šviesos efektyvumas vaistinių šunvyšnių auginimui (2.4 lent.). Apšvietimui naudotos valdomo spektro RX30 LED lempos (Heliospectra, Suomija) [46]. Augalai apšviesti vien šalta balta 5700 K LED šviesa arba B ir TR deriniu. Bendras FAS srautas – $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ties augalo viršūne, fotoperiodas – 18 h.

2.4 lentelė. Baltos šviesos spektro deriniai, čia: B – balta, TR – tolimoji raudona

Derinys	FAS, $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$		
	B 5700 K	TR 735 nm	Bendras
B	250	-	250
B+TR	225	25	250

2.4. Analizės ir matavimai

Eksperimento pabaigoje, ~ 30 d. nuo augalų sudygimo, šunvyšnių žydėjimo tarpsnio pradžioje 5 atsitiktine tvarka parinktiems augalams atlikti biometriniai matavimai, išmatuoti lapų optiniai indeksai. 3 atsitiktinai parinktiems augalams kiekviename variante (jaunuose ir brandžiuose lapuose atskirai) atliktos spektrofotometrinės analizės žaliavos antioksidacinėms savybėms vertinti ir efektyviosios skysčių chromatografijos metodu įvertintas alkaloidų kiekis audiniuose.

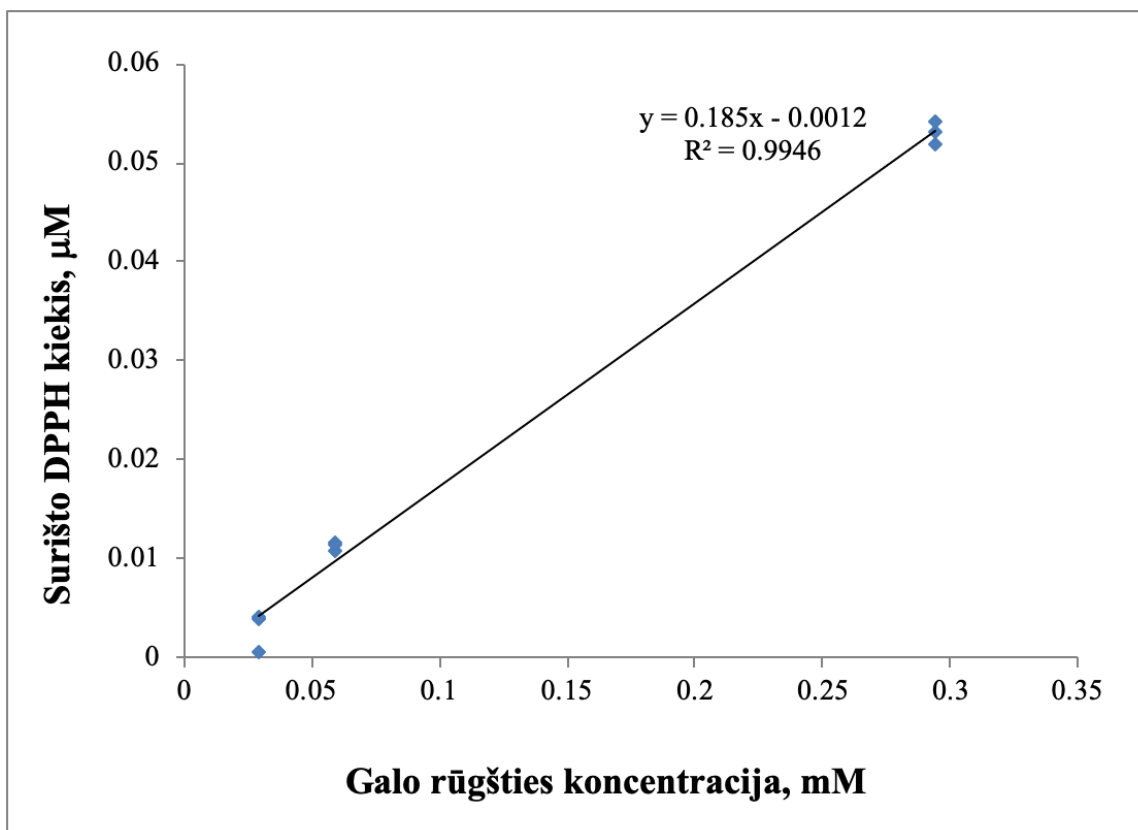
- **lapų plotas** matuotas automatinio matuokliu AT Delta-T Devices (Jungtinė Karalystė);
- **žalioji masė** ir **SM** nustatytos gravimetrijos metodu, naudojant elektronines analitines svarstyklės (Mettler Toledo AG64, Columbus, OH, JAV). Augalai džiovinti 70 °C temperatūroje, 48 val. džiovinimo spintoje (Venticell 222, MBT, Čekija);
- **lapų optiniai indeksai** nustatyti nedestruktyviu metodu, matuokliu DUALEX SCIENTIFIC™ (Force-A, Prancūzija) [47]. Indeksų nustatymas paremtas lapo transmisijos raudonojoje spektro dalyje ir chlorofilų fluorescencijos matavimais. Jaunuose besiformuojančiuose ir brandžiuose lapuose išmatuotas chlorofilų indeksas, flavonolių indeksas ir azoto balanso indeksas (NBI). Rezultatai pateikiami santykiniais matavimo vienetais.

2.4.1. Antioksidacinių savybių nustatymas.

Antioksidacinėms žaliavos savybėms nustatyti, augalinė žaliava sutrinta su skystu azotu, ekstrahuota 80 % metanolio vandeniniu tirpalu (1:20 m:v) 24 h, tamsoje. Vėliau centrifuguota 20 min 5000 aps. min^{-1} greičiu. Supernatantas filtruotas per celiuliozinį filtrą. Ekstraktų antioksidacinės savybės nustatytos pagal Kraujalyte ir kt., 2013 [48].

2.4.1.1. DPPH radikalų sujungimo geba

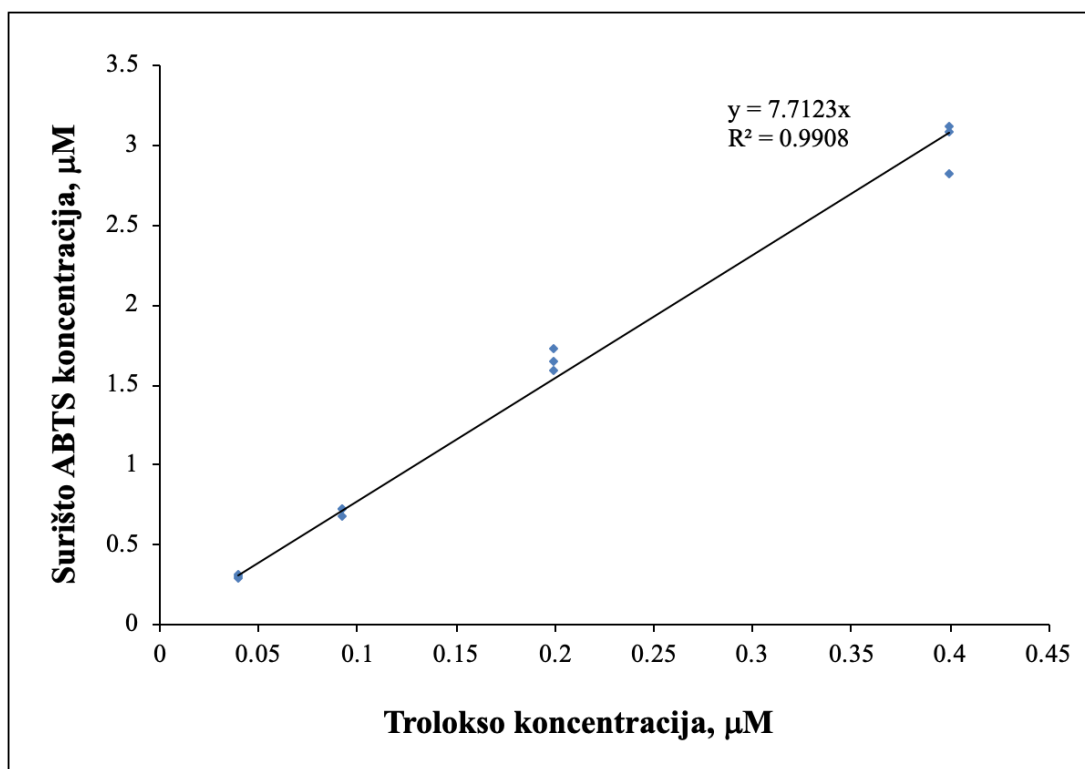
50 μL augalinio ekstrakto užpilta 450 μL metanolio ir 1 mL 63,4 μM DPPH tirpalo. Reaguojant DPPH radikalams su antioksidantais, esančiais ekstraktoje, jis atiduoda vieną vandenilio atomą ir tampa redukuotas, todėl stebimas DPPH tirpalo spalvos „išblukimas“. Šešiolikta minutę spektrofotometru (Spectronic Genesys 6 spectrophotometer (Thermo Spectronic, Rochester, NY) matuota absorbcija esant 515 nm bangos ilgiui. Augalinės žaliavos geba sujungti laisvuosius DPPH radikalus pateikiama kaip augalinės žaliavos (žaliosios masės) DPPH radikalų sujungimo geba, ekvivalentiška galo rūgšties antioksidacinei gebai, mM GRE g^{-1} žaliosios masės (GRE – galo rūgšties ekvivalentas) pagal Galo rūgšties kalibracinę kreivę (2.2 pav.).



2.2 pav. Galo rūgšties kalibracinė kreivė, čia: y – regresijos lygtis, R^2 – apibrėžtumo koeficientas

2.4.1.2. ABTS radikalų surišimo geba

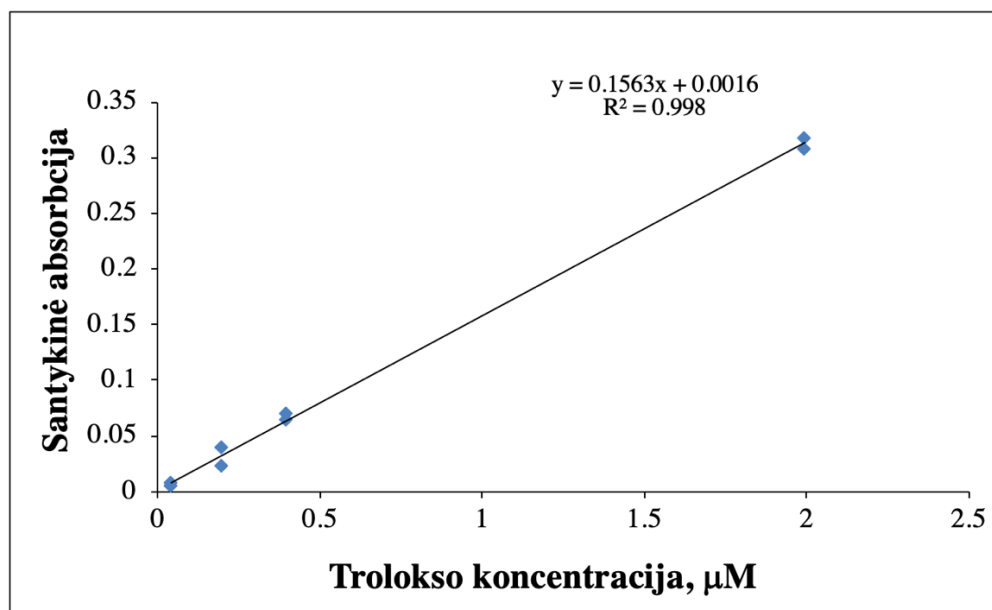
ABTS+ radikalo bazinis tirpalas paruoštas sumaišius 50 ml ABTS (2 mM) su 200 μ l $K_2S_2O_8$ (70 mM) ir leidus tirpalui pastovėti tamsioje patalpoje kambario temperatūroje 15 - 16 valandų iki naudojimo. Darbinis tirpalas paruoštas praskiedus bazinį tirpalą siekiant gauti absorbciją $\sim 0,700$ AU išmatuotą esant 734 nm bangos ilgiui Spectronic Genesys 6 spektrofotometru (Thermo Spectronic, Rochester, NY). 50 μ l tiriamojo ekstrakto buvo sumaišyta su 2 ml praskiestu ABTS tirpalu ir stebėta absorbcija po 11 min. Kalibracinė kreivė buvo nustatyta iš trolokso tirpalų (2.3 pav.) 0 - 1450 μ M koncentracijos serijos. Radikalo aktyvumas išreikštas troloksui ekvivalentiška antioksidacine geba (TEAC, μ mol Trolox g^{-1} žaliosios masės).



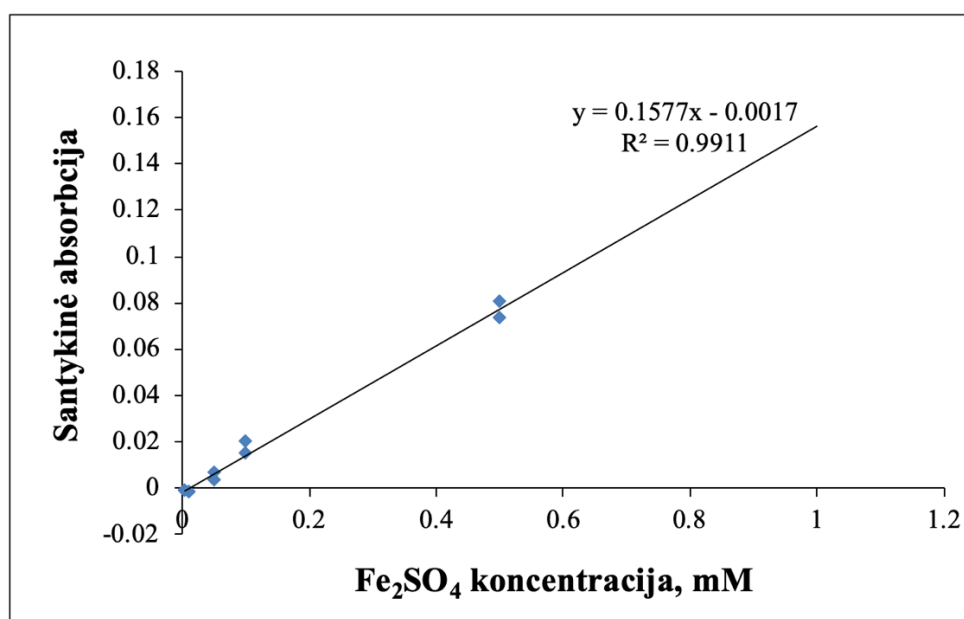
2.3 pav. Trolokso kalibracinė kreivė ABTS metodui, čia: y – regresijos lygtis, R^2 – apibrėžtumo koeficientas

2.4.1.3. FRAP – Geležies redukcijos antioksidacinė galia.

Metodas paremtas trivalenčio geležies jono redukcija (Fe^{3+}) į divalentį geležies joną (Fe^{2+}) rūgštinėje terpėje (pH 3.6) (dėl geležies tirpumo), susiformuoja mėlynas Fe^{2+} ir TPTZ kompleksinis junginys. Darbinis cheminis reagentas buvo paruoštas sumaišius acetato buferį (300 mM, pH 3.6), 10 mM TPTZ tirpalą, 40 mM HCl, ir 20 mM $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ santykiu 10:1:1 (v/v/v). 20 μ l augalo ekstrakto buvo sumaišyta su 3 ml darbinio tirpalo ir po 20 min nustatyta absorbcija ties 593 nm kiekvieną minutę iki 30 min. Iš serijos trolokso (2.4 pav.) ir Fe_2SO_4 (2.5 pav.) tirpalų, kurių koncentracija svyruoja 0–1500 μ M ir 0–1000 μ M ribose atitinkamai, buvo sudarytos kalibracinės kreivės. Antioksidacinė galia buvo išreikšta kaip troloksui ekvivalentiška antioksidacinė galia (TEAC, μ mol Trolox g^{-1} augalinės žaliavos) ir Fe^{2+} antioksidacinė geba (Fe^{2+} μ mol g^{-1} augalinės žaliavos).



