Utjecaj različitih vrsta svjetla na kvalitetu mikropropagiranih kapara (Capparis orientalis Veill.)

Bekavac, Kristina

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:017159

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**



Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

UTJECAJ RAZLIČITIH VRSTA SVJETLA NA KVALITETU MIKROPROPAGIRANIH KAPARA (*Capparis orientalis* Veill.)

DIPLOMSKI RAD

Kristina Bekavac

Zagreb, svibanj, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Biljne znanosti

UTJECAJ RAZLIČITIH VRSTA SVJETLA NA KVALITETU MIKROPROPAGIRANIH KAPARA (*Capparis orientalis* Veill.)

DIPLOMSKI RAD

Kristina Bekavac, univ. bacc. ing. agr.

Mentor: doc.dr.sc. Anita Bošnjak Mihovilović

Zagreb, svibanj, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Kristina Bekavac**, JMBAG 0178097565, rođena dana 04.01.1991. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

UTJECAJ RAZLIČITIH VRSTA SVJETLA NA KVALITETU MIKROPROPAGIRANIH KAPARA

(*Capparis orientalis* Veill.)

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Kristina Bekavac**, JMBAG 0178097565, naslova

UTJECAJ RAZLIČITIH VRSTA SVJETLA NA KVALITETU MIKROPROPAGIRANIH KAPARA

(*Capparis orientalis* Veill.)

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo: potpisi:

1. doc. dr. sc. Anita Bošnjak Mihovilović mentor _____
2. prof. dr. sc. Snježana Kereša član _____
3. prof. dr. sc. Tatjana Prebeg član _____

Zahvala

Zahvaljujem se svojoj mentorici doc. dr. sc. Aniti Bošnjak Mihovilović koja je svojim znanstvenim i stručnim savjetima oblikovala ideju i pomogla mi u izradi ovoga diplomskog rada, zahvaljujem se na povjerenju, strpljenju i slobodnom vremenu koji je uložila.

Želim se zahvaliti i prof. dr. sc. Tatjani Prebeg na pomoći, dobrim savjetima i slobodnom vremenu koji je uložila u provedbi istraživanja oko ovog diplomskog rada.

Hvala i svim djelatnicima Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu koji su svojim radom pomogli u stjecanju moga znanja o agronomiji te životu u struci i oko nje.

Želim se zahvaliti svim kolegama i prijateljima koji su mi vrijeme provedeno na fakultetu uljepšali svojim prisustvom i pomogli da to vrijeme smatram najljepšim dijelom svoga života.

Na kraju se posebno želim zahvaliti svojim roditeljima, bratu i sestrama koji su me tokom čitavog mog školovanja podupirali i bili veliko ohrabrenje u svim trenucima mog školovanja i studija te poticali moju težnju k ostvarivanju sve viših i viših ciljeva.

Sadržaj

1. Uvod 1

1.1. Ciljevi i hipoteze istraživanja 3

2. Pregled literature 4

2.1. *Capparis orientalis* Veill. 4

2.2. Morfološke karakteristike kapara 4

2.3. Ekološki zahtjevi i biološke karakteristike 6

2.3.1. Rasprostranjenost kapara u Hrvatskoj 7

2.4. Kemijski sastav i upotreba kapara 8

2.4.1. Upotreba u kulinarstvu 10

2.5. Razmnožavanje kapara 10

2.5.1. Generativno razmnožavanje kapara 11

2.5.2. Vegetativno razmnožavanje kapara 11

2.5.3. Mikropropagacija kapara 12

3. Fotosinteza i svjetlost 15

3.1. Puči 15

3.2. Kloroplast 16

3.3. Svjetla 17

3.3.1. Utjecaj svjetla na biljke 18

3.3.2. Usporedba tradicionalno korištenih flourescentnih svjetala sa novijom LED rasvjetom 18

3.3.3. Prednosti LED rasvjete 19

3.3.4. Nedostaci LED rasvjete 20

4. Materijali i metode istraživanja 21

4.1. Biljni materijal 21

4.2. Hranidbeni medij 21

4.3. Tretmani svjetlom 21

4.4. Analize fotografija korijenovog sustava 22

4.5. Određivanje gustoće puči 23

4.6. Mjerenje koncentracije klorofila 23

4.7. Sadnja u supstrat i aklimatizacija 23

4.8. Plan pokusa i statistička analiza podataka 24

5. Rezultati i rasprava 24

5.1. Rezultati analize fotografija korijenovog sustava 25

5.2. Rezultati određivanja gustoće puči 25
5.3. Rezultati mjerenja koncentracije klorofila 26
5.4. Uspješnost aklimatizacije 27
6. ZAKLJUČAK 29
7. Popis literature 30

Sažetak

Diplomskog rada studentice Kristine Bekavac, naslova

UTJECAJ RAZLIČITIH VRSTA SVJETLA NA KVALITETU MIKROPROPAGIRANIH KAPARA (*Capparis orientalis* Veill.)

Kapar (*Capparis orientalis* Veill.) je grmolika trajnica koja raste uglavnom u mediteranskim zemljama. Ima važnu ulogu u prehrambenoj industriji i postao je skupi i komercijalno vrijedan proizvod. Konvencionalna metoda razmnožavanja kapara putem sjemena nije poželjna uglavnom iz dva razloga: niskog postotka klijavosti zbog dormantnosti sjemena i stranooplodnje koja za posljedicu ima visoki stupanj heterozigotnosti sjemena. Za plantažni uzgoj potrebno je osigurati veliki broj sadnica za što se kao rješenje nameće mikropropagacija. Cilj ovog istraživanja bio je istražiti utjecaj tri različita izvora svjetla na zakorjenjivanje kapara *in vitro* te na uspješnost aklimatizacije mikropropagiranih kapara u *ex vitro* uvjetima. U pokusima su kao eksplantati korišteni uniformni izdanci mikropropagiranih kapara duljine 1-1,5 cm uzgajani na MS mediju s dodatkom 0,6 mg/l meta-topolina (mT). Korištena su tri izvora umjetnog osvjetljenja: fluorescentne cijevi; LED rasvjeta s omjerom crvenog i plavog spektra 70% : 30%; LED svjetlo širokog spektra: 35 % crvenog: 21% plavog: 39% zelenog: 6% daleko crvenog spektar. Rezultati provedenog istraživanja upućuju da je LED osvjetljenje širokog spektra pozitivno utjecalo na mjerene karakteristike korijena: dužinu korijena, površinu i volumen korijena kao i na gustoću puči i koncentraciju fotosintetskih pigmenata. Utvrđeno je da nema značajne razlike u postotku aklimatiziranih biljaka među tretmanima.

Ključne riječi: kapar, *Capparis orientalis* Veill.,mikropropagacija, fluorescentne cijevi, LED rasvjeta

Summary

Of the master's thesis - studentica **Kristina Bekavac,** entitled

EFFECT OF DIFFERENT TYPES OF LIGHT ON THE QUALITY OF MICROPROPAGATED CAPERS

Caper (*Capparis orientalis* Veill.) is perennial shrub that grows predominantly in the Mediterranean region. Capers play an important role in food production and have become highly valuable commercial product. Conventional method of caper reproduction by planting seeds is not desirable for two main reasons: low germination rate due to the dormancy of the seed and cross-pollination, which results in a high level of heterozygous seed. Cultivation of capers requires large quantity of seedlings and these quantities can be supplied by micropropagation. The aim of this study was to explore the influence of three sources of lights on rooting of capers in vitro and on success of acclimatization of micropropagated capers in *ex vitro* conditions. During experiments, uniformed sprouts of micropropagated capers of 1-1,5 cm in length have been used as explants and have been cultivated on an MS medium with addition of 0,6 mg/l meta-Topolin (mT). Three sources of artificial light have been used in experiments: fluorescent lamps; LED lights with red to blue ratio of 70% to 30%; LED broad spectrum light: 35 % of red: 21% of blue: 39% of green: 6% of far red light. The results of research indicate that LED broad spectrum light has a positive impact on the measured root characteristics: root length, surface and volume of roots as well as on density of stomata and concentration of photosynthetic pigments. The results also indicate that treatments do not result in significant differences in percentage of acclimatized plants.

Keywords: Caper, *Capparis orientalis* Veill., micropropagation, fluorescent tubes, LED lights

1. Uvod

Biljka kapar (*Capparis spinosa* L.*)* od davnih je dana poznata kao aromatična i ljekovita samonikla biljna vrsta koja pripada porodici Capparaceae (kaparovki). Aromatična svojstva kapara u upotrebi su u prehrambenoj industriji i u kulinarstvu kao začin (nezreli plodovi i neotvoreni cvjetni pupoljci). U mnogim zemljama cvjetni pupoljci, plodovi, korijen i sjemenke koriste se u narodnoj medicini kao anti-reumatska, tonička, iskašljavajuća, anti-spazmodična, diuretička i analgetska sredstva. Kapar je kserofit, biljka aridnih i semiaridnih zona.

Trenutno kapari prirodno rastu u Španjolskoj, Francuskoj, Maroku, Monaku, Italiji, Malti, Hrvatskoj, Makedoniji, Grčkoj, Tunisu, Alžiru, područjima Afrike, J. Azije, Himalaje, Tihog Oceana i nekim dijelovima Australije. Zbog nedavnog povećanja komercijalnog uzgoja nasada kapara, povećava se potreba za uniformnim materijalom kapara, a *in vitro* klonsko umnažanje je brza alternativna metoda *in vivo* razmnožavanju reznicama.

Svjetlost je uz temperaturu najvažniji vanjski čimbenik koji određuje uspješnost mikropropagacije, odnosno optimalan rast i razvoj biljaka u *in vitro* uvjetima. Najvažnije karakteristike svjetla su duljina osvjetljenja (fotoperiod), intenzitet (količina) osvjetljenja i kvaliteta osvjetljenja (spektar svjetla). Autotrofni organizmi mogu iz anorganskih tvari primljenih iz okoliša sintetizirati organske spojeve koristeći se svjetlosnom energijom (fotoautotrofi), a taj proces se naziva fotosinteza. Fotosinteza pokazuje snažnu ovisnost o kvaliteti i količini svjetlosti. Djelotvoran dio spektra za fotosintezu je u području crvene i plave svjetlosti. Najaktivnije fotosintetsko tkivo u viših biljaka je mezofil lista. Stanice mezofila imaju veliki broj kloroplasta (30 do više od 1000) koji sadrže klorofil. Svjetlost može u kloroplastu obaviti rad samo ako je apsorbirana. Od raznih klorofila pri fotosintezi najveće značenje ima klorofil *a*. Klorofil *a* je plavo zelene boje i maksimalno apsorbira svjetlost valnih duljina 430 i 662 nm, a klorofil b žutozelene boje i maksimalno apsorbira svjetlost valnih duljina 453 i 542 nm.

