

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені В.Н.КАРАЗІНА

Біологічний факультет
Кафедра фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів

ВПЛИВ СЕЛЕКТИВНОГО СВІТЛА НА АКТИВНІСТЬ ЕНДОГЕННИХ
ФІТОГОРМОНІВ В КАЛУСАХ ТА ПРОРОСТКАХ *PISUM SATIVUM* L.

Допущена к захисту

« ____ » _____ 2023

Завідувач кафедри _____

Оцінка « _____ »

Голова ЕК _____

« ____ » _____ 2023

Кваліфікаційна робота

магістра

денної форми навчання

Удод Юлії Олександрівни

Науковий керівник:

канд. біол. наук, доцент

Авксентьєва Ольга Олександрівна

ХАРКІВ 2023

АНОТАЦІЯ

Робота викладена на 75 сторінках, містить 10 таблиць, 12 рисунків, 142 літературних джерела, з них 132 англомовних, 3 додатків.

Робота виконана на базі лабораторії кафедри «Морфогенез вищих рослин *in vitro*». Метою даної роботи було вивчення впливу селективного світла трьох спектрів ЧС (660 нм), ЗС (530 нм) та СС (450 нм) на активність ендогенних фітогормонів в калусах та проростках *Pisum sativum* L. за умов *in vivo* та *in vitro*. Об'єктами дослідження були проростки та пересадкова калусна культура гороху посівного сорту Меценат. У роботі використовувалися морфометричні, біотехнологічні, методи біотестування та статистичні методи дослідження. В ході проведених досліджень продемонстровано, що за впливу фотоопромінення селективним світлом різних спектрів за умов *in vitro* відбувається стимулювання росту калусної культури. В умовах *in vivo* стимулювання ростової реакції показано тільки за дії фотовпливу ЗС (530 нм) світла в надземній та підземній частині проростків. Показано, що активність рістстимулюючого фітогормону ІОК за дії фотоопромінення ЧС (660 нм) за умов *in vitro* гальмується в калусах пересадкової культури. В умовах *in vivo* показано органоспецифічність у відповіді на фотоактивацію селективним світлом: в надземній частині проростків відбувається зниження активності, в коренях – значна активація за впливу ЗС (530 нм). Виявлено, що за впливу селективного світла активність рістінгібуючого фітогормону АБК не змінюється в калусних культурах гороху посівного сорту Меценат; за умов *in vivo* активність АБК в гіпокотиліях проростків знижується за впливу ЗС (530 нм) та стимулюється в коренях за дії СС (450 нм). Встановлено, що в умовах *in vitro* зміни фітогормонального балансу відбуваються за впливу ЧС (660 нм), а в умовах *in vivo* в проростках найбільший вплив проявляється за фотоопромінення ЗС (530 нм) та СС (450 нм), як в надземній так і в підземній частині проростка.

Ключові слова: *Pisum sativum* L., калусна культура, ЧС (660 нм), ЗС (530 нм), СС (450 нм), ростова реакція, ІОК, АБК, фітогормональний баланс.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	7
I.ФОТОРЕЦЕПТОРИ СИСТЕМИ РОСЛИН	7
1.1 Фотоморфогенетична дія червоного світла.	8
1.2 Фотоморфогенетична дія зеленого світла.....	14
1.3 Фотоморфогенетична дія синього світла.	15
II. ФІТОГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ МОРФОГЕНЕЗУ РОСЛИН	20
2.1 Роль ауксинів (ІОК).....	20
2.2 Роль абцизинів (АБК).....	23
III. КУЛЬТУРА IN VITRO БІОЛОГІЧНА МОДЕЛЬ ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИННОГО ОРГАНІЗМУ	24
3.1 Ендогенні фітогормони в калусній культурі	25
3.2 Фотоморфогенез в калусній культурі.....	26
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	29
2.1 Характеристика рослинного матеріалу	29
2.2 Методи дослідження	29
2.2.1 Морфометричні методи	30
2.2.2 Біотехнологічні методи.....	30
2.2.3 Біотестування – визначення активності фітогормонів (ІОК, АБК)	31
2.2.4 Статистичні методи.....	33
2.3 Дизайн дослідження	33
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.....	35

3.1 Вплив фотоопромінення на ріст та активність фітогормонів-антагоністів в калусах <i>Pisum sativum</i> L.	35
3.1.1 Дослідження ростової реакції калусних культур за дії фотовпливу селективним світлом різних спектрів ЧС (660 нм), ЗС (530 нм) та СС (450 нм).....	35
3.1.2 Дія фотовпливу на зміни ендogenousного фітогормонального балансу калусних культур <i>Pisum sativum</i> L.	38
3.2 Вплив селективного світла на ріст та активність фітогормонів в осьових органах проростків <i>Pisum sativum</i> L.	41
3.2.1 Фотоморфогенез та ростова реакція проростків ДДР рослини гороху посівного за дії селективного світла.....	Ошибка! Закладка не определена.
ВИСНОВКИ	57
Список використаної літератури.....	58
RESUME	74
ДОДАТКИ	76

ВСТУП

Спектральний склад та інтенсивність світла відіграють важливу роль у рості та розвитку рослин, оскільки вони регулюють фотоморфогенез – процеси, що визначають зміни у формі та структурі рослин під впливом світлових сигналів. Цей процес здійснюється завдяки участі різних фоторецепторів, які сприймають різні ділянки спектру світла. Світло також відіграє важливу роль у фотосинтезі, але його вплив на регулювання ендогенних фітогормонів у рослинах залишається актуальним дослідницьким питанням. [67]

На сьогоднішній день відомо про існування п'яти груп фоторецепторів у рослинах, які грають важливу роль у реакціях на зміни в освітленні та інших факторах навколишнього середовища. До них належать:

- 1) фітохроми: Ці рецептори сприймають червоне (ЧС) та далеке червоне світло (ДЧС) і відповідають за регулювання росту, фототропізму та інших фізіологічних процесів.
- 2) білки сімейства ZEITLUPE: Вони грають роль у регулюванні циркадних ритмів та росту рослин у залежності від тривалості світового дня.
- 3) фототропіни: Ці рецептори відповідають за фототропізм та фотоорієнтацію рослин, допомагаючи їм знаходити оптимальне джерело світла для фотосинтезу.
- 4) білок UVR8: Цей рецептор сприймає ультрафіолетове випромінювання в В-діапазоні (УФ-В) і відіграє важливу роль у захисті рослин від шкідливого УФ-випромінювання. [38]

Наразі відомо, що спектральний склад та інтенсивність світла мають великий вплив на фізіологічні процеси у рослинах. Однак, для повного розуміння цього впливу необхідно досліджувати не лише основні аспекти фотосинтезу, але і взаємозв'язок між світловими сигналами та ендогенними фітогормонами.

Опромінення рослин селективним світлом відкриває широкі можливості для регулювання фізіологічних процесів в рослинах, особливо в контексті вмісту та дії ендогенних фітогормонів. Фітогормони відіграють ключову роль у регулюванні росту, розвитку та адаптації рослин до змін у навколишньому середовищі. Селективне світло може стимулювати або пригнічувати їхню активність та впливати на їхній транспорт та перерозподіл між різними органами рослини. [38,67,130]

Метою данної роботи є дослідження впливу селективного світла на активність ендогенних фітогормонів в калусах та проростках *Pisum sativum* L.