2.4 pav. Trolokso kalibracinė kreivė FRAP metodui, čia: y – regresijos lygtis, R^2 – apibrėžtumo koeficientas

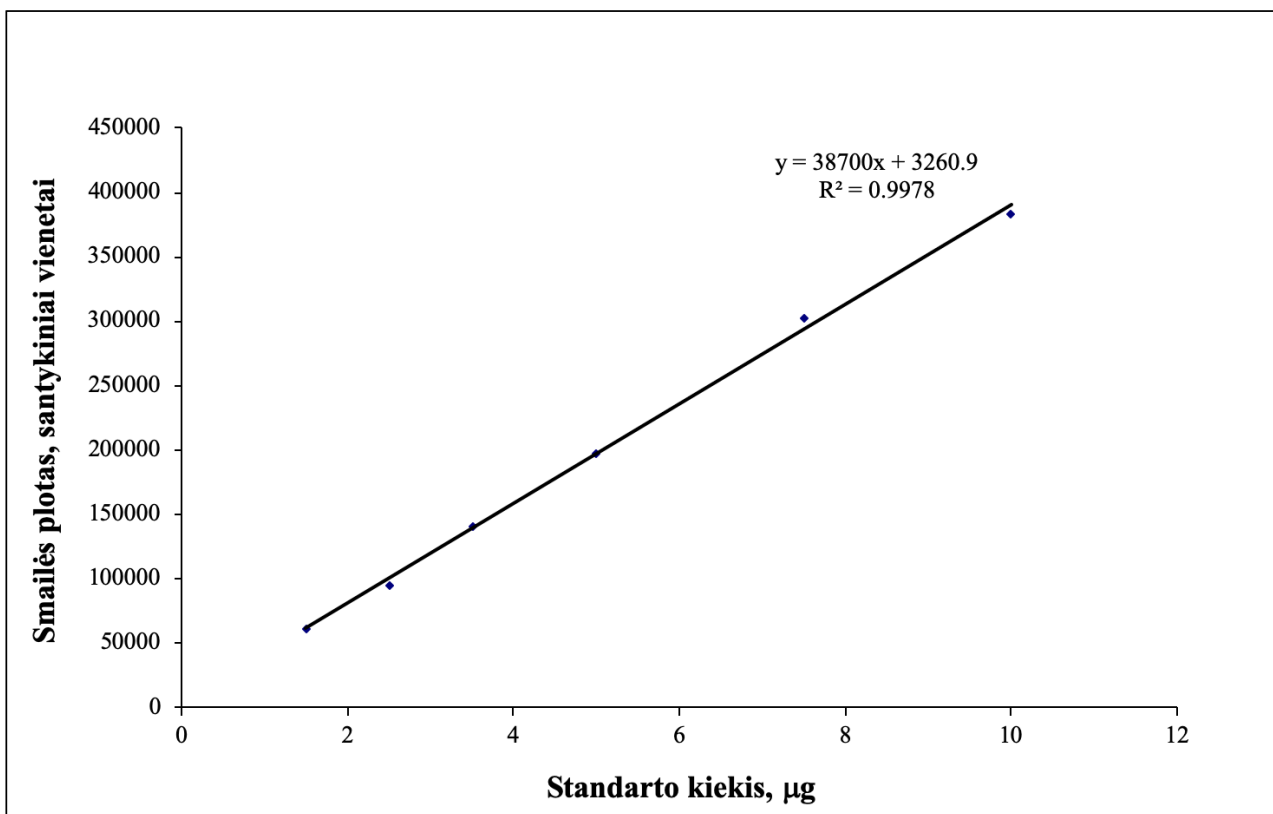


2.5 pav. Fe₂SO₄ kalibracinė kreivė, čia: y – regresijos lygtis, R^2 – apibrėžtumo koeficientas

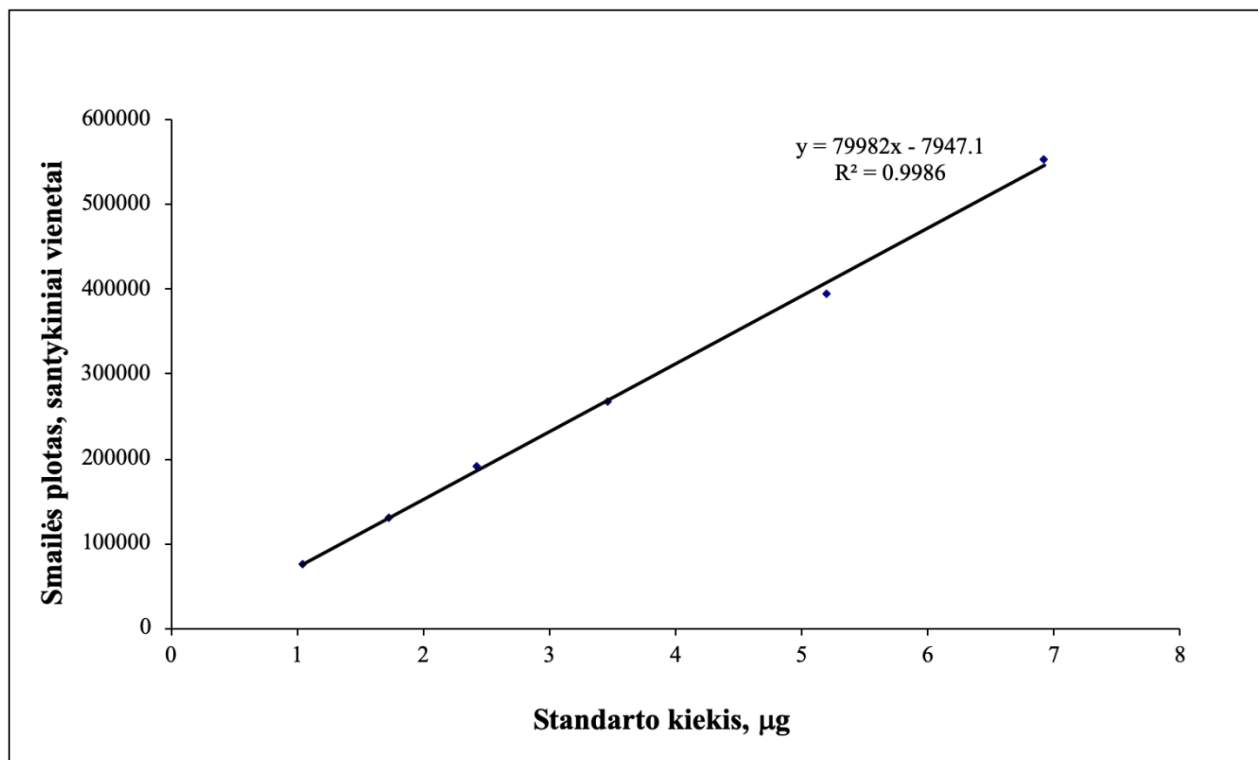
2.4.2. Efektyviosios skysčių chromatografijos metodas alkaloidų kiekiui nustatyti

Alkaloidų kiekiui nustatyti naudotas 2.4.1 skyriuje aprašytas ekstraktas, nufiltruotas per nailoninį švirkštinį filtrą. Ekstraktai analizuoti Shimadzu HPLC 10A (Japonija) efektyviosios skysčių chromatografijos sistema su diodų matricos detektoriumi. Analizei naudota analitinė kolonėlė Lichrosorb C18 (250x4,6 mm, 5 μm) (Phenomenex, JAV). Judrioji fazė: 1 % forminė rūgštis metanolyje: 1 % forminės rūgšties vandeninis tirpalas 30 % : 70 %. Tėkmė – 0,5 ml min⁻¹. Injekcijos tūris – 5 μl . Detekcija esant 254 nm bangos ilgiui. 2.8 paveiksle pateikiamos atropino ir skopolamino standartų (A) ir vaistinės šunvyšnės ekstrakto HPLC chromatogramos Kiekybinė analizė atlikta pagal

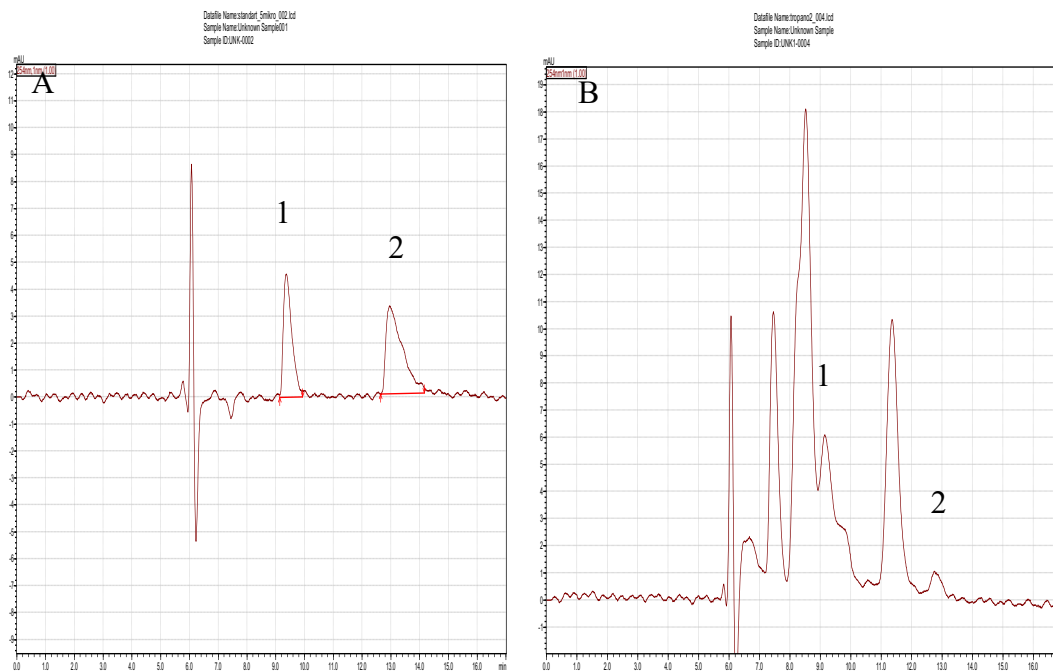
standartinių junginių kalibracines kreives (2.6 ir 2.7 pav.). Rezultatai pateikiami kaip mg alkaloido g⁻¹ sausiosios augalo masės.



2.6 pav. Kalibracinė alkaloido atropino kreivė, čia: y – regresijos lygtis, R² – apibrėžtumo koeficientas



2.7 pav. Kalibracinė alkaloido skopolamino kreivė, čia: y – regresijos lygtis, R² – apibrėžtumo koeficientas



2.8 pav. TA standartų (A) ir vaistinės šunvyšnės ekstrakto (B) HPLC chromatogramos. 1 – atropinas, 2 – skopolaminas

Akaloidų analizės HPLC metodui apskaičiuotos aptikimo ir nustatymo ribos LOD (2, angl. *Limit of detection*) ir LQD (3, angl. *Limit of quantification*) [49]:

$$LOD = 3 \cdot \frac{SD}{a}; \quad (2)$$

$$LQD = 10 \cdot \frac{SD}{a}; \quad (3)$$

čia SD – mažiausios koncentracijos pakartotinių injekcijų smailės ploto standartinis nuokrypis; a – koeficientas kalibracinės tiesės lygtyje

$$\text{Atropino } LOD = 3 \cdot \frac{4319}{38700} = 0.33 \mu g$$

$$\text{Atropino } LQD = 10 \cdot \frac{4319}{38700} = 1.12 \mu g$$

$$\text{Skopolamino } LOD = 3 \cdot \frac{5750}{79982} = 0.22 \mu g$$

$$\text{Skopolamino } LQD = 10 \cdot \frac{5750}{79982} = 0.72 \mu g$$

2.4.3. Statistinė duomenų analizė

Pateikiamos reikšmės yra trijų biologinių pakartojimų vidurkis \pm standartinis nuokrypis. Vidurkių tarp grupių palyginimui naudojama ANOVA analizės Duncan'o kriterijus, kai $p=0,05$ ir pagrindinių komponentų analizė (PCA). Duomenims apdoroti naudota MS Excel ir Xlstat (Addinsoft, Prancūzija).

2.5. Finansinės naudos analizė

Santykiškams pajamoms iš vaistinių šunvyšnių alkaloidų nustatyti ir palyginti skirtingų apšvietimo variantų ekonominius aspektus, atlikti teoriniai skaičiavimai, laikantis prielaidų, kad:

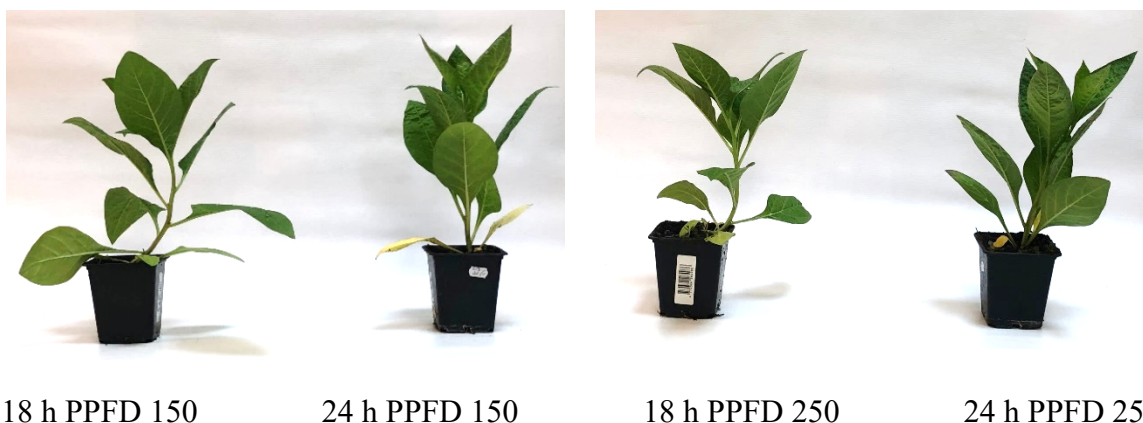
- Augalai bus auginami modeliniame 100 m² augalų fabrike;
- 1m² plote išauginama 100 vnt. augalų, 100 m² plote – 10000 augalų, 1 ha plote – 1 mln. augalų;
- Galimų pajamų palyginimui, parenkamas geriausias ir blogiausias pagal tirtus parametrus apšvietimo derinys, kurių poveikyje sukaupiamas didžiausias ar mažiausias kiekis skopolamino ir atropino;
- sąlyginei alkaloidų produkcijos vertei palyginti, skopolamino ir atropino 1 g kainos parenkamos iš Sigma Aldrich elektroninės parduotuvės [50, 51];
- atliekami skaičiavimai gryno alkaloido kainai įvertinti parduodamame kompleksiniame junginyje;
- priimama, kad per metus bus nuimama 12 derlių, nes vieno auginimo ciklo trukmė – 30 dienų;
- suskaičiuojamas per metus 100 m² plote išgautas kiekis alkaloidų g;
- apskaičiuojama galimos santyknės pajamos iš išskirtų iš vaistinės šunvyšnės alkaloidų 100 m² plote ir 1 hektaro plote.

