

UNIVERSITETET FOR MILJØ- OG BIOVITENSKAP



Sammendrag

Produksjon av salat i veksthus er avhengig av tilleggsbelysning i perioder hvor den naturlige innstrålingen er lav (oktober-mars). De siste tiårene har HPS teknologi vært dominerende og benyttet som tilleggsbelysning i veksthus vinterstid. I de siste årene har imidlertid LED belysning kommet på banen fordi teknologien har blitt bedre og lampene billigere. LED belysning består av dioder som avgir monokromatisk lys. Det er i teorien mulig å skreddersy lyskilder etter de bølgelengdene som er mest effektive til å drive fotosyntese. I tillegg er det mulig å tilpasse lyset etter ulike fotomorfologiske responser som for eksempel syntese av ulike fytokjemikalier. Lav naturlig innstråling fører til lav lysintensitet og den tradisjonelle HPS lampen inneholder lite blått lys (ca. 5%) sammenlignet med naturlig sollys (ca. 16%). Det har vært rapportert om dårlig rødfarging av rødbladede salat om vinteren i Norge noe som sannsynligvis skyldes lite blått lys og/eller UV-stråling. Anthocyaninsyntese påvirkes av blått og UV stråling og gir rødfarget salat riktig farge. I tillegg er økt innhold av fytokjemikalier ønsket av forbrukerne på grunn av deres påståtte helsemessige egenskaper i menneskelig ernæring.

Denne oppgaven består av flere forsøk hvor jeg har undersøkt effekten av LED med ulik lyskvalitet og UV-B tilleggsstråling på vekst og fytokjemisk innhold i ulike kultivarer av salat. Flere forsøk med ulik andel av naturlig innstråling og ulik eksponeringstid ble gjennomført. Det ble også gjort et forsøk i vekstkammer med UV-B stråling med og uten mørkerødt lys i slutten av dagen, for å evaluere i hvilken grad fytokromstatus påvirker fytokjemisk innhold. Til slutt ble det gjort et kjølelagringsforsøk for å evaluere i hvilken grad fytokjemisk innhold påvirker lagringsegenskapene til salat.

Funnene i disse undersøkelsene viser at det var mulig å oppnå 2-3 ganger høyere fytokjemisk innhold (avhengig av kultivar) ved å eksponere salaten for høyere andel av blått lys eller UV-B, sammenlignet med standard HPS-behandling. Det viste seg at effekten av økt andel blått lys var avhengig av intensiteten til den naturlige innstrålingen. Dette tyder på at rødbladede salat styrer det fytokjemiske innholdet etter relativ andel blått lys. De grønne kultivarene økte fytokjemisk innhold med økt lysintensitet.

Økt fytokjemisk syntese ser ut til å påvirke plantebiomasseproduksjonen negativt, derfor ble det også gjort pre-harvest forsøk med kortere eksponeringstid på salgsklar salat. I dette forsøket var ikke økningen i fytokjemisk innhold særlig påvirket fordi det naturlige lyset

var høyt og reduserte effekten av tilpasset lyskvalitet. Dette betyr at en spesialtilpasset tilleggsbelysning kun er aktuell i de månedene midtvinters med lavest naturlig innstråling.

En sammenligning av fenol-innhold i denne undersøkelsen med andre undersøkelser viste at HPS behandlingene inneholdt lite fenoler. LED lys med 20 % blått og 80 % rødt lys økte fenolinnholdet i desember til det samme nivået som salat dyrket midtsommers på friland. Det betyr at det er, med riktig lyskvalitet, mulig å produsere salat med høyt fenolinnhold året rundt.

Multiplex er et nytt instrument for ikke-destruktiv fytokjemisk måling. Denne metoden ble sammenlignet med standard kjemiske destruktive metoder. Multiplex viste seg å fungere utmerket til dette formålet, og det var god sammenheng mellom flavonoidinnhold målt med Multiplex og fenolinhold målt med kjemiske metoder. Fordelen er at metoden er rask og ikke-destruktiv og gir muligheten til å måle de samme prøvene over tid.

Salat med høyere fytokjemisk innhold som var utsatt for en pre-harvest behandling med UV-B hadde dårligere holdbarhet enn salaten dyrket uten denne behandlingen.

Abstract

Year-round greenhouse production of lettuce depends on the use of supplemental lighting in winter, when the natural irradiance is low (October-March). The last decades have been dominated by HPS technology as supplementary lighting. However, the recent years' LED lighting have become available due to better technology and cost effectiveness. LED lights consist of diodes which emit monochromatic light. It is theoretically possible to custom design LEDs to the most effective wavelengths in photosynthesis. In addition, it is possible to customize the light source to photomorphological responses for example synthesis of phytochemicals. Low amounts of natural radiation lead to low light intensity and small amounts of blue light because the traditional HPS lamps contain low blue light (5%) compared to natural light (16%). Unsatisfactory coloration of red lettuce cultivars has been reported during winter in Norway, probably due to low amounts of blue light and/or UV-radiation. Antocyanin synthesis is influenced by blue light and UV-radiation, which improves the red coloring of red leafed lettuce. In addition, a high level of phytochemicals is wanted due to their presumable health benefits.

This investigation consists of several experiments, where the effect of LED lighting and UV-B irradiation was investigated on growth and phytochemical content in different lettuce cultivars. Experiments with differing amounts of natural irradiation and different exposure time were performed. An experiment in a controlled chamber with UV-B in combination with and without far red end of day treatment was performed in order to evaluate whether phytochrome status may influence the phytochemical content. In addition, one experiment was performed to evaluate if phytochemical status of the plants could influence the storability of lettuce.

The results in these experiments show that 2-3 times higher phytochemical content was achieved with LED (80R,20B) depending on cultivar than with standard HPS lighting. In the red leafed lettuce the effect of an increased portion of blue light depended on the amount of natural light in the greenhouse. This indicates that antocyanin synthesis in the red cultivar is dependent on the relative amount of blue light. The green cultivars increased their phytochemical content by increasing amounts of natural radiation.

Higher synthesis of phytochemicals with more blue light or UV-B radiation had a negative impact on plant mass production. Therefore, a short pre-harvest treatment on fully developed ready-for-sale lettuce was conducted. However, only a small effect of light quality

was found on the phytochemical content. The reason for this was presumably due to increased natural irradiation, which partially eliminated the effect of light quality. In conclusion, the need for custom designed supplemental light only is necessary midwinter with low amounts of natural irradiation.

A comparison of phenol content in this investigation with other investigations showed that HPS grown plants had a very low amount of phenolics. LED grown plants with 20% blue and 80% red light increased the phenol content, in Desember, to the same level as lettuce grown mid summer out on the field. Thus it is possible to produce lettuce with high phenol content year round with the optimal light quality.

Multiplex is a new tool for estimating non-destructively the amount of phytochemicals. This method was compared to traditional wet chemistry. Multiplex was an excellent tool for this purpose. There was a good correlation between flavonoid content measured with Multiplex and phenol content measured with traditional methods. Measuring non-destructively and fast gives an advantage and it is possible to follow the same samples over time.

Lettuce treated with UV-B pre-harvest had a higher content of phytochemicals but reduced storability compared to the control.

Innholdsfortegnelse

1	Innledning	11
1.1	<i>Lactuca sativa</i>	13
1.2	Lysresponser hos planter	13
1.3	Fytokromreseptorer	14
1.4	Blått-lys reseptorer: Kryptokrom og fototropin	15
1.5	UV-B reseptor	17
1.6	Tidligere undersøkelser av salat og lyskvalitet	18
1.7	Fotosyntese og fotosynteseeffektivitet	19
1.8	Helsebringende innholdsstoffer	21
1.9	Ulike metoder for å måle innholdsstoffer i planter	23
1.10	Betydning av fotobiologi for plantemasseproduksjon	23
1.11	Hovedmomenter i denne undersøkelsen	24
2	Materiale og metoder	25
2.1	Beskrivelse av forsøkene	25
2.2	Plantemateriale og kultiveringspraksis	25
2.3	Forsøk 1. Sammenligning av LED(80R,20B) og HPS som lyskilde for 3 ulike sorter av veksthussalat	26
2.4	Forsøk 2. Sammenligning av Multiplex 3 og standard kjemiske analyser av innholdsstoffer i salat dyrket under HPS og LED(80R,20B)	27
2.5	Forsøk 3. Effekt av UV-B tilleggstråling med og uten mørkerødt lys i slutten av dagen (SAD) sammenlignet med vanlige lysstoffrør på innhold av flavonoider og anthocyaniner og vekst av rødfarget salat	28
2.6	Forsøk 4. Effekt av LED og HPS±UV-B lysbehandlinger på innhold av flavonoid og anthocyanin på salgsklare salathoder. 10 dager lysbehandling (pre-harvest)	29
2.7	Forsøk 5. Effekt av LED og HPS lysbehandlinger på innhold av flavonoid og anthocyanin i salat. Lysbehandling gjennom hele vekstperioden	30
2.8	Forsøk 6. Holdbarhetstest ved kjølelagring	30
2.9	Registreringer av vekstparametere	31
2.10	Kjemiske analyser: antioksidant aktivitet (FRAP) og totalfenol	31
2.11	Opparbeiding av prøve for analyse av antioksidantaktivitet og total fenoler	31
2.12	Multiplex 3-estimering av flavonoider og anthocyaniner med fluoresens eksitasjon ratio metode (FER)-ikke destruktiv metode	32

2.13	Isolering av salatkloroplast for å lage en ny standard for "uskjermet" fluoresens	33
2.14	Statistiske analyser.....	33
3	Resultater.....	35
3.1	Sammenligning av HPS og LED(80R,20B) som tilleggslys på antioksidantkapasitet og fenolforbindelser målt med standard destruktive kjemiske metoder i tre ulike kultivarer av salat.....	35
3.2	Effekt av HPS og LED(80R,20B) som tilleggslys på vekstparametere hos ulike salatsorter dyrket i veksthus om vinteren.....	38
3.3	Effekt av UV-B stråling på den relative mengden flavonoider og anthocyaniner i salat dyrket i vekstkammer målt med ikke destruktive metoder: FER	40
3.4	Effekt av UV-B stråling på ulike vekstparametere.....	41
3.5	FER-metoden sammenlignet med standard kjemiske målinger	42
3.6	Effekt av blått, rødt, rødt-blått og UV-B tilleggslys ved kort og lang behandlingstid på innholdet av flavonoider dyrket i veksthus med naturlig innstråling	43
3.7	Effekt av UV-B irradians preharvest behandling på lagringskapasiteten til salat etter høsting	45
4	Diskusjon.....	47
4.1	Lyskvantitet påvirker innholdet av fytokjemikalier i salat.....	47
4.2	LED og HPS gitt som tilleggslys har ulik evne til å påvirke innholdet av fytokjemikalier i salat	49
4.3	UV-B stråling forandrer fytokjemikalsk innhold i Lollo Rosso `Carmoli´	52
4.4	Samspill mellom (aksjonspektrene) og de ulike fotoreseptorene.....	53
4.5	Rødfarget salat `Lollo Rosso´ dyrket om vinteren	54
4.6	Kultivarer har ulik evne til å syntetisere flavonoider.....	55
4.7	Sammenligning av destruktive og ikke destruktive metoder for å måle innholdet av sekundære metabolitter	56
4.8	Syntese av sekundære metabolitter kan være en rask prosess.....	57
4.9	Effekter av kjølelagring på ulike behandlinger	58
4.10	UV-B og LED(80R,20B) øker innholdet av sekundære metabolitter men påvirker vekstparametere negativt	58
4.11	Framtidsutsikter, ny forskning.....	62
4.12	Praktisk relevans for produksjon av salat.....	63
5	Konklusjon.....	65

6	Litteraturliste.....	67
----------	-----------------------------	-----------

Forord

Jeg vil først og fremst takke hovedveileder Sissel Torre for tålmodighet, støtte og veiledning gjennom hele prosessen de siste årene.

Stor takk til Hans-Ragnar Gislerød og Anne-Berit Wold som har bistått som bi-veiledere og for innspill i slutfasen. Sist men ikke minst til Knut-Asbjørn Solhaug som har bistått med mye innspill, kunnskap og takk for opplæring i bruk av Multiplex og lån av figurer.

Jeg ønsker også å takke alle på SKP og spesielt Ida Hagen for å passe på plantene gjennom hele prosessen. En stor takk til damene på fruktlabben for hjelp med alle de kjemiske analysene og godt humør.

Til slutt vil jeg takke familien min for støtte gjennom disse årene. Min far for å introdusere meg til planteverden fra jeg var liten, et frø ble sådd tidlig og modnet til slutt! Til min mor og mine brødre Daniel, Henrik og Ivan. Sist men ikke minst til min kjære Julie som har vært tålmodig og lyser opp tilværelsen min. Til mine aller kjæreste gutter Emanuel og Luis som gir meg glede i hverdagene og til deg som er på vei. Og takk til Geir for lån av hytte.

Donde hay luz hay vida.

Drøbak 01.05.12

Christopher Rodriguez

1 Innledning

Formålet med denne undersøkelsen var å forbedre kvaliteten på salat dyrket i veksthus om vinteren på nordlige breddegrader. Lav naturlig lysinnstråling på vinterstid fører til at røde salattyper får en brunaktig farge med lavere kommersiell verdi. Ulike innholdstoffer påvirkes også i stor grad av lysforholdene og en økning av ulike flavonoider bedrer kvaliteten og rødfargen (anthocyanin) og dermed produktets kommersielle verdi.

I følge Gruda (2005) kan kvalitet på grønnsaker generelt bestemmes fra ulike ståsted. En måte er å bestemme ut fra kvantifiserbare størrelser som defineres av ”Codex alimentarius of the FAO of the United Nations and the World Health Organization (WHO)” (Gruda, 2005). Eksempler på dette er form, farge, størrelse, holdbarhet, rester av giftstoffer, nitrat osv. På den andre siden finnes det indre kvaliteter som tekstur, smak og *bioaktive stoffer* som påvirker forbruketferd. Forbrukere har i de siste årene blitt mer bevisste på produktenes innhold av vitaminer, mineraler og antioksidanter også kalt bioaktive stoffer (Gruda, 2005). Bioaktive stoffer er stoffer som har effekt på levende organismer, vev og celler. Helsefremmende stoffer eller bioaktive stoffer i planter går også under navnet fytokjemikalier (Medterms.com). Det har i de senere år vært stor oppmerksomhet rundt disse stoffenes påståtte helsefremmende egenskaper (Treutter, 2010; Yao et al., 2004). Tidligere forskning har vist at lysintensitet og lyskvalitet (UV-B) har stor betydning for innholdet av fytokjemikalier i ulike planter (Gruda, 2005; Treutter, 2010) og salat (Ordidge et al., 2009; Garcia Macias et al., 2007; Stutte & Edney, 2009; Tsormpatsidis et al., 2008).

Fytokjemikalier kan ha antioksidant effekt. Dette betyr at de kan beskytte vev, celler, DNA, proteiner og fettstoffer mot oksidasjon og frie radikaler (Nes et al., 2007). Disse fytokjemikaliene er en del av plantenes eget antioksidant system (Krizek, 2004) og kan muligens påvirke aldring og dermed lagringskapasiteten (Harbaum-Piayda et. al., 2010).

Lav naturlig innstråling om vinteren utgjør som nevnt en utfordring for kommersiell produksjon av salat og andre grønnsaker. Fremfor å øke den totale lysmengden ved hjelp av kunstig lys - en metode som vil øke produksjonskostnadene og miljøbelastningene - ville det være ønskelig å rasjonalisere produksjonen gjennom å utvikle belysning som er tilpasset plantene. Enkelte lysbølgelengder er mer effektive til å drive fotosyntese, og ved å skreddersy en lyskilde etter virkningsgrad er det teoretisk mulig å redusere energiforbruket, dvs. watt per produsert gram biomasse.

I dagens produksjon benyttes høytrykksnatrium (HPS) lamper. De har blitt benyttet siden 70-tallet i veksthusproduksjon og er den lyskilden med høyest virkningsgrad: Omtrent 25.2-31.6% av energien blir gjort om til lysstråling som planter kan benytte seg av i fotosyntese (Bævre & Gislerød, 1999). HPS lamper avgir samtidig en del infrarødstråling som ikke kan benyttes i fotosyntesen, men som fører til økt varme og høyere bladtemperatur. I tillegg er det mye stråling innenfor det gule og grønne bølgelengdene som ikke er de mest fotosyntetisk effektive (Bævre & Gislerød, 1999).

Kommersialisering av light emitting diodes (LED) belysning i veksthus begynte for få år siden. LED lamper består av små dioder som avgir monokromatisk lys, og dette gir muligheter for å skreddersy et lysspektrum tilpasset planters ulike lysresponser. I teorien skal det være mulig å tilføre planter lys med et spektrum som fremmer syntesen av ulike innholdsstoffer og samtidig skreddersy spekteret for optimal fotosyntese og fotomorfogenese (Watanabe, 2011). Det kan altså være mulig å øke produktiviteten på denne måten. Det er lite undersøkt hvordan ulike salatsorter reagerer under LED-lys.

Hovedformålet med denne undersøkelsen var å undersøke effekten av lyskvalitet på ytre og indre kvalitetsegenskaper og produksjonspotensial hos salat generelt. Lite naturlig innstråling om vinteren fører til dårlig rødfarging av salat. Rødfarging hos rødbladet salat forbedres ved økt innhold av anthocyanin. Intensjonen var også å undersøke hvordan lyskvaliteten påvirket innholdet av flavonoider og anthocyanin og andre helsefremmende innholdsstoffer, da dette er etterspurt fra forbrukernes side.

1.1 *Lactuca sativa*

Salat eller *Lactuca Sativa* er en art av slekten *Lactuca* som tilhører familien *Asteracea* og er en tofrøbladet plante. Navnet *Lactuca* har sin etymologiske opprinnelse i ordet ”lakterende” på grunn av dens melkehvite lateksaktige saft. Egypterne mente at den var et afrodisiakum og den er illustrert i ulike egyptiske graver. Grekerne mente at den melkehvite lateksen lignet på opiumsmelk og påsto planten hadde søvninduserende egenskaper (Harlan, 1986). Dagens domestiserte *Lactuca sativa* har sitt utspring i *Lactuca serriola* og muligens *Lactuca saligna* (Vries, 1996). Domestisering førte med seg mindre lateksproduksjon og bitterhet i smak, og mer eller mindre innhold av anthocyanin avhengig av kultivar blant andre egenskaper. Salat er en av de viktigste grønnsakene i produksjon i Norge både på friland og i veksthus. En oversikt over frukt og grønnsaker fra 2002 til 2011 viser at markedet for kommersielt salg av norsk og importert salat har økt fra 13155 tonn til 22990 tonn i denne perioden. Den importerte andelen og den norske andelen er på henholdsvis 10736 tonn og 12254 tonn i 2011. Det ser ut til at forbrukerne ønsker mer salat og den norske andelen har økt mye siden 2002. Det betyr at det er viktig å opprettholde en norsk salatproduksjon (Totaloversikten Frukt og grønnsaker. 2012). Ettersom vi har et stort konsum av salat i Norge utgjør salat en viktig kilde til bioaktive stoffer i menneskelig ernæring. Det er derfor viktig å forbedre kvaliteten på salat både av helsemessige og av økonomiske årsaker.

Salat dyrkes i veksthus året rundt. Den er egentlig en langdagsplante, men ved foredling har man utviklet sorter som er dagnøytrale da unngår man at den går i stakk. Salat dyrkes i jord eller vannsystemer og den trives best i temperatursjiktet mellom 15 og 20 grader. Det anbefales mellom 122-146 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ lys i 20 timer i døgnet. Kulturtiden avhenger av lysmengde og temperatur: Om sommeren er den på 4 uker og om vinteren fra 6-8 uker (Omdal, 2005).

1.2 Lysresponser hos planter

Lysets effekt på planter kan deles inn i to hovedkategorier: Lys som energi og lys som signal. Den første knyttes til produksjon av energi og er relatert til fotosyntesen og kalles primærmetabolismen. Den andre funksjonen er lys som signal eller informasjon som regulerer plantenes vekst, utvikling og morfologi.

Klorofyll a og b er fotoreseptorer eller massepigmenter som absorberer lysenergi og omdanner dette til kjemisk energi i fotosyntesen. Det finnes også andre fotoreseptorer slik som: β -karoten, lutein, zeaxantin og lycopen blant andre som også absorberer lysenergi med ulikt absorpsjonsspektrum (figur 1).

Fotomorfogenese defineres som plantenes evne til å diskriminere eller skille mellom (tolke-lese) og deretter tilpasse seg forskjellig lysintensitet, lyskvalitet, lysretning og fotoperiode. Dette får igjen utslag på plantenes morfologi (Weller & Kendrick, 2010). Lysets spektralfordeling forandrer seg gjennom døgnet, årstidene, geografisk, skydekke og andre faktorer (Björn, 2010). Det er derfor svært viktig for planter å bruke informasjon om lyset som en indikasjon på lysforhold generelt og tilpasse seg best mulig.

De ulike lysreseptorene gjør plantene i stand til å registrere lyskvalitet og tilpasse vekst og utvikling i forhold til spektralfordelingen. Dette gjør planter i stand til tilpasse seg ulike lysforhold og på denne måten optimalisere lysutnyttelsen (Weller & Kendrick, 2010). Fotoreseptorer med en regulatorisk funksjon er involvert i prosesser som fotomorfogenese, fotoperiodisme og fototropisme (Hopkins & Hüner, 2009). De kjente regulatoriske fotoreseptorene er fytokrom, blåttlys/UV-A reseptorene kryptokrom og fototropin og en UV-B reseptor.