Завдання дослідження:

- 1) Дослідити вплив селективного світла ЧС (660 нм), ЗС (530 нм) та СС (450 нм) на ростову реакцію та морфогенетичні зміни в проростках та калусах ДДР *Pisum sativum* L. сорту Меценат
- 2) Проаналізувати активність рістстимулюючих фітогормонів – ауксинів в проростках та калусах ДДР *Pisum sativum* L. сорту Меценат за дії селективного світла
- 3) Провести дослідження впливу опромінення селективним світлом на активність рістінгібуючих фітогормонів АБК в проростках та калусах ДДР *Pisum sativum* L. сорту Меценат
- 4) Проаналізувати зміни в фітогормональному балансі в проростках та калусах ДДР *Pisum sativum* L. сорту Меценат за активації фоторецепторних систем.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

I. ФОТОРЕЦЕПТОРИ СИСТЕМИ РОСЛИН

Відомо, що виявлення механізмів, які регулюють фотосинтез та донор-акцепторні взаємозв'язки рослин має одне з найважливіших значень для підвищення продуктивності сільсько-господарських цінних культур рослин. Процес фоторегуляції у рослин запускаються фоторецепторами. Наразі, відомі п'ять груп фоторецепторів, які сприймають інформацію про умови освітлення та довжину світлового дня, наявність патогенів або сусідів-конкурентів, направлення вектору гравітації та інших факторів [67]. До таких рецепторів відносять: рецептори червоного (ЧС) та дальнього (віддаленого) червоного світла (ДЧС) – фітохроми; рецептори, які сприймають ультрафіолетове випромінювання А-діапазону, синього (СС) та зеленого (ЗС) світла – криптохроми, фототропіни, білки родини ZEITLUPE, а також рецептор ультрафіолетового випромінювання В-діапазону (УФ-В) – білок UVR8 [23,38,122, 128]. Вірогідно, у рослин функціонують і інші фоторецептори, у томо числі специфічні до зеленого світла [137].

За допомогою фоторецепторів рослина орієнтується у навколишньому середовищі та здійснює ряд важливих функцій таких, як процес росту, перехід до цвітіння, вибір напрямку росту, утворення чи пригнічення формування бокових пагонів, тощо [28,34,86,118]. Завдяки взаємодії системі фоторецепції з гормональними системами рослин, а також з сигнальними системами, які засновані на продукції АФК у фотосинтетичному апараті, стає можливим такий широкий спектр фізіологічних відповідей [35,75,85].

Деякі дослідження демонструють, що механізмами переключення генетичних програм під контролем фоторецепторів можуть виступати альтернативний сплайсинг транскриптів, а також вибір альтернативних промотрів для тисячі генів рослин [113,125].

1.1 Фотоморфогенетична дія червоного світла.

Ключовими та головними регуляторами розвитку та життєдіяльності рослин є фітохромі. Фітохромі – одні з найбільш крупних та складно організованих рецепторів у рослин, молекулярна маса мономера 125 КД. N-кінцева частина білка виконує роль фотосенсора та складається із трьох консервативних доменів PAS, GAF, PHY. До домена GAF через тіоефірний зв'язок з цистеїновим амінокислотним залишком прикріплений хромофор фітохромобілін [25]. С-кінцева частина білку представляє собою серин-треонінову кіназу, яка виконує автофосфорилування білка, необхідного для утворення його активної форми-димера. Фітохромі синтезуються у темряві у цитоплазмі у вигляді неактивної форми.

У неактивної форми фітохрому максимум поглинання хромофору припадає на червону область спектру (600 нм). Після опромінення ЧС фітохром переходить в активну форму, у якій з'являється другий максимум поглинання хромофору в області ДЧС (730 нм); ці форми умовно позначають Фчс та Фдчс. Освітлення ДЧС сприяє переходу Фдчс назад у Фчс. Реверсія Фдчс у Фчс також здійснюється і в темряві у результаті поступової терморелаксації фітохромобіліну. Поглинання форм Фдчс та Фчс в області 450-550 нм незначне, а в УФ-А-синьої області спектру мало. Однак, поглинання фітохромобіліном у складі неактивної форми Фчс, навіть дуже незначної кількості світла в інших областях спектру, окрім червоної, у тому числі в області ДЧС, стає фізіологічно значимим у ситуації, коли білка фітохрому у клітині дуже багато [29]. Наприклад, у етиольованих проростків *Arabidopsis*, де міститься велика кількість PhyA, при цьому співвідношення різних фітохромів для PhyA, PhyB, PhyC, PhyD та PhyE складає 85:10:2:1,5:1,5, відповідно [112]. У такому випадку, навіть дуже слабкий ДЧС та будь-яке інше світло з більшою вірогідністю зможуть перевести хоча б декілька молекул PhyA в активну форму і цих молекул буде достатньо для запуску програми фотоморфогенезу [29].

Програма фотоморфогенезу проростків, що запускається PhyA, включає зупинку росту гіпокотилу дводольних (мезокотилу в однодольних), росту колеоптилю однодольних, розгортання сім'ядолів, позеленіння проростків та завершення розвитку фотосинтетичного апарату пластид. Протилежна програма – скотоморфогенез, який включає ріст гіпокотилу дводольних і мезокотилів злаків, гальмування експресії ряду генів, що кодують компоненти фотосинтетичного апарату, ферменти їх біосинтезу та ін [29].

PhyA – фотолабільний фітохром; на високому світлі він піддається фотодеструкції. PhyA здатний активуватися у відповідь на менше 1 мкмоль/м² квантів будь-якого світла у діапазоні 300–780 нм та опосередкувати комплекс реакцій, що позначаються як *very low fluence response* (VLFR). Однак, PhyA може активуватися і на високому світлі (від 1000 мкмоль/м² квантів та вище) у відповідь на збільшення кількості ДЧС, а також за загального зниження освітлення [15]. Цей тип відповідей називається *High irradiance response* (HIR). Завдяки HIR та PhyA, проростки навіть під густим покривом листя в тіні можуть повністю завершити деетіоляцію [24, 29].

У темряві PhyA знаходиться в цитозолі, оскільки у його структурі відсутній сигнал ядерної локалізації. Перебуваючи в цитоплазмі, PhyA може регулювати гравітропізм. Цитоплазматичні форми фітохромів, можливо, взаємодіють безпосередньо з білками плазматичної мембрани [74,104].

Багато вчених описують реакції рослин, які регулюють фітохроми, вони відбуваються менш ніж за 10 хв після дії ЧС чи ДЧС, тобто дуже короткого проміжку часу для змін на рівні експресії генів [104].

У судинних рослин до таких реакцій відноситься швидка (протягом кількох секунд) деполяризація плазматичної мембрани кінчиків коріння ячменю у відповідь на дію ЧС, яка знімається ДЧС (ефект Tanada; [120]), а також згортання листя бобових на ніч, швидке набухання протопластів пшениці та інше [104]. Цитоплазматичні фітохроми можуть регулювати трансляцію мРНК, що було показано для транскриптів ферменту протохлорофілілдіоксидоредуктази А [95].

Під впливом будь-якого світла PhyA швидко переміщується в ядро за допомогою білків FHY та FHL, які містять сигнал ядерної локалізації [29]. З цими білками зв'язується фосфорильована форма PhyA, яка в ядрі дефосфорильовується і вивільняється. У ядрі PhyA прямо взаємодіє з Е3-убіквітинлігазним комплексом COP1-SPA1 (Constitutive Photomorphogenic 1/Suppressor of PhyA 1) та з регуляторами транскрипції PIF1 та PIF3.

На відміну від PhyA, PhyB та всі інші фітохром *Arabidopsis* фотостабільні. У проростків, вирощених на постійному світлі, домінуючим фітохромом стає PhyB: співвідношення фітохромів за результатами імуноблоттингу для PhyA, PhyB, PhyC, PhyD і PhyE складає 5: 40:: 15 : 15 : 25, відповідно [28]. ЧС інтенсивністю не менше 1-1000 мкмоль/м² специфічно активує PhyB і комплекс регульованих ним реакцій, які називаються low fluence response (LFR). З цим пов'язано деактивуючу дію ДЧС на програми фотоморфогенезу, що запускаються активною формою PhyB [29].