Puči omogućuju isparavanje kao i izmjenu plinova, a u turgescentnom listu postoji blizak odnos između otvorenosti puči i stope fotosinteze. Svjetlost u normalnim okolnostima uzrokuje otvaranje puči, a odlučujući čimbenik pri fotonastijskom gibanju puči je sniženje koncentracije ugljikova dioksida putem fotosinteze. Građa i veličina puči, njihova gustoća i raspored razlikuju se kod pojedinih biljnih vrsta.

Za kulturu tkiva i rast biljke se odavno koriste umjetni izvori svjetlosti, uključujući i flourescentne cijevi, visokotlačne natrijeve žarulje, metalhalogene svjetiljke, žarulje sa žarnom niti. Među njima su flourescentne cijevi najpopularnije za kulturu biljnog tkiva (Gupta i Jatothu, 2013). S druge strane, LED su izvor svjetlosti koji može osigurati fleksibilnost kontrole kompozicije spektra radi čega ih je moguće koristiti kao izvor fotosintetskog zračenja s mogućno-

šću odabira emisije valnih duljina koje najbolje odgovaraju apsorpcijskom vrhu odabranog fotoreceptora.

U ovom radu bit će prezentirana problematika utjecaja svjetala različitog spektra na zakorjenjivanje i uspješnost aklimatizacije sadnica kapara proizvedenih u *in vitro* uvjetima.

1.1. Ciljevi i hipoteze istraživanja

Cilj ovog istraživanja bio je:

Istražiti utjecaj tri različita izvora svjetla na:

(1) Zakorjenjivanje kapara *in vitro*

(2) Uspješnost aklimatizacije mikropropagiranih kapara u *ex vitro* uvjetima

Hipoteze:

(1) Tip osvjetljenja utječe na razvoj korijenovog sustava, sintezu fotosintetskih pigmenata i gustoću puči

(2) Mjerenjem karakteristika korijenovog sustava, sadržaja fotosintetskih pigmenata i gustoće puči može se procijeniti kvaliteta mikropropagiranih biljaka

2. Pregled literature

2.1. *Capparis orientalis* Veill.

Biljka kapar (*Capparis spinosa* L.*)* od davnih je dana poznata kao aromatična i ljekovita samonikla biljna vrsta koja raste uglavnom u mediteranskim zemljama. Znanstveni naziv roda *Capparis* dolazi od arapske riječi kabar ili kappar (Kovačević, 2005).

Sjeme kapara pronađeno je u staroegipatskoj civilizaciji unutar faraonove grobnice. Dio je mediteranske prehrane više od 5000 godina (Güleryüz i sur, 2009). Samostalno raste kao sastavni dio mediteranske makije i kao ruderalna korovna vrsta na starim kamenim kućama duž morskih obala i na otocima (Kovačević, 2005).

Rod *Capparis* pripada porodici *Capparaceae* (kaparovki), redu *Brassicacales* (krstašica) (Fici, 2001; Inocencio i sur, 2006). Uključuje oko 46 rodova. Prema Güleryüz i sur. (2009) broji oko 700 vrsta, a glavne kultivirane vrste su *Capparis spinosa* L. i *Capparis ovata* Desf. Vrste roda *Capparis* prisutne u mediteranskom dijelu Europe su *C. spinosa* L. s varijetetima *spinosa, inermis, parviflora i aegyptia te C. ovata Desf. var.sicula.*

Prema Kovačić i sur. (2008) najnovija taksonomska revizija roda kapare više ne prepoznaje vrstu *Capparis spinosa* u hrvatskoj flori, već ju dijeli u dvije odvojene vrste. Duž naše obale, i šire (Sredozemlje i sjeverna Afrika) rasprostranjena je istočnjačka kapara (*C. orientalis* Veill.), dok se južnije od Dubrovnika pojavljuju biljke koje pripadaju pukotinjarskoj kapari (*C. rupestris* Sm.) južnog Balkana.

2.2. Morfološke karakteristike kapara

Capparis orientalis Veill. je grmolika trajnica. Stabljika je najčešće u formi grma, razgranata, prilegnuta ili viseća i naraste do 1 metar dužine. Listovi su izmjenični, jednostavni, ovalni, cjelovitih rubova, tupog vrha, sjajni, goli i mesnati, nalaze se na kratkim peteljkama (Grlić, 1990). Cvjetovi su dvospolni, samostalni, u pazušcima vršnih listova na peteljkama 3-8 cm duljine, čine ih 4 lapa ružičasto-purpurne boje 2-3 cm duljine, te 4 vrlo nježne bijele latice sa ružičastim žilama. Imaju mnogo prašnika, filamenti su na vrhu ljubičasti. Cvate od travnja do rujna (Kovačević, 2005).



Slika 1. Cvijet i list kapara

(Izvor: http://www.maltawildplants.com/CAPP/Capparis_orientalis.php)

Cvjetni pupoljci su jestivi (kaparuni) koji se beru kada su još potpuno zatvoreni (Grlić, 1990). Pupovi su 8-15 mm veličine. Plod je monolokularna boba, jajolika, dužine 2-6 cm u početku zelena, a kasnije ružičasta, sadrži oko 200 sjemenki (Kovačević, 2005).



Slika 2. Plod kapara



Slika 3. Poprečno prerezani plod kapara s vidljivim sjemenkama

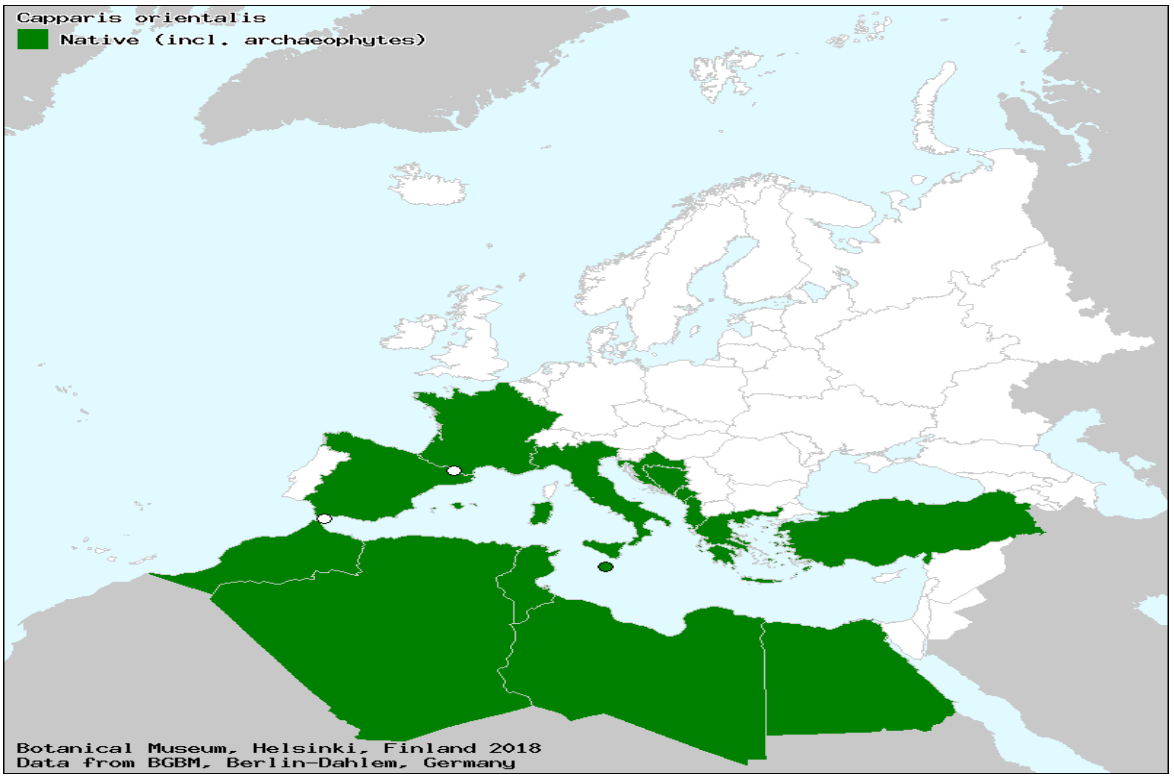
(Izvor: http://www.floraofqatar.com/capparis_spinosa.htm)

Korijenov sustav je djelomično odrvenio, karakteriziran mesnatim korijenjem koje prodire i do 10 m u tlo (Kovačević, 2005). Vrlo dubok korijenov sustav osigurava mu otpornost na sušu (Suleiman i sur, 2012).

2.3. Ekološki zahtjevi i biološke karakteristike

Kapar je kserofit, biljka aridnih i semiaridnih zona, karakteriziranih malom količinom i nepravilnom raspoređenosti oborina tijekom godine te visokim temperaturama u toplom razdoblju godine koje uz vjetrove pridonose nedostatku vode (Kovačević, 2005). Pogoduju joj područja s obiljem intenzivnog sunčevog svjetla te kalcificiran, siromašan i negostoljubiv teren (Güleryüz i sur, 2009). Osjetljivost na mraz u vegetacijskom periodu je velika, obično se uzgaja na malim visinama, iako su neke biljke pronađene i na preko 1000 m nadmorske visine (Barbera, 1991; Chalak et al, 2007). Grmovi kapara su ekonomski vrlo zanimljivi za uzgoj jer rastu na zaslanjenim tlima te se koriste za sprječavanje erozije (Suleiman i sur, 2012). Kapar voli lagana, rastresita do srednje teška tla bogata skeletom. Kapar bez problema raste i na hridima uz more i u zidovima kamenih građevina. Optimalan pH tla je od 7.5 do 8. Rezistentan je na posolicu i slana tla (Kovačević, 2005).