Prosesser hvor det produseres ulike innholdsstoffer som for eksempel anthocyaniner som ikke er direkte involvert i primærmetabolismen kalles for sekundærmetabolismen. Syntese av slike stoffer kan reguleres av lys og defineres da som fotomorfologiske forandringer (Shäfer & Nagy, 2006).

Et tydelig skille mellom fotomorfologiske og fotosyntetiske tilpasninger er vanskelig å definere da begge prosesser påvirker hverandre. Derfor er dette skillet først og fremst av teoretisk art (Carvalho et al., 2011). Et eksempel på dette er kloroplastorientering som styres av blåttlysreseptorer samtidig er det en viktig fotosyntetisk tilpasning til høy lysintensitet. Det er fortsatt lite kunnskap om hvordan fotomorfogenetiske fotoreseptorer påvirker den fotosyntetiske organiseringen (Weller & Kendrick, 2010).

1.3 Fytokromreseptorer

Oppdagelsen av fytokrom ble gjort i 1959, men allerede i 1936 hadde Flint oppdaget effekten av rødt og mørkerødt lys på spiring av salatfrø (Taiz & Zeiger, 2006).

Fytokrom er et pigment som består av to deler: Et lysabsorberende pigment som kalles kromofor, og en polypeptidkjede som heter apoprotein. Disse to danner sammen et holoprotein på 250 kDa. Den lysabsorberende kromoforen må være koblet til polypeptidkjeden for at den skal kunne absorbere rødt (R) eller mørkerødt (MR) lys. Kromoforen eller fytokromobilinen som den kalles, finnes i to interkonvertible former: En cis- og en trans- isomer. Dermed fungerer fytokromet som et fotoreversibelt pigment (Taiz & Zeiger, 2006). Pigmentenes to tilstander kalles Pr og Pfr hvor man anser den siste for å være den aktive. Denne formen setter i gang en signaltransduksjon som fører til forandringer i genekspressjon.

Absorpsjonsspekteret til Pr og Pfr er overlappende, og dette betyr at de to formene alltid vil være tilstede. Det er likevekten mellom dem som bestemmer biologisk respons. Likevekten kalles for *Phytochrome Stationary State* (PSS) og er definert som $PSS = Pfr/P$ og beregnes på bakgrunn av lyskildens spektralsammensetning og fytokromets relative absorbans i Pfr-form delt på total fytokrom (P), (Sager et al., 1988; Stutte, 2009).

Noen klassiske fytokromresponsers er spiring av ulike frø, redusert internodiastrekning, blomstring, skyggeunngåelse, initiering av anthocyaninsyntese (Hopkins & Huner, 2009). Fytokromresponsen blir kategorisert etter lyseksponeringen som er nødvendig for å igangsette dem. Det deles inn i very low fluence response (VLFR), low fluence response (LFR) og high irradiance response (HIR). I tillegg finnes det flere fytokrom gener. Modellplanten *Arabidopsis thaliana* har 5 ulike fytokromgener: PHYA, PHYB, PHYC, PHYD og PHYE. Ulike gener styrer ulike responsers og ofte en respons av flere gener samtidig.

Tidligere studier har vist at fytokromstatus er viktig for morfologien (Weller & Kendrick, 2010). En overvekt av Pfr (absorpsjonsmaksimum 660 nm) gir mindre bladareal, mindre strekningsvekst og ofte mindre friskvekt (Moe, 1997; Runkle & Heins, 2006).

1.4 Blått-lys reseptorer: Kryptokrom og fototropin

Effekten av blått lys på planter har historisk sett vært kjent lenge. Det var ikke før på 90-tallet at kryptokromreseptoren ble oppdaget. Manglende inhibering av hypokotylstrekning hos *Arabidopsis* hy4 genmutanter førte til oppdagelsen av HY4-genet. Dette genet koder for et 75-kDa protein (Taiz & Zeiger, 2006). Molekylet har to sider, en N-terminal og en C-terminal. N-terminalen binder til seg to kromoforer, den første en flavin og den andre en pterin. Dette ligner mye på en fotolyase; et annet protein som reparerer DNA skader etter UV-

B stråling. Men kryptokromet har ikke fotolyase aktivitet og er noe større i C-terminalen (Cashmore, 2006). C-terminalen ligner ikke på andre kjente proteiner og dens funksjon er heller ikke kjent. Signaltransduksjon hos kryptokrom er fortsatt ikke kartlagt men involverer antakelig fosforylering av C-terminalen. Det fosforylerte kryptokromet er aktivt og starter signaltransduksjon (Hopkin & Huner, 2009). Det er funnet 2 kryptokromreseptorer i *Arabidopsis*, CRY1 og CRY2.

Fototropin er en annen gruppe blåttlys/UV-A fotoreseptorer. Den består av et 120 kDa proteinmembran som undergår autofosforylering ved blått lys stråling. Phot –molekyler har to deler, en C-terminal og en N-terminal. C-terminalen har fellestrekk med andre serin/treonin kinaser og N-terminalen består av to domener (Weller & Kendrick, 2010). Det finnes to fototropiner: PHOT1 og PHOT2 i *Arabidopsis*, responser bestemmes av samspillet mellom dem. Phot 2 fungerer med høyere fluensrater. Det er vanlig at responser styres av kryptokromer og fototropiner alene eller i kombinasjon med hverandre.

Fototropisme, stomata åpning/lukking, kloroplastbevegelser og hemming av hypokotylstrekning er responser som styres av blåttlysreseptorene kryptokrom og fototropin. Zeaxanthin spiller muligens en rolle for stomataåpning sammen med fototropin. Kryptokrompigmenter har et absorpsjonsspektrum med tre topper på 420, 450 og 470 (Briggs, 2006). Dette skiller disse responsene fra blåttlys-induserte fytokromrespons som ikke har en slik typisk trefingret form.

Det som også skiller blåttlysresponser fra fytokromresponser er at de ikke kan reverseres med mørkerødt lys. I den senere tid har man imidlertid funnet ut at grønt lys kan oppheve blåttlys-åpningen av stomata (Taiz & Zeiger, 2006).

Andre kjente blåttlyseffekter er økt syntese av karotenoider og klorofyll, og endring av kloroplastorientering.

En studie av Fukuda et al. (2002) i *Petunia* og i *Kalanchoe* (Rodriguez, 2011. Upublisert) viste strekningsvekst ved større andel blått lys, noe som tyder på at man må være forsiktig med å generalisere denne blåttlysresponsen til å gjelde for alle arter. Tidligere forskning på hvete i vekstkammer viser at fotosynteseeffektivitet og tørrstoff økte med en kombinasjon av blått lys (10%) og røde LED (Goins et al., 1997) sammenlignet med bare røde LED dioder.

1.5 UV-B reseptor

UV-B stråling er definert som delen av det elektromagnetiske feltet som spenner fra 280-315 nm og UV-A fra 315-400 nm (Björn, 2010).

UV-B stråling kan ha ulik effekt på planters utvikling, morfologi og innhold av sekundære metabolitter. (Jenkins, 2009). Det er nylig identifisert en UV-B reseptor med navn UVR8 og hvordan denne fungerer (Christie et al., 2012). UVR8 består av en homodimer som dissosierer til to monomerer ved UV-B stråling. Denne prosessen er spontant reversibel i mørke. De to monomerene er 40-50 Å i diameter og 35 Å høye og er forbundet med blant annet saltbroer og aromatiske forbindelser. UV-B stråling fører til en ladningsneutralisering mellom de to monomerene, der disse dissosierer og danner nye forbindelser med et annet protein som kalles COP1 og er viktig i signaltransduksjon.

I følge Jenkins (2009) er det to signaltransduksjonsveier for UV-B responser. Den ene virker ved lav (spesifikk respons) og den andre ved høy (uspesifikk respons) UV-B irradians. Den spesifikke fungerer som andre fotomorfologiske lysreseptorer som for eksempel fytokrom og kryptokrom. Den andre er uspesifikk og er aktiv ved høyere UV-B irradians. Denne signaliserer DNA skade, oksygenradikaler (ROS: radical oxygen species) og skade/beskyttelse. Årsaken til dette er at UV-B stråling har mye energi og kan ødelegge ulike molekyler som blant annet DNA og skape oksygenradikaler. Det er grunn til å tro at begge de to signaltransduksjonsveiene kan fungere samtidig og er delvis overlappende. Hvilken respons som er mest aktiv bestemmes av fluensrate, bølgelengde og eksponeringstid (Jenkins, 2009). Planter har utviklet mekanismer for å beskytte seg mot denne strålingen, både i form av beskyttelse og reparasjon. En form for beskyttelse er produksjon av UV-B absorberende fenolske stoffer i epidermis, som for eksempel flavonoider (Tsormpatsidis et al., 2010; Jenkins, 2009; Hollosy, 2002; Treutter, 2010; Paul & Gwynn-Jones, 2003; Solhaug et al., 2003; Zhang & Björn, 2009). Disse fungerer som plantenes egen solbeskyttelse. I tillegg bidrar flavonoider og spesielt anthocyaniner til en økning av plantenes antioksidantsystemer, som kan beskytte mot blant annet oksygen radikaler (Krizek, 2004). Anthocyaniner absorberer mest i det grønne spekteret av det elektromagnetiske feltet og absorberer ikke UV-B. De fargeløse flavonoidene derimot, har sterk absorpsjon i UV-området av det elektromagnetiske feltet (Krizek, 2004). En form for reparasjon av DNA etter UV-stråling er DNA fotolyase. Dette er et flavoprotein som absorberer UV-A/blått lys og er et fotoreaktiveringsenzym som reparerer tymindimerer (Krizek, 2004). På grunn av dens høye energi kan UV-stråling ødelegge deler av DNA-tråden. Dette kan føre til dannelse av

tymindimere, som er to tyminbaser forbundet sammen etter hverandre. Dette fører til tap av et basepar i DNA-tråden. Fotoreaktiveringsenzymet bryter denne tymindimeren. Det er uansett sjelden å observere UV-B skader under normale solforhold (Paul & Gwynn-Jones, 2003; Jenkins, 2009).

Mye forskning er gjort på UV-B og dens påvirkning på plantemorfologi (ikke-stressresponser). Typiske responser er hemming av strekningsvekst, stimulert frøbladåpning, mindre bladareal, bedre forgreining, reduksjon av biomassen og tykkere blader, og i tillegg en rekke indre endringer som forandret fenolkomposisjon og kloroplastorientering (Jansen et al., 1998; Jenkins, 2009; Paul & Gwynn-Jones, 2003; Hollosy, 2001).

1.6 Tidligere undersøkelser av salat og lyskvalitet

Stutte & Edney (2009) undersøkte anthocyaninsyntese og vekst i en rødfarget salat i vekstkammer under forskjellige LED-behandlinger. Behandlingene var rødt-mørkerødt, rødt, rødt-blått, rødt-grønt-blått LED-lyskilder sammenlignet med lysstoffrør. Behandlinger med blått lys inneholdt omtrent 10% blått lys av total PAR. Behandlingen med rødt-mørkerødt inneholdt 7% mørkerødt lys. Etter 21 dager var tørrvekten 20 % lavere i rød-behandling sammenlignet med rødt-blått, mens behandlingen med mørkerødt viste noe høyere tørrvekt enn blått (forskjellen var ikke statistisk signifikant). Behandlingene som inneholdt blått lys inneholdt dobbelt så mye anthocyanin som den røde behandlingen, og fire ganger mer enn rødt-mørkerødt lys. Antioksidantkapasitet fulgte samme mønster men med mindre forskjell mellom behandlingene.

Li & Kubota (2009) sammenlignet UV-A, blått, grønt, rødt og mørkerødt tilleggslis (LED) med lysstoffrør som hovedlys. PSS var tilnærmet lik i alle behandlingene med unntak av den mørkerøde behandlingen. Fenolkonsentrasjon var størst under rødt tilleggslis og anthocyaninkonsentrasjon var størst under blått og under UV-A tilleggslis men det var veldig små forskjeller mellom behandlingene. Friskvekt og tørrvekt var størst under mørkerødt tilleggslis.

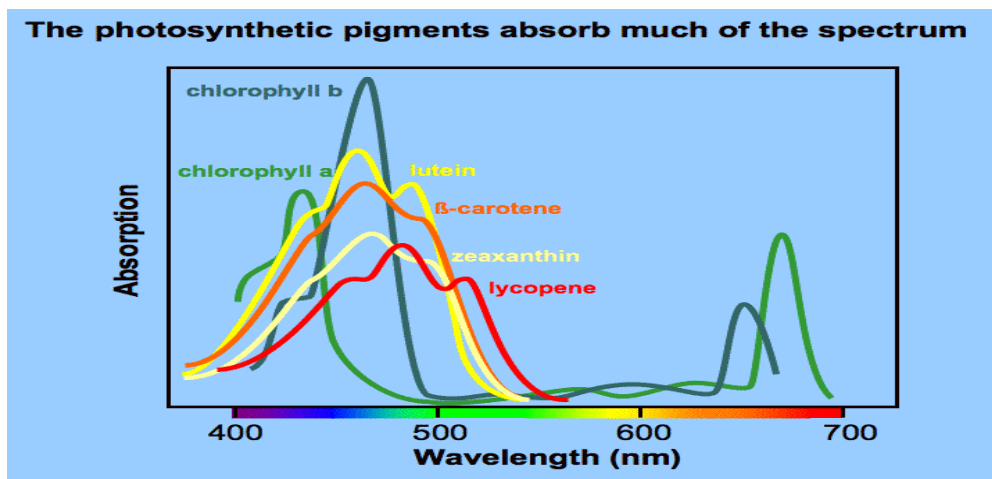
Det er vanskelig å bestemme den korrekte andelen blått lys som er nødvendig for størst mulig plantemasseproduksjon. Tidligere resultater og anbefalinger tyder på at det er nødvendig med noe blått lys for optimal vekst. Salat dyrket uten blått lys resulterer i et deformert produkt (Moe, 1997). I følge Brazaityté et al. (2006) var friskvekten på salat høyest uten blått lys. Dette har å gjøre med det blå lysets effekt på morfologi som mindre bladareal,

høyere LMA (leaf mass/area) og kortere internodier som resulterer i en bladarkitektur som er mindre gunstig for lysopptak (Hogewoning, 2010a; Hogewoning, 2010b). I følge Dougher & Bugbee (2001) bør salat dyrkes med blått lys for optimal vekst. I en undersøkelse av Yorio et al. (2001) ble friskvekten ikke signifikant forskjellig med 10 % blått (lysstoffrør) og 90 % rødt (LED) sammenlignet med lysstoffrør, men behandling med bare røde LED hadde signifikant mindre tørrvekt. I følge Watanabe (2011) er 8% blått lys (LED) og 92% rødt (LED) en spektralsammensetning for effektiv vekst, da dette ga betydelig økning i friskvekt i salat i forhold til resultatet under lysstoffrør i vekstkammer. Det er en del motstridende resultater, som tyder på at blåttlysresponsen kan være artsavhengig og kultivaravhengig og derfor bør bestemmes i hvert tilfelle. Det er til dags dato gjort få undersøkelser i veksthus med naturlig innstråling, og dette gjør det vanskelig å overføre resultater fra en undersøkelse til en annen (Hemming, 2011). I tillegg brukes det ulike kultivarer og arter og forskjellig forsøksdesign med ulik lysintensitet. Samtidig har LED lyskilder noe ulik spektralsammensetning, endel fabrikanter opererer med røde dioder med topp på 630, 640 eller 660 nm noe som også kan ha betydning morfologi og fotosyntese.

Tidligere undersøkelser med UV-B tilleggslis i vekstkammer viser kraftig vekstreduksjon men stor fytokjemisk økning i rødfarget salat (Rodriguez & Bengtsson, 2010. Upublisert; Rodriguez et al., 2012. Upublisert). Andre undersøkelser under ulike tekkematerialer viser også kraftig vekstreduksjon og fytokjemisk økning under naturlig UV-B irradians i blant annet salat (Ordidge et al., 2010; Garcia Macias et al., 2007; Treutter, 2010; Tsormpatsidis et al., 2008; Oh et al., 2011).

1.7 Fotosyntese og fotosynteseeffektivitet

Fotosyntese er prosessen hvor lys omdannes til kjemisk energi ved hjelp av oksidering av vann og reduksjon av CO₂ til en karbonforbindelse, vanligvis karbohydrat (Björn, 2010). Denne prosessen bruker hovedsaklig lys mellom 400 nm og 700 nm, også kalt fotosyntetisk aktiv stråling (PAR). Hovedsakelig klorofyll a og b men også andre pigmenter med forskjellig absorpsjonsegenskaper er ansvarlige for absorpsjon av energi (figur 1). Denne energien blir så overført til de ulike reaksjonsentrene (Björn & Govindjee, 2010).



Figur 1. Relativ absorpsjonsspektrum for forskjellige fotosyntetiske pigmenter avhengig av bølglengden i det elektromagnetiske spekteret. (www.plantphys.info)

I følge McCree (1972) absorberer blader forskjellige bølglengder ulikt, og i tillegg er noen bølglengder mer effektive til å drive fotosyntese. LED med en kombinasjon av rødt og blått lys er tilpasset aksjonsspekteret til fotosyntesen siden det er de bølglengdene som i teorien absorberes best av blader, men planter er i utgangspunktet tilpasset et mye bredere lysspekter (Goins et al., 1997; Hogewoning et al., 2010a). I følge aksjonsspekteret til fotosyntesen burde røde LED dioder i teorien være mest effektive for å drive fotosyntesen, men planter dyrket under bare røde LED preges av redusert vekst og mindre effektiv fotosyntese (Hogewoning et al., 2010a). Det er også vist at grønt lys, som i teorien er det minst fotosyntetisk effektive lyset, faktisk er mer effektivt enn rødt lys under høy lysintensitet (Terashima et al., 2009).

Samspill mellom fotomorfologiske responser og fotosyntetisk effektivitet kan føre til at lyset som i utgangspunktet er mest effektivt i fotosyntesen ikke nødvendigvis er lyset med størst produksjonspotensial. Et lysspektrum som øker den fotosyntetiske effektiviteten per areal gir ikke nødvendigvis økning i den totale fotosyntetiske effektiviteten, nettopp på grunn av morfologiske tilpasninger (Hogewoning et al., 2010a). Planters plastisitet gjør at de tilpasser seg omgivelsene. Blått lys er kjent for å endre kloroplastorientering. Høy fluensrate med blått lys oppfattes av planter som høy lysintensitet, og dette kan føre til en indre struktur med mindre effektiv lysoppfangelse (Taiz & Zeiger, 2006).

Emerson oppdaget på 50-tallet at planter hadde en økning i den fotosyntetiske raten når de ble belyst med rødt og mørkerødt samtidig. Den fotosyntetiske raten var høyere enn summen av rødt og mørkerødt lys gitt hver for seg. Dette funnet førte videre til oppdagelsen av at det finnes to fotosystemer, fotosystem I og II (Taiz & Zeiger, 2006; Hopkins & Huner,

2009). Moderne LED-lamper er vanligvis utstyrt med røde dioder (660 nm), og dette samsvarer med absorpsjonsspektrumet til fotosystem II (PSII) som best absorberer bølglengder under 680 nm. Fotosystem I (PSI) absorberer best bølglengder over 680 nm (Hopkins & Hüner, 2009). Dette kan få betydning for den fotosyntetiske effektiviteten til LED belysning som ikke favoriserer fotosystem I og står muligens i motsetning til Emersons funn. På den andre siden har planter evnen til å tilpasse til en viss grad PSI og PSII etter lysforhold (Taiz & Zeiger, 2006).

Tidligere undersøkelser har vist at fotosyntese påvirkes av temperatur. Fotosyntesen øker opp til optimal temperatur for deretter å synke (Martinez-Carrasco et al., 2004). Bladdanningsraten påvirkes i stor grad av av temperatur (Marcelis, 1993). HPS lyskilder, i motsetning til LED, inneholder bølglengder i det infrarøde området. Bølglengder i det infrarøde området kan ikke drive fotosyntese, men kan gi høyere bladtemperatur som videre kan påvirke vekst, metabolske prosesser og morfologi (Mortensen, 1991) og blomstring (Bernier & Perilleux, 2004).

Fotosynteseeffektivitet kan måles med en gassutvekslingsmåler. Ulike metoder måler vanligvis enten fiksering av CO₂ eller produksjon av O₂ (Hunt, 2002). Fotosynteseeffektivitet sier lite om samspillet mellom fotosyntese og fotomorfologi. Typisk blått lys respons er høy LMA (leaf mass/area) ofte med en økning av den fotosyntetiske effektiviteten per areal. Allikevel på grunn av indirekte morfologiske forandringer av den økte andelen blått lys kan det ha en negativ effekt på biomasse (Hogewoning et al., 2010a). For produksjon av spiselige planter er det derfor mer hensiktsmessig å måle biomassen som et mål på planters effektivitet (Moe, 1997).

1.8 Helsebringende innholdstoffer

Sekundære metabolitter er en gruppe organiske stoffer som ikke har en direkte åpenbar funksjon i primærmetabolismen, og de er heller ikke de samme i alle arter slik som primærmetabolittene. Sekundære metabolitter har viktige biologiske funksjoner som forsvar, de kan inngå i deler av plantenes naturlige antioksidant system, og de kan opptre som beskyttende pigmenter mot for høy lysinnstråling. Sekundære metabolitter deles inn i tre grupper: Terpener, fenoler og nitrogenholdige stoffer som alkaloider (Taiz & Zeiger, 2006).