Оскільки PhyB містить сигнал ядерної локалізації, він знаходиться у ядрі; там він діє з COP1-SPA1 і з регуляторами транскрипції PIF4, PIF5, PIF7 та іншими, а також виконує ряд інших функцій. На світлі PhyB запускає фотоморфогенез, який виявляється у завершенні розвитку фотосинтетичного апарату хлоропластів, зростанні листових пластинок у ширину, компактизації розеток та пагонів, утворенні бічних пагонів [28]. Протилежна програма – скотоморфогенез, або «синдром уникнення тіні» (shade avoidance syndrome, SAS), при інактивації PhyB за рахунок підвищення у спектрі падаючого світла частки ДЧС та зниження частки ЧС призводить у дорослих рослин до подовження черешків, міжвузлів, спостерігається явище гіпонастичного листя та блідо-зеленого забарвлення, викликаного неповним формуванням фотосинтетичного апарату [28]. На яскравому світлі саме дисфункція PhyB, а не PhyA, викликає блідо-зелене забарвлення листя [23, 137]. Відсутність у мутанта рису PhyB призводила до інгібування експресії генів, що кодують необхідні для формування фотосинтетичного апарату субодиницю Mg-хелатази ChlH та її активатор GUN4, розвитку блідо-зеленого фенотипу та

запуску «синдрому уникнення тіні» [61]. PhyV є активатором формування продихів [22]. На прикладі формування продихів вперше було продемонстровано, що Phy V діє системно, тобто його сигнали, що опосередковують диференціацію продихів у епідермі листа, які поширюються з клітини у клітину, діють не автономно [32]. У листі ген PhyV експресується в клітинах-попередників продихів, у продихах і в епідермі. У позбавленого PhyV мутанта *Arabidopsis* зі зниженим числом продихів на одиницю площі листа відбувалося відновлення формування продихів при комплементції кДНК нативного PhyV, причому під контролем не тільки промотора, специфічно активного в продихах, але і будь-якого промотора, активного в інших клітинах і тканинах, у тому числі pAtSUC2, активного лише у клітинах флоєми [32]. Крім того, неклітинно-автономна дія PhyV була підтверджена комплементцією в мутанті PhyV негативного гравітропізму гіпокотилу за допомогою експресії гена PhyV клітини епідермісу гіпокотилу [70]. Оскільки гравітропічна реакція реалізується в ендодермісі, це також говорить про наявність регульованого PhyV мобільного сигналу. У цілому PhyA є ключовим перемикачем програм ското-і фотоморфогенезу у проростків та дорослих рослин у тіні, а PhyV – у зелених проростків та дорослих рослин на яскравому світлі [29]. Це відноситься як для дводольних, так і для однодольних рослин, але в організації фітохромної системи однодольних і дводольних є і деякі відмінності. На відміну від *Arabidopsis*, у рису, пшениці та ячменю виявлено лише три фітохроми PhyA-C. Однак, якщо PhyV у дводольних – репресор цвітіння, то у досліджених злаків цей фітохром виступає позитивним регулятором цвітіння поряд з PhyC [93, 98]. Інших функціональних відмінностей фітохромів у обох класів покритонасінних поки не виявлено. Зовсім недавно було підтверджено, що фітохроми у рослин виконують функцію терморецепторів [66]: конститутивно активна мутантна форма PhyV з заміною тирозину-276 на гістидин не піддається в темряві реверсії в неактивну форму, її використання в експериментах допомогло встановити, що функція фітохромів як рецепторів температури пов'язана зі швидкістю реверсії

Фдчс у Фчс у темряві [66]. Чим вища температура у нічний період, тим швидше здійснюється реверсія в неактивну форму. Крім того, чим вища температура, тим слабше зв'язування PhyV з промоторами регульованих генів. Такий механізм терморецепції відрізняється від механізму, використовуваного двокомпонентними сенсорними гістидиновими кіназами ціанобактерій Hik33, які так само, як і фітохроми рослин, одночасно є сенсорами світла і температури, але сприймають індуковані температури зміни в плинності мембран, у які вони вбудовані [114]. У *Arabidopsis* функціональні відмінності між п'ятьма фітохромами виявляються у їх ролі в терморегуляції низки функцій рослин: так, у теплі проростання насіння регулюється головним чином PhyV, а на холоді – PhyE; однак, після тривалого холоду насіння для проростання необхідний PhyA [50]. Пригнічення цвітіння на холоді регулюється PhyE, а у теплі – PhyV [50]. Фітохроми є найбільшими регуляторами транскрипційної активності геному рослин. Останні дані показують, що і PhyA, і PhyV можуть безпосередньо зв'язуватися з промоторами регульованих генів [36,66]. У проростків при переміщенні з темряви на світло фітохроми контролюють не тільки експресію кількох тисяч генів, а й альтернативний сплайсинг транскриптів понад тисячу генів [113]. Інший механізм, який регулюють фітохроми, є світлозалежний вибір промоторів [23]. Наявність у гена альтернативних промоторів призводить до того, що для одного і того ж гена в залежності від вибору старту транскрипції можливе отримання мРНК, що відрізняються 5'-нетрансльованою областю, що може впливати на стабільність транскриптів, а також на N-кінцеву послідовність кодованого білка. Як правило, сигнальні пептиди, які забезпечують транспорт білків в мітохондрії та хлоропласти, розташовані на N-кінцях. Виявилося, що PhyV, ймовірно, безпосередньо зв'язуючись з ДНК регульованих генів, контролює вибір промотора для транскрипції імовірно, понад дві тисячі генів, що може призводити до синтезу білків з цитоплазматичною або органельною локалізацією, залежно від світлових умов [125]. Зокрема, у рослинах *Arabidopsis thaliana*, що ростуть у тіні, виявляються як хлоропластна,

так і раніше невідома цитоплазматична ізоформа ферменту фотодихання гліцерат-кінази: обидві ізоформи є продуктами одного і того ж гена, але залежно від опосередкованого PhyV вибору промотора N-сигнальний пептид, на керуючий білок в хлоропласти, або є, або відсутня. Наявність цитоплазматичної ізоформи забезпечує функціонування до додаткового шунту фотодихання, який відіграє важливу роль у захисті рослин від фотоінгібування при перенесенні рослин з тіні на яскраве світло [125].

У той час як механізми синтезу та деградації білка фітохромів у клітині і пов'язана з цим регуляція сигнальної функції фітохромів інтенсивно вивчаються. Набагато менше відомо про те, як регулюється транскрипція генів, що кодують фітохромів. Показано, що регуляція транскрипції PhyA здійснюється через деметилювання та деацетилювання гістонів, і можливо в цьому бере участь PhyV [128]. За іншими даними, на світі PhyV опосередковує метилювання промотору гена PhyA і вимикає його експресію [29]. У листі *Arabidopsis* експресія гена PhyA інгібувалася світлом, причому, ймовірно, що опосередковано самим PhyA, а рівень експресії гена PhyV не змінювався залежно від світлових умов; однак, у корінні експресія генів обох фітохромів, але особливо PhyV, збільшувалася на світлі [116]. У темряві експресія генів обох фітохромів у листі *Arabidopsis* збільшувалася; однак ці дані були отримані при вивченні злиття промоторів генів фітохромів з маркерним геном GUS, тобто, не було враховано можливе регулювання стабільності транскриптів генів фітохромів *in vivo* в області 3'-UTR [116]. Пізніше аналогічним методом були вивчені патерни експресії PhyA у рису [14].

Ще одним механізмом, який регулює рівень транскрипції генів, що кодують білки фітохромів, може бути вміст 5-амінолевулінової кислоти – загальний субстрат біосинтезу хлорофілу, гемо та фітохромобіліну. Оскільки синтез фітохромобіліну відбувається у пластидах, такий механізм міг би бути «зворотним зв'язком» для координації біосинтезу апобілкових фітохромів та хромофорів. Попередніми дослідженнями отримано докази на користь спільного регулювання фітохромною системою та ретроградним сигналом

лінгом генів, що індуюються світлом [21]. У цілому роль фітохромів у регуляції біосинтезу хлорофілів у проростках велика і активно вивчається [51].