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

3.1. Srautas ir fotoperiodas

3.1.1. Srauto ir fotoperiodo įtaka augimo rodikliams ir augalo lapų optiniams indeksams

Efektyviai augalų fotosintezei ir biomasės kaupimui reikalingas pakankamas šviesos kiekis per parą. Tačiau perteklinė šviesa gali sukelti augalų antioksidacinę fotoapsauginę reakciją, slopinti augimą ar sukelti fotopažeidimus [52]. Yra žinoma, kad esant santykinai didesniai apšvietimo srautui, įvairūs augalai kaupia didesnę karotenoidų, antocianinų, askorbo rūgšties ir tirpių cukrų koncentraciją [53].



3.1 pav. Vaistinės šunvyšnės, augusios skirtingomis srauto ir fotoperiodo sąlygomis, po 30 dienų augimo

Mūsų eksperimentuose, vertinant skirtingų apšvietimo srauto ir fotoperiodo derinių efektus vaistinių šunvyšnių morfologijai (3.1 pav.) ir augimo rodikliams (3.1 lent.), nenustatyta statistškai patikimų augalo aukščio, žaliosios masės ir SM skirtumų, tačiau stebima tendencija, kad didėjantis suminis dienos šviesos kiekis (DLI) lėmė didesnę sukauptą augalų SM. Apšvietimo fotoperiodui, esant 250 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, padidėjus nuo 18 iki 24 h sukaupta vidutinė SM padidėjo 1,4 karto. Esant didžiausiam DLI esant 24 h fotoperiodui ir 250 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ nustatytas statistškai patikimai mažesnis lapų plotas (1,6 karto mažesnis lyginant su 24 h 150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PPF apšvietimu, o didžiausias suformuotas lapų skaičius (11 vnt.) nustatytas esant mažiausiam apšvietimo DLI ir 18 h, 150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PPF apšvietimui.

3.1 lentelė. Vaistinių šunvyšnių augimo rodikliai paveikus skirtingais apšvietimo srauto ir fotoperiodo deriniais*

Poveikis	Žalia masė, g	SM, g	Lapų plotas, cm^2	Lapų skaičius, vnt.	Aukštis, cm
18 h PPF 150	19,88 ± 1,84 a	1,48 ± 0,31 a	628,0 ± 46,5 a	11,0 ± 0,0 a	18,0 ± 2,6 a
18 h PPF 250	15,22 ± 5,72 a	1,47 ± 0,97 a	451,67 ± 139,3 ab	8,7 ± 1,2 b	16,0 ± 6 a
24 h PPF 150	19,39 ± 2,35 a	1,756 ± 0,34 a	544,23 ± 76,4 a	9,3 ± 0,6 b	18,3 ± 1,5 a
24 h PPF 250	18,15 ± 2,48 a	2,01 ± 0,22 a	347,06 ± 110,4 b	9,67 ± 0,6 b	22,0 ± 4,4 a

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

Šunvyšnių lapų optiniai rodikliai (3.2 lent.) taip pat patvirtina, kad esant 24 h ir 250 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PPFD apšvietimo fotoperiodui ir srautui augalas patiria fotostresą, kadangi jaunuose lapuose reikšmingai sumažėja chlorofilų indeksas (1,4 karto mažesnis nei esant 18 h fotoperiodui ir tam pačiam srautui), o tiek jaunuose, tiek brandžiuose lapuose išaugęs flavonolių indeksas rodo apsauginės augalo sistemos reakciją, kai reikšmingai sumažėjęs NBI indeksas – galimų ankstyvo augalo senėjimo procesų. Pagal lapo optinius indeksus fiziologiškai optimalus 18 h ir 250 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ fotoperiodo ir srauto derinys.

3.2 lentelė. Apšvietimo srauto ir fotoperiodo įtaka optiniams vaistinių šunvyšnių lapų indeksams*

Poveikis	Chlorofilų indeksas		Flavonolių indeksas		NBI indeksas	
	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai
18 h PPFD 150	18,74 ± 0,65 b	27,01 ± 1,44 a	0,58 ± 0,05 c	0,35 ± 0,04 c	33,95 ± 1,06 a	81,73 ± 4,82 a
18 h PPFD 250	21,63 ± 1,87 a	30,06 ± 2,09 a	0,90 ± 0,04 b	0,51 ± 0,11 b	24,93 ± 1,99 b	51,82 ± 7,56 b
24 h PPFD 150	18,21 ± 1,93 bc	29,08 ± 2,04 a	0,86 ± 0,21 b	0,61 ± 0,06 b	24,82 ± 6,47 b	53,26 ± 7,24 b
24 h PPFD 250	15,78 ± 0,65 c	25,56 ± 3,49 a	1,19 ± 0,14 a	0,95 ± 0,07 a	13,33 ± 0,72 c	27,75 ± 3,10 c

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

3.1.2. Fotoperiodo ir srauto įtaka antioksidaciniam aktyvumui nustatyti DPPH, ABTS ir FRAP metodais

Vertinant apšvietimo fotoperiodo ir srauto efektus vaistinių šunvyšnių žaliavos antioksidacinėms savybėms (3.3 lent.), nenustatyta statistiškai patikimų skirtumų DPPH laisvųjų radikalų imobilizavimo gebai. Visgi, stebima tendencija, kad 24 h fotoperiodo ir 250 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PPFD sąlygomis DPPH radikalų imobilizavimo geba jaunuose ir brandžiuose lapuose nustatyta 1,7 ir 1,4 karto didesnė, nei esant 150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PPFD srautui. Panaši tendencija stebima ir vertinant ABTS laisvųjų radikalų imobilizavimo gebą, kuri statistiškai patikimai didesnė.

3.3 lentelė. Vaistinių šunvyšnių, išaugintų po skirtingais apšvietimo fotoperiodo ir srauto deriniais, augalinės žaliavos geba imobilizuoti laisvuosius DPPH ir ABTS radikalus*

Poveikis	DPPH, mM GRE g^{-1} žaliosios masės		ABTS, $\mu\text{M TE g}^{-1}$ žaliosios masės	
	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai
18 h PPFD 150	60,80 ± 9,15 a	62,26 ± 22,09 a	31,37 ± 12,89 a	39,81 ± 15,63 b
18 h PPFD 250	93,44 ± 19,04 a	88,72 ± 14,62 a	50,11 ± 10,04 a	63,41 ± 13,58 ab
24 h PPFD 150	60,82 ± 36,74 a	79,60 ± 36,87 a	36,76 ± 17,13 a	62,47 ± 29,62 ab
24 h PPFD 250	100,24 ± 13,70 a	107,43 ± 9,03 a	53,09 ± 9,37 a	82,93 ± 15,73 a

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

Vertinant apšvietimo parametrų efektus FRAP galiai pagal geležies redukciją ir trolokso ekvivalentą (3.4 lent.), jaunuose lapuose antioksidacinis aktyvumas didesnis nuo 1,3 iki 4 kartų nei brandžiuose lapuose. Nors statistiškai patikimų skirtumų nėra, tačiau didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymi augalai, augę 24 valandų fotoperiodu ir 250 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PPFD srautu jaunuose lapuose, reikšmės atitinkamai 819,56 ± 237,08 $\mu\text{mol/g}$ ir 815,10 ± 239,52 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$, brandžiuose lapuose didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymi augalai, augę 24 valandų fotoperiodu ir 150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PPFD srautu jaunuose lapuose.

$2s^{-1}$ PPFd srautu. Mažiausias aktyvumas nustatytas visais atvejais po 18 valandų fotoperiodu ir $150 \mu\text{mol m}^{-2}s^{-1}$ PPFd srautu.

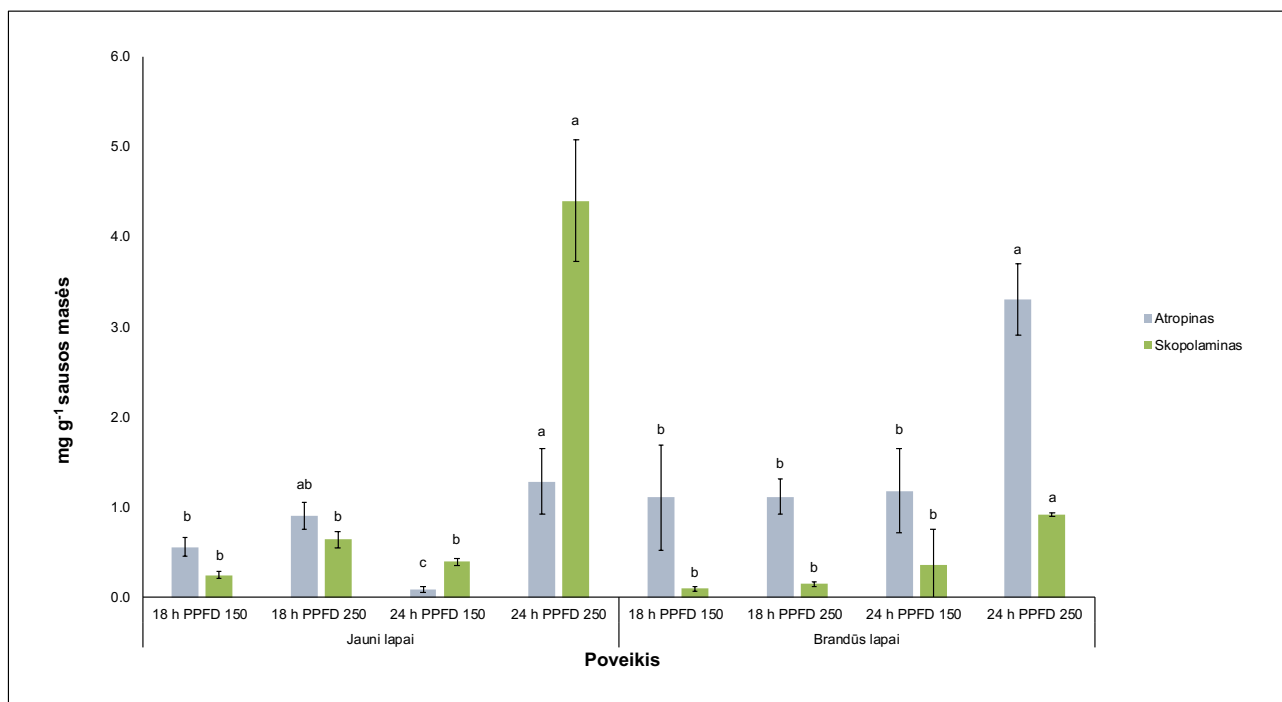
3.4 lentelė. Vaistinių šunvyšnių, išaugintų po skirtingais apšvietimo fotoperiodo ir srauto deriniais, žaliavos FRAP antioksidacinė galia*

Poveikis	FRAP, Fe, $\mu\text{mol g}^{-1}$		FRAP, TEAG, $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$	
	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai
18 h PPFd 150	474,09 ± 124,05 a	135,34 ± 22,85 a	467,33 ± 125,11 a	125,86 ± 23,09 a
18 h PPFd 250	711,88 ± 91,6 a	349,41 ± 64,94 a	707,36 ± 92,59 a	341,79 ± 65,36 a
24 h PPFd 150	487,19 ± 287,1 a	371,46 ± 322,69 a	480,63 ± 289,6 a	364,06 ± 325,30 a
24 h PPFd 250	819,56 ± 237,08 a	206,18 ± 146,24 a	815,10 ± 239,52 a	197,06 ± 147,50 a

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

3.1.3. Fotoperiodo ir srauto įtaka alkaloidų kiekiui augale.

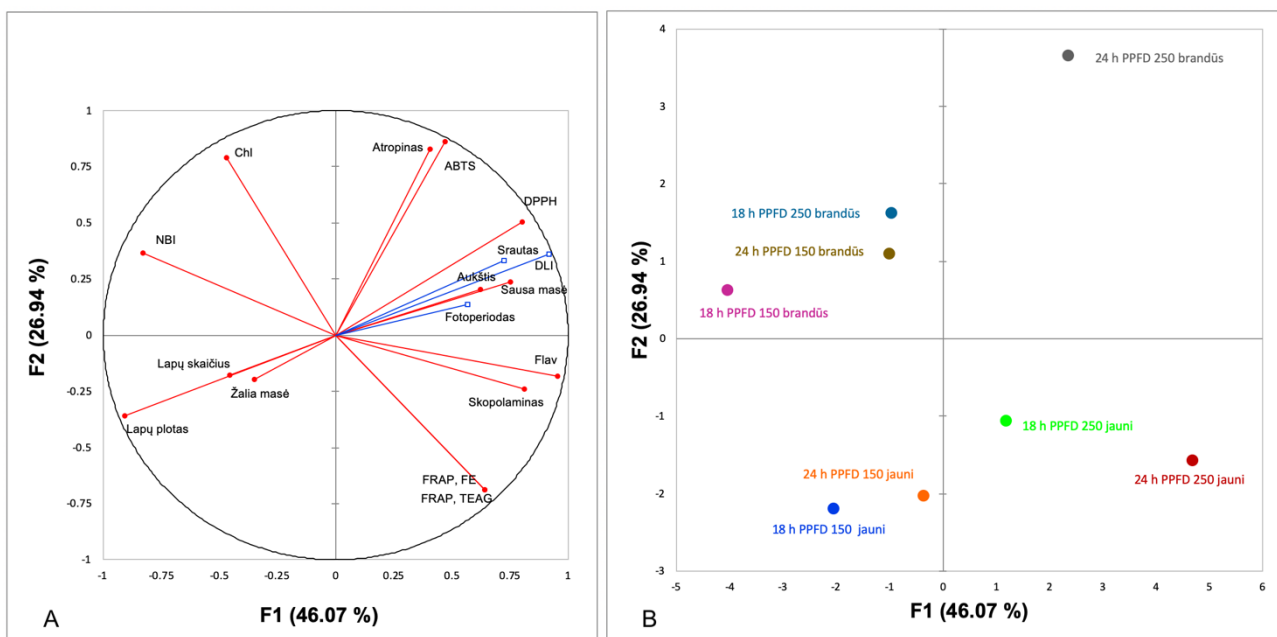
Fitotrone auginant vaistines šunvyšnes ir paveikus skirtingu LED apšvietimo srautu ir fotoperiodu gauti augalo lapuose susikaupusio alkaloidų kiekio rezultatai pavaizduoti 3.2 paveiksle. Remdamiesi duomenimis, didžiausiąjį poveikį alkaloidų kiekio padidėjimui turėjo 24 valandų per parą apšvietimo trukmė ir srauto intensyvumas $250 \mu\text{mol m}^{-2}s^{-1}$ PPFd. Esant šioms sąlygoms brandžiuose lapuose alkaloido skopolamino buvo beveik 5 kartus mažiau, nei jaunuose lapuose, tačiau atropino kiekis padidėjo 2,6 karto. Jaunuose šunvyšnių lapuose tomis pačiomis sąlygomis susikaupė 11 kartų daugiau skopolamino ir 14 kartų daugiau atropino palyginus su to pačio fotoperiodo $150 \mu\text{mol m}^{-2}s^{-1}$ PPFd srautu. Mokslininkas Fukuyama [54], tyręs apšvietimo srauto poveikį rausvosioms žiemėms nustatė, jog esant raudonai šviesai ir $150 \mu\text{mol m}^{-2}s^{-1}$ PPFd srautui susikaupė didžiausias alkaloidų kiekis jaunuose lapuose, tačiau esant $300 \mu\text{mol m}^{-2}s^{-1}$ PPFd visos augalo dalys sukaupė didžiausiąjį alkaloidų kiekį. Mažiausia skopolamino koncentracija brandžiuose lapuose esant 18 valandų fotoperiodui nepriklausomai nuo apšvietimo srauto intensyvumo. Mažiausiai atropino buvo sukaupta jaunuose lapuose auginus 24 valandų fotoperiodu ir $150 \mu\text{mol m}^{-2}s^{-1}$ PPFd srautu.



