

## Streszczenie pracy

### Wstęp

Właściwości ziół leczniczych zależą w największym stopniu od zawartości związków biologicznie czynnych oraz ich kompozycji. Wśród dziesiątków tysięcy taksonów wykorzystywanych w farmacji i medycynie wyróżnia się rodzaj *Salvia* (szałwia), produkujący zarówno lotne terpenoidy, jak i nielotne diterpenoidy oraz związki fenolowe. Do badań nad zmianami w profilu fitochemicznym wybrany został jeden z gatunków tego rodzaju pochodzący z Azji Środkowej – *S. yangii* B.T.Drew (syn. *Perovskia atripicifolia*, perowskia łobodolistna), która ze względu na dużą wytrzymałość na niekorzystne warunki środowiska, takie jak skrajne temperatury oraz wysokie nasłonecznienie, stanowi ciekawy model do badań nad wpływem tych czynników fizycznych na fizjologię rośliny, a tym samym profil metaboliczny i wynikające z niego właściwości lecznicze.

### Cel

Celem pracy było eksperymentalne zdefiniowanie zakresu plastyczności fitochemicznej modulowanej poprzez użycie kontrolowanych czynników fizycznych, takich jak światło i podwyższona temperatura, mogących wpływać na zawartość i profil składników frakcji lotnej oraz nielotnych metabolitów terpenoidowych i fenylopropanoidowych w kulturach *in vitro* pędów *Salvia yangii*.

### Material i metody

Badania prowadzono na kulturach pędów *S. yangii* hodowanych na podłożach stałych w ściśle kontrolowanych warunkach komór fitotronowych.

Jako narzędzi do modulowania odpowiedzi morfogenetycznej, użyto dwóch technologii oświetlenia – lamp fluorescencyjnych oraz diod typu LED, emitujących światło o różnych długościach fali, a także dwóch wartości temperatury (25°C i 30°C).

Określono parametry stanu fizjologicznego kultur pędów poprzez zbadanie zawartości barwników fotosyntetycznych, określenie stopnia peroksydacji lipidów, oznaczanie zdolności antyutleniających metodą z rodnikiem DPPH•, określenie całkowitej zawartości związków polifenolowych (TPC), zbadanie zawartości terpenoidów oraz fenylopropanoidów metodami chromatograficznymi oraz zbadanie poziomu ekspresji genów wybranych enzymów aktywnych na szlakach biosyntezy obu wymienionych grup metabolitów wyspecjalizowanych.

## Wyniki

W odpowiedzi na zadane czynniki, stwierdzono znaczącą zmienność w składzie lotnych pochodnych mono- i seskwiterpenoidów oraz nielotnych pochodnych diterpenowych, a także kwasu rozmarynowego będącego pochodną fenylopropanoidową w kulturach pędów *S. yangii*.

Po zadziałaniu trzema wybranymi natężeniami światła fluorescencyjnego (70, 130 i 220  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ ), wyodrębniono dwie grupy metabolitów lotnych o charakterze terpenoidów, odmiennie reagujących na warunki hodowli. Do pierwszej grupy zaliczono związki takie jak alloaromadendren, aromadendren i  $\alpha$ -gurjunen, które były produkowane w większych ilościach na świetle o średnim natężeniu, a do drugiej  $\beta$ -kariofyllen,  $\alpha$ -humulen i  $\tau$ -cadinol, których większe ilości pojawiały się w najniższym i najwyższym natężeniu. Ponadto, dowiedziono, że spektrum światła z zakresu fotosyntetycznie czynnej radiacji (PAR), może służyć jako narzędzie do zwiększenia produkcji węglowodorów seskwiterpenowych takich jak  $\alpha$ -gurjunen,  $\beta$ -kariofyllen,  $\alpha$ -humulen, aromadendren i alloaromadendren w kulturach pędów *S. yangii in vitro*. Wyniki pokazały, że PAR stymulował także akumulację kwasu rozmarynowego w badanym materiale.

W kulturach pędów stwierdzono także stosunkowo duże zawartości kwasu karnozowego po zadziałaniu różnymi źródłami i barwami światła oraz podwyższoną temperaturą.

Poziomy transkrypcji genów syntazy cineolowej oraz SyCPS i SyCYP76AH3 nie korelowały bezpośrednio z zawartością produktów, co wskazało na bardziej złożony mechanizm powstawania tych związków z udziałem innych enzymów aktywnych na szlakach biosyntezy terpenoidów.

## Wnioski

Wyniki badań ujawniły relatywnie dużą zmienność w składzie metabolitów wyspecjalizowanych w kulturach pędów *Salvia yangii in vitro* po zadziałaniu różnymi rodzajami światła i podwyższoną temperaturą.

Oświetlenie PAR z udziałem wybranych długości fali z zakresu światła czerwonego i niebieskiego, może stanowić narzędzie służące do stymulacji produkcji węglowodorów seskwiterpenowych takich jak  $\alpha$ -gurjunen,  $\beta$ -kariofyllen,  $\alpha$ -humuleu, aromadendrenu i alloaromadendren w pędach *S. yangii in vitro*, uwzględniając czas hodowli. PAR stymuluje także akumulację kwasu rozmarynowego.

Wyniki badań z użyciem różnych źródeł i barw światła oraz podwyższonej temperatury jako modulatorów biosyntezy nielotnych terpenoidów w pędach *S. yangii in vitro* pozwalają uznać ten rodzaj materiału roślinnego za bogate źródło kwasu karnozowego, z zastrzeżeniem, że po zastosowaniu dużego udziału spektrów światła czerwonego i dalekiej czerwieni zawartość CA jest znacząco niższa.

Poziom transkrypcji genu syntazy cineolowej nie koreluje bezpośrednio z zawartością 1,8-cineolu w pędach *S. yangii*. Podobnie jest także w przypadku wyników dotyczących poziomu transkrypcji genów *SyCPS* i *SyCYP76AH3* i zawartością kwasu karnozowego, co może wynikać z bardziej złożonych mechanizmów powstawania tych metabolitów oraz ich udziału w kompensowaniu niekorzystnych reakcji rośliny na czynniki stresowe.

*S. yangii*, jako łatwo adaptująca się roślina pochodząca z rejonów surowego klimatu kontynentalnego górskiego, stanowi efektywny model do manipulacji profilem fitochemicznym w warunkach *in vitro*, a uzyskane wyniki przyczyniają się do lepszego zrozumienia fitochemicznej plastyczności roślin aromatycznych i leczniczych w warunkach stresu środowiskowego.