1.2 Фотоморфогенетична дія зеленого світла

Аналіз літературних даних показав, що наразі існує невелика кількість досліджень щодо впливу зеленого спектру світла на морфогенез рослин. Довгий час вважалося, що зелене світло є фізіологічно неактивною частиною спектра, так як колір листя переважної більшості рослин зелений, що наводить на думку, що зелене світло рослини відбивають, а не використовують як джерело енергії. Однак було відзначено, що певний баланс зеленого і синього світла важливий для ефекту уникнення тіні [49], а рецепторами, які вловлюють співвідношення СС/ЗС, є криптохромі [37]. На даний час рецептор зеленого світла не відомий, проте передбачається, що в рецепції цієї частини спектра бере участь фітохромна і криптохромна системи. Опромінення ЗС призводить до оборотності викликаних СС накопичення антоціанів, ініціації цвітіння і відкривання продихів, активації вуглецевого метаболізму в рослинах. Існування таких реакцій, викликаних опроміненням ЗС, дає можливість зробити припущення, що існує окремий фоторецептор зеленого світла, можливо, зеаксантинового типу [7,55]

Деякі вчені вважають відсутню фотохімічну та фізіологічну активність ЗС, тому ЗС використовують у якості «темряви» при постановці експериментів. Практично не вивчений гормональний статус рослин до адаптації ЗС.

Реакція на зелене світло є видоспецифічною та залежить від його інтенсивності. На зеленому світлі (від 48 до 327 мкМ квант/м² с) формуються рослини з більш низькою біопродуктивністю, ніж на ЧС та СС, що проявляється у формуванні тонкої листової пластини, зменшенні числа клітин мезофілу та розмірів клітин стовбчатої паренхіми, збільшення об'єму міжклітинників. Однак, відомо що додавання зеленого світла до джерел світла

(наприклад, ЧС, СС) приводить до підвищення ефективності їх впливу на морфофізіологічні процеси досліджених об'єктів. Зелене світло має відносно вищу відбивну здатність, ніж червоне та синє світло [71, 115]. Додавання зеленого світла в поєднанні з червоними і синіми світлодіодами може сприяти посиленню росту рослин, оскільки зелене світло може проникати в крони рослин краще, ніж червоне або синє світло [71, 115]. Листя в нижній частині крони могли б використовувати пропущене зелене світло для фотосинтезу.

1.3 Фотоморфогенетична дія синього світла.

Фототропіни є протеїном кінази, що активуються світлом. Вони, як правило, локалізуються у плазмалемі, але не є інтегральними мембранними білками, також можуть асоціюватися із зовнішньою мембраною хлоропластів [38].

Наприклад, *Arabidopsis* має два фототропіни: фотостабільний PHOT1 і фотолабільний PHOT2. Активація світлом та автофосфорилування фототропінів викликає їх переміщення в цитозоль (PHOT1) або до мембран Гольджі (PHOT2). Фототропіни несуть на N-кінці два домени LOV1 та LOV2, кожен з яких зв'язує хромофор ФМН, а на C-кінці розташовується Ser/Thr-кіназний домен, необхідний для автофосфорилування під впливом СС [23].

Множинне фосфорилування за C-кінцем сприяє утворенню активної форми рецептора – димерної. У темряві кіназна активність у фототропінів відсутня, але поглинання кванта світла хромофором у складі домену LOV2 сприяє її прояву. Крім фосфорилування за залишками серину та треоніну, під дією СС у білку відбуваються структурні зміни, а саме часткове розкручування альфа-спіралі Jalpha [57]. Нековалентно пов'язаний з білком окислений ФМН у складі LOV-доменив після поглинання кванта світла 4 пізніше нм утворює ковалентний зв'язок між атомом вуглецю ФМН та атомом сірки розташованого поряд із залишком цистеїну. Аддукт, що утворюється протягом декількох мікросекунд, нездатний до поглинання СС, а його поява сприяє

переходу фоторецептора до активного стану. У темряві протягом кількох десятків або сотень секунд відбувається реверсія фоторецептора в неактивний стан. Неповний перелік функцій, регульованих фототропінами у рослин, включає фототропізм пагона, кореня та листків, переміщення хлоропластів у відповідь на світлові та температурні сигнали, регуляцію рухів продихів [38,51]. Механізм регуляції найкраще прояснений для відкривання продихів на СС: фототропіни активують кіназу BLUS1 (blue-light signaling 1), специфічну для замикаючих клітин продихів, яка у свою чергу активує H^+ -АТФазу плазмалеми, що викликає гіперполяризацію мембрани та вхід калію через внутрішньо-випрямляючі канали, набухання замикаючих клітин та відкриття продихів [62].

Оскільки біохімічні темнові реакції фотосинтезу залежать від температури, один той же рівень світла при різній температурі може надавати різний «тиск збудження» (excitation pressure) на фотосинтетичний апарат хлоропластів, тому хлоропласти на одному й тому ж освітленні, але при нижчій температурі, переміщуються до антиклінальних стінок клітин мезофілу, а при вищій – до періклінальних [51]. Це спостереження дало підставу припускати, що фототропіни у рослин можуть виступати термосенсорами. На прикладі *Marchantia polymorpha*, що володіє тільки однією копією гена MrPHOT, було показано, що переміщення хлоропластів, а також ядра і пероксисом, у відповідь на зниження температури вимагає наявності СС і має кіназну активність MrPHOT [51]. Виявилося, що за низької температури на СС сильно зростає рівень автофосфорилування MrPHOT, а також значно збільшується час життя його активованого стану, що у сукупності сприяє переміщенню хлоропластів до антиклінальних клітинних стінок та уникнення фотоокислювального стресу [30,51]. Таким чином, фітохроми та фототропіни є терморецепторами рослин, які функціонують у різних світових умовах та в різних часових діапазонах. Час життя активної форми фоторецептора для фітохромів становить десятки хвилин, а для фототропінів – десятки секунд) [51]. Білки сімейства ZEITLUPE – ZTL, FKF1

та LKP1 – являють собою E3-убіквітин-лігази, що активуються під дією синього світла та опосередковують убіквітинування та протеасомну деградацію своїх субстратів [6, 142]. Вони утримують на N-кінці єдиний LOV-домен із хромофором ФМН, за яким розташовуються F-box домен, який забезпечує зв'язок E3-убіквітин-лігази з субстратом, та KELCH-домен, відповідальний за білок-білкові взаємодії. Показано, що ZTL контролює добові циркадні ритми, FKF1 контролює перехід до цвітіння, а LKP1 необхідний для обох процесів. Фотоактивація LOV-домену змінює здатність цих білків взаємодіяти з регуляторним білком GIGANTEA (GI), а також збільшує їх E3-убіквітин-лігазну активність. Комплекс GI-FKF1 необхідний для запуску деградації репресорів експресії генів CO (CONSTANS) – CDF (Cycling DOF Factors). CONSTANS, у свою чергу, активує транскрипцію FT – флоригену та головного активатора цвітіння *Arabidopsis*. Комплекс GI-ZTL, навпаки, обмежує здатність ZTL убіквітинувати його субстрати, які являють собою компоненти циркадного осцилятора. У білків сімейства ZEITLUPE фотоактивація хромофора ФМН так само, як і у фототропінів, сприяє утворенню аддукту з цистеїнілом, але його розпад у випадку FKF1 уповільнений (час життя може становити кілька діб), а у ZTL йде так само швидко, як у фототропінів [38, 142]. У темряві ZTL опосередковує деградацію репресора корових циркадних генів Timing of CAB expression 1 (TOC1), а CC пригнічує цей процес: інгібування ZTL шляхом зв'язування з GI сприяє накопиченню TOC1. Аналогічно, GI пов'язує FKF1 (після активації останнього CC), але це, навпаки, посилює його убіквітин-лігазну активність: у результаті на довгому дні запускається FKF1-залежна деградація репресорів транскрипції CO та FT – CDF [38, 142].