3.2 pav. Vaistinių šunvyšnių alkaloidų koncentracija paveikus skirtingu apšvietimo srautu ir fotoperiodu. Vidurkiai, pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų

3.1.4. Pagrindinių komponentių analizė apšvietimo srauto ir fotoperiodo įtakai įvertinti

Pagal PCA rezultatus (3.3 pav. A) apšvietimo srautas ir fotoperiodas glaudžiai koreliuoja su augalo SM, flavonolių indeksu, ABTS ir DPPH laisvųjų radikalų imobilizavimo geba. Santykinai silpna koreliacija – su alkaloidų atropino ir skopolamino kiekiu audiniuose. Ši kaita rodo augalo antioksidacinės apsauginės sistemos reakciją. PCA sklaidos diagrama rodo (3.3 pav. B), kad pagal suminį tirtų apšvietimo parametų atsaką, srautas ir fotoperiodas turi statistiškai patikimą skirtingą efektą. Jaunuose lapuose, apšvietimo srautas turi didesnę efektą, nei fotoperiodas, kai brandžiuose lapuose statistiškai patikimai išsiskiria tik 24 h ir 250 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ apšvietimo derinys.



3.3 pav. PCA apšvietimo fotoperiodo ir srauto poveikiams įvertinti. A – PCA koreliacijų ratas, B – PCA sklaidos diagrama

Didesnis apšvietimo srautas ir ilgesnis fotoperiodas lėmė didesnę augalų sukauptą SM, didesni antioksidacinės sistemos aktyvumą ir 14 kartų didesnę alkaloidų kiekį. Pailginant fotoperiodą iki 24 h ir apšvietimo srautą iki $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ galima pasiekti didesnės sukauptos vaistinių šunvyšnių biomasės, aukštesnės antioksidacinės žaliavos vertės ir didesnio sukaupto alkaloidų kiekio. Visgi, tikslingas yra ekonominis tokio žaliavos kokybės padidėjimo ir padidėjusių išlaidų elektros energijai vertinimas.

3.2. Pagrindinių apšvietimo spektro komponentių poveikis

3.2.1. Pagrindinių apšvietimo spektro komponentių įtaka augimo rodikliams ir augalo lapų optiniams indeksams



R

R+M

3.4 pav. Vaistinės šunvyšnės paveikus 30 dienų raudonos bei raudonos kartu su 10 % mėlynos spalvos LED apšvietimu

Apžvelgiant pagrindinių apšvietimo spektro komponentų (raudonos ir mėlynos šviesos) įtaką morfologiniams (3.4 pav.) ir augimo rodikliams (3.5 lentelė), nenustatyta statistiškai patikimų šunvyšnių žaliosios masės, aukščio, lapų ploto, lapų skaičiaus skirtumų, tačiau matoma tendencija, jog pridėtinė mėlynoji šviesa sumažino augalo aukštį 1,2 karto ir žaliosios masės kiekį 1,1 karto, bet padidino lapų plotą iki 1,3 kartų, taip pat truputį padidino lapų skaičių. Mokslininkas Nelson'as [18] taip pat patvirtina, jog pridėtinė mėlyna šviesa padidina lapų ploto augimą ir lapų skaičių mirtose bei remanijose [26]. Statistiškai patikimai didesnis SM kiekis nustatytas esant tik raudonos šviesos poveikiui, masė padidėjo 1,3 karto lyginant su papildoma pridėtine mėlyna šviesa.

3.5 lentelė. Vaistinių šunvyšnių augimo rodikliai paveikus raudonos bei raudonos kartu su 10 % mėlynos spalvos LED apšvietimu*

Poveikis	Žalioji masė, g	SM, g	Lapų plotas, cm ²	Lapų skaičius, vnt	Aukštis, cm
R	26,60 ± 2,08 a	3,92 ± 0,28 a	523,0 ± 67,0 a	11,7 ± 1,2 a	28,3 ± 2,1 a
R+M10%	23,43 ± 1,25 a	3,09 ± 0,34 b	652,7 ± 131,0 a	12,0 ± 1,0 a	23,3 ± 4,7 a

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai (p<0,05) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

Vertinant chlorofilų indeksą (3.6 lent.), jo vertės jaunuose lapuose nustatytos panašios, be statistiškai patikimų skirtumų. Brandžiuose lapuose esant pridėtinei mėlynai šviesai nustatytas statistiškai patikimas skirtumas: augalas galimai patyrė fotostresą, nes nustatytas 1,2 kartus sumažėjęs chlorofilų indeksas. Flavonolių kiekis jaunuose lapuose paveikus raudona šviesa nustatytas 1,3 karto didesnis nei su pridėtine mėlyna šviesa ir 2 kartais didesnis už flavonolių kiekį brandžiuose lapuose paveikus tik raudona šviesa. Mokslininkas Nascimento [24] nustatė, jog pridėjus papildomą mėlyną šviesą padidėjo bendras fenolių, flavonoidų kiekis ir antioksidacinis aktyvumas kalankių lapuose. Kitų mokslininkų [26] teigimu, pridėtinė mėlynoji šviesa spektre sumažina flavonoidų kiekį, tačiau padidina lapų skaičių ir turi įtaką morfogenezei. Šiame tyrime padidėjusį flavonoidų kiekį vaistinėje šunvyšinėje stebime tik brandžiuose lapuose ir jis nėra didesnis nei paveikus jaunus lapus raudona šviesa, sumažėjęs flavonolių kiekis stebimas jaunuose lapuose. NBI esant raudonos šviesos poveikiui brandžiuose lapuose 1,6 karto didesnis už brandžius lapus paveiktus pridėtine mėlyna šviesa ir 3,3 karto didesnis už raudona šviesa paveiktus jaunus lapus.

3.6 lentelė. Pagrindinių apšvietimo spektro komponentų įtaka optiniams vaistinių šunvyšnių lapų indeksams*

Poveikis	Chlorofilų indeksas		Flavonolių indeksas		NBI indeksas	
	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai
R	16,88 ± 0,74 a	27,34 ± 1,66 a	1,20 ± 0,18 a	0,60 ± 0,03 b	14,07 ± 2,23 a	45,85 ± 1,54 a
R+M10%	17,12 ± 0,96 a	22,01 ± 2,55 b	0,91 ± 0,09 a	0,76 ± 0,04 a	19,32 ± 2,96 a	28,28 ± 3,10 b

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai (p<0,05) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

3.2.2. Pagrindinių apšvietimo spektro komponentių įtaka antioksidaciniam aktyvumui nustatyti DPPH, ABTS ir FRAP metodais

Pagal gautus pagrindinių apšvietimo spektro komponentių efektų rezultatus vaistinių šunvyšnių žaliavos antioksidacinėms savybėms (3.7 lent.), DPPH laisvųjų radikalų imobilizavimo gebai nenustatyta statistiškai patikimų skirtumų. Matomas dėsningumas, jog didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymi jauni lapai augalų, augusių po raudona šviesa. Reikšmės yra atitinkamai 1,3 ir 1,2 kartus didesnės už papildomos pridėtinės šviesos poveikį jauniems lapams bei raudonos šviesos poveikį brandiems lapams. Analizuojant ABTS laisvųjų radikalų gebą taip pat nenustatyta statistiškai patikimų duomenų skirtumų, tačiau rezultatų tendencija yra panaši į DPPH ir jaunuose lapuose augusiuose po raudona šviesa antioksidacinis aktyvumas buvo 1,4 karto didesnis už papildomos pridėtinės šviesos poveikį jauniems lapams bei raudonos šviesos poveikį brandiems lapams.

3.7 lentelė. Vaistinių šunvyšnių, išaugintų po raudonos ir raudonos su pridėtine mėlyna šviesa spektru, augalinės žaliavos geba imobilizuoti laisvuosius DPPH ir ABTS radikalus*

Poveikis	DPPH, mM GRE g ⁻¹ žaliosios masės		ABTS, μM TE g ⁻¹ žaliosios masės	
	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai
R	113,57 ± 9,21 a	91,90 ± 15,11 a	86,61 ± 10,90 a	63,68 ± 9,68 a
R+M10%	85,68 ± 23,25 a	101,65 ± 21,90 a	60,54 ± 15,64 a	75,20 ± 15,42 a

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai (p<0,05) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

Vertinant apšvietimo parametrų efektus FRAP galiai pagal geležies redukciją ir trolokso ekvivalentą (3.8 lent.), jaunuosiuose lapuose antioksidacinis aktyvumas 1,2 karto didesnis nei brandžiuose lapuose paveikus tik raudona šviesa, tačiau pridėjus mėlynos šviesos gautas priešingas rezultatas ir brandžiuose lapuose aktyvumas 1,3 karto didesnis nei jaunuose lapuose.

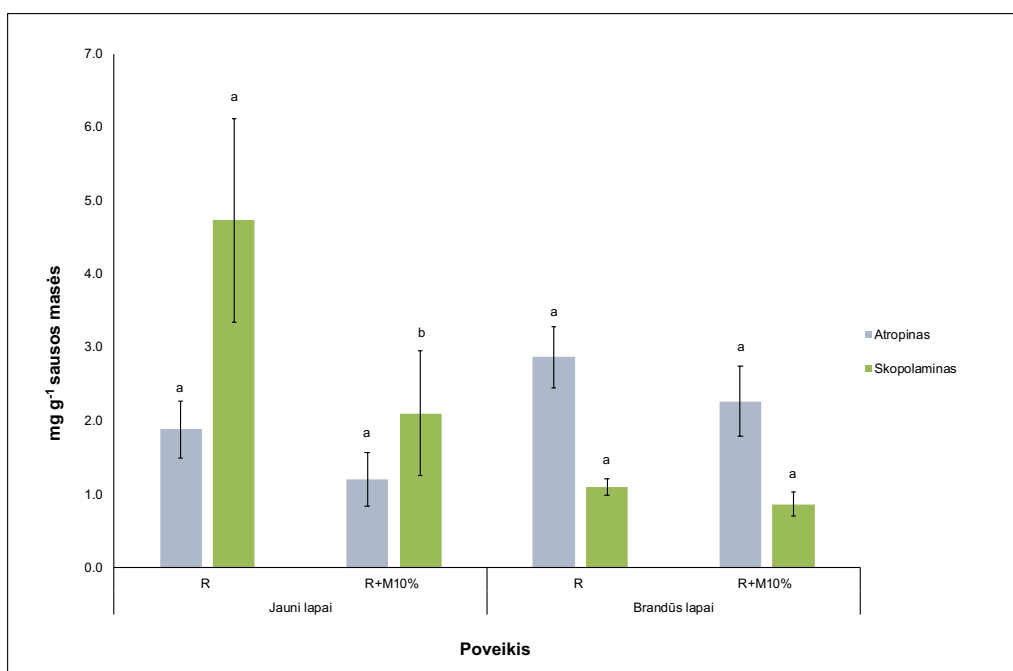
3.8 lentelė. Vaistinių šunvyšnių, išaugintų po raudonos ir raudonos su pridėtine mėlyna šviesa spektru, žaliavos FRAP antioksidacinė galia*

Poveikis	FRAP, Fe, μmol g ⁻¹		FRAP, TEAG, μmol Trolox g ⁻¹	
	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai
R	969,84 ± 31,98 a	781,70 ± 196,51 a	967,55 ± 32,03 a	777,64 ± 198,32 a
R+M10%	752,37 ± 234,11 a	965,85 ± 199,78 a	748,23 ± 236,28 a	963,53 ± 201,60 a

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai (p<0,05) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

3.2.3. Fotoperiodo ir srauto įtaka alkaloidų kiekiui augale

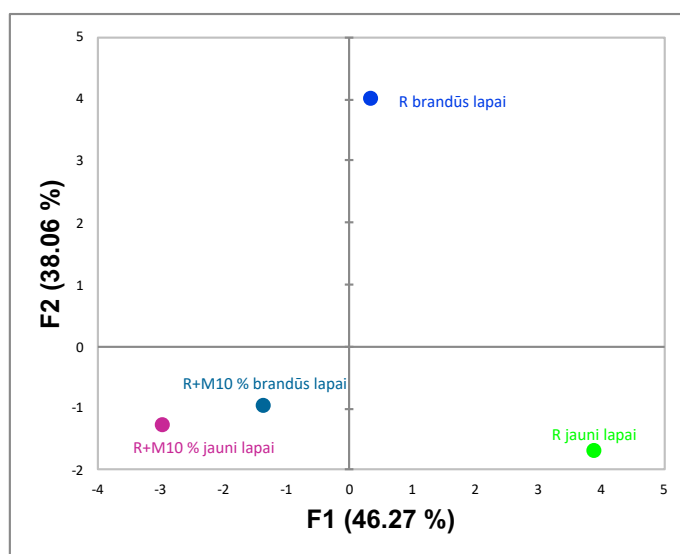
Rezultatai (3.5 pav.) rodo, jog didžiausias skopolamino kiekis augalo SM nustatytas jaunuosiuose lapuose paveikus augalą raudonos šviesos poveikiu ir buvo 4,3 karto didesnis už skopolamino kiekį brandžiuose lapuose. Pridėjus 10 % papildomos mėlynos šviesos statistiškai patikimai sumažėjo jaunuose lapuose esančių abiejų alkaloidų kiekis, toki pati tendencija stebima ir brandžiuose lapuose, tačiau rezultatai nėra statistiškai patikimi. Alkaloido atropino kiekis didžiausias brandžiuose lapuose, augusiais po raudonos šviesos poveikiu ir buvo nuo 1,3 iki 2,4 kartų didesnis lyginant su kitais variantais.