Antioksidanter har påståtte helsebringende egenskaper på grunn av deres antioksidative egenskaper (Yao et al., 2004; Treutter, 2010). Antioksidanter forekommer naturlig i større

eller mindre grad i frukt, bær og grønnsaker. Viktige antioksidanter er C-vitamin, E-vitamin, karotenoider, selenium og fenolforbindelser (Remberg, 2006). Fenolforbindelser er en betegnelse for ulike heterogene stoffer som deriverer fra fenyylpropanoidveien. Flavonoider er den største gruppen fenoler og noen av disse antas å kunne filtrere UV-lys i epidermis celler. Flavanoler er fargeløse flavonoider som blant annet quercetin som finnes i salat (Treutter, 2010). Den nest største gruppen flavonoider etter flavanoler er anthocyaniner, og de er kjente for å gi farge til frukt og grønnsaker. Anthocyaniner absorberer synlig lys med topp mellom 500-530nm. Fytokjemikalier er en betegnelse som brukes ofte for å betegne påståtte helsebringende bioaktive stoffer som for eksempel flavonoider.

Noen dyrkingspraksiser som fører til økt innhold av fenolforbindelser er høy og lav temperatur, lavt vannstatus og lav nitrogengjødsling (Treutter, 2010). Både lysintensitet og lyskvalitet er viktige for fytokjemikalsk innhold. UV-B irradians er tidligere godt undersøkt og fører til økt fytokjemikalsk status hos ulike planter (Treutter, 2010) og spesielt i salat (Ordidge et al., 2010 ; Garcia-Macias et al., 2010; Tsormpatsidis et al., 2008; Oh et al., 2011). En nyere undersøkelse av Stutte & Edney (2009) viser også at blått lys kan øke anthocyanininnhold i rødfarget salat. Flavonoider knyttes til fotobeskyttende egenskaper da de absorberer UV-lys. Anthocyaniner øker plantenes egne antioksidantsystemer og de antas å beskytte mot oksygenradikaler (ROS). Høy lysintensitet fører til økning av anthocyaninsyntesen. Dette er trolig fordi økt fotosyntese fører til større produksjon av oksygenradikaler og anthocyanin kan nøytralisere oksygenradikaler (Krizek, 2004).

Tidligere undersøkelser viser stor forskjell i innhold av totalfenoler på tvers av arter og kultivarer (Remberg, 2006). Ordidge et al. (2010) sammenlignet ulike salatkultivarer og evnen til å syntetisere fenoler under forskjellige tekkematerialer med ulik UV transmisjonsgrad. Resultatene viste at rødfarget salat Lollo Rosso hadde mer fenoler enn den grønne kultivaren Lollo Biondo, og i tillegg større evne til å syntetisere fenoler under UV-irradians. I følge Treutter (2010) var det større variasjon innen ulike kultivarer av jordbær enn effekten av forskjellige dyrkingsmetoder. Anthocyanin er ansvarlig for den karakteristiske rødfargen i Lollo Rosso. Derfor er det viktig med høy produksjon av anthocyaniner for å oppnå et tilfredsstillende salgsprodukt. I tillegg er sekundære metabolitter viktige på grunn av deres smaksegenskaper, slik som for eksempel tanniner i vin. Samtidig er noen fenoler uønskede på grunn av bitter smak (Treutter, 2010).

1.9 Ulike metoder for å måle innholdstoffer i planter

Den tradisjonelle måten å måle innholdstoffer i planter er ved hjelp av kjemiske analyser. Målinger av antioksidantkapasitet kan måles ved hjelp av FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma, ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) eller DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical). De ulike teknikkene måler enten evnen en antioksidant har til å nøytralisere frie radikaler eller evnen en antioksidant har til å beskytte fettstoffer fra oksidering (Remberg, 2006). En vanlig metode for å måle fenolforbindelser er basert på reduksjon av ulike tungsten- og molybdenumoksider (Folin-Ciocalteu reagens). Produktet er blåfarget og absorberer ved 765nm (Wrolstad, 2002). Uansett valg av kjemisk metode er det felles at disse metodene er destruktive, og dette gjør det vanskelig å følge de samme prøvene (plantene) over tid.

Et ikke-destruktivt alternativ for å måle flavonoider og anthocyaniner er å benytte seg av en Multiplex (Cerovic et al., 2008). Denne estimerer den relative mengden flavonoider og anthocyaniner ved hjelp av fluoresens eksitasjonsmetoden (FER: fluorescence excitation method). Måling av pigmentene i epidermis foregår ved sammenligning av klorofyll fluoresens eksitert med ulike bølgelengder lys. De aktuelle pigmentene har forskjellig absorpsjonsspektrum og dette gir forskjeller i klorofyllfluoresens (den ene bølgelengden blir delvis absorbert av for eksempel flavonoider). Ratioen mellom disse verdiene gir transmisjonen gjennom epidermis og relativ mengde av et absorberende pigment regnes som $-\log$ (transmisjonen).

FER metoden har blitt brukt tidligere for å måle relativ mengde flavonoid og anthocyanin i epleepidermis (Hagen et al., 2006) men da ved hjelp av ulike instrumenter. Med Multiplex er det mulig å estimere relativ mengde flavonoid og anthocyanin med samme instrument i samme måling (Cerovic et al., 2008). Fordelen med denne metoden over standard kjemiske metoder er at den er rask og det er mulig å følge de samme prøvene over tid da den er ikke-destruktiv. Svakheten er at den bare estimerer relativ mengde og at den bare måler de aktuelle pigmentene som ligger i epidermis (over klorofyllet).

1.10 Betydning av fotobiologi for plantemasseproduksjon

Både vekst og utvikling hos planter kan i stor grad styres med lys. I klimaregulert vekst og produksjon av matplanter og dekorasjonsplanter er det i teorien mulig å utnytte denne kunnskapen til vår fordel. Teoretisk sett er det mulig å skreddersy optimale lysforhold for

både vekst, blomstring og syntese av innholdsstoffer. Slik kan man optimalisere effektiviteten av produksjonen. I følge Furuya (2010) har denne kunnskapen innen fotobiologi ikke blitt overført til masseproduksjon. Det finnes selvfølgelig noen unntak. Ett problem er å finne praktiske løsninger tilpasset masseproduksjon; ny kunnskap må til en viss grad tilpasses gammel teknologi. Det er på dette området at (LED) kan gjøre den store forskjellen. LED har for det første blitt rimeligere, det tar liten plass, lysspekteret kan designes, og det kan eventuelt brukes i tillegg til eksisterende lysteknologi.

1.11 Hovedmomenter i denne undersøkelsen

Målet er å forbedre kvaliteten av salat generelt ved å øke innholdet av flavonoider. En økning av anthocyanin forbedrer rødfargen i rødfarget salat og gir produktet større kommersiell verdi. I tillegg er det økt fokus på innhold av flavonoider på grunn av deres påstatte helsemessige gevinster. Det kan føre til en forbedring av salat dyrket i Norge og på lang sikt sikre norsk produksjon. Samtidig er det viktig å ivareta en høy biomasseproduksjon, men bølgelengder med økt syntese av fenolforbindelser er som regel forbundet med redusert vekst. Derfor er det ønskelig å designe en lysmodell som ivaretar både en økning i fenolforbindelser med lik eller økt biomasseproduksjon. Det er også ønskelig med økt holdbarhet på salat, og en økning av fenolforbindelser som er en del av planters antioksidantsystemer kan forhåpentligvis bidra til dette.

2 Materiale og metoder

2.1 Beskrivelse av forsøkene

I forsøk 1 ble en vanlig HPS tilleggslysbehandling sammenlignet med LED (80% rødt & 20% blått). Forsøkene ble utført i vintermånedene med svært lite naturlig innstråling fra slutten av november 2009 til begynnelsen av februar 2010. I forsøk 2 ble en alternativ ikke destruktiv metode (Multiplex 3) for måling av fytokjemikalier sammenlignet med standard kjemiske metoder. Multiplex ble benyttet videre i de neste forsøkene. I forsøk 3 ble UV-B med og uten slutten av dagen (SAD) mørkerødt sammenlignet for å se i hvilken grad fytokromstatus påvirker innholdet av fytokjemikalier (og eventuelle forskjeller i vekst). Forsøk 4 & 5 er en naturlig oppfølging av forsøk 1, rødt, rødt-blått og blått LED lyskvaliteter og UV-B tilleggslys ble sammenlignet med HPS for å klarlegge hvilken lyskvalitet som er mest effektiv for syntese av flavonoider og anthocyaniner (Forsøk 5). I forsøk 4 ble det utført en kort pre-harvest behandling på 10 dager for å undersøke om dette er en mulig strategi da resultatene i forsøk 1 viste redusert friskvekst for LED behandling sammenlignet med HPS. Til slutt i forsøk 6 sammenlignes postharvest holdbarhet av salat dyrket under HPS med og uten UV-B tilleggslys.

2.2 Plantemateriale og kultiveringspraksis

Forsøkene ble utført ved Senter for Klimaregulert Planteforskning (SKP) på Universitetet for Miljø og Biovitenskap (UMB) i perioden november 2009 til mars 2011.

Frø fra 3 sorter salat ble benyttet i forsøk 1: *Lactuca sativa* L. cv. 'Carmoli' RZ85, Lollo Rosso, cv. 'Frillice' og cv. 'Lollo Bionda Lugano' RZ286-17 fra LOG A/S (Oslo, Norge). I forsøk 2-6 ble bare 'Carmoli' RZ85-85 benyttet.

I alle planteforsøkene ble frøene sådd direkte i gjødslet torv (LOG Superflora, Oslo, Norge) i 11 cm pletter som ble benyttet gjennom hele forsøket. I forsøk 1,4,5 og 6 ble plantene drevet fram i et veksthus med akrylvegger, glasstak og HPS-tilleggsbelysning. I forsøk 2 og 3 ble salaten drevet fram i et vekstkammer. Tilleggsbelysning på $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR (Photosynthetic Active Radiation) fra 400 W høytrykks natriumdamparmaturer (HPS) (Gavita Superagro, Norge) med Lucalox PS 400w pære (GE lighting, USA) i alle forkultiveringsoppsett.

Forkultiveringen ble utført med en fotoperiode på 20 timer i døgnet og 4 timer mørke. Temperaturen var 20°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) og luftfuktigheten 70% ($\pm 10\%$). Settpunkt for CO₂ var 800 ppm tilført i veksthuset kontinuerlig gjennom fotoperioden i vekstkammerene var det naturlig CO₂ nivå (ca 400 ppm). I forsøk 1,3,4 og 5 ble planter med frøblad og første synlig ekte blad overført direkte til de ulike lysbehandlingene. I forsøk 4 ble plantene overført til lysetterbehandling etter å ha nådd salgbar størrelse.

Alle lysmålinger i forkultiveringsoppsettene og forsøkene ble utført med Li-cor LI 190 SA quantum sensor (LI-COR, USA).

I forsøk 1, 2, 3, 4, 5 og 6 ble plantene vannet etter behov. Plantene ble tilført springvann til det var synlige røtter i dreneringskullene i pottene. Videre ble de vannet med en standard næringsløsning som benyttes på SKP som inneholder: Superba™ Rød (9-5-25+Mg og mikro), (Yara, Norge) og Kalksalpeter™ (Yara, Norge) med en ledningsevne (EC) på 1,5 mS/cm og pH justert til 6.1.

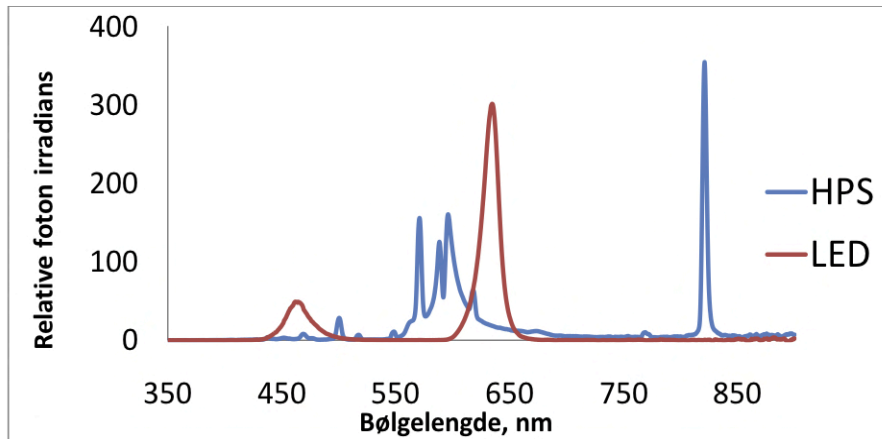
2.3 Forsøk 1. Sammenligning av LED(80R,20B) og HPS som lyskilde for 3 ulike sorter av veksthussalat

Tre sorter med salat: 'Frillice', 'Lollo bionda Lugano' RZ86-17 og 'Carmoli' RZ85-85 ble sådd 13.11.09 og overført etter spiring til to behandlinger i veksthus med naturlig lysinnstråling med tilleggsbelysning fra 16.11.09 til forsøkslutt 21.12.09.

10 salat fra hver av sortene 'Frillice', 'Lollo Bionda Lugano' og 'Carmoli' ble plassert i et veksthusrom med enten høytrykks natrium lamper (HPS) (Gavita Superagro 400w, Andebu, Norge) med Lucalox PS 400w pære (GE lighting, USA)(figur 2), eller light emitting diodes (LED). LED lampene besto av 20% blå og 80 % røde dioder (figur 2) 162W (Bestlamp electronics CO, China). I begge behandlingene ble lysintensitet målt til 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR $\pm 10\%$ i plantesjiktet..

Fotoperioden var 20 timer lys fra 02:00-22:00 og den globale fotosyntetiske innstrålingen var 1.57 $\text{molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$ for denne perioden og UV-strålingen var på 0.059 MJ $\text{m}^{-2}\text{dag}^{-1}$ for samme periode (Meteorologisk data fra Ås). Temperaturen var 20°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) og luftfuktigheten på 70% ($\pm 10\%$) dag og natt. Settpunktet for CO₂ var satt til 800 ppm tilført kontinuerlig gjennom fotoperioden. Klima ble regulert ved hjelp av en Priva computer type Connex, (De Lier, The Netherlands).

Gjentaket ble sådd 08.01.2010 og overført til behandlinger 14.01.2010 og forsøket avsluttet 22.02.2010. Forsøksoppsettet var nøyaktig som beskrevet i forsøk 1 men den globale fotosyntetiske innstrålingen var $5.86 \text{ molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$ for denne perioden og total UV-stråling var $0.161 \text{ MJ m}^{-2}\text{dag}^{-1}$ (Meteorologisk data fra Ås).



Figur 2. Spektralsammensetning av HPS- og LED-lyskildene i forsøket. (Figur fra Knut-Asbjørn Solhaug målt med spektralanalysator type 756 (Optronics Laboratories, Orlando, FL, USA))

Phytochrome Photostationary State (PSS) ble beregnet på bakgrunn av spektralsammensetningen til den aktuelle lyskilden og fytokromets relative absorptans i Pfr-form: $PSS = Pfr/P$ som beskrevet i Sager et al. (1988). PSS for HPS-behandlingen var 0.86 og for LED-lampene var den 0.89.

I begge gjentakene ble bladareal, friskvekt og antall blader registrert ved forsøkslutt. Etter registrering ble plantematerialet dypfrost og lagret ved $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ før kjemiske innholdsanalyser.

2.4 Forsøk 2. Sammenligning av Multiplex 3 og standard kjemiske analyser av innholdstoffer i salat dyrket under HPS og LED(80R,20B)

'Carmoli' RZ85-85 sådd 20.12.10. Salaten ble overført 17.01.11 til HPS og LED behandlinger som beskrevet i forsøk 1 og 07.03.11 ble gjentaket gjort opp. Den globale fotosyntetiske innstrålingen var på $7.732 \text{ molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$ og UV-stråling var på $0.330 \text{ MJ m}^{-2}\text{dag}^{-1}$ for denne perioden. Ved forsøkslutt ble salaten målt for dens relative andel av anthocyaniner og flavonoider med Multiplex 3 og frosset ned umiddelbart til $-28 \text{ }^\circ\text{C}$ for oppbevaring før kjemiske analyser.

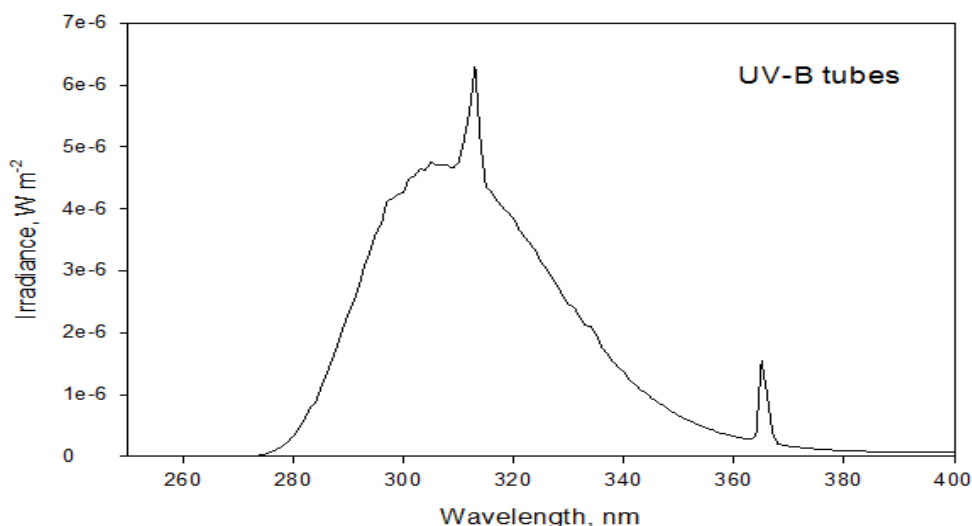
2.5 Forsøk 3. Effekt av UV-B tilleggstråling med og uten mørkerødt lys i slutten av dagen (SAD) sammenlignet med vanlige lysstoffrør på innhold av flavonoider og anthocyaniner og vekst av rødfarget salat

Salat (*Lactuca sativa* L. cv. 'Carmoli' RZ85-85, Lollo Rosso) ble sådd 19.9.10 og overført til tre ulike kammere uten naturlig lysinnstråling den 11.10.10. Forsøket ble registrert 27.10.10. Gjentaket ble sådd 20.12.10 og overført til de respektive behandlingene 14.01.11 og registrert 31.01.11.

I de 3 behandlingene ble det benyttet standard hvite lysstoffrør (Phillips MASTER TL-D Super 80 36W/840, France) med lysintensitet på $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{PAR} \pm 10\%$.

I behandling 1 (kontroll) ble det brukt en polykarbonat plate mellom lyskilden og plantene for å filtrere bort UV-B stråling fra lysrørene. Behandling 2 og 3 ble bestrålt med UV-B rør (Q-panel UV 313, Largo, Göteborg, Sweden) i 30 minutter per dag under fotoperioden ($2.3 \text{ Wm}^{-2} \pm 10\%$) målt med SKYE Spectro Sense 2 (Skye Instruments Ltd., Powys, UK). Behandling 3 ble i tillegg belyst i 30 minutter med 60W glødelampe (Osram588, France). Rødt/mørkerødt forhold= 0.57 målt med Skye SKR 100 (Skye Instruments Ltd., Powys, UK). Det ble gitt som "slutten av dagen" (SAD) behandling etter fotoperioden.

Temperatur var $20^\circ\text{C} (\pm 0.5^\circ\text{C})$ dag og natt. Fotoperioden var 20 timer (20:00-16:00) og 4 timer mørke. Forsøkskamrene hadde ingen mulighet for regulering av luftfuktighet eller CO_2 .



Figur 3. Spektralsammensetning av UV-B tilleggsrør (Q-panel UV 313) i forsøk 3. Viser relativ irradians i $\text{W m}^{-2} \text{nm}^{-1}$. (Figur fra Knut-Asbjørn Solhaug målt med spektralanalysator type 756 (Optronics Laboratories, Orlando, FL. USA))

Gjentaket ble sådd 20.12.10 under $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR $\pm 10\%$ uten naturlig innstråling i vekstkammer.

Salaten ble overført til behandlinger 14.01.11 og avsluttet 31.01.2011. Ellers var klimaparametere helt like. I begge gjentakene var det problemer med å stabilisere lysmengden i forsøkskammerne. Intensiteten styres ved hjelp av en lysdimmer. Intensiteten ser ut til å forandre seg litt etter mørkeperioden, altså når lyset skrur seg på igjen. I forsøk 1 var det derfor noe mindre lys i behandling 3 enn i 1 og 2. Dette ble rettet på underveis og etter 5 dager var problemet løst. Samme problem oppsto under gjentaket men denne gangen ble problemet løst etter 2 dager. Lysene ble i utgangspunktet justert til $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR $\pm 10\%$ i begge gjentakene. I gjentak 1 ble det til slutt stabilisert på $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR $\pm 10\%$ og i gjentak 2 på $160 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR $\pm 10\%$. Det betyr noe ulik lyssum for de to gjentakene men innenfor $\pm 10\%$.