Ще один клас рецепторів синього світла криптохроми – спочатку виникли в еволюції як ФАД-залежні ДНК-фотоліази, тобто ферменти, що репарують викликані синім світлом розриви в ДНК. Ця функція досі зберігалася у деяких криптохромів наземних рослин, наприклад, у криптохромів, що відносяться до групи CRY-DASH, які можуть зв'язуватися

з ДНК і мають ДНК-ліазну активність [60]. Для цієї групи криптохромів фоторецепторна функція поки що не була показана. Домен PHR (photolyase homology region) у складі криптохромів пов'язує хромофор ФАД, який поглинає світло в діапазоні 320-500 нм, а також хромофор птерин (5,10-метенілтетрагідрофолат), який виконує роль антени, передаючи на ФАД енергію світла близького УФ-діапазону 370-390 нм [11].

Криптохром з окисленим ФАД є неактивною формою фоторецептора, після фотовідновлення та протонування утворюється нейтральний семіхінон ФАД Н і фоторецептор перетворюється на активну форму [17]. Подальше відновлення хромофора у ФАД Н₂ (що має місце при поглинанні квантів зеленого світла) відповідає переходу криптохрому в неактивний стан [17]. Однак, для здійснення ДНК-фотоліазної активності необхідний саме повністю відновлений ФАД Н₂. Криптохроми також можуть зв'язувати АМФ та АТФ, і, можливо, це сприяє стабілізації активної семіхінон-містної форми [38]. У складі криптохрому функціонує внутрішньомолекулярний ланцюг перенесення електронів через триптофани до ФАД у ході фотоактивації останнього, а його протонування здійснюється від залишку аспартату в поліпептидному ланцюзі. На С-кінці криптохромів (крім групи CRY-DASH) є дуже варіабельний сигнальний домен CCE (Cryptochrome C-terminal extension) [11]. Кіназних доменів у складі криптохромів немає, але для їх активації також необхідно множинне фосфорилування по С-кінцю та димеризація.

При цьому експонується так званий NC мотив на С-кінці, що містить 80 амінокислотних залишків. Експресія тільки кДНК, що кодує ці 80 амінокислотних залишків, комплементує фенотип пізнього цвітіння у мутантів *Arabidopsis*, дефектних по cry [11]. У *Chlamydomonas* єдиний криптохром сприймає і синє, і червоне світло. У геномі *Physcomitrella* містяться гени двох криптохромів, а у *Adiantum capillus-veneris* виявлено п'ять криптохромів. У рису виявлено два рецептори CRY1 і один CRY2, а у пшениці два рецептори CRY1, один CRY2 та один CRY-DASH [11]. У *Arabidopsis* знайдено три криптохроми: CRY1 – світло стабільний, який активується на сильному світлі,

CRY2 – світлолабільний, який сприймає тільки дуже слабе світло, а на сильному світлі піддається деградації, ймовірно, через COP1-SPA1 убіквілін-лігазний комплекс [78], і CRY3, який у *Arabidopsis* відноситься до групи CRY-DASH. CRY1 і CRY2 локалізуються у ядрі, а CRY3 – у мітохондріях та у хлоропластах. З зрозумілих причин найкраще досліджено криптохромна система регулювання *Arabidopsis*. Було показано, що криптохроми в умовах природного затінення є сенсорами із відношення СС/ЗС [111, 69]. Виявилося, що «синдром уникнення тіні» може викликатися не тільки зниженням співвідношення ЧС/ДЧС, а ще й підвищенням частки ЗС у спектрі, що падає; запуск даної реакції контролюється криптохроми [137, 111, 69]. Крім того, Zhang зі авт. [12] виявили і незалежний від фіто- та криптохромної систем відповідь *Arabidopsis* на зелене світло, яке, мабуть, здійснюється через ще не ідентифікований рецептор. На СС активні форми криптохромів у ядрі взаємодіють з білками-регуляторами транскрипції PIFs, а також з факторами транскрипції CIB (cry-interacting bHLH), забезпечуючи убіквілін-залежну деградацію останніх через COP1-SPA1 убіквілін-лігазний комплекс.

Крім того, CRY зв'язуються з COP1-SPA1 та сприяють його видаленню з клітинного ядра, запускаючи процеси фотоморфогенезу, а також регулюючи (спільно з іншими фоторецепторами) перехід до цвітіння, оскільки саме COP1 викликає убіквілінування і деградацію білка CONSTANS, необхідного для запуску цвітіння. Активна форма CRY2 пов'язує транскрипційний фактор CIB1, що призводить до активації експресії флоригену FT. У цьому процесі також задіяні CIB2 та CIB5. Також у *Arabidopsis* на синьому та білому світлі CRY2 є негативні регулятори інгібітора цвітіння PhyB. Таким чином, CRY2 виконує функцію основного активатора цвітіння у *Arabidopsis*. Запуск фотоморфогенезу на СС під контролем криптохромів йде за участю важливих компонентів – активаторів транскрипції HY5, HFR1, HYH, що і за фітохромної регуляції. Криптохроми активують експресію всіх генів фотосинтетичного апарату, білки яких кодуються в ядрі, таких, як CAB та RbcS. На СС CRY1

викликає позеленіння коріння, тобто фотоморфогенез пластид клітин кореня [124]. При зниженні освітленості в синій області спектру криптохроми можуть викликати реакцію «уникнення тіні» (SAS), але в даному випадку не відбувається придушення імунітету рослин, на відміну від SAS, що контролюється фітохромами [69, 33], що може представляти інтерес для використання в практиці. Таким чином, криптохроми контролюють циркадні ритми, індукцію цвітіння, СС залежний фотоморфогенез та інші функції рослин [38].

Під дією СС у *Arabidopsis* CRY1 після переміщення в ядро активує аніонні (Cl⁻) канали [11]. Це імовірно викликає тимчасову деполяризацію плазмалем, спостерігається протягом 30 с після впливу СС, однак точний механізм невідомий. Крім того, відновлені форми хромофора криптохромів семіхінон ФАД Н і ФАД Н₂ можуть сприяти відновленню кисню та появи в клітині АФК, таких, як супероксид радикал та пероксид водню [11].

II. ФІТОГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ МОРФОГЕНЕЗУ РОСЛИН

2.1 Роль ауксинів (ІОК).

Ауксини – слабкі органічні кислоти з ароматичним скелетом та залишком карбонової кислоти. Вони регулюють ріст і розвиток рослин, спрямовують метаболічні та фізіологічні процеси, формують реакції на зовнішні впливи. У меристемах ауксини регулюють поділ, подовження та диференціацію клітин, впливають на органогенез та архітектуру пагонів і коренів. Роль ауксинових градієнтів у регуляції росту та розвитку рослин обумовлюється комбінацією транспортних потоків гормону, ауксиновим сигналінгом та взаємодією з іншими фітогормонами [9].

Синтез ауксину відбувається триптофан-незалежним та триптофан-залежним шляхами [31]. Найпоширенішим ауксином є індоліл-3-оцтова

кислота, яку знайдено у бактерій, грибів, спорових і насіннєвих рослин, комах і людей [106].

Ефекти ауксинів визначаються концентрацією активних форм гормону в тканинах рослин. Ауксиновий гомеостаз залежить від інтенсивності біосинтезу і деградації гормону та напрямку і швидкості транспортних потоків [72]. Транспорт ауксину відбувається активним і пасивним шляхами. Пасивний транспорт не має власної регуляції і залежить від швидкості флоемного потоку. Натомість активний полярний транспорт енергозалежний і забезпечується білками транспортерами, які кодуються генами AUX1, PIN і PGP. Ауксини активують поділ і видовження клітин, стимулюють формування та підтримують ріст бічних коренів, залучені до біосинтезу білків, контролюють розвиток судинних тканин, вегетативних і репродуктивних органів, прискорюють проростання насіння, дозрівання плодів, задіяні у тропізмах і апікальному домінуванні та формуванні стресостійкості [52, 73, 126].