3.5 pav. Vaistinių šunvyšnių alkaloidų koncentracija paveikus pagrindinėmis apšvietimo komponentėmis – raudona ir mėlyna šviesa. Vidurkiai, pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų

3.2.4. Pagrindinių komponentių analizė apšvietimo spektro poveikiams įvertinti

Vertinant PCA rezultatus sklaidos diagramoje (3.6 pav.) gauti statistiškai patikimi skirtumai tarp vien raudona šviesa ir raudonos bei mėlynos šviesos deriniu apšviestų vaistinių šunvyšnių. Tačiau vertinant jaunų ir brandžių lapų atsaką į tą patį apšvietimo spektrą, raudonos ir mėlynos šviesos derinio atveju antioksidacinis jaunų ir brandžių lapų atsakas nesiskyrė. Jaunų ir brandžių šunvyšnių lapų antioksidacinės sistemos nevieningai reagavo į įtaikytą apšvietimą vien raudona šviesa.

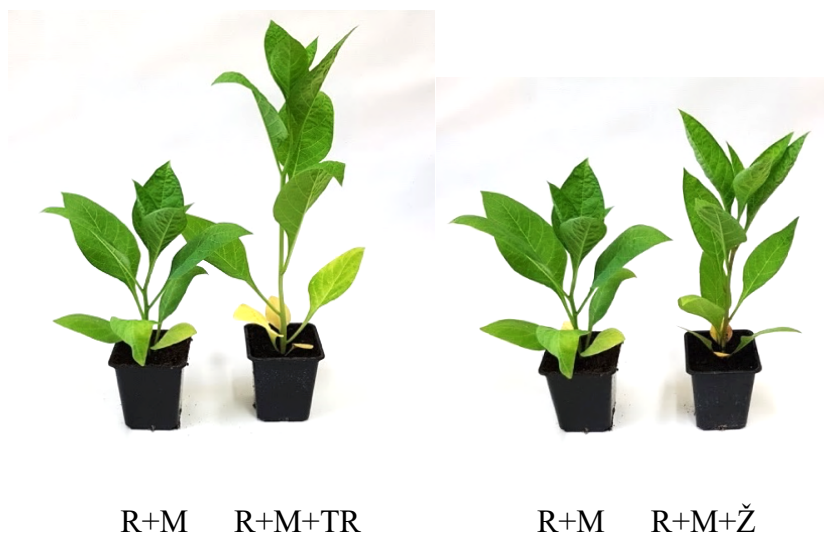


3.6 pav. PCA pagrindinių apšvietimo spektro komponentėms įvertinti remiantis PCA diagrama

R šviesa lėmė didesnę augalų sukauptą SM, didesnę antioksidacinės sistemos aktyvumą ir iki 4,3 kartų didesnę alkaloidų kiekį. Nors mėlyna šviesa teikiamai veikia augimą ir chlorofilų kiekį lapuose, apšvietus šunvyšnes vien raudona šviesa ir taip galimai sukeliant nedidelį fotostresą, galima pasiekti didesnės sukauptos vaistinių šunvyšnių biomasės, aukštesnės antioksidacinės žaliavos vertės ir didesnio sukaupto alkaloidų kiekio.

3.3. Papildomų apšvietimo spektro komponentių poveikis

3.3.1. Papildomų apšvietimo spektro komponentių įtaka augimo rodikliams ir augalo lapų optiniams indeksams



3.7 pav. Vaistinės šunvyšnės, augusios pridėjus papildomų apšvietimo spektro komponentių, po 30 dienų augimo

Išanalizavus papildomų apšvietimo spektro komponentių – Ž ir TR poveikius (3.7 pav., 3.9 lent.) nustatyta, jog žalia masė, lapų skaičius ir augalo aukštis turi patikimų statistinių skirtumų, o TR poveikis beveik visiems parametrams yra didžiausias. Prie pagrindinių raudonos ir mėlynos šviesų pridėjus papildomą Ž – žaliosios masės kiekis padidėja 1,1 karto, pridėjus TR – padidėja 1,2 kartus, tą patvirtina ir mokslininkė Carvalho su kolegomis [23], kurie nustatė, jog prie M ir R pridėjus Ž ir TR padidėjo bazilikų žalia masė ir lapų paviršiaus plotas. Lapų ploto skirtumai nėra statistiškai patikimi, tačiau stebima tendencija, jog vien R ir M apšviestų šunvyšnių lapų plotas yra mažiausias, kai pridėjus TR – didžiausias. Augalo SM ir lapų skaičius didžiausi apšviečiant su pridėtine Ž, tačiau skirtumas nuo kitų poveikių nėra reikšmingas. Augalo aukštis statistiškai patikimai didžiausias R+M+TR – 1,6 karto didesnis lyginant su kitais dviem apšvietimo deriniais

3.9 lentelė. Vaistinių šunvyšnių augimo rodikliai papildžius pagrindines apšvietimo komponentes papildoma Ž ir TR*

Poveikis	Žalioji masė, g	SM, g	Lapų plotas, cm ²	Lapų skaičius, vnt.	Aukštis, cm
R+M	17,95 ± 1,58 b	1,84 ± 0,47 a	517,8 ± 29,0 a	9,7 ± 0,6 b	19,7 ± 2,1 b
R+M+Ž	18,77 ± 0,99 b	1,85 ± 0,18 a	538,2 ± 29,6 a	10,7 ± 0,6 a	19,7 ± 1,5 b
R+M+TR	21,68 ± 0,79 a	1,79 ± 0,18 a	549,7 ± 18,0 a	10,0 ± 0,0 ab	30,7 ± 1,5 a

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

Šunvyšnių lapų optiniai rodikliai (3.10 lent.) rodo, jog pridėtinės Ž ir TR lemia sumažėjusį chlorofilų indeksą. Šie skirtumai brandžiuose lapuose yra statistiškai patikimi. Flavonolių indeksas truputį didesnis apšvietus pridėtine Ž, o statistiškai patikimai mažiausias augalų, apšviestų papildoma TR, brandžiuose lapuose (1,4 karto lyginant su pridėtine žalia šviesa). NBI su papildoma Ž yra 1,3 karto mažesnis nei be pridėtinių šviesų, TR poveikis nedidelis.

3.10 lentelė. Papildomų Ž ir TR šviesų įtaka optiniams vaistinių šunvyšnių lapų indeksams *

Poveikis	Chlorofilų indeksas		Flavonolių indeksas		NBI indeksas	
	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai
R+M	18,05 ± 0,05 a	28,17 ± 1,10 a	1,01 ± 0,09 a	0,71 ± 0,04 a	17,37 ± 1,40 a	44,09 ± 0,09 a
R+M+Ž	16,97 ± 1,55 a	27,23 ± 0,89 a	1,09 ± 0,10 a	0,80 ± 0,02 a	15,82 ± 3,10 a	34,32 ± 1,14 a
R+M+TR	16,92 ± 2,00 a	24,5 ± 1,41 b	1,02 ± 0,11 a	0,59 ± 0,07 b	16,36 ± 3,22 a	43,49 ± 8,23 a

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

3.3.2. Papildomų apšvietimo spektro komponentių įtaka vaistinių šunvyšnių ir juodųjų drignių antioksidaciniam aktyvumui nustatyti DPPH, ABTS ir FRAP metodais

Vertinant papildomų apšvietimo spektro komponentių efektus vaistinių šunvyšnių žaliavos antioksidacinėms savybėms (3.11 lent.), nenustatyta statistiškai patikimų skirtumų DPPH laisvųjų radikalų imobilizavimo gebai. Visgi, stebima tendencija, jog pridėjus TR DPPH radikalų imobilizavimo geba jaunuosiuose ir brandžiuose lapuose nustatyta 1,2 karto didesnė, nei esant tik pagrindinėms šviesos komponentėms. Panaši tendencija stebima ir vertinant ABTS laisvųjų radikalų imobilizavimo gebą, kuri statistiškai patikimai didesnė.

3.11 lentelė. Vaistinių šunvyšnių išaugintų po skirtingais apšvietimo komponentių deriniais, augalinės žaliavos geba imobilizuoti laisvuosius DPPH ir ABTS radikalus*

Poveikis	DPPH, mM GRE g ⁻¹ žaliosios masės		ABTS, μM TE g ⁻¹ žaliosios masės	
	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai
R+M	100,69 ± 26,69 a	68,27 ± 17,56 a	69,89 ± 25,09 a	41,82 ± 9,89 b
R+M+Ž	110,55 ± 12,44 a	63,72 ± 9,58 a	84,63 ± 18,12 a	46,97 ± 6,13 ab
R+M+TR	115,48 ± 4,67 a	82,43 ± 15,07 a	94,52 ± 10,26 a	58,19 ± 1,55 a

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

Nors patikimų statistinių skirtumų nenustatyta (3.12 lent.), tačiau auginant juodąją drignę ir pridėjus papildomos Ž DPPH laisvųjų radikalų imobilizavimo geba jaunuosiuose lapuose padidėjo 1,8 karto, o pridėjus papildomos TR – 1,6 karto, brandžiuose lapuose visais atvejais rezultatas tolygus, tačiau beveik pusiau mažesnis už jaunųjų lapų imobilizavimo gebą. ABTS laisvųjų radikalų imobilizavimo gebos tendencija yra panaši: didžiausia jaunuosiuose lapuose pridėjus papildomos Ž ir mažiausia brandžiuose lapuose pridėjus Ž.

3.12 lentelė. Juodųjų drignių išaugintų po skirtingais apšvietimo komponentių deriniais, augalinės žaliavos geba imobilizuoti laisvuosius DPPH ir ABTS radikalus*

Poveikis	DPPH, mM GRE g ⁻¹ žaliosios masės		ABTS, μM TE g ⁻¹ žaliosios masės	
	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai
R+M	47,20 ± 26,23 a	40,43 ± 10,88 a	40,35 ± 22,08 a	35,45 ± 6,67 a
R+M+Ž	86,63 ± 16,70 a	32,91 ± 8,17 a	66,32 ± 10,32 a	27,45 ± 6,14 a
R+M+TR	77,09 ± 16,78 a	40,22 ± 23,89 a	58,56 ± 13,63 a	36,77 ± 15,66 a

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai (p<0,05) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

Vertinant apšvietimo parametrų efektus FRAP galiai pagal geležies redukciją ir trolokso ekvivalentą (3.13 lent.) statistiškai patikimi skirtumai yra brandžiuose lapuose, tačiau didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymi jaunuosiuose lapuose TR poveikis, kuris yra 1,5 karto didesnis už tą patį poveikį brandžiuose lapuose ir 1,2 didesnis už raudonos ir mėlynos šviesos poveikį jaunuosiuose lapuose. Mažiausias aktyvumas nustatytas brandžiuose lapuose auginus po raudona ir mėlyna šviesa.

3.13 lentelė. Vaistinių šunvyšnių, išaugintų po skirtingais apšvietimo komponentių deriniais, žaliavos FRAP antioksidacinė galia*

Poveikis	FRAP, Fe, μmol g ⁻¹		FRAP, TEAG, μmol Trolox g ⁻¹	
	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai
R+M	919,71 ± 213,56 a	551,16 ± 84,68 b	916,87 ± 215,34 a	545,11 ± 85,59 b
R+M+Ž	1045,81 ± 135,82 a	569,16 ± 82,22 b	1044,04 ± 137,00 a	563,18 ± 82,73 b
R+M+TR	1126,62 ± 136,46 a	766,37 ± 117,82 a	1125,76 ± 137,62 a	762,28 ± 118,85 a

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai (p<0,05) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

Didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymi brandūs lapai, išauginti po pridėtine TR, kuris yra 2,3 karto didesnis už augalus, apšviestus LED šviesa be pridėtinių komponentių ir 1,7 karto didesnė už apšviestus pridėtine Ž brandžiuose lapuose, duomenys yra statistiškai skirtingi. Jaunuose lapuose didžiausią antioksidacinę galią turi pridėtine Ž ir ji beveik lygi brandžių lapų TR šviesos efektui, taip pat yra 3,4 karto didesnė už kontrolinę šviesą.

3.14 lentelė. Juodųjų drignių, išaugintų po skirtingais apšvietimo komponentių deriniais, žaliavos FRAP antioksidacinė galia*

Poveikis	FRAP, Fe, μmol g ⁻¹		FRAP, TEAG, μmol Trolox g ⁻¹	
	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai
R+M	141,86 ± 219,57 a	211,36 ± 123,88 b	131,98 ± 221,59 a	202,17 ± 125,18 b
R+M+Ž	478,93 ± 154,48 a	287,13 ± 146,52 ab	472,07 ± 155,79 a	278,79 ± 147,83 ab
R+M+TR	408,36 ± 105,12 a	492,63 ± 92,86 a	400,85 ± 106,14 a	485,95 ± 93,75 a

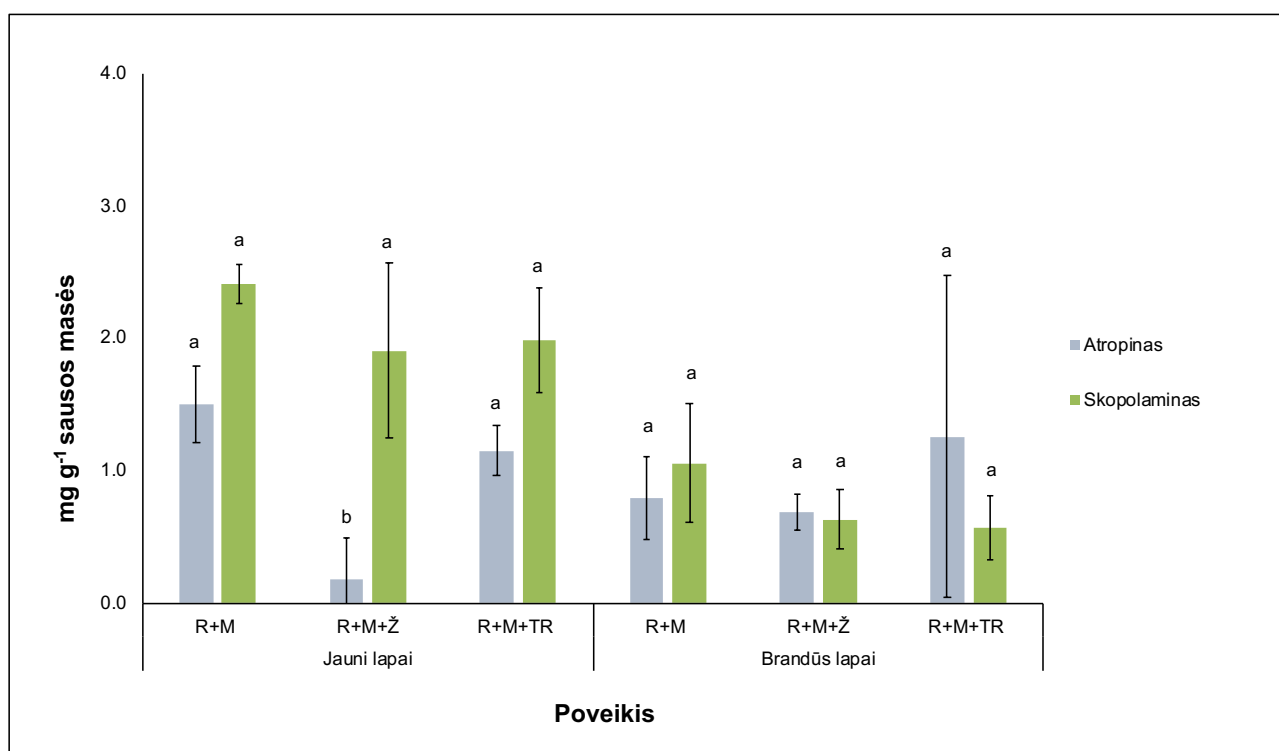
*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai (p<0,05) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

Vaistinių šunvyšnių antioksidacinis aktyvumas visais atvejais didesnis už juodųjų drignių aktyvumą. Didžiausią įtaką aktyvumui drignėse turėjo papildoma Ž jaunuose lapuose ir TR brandžiuose lapuose. Šunvyšnėje didžiausią įtaką laisvųjų radikalų imobilizavimo gebai turėjo TR pridėjimas jaunuose ir brandžiuose lapuose. Didžiausias skirtumas tarp juodosios drignės ir vaistinės šunvyšnės aktyvumo yra 3,6 kartai brandžiuose lapuose.