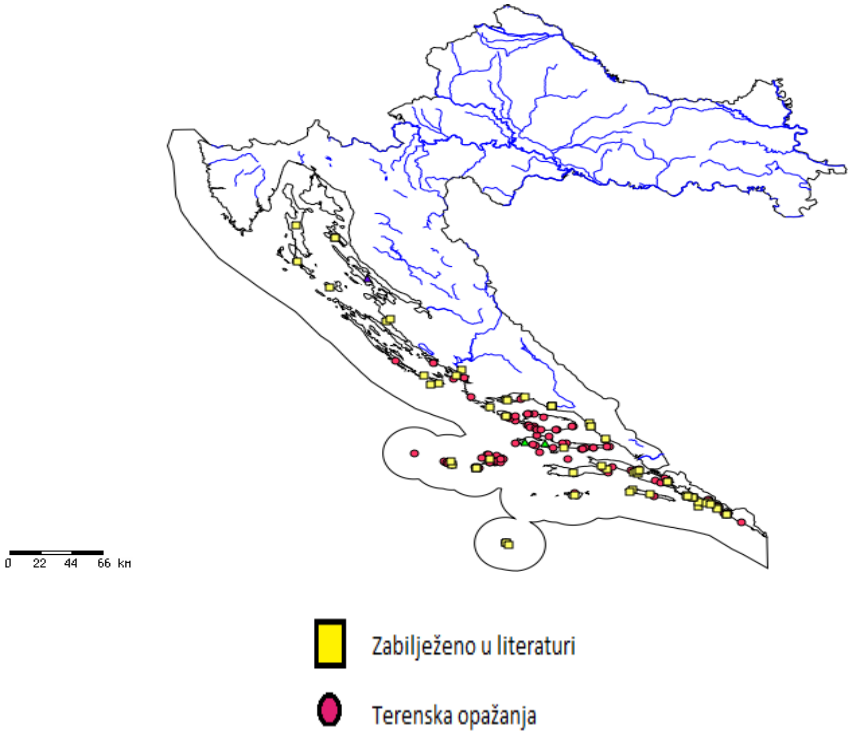
Trenutno kapari prirodno rastu u Španjolskoj, Francuskoj, Maroku, Monaku, Italiji, Malti, obalnim dijelovima Hrvatske, Makedonije, Albanije, Grčke, Tunisa, Alžira, Afrike, dijelovima J. Azije, Himalaje, Tihog Oceana i nekim dijelovima Australije. U ovim zemljama skupljaju se divlji kapari unutar njihovih prirodnih staništa. Najveći proizvođači kapara iz plantažnog uzgoja u Europi su Španjolska, Francuska i Italija. Kapari su također kultivirani u Dalmaciji (Güleryüz i sur, 2009).



Slika 4. Rasprostranjenost vrste *Capparis orientalis* u Europi i šire
(Izvor: http://www.maltawildplants.com/CAPP/Capparis_orientalis.php)

2.3.1. Rasprostranjenost kapara u Hrvatskoj

U Hrvatskoj kapar raste samoniklo uz Jadransku obalu, većinom po pukotinama stijena na kamenjarima, hridima, zaklonjenim mjestima, po zidinama, ruševinama i starim kućama te između kamenih stijena na otocima srednje i južne Dalmacije. Pojedinačni odrasli grmovi mogu se pronaći u Imotskom i u Zagrebu na zidovima okrenutima prema jugu (Grlić, 2005; Kovačević, 2005).



Slika 5. Rasprostranjenost vrste *Capparis orientalis* u Hrvatskoj
(Izvor: FCD - Flora Croatica Database, 2004)



6. Prikaz rasta vrste *Capparis orientalis* na kamenim stijenama otoka Hvara
(Foto: N. Pijanović)

2.4. Kemijski sastav i upotreba kapara

Biljka kapar poznata je po svojim ljekovitim svojstvima, te se kao takva koristi u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji te medicini. Aromatična svojstva kapara u upotrebi su u prehrambenoj industriji i u kulinarstvu kao začin (plodovi i neotvoreni cvjetni pupoljci). Sadnja na stjenovitim i strmim krajolicima u kombinaciji s drugim kulturama koristi se za sprječavanje erozije tla. Značajna je i ukrasna vrijednost kapara u vrtovima, okućnicama te vertikalnim vrtovima (Žutić, 2012).



Slika 7. Prikaz rasta kapara u okućnicama

(Izvor:https://www.dievole.it/en/blog/foraging-in-tuscany/)





Slika 8.i 9. Prikaz rasta kapara u vertikalnim vrtovima

Slika 8.
http://www.zemljani.com/forum/viewtopic.php?t=751&sid=4e4a754f25376e0d1a27f42e0bc2

Slika 9.
https://www.easytogrowbulbs.com/products/ca

Različiti biljni dijelovi uključujući plod i korijenje korišteni su kao tradicionalni biljni lijek od davnina zbog njegovih blagotvornih učinaka na ljudsko zdravlje (Zhang i Ma, 2018).
U mnogim zemljama cvjetni pupoljci, plodovi, korijen i sjemenke koriste se u narodnoj medicini kao anti-reumatska, tonička, iskašljavajuća, anti-spazmodična, diuretička i analgetska sredstva (Heibatullah i sur, 2018).
U Saudijskoj Arabiji suho voće i kapari pomiješani s vodom primjenjuju se za liječenje hipertenzije i dijabetesa (Allaith i Ameer , 2016). Stari Egipćani i Arapi konzumirali su korijenje za liječenje bolesti jetre i bubrega, Rimljani za liječenje paralize, Marokanci kod liječenja bolesti dijabetesa. U sjevernim dijelovima Pakistana korijen je korišten u liječenju splenomegalije, mentalnih poremećaja i tuberkuloze. U Kini u Ujgurskoj medicini kapare koriste se za liječenje reumatoidnog artritisa i gihta, U Iranu za liječenje hemeroida i gihta (Zhang i Ma, 2018).
Nutritivne komponente koje plodovi kapara sadrži u značajnim količinama uključuju: 5% ugljikohidrata, 3% dijetalnih vlakana, 2% proteina 0.9% lipida i vitamin C (4 mg/100 g svježe tvari). Sjemenke ploda kapara bogat su izvor nezasićenih lipida. Pulpa ploda je također bogata fenolnim spojevima (rutin i kvercetin). Kvercetin je flavonoid koji se nalazi u mnogim vrstama voća i povrća i jedan je od najaktivnijih antioksidanata zahvaljujući svojoj visokoj sposobnosti otklanjanja slobodnih radikala (Heibatullah i sur, 2018). Ovi fenoli zajedno s vitaminom C, tokoferolima i karotenoidima, odgovorni su za antioksidacijsku aktivnost biljnih preparata (Allaith i Ameer A, 2016).
Vrlo su dobri izvori glukozinolata, flavonoida, fenolne kiseline i alkaloida koji pridonose poboljšanju zdravlja zbog raznih bioloških aktivnosti (antioksidativni, antikancerogeni, antimikrobni i antimutageni). Osim toga listovi kapara se koriste za pripremu Liv-52 jednog od najpoznatijih biljnih pripravaka u svijetu za pomoć kod zaštite jetre. Koriste se za liječenje alkoholne bolesti jetre, virusnog hepatitisa i ciroze jetre.

2.4.1. Upotreba u kulinarstvu

Imaju oštar, pikantan okus, osebujan miris i slanost te se koriste uz prehrambene proizvode i u jelima kao što su tjestenina, umaci, pizza, riba, meso i salata. Značajno doprinosi lepezi klasičnih mediteranskih okusa koji uključuju masline, rukolu, inćune i artičoke (Alkire, 1998). Mladi izbojci i plodovi mogu se konzumirati kao povrće (Güleryüz i sur, 2009). Jestivi su cvjetni pupoljci koji se beru kada su još potpuno zatvoreni. Obično se konzerviraju u octu jer tek tada razviju karakterističan okus. Jestivi su i sirovi plodovi (kaparuni) koji se također mogu konzervirati (Grlić, 1990).
Mladi listovi također se mogu jesti kao povrće ili se konzerviraju u salamuri, octu i suhoj soli. Rjeđe se zreli i poluzreli plodovi jedu kuhani kao povrće. Pepeo od spaljenog korijena kapare koristi se kao izvor soli (Alkire, 1998).



Slika 10. Kapare u maslinovom ulju



Slika 11. Palace carpaccio

(foto: photography studio)

2.5. Razmnožavanje kapara

Kapar je moguće razmnožavati generativnim putem izravnom sjetvom sjemena odnosno presadnicama, vegetativnim putem stabljičnim reznicama, te *in vitro* metodom mikropropagacije (Žutić, 2017).

2.5.1. Generativno razmnožavanje kapara

Jedan gram ploda kapara sadrži do 200 sjemenki (Kovačević, 2005). Sjeme se dobiva trljanjem ploda, nakon čega slijedi pranje i sušenje u hladu. Konvencionalna metoda razmnožavanja kapara putem sjemena nije poželjna uglavnom iz dva razloga: niskog postotka klijavosti zbog mirovanja sjemena i stranooplodnje koja za posljedicu ima visoki stupanj heterozigotnosti sjemena (Mussalam i Duwayri, 2015). Klijanje sjemenki kapara smanjeno je zbog dugotrajne dormantnosti i niske dugovječnosti (Chedraoui i sur, 2017).

U prirodi se klijanje sjemena kapara odvija na mjestima čija je površina djelomično sterilizirana morskom solju i na karbonatnim podlogama. Tvrda opna sjemena otvara se sporo pa bi npr. u zemlji, gdje ima vlage i mnogo različitih bakterija i gljivica, klica sjemena bila uništena i prije nego što proklije (Kovačević, 2005). Održivost sjemena je oko 2 godine kada se čuva na 4° C i niskoj relativnoj vlažnosti. Proklijale sjemenke dobivaju se nakon 25-50 dana. Ova tradicionalna tehnika koja je vrlo ograničena niskom klijavošću korištena je u Argentini, Armeniji, Cipru, Indiji, Italiji, Španjolskoj i SAD-u. Teškoće u generativnom razmnožavanju uzrokovane su slabom klijavošću i tvrdom opnom sjemena; prema tome, čvrsta struktura sjemenke i sluz, koja se stvara u kontaktu s vodom, mogu ograničiti difuziju kisika u embrij. Naime, na brzinu i stopu klijanja utječe zrelost sjemena, položaj i težina ploda (Chedraoui i sur, 2017).

Različiti tretmani koriste se kako bi se prevladala dormantnost i poboljšala klijavost. Među njima se ističu skarifikacija (oštri pijesak, brusni papir, ultrazvuk, itd), hladno raslojavanje, namakanje u koncentriranoj sumpornoj kiselini (H_2SO_4), 0,2% KNO_3 , giberelini (GA_{4+7} i GA_3) i manipulacije okolišnim faktorima (svjetlo/tama, temperatura) (Chedraoui i sur, 2017). Prema Güleryüz i sur. (2009) giberelini povećavaju klijavost sjemena za više nego dvostruko. Spori razvoj kapara posljedica je nerazvijenog korijenovog sustava koji je pak posljedica nedostatka auksina (Swaminathaan i Srinivasan, 1996; Soyler i Khawar, 2007).

2.5.2. Vegetativno razmnožavanje kapara

Ovaj način razmnožavanja od posebne je važnosti za one kultivirane vrste koje u određenim uvjetima uzgoja ne stvaraju sjeme ili je sjeme loše kvalitete (Dubravec, 1996). Vegetativno razmnožavanje kapara omogućuje dobivanje brojnih jedinki iz ograničenog broja biljaka.