У різних представників однодольних рослин, серед яких рис, кукурудза та сорго, ауксини задіяні в регуляції ембріогенезу, розвитку кореневої системи, пагонів, листків і судин, формуванні й розвитку волотті та колосків [16, 130]. Вони беруть участь у регуляції розвитку репродуктивних структур, зародка, ендосперму та насіннєвої оболонки [26]. На процеси формування апікально-базальної осі та листків під час ембріонального розвитку рослин арабідопсису впливає розподіл ауксину, який здійснюється з участю білків-транспортерів родин PIN і ABCB. Підвищені рівні ауксину в зародкових коренях і сім'ядолях визначають формування бічних коренів, листків і квіток під час постембріонального розвитку [98]. Характер його локалізації в ембріонах впливає на початок диференціації тканин та ініціює розвиток органів [128].

Ауксини відіграють важливу роль у розвитку первинного та бічних коренів і кореневих волосків [107, 133], впливають на архітектуру кореневої системи [92]. Індукований ауксином ріст пагонів пригнічує ріст бруньок через

відтік цукрів, необхідних для галуження пагонів і росту стебла [68]. Також вони відіграють важливу роль у забезпеченні життєздатності пилку та розвитку пиляків у рослин різних таксонів [27]., разом з етиленом задіяні у регуляції процесів партенокарпії, дозрівання та визначенні форми плодів [70]. У кукурудзи та арабідопсису ауксин регулював швидкість проліферації ендосперму та целюляризації під час розвитку насіння [19, 21, 46]. Синтезований в ендоспермі ауксин експортується до шкіряного покриву та регулює розвиток насінневої оболонки [45]. У насінні, що розвивається, він стимулює проліферацію ендосперму, а в деяких видів видовження зародка [50]. Зменшення кількості активного ауксину в пилку трансгенних ліній арабідопсису індукувало зміни в будові пилкової трубки, зменшення кількості пилкових зерен та їхньої життєздатності, порушення синхронізації у розкритті пиляків, зменшення кількості насіння у стручка.

У регуляції просторово-часового асиметричного розподілу ІОК ключову роль відіграють PIN-FORMED (PIN) протеїни. Гіперекспресія гена *ZmPIN1a* у рослин кукурудзи призводила до збільшення кількості бічних коренів та зменшення їхньої довжини, утворення розвиненої кореневої системи з довгими коренями та більш щільними бічними, гальмувала ріст надземної частини, призводила також до зменшення довжини міжвузлів та висоти колоса. Завдяки таким змінам зросла врожайність в умовах високої щільності вирощування, а розвинена коренева система поліпшила стійкість рослин до посухи, вилягання та дефіциту фосфатного живлення [81]. ІОК контролюють видовження клітин пагонів і коренів, активуючи H^+ -АТФази, які локалізовані на плазматичній мембрані [44]. Фізіологічні ефекти ауксину проявляються при взаємодії з іншими фітогормонами, які регулюють синтез, деградацію, транспорт, сигналінг і локацію один одного [87]. Проте розуміння такої взаємодії все ще фрагментарне і потребує подальшого вивчення [9].

2.2 Роль абсцизинів (АБК).

Абсцизова кислота (АБК) задіяна в регуляції цілої низки метаболічних і фізіологічних процесів, серед яких дозрівання та проростання насіння, перехід у стан спокою, формування кореневої системи, набуття стресостійкості [6]. За хімічною структурою АБК є сесквітерпеном (C₁₅). Виділяють цис- і транс-ізомери абсцизової кислоти, які відрізняються просторовим положенням карбоксильної групи біля другого атома вуглецю. Домінуючим у вищих рослин є активний цис-ізомер АБК, тоді як транс-ізомер представляє неактивну форму гормону [99]. Під час дозрівання насіння обидва ізомери АБК проявляють фізіологічну активність [119]. Вміст і співвідношення її ізомерів визначають інтенсивність процесів біосинтезу, кон'югації та деградації, компартментації й транспортування [39, 105]. Абсцизова кислота синтезується в листках, корені, стеблі, плодах, однак головним сайтом утворення гормону є хлоропласти, судинна система та замикаючі клітини продихів, а накопичується здебільшого у вакуолях [109]. Вона відіграє важливу роль упродовж життєвого циклу рослини: від стадії одноклітинної зиготи і до зрілої багатоклітинної рослини. Під час дозрівання насіння АБК запобігає передчасному проростанню, посилює накопичення запасних речовин, індукує стійкість до зневоднення, експресує гени LEA протеїнів [59], гальмує розвиток пророслого насіння в разі негативного впливу навколишнього середовища [18, 132]. Також вона впливає на забарвлення насіннєвої шкірки, розтріскування насіннєвих коробочок і появи корінців на ранніх стадіях дозрівання насіння [48]. При взаємодії з цитокінінами та гіберелінами індукує спокій бруньок за умов низької температури [119].

АБК контролює ріст і будову кореневої системи. Взаємодіючи з іншими гормонами, пригнічує видовження і диференціацію корневих клітин, регулює перехід від проліферації до диференціювання та розвиток бічних коренів [60]. Має здатність уповільнювати клітинний цикл, стримувати проліферацію клітин кореня має важливе значення для визначення розмірів бічних коренів [42]. Регулює процеси старіння листків, задіяна у деградації хлорофілу та

синтезі крохмалю [53], спрямовує енергетичний потік від вихідних тканин (старіючих листків) до тканин-поглиначів (спляче насіння й квіткова меристема) [138]. АБК залучена до формування кутикулярного воску, який блокує втрату води листками та стеблами, завдяки чому підвищується посухостійкість Thalmann [11, 114]. За дії осмотичного стресу абсцизова кислота прискорює деградацію крохмалю, сприяє експорту цукрів з тканин листків до поглинаючих тканин кореня [121]. Реакції на стрес, опосередковані АБК, обумовлюють виживання рослин. Серед них найбільш дослідженими є закриття продихів. Завдяки зменшенню апертури продихів гальмується транспірація, зменшуються втрати води, запобігається проникнення патогенів [90]. За умов посухи АБК індукує антиоксидантний захист, посилює активність супероксиддисмутази, пероксидази, каталази, аскорбатпероксидази і глутатіонредуктази, впливає на експресію генів біосинтезу аквапоринів [140], також вона задіяна в регуляції процесів формування та дозріванні плодів, обпадання квіткових органів [9,139].

III. КУЛЬТУРА IN VITRO БІОЛОГІЧНА МОДЕЛЬ ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИННОГО ОРГАНІЗМУ

Калусні культури вже багато років є зручним модельним об'єктом для дослідження низки фізіологічних процесів, які відбуваються у клітинах рослин, зокрема і під впливом різних стресорів. У ряді досліджень показано універсальність початкового етапу всіх шляхів морфогенезу *in vitro*, що включають ембріогенез, органогенез та гістогенез. Однак єдиних правил визначення зовнішніх факторів культивування, що сприяють формуванню та розвитку спеціалізованих систем клітин, досі не існує, як не існує єдиної методики оптимізації параметрів культивування рослинних клітин. Отримання культури рослинних клітин, що здійснює живлення та підтримує ріст виключно за рахунок вуглецю повітря, є непростим завданням. Більшість клітин, що містять хлорофіл, на середовищі без вуглеводів виявляють низьку

швидкість росту або культивуються лише протягом короткого періоду часу, хоча формують хлоропласти і проявляють фотосинтетичну активність [101].

3.1 Ендогенні фітогормони в калусній культурі

Відомо, що впродовж всього життя рослина зберігає частини меристемних тканин, які в результаті фітогормональної регуляції процесів росту мають властивість давати початок організованим структурам — брунькам, пагонам, кореням, ембріодам, рослинам тощо. Існують дослідження у яких було випробувано різні концентрації фітогормонів, які відіграють основну роль у системі регуляції та інтеграції процесів росту та плину процесів морфогенезу. У практиці мікроклонального розмноження відомо два види морфогенезу: прямий — утворення рослин-регенерантів із експлантів шляхом активації меристем та непрямий — утворення рослин-регенерантів із первинного чи субкультивованого калусу [128].