3.3.3. Papildomų apšvietimo spektro komponentių įtaka alkaloidų kiekiui vaistinėje šunvyšnėje

Skopolamino kiekis vaistinėje šunvyšnėje statistiškai patikimai nebuvo skirtingas (3.8 pav.), tačiau stebima tendencija, jog jaunuose lapuose šio alkaloido buvo nuo 2,4 iki 4,2 kartų daugiau nei brandžiuose lapuose. Pridėjus papildomą Ž ir TR jaunuose lapuose skopolamino kiekis sumažėjo atitinkamai 1,3 ir 1,2 karto, brandžiuose lapuose – 1,7 ir 1,9 karto.

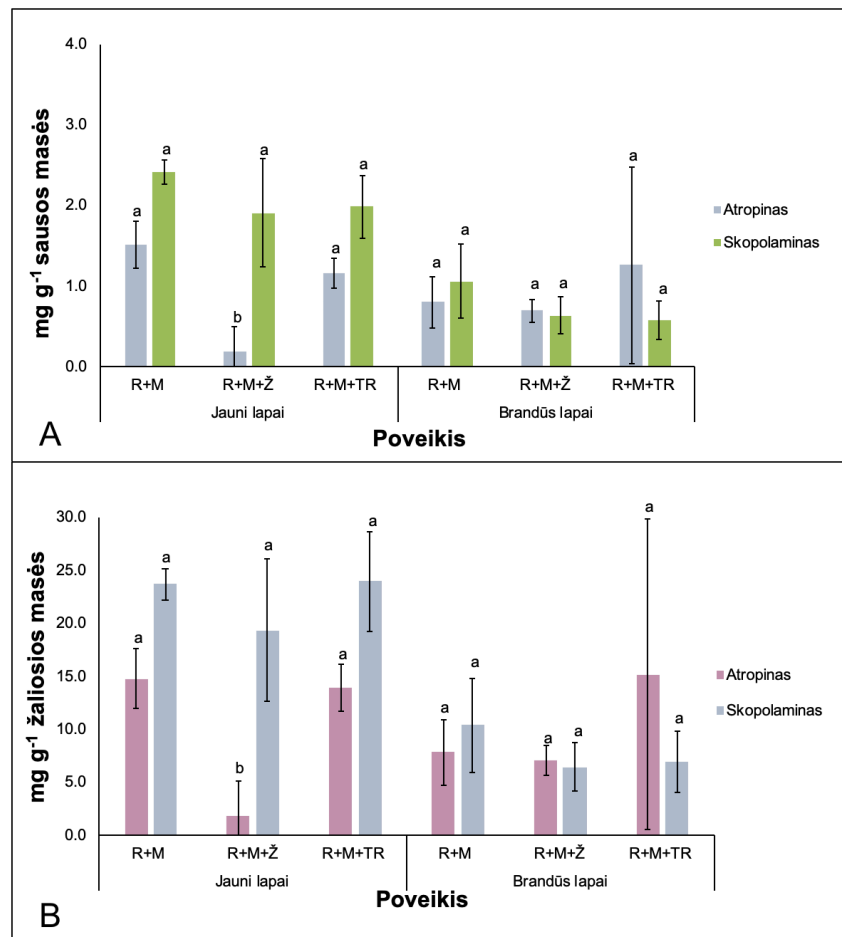
Atropino kiekis vaistinėje šunvyšnėje buvo statistiškai patikimai skirtingas jaunuose lapuose (3.5 pav.), kur pridėjus papildomą Ž sumažėjo 8,3 karto lyginant su pagrindinių komponentių šviesa, lyginant su TR – sumažėjo 6,3 kartus. Brandžiuose lapuose stebima, jog papildoma Ž truputį sumažino atropino kiekį, o TR – 1,6 karto padidino.



3.8 pav. Vaistinių šunvyšnių alkaloidų koncentracija paveikus papildomomis apšvietimo komponentėmis – TR ir Ž. Vidurkiai, pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų

3.3.4. Šviesos poveikiai alkaloidų kiekiui žaliojoje ir sausojoje vaistinių šunvyšnių masėje palyginti

Vertinant 3.9 paveikslo duomenis nustatyta, jog atropino ir skopolamino kiekis žaliojoje masėje yra nuo 9,8 iki 12 kartų didesnis nei SM. Alkaloidų didėjimo ir mažėjimo tendencija tiek jaunuose tiek brandžiuose lapuose A ir B paveiksluose yra tokia pati.

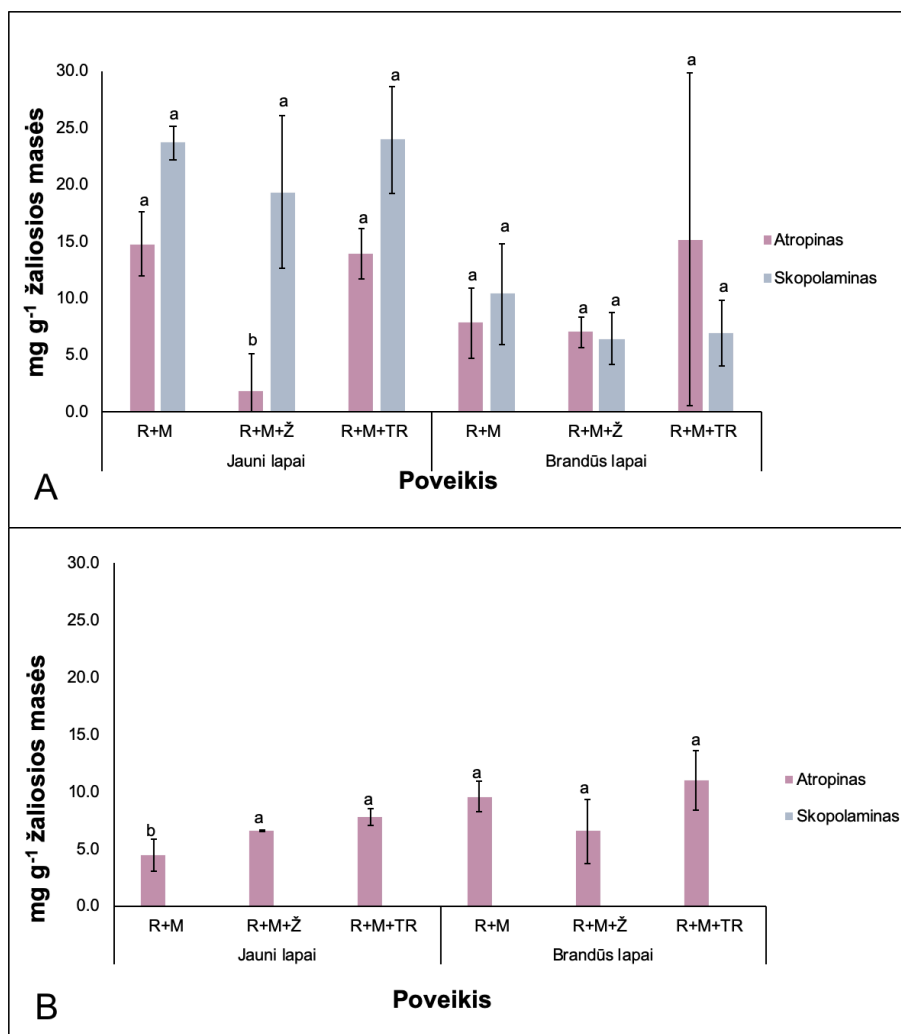


3.9 pav. Vaistinių šunvyšnių alkaloidų koncentracija paveikus papildomomis apšvietimo komponentėmis – TR ir Ž: A – SM, B – žaliojoje masėje. Vidurkiai, pažymėti skirtingomis raidėmis statistškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų

3.3.5. Šviesos poveikiai alkaloidų kiekiui skirtinguose bulvinių šeimos augaluose palyginti

Alkaloido skopolamino juodojoje drignėje nei veikiant pagrindinėms apšvietimo komponentėms, nei pridėjus papildomos Ž ir TR nebuvo nustatyta (3.10 pav. B). Tačiau pridėjus papildomos Ž ir TR jaunuosiuose lapuose stebimas atitinkamai 1,5 ir 1,7 karto didesnis atropino kiekis lyginant su R ir M, duomenys statistškai patikimai skiriasi. Brandžiuose lapuose papildomos Ž poveikis sumažina atropino kiekį, o TR kiekis buvo 2,5 karto didesnis už raudonos ir mėlynos šviesos poveikį jaunuosiuose lapuose.

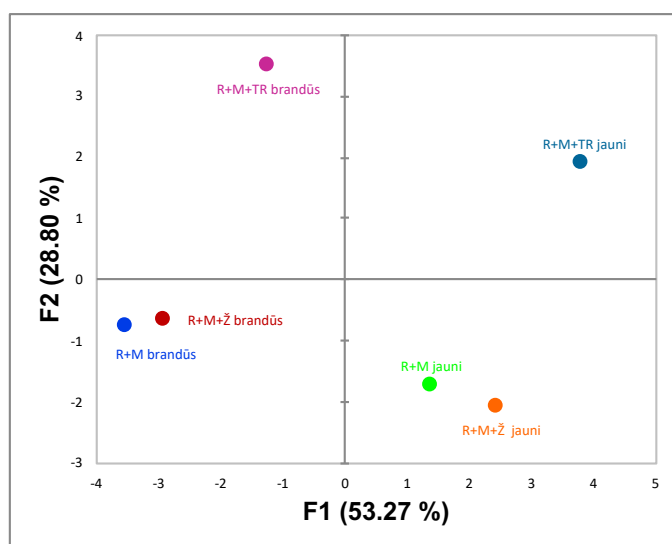
Didžiausias nustatytas atropino kiekis juodosiose drignėse 1,4 kartus mažesnis už toms pačioms sąlygomis augintų vaistinių šunvyšnių (3.10 pav. A) augalus. Alkaloido atropino kiekiai pridėjus papildomas apšvietimo komponentes jaunuosiuose lapuose abiejuose augaluose išsiskiria, tačiau brandžiuose lapuose matoma tendencija, jog pridėjus Ž – atropino kiekis sumažėja, o pridėjus TR – sukaupiamas didžiausias atropino kiekis.



3.10 pav. Vaistinių šunvyšnių (A) ir juodųjų drignių (B) alkaloidų koncentracija žaliojoje masėje paveikus skirtingais papildomų apšvietimo spektro komponentių deriniais. Vidurkiai, pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų

3.3.6. Pagrindinių komponentių analizė papildomų apšvietimo spektro komponentių įtakai įvertinti

PCA sklaidos diagrama rodo, kad pagal suminių tirtų apšvietimo parametrų efektą, spektro, papildyto žalia šviesa (R+M+Ž), poveikis vaistinėms šunvyšnėms statistiškai patikimai nesiskyrė nei jaunuose, nei brandžiuose lapuose (3.11 pav.). Tolimoji raudona šviesa (R+M+TR) – priešingai – turi aiškiai nuo vien R+M atsiskiriančius efektus tiek jaunuose, tiek brandžiuose lapuose. Visais tirtais atvejais jaunų ir brandžių šunvyšnių lapų antioksidacinės sistemos atsakas į papildomas šviesos spektro komponentes išsiskyrė.



3.11 pav. PCA papildomų apšvietimo spektro komponentių poveikiams įvertinti

Papildomos Ž ir TR lėmė 1,1 ir 1,2 karto didesnę vaistinių šunvyšnių sukauptą SM, kaip ir didesnę antioksidacinės sistemos aktyvumą. Juodosios drignės antioksidacinis aktyvumas beveik perpus mažesnis už vaistinės šunvyšnės aktyvumą, tačiau taip pat stebima tendencija, jog pridėjus papildomų Ž ir TR aktyvumas didėja. Papildomos šviesos spektro komponentės mažino alkaloidų kiekį, tik alkaloido atropino kiekis brandžiuose lapuose pridėjus TR buvo 1,6 kartus didesnis už pagrindinių komponentių poveikį vaistinėse šunvyšnėse, o tomis pačiomis sąlygomis juodosiose drignėse atropino kiekis yra 1,4 kartus mažesnis, tačiau išlaiko tendenciją ir yra didesnis už raudonos ir mėlynos šviesos poveikį.

3.4. Baltos šviesos derinių poveikis

3.4.1. Baltos šviesos derinių įtaka augimo rodikliams ir augalo lapų optiniams indeksams



3.12 pav. Vaistinės šunvyšnės, augusios pridėjus B derinių, po 30 dienų augimo

Vertinant B derinių efektus vaistinių šunvyšnių morfologijai (3.12 pav.) ir augimo rodikliams (3.15 lent.), nustatyti statistiškai patikimi skirtumai. Lapų plotas, prie B pridėjus papildomą TR, nustatytas

1,3 karto mažesnis, tačiau augalo aukštis pridėjus papildomos TR padidėjo 1,4 karto. Kitų rodiklių nenustatyta statistiškai patikimų skirtumų, bet matoma tendencija, jog SM ir lapų skaičius pridėjus TR padidėjo 1,1 karto, o žalioji masė truputį sumažėjo.

3.15 lentelė. Vaistinių šunvyšnių augimo rodikliai paveikus B bei B kartu su TR*

Poveikis	Žalioji masė, g	SM, g	Lapų plotas, cm ²	Lapų skaičius, vnt.	Aukštis, cm
B	19,9 ± 0,47 a	1,52 ± 0,02 a	635,5 ± 40,5 a	9,5 ± 0,5 a	20,5 ± 1,5 b
B+TR	19,58 ± 1,19 a	1,74 ± 0,35 a	509,5 ± 55,8 b	10,5 ± 0,5 a	28,0 ± 1,0 a

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

Šunvyšnių lapų optiniai rodikliai (3.16 lent.) taip pat patvirtina, kad pridėjus papildomos TR jaunuose ir brandžiuose lapuose reikšmingai sumažėjo chlorofilų indeksas (1,1 karto mažesnis nei esant tik baltos spalvos šviesai), o tiek jaunuose, tiek brandžiuose lapuose išaugęs flavonolių indeksas rodo apsauginės augalo sistemos reakciją. Reikšmingai sumažėjęs (1,6 karto jaunuose lapuose ir 1,2 brandžiuose lapuose pridėjus TR) NBI – galimus ankstyvo augalo senėjimo procesus.