Korištenje reznica za razmnožavanje uz određene probleme ima i prednosti jer se time izbjegavaju velike varijabilnosti u smislu proizvodnje i stabilnosti osobina kvalitete. Reznice se mogu dobiti iz odrvenjelih segmenata, poluodrvenjelih ili zeljastih. Odrvenjele reznice variraju u duljini od 1 do 50 cm i od 1 do 2,5 cm u promjeru. Mogu se sakupljati u veljači i ožujku, tretirati fungicidima (npr. kaptan ili kaptafol), a zatim stratificirati na otvorenom ili na

3–4° C i na kraju prekriti pijeskom ili plastikom. Poluodrvenjele reznice mogu se sakupljati i saditi u kolovozu i rujnu, ali su uočene niske stope preživljavanja (ispod 30%). Zeljaste reznice imaju veći postotak ukorjenjivanja; sakupljaju se i pripremaju u travnju (period klijanja). Reznice su posađene uz primjenu sustava za zamagljivanje i grijanje za koje se smatra da ima pozitivan učinak na zakorjenjivanje, kao i uranjanje u otopinu auksina (1.500-3.000 mg/L). Na odrvenjele reznice nisu utjecali hormonalni tretmani, dok se 83% zeljastih reznica ukorijenilo kada su tretirane α-naftalen octenom kiselinom (NAA) (Chedraoui i sur, 2017).

Razmnožavanje cijepljenjem je manje prihvaćena metoda, međutim, provedena je u Španjolskoj s prihvatljivim rezultatima pomoću metode cijepljenja pod koru (60% primitka) i mogla bi ponuditi vrlo zanimljive perspektive za razvoj sorte kapara (Chedraoui i sur, 2017).

Osim male uspješnosti ukorijenjivanja reznica kapara (55%), pri konvencionalnoj metodi razmnožavanja kapara vegetativnim putem problemi se javljaju i u aklimatizaciji presadnica (Chedraoui i sur, 2017). Ovi problemi se mogu prevladati tehnikama kulture tkiva kako bi se olakšala obimnija proizvodnja kapara (Chalk i Elbitar, 2006). Unaprijedilo i ubrzalo umnožavanje kapara, te očuvala njihova vrijednost (Mussalam i Duwayri, 2015).

2.5.3. Mikropropagacija kapara

Mikropropagacija (mikrorazmnožavanje) je razmnožavanje određenog genotipa *in vitro* tehnikama uz očuvanje genetske stabilnosti (Kereša, 2017). Danas se mikrorazmnožavanju mnogih biljnih vrsta daje prednost u odnosu na klasično vegetativno razmnožavanje, i to zbog ovih činjenica:

a) Razmnožavanje *in vitro* mnogo je brže od razmnožavanja *in vivo*

b) Moguće je razmnožiti i one biljne vrste koje u uvjetima *in vivo* nije moguće

c) Mikropropagirane biljke često rastu bolje i snažnije od biljaka kloniranih *in vivo*

d) U kulturi *in vitro* razmnožavaju se samo zdrave biljke

e) Može se uštedjeti znatna sredstva koja se inače troše (za grijanje staklenika, prostora i dr.). Prostor potreban za podizanje i razmnožavanje matičnih biljaka znatno se smanjuje upotrebom kulture *in vitro*.

f) Zahvaljujući optimalnim uvjetima (hranidbena podloga i fizički faktori) omogućeno je precizno vremensko planiranje proizvodnje presadnica, čime se poništava sezonski utjecaj i omogućava proizvodnja kroz čitavu godinu (Jelaska, 1994).

Zbog nedavnog povećanja komercijalnog uzgoja nasada kapara, povećava se potreba za uniformnim materijalom kapara, a *in vitro* klonsko umnažanje je brza alternativna metoda *in vivo* razmnožavanju reznicama (Carra i sur, 2012).

Mikrorazmnožavanje iz postojećih meristema može se odvijati metodama kao što su aksilarno grananje na način da se potiče razvoj većeg broja izdanaka dodavanjem relativno visokih koncentracija citokinina u podlogu i kočenjem apikalne dominacije. Druga je metoda mikropropagacije pojedinačnim nodijskim segmentima koja se bazira na izduživanju pojedinačnog izdanka, nakon čega se pojedinačni nodijski segmenti režu i supkultiviraju te se ponovno potiče njihov rast u visinu. Mikropropagacija formiranjem meristema *de novo* može se odvijati formiranjem adventivnih pupova (organogeneza) ili somatskom embriogenezom (Jelaska, 1994). Za mikropropagaciju kapara koristi se metoda aksilarnog grananja. Vršni i/ili aksilarni pupovi najčešće su vrste eksplantata za započinjanje mikropropagacije. S relativno visokom koncentracijom citokinina inducira se rast aksilarnih pupova u pazušcima listova. Sastav medija odlučujući je za rast. Ako u podlozi ima svih ostalih potrebnih elemenata u optimalnoj količini, reakcija izrezana tkiva će najviše ovisiti o regulatorima rasta (auksinima i citokininima).

Uspješno *in vitro* umnažanje kapara postignuto je na Murashige i Skoog (MS) mediju obogaćenom s 0.8 mg/L BAP (6-benzilaminopurin), gdje je u prosjeku razvijeno 45,3 izdanaka po eksplantatu (Al-Mahmood i sur, 2011). Najveća dužina izbojaka (35.6 mm) dobivena je na mediju upotrebom 0.4 mg/L BAP i 0.2 mg/L NAA (1-naftalenoctena kiselina). Dodatkom 2 mg/L kinetina biljke su u prosjeku razvile 9,7 izdanaka po eksplantatu s prosječnom duljinom od 21.3 mm. *In vitro* zakorijenjivanje uspješno je ostvareno na MS mediju uz dodatak različitih koncentracija indolil-3-maslačne kiseline (IBA), indol octene kiseline (IAA) ili NAA. Međutim, do zakorijenjivanja u mediju nije došlo kod nedostatka navedenih regulatora rasta. Najduže izdanke (u prosjeku 41.9 mm) razvile su biljke na mediju s 2 mg/L IAA, bez nastanka kalusa.

Najveći broj korijenja (3,2 po izdanku) razvijen je na mediju s 1,5 mg/L NAA. Korijenje je postiglo najveću duljinu (6,25 mm) na mediju s IAA u koncentraciji od 2 mg/L, a na istom je mediju i najviše izdanaka razvilo korijenje (60%). Ukupan broj od 85% preživjelih biljaka postignut je aklimatizacijom zakorijenjenih eksplantata u supstratu perlita i treseta u omjeru 1:1 (Al-Mahmood i sur, 2011).

Chalak i Elbitar (2006) proveli su istraživanja *in vitro* propagacije C. *spinosa* upotrebom pojedinačnih nodijskih segmenata na MS mediju s dodatkom 1 mg/L zeatina. Segmenti s 2-3 nodija supkultivirani su svakih 6 tjedana na istom mediju. Sposobnost proliferacije očuvana je uspješno tijekom 9 supkultiviranja, nakon pete supkultivacije došlo je do naglog porasta u proliferaciji s početnih 3 izdanka rezultat je bio 20 novih izdanaka po nodijskom segmentu. Nakon 4-satnog tretiranja s IAA koncentacije 100 mg/L u mraku, postignut je visok postotak zakorijenjivanja od 92%. Ovi rezultati ukazuju na visoki potencijal C. *spinosa* za upotrebu u multiplikaciji.

Musallam i Duwayri (2015) su testirali MS medij, modificirani MS (1/2 MS) i WPM (woody plant medium) u mikropropagaciji C. *spinosa.* Utvrđeno je da je WPM najbolji medij za uspostavljanje kulture tkiva kapara. Najveći broj izdanaka dobiven je na WPM mediju

obogaćenom s 0.8 mg/L kinetina u kombinaciji sa 0.05 mg/L indolil-3-maslačne kiseline i 0.1 mg/L giberelinske kiseline. Utvrđen je i najveći postotak zakorijenjivanja (80%) u ½ MS mediju u kombinaciji sa 5 mg/L indolil-3-octene kiseline. Zakorijenjene biljčice uspješno su aklimatizirane sa 63% preživljavanja.

3. Fotosinteza i svjetlost

Autotrofni organizmi mogu iz anorganskih tvari primljenih iz okoliša sintetizirati organske spojeve koristeći se svjetlosnom energijom (fotoautotrofi). Fotoautotrofne biljke u procesu fotosinteze pretvaraju energiju Sunčeva zračenja u kemijsku energiju. Fotosintetski organizmi koriste Sunčevu energiju za sintezu organskih spojeva koji se bez te energije ne bi mogli sintetizirati. Energija pohranjena u tim molekulama koristi se u brojnim, životno važnim procesima koji se zbivaju u stanicama biljaka i služi kao izvor energije za sve oblike života.

Biljke posjeduju biljna bojila – pigmente, koji apsorbiraju svjetlosnu energiju i pretvaraju je u kemijsku energiju. Mogu se orijentirati kako bi se postavile u povoljan položaj u odnosu na svjetlost (Pevalek-Kozlina, 2003).

U području vidljive svjetlosti zbivaju se fotosinteza, fototropizmi (zakrivljenja uzrokovana svjetlošću), fototaksije (slobodna lokomotorna gibanja upravljana svjetlošću) i fotomorfogeneze (promjene oblika potaknute svjetlošću). To se područje spektra naziva fotobiološkim područjem (Pevalek-Kozlina, 2003).