Результати дослідження первинного калусогенезу у ізогенних ліній сої з контрастною фотоперіодичною реакцією показали, що всі досліджувані генотипи здатні формувати калус на поживному середовищі з додаванням синтетичного регулятора росту ауксинової природи 2,4-Д дуже швидко. Різниця в частоті калусоутворення між ізолініями спостерігається тільки у перший тиждень культивування протягом 4-7 діб. У попередніх дослідженнях показано, що генотипи з короткоденною фотоперіодичною реакцією характеризувалися більш високими показниками частоти калусогенезу у порівнянні з фотоперіодично нейтральними ізолініями. Але подальше культивування протягом 4 тижнів призводило до нівелювання цієї різниці між генотипами і всі ізолінії формували первинний калус зі 100 %-ною ефективністю. За морфологічними ознаками калусні тканини представляли собою компактні, оводнені, жовтуваті, швидко зростаючі калуси. Результати визначення активності фітогормонів-антагоністів у 28-добових первинних калусах показали, що активність ІОК в первинних калусах

ізогенних ліній сої вища за активність гормону антагоніста – АБК у всіх ізолініях, незалежно від їх фотоперіодичної реакції. Максимальна активність ІОК виявлена у лінії Clark з короткоденною реакцією, а мінімальна – у ізолінії L 94-1110 з фотоперіодично нейтральною реакцією. ІОК в культурі *in vitro* стимулює процес калусоутворення, а саме індукує дедиференціювання клітин експланту та активує ріст «розтягненням» калусних клітин [10]. Тому розраховували відношення вмісту ростостимулюючих гормонів до ростогібуючих. Виявлено, що ізолінії з короткоденною фотоперіодичною реакцією, які характеризуються більш інтенсивним калусогенезом мають більш високий показник ІОК/АБК, у порівнянні з фотоперіодично нейтральними ізолініями. Таким чином, у ході проведених досліджень було виявлено, що на процес калусогенезу впливає саме рівень активності ІОК та АБК. Показник відношення ІОК/АБК корелює із частотою калусогенезу та залежить від генотипу і фотоперіодичної реакції ізолінії [1].

3.2 Фотоморфогенез в калусній культурі

Для деяких культур *in vitro* досліджено вплив світла на параметри росту та накопичення біомаси [91]. У роботах з культурою клітин амаранту (*Amaranthus paniculatus* L.) відмічали пришвидшений ріст калусу в умовах освітлення білим світлом на середовищі з пониженим вмістом сахарози, також було відмічено підвищення зеленого забарвлення культур. [54].

У роботах з калусною культурою *Camellia sinensis* L., вирощеною в темряві та на світлі (інтенсивність 3000 лк), з додаванням у середовище культивування гормону 2,4-Д та глюкози (2,5%), спостерігалось накопичення культурою, крім флаванів, також флавонолів (кемпферол і кверцетин) і глікозидів. Таким чином, хлоропласти є одним із центрів синтезу фенольних сполук у клітинах рослини. Деякими вченими встановлено, що освітлення калусних культур *Marticaria chamomilla* L. викликає накопичення сесквітерпенів. Світло

збільшує вміст кофеїну в суспензійних культурах *Coffea arabica* L. у 10 разів у порівнянні з темною культурою [108, 40, 76].

Існують дослідження експресії генів синтезу шиконіну у культурі *Onosma paniculatum* Pall, на світлі та у темряві. Було виділено повнорозмірну компліментарну ДНК-бібліотеку з клітинних культур, вирощених у темряві та на білому світлі. Аналіз експресії генів показав, що у світловій культурі порівняно з темною виявлено 23 гени - 17 генів з відомими функціями, 2 гени із заплутаними функціями та 4 нових гени. З цієї кількості генів, 2 гени пов'язані з синтезом етилену, що може пояснити участю цього фітогормону у світлозалежному синтезі шиконіну [100].

Було досліджено процес накопичення антоціанів у суспензійній культурі *Vitis vinifera* L. Встановлено, що освітлення культури безперервним білим світлом інтенсивністю 8000-8300 люкс збільшує накопичення антоціанів у 7 разів. [40].

Встановлено, що синє світло збільшувало показники росту культури *Cistanche deserticola* і накопичення нею глікозидів, порівняно з білим світлом [94]. В умовах, наближених до промислових, в біореакторах було вивчено дію світла на накопичення пігментів культурою *Carthamus tinctorius* L., було встановлено, що світло та додавання сахарози у великих концентраціях стимулює зростання суспензії та накопичення нею пігментів.[56].

Вивчено накопичення антоціанів клітинами *Fragaria ananassa* Duchesne cv. Shikimari в залежності від інтенсивності та періоду освітлення. Показано, що накопичення антоціанів стимулювався білим світлом. Максимальне їх накопичення виявлено в культурі, що вирощується під постійним освітленням [77].

При вивченні впливу сонячного світла на зростання інтактних рослин *Artemisia annua* L. встановлено, що максимальних значень ростових показників та накопичення артемізиніна показували рослини, які вирощуються на повному освітленні сонячним світлом, у той час, як зменшення цього чиника

призводило до зниження досліджуваних величин [129]. Вивчено дію селективного світла на ріст культури hairy root *Artemisia annua* L. Показано, що вирощування під червоним світлом, з максимумом випромінювання 640 нм, даної культури протягом 30 днів призводить до збільшення накопичення біомаси на 17% та накопичення артемізиніна на 67% порівняно з білим світлом. Зелене світло призводить до зниження даних параметрів [131].

Таким чином, можна зробити висновок, що в процесах вирощування клітинних культур для отримання вторинних метаболітів селективне світло може відігравати ключову роль як фактор, що може сприяти прискоренню росту культур та накопиченню речовин. Однак, на сьогоднішній день процеси фотоморфогенезу в культурах не вивчені достатньою мірою, що заважає застосувати отримані знання у промислових процесах.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Характеристика рослинного матеріалу

У дослідженні був використаний рослинний матеріал, а саме, горох сорту Меценат (ДДР), який відзначається тим, що він є представником родини Fabaceae і володіє властивістю довгоденності згідно з фотоперіодичною чутливістю.

Pisum sativum L. - це однорічна трав'яниста рослина, яка може досягати висоти від 30 см до 2 метрів, залежно від сорту і умов вирощування. Листки складні, парноперисті, а квіти бобових мають білу, фіолетову або рожеву окраску. Плід - довгі боби, які зазвичай містять в собі 6-9 зерен горошини. Вирощується на сільськогосподарських полях у помірних і прохолодних регіонах. Він є досить стійким до холоду і може рости в різних ґрунтах.

Загалом *Pisum sativum* L. є універсальною і широко вирощуваною рослиною яка має як кулінарне, так і сільськогосподарське значення. Горох багатий білком, вуглеводами, вітамінами (зокрема вітамінами групи В і вітаміном С) та мінеральними речовинами, такими як залізо та калій. Вони також містять багато дієтичного волокна, що робить їх корисними для здоров'я. Горох використовуються в кулінарії для приготування супів, страв і прикрас, а також для консервації. Іноді їх вирощують як корм для тварин.

2.2 Методи дослідження

У дослідженні було використано різноманітні методи, включаючи такі:

- біотехнологічні методи

- морфометричні аналізи
- біотестування
- статистичні методи дослідження

2.2.1 Морфометричні методи

Морфометричні методи дозволяють досліджувати зміни у формі, розмірі, структурі та інших морфологічних параметрах проростків під впливом різних спектрів світла. Ці методи дозволяють кількісно оцінити зміни в рості та розвитку рослин під впливом різних умов освітлення. Було виміряно довжину всього проростку, а також окремо – надземної частини та кореня.

2.2.2 Біотехнологічні методи

Приготування поживного середовища Мурасіге і Скуга

Поживне середовище Мурасіге і Скуга є стандартним і дуже популярним поживним середовищем, що використовується для культивування рослинних тканин, включаючи калуси. Це середовище було розроблене японськими фізіологами рослин Кендзі Мурасіге і Фуміо Скуга в 1962 році.