3.16 lentelė. Baltos šviesos derinių įtaka optiniams vaistinių šunvyšnių lapų indeksams*

Poveikis	Chlorofilų indeksas		Flavonolių indeksas		NBI indeksas	
	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai
B	19,15 ± 1,08 a	27,94 ± 0,69 a	0,67 ± 0,09 a	0,47 ± 0,06 a	28,53 ± 7,40 a	60,28 ± 2,79 a
B+TR	17,55 ± 0,23 a	24,58 ± 0,83 b	1,02 ± 0,25 a	0,52 ± 0,08 a	18,01 ± 3,13 a	49,39 ± 5,78 b

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

3.4.2. Baltos šviesos derinių įtaka antioksidaciniam aktyvumui nustatyti DPPH, ABTS ir FRAP metodais

Vertinant B poveikį vaistinių šunvyšnių žaliavos antioksidacinėms savybėms (3.17 lent.), nustatyta statistiškai patikimi skirtumai tik jaunuose lapuose DPPH laisvųjų radikalų imobilizavimo gebai, kur pridėjus TR stebimas 1,3 karto padidėjimas lyginant tik su B poveikiu. Brandžiuose lapuose DPPH laisvųjų radikalų imobilizavimo geba padidėjo 1,1 karto. Panaši tendencija stebima ir vertinant ABTS laisvųjų radikalų imobilizavimo gebą, kuri yra statistiškai patikimai mažesnė.

3.17 lentelė. Vaistinių šunvyšnių išaugintų po skirtingais baltos šviesos deriniais, augalinės žaliavos geba imobilizuoti laisvuosius DPPH ir ABTS radikalus*

Poveikis	DPPH, mM GRE g ⁻¹ žaliosios masės		ABTS, μM TE g ⁻¹ žaliosios masės	
	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai
B	84,70 ± 3,66 b	65,78 ± 4,69 a	58,51 ± 5,16 a	48,07 ± 6,54 a
B+TR	113,19 ± 5,58 a	74,72 ± 27,76 a	89,22 ± 21,50 a	56,82 ± 17,69 a

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

Vertinant apšvietimo parametrų efektus FRAP galiai pagal geležies redukciją ir trolokso ekvivalentą (3.18 lent.), jaunuose lapuose antioksidacinis aktyvumas didesnis nuo 1,4 iki 1,8 kartų nei brandžiuose lapuose. Nors statistiškai patikimų skirtumų nėra, tačiau didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymi vaistinės šunvyšnės augusios po B ir TR deriniu jaunuose lapuose, aktyvumas yra 1,3 karto didesnis nei veikiant tik baltai šviesai. Mažiausias aktyvumas nustatytas visais atvejais pridėjus TR brandžiuose lapuose, nors skirtumas yra nedidelis lyginant su pavienės B poveikiu brandiems lapams.

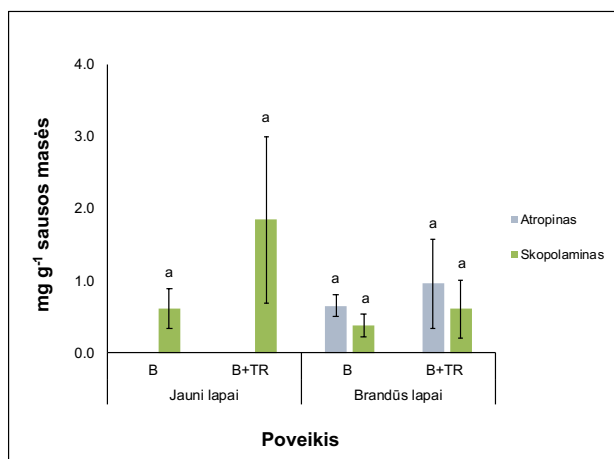
3.18 lentelė. Vaistinių šunvyšnių, išaugintų po skirtingais B deriniais, žaliavos FRAP antioksidacinė galia*

Poveikis	FRAP, Fe, $\mu\text{mol g}^{-1}$		FRAP, TEAG, $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$	
	Jauni lapai	Brandūs lapai	Jauni lapai	Brandūs lapai
B	726,11 \pm 35,35 a	535,60 \pm 220,69 a	721,64 \pm 35,54 a	529,36 \pm 222,61 a
B+TR	932,19 \pm 388,20 a	531,41 \pm 205,78 a	929,62 \pm 392,19 a	525,12 \pm 207,85 a

*Vidurkiai, stulpeliuose pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų.

3.4.3. Baltos šviesos derinių įtaka alkaloidų kiekiui augale.

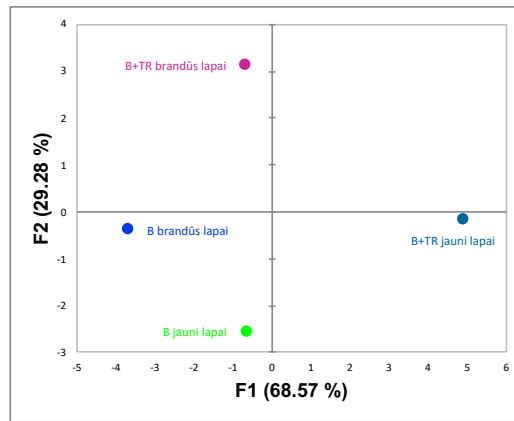
Nustatyta, jog vaistinių šunvyšnių jaunuose lapuose alkaloido atropino nustatyta nebuvo (3.13 pav.), tačiau brandžiuose lapuose pridėjus papildomos TR atropino kiekis padidėjo 1,5 karto ($0,96 \text{ mg g}^{-1}$). Alkaloido skopolamino kiekis, nors nėra statistiškai patikimai skirtingas, didėja pridėjus TR ir didžiausia jo koncentracija nustatyta jaunuose lapuose, kur siekia $1,84 \text{ mg g}^{-1}$ ir yra nuo 3 iki 5 kartų didesnis už B poveikį jaunuose ir brandžiuose lapuose.



3.13 pav. Vaistinių šunvyšnių alkaloidų koncentracija paveikus skirtingais B deriniais. Vidurkiai, pažymėti skirtingomis raidėmis statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skiriasi pagal ANOVA vienfaktorinės analizės Duncan'o kriterijų

3.4.4. Pagrindinių komponentų analizė baltos šviesos derinių įtakai įvertinti

Pagal pagrindinių komponentų sklaidos diagramą (3.14 pav.), antioksidaciniai rodikliai jaunuose ir brandžiuose lapuose, apšviestuose vien B patikimai nesiskyrė. Pridėjus papildomos TR, gautas suminis atsakas reikšmingai skyrėsi nuo vien B, taip pat išsiskyrė jaunų ir brandžių lapų atsakas į baltą šviesą.



3.14 pav. PCA baltos šviesos derinių poveikiams įvertinti. PCA sklaidos diagrama

Baltai papildoma TR lėmė didesnę augalų sukauptą SM, didesnę antioksidacinės sistemos aktyvumą ir iki 5 kartų didesnę alkaloidų kiekį. Pridėjus papildomos TR galima pasiekti didesnės sukauptos vaistinių šunvyšnių biomasės, aukštesnės antioksidacinės žaliavos vertės ir didesnio sukaupto alkaloidų kiekio.

3.5. Rezultatų apibendrinimas ir rekomendacijos

Tyrimų metu buvo įvertinta įvairaus apšvietimo spektro (pagrindinių R ir M bei papildomų Ž, TR spektro komponentų), srauto ir fotoperiodo įtaka vaistinėms šunvyšnėms. Papildomų apšvietimo komponentų efektų atkuriamumas įvertintas apšvietimo tyrimus atlikus su juodosios drignės augalais. Siekta įvertinti, kokiomis sąlygomis, kuriame augale sukauptas didžiausias alkaloidų kiekis, kaip reaguoja augalas į šviesos poveikį, analizuoti vertintų augimo ir antioksidacinių rodiklių koreliaciniai ryšiai. Gauti rezultatai svarbūs modeliuojant vaistinių šunvyšnių auginimo modeliniame augalų fabrike sąlygas.

Didžiausios išmatuotos augalų rodiklių vertės pagal skirtingus parametrus vaistinėje šunvyšnėje:

- žalia masė – R bei R su M 10% poveikiu. Veikiant R žalia masė 1,8 kartus padidėjo lyginant su mažiausia sukaupta žalia mase (esant 18 valandų fotoperiodui ir $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ srautui);
- sausa masė. R bei R su M 10% poveikiu. Veikiant R sausa masė 2,6 kartus padidėjo lyginant su mažiausia sukaupta žalia mase (esant 18 valandų fotoperiodui ir $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ srautui);
- lapų plotas – R ir M 10 % poveikiu bei esant 18 h fotoperiodui, $150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PPFd srautui. Veikiant raudonai ir 10% mėlynai šviesai lapų plotas 1,8 kartus padidėjo lyginant su mažiausiu lapų plotu (esant 24 valandų fotoperiodui ir $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ srautui);
- lapų skaičius – R ir R su M 10 % poveikiu. Veikiant raudonai ir 10% mėlynai šviesai lapų skaičius 1,4 karto padidėjo lyginant su mažiausiu lapų skaičiumi (esant 18 valandų fotoperiodui ir $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ srautui);
- augalo aukštis – esant R ir prie pagrindinių šviesos spektro komponentų pridėjus TR. Padidėjo 1,9 kartus lyginant su mažiausiu augalo aukščiu (esant 18 valandų fotoperiodui ir $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ srautui);
- chlorofilų indeksas jaunuose ir brandžiuose lapuose esant 18 h fotoperiodui, $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PPFd srautui ir padidėjo 1,4 kartus lyginant su mažiausiu chlorofilų indeksu (esant 24 valandų fotoperiodui ir $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ srautui);

- flavonolių indeksas – R ir esant 24 valandų fotoperiodui, $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ srautui ir padidėjo jaunuose lapuose 2 kartus, brandžiuose lapuose – 2,7 kartus lyginant su mažiausiu flavonolių indeksu (esant 18 valandų fotoperiodui ir $150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ srautui);
- NBI indeksas – esant 18 h fotoperiodui, $150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PPFd srautui ir padidėjo jaunuose lapuose 2,5 kartus, brandžiuose lapuose – 3 kartus lyginant su mažiausiu flavonolių indeksu (esant 24 valandų fotoperiodui ir $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ srautui);
- DPPH ir ABTS vertės – esant R ir prie pagrindinių šviesos spektro komponentų pridėjus TR. Veikiant R padidėjo DPPH jaunuose lapuose 1,9 kartus, brandžiuose lapuose – 1,7, ABTS - jaunuose lapuose 2,7 kartus, brandžiuose lapuose – 1,6 kartus lyginant su mažiausia verte (esant 18 valandų fotoperiodui ir $150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ srautui);
- FRAP – prie pagrindinių šviesos spektro komponentų pridėjus TR ir aktyvumas jaunuose lapuose padidėjo 2,4 kartus, brandžiuose lapuose – 5,7 kartus lyginant su mažiausia verte (esant 18 valandų fotoperiodui ir $150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ srautui);
- alkaloidų – R, esant 24 valandų fotoperiodui ir $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ srautui bei R su M 10 % poveikiu. Veikiant R skopolamino kiekis jaunuose lapuose padidėjo 19 kartų, brandžiuose lapuose – 11,3 kartų, atropino kiekis jaunuose lapuose padidėjo 3,4 kartus, o brandžiuose lapuose – 2,6 kartus lyginant su mažiausia verte (esant 18 valandų fotoperiodui ir $150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ srautui).

Šio tyrimo metu nustatėme, kad apšvietimo spektro ir srauto pokyčiai daro įtaką augalo metabolizmui. Atsižvelgus į tai, jog didžiausią pridėtinę vertę augale turi alkaloidas skopolaminas ir atropinas – rekomenduojama auginti augalą po R, R+M 10 % apšvietimu ir 24 valandų fotoperiodu esant $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ srautui. Nelson'as ir kiti teigia, jog raudona šviesa pagerina fotosintezės procesus augale, o papildoma mėlyna šviesa turi įtakos ląstelių dalijimuisi, lapų ploto augimui, stiebo ir šaknų sistemos tvirtumui, taip pat gausiau kaupiamos aminorūgštys, organinės rūgštys, riebalų rūgštys ir favonoidų glikozidai [18, 2].

Tai, kad alkaloidų apykaitai efektyvesnis yra monochromatinis, raudonos šviesos spektras, svarbu ir elektros energijos sąnaudų AF prasme. Vien raudona šviesa pasižymi reikšmingai didesniu fotonų efektyvumu (elektros energijos konversijos į fotosintetiškai aktyvios spinduliuotės srautą indeksu), lyginant su multikomponentiniu spektru (Ž, TR pasižymi reikšmingai mažesniu fotonų efektyvumu), todėl santykinai sumažėja elektros energijos sąnaudos [18]. Mokslininkai nustatė, jog R ir M šviesų mišinys naudojamas kaip vienas elektriškai efektyviausių spektrų [26].

Kito tyrimo metu būtų galima parinkti aukščiau paminėtus tris šviesos komponentų derinius ir stebėti kokios įtakos alkaloidų kiekiui šunvyšnėse turi amžiaus tarpsnis veikiamas kartu su apšvietimu ir ar tai ekonomiškai būtų naudinga, nes mokslininkai nustatė, jog didžiausias alkaloidų kiekis juodosiose drignėse nustatytas žydėjimo metu [24], taip pat alkaloidų kiekis didėja sudarant sausros streso sąlygas ir tręšiant didesniu azoto kiekiu [35], o auginant hidroponinėje sistemoje ir šaknims sąveikaujant su *Agrobacterium rhizogenes*, nustatytas alkaloidų padidėjimas net 7 kartus [39].

3.6. Finansinės naudos analizė

Koreguojant AF parametrus galima reikšmingai padidinti investicinį patrauklumą, o apšvietimas yra vienas pagrindinių veiksnių, lemiančių produkcijos kaštus AF [11, 17]. Šio tyrimo metu parinkome didelę pridėtinę vertę turinčius augalus – vaistinę šunvyšnę ir juodąją drignę, kurios kaupia vertingus alkaloidus ir nustatėme kokiomis apšvietimo sąlygomis sukaupiamas didžiausias jų kiekis. 3.19

lentelėje pateiktas palyginimas kiek pajamų galima gauti pritaikius geriausias (R, 18 h PPF 250) ir blogiausias (multikomponentinis spektras, 18 h PPF 150) šiuo tyrimu nustatytas apšvietimo sąlygas pagal audiniuose sukauptą alkaloidų kiekį. Norint įvertinti gautą pelną iš vaistinių šunvyšnių žaliavos auginimo AF ir alkaloidų išskyrimo, reikia įvertinti ir gerokai daugiau auginimo aplinkos sąlygų: elektros, vandens, mineralinių ir kitų medžiagų, paslaugų, infrastruktūros investicinius poreikius. Visgi, čia pateikiami skaičiavimai rodo, kad pajamos pasirinkus monochromatinį apšvietimą ir 66% padidinus apšvietimo srautą galima išauginti žaliavą, kaupiančią 16,7 kartus daugiau skopolamino ir 2,9 kartus daugiau atropino, kas skopolamino pajamas iš modelinio 100 m² AF padidina nuo 1814,74 EUR iki 30 282,72 EUR per metus (16,7 kartus), atropino – nuo 2131,20 EUR iki 17078,88 EUR (8 kartus). Taigi, norit gauti didžiausias pajamas iš vaistinių šunvyšnių reikia padidinti alkaloido skopolamino kiekį augale, jis yra daug vertingesnis už atropiną ir nedideli kiekio pokyčiai lemia gausius pajamų skirtumus.