Ved forsøksslutt ble det gjort registreringer av bladareal, friskvekt og tørrvekt, antall blader og målinger av relativ mengde anthocyanin og flavonoid med Multiplex 3 i begge gjentakene.

2.6 Forsøk 4. Effekt av LED og HPS \pm UV-B lysbehandlinger på innhold av flavonoid og anthocyanin på salgsklare salathoder. 10 dager lysbehandling (pre-harvest)

Salat 'Carmoli' RZ85-85, Lollo Rosso ble sådd 19.01-11 i veksthus med naturlig lysinnstråling under tilleggsbelysning (se kap. 2.2) og overført til 5 ulike behandlinger 07.03.11 og avsluttet 17.03.11, totalt 10 dager under de ulike tilleggslysbehandlingene. Forsøket ble ikke gjentatt.

Alle 5 behandlinger ble belyst med $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \pm 10\%$ PAR. I behandling 1 ble det benyttet LED-moduler (Philips GreenPower LED HF blue, Holland) med "topp" på 470 nm. I behandling 2 ble det brukt LED moduler (Philips GreenPower LED HF deep red, Holland) med topp på 660nm. I behandling 3 var tilleggsbelysning gitt med LED-lys som besto av 20% blå og 80 % røde dioder, 162W (Bestlamp electronics CO, China). Behandling 4 (kontroll) besto av HPS (Gavita Superagro 400w, Andebu, Norge) med Lucalox PS 400w pære (GE lighting, USA). I behandling 5 var det også HPS tilleggslys som beskrevet under behandling 4. I tillegg var det også $0.1 \text{Wm}^{-2} \pm 10\%$ UV-B irradians gitt ved UV-B rør (Q-panel UV 313, Largo, Gøteborg, Sweden) i 60 minutter/dag under lysperioden. Fotoperioden

ble satt til 20 timer lys og 4 timer mørke. UV-B irradians målt SKYE Spectro Sense 2 (Skye Instruments Ltd., Powys, UK).

Den globale fotosyntetiske innstråling var på $18.30 \text{ molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$ og den globale UV-strålingen var $0.44 \text{ MJ m}^{-2}\text{dag}^{-1}$ i perioden fra 07.03.11 til 17.03.11. Temperatur var 20°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) dag og natt og RH på 70% og CO_2 satt til 800 ppm. Alle behandlingene i forsøket ble målt for flavonoider og anthocyaniner med en Multiplex 3 ved forsøksstart og etter 4 og 10 dager.

2.7 Forsøk 5. Effekt av LED og HPS lysbehandlinger på innhold av flavonoid og anthocyanin i salat. Lysbehandling gjennom hele vekstperioden

Salat 'Carmoli' RZ85-85, Lollo Rosso ble sådd 03.02.11 i veksthus med naturlig lysinnstråling. Etter spiring ble de overført 07.02.11 til 4 ulike behandlinger i veksthus med tilleggsbelysning under forskjellige lyskvaliteter. Forsøket ble gjort opp 17.03.11. Forsøket ble ikke gjentatt.

Alle behandlingene belyst med $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \pm 10\%$ PAR. I 3 behandlinger ble det brukt LED-lys med forskjellig sammensetning av dioder. Behandling 1 var med blå dioder, behandling 2 med bare røde dioder og behandling 3 var med 20% blå og 80% røde dioder. I behandling 1-3 ble det brukt LED-belysning, 90W (Bestlamp electronics CO, China). Behandling 4 ble det benyttet HPS-belysning (Gavita Superagro 400w, Andebu, Norge) med Lucalox PS 400w pære (GE lighting, USA). Lysintensitet ble målt til $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ PAR $\pm 10\%$ i plantesjiktet. Fotoperioden var 12 timer og det ble benyttet kortdagsduk for å forhindre lysinnslag i mørkeperioden.

Den globale fotosyntetiske innstråling var på $12.39 \text{ molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$ og den globale UV-strålingen var $0.29 \text{ MJ m}^{-2}\text{dag}^{-1}$ i perioden fra 07.02.11 til 17.03.11. Temperatur var 20°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) dag og natt og RH på 70% og CO_2 satt til 800 ppm. Alle behandlingene i forsøket ble målt for flavonoider og anthocyaniner med en Multiplex 3 ved forsøksslutt.

2.8 Forsøk 6. Holdbarhetstest ved kjølelagring

9 salathoder av sorten Carmoli fra HPS (kontroll) og 9 fra HPS + UV-B fra forsøk 4 ble overført den 17.03.11 til kjølebehandling i $+5^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) i 16 dager. Kjøleskap modell

Termaks KB2324 (Bergen, Norway). Ved forsøkslutt ble salatene vurdert etter 3 predefinerte kategorier:

1. Fortsatt salgbar/spiselig.
2. Fortsatt noen friske blader men under 50% har begynt å bli slappe og henge eller klorotiske/nekrotiske/råtne.
3. Over 50 % av bladene er slappe/nekrotiske/klorotiske/råtne.

2.9 Registreringer av vekstparametere

I forsøk 1 ble det registrert antall blader (blad ble definert som lenger enn 1 cm) hver uke og ved forsøkslutt.

Total bladareal og areal femte blad ble registrert med Li-Cor leaf area meter (model LI-3100, Licor, Lincoln, NE, USA), antall blader og friskvekt ved forsøksslutt. Etter registreringer ble plantemateriale fra de ulike behandlingene i begge gjentakene overført til fryser -80°C for oppbevaring før analyser av antioksidant aktivitet (FRAP), fenolinnhold og tørrstoffprosent. I forsøk 1 var n=10 og i gjentak var n=20.

I forsøk 3 ble det ved forsøkslutt registrert antall blader, friskvekt, tørrvekt og total areal (model LI-3100, Licor, Lincoln, NE, USA). For forsøk 3 og gjentak var n=10.

2.10 Kjemiske analyser: antioksidant aktivitet (FRAP) og totalfenol

Analyser av antioksidantaktivitet og fenolinnhold ble utført ved hjelp av en Konelab 30i (Kone instrument corp. Espoo., Finland). FRAP og innholdet av fenoler ble utført i forsøk 1 (to gjentak) og forsøk 2.

2.11 Opparbeiding av prøve for analyse av antioksidantaktivitet og total fenoler

Ved forsøksslutt (Forsøk 1) ble 10 salathoder fra hver behandling dypfrost til -80°C. I forsøk 2 ble 5 salathoder fra hver behandling dypfrost til -28°C.

Salaten ble tint før de kjemiske analysene ble utført. 30g salat fra hver behandling ble homogenisert med en stavmikser (Braun MR400, Karlsruhe, Germany) og triplikatprøver på 3 gram fra hver behandling ble tilsatt 30 ml methanol i 50 ml duranflasker. Prøveflaskene ble

etterfylt med nitrogen og siden korket. Videre ble prøveflaskene satt i ultralydbad ved 0°C 15 minutter (Sonorex RK 100, Bandelin GmbH & Co., Berlin, Germany). Til slutt ble de nedfrost til -20°C for oppbevaring før analyse.

Antioksidantaktivitet ble målt ved hjelp av FRAP (Ferric reducing activity power) assay (Benzie & Strain, 1999). Metoden baserer seg på forandringen i absorbans når Fe (TPTZ)³⁺ blir redusert til Fe (TPTZ)²⁺ ved 595 nm. Reaksjonen skjer ved lav pH 3.6. Mengden elektroner som blir donert bestemmer fargeforandringen av prøvene og absorpsjonen ved 595 nm. Antioksidantaktivitet resultatene presenteres i mmol/100g produkt (Friskvekt).

Mengde fenoler ble målt ved hjelp av Folin-Ciocalteu metoden (Waterhouse, 2002). Denne metoden baserer seg på reduksjonen av Folin-Ciocalteu reagens (FCR) som er en blanding av tungsten og molybden oksider. Når FCR blir redusert dannes det et blåfarget produkt. Dette absorberer sterkt ved 765nm. Intensiteten av absorpsjonen sies å tilsvare summen av bidragene til de ulike fenolkategoriene som finnes i løsningen (Wrolstad, 2002). Totalfenoler presenteres som mg gallesyre/100g produkt (Friskvekt).

2.12 Multiplex 3-estimering av flavonoider og anthocyaniner med fluoresens eksitasjon ratio metode (FER)-ikke destruktiv metode

I forsøk 2, 3, 4 og 5 ble en Multiplex 3 (FORCE A, Université Paris Sud 11 – Bâtiment 50391893 Orsay, Cedex, France) brukt for å estimere den relative mengden polyfenolske stoffer over klorofyllet (i epidermis). Mørkerødt klorofyll fluoresens eksitert av UV-A, blått, grønt og rødt –lys ble brukt for å regne ut den relative mengden av UV-A absorberende stoffer (flavonoider), denne ble bestemt som $\log(\text{FRF}_R/\text{FRF}_G)$. Anthocyaniner ble bestemt som $\log(\text{FRF}_R/\text{FRF}_{\text{UVA}})$. Denne metoden er beskrevet i Cerovic et al. (2008).

I alle Multiplex 3 målingene ble det tatt 3 målinger av hver plante, en rett ovenfra og to 45° grader fra siden fordi mengden fenoler antas å være ujevnt fordelt på bladene. I forsøk 2, 3 og 5 ble det kun utført Multiplex-målinger ved forsøkslutt med henholdsvis n=5, n=10 og n=9 for hver behandling. I forsøk 5 ble det tatt målinger på tre ulike tidspunkt: Ved start, etter 4 dager og etter 10 dager.

2.13 Isolering av salatkloroplast for å lage en ny standard for ”uskjernet” fluoresens

Som beskrevet under avsnittet om Multiplex 3, brukes det en ”blå” standard for å kalibrere Multiplex 3. Denne er tenkt sammenlignbar med ”uskjernet” klorofyll. I salat *in vivo* vil det være en del pigmenter i epidermis over klorofyllet. Det er disse pigmentene vi måler indirekte med Multiplex 3. I en annen undersøkelse (Rodriguez et al., 2012. Upublisert) fikk vi noen negative verdier for anthocyaniner og flavonoider. Negative verdier gir ingen mening, så det ble antatt at den blå standarden ikke passet for salat. Multiplex 3 er i utgangspunktet utviklet for druer og det er sannsynlig at fluoresens av druekloroplast er annerledes enn for salatkloroplast. Det ble laget en ny standard ved å måle rødt induert fluoresens av isolert salatkloroplast.

Levende blader salat *Lactuca sativa* L. cv. ‘Carmoli’ RZ85-85 ble kuttet opp og blandet med 0,33M sorbitolløsning (isotont medium) og homogenisert i en morter. Blandingen ble holdt avkjølt med is under morteren under hele prosessen. Blandingen ble filtrert gjennom gaz og nettingduk. Dette ble igjen sentrifugert ved 4000RPM i 2 minutter. Det ble blandet inn mer sorbitolløsning og supernatanten ble forkastet. Den flytende blandingen ble fordelt på et filterpapir slik at det dannet ett ”kunstig blad”. Det ble tatt 3 målinger med Multiplex 3. Disse verdiene ble brukt videre som nullpunkt (referansepunkt) i stedet for de verdiene Multiplex 3 gir ved å måle på blå standard. Ved hjelp av den nye standarden ble alle verdiene positive og den nye standarden ble anvendt på alle resultatene.

2.14 Statistiske analyser

R-programvare for statistikk (versjon: august 2011) ble brukt for statistiske analyser. Enveisanalyser av varians (ANOVA) og Tukey kontrastanalyse. Anova GLM variansanalyse ble utført ved hjelp av Minitab (ver. 16) i forsøk 1. Signifikans for $P < 0.05$.

3 Resultater

3.1 Sammenligning av HPS og LED(80R,20B) som tilleggsllys på antioksidantkapasitet og fenolforbindelser målt med standard destruktive kjemiske metoder i tre ulike kultivarer av salat

I forsøk 1 ble kvalitetsegenskaper og vekstparametere undersøkt for tre ulike kultivarer av salat. Salaten ble dyrket i to gjentak om vinteren fra november til februar med lite naturlig lysinnstråling. Det var ulik mengde naturlig innstråling i de to gjentakene derfor er resultatene fra begge gjentakene presentert i tabell 1.

Signifikant 3-veis samspill ble observert mellom lyskvalitet, sort og gjentak (Tabell 1). Det var store forskjeller i innhold av fenolforbindelser og antioksidantaktivitet mellom ulike kultivarer og mellom lysbehandlingene. Det er mer fenoler og høyere antioksidant kapasitet under LED(80R,20B)-behandlingene for alle kultivarer i begge gjentakene. Den røde salaten 'Carmoli' har 3-4 ganger mer fenolforbindelser enn de grønne kultivarene uavhengig av lysbehandling. I første gjentak har 'Carmoli' også nesten 3 ganger mer fenolforbindelser under LED(80R,20B)-behandlingen enn under HPS-behandlingen. Det er ikke tilsvarende for de grønne kultivarene. Det er viktig å legge merke til at innholdet av fenoler har økt i alle behandlingene i gjentak 2 sammenlignet med gjentak 1 med unntak av 'Carmoli', hvor innholdet av fenoler var lavere i gjentak 2 sammenlignet med gjentak 1.

Tabell 1. Innhold av fenoler målt i mg gallesyre/100 g friskvekt for tre kultivarer av salat. Lactuca sativa L. cv 'Carmoli' RZ85-85, Lollo Rosso, cv. 'Frillice' og cv. 'Lollo Bionda Lugano' RZ286-17 ble dyrket i veksthus med $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR LED(80R,20B) eller HPS som tilleggsllys i 35 dager med $1.57 \text{ molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$ naturlig innstråling i gjentak 1 og $5.86 \text{ molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$ i gjentak 2. Forsøket ble gjennomført to ganger. Verdier viser gjennomsnitt \pm SE beregnet på grunnlag av $n=3$

Lyskilde	'Carmoli'		'Frillice'		'Lollo Bionda Lugano'	
	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 1	Gjentak 2
LED	145.65 \pm 0.67	128.79 \pm 6.55	35.83 \pm 0.91	50.11 \pm 0.39	42.62 \pm 1.05	45.47 \pm 01.37
	57.16 \pm 2.65	75.10 \pm 0.99	26.81 \pm 0.25	35.27 \pm 0.36	28.11 \pm 1.05	35.1 \pm 1.25

Statistisk signifikans (p-verdier)	
Lyskilde	p<0.0001
Kultivar	p<0.0001
Gjentak	p<0.0001
Lyskilde x kultivar	p<0.0001
Kultivar x gjentak	p<0.0001
Lyskilde x kultivar x gjentak	p<0.0001
Lyskilde x kultivar	p<0.0001

Fenolinnholdet i 'Carmoli' under LED(80R,20B) har en økning på henholdsvis 155% og 71% i gjentak 1 og 2 sammenlignet med HPS. Tilsvarende for 'Frillice' er en økning på henholdsvis 34% og 42 % i gjentak 1 og 2. I 'Lollo Bionda' er denne økningen på henholdsvis 52% og 29 %. Disse resultatene viser at effekten på fenolinnhold av LED behandlingen er høyere i 'Carmoli' enn i de to grønne kultivarene.

Tabell 2. Antioksidant kapasitet målt i Mmol/100 g salat (friskvekt) for tre kultivarer av salat. Lactuca sativa L. cv 'Carmoli' RZ85-85, Lollo Rosso, cv. 'Frillice' og cv. 'Lollo Bionda Lugano' RZ286-17 ble bestrålt med $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR LED(80R,20B) behandling og HPS-behandling i 35 dager dyrket i veksthus med $1.57 \text{ molm}^{-2} \text{dag}^{-1}$ naturlig innstråling i gjentak 1 og $5.86 \text{ molm}^{-2} \text{dag}^{-1}$ i gjentak 2. Anova variansanalyse, ikke signifikans på $p \geq 0.05$. Forsøket ble gjennomført to ganger. Verdier viser gjennomsnitt \pm SE beregnet på grunnlag av $n=3$

Lyskilde	'Carmoli'		'Frillice'		'Lollo Bionda Lugano'	
	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 1	Gjentak 2
LED	1.59 ± 0.02	1.24 ± 0.07	0.37 ± 0.00	0.38 ± 0.00	0.39 ± 0.01	0.34 ± 0.02
HPS	0.49 ± 0.02	0.60 ± 0.03	0.17 ± 0.00	0.25 ± 0.00	0.18 ± 0.01	0.23 ± 0.01

Statistisk signifikans (p-verdier)

Lyskilde	p<0.0001
Kultivar	p<0.0001
Gjentak	p<0.0001
Lyskilde x kultivar	p<0.0001
Kultivar x gjentak	p<0.0001
Lyskilde x kultivar x gjentak	p<0.0001
Lyskilde x kultivar	p<0.0001

Forholdet mellom verdiene for antioksidantaktivitet følger samme mønster som innholdet av fenoler i de ulike kultivarene under de to lys-behandlingene og viser samme signifikante treveis-samspill (Tabell 2). Antioksidantaktivitet under LED (80R,20B) øker i 'Carmoli' med henholdsvis 224%.og 106% i gjentak 1 og 2 sammenlignet med HPS. I 'Frillice' er tilsvarende økning på 117% og 52% i gjentak 1 og 2. 'Lollo Bionda' øker antioksidantaktivitet med 116 % i gjentak 1 og 48 % i gjentak 2. Den røde kultivaren har 3-4 ganger høyere antioksidantaktivitet enn de grønne kultivarene i gjentak 1, og 2-3 ganger høyere antioksidantaktivitet enn de grønne kultivarene i gjentak 2. Antioksidantaktivitet er lavere i 'Carmoli' i andre gjentak med større naturlig lysinnstråling enn i gjentak 1.



Figur 4. Salat 'Carmoli', 'Lollo bionda' og 'Frillice' (fra venstre til høyre) dyrket i forsøk 1 (gjentak 2) etter 35 dager under HPS og LED(80R,20B) tilleggsbelysning med $5.86 \text{ molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$ naturlig lysinnstråling. (Foto av Christopher Rodriguez).

Alle kultivarer av salat var mindre under LED behandlingene enn under HPS behandlingene i begge gjentak. Den røde salattypen 'Carmoli' var betraktelig mer rødfarget under LED sammenlignet med HPS (figur 4).

3.2 Effekt av HPS og LED(80R,20B) som tilleggsllys på vekstparametere hos ulike salatsorter dyrket i veksthus om vinteren

Det er signifikante statistiske forskjeller på vekstparametere for rødfarget salat 'Carmoli' dyrket under HPS og LED(80R,20B). Friskvekten er 3 ganger større under HPS enn under LED(80R,20B) behandlingen i første gjentak. I andre gjentak er friskvekten dobbelt så høy under HPS sammenlignet med LED(80R,20B). Det er også forskjeller mellom gjentakene. HPS behandlingen veide omtrent 50% mindre i gjentak 2 mens det var små forskjeller mellom gjentakene under LED(80R,20B) behandlingene. Denne responsen er spesifikk for 'Carmoli' og er motsatt korrelert til mengden fenoler og antioksidantaktivitet. Tendensene er de samme for de andre vekstparametere. Det var signifikant større bladareal hvor HPS hadde 253% større bladareal enn 'Carmoli' under LED. Det er signifikante forskjeller i tørrstoffprosent, med 16% høyere tørrstoffprosent i 'Carmoli' under LED sammenlignet med HPS i gjentak 1.

Tabell 3. Effekt på *Lactuca sativa L.* cv 'Carmoli' RZ85-85, Lollo Rosso under $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR lysintensitet HPS og LED(80R,20B) tilleggsllysbehandlinger, med $1,57 \text{ molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$ naturlig innstråling i gjentak 1 og $5,86 \text{ molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$ i gjentak 2, i veksthus på ulike vekstparametere 2 Statistisk Signifikans koder '***' $p \leq 0.001$, '**' $p \leq 0.01$ og '*' $p \leq 0.05$ beregnet ved hjelp av kontraster (Tukey). Tabellen viser resultater fra to gjentak (Forsøk 1) med gjennomsnittsverdier \pm SE beregnet på grunnlag av $n=10-11$.

Vekstparametere	HPS	LED	Stat. Sign.	HPS	LED	Stat. Sign.
	Gjentak 1	Gjentak 1		Gjentak 2	Gjentak 2	

Friskvekt (g)	45.6 ± 8.6	15.0 ± 3.7	***	31.4 ± 6.7	16.3 ± 3.0	***
Bladareal (cm ²)	708.4 ± 129.1	280 ± 57.7	***	541.0 ± 103.2	296.3 ± 42.4	***
Areal 5.blad (cm ²)	130.4 ± 27.6	52.4 ± 10.2	***			
Antall blader	12.5 ± 0.9	9.7 ± 0.8	***	9.9 ± 1.0	8.5 ± 0.6	***
Tørrstoff (%)	7.46	8.69	***	7.27	9.26	***

Det er også signifikante forskjeller på alle vekstparametere, utenom antall blader i første gjentak, for den grønne salaten 'Frillice' (Tabell 4). Friskvekt og bladareal er henholdsvis 67% og 73% høyere under HPS enn under LED (gjentak 1). Forskjellene mellom lysbehandlingene er ikke like store som for 'Carmoli'. Det er små forskjeller i friskvekt mellom de to gjentakene under LED-behandlingen. Friskvekten under HPS økte noe i det andre gjentak, og dette er motsatt av responsen på 'Carmoli'.