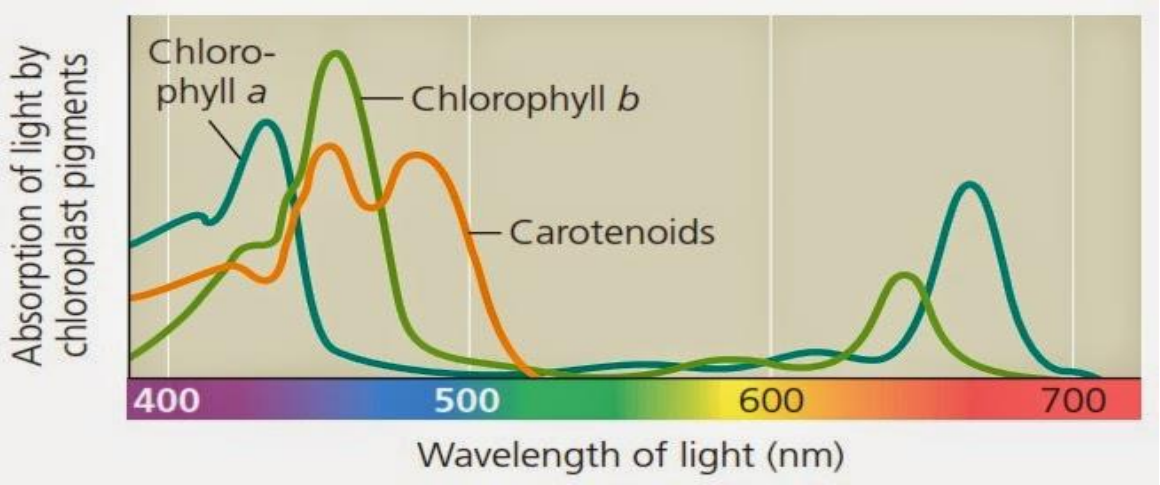
Fotosinteza pokazuje snažnu ovisnost o kvaliteti i količini svjetlosti. Povećanjem intenziteta osvjetljenja brzina fotosinteze se u početku linearno povećava, zatim se postupno smanjuje i konačno – kada se fotosintetski aparat zasiti svjetlošću – poprima konstantnu vrijednost. Kod određenog porasta intenziteta svjetlosti postiže se svjetlosno zasićenje i daljnji porast intenziteta svjetlosti više ne utječe na stopu fotosinteze. Pri još jačem osvjetljenju može se oštetiti fotosintetski aparat, uslijed čega intenzitet fotosinteze opada (Pevalek-Kozlina, 2003).

3.1. Puči

U turgescentnom listu postoji blizak odnos između otvorenosti puči i stope fotosinteze. Svjetlost u normalnim okolnostima uzrokuje otvaranje puči i to tako da putem povišenja potencijalnog osmotskog tlaka inducira relativno povišenje turgora stanica zapornica u odnosu na susjedne stanice. Djelotvorni spektri te fotonastije pokazuju da dolazi do sudjelovanja fotosinteze i dodatnog učinka modre svjetlosti. Osjetljivost puči na svjetlost je izuzetno velika, a odlučujući čimbenik pri fotonastijskom gibanju puči je sniženje koncentracije ugljikova dioksida putem fotosinteze. Puči, otvori koji se nalaze na epidermi lista omogućuju isparavanje kao i izmjenu plinova. Građa i veličina puči, njihova gustoća i raspored razlikuju se kod pojedinih biljnih vrsta. Razlikujemo epistomatski (isključivo se nalaze na gornjoj strani lista), hipostomatski (isključivo na donjoj strani lista) i amfistomatski (s obje strane lista) raspored puči (Pevalek-Kozlina, 2003). .

3.2. Kloroplast

Najaktivnije fotosintetsko tkivo u viših biljaka je mezofil lista. Stanice mezofila imaju veliki broj kloroplasta (30 do više od 1000) koji sadrže klorofil. Djelotvoran dio spektra za fotosintezu je u području crvene i plave svjetlosti, dok se središnji dio spektra, koji odgovara zelenoj svjetlosti, ne koristi za fotosintezu. To upućuje na zaključak da u fotosintezi sudjeluju zeleni pigmenti, klorofili, koji apsorbiraju plavu i crvenu svjetlost (Pevalek-Kozlina, 2003).



Slika 12. Apsorpcijski spektri klorofila a i klorofila b
(Izvor: https://www.edubio.info/2015/01/klorofil-reseptor-cahaya.html)

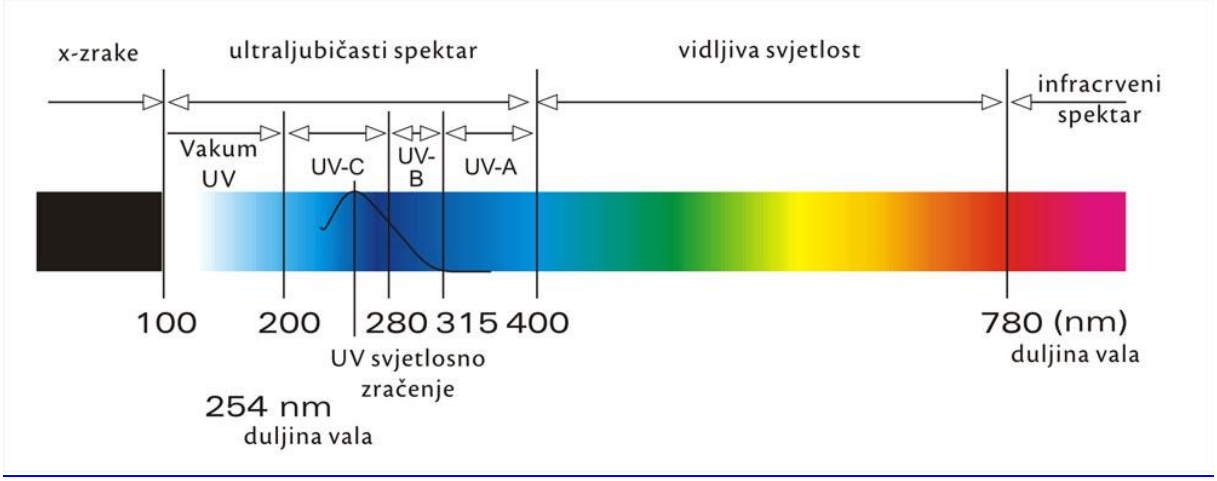
Svjetlost može u kloroplastu obaviti rad samo ako je apsorbirana. Od raznih klorofila pri fotosintezi najveće značenje ima klorofil *a*. Klorofil *a* je plavo zelene boje i maksimalno apsorbira svjetlost valnih duljina 430 i 662 nm, a klorofil b žutozelene boje i maksimalno apsorbira svjetlost valnih duljina 453 i 642 nm. Kako klorofil apsorbira u plavom i crvenom dijelu spektra, svjetlost koja se prenosi i svjetlost koja se reflektira, obogaćene su zelenim dijelom spektra i zato su biljke zelene boje. Djelotvoran (akcijski) spektar fotosinteze ne poklapa se u potpunosti s djelotvornim spektrom klorofila *a.* To je zbog toga što klorofil *a* nije jedini pigment u kloroplastima koji sudjeluje u fotosintezi, iako samo on može neposredno sudjelovati u svjetlosnim reakcijama koje Sunčevu energiju pretvaraju u kemijsku. No, i drugi pigmenti mogu apsorbirati svjetlost i prenositi energiju na klorofil *a*, koji se onda ponaša kao da je sam apsorbirao foton. Takvi pomoćni pigmenti su klorofil *b* i karotenoidi. Ostale molekule klorofila i karotenoidi služe kao antene za hvatanje svjetlosti. Oni apsorbiraju fotone i prevode energiju od molekule do molekule sve dok ne stigne u

reakcijsko središte. Čitav ovaj aparat – antenski kompleks s reakcijskim središtem klorofila *a* i primarnim akceptorom elektrona naziva se svjetlosnim sustavom ili fotosistemom (Pevalek-Kozlina, 2003).

3.3. Izvori svjetlosti

Svjetlost – elektromagnetsko zračenje koje je vidljivo ljudskom oku.

Sastoji se od energetskih čestica – fotona. Foton je kvant svjetlosti tj. najmanja količina energije koja se može emitirati određenom frekvencijom (Pevalek-Kozlina, 2003). Svjetlo je kvantitativno i kvalitativno vrlo varijabilni faktor. Vidljivi spektar svjetlosti (ili dio elektromagnetskog svjetla koji se može vidjeti) za biljke čini dio elektromagnetskog spektra od (380-760 nm) (Zeiger i Taiz, 2002).



Slika 13. Elektromagnetski spektar i PAR (fotosintetski aktivno svjetlo)
(Izvor: http://ljekarne-lipa.hr/stetno-djelovanje-uv-zracenja/)

Umjetno osvjetljenje baš kao i prirodno sunčevo zračenje treba omogućiti energiju nužnu za razvoj. Biljke ne apsorbiraju sve valne duljine vidljive svjetlosti. Zapravo vrlo su selektivne te apsorbiraju zračenje odgovarajućih valnih duljina. Najvažniji dio spektra svjetlosti za biljke su valne duljine između 400-700 nm. Ovaj dio spektra je poznat kao fotosintetsko aktivno zračenje (eng. Photosynthetically active radiation, PAR) (Zeiger i Taiz, 2002).

3.3.1. Utjecaj svjetla na biljke

Nekoliko vanjskih i unutarnjih faktora regulira rast i razvoj *in vitro* biljaka, a među njima najvažnije je svjetlo (Gupta i Jatothu, 2013). Kako bi se fotosinteza odvijala u uvjetima umjetnog osvjetljenja važno je osigurati 3 parametra svjetlosti: kvalitetu, količinu i trajanje.

Količina svjetlosti (intenzitet) je glavni parametar koji utječe na fotosintezu odnosno fotokemijske reakcije unutar kloroplasta biljne stanice (Nishio, 2000). Obično se u fazi inokuliranja eksplantata i razvitka izboja (početna faza) koristi niži intenzitet svjetla, 1000 luxa, a kasnije 3000 - 10000 luxa. Time biljku prisiljavamo na fotosintezu (Kereša, 2017). Kvaliteta svjetla odnosi se na spektralnu raspodjelu zračenja, valnu duljinu, odnosno boju emitiranog svjetla. Biljke reagiraju najjače na crvenu i plavu svjetlost u procesu fotosinteze. Kvaliteta svjetla, ali i trajanje osvjetljenja utječu na cvatnju, oblik i razvoj biljke (Nishio, 2000). Općenito, u prisustvu prirodnog svjetla, biljke proizvode više ugljikohidrata za upotrebu i skladištenje. Rast biljaka unutar zatvorenog prostora kao što su: komore za rast, laboratoriji, staklenici uzrokuje nedostatak svjetlosti (Pati, 2014). Većina ovih načina uzgoja nisu održivi sami za sebe i imaju nekoliko limitirajućih faktora od kojih je najvažniji adekvatno osvjetljenje (Darko i sur, 2004). Sustavi rasvjete za *in vitro* kulture bi trebali osigurati svjetla u području spektra koji je uključen u fotosintezu i fotomorfogenezu (Gupta i Jatothu, 2013).

3.3.2. Usporedba tradicionalno korištenih flourescentnih svjetala sa novijom LED rasvjetom

Za kulturu tkiva i rast biljke se odavno koriste umjetni izvori svjetlosti, uključujući i flourescentne lampe, visokotlačne natrijeve žarulje, metalhalogene žarulje, žarulje sa žarnom niti. Među njima su flourescentne cijevi najpopularnije za kulturu biljnog tkiva (Gupta i Jatothu, 2013).