3.19 lentelė. Metinės pajamos iš alkaloidų auginimo AF palyginus geriausio apšvietimo ir blogiausio apšvietimo poveikių įtaką kainai

Apšvietimo variantas	Alkaloidų g SM sukaupta vieno augalo lapuose:	
	Skopolaminas	Atropinas
Geriausias apšvietimo variantas	0,00844	0,00476
Blogiausias apšvietimo variantas	0,00014	0,00111
	Alkaloidų g SM sukaupta 100 m ² plote:	
	Skopolaminas	Atropinas
Geriausias apšvietimo variantas	84,40	47,60
Blogiausias apšvietimo variantas	1,445	11,10
	Per metus 100 m ² plote išgautas kiekis alkaloidų g:	
	Skopolaminas	Atropinas
Geriausias apšvietimo variantas	1012,80	571,20
Blogiausias apšvietimo variantas	17,34	133,20
	1 g alkaloidų kaina, EUR:	
	Skopolaminas	Atropinas
	29,90	16,00
	Per metus iš 100m ² ploto gautos pajamos:	
	Skopolaminas	Atropinas
Geriausias apšvietimo variantas	30 282,72	17 078,88
Blogiausias apšvietimo variantas	518,50	2 131,20
	Iš viso iš 1 ha per metus gautos pajamos:	
	Skopolaminas	Atropinas
Geriausias apšvietimo variantas	3 028 272,00	1 707 888,00
Blogiausias apšvietimo variantas	51 849,71	213 120,00

Išvados

1. Alkaloidų sukaupiama daugiau esant intensyvesniam apšvietimui, didesnei apšvietimo trukmei, tačiau šiomis sąlygomis sumažėja kitų augalui svarbių parametrų rodikliai, tuo tarpu antioksidacinės savybės stiprėja prie didžiausio apšvietimo intensyvumo.
2. Apšviečiant vaistines šunvyšnes skirtingomis spektro komponentėmis ir jų deriniais nustatyta, jog didžiausią teigiamą poveikį augalams turėjo raudona ir raudona kartu su 10 % mėlynos šviesos. Šiomis sąlygomis sukauptas didžiausias kiekis tropano alkaloidų vaistinėje šunvyšnėje, padidėjo žaliosios ir sausosios masės kiekiai, lapų plotas, skaičius, augalo aukštis. Antioksidacinės savybės taip pat buvo vienos didžiausių.
3. Farmacijai svarbių alkaloidų kiekį, antioksidacines savybes ir augimo rodiklius galima kontroliuoti uždaroje auginimo sistemoje parinkus atitinkamą auginimo trukmę, intensyvumą ir spektrą. Keičiant šiuos apšvietimo parametrus galima išgauti aukštos kokybės vaistinę žaliavą.
4. Parinkus optimaliausias apšvietimo sąlygas alkaloidų kaupimuisi vaistinėje šunvyšnėje gautų pajamų skirtumas gali skirtis dešimtimis tūkstančių eurų palyginus su apšvietimu, kuris turi menką įtaką alkaloidų kiekio padidėjimui.
5. Pagal tirtus parametrus vaistinės šunvyšnės optimaliam augimui parenkamos apšvietimo sąlygos: raudonos šviesos, raudonos šviesos su papildomos 10 % mėlynos šviesos poveikis ir 24 valandų fotoperiodas esant $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ srautui.

Literatūros sąrašas

1. TOUAIBIA, M. and F. Z. CHAOUCH. Propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de *Myrtus nivellei* Batt et Trab. obtenus in situ et in vitro. *Phytothérapie*. 2015, 15(1), 16-22. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1007/s10298-015-1011-6>
2. TAULAVUORI, E., et. al. Targeted use of LEDs in improvement of production efficiency through phytochemical enrichment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2017, 97(15), 5059-5064. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.8492>
3. VIRSILE A., M. OLLE and P. DUCHOVSKIS. LED Lighting in Horticulture. In: *Light Emitting Diodes for Agriculture– Smart Lighting*. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2017, pp. 113-147. Prieiga per: doi: https://doi.org/10.1007/978-981-10-5807-3_7
4. FACCHINI, Peter J. Biochemistry, Cell Biology, Molecular Regulation, and Metabolic Engineering Applications. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 2001, 52, 29–66. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1101/003103>
5. GRAAMANS, L., et. al. Plant factories; crop transpiration and energy balance. *Agricultural Systems*. 2017, 153, 138–147. Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agry.2017.01.003>
6. SHAMSHIRI, R.R., et al. Advances in greenhouse automation and controlled environment agriculture: A transition to plant factories and urban agriculture. *Int J Agric & Biol Eng.* 2018, 11(1), 1–22. Prieiga per: doi: <http://doi.org/10.25165/j.ijabe.20181101.3210>
7. KIKUCHI, Y., et. al. Environmental and resource use analysis of plant factories with energy technology options: A case study in Japan. *Journal of Cleaner Production*. 2018, 186, 703-717. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.03.110>
8. CHEN, W.T., et. al. An Automatic Plant Growth Measurement System for Plant Factory. *IFAC Proceedings Volumes*. 2013, 46(4), 323-327. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.3182/20130327-3-JP-3017.00073>
9. LIAROS, S., et al. Technoeconomic evaluation of urban plant factories: The case of basil (*Ocimum basilicum*). *Science of the Total Environment*. 2016, 554–555, 218–227. Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.174>
10. HU, W.P., et. al. A Framework of the Intelligent Plant Factory System. *Procedia Computer Science*, 2018, 131, 579-584. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1016/j.procs.2018.04.295>
11. MURASE, Haruhiko. The Latest Development of Laser Application Research in Plant Factory. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. 2015, 3, 4 – 8. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2015.01.003>
12. BRINCKMANN, E. ESA hardware for plant research on the International Space Station. *Advances in Space Research*. 2005, 36(7), 2005, 1162-1166. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1016/j.asr.2005.02.019>
13. SHAMSHIRI R.R., et al. Advances in greenhouse automation and controlled environment agriculture: A transition to plant factories and urban agriculture. *Int J Agric & Biol*. 2018, 11(1), 1–22. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.25165/j.ijabe.20181101.3210>
14. CARVALHO S. D and Kevin M. FOLTA. Environmentally modified organisms – expanding genetic potential with light. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2014, 33(6), 486-508. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.929929>
15. WADA, T., et. al. Fundamental components and points to consider in the design of a plant factory: an example of OPU new-generation plant factory. In: *Plant Factory using Artificial Light*. Elsevier, 2019, pp. 231-241. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813973-8.00006-3>

16. GRAAMANS, L., et. al. Plant factories versus greenhouses: Comparison of resource use efficiency. *Agricultural Systems*. 2018, 160, 31–43. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2017.11.003>
17. ITOH, Hiromichi. Functional Plants. In: *Plant Factory using Artificial Light*. Elsevier, 2019, pp. 143-154. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813973-8.00013-0>
18. NELSON J.A. and B. BUGBEE. Economic Analysis of Greenhouse Lighting: Light Emitting Diodes vs. High Intensity Discharge Fixtures. *PLoS ONE*. 2014, 9(6). Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099010>
19. BIAN, Z.H., et al. Effects of light quality on the accumulation of phytochemicals in vegetables produced in controlled environments: a review. *J. Sci. Food Agric*. 2015, 95, 869-877. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6789>
20. DAVIS, F.A and C. BURNS. Photobiology in protected horticulture. *Food and Energy Security*. 2016, 5(4), 223–23. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1002/fes3.97>
21. IEPEREN, W. Plant growth control by light spectrum: fact or fiction? *Acta Horti*. 2016, 1134. ISHS. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1134.3>
22. PATTISON, P.M., et. al. LEDs for photons, physiology and food. *Nature*. 2018, 563, 493-500. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0706-x>
23. CARVALHO, S.D. et al. Light quality dependent changes in morphology, antioxidant capacity, and volatile production in sweet basil (*Ocimum basilicum*). *Front Plant Sci*. 2016, 7, 1328. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01328>
24. NASCIMENTO, L., et. al. Increased antioxidant activity and changes in phenolic profile of *Kalanchoe pinnata* (Lamarck) Persoon (Crassulaceae) specimens grown under supplemental blue light. *Photochem Photobiol*. 2013, 89, 391–399. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1111/php.12006>
25. SHIMOKAWA, A., et. al. Effect of alternating red and blue light irradiation generated by light emitting diodes on the growth of leaf lettuce. *bioRxiv*. 2014, 003103. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1101/003103>
26. CIOĆ, M., et. al. LED lighting affects plant growth, morphogenesis and phytochemical contents of *Myrtus communis* L. in vitro. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 2018, 132, 433–447. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1340-2>
27. KI-HO, S and O. MYUNG-MIN. Leaf shape, growth, and antioxidant phenolic compounds of two lettuce cultivars grown under various combinations of blue and red light-emitting diodes. *HortScience*. 2013, 48, 988–995. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.48.8.988>
28. WOJCIECHOWSKA, R., et. al. Effect of supplemental led lighting on growth and quality of *Valerianella locusta* L. and economic aspects of cultivation in autumn cycle. *Acta Sci Pol-Hortoru*. 2016, 15, 233–244. ISSN: 1644-0692
29. SHIN K.S., et. al. The effect of light quality on the growth and development of in vitro cultured *Doritaenopsis* plants. *Acta Physiol Plant*. 2008, 30(3) 339–343. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1007/s11738-007-0128-0>
30. STETSENKO, L.A., et. al. Salinity Attenuates Nickel-Accumulating Capacity of *Atropa belladonna* L. Plants. *Fiziologiya Rastenii*. 2017, 64 (4), 266–276. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1134/S102144371704015X>
31. NAIK, T., et. al. Novel Microbial Sources of Tropane Alkaloids: First Report of Production by Endophytic Fungi Isolated from *Datura metel* L. *Curr Microbiol*. 2018, 75, 206–212. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1007/s00284-017-1367-y>

32. SADDIQE, Z., et. al. Alkaloid rich fraction of *Datura alba* Rumph. ex Nees leaves possesses antitumor and antimetabolic activity. *South African Journal of Botany*. 2018, 117, 282–287. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.05.031>
33. DENG, Fan. Effects of glyphosate, chlorsulfuron, and methyl jasmonate on growth and alkaloid biosynthesis of jimsonweed (*Datura stramonium* L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2005, 82, 16–26. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2004.09.007>
34. BAHMANZADEGAN, J.A., et. al. Determination of hyoscyamine and scopolamine in Four *Hyoscyamus* species from Iran. *Iranian J Pharm Res*. 2009, 8(1), 65–70. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.22037/IJPR.2010.790>
35. BARICEVIC, D., et. al. Effect of water stress and nitrogen fertilization on the content of hyoscyamine and scopolamine in the roots of deadly nightshade (*Atropa belladonna*). *Environmental and Experimental Botany*. 1999, 42, 17–24. Prieiga per: doi: [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(99\)00014-3](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(99)00014-3)
36. MADANI, H., et. al. Enhanced production of scopolamine in induced autotetraploid plants of *Hyoscyamus reticulatus* L. *Acta Physiol Plant*. 2015, 37, 55. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1795-x>
37. PRAMOD, K.K., S. SINGH and C. JAYABASKARAN. Biochemical and structural characterization of recombinant hyoscyamine 6 β -hydroxylase from *Datura metel* L. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2010, 48, 966-970. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.09.003>
38. DEGHAN, E., et. al., Genetically engineered hairy root cultures of *Hyoscyamus senecionis* and *H. muticus*: ploidy as a promising parameter in the metabolic engineering of tropane alkaloids. *Plant Cell Rep*. 2017, 36, 1615–1626. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1007/s00299-017-2178-0>
39. VU, T.D., et. al. *Datura innoxia* plants hydroponically-inoculated with *Agrobacterium rhizogenes* display an enhanced growth and alkaloid metabolism. *Plant Science*. 2018, 277, 166-176. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.09.001>
40. NGUYEN, T.K.O., et al. Unravelling the architecture and dynamics of tropane alkaloid biosynthesis pathways using metabolite correlation networks. *Phytochemistry*. 2015, 116, 94–103. Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.03.005>
41. MATSUURA, H.N., et. al. Specialized plant metabolism characteristics and impact on target molecule biotechnological production. *Molecular Biotechnology*. 2018, 60, 169-183. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1007/s12033-017-0056-1>
42. GARLAND, K.F., et. al. Minimum Daily Light Integral for Growing High-quality Coleus. *HortTechnology*. 2010, 20(5), 929–933. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.20.5.929>
43. TAMULAITIS, G., et. al. High-power light-emitting diode based facility for plant cultivation. *Journal of Physics D Applied Physics*. 2005, 38(17), 3182-3187. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1088/0022-3727/38/17/S20>
44. *Moksliniamas tyrimams* [interaktyvus]. [žiūrėta 2019-05-15]. Prieiga per: <http://hortiled.lt/moksliniamas-tyrimams/>
45. *HLRD-series lamps for science* [interaktyvus]. [žiūrėta 2019-05-15]. Prieiga per: http://hortiled.lt/file/repository/Hortiled_factsheet_mokslui_EN_2015_07_28_perziurai.pdf

46. *Heliospectra RX30 Series Technical Specification* [interaktyvus]. [žiūrėta 2019-05-15]. Prieiga per: <https://www.heliospectra.com/wp/wp-content/uploads/2018/01/Heliospectra-RX30-Series-Technical-Specification.pdf>
47. *DUALEX* [interaktyvus]. [žiūrėta 2019-05-15]. Prieiga per: <http://www.dynamax.com/images/uploads/papers/Dualex.pdf>
48. KRAUJALYTĖ, V., et. al. Antioxidant properties and polyphenolic compositions of fruits from different European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) genotypes. *Food Chemistry*. 2013, 141(4), 3695-3702. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.054>
49. *Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1)* [interaktyvus]. 2005 [žiūrėta 2019-05-15]. Prieiga per: https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf
50. *Atropine* [interaktyvus]. [žiūrėta 2019-05-15]. Prieiga per: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/a0132?lang=en®ion=GB>
51. *Scopolamine hydrobromide trihydrate* [interaktyvus]. 2005 [žiūrėta 2019-05-15]. Prieiga per: https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/s1875?lang=en®ion=GB&cm_sp=Insite-_prodRecCold_xviews-_-prodRecCold3-3
52. COLONNA, E., et. al. Nutritional quality of ten leafy vegetables harvested at two light intensities. *Food Chemistry*. 2016, 199, 702-710. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.068>
53. BIAN, Z. H., et. al. Effects of light quality on the accumulation of phytochemicals in vegetables produced in controlled environments: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2014, 95(5), 869–877. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6789>
54. FUKUYAMA, T., et. al. Estimation of optimal red light intensity for production of the pharmaceutical drug components, vindoline and catharanthine, contained in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Environmental Control Biology*. 2015, 53(4), 217- 220. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.2525/ecb.53.217>