Tabell 4. Effekt på *Lactuca sativa L. cv 'Frillice'* under 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR lysintensitet under HPS og LED tilleggslisbehandlinger, med 1,57 $\text{mol m}^{-2} \text{dag}^{-1}$ naturlig innstråling i gjentak 1 og 5,86 $\text{mol m}^{-2} \text{dag}^{-1}$ i gjentak 2, i veksthus på ulike vekstparametere. Signifikans koder '***' $p \leq 0.001$, '**' $p \leq 0.01$ og '*' $p \leq 0.05$ beregnet ved hjelp av kontraster (Tukey). Tabellen viser resultater fra to gjentak (Forsøk 1) med gjennomsnittsverdier \pm SE beregnet på grunnlag av $n=10-11$.

Vekstparametere	HPS	LED	Stat. Sign.	HPS	LED	Stat. Sign.
	Gjentak 1	Gjentak 1		Gjentak 2	Gjentak 2	
Friskvekt (g)	28.1 ± 5.0	16.8 ± 3.8	***	34.4 ± 3.9	16.3 ± 2.2	***
Bladareal (cm ²)	428.7 ± 82.7	247.7 ± 39.7	***	450.4 ± 48.9	232.1 ± 21.9	***
Areal 5.blad (cm ²)	59.3 ± 8.3	39.5 ± 7.9	*	46.1 ± 7.1	29.6 ± 4.4	***
Antall blader	12.6 ± 0.8	11.7 ± 0.7	(ns)	11.6 ± 0.5	10.0 ± 0.5	***
Tørrstoff (%)	5.24	7.99	***	7.09	9.45	***

Det er signifikante forskjeller mellom HPS og LED-behandlinger for alle vekstparametere i begge gjentak for 'Lollo Bionda' (Tabell 5). Friskvekten er 199% høyere

under HPS enn under LED (gjentak 1). Tilsvarende er bladarealet 62% høyere under HPS enn under LED. Det er større forskjeller i første gjentak enn i andre slik det var for 'Carmoli'.

Tabell 5. *Lollo Bionda*: Effekt på *Lactuca sativa L.* cv 'Lollo Bionda Lugano' RZ286-17 under 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR lysintensitet under HPS og LED tilleggslysbehandlinger, med 1,57 $\text{molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$ naturlig innstråling i gjentak 1 og 5,86 $\text{molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$ i gjentak 2, i veksthus på ulike vekstparametere. Signifikans koder '***' $p \leq 0.001$, '**' $p \leq 0.01$ og '*' $p \leq 0.05$ beregnet ved hjelp av kontraster (Tukey). Tabellen viser resultater fra to gjentak (Forsøk 1) med gjennomsnittsverdier \pm SE beregnet på grunnlag av $n=10-11$.

Vekstparametere	HPS	LED	Stat.	HPS	LED	Stat.
	Gjentak 1	Gjentak 1	Sign.	Gjentak 2	Gjentak 2	Sign.
Friskvekt (g)	44.0 \pm 3.8	14.7 \pm 3.1	***	32.0 \pm 5.0	18.0 \pm 3.8	***
Bladareal (cm ²)	616.5 \pm 57.7	256.8 \pm 34.1	***	481.2 \pm 65.8	279.4 \pm 59.5	***
Areal 5.blad (cm ²)	89.4 \pm 11.7	35.4 \pm 5.0	***	49.3 \pm 8.2	32.6 \pm 3.8	**
Antall blader	13.8 \pm 0.6	10.3 \pm 0.7	***	11.1 \pm 0.6	9.3 \pm 0.5	***
Tørrestoff (%)	5.09	7.33	***	5.84	6.81	***

3.3 Effekt av UV-B stråling på den relative mengden flavonoider og anthocyaniner i salat dyrket i vekstkammer målt med ikke destruktive metoder: FER

Det er signifikante forskjeller mellom lysbehandlingene for mengden flavonoider og anthocyaniner. Omtrent en dobling mellom kontroll og UV-B behandlingene for flavonoider og 2.5 ganger mer anthocyaniner i UV-B behandlingene sammenlignet med kontroll. Forskjellene mellom UV-B med og uten SAD mørkerødt lys er ikke statistisk signifikante.

Tabell 6. Relativ mengde flavonoider og anthocyaniner målt med fluoresens-eksitasjons ratio-metoden (FER) som absorbans av henholdsvis UV-A og grønt-lys. *Lactuca sativa L.* cv 'Carmoli' RZ85-85, *Lollo Rosso* bestrålt med 150-160 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR under hvite lysstoffrør, hvite lysstoffrør + 2,5 W \pm 10% UV-B og hvite lysstoffrør + UV-B + 30 min slutten av dagen mørkerødt-lys (SAD) i vekstkammer i 16 dager. Ulike bokstaver i radene indikerer signifikante forskjeller på $p \leq 0,05$ nivå

(Tukey). Forsøket ble gjennomført to ganger med liknende resultater. Verdier er gjennomsnitt \pm SE av to gjentak og $n=10$.

	Kontroll	UV-B	UV-B+SAD mørkerødt
Flavonoider (UV-A absorbanse)	0.553 \pm 0.097 a	1.073 \pm 0.093 b	1.052 \pm 0.081 b
Anthocyaniner (grønt-lys absorbanse)	0.070 \pm 0.027 a	0.290 \pm 0.050 b	0.271 \pm 0.036 b

3.4 Effekt av UV-B stråling på ulike vekstparametere

UV-B irradians har en negativ effekt på både friskvekt, bladareal og antall blader. Det er statistiske signifikante forskjeller mellom UV-B behandlingene (med og uten mørkerødtlys SAD-behandling) og kontroll og tendensen er den samme i begge gjentak. Det er 53.3% høyere friskvekt for behandlingen uten UV-B sammenlignet med UV-B, og 42.5% høyere friskvekt for behandlingen uten UV-B sammenlignet med UV-B med SAD i gjentak 1. Denne forskjellen er enda større i gjentak 2. Effekten av SAD er ikke statistisk signifikant, men peker likevel ensidig i retning av høyere friskvekt og større bladareal. Det er også statistisk signifikante forskjeller i antall blader mellom behandlinger med og uten UV-B i begge gjentakene, UV-B med og uten SAD har 12.7 stk blader og kontroll har 14.6 stk blader i gjentak 1. Bladarealet under kontroll er henholdsvis 30% og 40% større enn bladarealet under UV-B + SAD og UV-B behandlingene.

*Tabell 7. Effekt av 150 og 160 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR hvite lysstoffrør, hvite lysstoffrør +2,5W \pm 10% UV-B stråling og hvite lysstoffrør +UV-B +30 min slutten av dagen mørkerødt-lys (SAD) i vekstkammer i 16 dager på vekstparametere av *Lactuca sativa L. cv 'Carmoli' RZ85-85, Lollo Rosso*. Forskjellige bokstaver i samme kolonner betyr signifikante forskjeller på $p \leq 0,05$ nivå (Tukey). Tabellen inneholder to gjentak (Forsøk 3) med henholdsvis 160 og 150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR lysintensitet. Gjennomsnittsverdier og \pm SE beregnet på grunnlag av $n=10$.*

Behandling	Friskvekt (g)	Bladareal (cm^2)	Antall blader
160 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$			

Kontroll	75.1 ± 9.8 a	930.2 ± 125.2 a	14.6 ± 1.3 a
30 min. UV-B	49.0 ± 3.1 b	811.7 ± 53.4 b	12.7 ± 0.7 b
30 min. UV-B + SAD	52.7 ± 8.0 b	865.7 ± 119.3 ab	12.7 ± 0.9 b
<hr/>			
<i>150 μmol m⁻² s⁻¹</i>			
Kontroll	45.71 ± 6.7 a	713.6 ± 71.8 a	11.3 ± 0.7 a
30 min. UV-B	23.1 ± 6.0 b	509.0 ± 100.0 b	10.1 ± 0.7 b
30 min. UV-B + SAD	25.6 ± 6.3 b	546.1 ± 106.1 b	10.4 ± 0.8 b
<hr/>			

3.5 FER-metoden sammenlignet med standard kjemiske målinger

I forsøk 2 ble to ulike metoder for innholdsanalyse gjort på samme prøver av salat. Multiplex 3-FER-metoden (Tabell 8) og standard kjemiske analyser (Tabell 9).

*Tabell 8. Innhold av flavonoider og anthocyaniner målt med fluoresens-eksitasjons ratio-metoden (FER) som absorbans av henholdsvis UV-A og grønt lys. Lactuca sativa L. cv 'Carmoli' RZ85-85, Lollo Rosso bestrålt med 100 μmol m⁻² s⁻¹ rød/blå LED-behandling og HPS-behandling i 49 dager med naturlig lysinnstråling i veksthus. Signifikans koder '***' p ≤ 0.001, '**' p ≤ 0.01 og '*' p ≤ 0.05. Forsøket ble gjennomført en gang. Verdier viser gjennomsnitt ± SE beregnet på grunnlag av n=5.*

	LED(80R,20B)	HPS	Signifikans
Flavonoider (UV-A-absorbans)	0.715±0.074	0.528±0.081	**
Anthocyaniner (grønt-lys absorbans)	0.102±0.018	0.041±0.027	**

I forsøk 2 er det relative innholdet av flavonoider og anthocyaniner målt med Multiplex 3 signifikant forskjellig mellom de to behandlingene. For flavonoider er det en økning på 35.4% i LED (80R,20B) behandlingen sammenlignet med HPS-behandlingen. For anthocyaniner er økningen i innhold 148% i LED-behandlingen sammenlignet med HPS-behandlingen.

Innholdet av fenoler økte med 32.7% i LED-behandlingen sammenlignet med HPS-behandlingen. Antioksidant kapasitet var 18,8 % høyere i LED-behandlingen enn i HPS-behandlingen (Tabell 9).

Tabell 9. Innhold av fenoler målt i mg gallesyre/100 g friskvekt og antioksidant kapasitet målt i Mmol/100 g salat friskvekt av *Lactuca sativa L. cv 'Carmoli' RZ85-85, Lollo Rosso* bestrålt med $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ rød/blå LED-behandling og HPS-behandling i 49 dager dyrket i veksthus med naturlig innstråling (januar-mars). Signifikans koder '***' $p \leq 0.001$, '**' $p \leq 0.01$ og '*' $p \leq 0.05$. Forsøket ble gjennomført en gang. Verdier viser gjennomsnitt \pm SE beregnet på grunnlag av $n=5$.

	LED(80R,20B)	HPS	Signifikans
FRAP (Mmol/100g)	0.430 \pm 0.020	0.362 \pm 0.013	**
Fenoler (mgGAE/100g)	62.558 \pm 2.827	47.115 \pm 0.575	***

3.6 Effekt av blått, rødt, rødt-blått og UV-B tilleggsllys ved kort og lang behandlingstid på innholdet av flavonoider dyrket i veksthus med naturlig innstråling

I forsøk 4 og 5 ble det målt evne til å syntetisere flavonoider og anthocyaniner under ulike lyskvaliteter lang og kort eksponeringstid. Alle målinger ble gjort med Multiplex 3. Salaten i forsøk 5 (Tabell 10) ble plassert under ulike lyskvaliteter etter spiring med minst ett ekte blad. Det var statistisk signifikante forskjeller mellom behandlingene og blått-tilleggsllys og kombinasjon av rødt og blått-tilleggsllys inneholdt henholdsvis 22% og 28 % mer flavonoider enn HPS. Tilsvarende for anthocyaniner var en økning på henholdsvis 54% og 74% for blått tilleggsllys og rødt-blått tilleggsllys sammenlignet med HPS. Det var ikke statistisk signifikante forskjeller mellom HPS- og rød-LED behandling.

Tabell 10. Relativ mengde flavonoider og anthocyaniner målt med fluoresens-eksitasjons ratio-metoden (FER) som absorberer av henholdsvis UV-A og grønt-lys. *Lactuca sativa L. cv 'Carmoli' RZ85-85, Lollo Rosso* bestrålt med $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ blå, rød og rød/blå LED-behandlinger og en HPS-behandling i veksthus med naturlig innstråling med fotoperiode på 12 timer i 38 dager (se tabell for detaljer, legg inn tidsperiode). Ulike bokstaver i radene indikerer signifikante forskjeller på $p \leq 0,05$ nivå (Tukey). Forsøket ble gjennomført en gang. Verdier er gjennomsnitt \pm SE og $n= 7-9$.

	LED-BLÅ	LED-RØD/BLÅ	LED-RØD	HPS
--	---------	-------------	---------	-----

Flavonoider (UV-A-absorbans)	0.527±0.084a	0.561±0.036a	0.418±0.038b	0.437±0.067b
Anthocyaniner (grønt-lys absorbans)	0.054±0.019ac	0.061±0.010c	0.026±0.012b	0.035±0.018ab

Salaten i forsøk 4 fikk kortere etterbehandlingstid (pre-harvest) med ulike lyskvaliteter. Målinger med Multiplex 3 ble gjort startdagen, etter 4 dager og etter 10 dager. Resultatene viser en kraftig økning i flavonoider og anthocyaniner de første fire dagene under alle behandlingene (Tabell 11 & 12). Det var ikke statistisk signifikante forskjeller mellom behandlingene etter 4 dager men stor økning mellom startdag og fjerde dag. Det var liten økning i syntese av flavonoider mellom 4 og 10 dager, og statistisk signifikante forskjeller mellom behandlingene. Rød-LED-behandlingen hadde 24% høyere innhold av flavonoider (Tabell 11) enn HPS. Tilsvarende tall for rødt-blått, blått og UV-B er henholdsvis 18%, 10% og 21% høyere enn HPS (kontroll). De første 4 dagene øker alle behandlingene med verdier mellom 43% og 50 %.

Tabell 11. Relativ mengde flavonoider målt med fluoresens-eksitasjons ratio-metoden (FER) som UV-A absorbans. Lactuca sativa L. cv 'Carmoli' RZ85-85, Lollo Rosso bestrålt med 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ blå, rød og rød/blå LED-behandlinger og HPS med og uten UV-B tilleggsllys i behandling i veksthus med naturlig innstråling. Målt med Multiplex 3 ved forsøksstart, etter 4 dager og 10 dager. Ulike bokstaver i kolonnene indikerer signifikante forskjeller på $p \leq 0,05$ nivå (Tukey). Forsøket ble gjennomført en gang. Verdier er gjennomsnitt \pm SE og $n=9$.

Behandling 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Flavonoider ved start (7 mars)	Flavonoider etter 4 dager eksponering	Flavonoider etter 10 dager eksponering
HPS	0.459 \pm 0.071	0.679 \pm 0.090 a	0.640 \pm 0.085 b
Rød LED		0.658 \pm 0.082 a	0.791 \pm 0.070 a
Rød/blå LED		0.659 \pm 0.068 a	0.753 \pm 0.078 a
HPS+ UV-B		0.686 \pm 0.083 a	0.775 \pm 0.096 a

Blå LED

0.693 ± 0.092 a

0.703 ± 0.071 ab

NB. Startverdier gjelder for alle behandlingene siden de ble drevet fram under HPS til salgbar størrelse.

Tabell 12. Relativ mengde anthocyaniner målt med fluoresens-eksitasjons ratio-metoden (FER) som grønt-lys absorbers. *Lactuca sativa L. cv 'Carmoli' RZ85-85, Lollo Rosso* bestrålt med 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ blå, rød og rød-blå(80R,20B) LED-behandlinger og HPS med og uten UV-B(0.1 $\text{Wm}^{-2} \pm 10\%$) tilleggsslys i behandlingene i veksthus med naturlig innstråling. Målt med Multiplex 3 ved forsøksstart, etter 4 dager og 10 dager. Ulike bokstaver i kolonnene indikerer signifikante forskjeller på $p \leq 0,05$ nivå (Tukey). Forsøket ble gjennomført en gang. Verdier er gjennomsnitt ± SE og $n=9$.

Behandling	Anthocyaniner ved start (7 mars)	Anthocyaniner etter 4 dager eksponering	Anthocyaniner etter 10 dager eksponering
100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$			
HPS	0.29 ± 0.019	0.097 ± 0.032 a	0.107 ± 0.030 a
Rød LED		0.097 ± 0.033 a	0.142 ± 0.033a
Rød/blå LED		0.104 ± 0.034 a	0.138 ± 0.029 a
HPS+ UV-B		0.109 ± 0.033 a	0.145 ± 0.049 a
Blå LED		0.118 ± 0.044 a	0.122 ± 0.023 a

Det relative innholdet av anthocyaniner i forsøk 4 (Tabell 12) øker mest fra 07.03 til 11.03 (etter 4 dager). Det er ikke signifikante statistiske forskjeller mellom behandlingene, men HPS kontroll ligger noe lavere etter 10 dager (sluttmåling). Anthocyanininnholdet på kontrollbehandling øker like mye de første fire dagene som under de andre behandlingene.

3.7 Effekt av UV-B irradians preharvest behandling på lagringskapasiteten til salat etter høsting

Salatplanter fra HPS og HPS+UV-B behandlingene i forsøk 5 ble overført til kjøleskap direkte etter Multiplex-målingene.

Tabell 13. Effekt av postharvest lagring ved +5 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$) i 16 dager på salat 'Carmoli' RZ85-85, Lollo Rosso bestrålt i 12 dager med 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ HPS med og uten UV-B stråling. I veksthus med naturlig lysinnstråling. Forsøket ble gjennomført en gang.

LYSKILDE	Kategori 1 (fortsatt grønne og friske blader)	Kategori 2 (mindre enn 50% av bladene er nekrotiske/klorotiske)	Kategori 3 (mer enn 50% av bladene er nekrotiske/klorotiske)
HPS	11,1%	44,4%	44,4%
HPS+UV-B	0	0	100%

Tabell 13 viser holdbarhet i kjøleskap for salat dyrket med HPS med og uten etterbehandling (pre-harvest) av UV-B stråling. Salaten under HPS holdt seg markant bedre enn salaten med UV-B stråling. Etter 16 dager var 100% av salatene behandlet med HPS+UV-B enten klorotiske og/eller nekrotiske på over 50% av salathodet. Tilsvarende tall under HPS var 44.4%.

4 Diskusjon

4.1 Lyskvantitet påvirker innholdet av fytokjemikalier i salat

I de to gjentakene i forsøk 1 var det ulike mengder naturlig lysinnstråling. Resultatene viser signifikant samspill mellom lyskvalitet og lyskvantitet. Det er et større innhold av fenolforbindelser og større antioksidantaktivitet i gjentak 2 (Tabell 1 & 2) hvor det var høyest naturlig innstråling, altså totalt sett størst lyskvantitet. Det er to unntak: 'Carmoli' har høyest FRAP og fenolinnhold under LED(80R,20B) med lavest naturlig innstråling og 'Lollo Bionda' fikk størst FRAP-verdi under LED (80R,20R), den også med lavest naturlig innstråling.

I forsøk 4 ble det gitt en kortere etterbehandling med ulike lyskvaliteter, og etter 4 dager hadde behandlingene med blått lys mest anthocyanin men resultatene var ikke signifikante (Tabell 12). Etter 10 dager var forskjellene mellom behandlingene ikke statistisk signifikante (Tabell 12). Resultatene i forsøk 4 er sannsynligvis et resultat av høyt naturlig lys som overstyrer effekten av lampetype. I mars var det en stor økning i den naturlige lysinnstrålingen. Syntesen av både anthocyanin og flavonoider var rask; etter 4 dager var det en økning mellom 43,5-50% for relativt flavonoidinnhold fra startverdi, tilsvarende for anthocyanin var mellom 234-313%. Dette var en etterbehandling (pre-harvest) på salgsklare planter som allerede hadde stått i veksthus med naturlig innstråling under HPS. Høyere naturlig innstråling fører til økning av anthocyanininnhold (Krizek, 2004; Lin et al., 1996). En undersøkelse utført av Oh et al. (2009) i vekstkammer viste en tredobling av fenolinnhold etter en kort behandling med $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ i en dag. Dessverre er det ikke oppgitt hva slags lyskvalitet og lyskilde som ble brukt i denne undersøkelsen. Høyere naturlig lysinnstråling i veksthus med glasstak har også som konsekvens mer UV-irradians hovedsaklig i form av UV-A.

I følge Krizek (2004) beskytter flavonoider på flere måter. De absorberer sollys og beskytter dermed mot den potensielle fotoinhibering og foto-oksiderende skaden ved sterkt lys. Absorpsjonsspekteret til de ulike flavonoider avhenger av den molekylære strukturen, men de fleste absorberer mest mellom 250 nm til 385 nm (Yao et al., 2004). I tillegg kan flavonoidenes antioksidative effekt begrense skaden til oksygenradikaler (Krizek, 2004; Gould, 2004; Carvalho et al., 2011). Anthocyaniner absorberer mest i det grønn-gule området og reflekterer bort andre bølgelengder. Det gir farge til blomster og bær, og spesifikt

rødfargen i Lollo Rosso. Anthocyaniner absorberer mest i dette spekteret for å ikke konkurrere med klorofyll som absorberer mest i det røde og det blå området av det elektromagnetiske spekteret (Carvalho et al., 2011). I følge Gould (2004) kan også det grønne lyset potensielt ha skadevirkning siden det i liten grad blir absorbert av massepigmenter i fotosyntesen. Det grønne lyset kan i større grad enn det røde og blå lyset penetrere dypt inn i bladet og føre til fotooksidativ skade (Gould, 2004).

Høy konsentrasjon av flavonoider beskytter ved høy irradians, men kan føre til noe lavere fotosyntetisk kapasitet ved lysbegrensede forhold. Grunnen til dette er at anthocyaniner i epidermis absorberer fotoner som ellers kunne gått til kjemisk energi i fotosyntesen (Gould, 2004).