Ova svjetla imaju široki raspon valnih duljina (350-750 nm) te su niske kvalitete za poticanje rasta biljaka. Osim toga, odlika flourescentnih cijevi je i visoka potrošnja električne energije s niskom učinkovitošću koja će u konačnici povećati troškove proizvodnje. Stoga postoji potreba za učinkovitim izvorima osvjetljenja, koja će poboljšati kvalitetu biljaka razvijenih u *in vitro* uvjetima, ali i smanjiti troškove proizvodnje biljaka. LED (Light emitting diode) rasvjeta predložena su kao potencijalni alternativni izvor svjetla za rast i razvoj biljaka u *in vitro* uvjetima i *ex vitro*, u staklenicima (Pati, 2014).

Budući da LED rasvjeta emitira svjetlost unutar željenog područja spektra, može se koristiti za reguliranje razine zračenja kod fotosintetske aktivnosti i fotomorfogeneze. Ova značajka omogućuje izvedbu LED rasvjete koje emitiraju svjetlost u područjima spektra koji su uključeni u razvoj biljaka te također osigurava neovisnu kontrolu svakog spektra i precizno

manipuliranje spektralnim karakteristikama i intenzitetom svjetlosti. LED rasvjeta se smatra jedinim izvorom svjetlosti koji može osigurati fleksibilnost kontrole sastava spektra. Ova značajka omogućava uporabu LED rasvjete kao izvora fotosintetskog zračenja s mogućnošću odabira emisije valnih duljina koje najbolje odgovaraju apsorpcijskom vrhu odabranog fotoreceptora.

Nadalje, specifičnost valne duljine LED rasvjete može se koristiti za proučavanje fizioloških osobina biljaka uzgojenih u zatvorenom sustavu proizvodnje. Navedeni izvori svjetla idealni su za korištenje kao rasvjeta za *in vivo* i *in vitro* kulture u biljnoj proizvodnji. Fleksibilnost odabira odgovarajućih valnih duljina LED rasvjete omogućava optimalnu proizvodnju utječući na morfologiju i metabolizam biljke. Uporabom LED izvora svjetlosti moguće je regulirati i kontrolirati fiziološki aspekt rasta biljke, kao što je fotosinteza i/ili fotomorfogeneza (proces razvoja biljaka ovisan o svjetlu). LED izvori svjetla mogu kontrolirati rast i razvoj biljnih stanica, tkiva i organa pokrećući fiziološke reakcije (Gupta i Jatothu, 2013).

Spektralni sastav svjetlosti utječe na različite procese kao što su otvaranje puči, intenzitet fotosinteze, porast broja i veličinu lista, veličinu stabljike, cvjetanje, težinu suhe i svježe tvari, indukciju kalusa, proliferaciju, razvoj i pretvorbu somatskih embrija, razvoj glavnog i bočnih korijenja, klijavost. Utječe također i na biokemijske parametre kao što su: povećanje sadržaja klorofila, topivih šećera, sadržaj karotenoida, škroba i slobodnih masnih kiselina, superoksida, dismutaza, katalaza, aktivnosti peroksidaze (Pati, 2014).

Prethodno spomenute studije pokrivaju cijeli spektar moguće uporabe LED rasvjete tijekom kultiviranja *in vitro*. U skoro svim slučajevima, za mikropropagaciju, LED osvjetljenje bilo je bolje u odnosu na energetski zahtjevniju flourescentnu rasvjetu. U prostorijama kulture tkiva LED rasvjeta može u potpunosti nadomjestiti dnevnu rasvjetu dobrom strategijom raspodjele osvjetljenja, a specijalnim optičkim karakteristikama LED rasvjete i zahvaljujući malim dimenzijama, može se povećati proizvodnja biljaka (Gupta i Jatothu, 2013).

3.3.3. Prednosti LED rasvjete

LED sustav zračenja ima nekoliko prednosti u odnosu na standardni sustav:

Niski utrošak energije LED rasvjete čini razmnožavanje biljaka u *in vivo* i *in vitro* uvjetima isplativije.

LED rasvjeta ima relativno dugi vijek trajanja kada se pravilno instalira. Tipični vijek trajanja iznosi 25,000-100,000 h, dok je vijek flourescentnih cijevi obično 10,000-15,000 h u idealnim uvjetima.

Odlikuje ih visoka učinkovitost. Većina energije se pretvara u zračenje u željenom obliku uz minimalnu proizvodnju topline. Za razliku od drugih sustava rasvjete učinkovitost LED ne ovisi o obliku i veličini žarulje ili cijevi.

Može emitirati svjetlost u određenoj boji bez korištenja filtera, kao što zahtijevaju tradicionalne metode. Mogu biti podešeni da proizvode spektre ili boje kako bi se postigle određene morfološke karakteristike biljaka. Tradicionalna svjetla emitiraju zelenu svjetlost što im smanjuje učinkovitost jer zeleno svjetlo biljci nije potrebno. Flourescentni izvori svjetlosti emitiraju svjetlo u rasponu od 400-700 nm valne duljine, dok monokromatska LED rasvjeta emitira svjetlo na specifičnim valnim duljinama.

Proizvodnja toplinske energije u diodama je relativno niska u usporedbi s flourescentnim cijevima. Kulture mogu biti postavljene u blizini izvora svjetlosti bez oštećenja ili svjetlosnog stresa, malih su dimenzija što ih također čini idealnima za upotrebu (Gupta i Jatothu, 2013).

3.3.4. Nedostaci LED rasvjete

Glavni nedostatak ovog izvora svjetlosti je cijena. Visoki početni trošak ulaganja amortizira se kroz uštedu električne energije, iako ovaj trošak postaje sve manji s brzim razvojem LED tehnologije (Gupta i Jatothu, 2013).

Još jedan od nedostataka je nemogućnost zamjene individualnog elementa u LED sustavu za razliku od tradicionalnih sustava gdje je moguće zamijeniti pojedinačnu žarulju. Ako jedna svjetleća dioda prestane raditi mora se zamijeniti cijeli element (Gupta i Jatothu, 2013).

4. Materijali i metode istraživanja

4.1. Biljni materijal

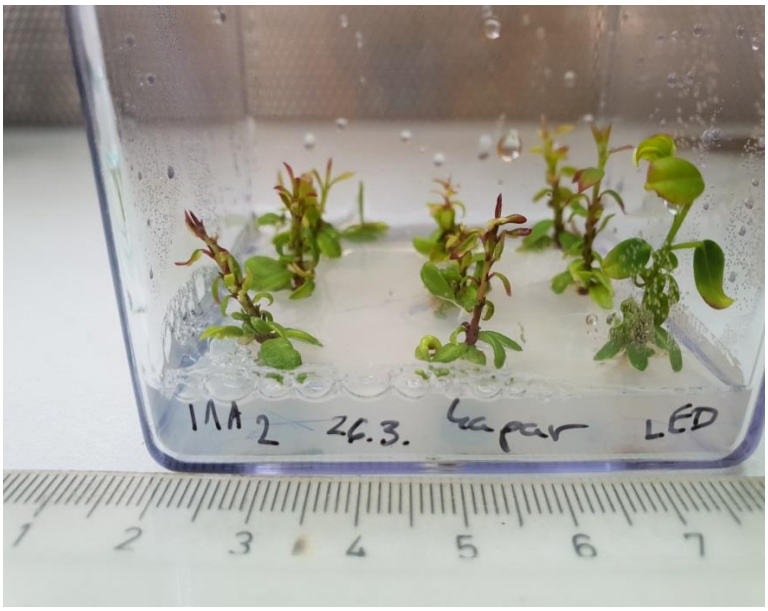
Kao biljni materijal korišteni su uniformni izdanci mikropropagiranih kapara uzgojeni u Biotehnološkom laboratoriju Zavoda za oplemenjivanje bilja, genetiku i biometriku Agronomskog fakulteta u Zagrebu. Izdanci su prije postavljanja ovog pokusa mikropropagirani na MS mediju (Murashige i Skoog, 1962) s dodatkom 0,6 mg/L meta-topolina (mT).

4.2. Hranidbeni medij

Mikropropagirani izdanci kapara duljine 1-1,5 cm postavljeni su na medij za ukorjenjivanje sljedećeg sastava: MS makro- i mikroelementi (Murashige i Skoog, 1962), MS vitamini, 0,1 g/L inozitola, 30 g/L saharoze i 2 mg/L indolil-3 octene kiseline (IAA). pH medija je prilagođen na 5.8. Nakon dodavanja 8 g/L Bacto agara (Difco), medij je steriliziran u autoklavu 25 min na 121°C i pri tlaku od 1 bara, nakon čega su izlijani u Magenta posudice također sterilizirane u autoklavu.

4.3. Tretmani svjetlom

Magenta posudice s eksplantatima smještene su u komoru rasta namijenjenu za rast kulture tkiva. Temperatura u komori bila je 23,5±1^{o}C i fotoperiod 16 sati dan/ 8 sati noć. Radi procjene utjecaja svjetla na uspješnost ukorjenjivanja i kvalitetu mikropropagiranih izdanaka kapara ispitana su tri izvora umjetnog osvjetljenja: fluorescentne cijevi Osram L 36W/77 FLUORA; LED rasvjeta proizvođača Philips, model GP LED DR/B 120 HB LO s omjerom crvenog i plavog svjetla u omjeru 70% : 30%; LED rasvjeta širokog spektra: 35% crvene: 21% plave: 39% zelene: 6% tamnocrvene valne duljine (Valoya NS12).
Sva tri izvora svjetla/tretmana davala su intenzitet svjetla 40 µE $m^{-2}s^{-1}$.
Na svaki tretman svjetlom postavljeno je 8 Magenta posuda, sa 9 izdanaka u svakoj; ukupno, 72 biljke po tretmanu. Nakon 70 dana, procijenjen je udio zakorjenjenih biljaka.



Slika 14. Magenta posuda s eksplantatima

Snimila: A. Bošnjak Mihovilović



Slika 15. Zakorijenjeni izdanci u Magenta posudici

Snimila: A. Bošnjak Mihovilović

4.4. Analize fotografija korjenovog sustava

Sa svakog tretmana su sve zakorijenjene biljke fotografirane te su fotografije korijenovih sustava analizirane pomoću WinRhizo® softvera (WinRhizo 2015 Pro., Regent Instruments Canada Inc.). Pri tom su analizirane sljedeće morfološke karakteristike korijena: promjer, ukupna duljina, ukupna površina i ukupni volumen.