I følge Krizek (2004) er UV-A, blått og rødt lys involvert i anthocyaninsyntese. Den fotosyntetiske prosessen skaper oksidativt stress og det ser ut til anthocyanin har en beskyttende rolle mot oksygenradikaler (Krizek, 2004). Derfor er det trolig slik at det ved høyere lysintensitet skapes mer oksidativt stress, og behovet for anthocyaniner, eller antioksidanter generelt, er større. Det ser ut til å være konsensus i litteraturen om at høy lysintensitet fører til økt syntese av fytokjemikalier (Gruda, 2005; Treutter, 2010; Hopkins & Hüner, 2009). På grunnlag av resultatene i de presenterte undersøkelsene er det allikevel vanskelig å trekke noen definitive konklusjoner. Større naturlig lysinnstråling fører til høyere fluensrate med blått og UV-A lys (glasstak på SKP). HPS har ca 5% blått lys og naturlig lys har omtrent 16% blått lys. Når den naturlige innstrålingen øker utover våren blir nødvendigvis også den relative andelen blått lys høyere. Spørsmålet blir dermed: Skyldes økningen av fytokjemikalier større lysinnstråling i seg selv uavhengig av lyskvalitet eller er den forårsaket av økningen i den relative andelen av kortbølgete fotoner? På bakgrunn av forsøket til Stutte & Edney (2009) med monokromatisk lys i vekstkammer ($300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ser det ut til at alle bølgelengder (blått, rødt og mørkerødt) har evne til å syntetisere anthocyaniner i større eller mindre grad, ettersom alle behandlingene i forsøket til Stutte & Edney (2009) inneholdt anthocyaniner. Således har alle lyskvaliteter innenfor PAR, UV og til og med mørkerødt evnen til å syntetisere anthocyanin i større eller mindre grad. Allikevel, fenolinnhold i Lollo Rosso og antioksidantaktivitet i Lollo Rosso og Lollo Biondo var lavere under LED(80R,20B) når den naturlige innstrålingen var høyest (forsøk 1). Det betyr at det er et komplisert samspill mellom lyskvalitet og lysintensitet. Den relative andelen blått lys ser ut til å være avgjørende for innholdet av fytokjemikalier. Det kan tenkes at dette gjelder ved lav naturlig innstråling om vinteren og ikke ved naturlig høy lysinnstråling om sommeren. Dette

kan undersøkes i fremtidige forsøk med varierende lysintensitet og forskjellig relativ andel blått lys. Samtidig, å øke lysintensiteten ved hjelp av HPS øker ikke nødvendigvis syntesen av fytokjemikalier i disse sortene. Avslutningsvis kan man si at høy lysintensitet typisk fører til en økning av anthocyaninsyntese (Hopkins & Hüner, 2009) men ulik lyskvalitet har forskjellig evne til å syntetisere anthocyaniner. Samtidig betyr dette at lysmengde betyr mer enn lyskvalitet. Med høy lysintensitet forsvinner behovet for å øke mengde fytokjemikalier da den er naturlig høy. Spesialtilpasset tilleggsllys er bare aktuelt i perioder med lav naturlig innstråling.

4.2 LED og HPS gitt som tilleggsllys har ulik evne til å påvirke innholdet av fytokjemikalier i salat

Resultatene i forsøk 1, 2, 4 og 5 tyder på at det er mulig å endre sammensetningen av flavonoider i salat ved bruk av ulike lyskilder med ulik lyskvalitet.

I forsøk 1 var det stor økning i konsentrasjonen av fenolforbindelser og FRAP under LED(80R,20B)-behandlingen (Tabell 1 & 2). I forsøk 5 var det også størst innhold av flavonoider og anthocyaniner (Tabell 10) under tilleggsllyset som inneholdt blått LED-lys. I forsøk 4 var det størst innhold av flavonoider under rødt, blått og rødt-blått LED-lys etter 10 dager (Tabell 11). Denne økningen er sannsynligvis forårsaket av en større andel blått lys under LED-behandlingene (Forsøk 1,4 & 5). LED-lyskilden brukt i forsøk 1 har 20% blått lys mens andelen blått lys i HPS-lyskilder er omtrent 5% (Pinho et al., 2007). Tidligere undersøkelser peker i samme retning som de presenterte resultatene. Forsøk med *Arabidopsis* mutanter viste både lav syntese av anthocyanin (cry1) eller høy syntese anthocyaniner (CRY1) (Taiz & Zeiger, 2006). Lin et al. (1996) viste at anthocyaninsyntese hos *Arabidopsis* økte mest under eksponering av blått-lys og litt mindre under UV-A irradians. Li & Kubota (2009) undersøkte salat 'Red Cross' i vekstkammer under dagslysstoffrør med forskjellig tilleggsllys. Syntese av anthocyanin var størst under blått og UV-A irradians gitt som tilleggsllys til 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ lysstoffrør. I samme undersøkelse var innholdet av fenoler størst under rødt tilleggsllys.

Stutte & Edney (2009) sammenliknet ulike LED-lyskilder i vekstkammer under 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; rødt-blått, rødt-blått-grønt, rødt og rødt-mørkerødt. Det var behandlingene som inneholdt blått lys som hadde størst konsentrasjon av anthocyaniner. Behandlingen med rødt LED-lys hadde ca. 50% lavere konsentrasjon enn den blå behandlingen og den mørkerøde

LED-lys behandlingen inneholdt bare halvparten av den røde (Stutte & Edney., 2009) Dette kan tyde på at fytokromet spiller en sekundær rolle i syntesen av anthocyanin. I forsøk 1 med LED-behandling med 20% blått og 80% rødt kan det ikke utelukkes at større andel rødt også kan ha ført til større syntese av fytokjemikalier. I forsøk 4 etter 10 dager var det også statistisk signifikante forskjeller i flavonoidinnhold mellom alle LED-behandlingene (rødt, blått og rødt-blått) og HPS (Tabell 11).

PSS er en teoretisk størrelse basert på lyskildens spektralsammensetning (Sager et al., 1988). I forsøk 1 var PSS for LED 0,89 Og HPS 0,86 noe som betyr at henholdsvis 89% og 86% av fytokromet eksisterer i den aktive formen. Vanligvis antar man at fytokrombalansen er lik hvis PSS er ganske lik (Li & Kubota, 2009; Kim et al., 2006; Sager et al., 1988). I forsøk 1 vil det derfor være naturlig å anta at PSS er tilnærmet lik, for eksempel i Li & Kubota (2009) regner de PSS som lik når det er en variasjon mellom 0,81 og 0,87. Siden PSS er såpass lik er det sannsynlig at det økte innholdet av anthocyaniner kan knyttes til blått-lys reseptorer og i mindre grad avhengig av fytokromsystemet. Men, fytokrombalansen kan være annerledes inne i bladet (biologisk PSS) på grunn av syntese av pigmenter (flavonoider og anthocyaniner) i epidermis som absorberer fotoner. Flavonoider absorberer hovedsakelig i UV-området og anthocyaniner absorberer både i blått, grønt og gult. Fytokromet absorberer i hele spekteret fra UV til mørkerødt. På samme måte som den fotosyntetiske effektiviteten kan bli noe lavere ved lysbegrensende forhold kan anthocyaniner i epidermis påvirke biologisk PSS inne i bladene. Siden fytokromet absorberer i UV-området kan stor mengde flavonoider i epidermis også påvirke fytokrombalansen. Selv om teoretisk PSS er ganske lik i begge behandlingene er det derfor ikke mulig å konkludere at biologisk PSS er lik i begge behandlingene. Dermed kan også effekten av økt syntese av fytokjemikalier i teorien også vært styrt av fytokrom. Allikevel er det flere undersøkelser som tar dette for gitt (Li & Kubota, 2009; Kim et al., 2006; Sager et al., 1988). Det kan med andre ord være problematisk å vektlegge betydningen av PSS mellom to behandlinger som har ulikt innhold av fytokjemikalier i epidermis.

Resultatene i Stutte & Edney (2009) og Li & Kubota (2010) peker i retning av større anthocyaninsyntese ved kortbølget lys (UV-A og blått lys) både som eneste lyskilde og som tilleggslis. Samtidig er resultatene i disse to undersøkelsene veldig forskjellige. Anthocyanininnhold mellom behandlingene var store i Stutte & Edney (2009) og svært små i Li & Kubota (2010). Dette kan illustrere noen viktige resultater i mine egne forsøk. I forsøket til Stutte & Edney (2009) var det som nevnt store forskjeller mellom de ulike behandlingene.

Det samsvarer også med resultatene i Taiz & Zeiger (2009) der det også ble brukt LED-lyskilder, nemlig monokromatisk lys i vekstkammer. Li & Kubota (2010) var interessert i å studere effekten av tilleggsllys og brukte vanlige lysstoffrør som hovedlys. Vanlige lysstoffrør har relativ høy andel blått lys (ca.19%) og litt UV (A og B), og det kan være grunnen til at Li & Kubota (2009) fikk såpass lite utslag i behandlingene med blått og UV-A lys sammenlignet med kontroll og rødt lys. Anthocyaninsyntesen kan ha vært delvis mettet allerede på grunn av blått/UV irradians fra hovedlyset.

Resultatene i Li & Kubota (2010) kan forklare resultatene i forsøk 1, 2, 4 & 5. I disse forsøkene var det store forskjeller i mengde naturlig dagslys. Dagslys har mellom 14 % og 16 % blått lys avhengig av sesong og skydekke (Værdata for ÅS). Med lite dagslys i vintermånedene blir den totale andelen blått lys lav ved bruk av HPS-tilleggsllys (Forsøk 1). Tabell (11 & 12) illustrerer tydelig problemstillingen. Det naturlige dagslyset var høyt i forsøk 4 ($18,3 \text{ molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$) sammenlignet med forsøk 1, gjentak 1 ($1,6 \text{ molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$). I forsøkene der det naturlige dagslyset var størst var det mindre utslag av lyskvalitet på innholdet av flavonoider og anthocyaniner (Tabeller 8, 9, 10, 11 & 12). For alle behandlingene under HPS (Tabell 1 & 2) øker FRAP og fenolinnhold med økende naturlig innstråling, hvis man sammenligner gjentakene. Når den naturlige lysinnstrålingen øker, blir både den relative og totale mengden blått lys større, og dette har en positiv påvirkning på syntesen av fytokjemikalier. HPS har som nevnt liten andel blått lys (ca. 5%).

Ser man derimot på LED(80R,20B)-behandlingene i forsøk 1 er situasjonen mer kompleks. Lollo Rosso 'Carmoli' inneholdt mest fenoler og FRAP når den naturlige innstrålingen var lavest (gjentak 1), og dette gjaldt også for FRAP-verdien til 'Lollo Bionda' under LED(80R,20B). Forsøket viste også en treveis statistisk samspillseffekt av lysmengde, lyskvalitet og kultivar (Tabell 1 & 2). En hypotese er at det er den relative mengden blått lys som er avgjørende for syntese av fytokjemikalier i denne kultivaren. Større naturlig innstråling vil føre til større fluensrate blått lys men den relative andelen av blått lys (av total PAR) vil synke fordi det er større andel blått lys i LED-lyskilden enn i vanlig dagslys. Resultatene peker igjen på viktigheten av en spesialtilpasset lyskvalitet under forhold med lite naturlig lysinnstråling for å øke innholdet av fytokjemikalier. Denne hypotesen kan testes ut ved å dyrke rødbladet salat under økende andel blått lys.

I forsøk 4 & 5 er også forskjellen mellom HPS og LED-behandlinger veldig små og ikke alltid statistisk signifikante. Igjen er det økt naturlig innstråling som visker ut effekten av lyskvaliteten. Disse forsøkene ble gjort opp i mars, og det kan konkluderes med at det

sannsynligvis ikke er nødvendig med spesialtilpasset lys på denne tiden av året men det vil selvfølgelig variere fra år til år.

4.3 UV-B stråling forandrer fytokjemikalsk innhold i Lollo Rosso 'Carmoli'

Resultatene i forsøk 3 (Tabell 6) viser tydelig hvordan UV-B stråling øker innholdet av fytokjemikalier: Omtrent en dobling av den relative mengden flavonoider og omtrent 2,5 ganger så høyt anthocyanininnhold. Behandlingen med UV-B og SAD mørkerødt viste litt mindre innhold av flavonoid og anthocyanin enn UV-B behandling uten SAD men forskjellene er ikke signifikante. Tidligere undersøkelser viser også at UV-B har evnen til å syntetisere flavonoider. Undersøkelser under ulike tekkematerialer viser mer syntese av fytokjemikalier under UV-B lys (Ordidge et al., 2010; Garcia-Macias et al., 2007; Tsormpatsidis et al., 2008) (Tabell 14). Resultatene i disse undersøkelsene viser stort sett at UV-stråling fører til en økning av mengde fenoler og anthocyanin. I følge Tsormpatsidis et al. (2008) er det bølgelengder under 370 nm som fører til økning av fenolforbindelser i Lollo Rosso. Dette stemmer ikke med resultatene i forsøk 1, hvor LED(80R,20B) viste stor økning av fenoler med fravær av UV-stråling. Resultatene til Tsormpatsidis et al. (2008) gjelder under høy lysintensitet om sommeren under ulike tekkematerialer. En forklaring kan være at blåttlysindusert syntese av fenoler er mettet eller at det er kultivarforskjeller. I følge tabell (Tabell 14) har Lollo Rosso under LED(80R,20B) i første gjentak 1.46 mg GAE/g (friskvekt). Ordidge et al. (2010) hadde 1.50 mg GAE/g under UV-vindoe på friland, behandling med UV (A og B) stråling. Dette betyr at det er mulig å oppnå lik stor mengde fenoler i rødfarget salat i veksthus med veldig lite naturlig innstråling, som behandling om sommeren under naturlig innstråling (England). Og ikke minst at det er mulig å syntetisere tilfredsstillende mengder fenoler uten UV-stråling. Samtidig viser sammenligningen at behandlingene under HPS har mye mindre fenoler enn salaten som er dyrket på friland. Grunnen til dette er antakelig lavere lysintensitet og liten andel blått lys som diskutert tidligere.

Tabell 14. Sammenligning av fenoler målt i mg gallesyre/g friskvekt i forskjellige undersøkelser i to kultivarer av salat. *Lactuca sativa L., Lollo Rosso , og cv. Lollo Bionda.*

	Behandling	'Lollo Rosso'	'Lollo Bionda'
Forsøk 1. Gjentak 1	LED(80R,20B)	1.46 ± 0.01	0.43 ± 0.01

	HPS	0.57 ± 0.03	0.45 ± 0.01
Forsøk 1. Gjentak 2	LED(80R,20B)	1.29 ± 0.07	0.28 ± 0.01
	HPS	0.75 ± 0.01	0.35 ± 0.01
Ordidge et al. (2010)			
Ulike tekkematerialer	UV-Block	0.75 ± 0.03	0.62 ± 0.06
	UV-Low	0.88 ± 0.06	0.66 ± 0.02
	UV-Window	1.50 ± 0.13	0.65 ± 0.03
Zukauskas et al. (2011)	Kontroll	1.12 ± 0.05	0.39 ± 0.01
Pre-harvest behandling 3 dager.	Rød LED $170 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR	1.29 ± 0.04	0.69 ± 0.02

I forsøk 4 ble det brukt 0.1W UV-B i 60 minutter. Resultatene i dette forsøket viser at etter 10 dager (Tabell 11) ikke var noe større relativ andel flavonoid i UV-B tilleggsllys behandlingen enn i rød, blå-rød, blå LED behandlingene. Konklusjonen er at LED lysbehandlingene var en like god metode å oppnå økning av fenoler som UV-B stråling.

4.4 Samspill mellom (aksjonspektrene) og de ulike fotoreseptorene

Det er vanskelig å vurdere i hvor stor grad en fotoreseptor er ansvarlig for en respons som for eksempel anthocyaninsyntese. Det er flere grunner til dette.

For det første finnes de aktuelle lyskvalitetene i naturlig lys, og i forsøk hvor det er naturlig lys vil alle reseptorer naturligvis aktiviseres. I tillegg er det naturlige lyset aldri helt likt, og dette gjør det vanskeligere å tolke resultater.

Videre har de ulike fotoreseptorene til en viss grad overlappende absorpsjonsspektrum og funksjon. For eksempel absorberer fytokromet fra UV-B til mørkerødt delvis overlappende med kryptokromet. Dette betyr i praksis at i et forsøksopplegg som i denne undersøkelsen med LED(80R,20B), er det naturlig å ta for gitt at det blå lyset bare påvirker blått-lys reseptorer. Dette stemmer ikke, og det samme gjelder for forsøk med UV-lys. Man bør ikke glemme at UV-tillleggsllys også påvirker for eksempel fytokromets tilstand.

For det tredje er det vanlig med komplementær genvirkning eller epistase i høyere planter. Det vil si at interaksjon mellom gener kan fungere antagonistisk eller synergistisk.

Effekt på en lysreseptor kan påvirke effekten av en annen. For eksempel er effekten på chalcone synthase genen (for stadium til anthocyaninsyntese) større ved irradians av UV-B, UV-A og blått lys enn summen av disse gitt hver for seg. (Casal, 2000). Dette igjen gjør det vanskelig å tolke resultater. Dette er relevant når man vil avgjøre hvilken reseptor som er ansvarlig for en respons. Det er likevel mulig å sammenligne behandlinger uten å forstå alle de plantefysiologiske mekanismene som virker, og vurdere hvilken belyningsstrategi som er mest egnet for oppnå et ønsket resultat.

4.5 Rødfarget salat 'Lollo Rosso' dyrket om vinteren

En problemstilling i denne undersøkelsen var å forbedre rødfargingen hos rødbladet salat om vinteren med lite naturlig innstråling. Rødfargen i salat antas å komme fra anthocyanin, cyanidin 3-malonyglucoside i Lollo Rosso (Tsormpatsidis et al., 2008; Garcia-Macias et al., 2007). I forsøk 1 var det store forskjeller i fenolinnhold og antioksidant aktivitet i Lollo Rosso dyrket under HPS og LED(80R,20B) (Tabell 1 & 2). Det er derfor naturlig å anta at det var forskjeller i innholdet av anthocyanin og cyanidin 3-malonyglucoside i disse behandlingene. Salaten dyrket under HPS var grønnere men med litt rødfarge på de ytterste delene av bladene (Figur 4). Sammenligning i Tabell 14 viser at den inneholder mindre fenoler enn tilsvarende salat dyrket på friland. Salaten dyrket under LED var mer intens rød og en større andel av bladene var rødfarge (Figur 4). Dette gjenspeiles i fenolnivået (Tabell 14). Etter min mening var salaten dyrket under LED av bedre kvalitet men økningen av fenoler gikk på bekostning av friskvekten og salaten var liten sammenlignet med de dyrket under HPS.

Vi opplevde ikke de problemene med brunaktig farge som ble beskrevet innledningsvis ved dyrking av rødfarget salat 'Carmoli' dyrket under HPS på SKP. Det kan være flere grunner til dette. På SKP er det glasstak og det er vanlig å dyrke med polykarbonat eller polyetylen som tekkemateriale i Norge. Polykarbonat og glasstak har forskjellig transmisjonsgrad av lysbølgelengder. Glasstak slipper gjennom UV-stråling mellom 370 og 400 nm. Det betyr at resultatene kunne vært annerledes med et tak av polykarbonat eller polyetylen som slipper gjennom 30% av UV-stråling ved 390 nm og 45% ved 400 nm.

Det er mulig å dyrke rødfarget salat om vinteren med lite naturlig innstråling med like høyt innhold av fenoler som den dyrket om sommeren på friland (England), det gjenstår å løse problemet med redusert plantemasseproduksjon.

4.6 Kultivarer har ulik evne til å syntetisere flavonoider

Resultatene i forsøk 1 (Tabell 1 & 2) viser at de forskjellige kultivarene har ulik evne til syntetisere sekundære metabolitter under alle behandlingene. Forskjellene mellom kultivarene er større relativt sett under LED(80R,20B)-behandlingen enn under HPS-behandlingen, dette gjelder både for FRAP og innhold av fenoler. Den røde kultivaren Lollo Rosso syntetiserer mer fenolforbindelser enn de andre grønne kultivarene under både HPS og LED-behandlingene. Den relative økningen av fenoler og FRAP under LED-behandling er større for den røde kultivaren 'Carmoli' enn for de grønne kultivarene. De grønne kultivarene 'Lollo bionda' og 'Frillice' har en økning på omtrent 50% fenolinnhold og litt over 100% i FRAP (Tabell 2). Ordidge et al. (2010) undersøkte effekten av UV-stråling på innhold av fenoler, anthocyanin, luteolin og quercetin på rød Lollo Rosso og 'Lollo bionda'. De benyttet tekkematerialer med ulik filtrering av UV-stråling. Konklusjonen der var at UV har stor effekt på innholdet av disse fytokjemikalier i Lollo Rosso, men i 'Lollo Bionda' var effekten minimal: Det er riktignok ikke UV som testes ut i forsøk 1, men mønsteret er det samme: Ulike kultivarer responderer ulikt under forskjellige lysbehandlinger. Hypotesen til Ordidge et al. (2010) er at kryssing for stabilitet eller for å fremme visse egenskaper hos ulike kultivarer (for eksempel farge i rødbladet salat) har ført til en "overdreven" syntese av beskyttelsespigmenter i Lollo Rosso som overgår behovet for beskyttelse av naturlig UV-Stråling. Treutter (2010) viser også at for ulike kulturplanter er (kan) effekten av genetisk bakgrunn være sterkere enn effekten av ulike miljøfaktorer for innholdet av sekundære metabolitter. Remberg et al. (2007) testet også ulike kultivarer av blåbær, bringebær og solbær for antioksidant kapasitet og askorbinsyre, og resultatene der viser stor forskjell mellom kultivarer. Disse resultatene samlet sett og mine egne forsøk på salat peker altså i samme retning: Økning i fytokjemikalier er kultivaravhengig. Dette bør tas i betraktning før man planlegger en lysstrategi for å øke innholdet av fytokjemikalier. Valg av riktig kultivar kan være like viktig som type lysbehandling for å oppnå et tilfredsstillende innhold (nivå) av fytokjemikalier. Før man setter i gang med en komplisert og kostbar omlegging av lysdesign i et gartneri kan det være lønnsomt å teste ut forskjellige kultivarer av salat under de gjeldende forhold.