4.5. Određivanje gustoće puči

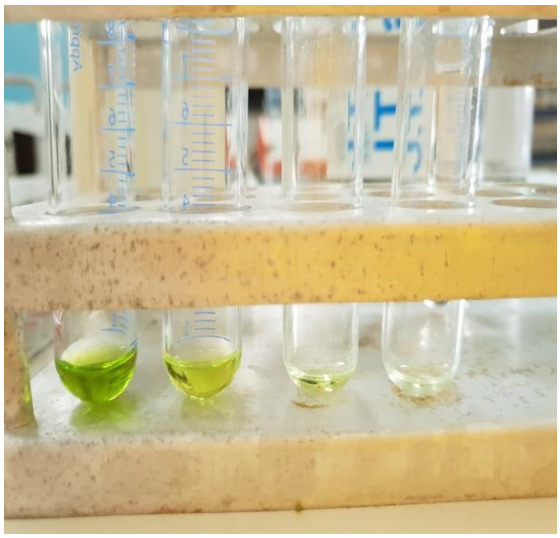
Sa svakog tretmana je uzorak od 6 biljaka poslužio za određivanje gustoće puči (broj puči po mm^2 površine lista).

4.6. Mjerenje koncentracije klorofila

Prije sadnje i aklimatizacije zakorjenjenih izdanaka kapara, po tri izdanka sa svakog tretmana korišteno je za pripremu uzoraka za analizu klorofila. Odvagnuto je po 200 mg lisnog tkiva koji su uz postupno dodavanje male količine natrijevog karbonata i 4,5 ml 80% acetona gnječeni u tarioniku. Nakon što je dobivena jednolična smjesa, do obezbojenja je miješano na magnetnoj mješalici. Ovakvi uzorci su centrifugrani do odvajanja taloga, a tekuća faza odpipetirana je u kivete zbog spektrofotometrijske analize na 470, 645 i 663 nm po metodi Inskeep i Bloom (1985). Dobiveni rezultati preračunati su u mg/g svježe tvari.



Slika 16. Lisno tkivo kapara u tarioniku



Slika 17. Uzorci za spektofotometrijsku analizu

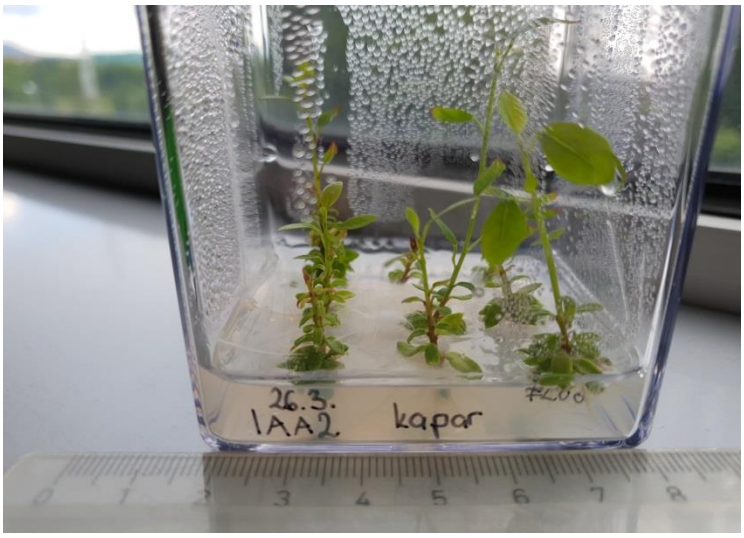
Snimila: A. Bošnjak Mihovilović

4.7. Sadnja u supstrat i aklimatizacija

Prije sadnje s korijenja je opran medij za zakorjenjivanje. Biljke su nakon toga posađene u smjesu komposta (2/3) i perlita (1/3), prekrivene plastičnom prozirnom folijom te aklimatizirane u komori rasta na 20 °C, fotoperiodu 16 sati dan/8 sati noć i intenzitetu svjetla od 40 µE $m^{-2}s^{-1}$. Uspješnost aklimatizacije procijenjena je 60 dana nakon sadnje.

4.8. Plan pokusa i statistička analiza podataka

Radi utvrđivanja utjecaja svjetla na uspješnost ukorijenjivanja, na svaki tretman svjetlom postavljeno je 8 Magenta posuda, s 9 izdanaka u svakoj; ukupno, 72 biljke po tretmanu. Nakon 70 dana, procijenjen je udio zakorjenjenih biljka. Sve zakorijenjene biljke su fotografirane te su fotografije korijenovih sustava analizirane pomoću WinRhizo® softvera. Za određivanje gustoće puči korišteno je 6 zakorjenjenih izdanaka sa svakog tretmana svjetlom, dok je po tri izdanka sa svakog tretmana korišteno za pripremu uzoraka za analizu klorofila. Podaci jednofaktorijelnih pokusa podvrgnuti su jednosmjernoj analizi varijance (ANOVA).
Radi testiranja uspješnosti aklimatizacije biljaka s obzirom na tretmane svjetlom, proveden je χ^2-test u excelu.



Slika 18. Izdanci razvijeni na tretmanu MS FLUO

Snimila: A. Bošnjak Mihovilović



Slika 19. Izdanci na tretmanu MS LED

Snimila: A. Bošnjak Mihovilović

5. Rezultati i rasprava

5.1. Rezultati analize fotografija korijenovog sustava

Prema rezultatima ovog istraživanja, vidljiva je značajna ovisnost razvoja korijena i vrste osvjetljenja. U tablici 1. prikazane su prosječne vrijednosti analiziranih svojstava korijena ovisno o tipu svjetla. Najveća vrijednost dužine korijena, površine i volumena korijena dobivena je pod LED svjetlima širokog spektra dok je promjer korijena bio najveći pod flourescentnim svjetlom. Za sve karakteristike korijena, najniže vrijednosti su izmjerene na izdancima zakorijenjenim pod LED svjetlom s 70 : 30 omjerom crvenog i plavog svjetla.

Tablica 1. Prosječne vrijednosti analiziranih svojstava mikropropagacije ovisno o različitim vrstama svjetla

	Fluo	**LED 70 : 30**	**LED-široki spektar**
dužina korijena (cm)	14,849 AB	8,316 B	17,658 A
Površina (cm^2)	2,805 A	1,197 B	3,15 A
promjer (mm)	0,765 A	0,523 B	0,604 B
volumen (cm^3)	0,048 A	0,014 B	0,048 A
% zakorijenjenih biljaka	80,56	83,33	58,73

5.2. Rezultati određivanja gustoće puči

Gustoća puči utvrđena u ovom istraživanju bila je pod signifikantnim utjecajem tretmana svjetlom. Pod oba tipa LED osvjetljenja gustoća puči i na gornjoj i na donjoj strani lista bila je značajno veća nego pod flourescentnim cijevima. Pri tom je najveća gustoća puči utvrđena pod LED svjetlom širokog spektra.

Tablica 2. Prosječne vrijednosti gustoće puči dobivene ovisno o različitim vrstama svjetla

	Fluo	LED 70 : 30	LED široki spektar
Gornja epiderma Broj puči/mm^2	188,6 B	291,8 A	361,9 A
Donja epiderma Broj puči/mm^2	216,6 B	277,3 A	426,4 A

U drugim je istraživanjima, također dokazana značajna razlika u broju puči s obzirom na različite tipove osvjetljenja. Poudel i sur. (2008) su testirali različite genotipove vinove loze pod flourescentnim cijevima te plavim i crvenim LED osvjetljenjem u mikropropagaciji. Prema ovom istraživanju, broj puči bio je najveći pod plavim LED osvjetljenjem kod svih testiranih genotipova. Na krizantemama je veći broj puči uočen kod uzgoja pod kombinacijom daleko crvenog i plavog LED svjetla (Kim et al. 2004), dok je najveći broj puči kod nevena i kadulje primjećen pod flourescentnim cijevima uz dodatak LED osvjetljenja tamnocrvene valne duljine te pod flourescentnim cijevima uz dodatak LED osvjetljenja crvenog svjetla (Heo et al. 2002). Vieira i sur. (2015) su na izdancima banana uočili veći broj puči pod LED osvjetljenjem daleko crvene/bijele svjetlosti te LED osvjetljenjem bijele svjetlosti u odnosu na kontrolno osvjetljenje flourescentnim cijevima.

Puči omogućavaju biljci da se prilagodi promjenama u okolišu kontrolom otvorenosti pora. Zbog ovih su osobina puči izuzetno važne u aklimatizaciji i preživljavanju sadnica nakon prenošenja iz *in vitro* uvjeta kada je regulacija vode u biljci izuzetno bitna da bi se izbjegla dehidracija. Tip osvjetljenja utječe na formiranje i aktivnost puči (Kim i sur, 2004). Povećani broj puči može osigurati biljci bolju adaptabilnost u aklimatizaciji, ali može biti i negativna karakteristika koja će uzrokovati veći gubitak vode (Vieira i sur, 2015).

5.3. Rezultati mjerenja koncentracije klorofila

U tablici 3. prikazani su rezultati mjerenja sadržaja klorofila u mezofilu lista kapara ovisno o vrsti svjetla. Najveće vrijednosti karotenoida, klorofila *a*, klorofila *b* te ukupnog klorofila su izmjerene pod LED rasvjetom širokog spektra. Najmanje vrijednosti ovih parametara utvrđene su pod LED osvjetljenjem s omjerom crvenog i plavog svjetla 70 : 30. Omjer klorofila *a*/*b* je bio najveći pod LED rasvjetom s omjerom crvenog i plavog svjetla 70% : 30%.
Na izdancima banane uzgojenim u *in vitro* uvjetima, uočeno je da LED osvjetljenje daleko crvenim/bijelim svjetlom i LED osvjetljenje bijelim svjetlom značajno utječu na povećanje koncentracije klorofila *a*, klorofila *b* i ukupnog klorofila u odnosu na osvjetljenje flourescentnim cijevima (Vieira i sur. 2015). Li i sur. (2010) su izvjestili o povećanju koncentracije kloro-

fila kod izdanaka pamuka pod utjecajem LED rasvjete plavog svjetla. Važnost plavog svjetla za povećanje sadržaja fotosintetskih pigmenata kod krizantema naglašava Kurilčik i sur. (2008). S druge strane kod *in vitro* uzgojene orhideje *Doritaenopsis*, najveća količina fotosintetskih pigmenata je izmjerena kod LED rasvjete crvenim/plavim svjetlom dok je kod LED osvjetljenja crvenim svjetlom značajno smanjena koncentracija klorofila. Jednako tako, ukupan sadržaj klorofila kod *in vitro* izdanaka vinove loze bio je najveći pod plavom LED svjetlošću, a najmanji pod LED rasvjetom crvenim svjetlom.

Iz rezultata ovog istraživanja te u skladu su s navedenim rezultatima drugih autora, možemo zaključiti da je na koncentraciju fotosintetskih pigmenata presudnu ulogu imao negativan utjecaj udjela crvene svjetlosti. Naime najveća koncentracija fotosintetskih pigmenata izmjerena je kod LED osvjetljenja u kojem je crveni spektar zastupljen s 35%, a plavi s 21%; dok je najmanja koncentracija fotosintetskih pigmenata izmjerena kod LED osvjetljenja crvenog/plavog spektra s omjerom 70 : 30.

Tablica 3. Sadržaj klorofila u mezofilu lista kapara ovisno o vrsti svjetla

	Fluo	**LED 70 : 30**	**LED-široki spektar**
Karotenoidi mg/g svježe tvari	6,58AB	4,91B	8,25A
klorofil a mg/g svježe tvari	0,0171AB	0,011B	0,0196A
klorofil b mg/g svježe tvari	0,1628AB	0,0816B	0,1778A
klorofil a/b mg/g svježe tvari	0,10917B	0,13583A	0,111274B
klorofil ukupni mg/g svježe tvari	0,17998AB	0,09269B	0,19752A

5.4. Uspješnost aklimatizacije

Za ispitivanje postotka aklimatiziranih biljaka korišten je Hi-kvadrat test. U tablici 4. prikazan je broj posađenih biljaka te broj i postotak aklimatiziranih biljaka obzirom na vrstu svjetla.

Tablica 4. Postotak aklimatizacije kapara nakon tretmana različitim vrstama svjetla

	Fluo	LED 70 : 30	LED-široki spektar
broj posađenih biljaka	49	51	28
broj aklimatiziranih biljaka	34	33	19
% aklimatizacije	69,39	64,7	67,8

Na temelju dobivenih rezultata Hi-kvadrat testa utvrđeno je da nema značajne razlike u postotku aklimatiziranih biljaka među tretmanima. Ostvareni uspjeh aklimatizacije veći je od objavljenog u istraživanju Musallam i Duwayri (2015), gdje je bio 63%.

Ukupno gledajući, rezultati provedenog istraživanja upućuju da je LED osvjetljenje širokog spektra pozitivno utjecalo na razinu fotosintetskih pigmenata kao i na karakteristike korijena: dužinu korijena, površinu i volumen korijena.

Istovremeno, za navedene karakteristike, najniže vrijednosti su izmjerene pod LED osvjetljenjem s omjerom crvenog i plavog spektra 70 : 30.

Jednako tako, gustoća puči je bila najveća pod LED osvjetljenjem širokog spektra, ali se nije značajno razlikovala od gustoće puči pod LED osvjetljenjem s omjerom crvenog i plavog spektra 70 : 30.

U fazi aklimatizacije nije bilo statistički značajne razlike među tretmanima pa bez obzira na mjerene karakteristike i uočene razlike ne možemo niti jedan od tri promatrana tretmana proglasiti superiornim u pogledu kvalitete proizvedenih biljaka.

6. Zaključak

Na temelju provedenih istraživanja zakorjenjivanja mikropropagiranih kapara na MS mediju

pod različitim uvjetima osvjetljenja doneseni su slijedeći zaključci:

Vidljiva je značajna ovisnost razvoja korijena i vrste osvjetljenja.

Najveća vrijednost dužine korijena, površine i volumena korijena dobivena je pod LED rasvjetom širokog spektra dok je promjer korijena bio najveći pod flourescentnim svjetlom. Za sve karakteristike korijena, najniže vrijednosti su izmjerene na izdancima zakorjenjenim pod LED svjetlom s 70 : 30 omjerom crvenog i plavog spektra.

Gustoća puči utvrđena u ovom istraživanju bila je pod signifikantnim utjecajem tretmana svjetlom. Najveća gustoća puči utvrđena je pod LED svjetlom širokog spektra, a najmanja pod flourescentnim svjetlom.

Najveće vrijednosti karotenoida, klorofila a, klorofila b te ukupnog klorofila su izmjerene pod LED svjetlom širokog spektra. Najmanje vrijednosti ovih parametara utvrđene su pod LED osvjetljenjem s omjerom crvenog i plavog spektra 70 : 30. Omjer klorofila a/b je bio najveći pod LED svjetlom s omjerom crvenog i plavog spektra 70% : 30%.

Ukupno gledajući, rezultati provedenog istraživanja upućuju da je LED osvjetljenje širokog spektra pozitivno utjecalo na razinu fotosintetskih pigmenata, gustoću puči, kao i na karakteristike korijena: dužinu korijena, površinu i volumen korijena. Istovremeno, za navedene karakteristike, najniže vrijednosti su izmjerene pod LED osvjetljenjem s omjerom crvenog i plavog spektra 70 : 30.

U fazi aklimatizacije nije bilo statistički značajne razlike među tretmanima pa bez obzira na mjerene karakteristike i uočene razlike ne možemo niti jedan od tri promatrana tretmana proglasiti superiornim u pogledu kvalitete proizvedenih biljaka.

7. Popis literature

1. Allaith Abdul Ameer A. (2016). Assessment of the antioxidant properties of the caper fruit (Capparis spinosa L.) from Bahrain Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences

2. Al-Mahmood H. J., Shatnawi M. A., Shibli R. A., Makhadmeh I. M., Abubaker S. M., Shadiadeh A. N. (2012). Clonal propagation and medium-term conservation of Capparis spinosa: A medical plant. Journal of Medicinal Plants Research 6(22): 3826-3836

3. Carra A., Del Signore M. B., Sottile F., Ricci A., Carimi F. (2012). Potential use of new diphenylurea derivatives in micropropagation of Capparis spinosa L. Plant Growth Regulation 66: 229–237

4. Chalk L. ; Elbitar A. (2006). Micropropagation of Capparis spinosa L. subsp. rupestris Sibith & Sm. by nodal cuttings. Indian Journal of Biotechnology 5: 555-558

5. Chedraoui S., Abi-Rizk A., El-Beyrouthy M., Chalak L., Ouaini N., Rajjou L. (2017). Capparis spinosa L. in A Systematic Review: A Xerophilous Species of Multi Values and Promising Potentialities for Agrosystems under the Threat of Global Warming

6. Do Nascimento Vieira, L., de Freitas Fraga, H.P., dos Anjos, K.G. et al. (2015) Light-emitting diodes (LED) increase the stomata formation and chlorophyll content in Musa acuminata (AAA) 'Nanicão Corupá' in vitro plantlets. Theoretical and Experimental Plant Physiology 27: 91

7. Dubravec KD. (1996). Botanika. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb (Žutić, 2017)

8. Grlić Lj. (1990) Enciklopedija samoniklog jestivog bilja, Zagreb

9. Grlić Lj. (2005). Enciklopedija samoniklog jestivog bilja. Ex libris, Zagreb

10. Güleryüz M., Özkan G., Ercisli S. (2009). Caper (Capparis spp.). Growing Techniques and Economical Importance. 1st International Syposium on Sustainable Development, Sarajevo

11. Gupta S., Jatothu B. (2013). Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in in vitro plant growth and morphogenesis plant growth and morphogenesis. Plant Biotechnol Rep, 7:211–220

12. Heo J., Lee C., Chakrabarty D., Paek K. (2002) Growth responses of marigold and salvia bedding plants as affected by monochromic or mixture radiation provided by a light emitting diode (LED). Plant Growth Regul 38:225–230

13. Kalantari., Heibatullah ; Foruozandeh., Hossein ; Khodayar., Mohammad Javad ; Siahpoosh., Amir ; Saki., Najmaldin ; Kheradmand., Parvin (2018). Original Article: Antioxidant and hepatoprotective effects of Capparis spinosa L. fractions and Quercetin on tert-butyl hydroperoxide- induced acute liver damage in mice. Journal of Traditional and Complementary Medicine

14. Kereša S. (2011). Biljna biotehnologija -interna skripta, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

15. Kim SJ., Hahn EJ., Heo JW., Paek KY (2004) Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets in vitro. Sci Hortic 101:143–151

16. Kovačević R. (2005). Kapar. Kapari d.o.o., Split

17. Kovačić S., Nikolić T., Ruščić M., Milović M, Stamenković V., Mihelj D., Jasprica N., Bogdanović S., Topić J. (2008). Flora jadranske obale i otoka. Školska knjiga, Zagreb

18. Kurilčik A., Miklušyte-Čanova R., Dapkūniene S., Žilinskaite S., Kurilčik G., Tamulaitis PD., Žukauskas A. (2008) In vitro culture of Chrysanthemum plantlets using light-emitting diodes. Cent Eur J Biol 3:161–167

19. Li H., Xu Z., Tang C. (2010). Effect of light-emitting diodes on growth and morphogenesis of upland cotton (Gossypium hirsutum L.) plantlets in vitro. Plant Cell, Tissue Organ Cult 103:155–163

20. Muharrem Güleryüz., Gürsel Özkan., Sezai Ercisli (June 9-10 2009). 1st International Syposium on Sustainable Development, Sarajevo 94. Caper (Capparis spp.) Growing Techniques and Economical Importance

21. Murashige T., Skoog F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. Physiologia Plantarum. 15:473-497

22. Musallam I., Duwayri M., Shibli R. A. (2011). Micropropagation of Caper (Capparis spinosa L.) from Wild Plants. Functional plant science and Biotechnology 5(1): 17-21

23. Pati R., (2014). Use of LED lights in Plant Tissue Culture and Greenhouse Industry

24. Pevalek-Kozlina B. (2003). Fiziologija bilja. Profil International, Zagreb

25. Poudel PR., Tamura H., Kataoka I., Mochioka R. (2008). Phenolic compounds and antioxidant activities of skins and seeds of five wild grapes and two hybrids native to Japan. J Food Compost Anal 21:622–625

26. Shin KS., Murthy HN., Heo JW., Hahn EJ., Paek KY. (2008). The effect of light quality on the growth and development of in vitro cultured Doritaenopsis plants. Acta Physiol Plant 30:339–343

27. Soyler D. ; Mahmood Khawar K. (2007). Seed Germination of Caper (Capparis ovata var. Herbacea) Using α Naphthalene Acetic Acid and Gibberellic Acid. International journal of agriculture & biology 1560–8530//09–1–35–37

28. Suleiman K. M., Bhat N. R., Jacob S., Thomas R.R. (2012). Effect of Rooting Hormones (IBA and NAA) on Rooting of Semi Hardwood Cuttings of Capparis spinosa. Journal of Agriculture and Biodiversity Research (Issue 7) 135-139

29. Swaminathaan C. ; M. Srinivasan, 1996. Seedling investigation throughplant growth substances in teak (Tectona grandis) J. Trop. For. Sci.,8: 310–6

30. Taiz L. ; Zeiger E. (2002). Plant Physiology, 3rd edition. Sunderland (Massachusetts)

31. Zhang H. ; Feei Ma Z. (2018). Phytochemical and Pharmacological Properties of Capparis spinosa as a Medicinal Plant Nutrients, Vol 10, Iss 2, p 116

Izvor s web-stranica:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423810004784?via%3Dihub