4.7 Sammenligning av destruktive og ikke destruktive metoder for å måle innholdet av sekundære metabolitter

I forsøk 2 ble destruktive kjemiske metoder anvendt for å måle mengde fenoler og antioksidant aktivitet (FRAP) og sammenlignet med fluoresens eksitasjon metoden hvor det ble brukt en Multiplex 3. Metodene er ikke direkte sammenlignbare, ettersom Multiplex måler relativt innhold av flavonoider og anthocyaniner i epidermis mens standard våtkjemi måler absolutt mengde i hele bladet. Uansett er det sannsynlig at mesteparten av disse pigmentene ligger nettopp i epidermis siden dens funksjon er blant annet å beskytte fotosynteseapparatet mot skadelig stråling (Krizek, 2004; Gould, 2004). Målingene med Multiplex gir bare relative verdier, men dette gir allikevel et godt grunnlag for å sammenligne ulike behandlinger og en indikasjon på økning av de ulike sekundære metabolittene. En svakhet med denne undersøkelsen er at det er vanskelig å sammenligne resultater i forsøk 1 der det bare ble anvendt destruktive metoder, med forsøkene der det ble anvendt ikke destruktive metoder. Med samme målemetode ville det vært lettere å avgjøre effekten av tilleggsbelysning med økt naturlig innstråling i forsøk 4 og 5 sammenlignet med forsøk 1. Resultatene i Tabell 8 & 9 viser en økning av sekundære metabolitter under LED-behandlingen sammenlignet med HPS-behandlingen på 35,4% og 148% for henholdsvis flavonoider og anthocyaniner målt med Multiplex 3. Tilsvarende var økningen på 32,7% og 18,75 henholdsvis for mengde fenoler og FRAP. Disse målingene ble gjort på de samme salatplantene; først de ikke-destruktive og så de destruktive målingene. Cerovic et al. (2008) målte innholdet av anthocyaniner i druer med en prototype av Multiplex og sammenlignet deretter med spektrofotometri. Konklusjonen der var at Multiplex kunne anvendes for å måle anthocyaniner. Tidligere har også Hagen et al. (2006) sammenlignet flavonoider i epleepidermis målt med HPLC og fluoresens eksitasjon metoden, og resultatene der viste også en sammenheng. Ideelt sett skulle vi ha hatt muligheten til å måle anthocyanin og flavonoid innholdet i våtkjemi- analysene, for dette hadde gitt et bedre sammenligningsgrunnlag mellom de to metodene. I tillegg kunne man muligens etter tilstrekkelig mange målinger gjort en korrelasjonsanalyse av destruktiv versus ikke-destruktive målemetoder.

Disse undersøkelsene i tillegg til tidligere lignende resultater hos (Rodriguez et al., 2012. Upublisert) og hos Rodriguez & Bengtsson (2010. Upublisert) viser at metoden er et pålitelig redskap for å måle økning over tid og/eller sammenligne behandlinger for relativt innhold av flavonoider og anthocyaniner. Resultatene i denne masteren og i tidligere

undersøkelser (Rodriguez & Bengtsson, 2010; Rodriguez et al., 2012) viser at flavonoidinnhold målt med Multiplex samsvarer relativt godt med fenolinnhold målt med kjemiske metoder.

Resultatene i disse undersøkelsene samlet styrker teorien om at fluoresens eksitasjons metoden kan være et alternativ og en god ikke-destruktiv måte å måle den relative mengden av flavonoider og anthocyaniner i epidermis på ulike plantearter. Denne metoden vil neppe erstatte standard kjemiske analyser da det ofte er nødvendig med absolutte tall i for eksempel en innholdeklarasjon av et produkt, men til bruk i forskning er den godt egnet til å ta flere målinger på samme materiale over tid. Innen vinproduksjon brukes Multiplex allerede for å vurdere om innholdet av anthocyaniner er tilfredsstillende. Dette brukes som et mål på modning av druene. Det kan tenkes at Multiplex kan anvendes på andre bruksområder, som på andre norske kulturplanter.

4.8 Syntese av sekundære metabolitter kan være en rask prosess

Et viktig utgangspunktet for denne undersøkelsen var å se på mulighetene for å øke fytokjemisk innhold i salat. Flere av forsøkene har vist at dette er mulig ved hjelp av LED med høy andel blått lys og eventuelt også ved eksponering av UV-B stråling. I forsøk 1, 2, 3 og 4 var det eksponering med ulik lyskvalitet gjennom hele vekstperioden. Dette viste seg å fungere bra i forhold til økning av fytokjemisk innhold og dermed fikk vi også den ønskede rødfargen i Lollo Rosso. Under de forsøksbetingelsene som ble gitt i denne undersøkelsen gikk økningen i fytokjemisk innhold på bekostning av friskvekt, det er et stort problem for kommersiell produksjon. I forsøk 4 var poenget å ha en kortere etterbehandling på 10 dager. Flavonoider og anthocyaniner ble målt etter 4 og 10 dager. Etter 4 dager var det allerede en stor økning i fytokjemisk innhold (Tabeller 11 & 12). Denne økningen kan ikke tilskrives forskjeller i lyskvalitet i de ulike lysbehandlingene fordi kontrollbehandlingene også hadde en stor økning i flavonoider og anthocyaniner. Økningen kan tilskrives en stor økning i den naturlige lysinnstrålingen, dette forsøket begynte i begynnelsen av mars og det var høy naturlig lysinnstråling i perioden. Det viser også at selve prosessen under gode lysforhold er rask. En annen undersøkelse med UV-B tilleggslis viser at det er signifikant økning i flavonoider og anthocyaniner etter bare et døgn (Rodriguez et al., 2012. Upublisert). Zukauskas et al. (2011) undersøkte effekten av en 3 dagers behandling (pre-harvest) med rødt LED lys med $170 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR med en økning i fenolinnhold på 15 % på Lollo Rosso, Lollo Bionda hadde en

økning på 80% (Tabell 14). En annen undersøkelse av Oh et al. (2009) undersøkte også effekten av 24 timers $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR med en fenoløkning på 200%. Forsøk 4 burde vært gjort på den mørkeste tiden av året (desember/januar) med lav naturlig innstråling, da ville sannsynligvis de ulike lyskvalitets-behandlingene gitt tydeligere resultater. Mitt eget forsøk og de andre undersøkelsene viser uansett at det er mulig å forandre fytokjemisk innhold på kort tid. En eventuell sammenligning av effekten av ulike lyskvaliteter på flavonoid kinetikk kan være en interessant tilnærming for fremtidige undersøkelser.

4.9 Effekter av kjølelagring på ulike behandlinger

I forsøk 6 ble lagringsevnen til Lollo Rosso testet ut under kjølelagring (5°C). Resultatet viste en dårligere lagringsevne hos salat utsatt for UV-B stråling. Manglende randomisering i kjøleskapet gjør at det knytter seg usikkerhet til disse resultatene. Det har heller ikke vært mulig å finne noen tilsvarende undersøkelser på salat og sammenligne resultatene med. Harbaum-Piayda et al. (2010) testet pak choi med og uten UV-B pre-harvest behandling. Resultatene der viste ikke noe kvalitetsforskjell etter 20 dager kjølelagring. Hypotesen var at større innhold av fenoler og høyere antioksidant kapasitet skulle føre til bedre lagringsevne. Det er også et viktig poeng at forskjellene i anthocyanininnhold ikke var statistisk signifikante mellom behandlingene (Tabell 12). Det var riktignok statistisk signifikante forskjeller i flavonoidinnhold (Tabell 11). Dette skyldes som diskutert tidligere høy naturlig innstråling i mars. Dette forsøket burde vært utført på salat fra forsøk 1 der det var stor forskjell i mengde fenoler og antioksidantaktivitet. I videre undersøkelser bør lagringsevne testes, en eventuell sammenheng mellom innhold fenoler og lagringsevne er interessant. Produkter med god lagringskapasitet har et konkurransefortrinn.

4.10 UV-B og LED(80R,20B) øker innholdet av sekundære metabolitter men påvirker vekstparametere negativt

I forsøk 1 og forsøk 3 viser resultatene at syntese av metabolitter påvirker vekstparametere negativt (Tabeller 3, 4, 5 & 7). Høyere innhold av fytokjemikalier målt som fenoler og antioksidantaktivitet eller flavonoider og anthocyaniner resulterer i lavere friskvekt, senere bladdanningsrate og mindre bladareal. En sammenligning av gjentakene i forsøk 1 viser at for 'Carmoli' økte fytokjemisk innhold under HPS-behandlingen med mer naturlig innstråling, samtidig gikk friskveksten på denne behandlingen ned. For

LED(80R,20B) gikk fytokjemikalsk innhold ned med økende naturlig innstråling og friskvekten ble noe høyere.

Forsøk med 'Carmoli' i vekstkammer eksponert for 2,5W UV-B tilleggsllys i forsøk 3 gir også en stor reduksjon i vekstparametere (Tabell 7). Resultatene viser omtrent en halvering av friskvekten for behandlingen under UV-B stråling, samtidig har den en dobling av relativt innhold med flavonoid sammenlignet med kontroll (Tabell 6). UV-B og LED(80R,20B) tilleggsllys ser ut til å påvirke plantemorfologien. Mindre bladareal kan føre til mindre total fotosyntetisk effektivitet og mindre lysopptak. I tillegg vil kortere avstand mellom nodiene være mindre gunstig for effektiv solopptak og dermed lysutnyttelse (Hogewoning, 2010a). I tillegg til eksterne morfologitilpasninger vil produksjon av fytokjemikalier føre til en konkurranse mellom primærmetabolismen og sekundærmetabolismen. Produksjon av fytokjemikalier (sekundærmetabolismen) krever en stor metabolsk investering (Gould, 2004) som kan påvirke vekstparametere negativt. I følge Tsormpatsidis et al. (2010) hadde UV-B større veksthemmende effekt på rødfarget salat enn grønnfarget salat, det er sannsynlig at dette skyldes stor metabolsk investering. Dette stemmer overens med egne resultater i forsøk 1, det var den rødfargede 'Carmoli' som hadde høyest innhold av fytokjemikalier og størst vekstreduksjon (Tabeller 1, 2, 3, 4 og 5). En undersøkelse med røde og grønne fenotyper av prakspragle, *Coleus blumei* viste at den røde fenotypen hadde mindre fotosyntetisk oksygenevolusjon. Den røde prakspraglen viste en tilsvarende mindre fotoinhibisjon ved høy lysintensitet (hvitt lys) (Burger & Edwards, 1996). Dette kan tyde på at mengde anthocyaniner påvirker fotosyntesen negativt, i følge Gould (2004) er dette tydeligere under lysbegrensende forhold. I forsøk 1 ble det gitt $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ tilleggsllys og naturlig innstråling var $1,57 \text{ molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$. I følge Runkle & Heins (2006) er det vanlig at det tilgjengelige naturlige lyset som når plantene er 60% eller mindre på grunn av veksthuskonstruksjonen. Dette betyr at det var mindre lys i forsøk 1 enn det som fremgår av materiale og metoder. I følge Moe et al. (2006) er døgnlig lysintegral (DLI) for salat 20-30 $\text{molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$. $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ med 20 t fotoperiode tilsvarer $7,2 \text{ molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$. Det betyr at i forsøk 1 var det lysbegrensende forhold for optimal salatvekst. Hvis dette er tilfelle, betyr det at økt anthocyanininnhold under LED kan ha bidratt til enda lavere fotosyntetisk aktivitet. Dette kan fungere som en tilleggsforklaring til hvorfor forskjellene i friskvekt var så store mellom LED og HPS behandlingen i forsøk 1 (gjentak 1). I forsøk 1 var det omtrent 3 ganger mer friskvekt i HPS-behandlingen sammenlignet med LED-behandlingen, i forsøk 1 (gjentak 2) var det mer naturlig lysinnstråling ($5,86 \text{ molm}^{-2}\text{dag}^{-1}$). Forskjellene mellom

lysbehandlingene er mindre i dette forsøket, og nesten 2 ganger mer friskvekt og omtrent halvparten antioksidantaktivitet. Antioksidantaktivitet er ikke det samme som anthocyanin, men det kan være en pekepinn på mengde anthocyanin. For å oppsummere; anthocyaniner kan ha negativt effekt på fotosyntesen spesielt ved lysbegrensede forhold (Gould, 2004), i forsøk 1 hvor det var minst lys (gjentak 1) var det ca. 3 ganger mer antioksidantaktivitet og vekten var også ca. 1/3 (omvendt proporsjonal med antioksidantaktivitet). I gjentak 2 var det mer naturlig lysinnstråling og det var ca. 2 ganger mer antioksidantaktivitet og vekten var halvparten (merk at vekt er omvendt proporsjonal med antioksidantaktivitet her også). Dette stemmer overens med Gould (2004), hvor røde fenotyper (praktspragle) hadde noe dårligere fotosyntese.

I forsøk 2 ble Lollo Rosso cv. 'Carmoli' dyrket under LED og HPS og sammenlignet og målt både med kjemiske metoder og med Multiplex. Det var 32,7% mer fenoler og 18,8% mer antioksidantaktivitet i LED(80R,20B) enn HPS målt med standard kjemiske metoder (Tabell 9). Målt med Multiplex 3 var det 35,4 % mer flavonoider og 148% mer anthocyaniner i LED-behandlingen enn i HPS-behandlingen (Tabell 8). Denne behandlingen ble høstet 7. mars, altså på et tidspunkt med ganske mye naturlig innstråling. Forskjellene målt i fenoler og antioksidantaktivitet er mye mindre enn de var i forsøk 1. Gjennomsnittsvekten var høyere for LED (161,4g) enn for HPS (143,8g)¹, altså motsatt av tilfelle i forsøk 1 hvor LED ga en betydelig reduksjon i friskvekt. Det tyder på at det ikke var lysbegrensende forhold i dette forsøket, og at LED tilleggslis ikke nødvendigvis gir mindre biomasseproduksjon. Det var stor forskjell i relativ anthocyanininnhold, men det har tydeligvis ikke hatt noe negativ innvirkning på friskvekten. Økt naturlig lysinnstråling fører til mindre utslag av spesialtilpasset lyskvalitet på innholdet av fytokjemikalier.

En studie av Rodriguez et al. (2012. Upublisert) viste at svært lave nivå av UV-B gitt med lysstoffrør (0.1 W m^{-2}) var nok til å øke mengden fytokjemikalier uten statistisk signifikante tap i friskvekt. UV-B tilleggslis i forsøk 3 var på hele $2,5 \text{ W m}^{-2}$. Dette er veldig mye i forhold til $0,1 \text{ W m}^{-2}$ fra lysstoffrør. Det er viktig å påpeke at selv naturlige mengder UV-B på en vanlig sommerdag er nok til å påvirke vekstparametere negativt. Dette er tidligere vist i flere forsøk med ulike tekkematerialer (Ordidge et al., 2009; Tsormpatsidis et al., 2010; Oh et al., 2009). I følge Jenkins (2009) kan man dele inn planters UV-B respons i to: En spesifikk og en ikke-spesifikk. Den ikke-spesifikke responsen karakteriseres av blant

¹ Disse tallene finnes ikke i tabell, det er knyttet noe usikkerhet til disse resultatene da de sto i forskjellig vekstform med noe ulik naturlig lysinnstråling.

annet DNA-skade, produksjon av oksygenradikaler og setter i gang reparasjonsmekanismer. Den spesifikke UV-B responsen induserer fotomorfologiske responser sammenlignbare med for eksempel fytokrom og kryptokrom responser. Sannsynligvis var det den spesifikke UV-B responsen som ble aktivert i forsøket til Rodriguez et al. (2012. Upublisert) med svært lave nivåer av UV-B. I forsøk 3 i denne undersøkelsen var det høy fluensrate av UV-B og det er sannsynlig at både den spesifikke og ikke-spesifikke responsen ble aktivert. Det er sannsynlig at dette er grunnen til den store forskjellen i friskvekt mellom UV-B behandlingene og kontroll. I følge Jenkins (2009) er både fluensraten, eksponeringstiden og bølgelengde avgjørende for om responsen er spesifikk eller ikke-spesifikk. I følge Krizek (2004) er også andelen UV-B av PAR avgjørende for skaden UV-B strålingen kan påføre plantene. Grunnen til dette er at blått lys/UV-A er med på reparere DNA-skade (fotolyase). I forsøk 3 var det høy dose UV-B stråling og bare $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR. Dette forsterker den potensielle UV-B skaden som kan føre til dårligere funksjon av det fotosyntetiske apparatet og igjen føre til vekstreduksjon.

Det var liten effekt på vekstparametere av SAD behandling med mørkerødt lys i forsøk 3 (Tabell 7), og effekten var ikke statistisk signifikant på $p < 0,05$ nivå. Allikevel viser begge gjentakene samme tendens med større bladareal under SAD. Det er sannsynlig at utslag av en slik SAD-behandling ville vært tydeligere med lavere fluensrate UV-B, altså hvis UV-B tilleggslyset bare hadde påvirket den spesifikke responsen (morfologiske). Det kan være en aktuell tilnærming for framtidige undersøkelser å undersøke effekten av mørkerødt lys behandling på plantebiomasseproduksjon i kombinasjon med lavere dose UV-B eller med LED(80R,20B). Mørkerødt lys gir som kjent skyggeunngåelsesresponser som igjen kan føre til større bladareal og høyere friskvekt.

Under LED(80R,20B)-behandlingen i forsøk 1 var det en stor fytokjemisk gevinst, men også her var påvirkningen negativ på vekstparametere. Det knytter seg større usikkerhet til årsakene til at resultatene av rødt/blått LED påvirket vekstparametere i så stor grad. Tidligere undersøkelser med salat har pekt i motstridende retninger. Noen undersøkelser har pekt på nødvendigheten av litt blått-lys for optimal vekst og utvikling (Goins et al., 1997; Yorio et al., 1998). Brazaityté et al. (2006) testet ulike LED lyskvaliteter og HPS (SON-T agro pære) og de fikk minst friskvekt i behandlingene som inneholdt blått LED (mellom 6,5% og 8,8 % blått lys). I undersøkelsen til Brazaityté et al. (2006) var det ikke statistisk signifikante forskjeller i friskvekt mellom HPS-behandling og LED-behandlinger som inneholdt blått lys. I tillegg var det slik at behandlinger som inneholdt bare rødt LED +

mørkerødt LED hadde større friskvekt enn HPS. Dette står i sterk kontrast til mine egne resultater der HPS-behandlingene i forsøk 1 hadde opp til 3 ganger så mye friskvekt avhengig av kultivar. Det kan være flere forklaringer til dette: LED-behandlingen hadde muligens for stor andel blått lys (20%) for optimal vekst. Det blå lysets fotomorfologiske påvirkning som både mindre bladareal og kortere avstand mellom nodiene i tillegg til dårligere fotosyntetisk aktivitet (anthocyanin absorberer noe av det fotosyntetiske lyset, se diskusjon over) som kan ha ført til mindre total fotosyntetisk effektivitet og påvirket vekstparameterne negativt.

Forskjellene kan også være kultivarspesifikke. I mine egne undersøkelser i forsøk 1 med en rød kultivar og to grønne, hadde den røde kultivaren størst økning i fenoler under LED-behandlingen.

Lyskvalitet påvirker plantemorfologi, dette kan igjen påvirke vekstparametere på grunn av redusert lysopptak. Dette gjelder spesielt under forhold med lav lysintensitet om vinteren i Norge. En lysbehandling som øker innholdet av fenoler kan påvirke fotosyntesen negativt under lysbegrensende forhold. I tillegg er det en konkurranse mellom primær- og sekundærmetabolismen under produksjon av fenolforbindelser som kan føre til en reduksjon i biomasseproduksjon.

4.11 Framtidsutsikter, ny forskning

En svakhet i dag med forsøksoppsett i veksthus med naturlig innstråling er de fluktuerende nivåene med naturlig lys. Det gjør det vanskelig å overføre resultater fra et sted til et annet. En ny tilnærming til dette er foreslått av Hogewoning et al. (2010). Ved hjelp av bruk av en kunstig solspekter (AS: artificial solar spectrum) som har et lysspekter tilnærmet likt sola er det mulig å sette opp forsøksoppsett med konstante lysforhold som etterligner solspekteret. Hogewoning et al. (2010a) mener at man på denne måten lettere kan få sikrere resultater når man tester tilleggsbelysning med for eksempel LED kilder. Fordelen er som sagt at man kan sette opp et kunstig solspekter som hovedkilde til den fluensraten som er ønsket. En innvending mot denne nye tilnærmingen er at den naturlige innstrålingen også fluktuerer, men det kan være lettere å avgjøre hva som er effekten av tilleggsbelysningen.

Videre forskning bør fokusere på hvilke bølgelengder som er de mest effektive for å øke syntesen av fenoler og spesielt om det er mulig å oppnå en økt syntese ved en hjelp av en kortere pre-harvest behandling på salgsklare planter da dette er den beste måten å unngå tap

av friskvekst. En riktig lysstrategi bør være egnet for maksimal plantemasseproduksjon i starten av vekstfasen og for akkumulering av fenoler de siste dagene.

4.12 Praktisk relevans for produksjon av salat

Denne undersøkelsen har vist at det er mulig å øke kvaliteten ved bruk av tilleggslys på salat dyrket om vinteren med lav naturlig innstråling. En av problemstillingene var hvordan produsere rødfarget salat om vinteren i Norge med lav innstråling. Resultatene i forsøk 1 tyder på at dette er mulig. Men, med det forsøksoppsettet som ble benyttet, gikk økningen av fytokjemikalier og rødfarging dramatisk på bekostning av friskveksten. Av økonomiske hensyn kan ikke LED(80R,20B) anbefales alene. Jeg ser for meg ulike strategier som kan testes ut videre.

- 1) En miks av LED(80R,20B) eller blå LED og HPS. Denne kombinasjonen kan føre til tilstrekkelig med blått lys for å oppnå riktig rødfarging, og denne kombinasjonen vil muligens ha mindre negativ påvirkning på vekstparametere.
- 2) Bruke UV-stråling, for eksempel 0.1W /m². Problemet med UV-stråling er at det er fotosyntetisk bortkastet og det kan være skadelig for veksthusarbeidere. Det kan løses ved å gi UV-B tilleggslys i mørkeperioden da det ikke er noen på jobb. Samtidig er den potensielle UV-B skaden på fotosystem II størst med fravær av blått/UV-A lys som er med på å reparere skadene (Krizek, 2004).
- 3) Lysopplegg under 1) og 2) kan benyttes i en pre-harvest belysning når plantene er mer eller mindre salgsklare, eller eventuelt med større doser blått eller UV-stråling.

Jeg anbefaler den siste strategien fordi det minimerer negativ effekt på friskvekt da salaten er mer eller mindre salgsklar. Enhver strategi må vurdere kostnader mot inntekter. Det kan være mer lønnsomt å prøve ut nye kultivarer eller rett og slett ikke dyrke rødfarget salat fra november/desember til februar. Enhver omlegging av lysopplegg er en stor investering og det bør kanskje være flere grunner til å bytte ut helt eller delvis HPS med LED som for eksempel energisparetiltak. Per dags dato er ikke effektivitetsgraden til LED god nok til å anbefale en slik total omlegging.

Forsøkene på SKP er gjort i veksthus med glasstak. Det er i dag vanlig at veksthus er bygd av polykarbonat. Polykarbonat og glass har forskjellig transmisjon av lys. Polykarbonat slipper gjennom veldig lite lys i UV-området mens glasstak slipper gjennom lys mellom 370

og 400 nm. Sannsynligvis vil resultatene i veksthus med polykarbonat tak være enda tydeligere enn forsøkene på SKP.

5 Konklusjon

- Forsøkene i denne undersøkelsen viste at det var mulig å øke innholdet (2-3 ganger) av fytokjemikalier i salat ved hjelp av LED(80R,20B)-lys. Økning i fytokjemisk innhold kan i stor grad tilskrives økningen av den relative andelen blått lys i forhold til kontrollen med HPS.
- Responsen på lyskvalitet er kultivarspesifikk. De grønne kultivarene inneholdt mye mindre fytokjemikalier under både LED(80R,20B) og HPS, i tillegg var økningen for de grønne kultivarene mye mindre under LED(80R,20B).
- Sammenligning av ulike LED lyskilder brukt som tilleggslys med blått, rødt og blått-rødt viste at det var tilleggslyset som inneholdt blått som hadde størst innhold av flavonoid og anthocyanin.
- Viktigheten av lyskvalitet gjør seg først og fremst gjeldende i vintermånedene med svært lav naturlig innstråling.
- Økning i fytokjemikalier ved hjelp av LED og UV-B påvirket vekstparametere negativt. De lysbølgene som har størst effekt på fytokjemisk innhold påvirker også plantemorfologien. Blått lys og UV-lys fører til en morfologi (arkitektur) med lite bladareal og korte internodier som egner seg dårligere til lysopfangning. Dette reduserer den totale fotosyntetiske kapasiteten, og kan føre til en reduksjon i plantebiomasseproduksjonen.

6 Litteraturliste

Benzie, I.F.F., Strain, J.J. 1999. Ferric reducing antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology* 299, 15-27.

Bernier, G., Périlleux, C. 2005. A physiological overview of the genetics of flowering time control. *Plant Biotechnology Journal* 3, 3-16.

Björn, L.O. 2010. Terrestrial daylight. Photomorphogenesis and Photoperiodism in Plants. In L.O. Björn (Ed.) *Photobiology. The Science of Life and Light*. 2 utgave. 2010 s.123-130. Springer Science+Business Media, LLC. ISBN 978-1-4419-2485-8.

Björn, L.O., Govindjee 2010. The Evolution of Photosynthesis and Its Environmental Impact. In L.O. Björn (Ed.) *Photobiology. The Science of Life and Light*. 2 utgave. 2010 s.255-287. Springer Science+Business Media, LLC. ISBN 978-1-4419-2485-8.

Brazaityte, A., Ulinskaite, R., Duchovskis, P., Samuoliene, G., Siksnianiene, B., Jankauskiene, J., Sabajeviene, G., Baranauskis, K., Staniene, G. 2006. "Optimization of Lighting Spectrum for Photosynthesis System and Productivity of Lettuce by Using Light-emitting Diodes" in R. Moe (Ed.) *Proceedings of the V international symposium on artificial lighting in horticulture*. Acta Horticulturae 711, 183-188.

Briggs, W.R. 2006. Blue/UV-A Receptors: Historical Overview. In E. Schäfer & F. Nagy (Eds.) *Photomorphogenesis in Plants and Bacteria* s. 1-12. 3 utgave. Springer. ISBN-10 1-4020-3810-0.

Burger, J., Edwards G.E. 1996. Photosynthetic Efficiency, and Photodamage by UV and Visible Radiation, in Red versus Green Leaf Coleus Varieties. *Plant Cell Physiology* 37, 395-399.

Bævre, O.A., Gislerød, H.R. 1999. *Plantedyrking i regulert klima*. 2 utgave. Lanbruksforlaget. ISBN 82-529-2177-9

Carvalho, R.F., Takaki, M., Azevedo, R.A. 2011. Plant pigments: the many faces of light perception. *Acta Physiologiae Plantarum* 33, 241-248.

Casal, J.J. 2000. Phytochromes, Cryptochromes, Phototropin: Photoreceptor Interactions in Plants. *Photochemistry and Photobiology* 71, 1-11.

Cashmore, A.R. 2006. Cryptochromes. In E. Schäfer & F. Nagy (Eds.) *Photomorphogenesis in Plants and Bacteria* 199-218. 3 utgave. Springer. ISBN-10 1-4020-3810-0.

Cerovic, Z.G., Moise, N., Agati, G., Latouche, G., Ben Ghazlen, N., Meyer, S. 2008. New portable optical sensors for the assessment of winegrape phenolic maturity based on berry fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis* 21, 650-654.

Fukuda, N., Kobayashi-Yoshinaka, M., Ubukawa, M., Takayanagi, K., Sase, S. 2002. Effects of light quality, intensity and duration from different artificial light sources on the growth of petunia (*Petunia x hybrida* Vilm.). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 74, 509-516.

Furuya, M. 2010. History and Insights. In M. Wada, K. Shimazaki & M. Iino (Eds.) *Light Sensing in Plants*. Springer. ISBN 978-4-431-99807-5.

Garcia-Macías, P., Ordidge, M., Vysini, E., Waroonphan, S., Battey, N.H., Gordon, M.H., Hadley, P., John, P., Lovegrove, J.A., Wagstaffe, A. 2007. Changes in the Flavonoid and Phenolic Acid Contents and Antioxidant Activity of Red Leaf Lettuce (Lollo Rosso) Due to Cultivation under Plastic Films Varying in Ultraviolet Transparency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 10168-10172.

Goins, G.D., Yorio, N.C., Saneo, M.M., Brown C.S. 1997. Photomorphogenesis, photosynthesis, and seed yield of wheat plants grown under red light-emitting diodes (LEDs) with and without supplemental blue lighting. *Journal of Experimental Botany* 48, 1407-1413.

Gould, K. 2004. Nature's Swiss Army Knife: The Diverse Protective roles of Antocyanins in Leaves. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 5, 314-320.

Gruda, N., 2005. Impact of Environmental Factors on Product Quality of Greenhouse Vegetables for Fresh Consumption. *Critical Reviews in plant Sciences* 24, 227-247.

Jenkins, G.I. 2009. Signal Transduction in Responses to UV-B Radiation. *Annual Review of Plant Biology* 60, 407-431.

Hagen, S.F., Solhaug, K.A, Bengtsson, G.B, Borge, I.A., Bilger, W. 2006 Chlorophyll fluorescence as a tool for non-destructive estimation of anthocyanins and total flavonoids in apples. *Postharvest Biology and Technology* 41 (2006) 156–163

Harbaum-Piayda, B., Walter, B., Bengtsson, G.B., Hubbermann, E.M., Bilger, W., Schwarz, K. 2010. Influence of pre-harvest UV-B irradiation and normal or controlled atmosphere storage on flavonoid and hydroxycinnamic acid contents of pak choi (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *communis*). *Postharvest Biology and Technology* 56, 202-208.

Harlan, J.R., 1986. Letucce and the Sycomore: Sex and Romance in Ancient Egypt. The New York Botanical Garden 40, 4-15.

Hemming, S. 2011. Use of Natural and Artificial Light in Horticulture-Interaction of Plant and Technology. In E. Goto & S. Hikosaka (Eds.) Proceedings of the VI international symposium on artificial lighting in horticulture. Acta Horticulturae 907, 25-35.

Hogewoning, S.W., Douwstra P., Trouwborst G., Ieperen W., Harbinson J. 2010. An artificial solar spectrum substantially alters plant development compared with usual climate room irradiance spectra. Journal of Experimental Botany 61, 1267-1276.

Hogewoning, S.W., Trouwborst G., Maljaars H., Poorter H., Ieperen W., Harbinson J. 2010. Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. Journal of Experimental Botany 61, 3107-3117.

Hollosy, F. 2002. Effects of ultraviolet radiation on plant cells. Micron 33, 179-197.

Hopkins, Willam G. & Norman P.A. Hüner. Introduction to Plant Physiology. 2009 Fourth Edition. John Wiley & Sons, New York. ISBN 978-0-470-24766-2.

Hunt, S. 2002. Measurements of photosynthesis and respiration in plants. Physiologia Plantarum 117, 314-325.

Kim, H.H., Wheeler, M.R., Sager, J.C. 2006. Evaluation of Lettuce Growth Using Supplemental Green Light with Red and Blue Light-emitting Diodes in a Controlled Environment-A Review of Research at Kennedy Space Center. In R. Moe (Ed.) *Proceedings of the V international symposium on artificial lighting in horticulture*. Acta Horticulturae 711, 111-120

Krizek, D.T., 2004. Influence of PAR and UV-A in Determining Plant Sensitivity and Photomorphogenic Responses to UV-B Radiation. *Photochemistry and Photobiology* 79, 307-315.

Li, Q., Kubota C. 2009. Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. *Environmental and Experimental Botany* 67, 59-64.

Lin, C., Ahmad, M., Cashmore, A.R. 1996. *Arabidopsis* cryptochrome 1 is a soluble protein mediating blue light-dependent regulation of plant growth and development. *The Plant Journal* 10, 893-902.

Marcelis, L.F.M. 1993. Leaf formation in cucumber (*Cucumis sativus* L.) as influenced by fruit load, light and temperature. *Gartenbauwissenschaft* 58, 124-129.

Martínez-Carrasco, R., Pérez P., Morcuende, R. 2004. Interactive effects of elevated CO₂, temperature and nitrogen on photosynthesis of wheat grown under temperature gradient tunnels. *Environmental and Experimental Botany* 54, 49-59.

McCree, K.J. 1972. The action spectrum, absorptance and quantum yield of photosynthesis in crop plants. *Agriculture Meteorology* 9, 191-216.

Moe, R. 1997. Physiological Aspects of Supplementary Lighting in Horticulture. In T. Blacquiére, H. Gude (Eds.) *Third international symposium on artificial lighting*. *Acta Horticulturae* 418, 17-23.

Moe, R., Grimstad, S.O., Gislerød, H.G. 2006. The Use of Artificial Light in Year Round Production of Greenhouse Crops in Norway. In R. Moe (Ed.) *Proceedings of the V international symposium on artificial lighting in horticulture*. *Acta Horticulturae* 711, 35-42.

Mortensen, L.M. 1991. Effects of temperature, light and CO₂ level on growth and flowering of miniature roses. *Norwegian Journal of Agricultural Sciences* 5, 295-300.

Nes, M., Müller, H., Pedersen, J.I. 2007. *Ernæringslære*. 5. Utgave. Gyldendal Norsk Forlag. ISBN 978-82-05-35644-3

Oh, M.M., Carey E.E., Rajashekar C.B. 2009: Environmental stresses induce health-promoting phytochemicals in lettuce. *Plant physiology and Biochemistry* 47 578-583. Elsevier Masson.

Ordidge, M., Garcia-Macías, P., Battey, Nicholas H., Gordon, Michael H., Hadley, P., John, P., Lovegrove, Julie A., Vysini, E., Wagstaffe, A. 2010. Phenolic contents of lettuce, strawberry, raspberry, and blueberry crops cultivated under plastic films varying in ultraviolet transparency. *Food Chemistry* 119, 1224-1227.

Paul, N.D., Gwynn-Jones, D. 2003. Ecological roles of solar UV radiation: towards an integrated approach. *Trends in Ecology and Evolution* 18, 48-55.

Pinho, P., Lukkala, R., Särkkä, L., Tetri, E., Tahvonen, R., Halonen L. 2007. Evaluation of Lettuce Growth under Multi-spectral-component Supplemental Solid State Lighting in Greenhouse Environment. *International Review of Electrical Engineering* 2, 854-860.

Remberg, S.F. 2006. *Studies of Antioxidant Activity in Fruits and Berries*. Norwegian University of Life Sciences. Philosophiae doctor Thesis 2006:11. Department of Plant and Environmental Sciences. Ås. ISBN: 82-575-0705-9.

Rodriguez, C., Bengtsson S. 2010. Effect of UV-B radiation on growth and phytochemical content in leaf lettuce (*Lactuca sativa* L. cv 'Carmoli' RZ85-85, Lollo Rosso) as determined

with destructive and non-destructive methods. Semesteroppgave i BOT340. UMB.
Upublisert materiale.

Rodriguez, C., Torre, S., Solhaug K.A. 2012. Low levels of UV-B radiation from fluorescent tubes induce an efficient flavonoid synthesis in Lollo Rosso lettuce without negative impact on growth. Upublisert materiale

Rodriguez, 2011. Effekt av tilleggslys med høyere andel blått lys på vekst og utvikling hos *Kalanchoe blossfeldiana*. 5 studiepoengsoppgave. UMB. Upublisert materiale.

Runkle E.S., Heins R.D. 2006. "Manipulating the Light Environment to Control Flowering and Morphogenesis of Herbaceous Plants" in R. Moe (Ed.) *Proceedings of the V international symposium on artificial lighting in horticulture*. Acta Horticulturae 711, 51-60.

Sager, J.C., Smith O., Edwards L, Cyr KL. 1988. Photosynthetic Efficiency and Phytochrome Photoequilibria Determination Using Spectral Data. American Society of Agricultural Engineers 86-3052. 1882-1889.

Schäfer, E., Nagy, F. 2006. Historical overview. In E. Schäfer & F. Nagy (Eds.) *Photomorphogenesis in Plants and Bacteria* s. 1-12. 3 utgave. Springer. ISBN-10 1-4020-3810-0.

Solhaug, K.A., Gauslaa, Y., Nybakken, L., Bilger, W., 2003. UV-induction of sun-screening pigments in lichens. *New Phytologist* 158, 91-100.

Stutte, G. 2009. Light-emitting Diodes for Manipulating The Phytochrome Apparatus. *Hortscience* 44, 231-234.

Stutte, G.W., Edney S. 2009. Photoregulation of Bioprotectant Content of Red Leaf Lettuce with Light-emitting Diodes. *Hortscience* 44, 79-82.

Taiz, L., Zeiger, E. 2006. *Plant Physiology*. Fourth Edition. Sinauer Associates, Inc. Sunderland.

Terashima, I., Fujita, T., Inoue, T., Chow, W.S., Oguchi, R. 2009. Green Light Drives Leaf Photosynthesis More Efficiently than Red Light in Strong White Light: Revisiting the Enigmatic Question of Why Leaves are Green. *Plant Cell Physiology* 50, 684-697.

Treutter, D., 2010. Managing Phenol Contents in Crop Plants by Phytochemical Farming and Breeding-Visions and Constraints. *International Journal of Molecular Sciences* 11, 807-857.

Tsormpatsidis, E., Henbest, R.G.C., Davis, F.J., Battey, N.H., Hadley, P., Wagstaffe, A., 2008. UV irradiance as a major influence on growth, development and secondary products of commercial importance in Lollo Rosso lettuce 'Revolution' grown under polyethylene films. *Environmental and Experimental Botany* 63, 232-239.

Tsormpatsidis, E., Henbest, R.G.C., Battey, N.H., Hadley, P., 2010. The influence of ultraviolet radiation on growth, photosynthesis and phenolic levels of green and red lettuce: potential for exploiting effects of ultraviolet radiation in a production system. *Annals of Applied Biology* 156, 357-366.

Vries, I.M., 1997. Origin and domestication of *Lactuca sativa* L. *Genetic Resources and Crop Evolution* 44, 165-174.

Watanabe, H., 2011. Light-Controlled Plant Cultivation System in Japan- Development of a Vegetable Factory Using LEDs as a Light Source for Plants. In E. Goto & S. Hikosaka (Eds.)

Proceedings of the VI international symposium on artificial lighting in horticulture. *Acta Horticulturae* 907, 37-44.

Weller, J.L., Kendrick, R.E. 2010. Photomorphogenesis and Photoperiodism in Plants. In L.O. Björn (Ed.) *Photobiology. The Science of Life and Light*. 2 utgave. 2010 s. 417-465. Springer Science+Business Media, LLC. ISBN 978-1-4419-2485-8.

Yao, L.H., Jiang, Y.M., Shi, J., Tomás-Barberán, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S.S. 2004. Flavonoids in Food and Their Health Benefits. *Plant Foods for Human Nutrition* 59, 113-122.

Yorio, N.C., Goins, G.D., Kagie, H.R. 2001. Improving Spinach, Radish, and Lettuce Growth under Red Light-emitting Diodes (LEDs) with Blue Light Supplementation. *Hortscience* 36, 380-383.

Waterhouse, A.L. 2002. Polyphenolics: Determination of total phenolics. In R.E. Wrolstad (Ed.). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. JohnWiley & Sons, New York.

Weller, J.L., Kendrick R.E. 2010. Photomorphogenesis and Photoperiodism in Plants. In L.O. Björn (Ed.) *Photobiology. The Science of Life and Light*. 2 utgave. 2010, 417-465. Springer Science+Business Media, LLC. ISBN 978-1-4419-2485-8.

Williams, R.C., Baker, D.R., Schmidt, J.A. 1973. Analysis of water soluble vitamins by high speed ion exchange chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, 11, 618-624.

Wrolstad, R.E. 2002. *Current protocols in Food Analytical Chemistry*. In R.E. Wrolstad (Ed.). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. JohnWiley & Sons, New York.

Zhang, W.J., Björn L.O., 2009. The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. *Fitoterapia* 80, 207-218.

Zukauskas, A., Bliznikas, Z., Breive, K., Novickovas, A. 2011. Effect of Supplementary Pre-Harvest LED Lighting on the Antioxidant Properties of Lettuce Cultivars. In E. Goto & S. Hikosaka (Eds) Proceedings of the VI international symposium on artificial lighting in horticulture. *Acta Horticulturae* 907, 87-90.

Andre referanser

Figur 1 lastet ned fra www.plantphys.info

<http://www.plantphys.info/plant_physiology/light.shtml>

[Lesedato 01.05.12]

Totaloversikten Frukt og Grønnsaker 2001-2011. Opplysningskontoret for frukt og grønt. SSB (Statistisk Sentralbyrå), FGS (Frukt- og Grønnsakgrossistenes Servicekontor, SLF (Statens Landbruksforvaltning), ØT (Økern Torvhall), GPS (Grøntprodusentenes Samarbeidsråd), 2012.

www.medterms.com. Definition of phytonutrient.

<<http://www.medterms.com/script/main/art.asp?articlekey=9476>>

[Lesedato 09.05.12]

Værdata for ÅS. Lastet ned fra:

<<http://www.umb.no/fagklim/artikkel/meteorologiske-data-for-as>>

[Lesedato 01.05.12]