Поживне середовище містить поживні елементи у вигляді мінеральних солей. Склад солей зазвичай включає нітрат амонію $[(\text{NH}_4)\text{NO}_3]$, нітрат калію $[\text{KNO}_3]$, фосфат моноосновний калію $[\text{KH}_2\text{PO}_4]$, сульфат магнію $(\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$ та клітинні солі заліза $(\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$. Рецепт залежить від конкретних досліджень і може варіюватися. Сахароза додається для надання рослинам джерела вуглеводів для росту та енергії. Агар використовується для створення твердого поживного середовища. Додавання різних гормонів, таких як ауксини та цитокініни, може регулювати ріст і розвиток рослин та сприяти утворенню калусів та бруньок. Залежно від конкретних дослідницьких цілей можуть додаватися інші компоненти, такі як вітаміни, антибіотики або інші добавки. [2]

Для приготування поживного середовища Мурасіге-Скуга, яке використовувалося в наступних лабораторних експериментах вимагає

початкового створення концентрованих розчинів макросолей, мікросолей і вітамінів, а потім приготування робочого поживного середовища. Потрібно помістити колбу або стакан об'ємом 1 л на магнітну мішалку та додати 50-100 мл дистильованої води, а також необхідну кількість макро- і мікросолей, Fe-хелату, вітамінів і фітогормонів. Потім виміряти потрібну кількість мезоінозиту і сахарози та розчинити їх окремо в іншій порції води і додати до отриманої суміші. Після цього розчинами 1н КОН або 1н НСІ доведемо рН до значень 6,6–6,8.

В іншу посудину поміщаємо агар-агар, заливаємо його холодною водою (50-100 мл) і залишаємо на 20 хвилин для набухання. Далі його потрібно підігріти та постійно помішуємо, до повного розчинення. Додаємо розчинений агар-агар до поживного середовища і доливаємо дистильовану воду до досягнення потрібного об'єму (1 л). Підігріваємо середовище, щоб розчинити всі компоненти повністю. Заливаємо тепле середовище в колбу або пробірку і закриваємо ватними пробками або фольгою.

Розчинений агар-агар додавали до загального розчину поживного середовища МС та доводили об'єм до 1 літра, додаючи дистильовану воду. Суміш підігрівали до повного розчинення всіх компонентів. Після цього середовище розливали в колби або пробірки і закривали ватними пробками. Наступним етапом була стерилізація середовища в автоклаві при тиску 0,8-1 атмосфери і температурі 115-120°C протягом 20-30 хвилин.

2.2.3 Біотестування – визначення активності фітогормонів (ІОК, АБК)

Визначення активності абсцизової кислоти:

Для визначення активності абсцизової кислоти ми використовували метод пригнічення проростання насіння гірчиці білої (*Sinapis alba* L.). У нашому досліді ми взяли 50 зерен гірчиці і розмістили їх у чашки Петрі на фільтрувальний папір, який був попередньо змочений 2 мл розбавленої в 20 разів витяжки фітогормонів. Замість витяжки, у контроль, ми додавали 2 мл

дистильованої води. Кожний дослід було проведено у трьох повторностях. Після доби проводили підрахунок кількості пророслого та непророслого насіння в експериментальних та контрольних чашках Петрі.

За 100% було взято кількість насіння, яке не проросло у контролі, і відповідно до цього показника розраховано активність абсцизової кислоти у дослідних зразках. Активність була виражена у відсотках пригнічення проростання насіння гірчиці білої в порівнянні з контролем.

Визначення активності індолуксусної кислоти:

Для оцінки активності індолацетової кислоти (ІОК) був використаний біотест, який ґрунтується на властивості ауксину стимулювати та підтримувати ріст клітин колеоптилю в етильованих простках пшениці (*Triticum aestivum* L.).

Ми використовували 4-денні проростки пшениці. Після видалення листка з колеоптильного циліндра, не пошкоджуючи внутрішнього епідермісу, відрізали відрізки близько 5 мм та нанизували їх на волосінь по 5 відрізків. Наступним етапом було потрібно виміряти загальну довжину колеоптелів на волосіні перед поміщенням їх у чашку Петрі, де перед цим додавали 2 мл розведеної в 20 разів витяжки фітогормонів та 2% сахарози. У контрольну пробу додавали 2 мл 10% етанолу замість витяжки фітогормонів. Кожен варіант експерименту був повторений тричі. Далі всі чашки Петрі на 1 добу ставилися в термостат.

Після періоду інкубації проводили вимірювання загальної довжини сегментів, використовуючи лінійку.

Активність ІОК виражали у відсотках зростання колеоптилів пшениці у порівнянні з контролем. Усі результати піддавали статистичному обробленню, включаючи обчислення стандартного відхилення та середнього арифметичного за допомогою програмного забезпечення Excel.

2.2.4 Статистичні методи

Аналіз статистичних даних результатів був виконаний за допомогою програмного забезпечення Excel 2010. У таблицях та графіках наведено середні значення та відповідні стандартні відхилення. За допомогою t-критерію Стюдента та похибки Бонфероні було оцінено статистичну значущість відмінностей відносно контрольної групи [5].

2.3 Дизайн дослідження

Дослідження були проведені в лабораторії "Морфогенез вищих рослин *in vitro*" на кафедрі фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.

Як вихідний матеріал використовували зерна гороху посівного сорту Меценат (*Pisum sativum* L.) та його первинні калусні культури.

Для стерилізації насіння використовували послідовну процедуру: спочатку обробляли їх 70% розчином етанолу протягом 1 хвилини, а потім 15% розчином гіпохлориту натрію - 15 хвилин. Потім ми переносили по 7-10 насінин до чашок Петрі з фільтрувальним папером, в які попередньо додали 5 мл дистильованої води, відповідно до приналежності до контрольної або дослідної групи. Далі всі чашки Петрі 3 дні культивувалися в термостаті при температурі 26 °C.

Експерименти проводилися за такою схемою:

Контроль - без опромінення

Дослід 1 - Опромінення червоним світлом (660 нм)

Дослід 2 - Опромінення зеленим світлом (530 нм)

Дослід 3 - Опромінення синім світлом (430 нм)

Чашки Петрі ми опромінювали по 30 хвилин впродовж 5-ти днів з використанням LED-ламп, які випромінювали червоне, зелене та синє світло. У той же час, контрольні чашки підтримували в термостаті без впливу світла.

На десяту добу проводився аналіз морфометричних характеристик, включаючи довжину проростків і обсяг надземної та підземної частини проростку. Також проводився аналіз вмісту фітогормонів антагоністів - ауксину та абцизової кислоти.

Робота з калусами:

Стерилізуємо насіння гороху посівного за протоколом. Простерилізоване насіння дослідної рослини переносимо у чашки Петрі з поживним середовищем Мурасиге-Скуга МС+ з додаванням 2,4 Д у концентрації 10 мг/мл. Всі чашки підписуємо згідно варіантів дослідів та ставимо культивуватися при 26°C у термостат на пару тижнів. Після цього первинний каллус пасивували на поживному середовищі МС+2,4Д при концентрації 5 мг/л. Через тиждень дослідні Чашки були опромінені по 30 хвилин п'ять днів поспіль червоним (660 нм), зеленим (530нм) та синім(450 нм) спектром світла, а контрольні чашки знаходилися в термостаті без впливу світла. Після 30 днів ми вимірювали ростову реакцію каллусів та вміст фітогормонів.

Проведено 2-3 біологічні серії експериментів за умов *in vivo* та *in vitro*. Проаналізовано за умов *in vivo* не менше 30 проростків кожного варіанту (n=30-45), за умов *in vitro* не менш 10 калусів (n=10-15). Усі дані, які були зібрані та виміряні, були внесені у таблиці та проаналізовані за використання програмного забезпечення Microsoft Excel 2010.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1 Вплив фотоопромінення на ріст та активність фітогормонів-антагоністів в калусах *Pisum sativum* L.

3.1.1 Дослідження ростової реакції калусних культур за дії фотовпливу селективним світлом різних спектрів ЧС (660 нм), ЗС (530 нм) та СС (450 нм)

Клітини калюсу виникають із тканинних фрагментів різних органів у вищих рослин, коли частинки цієї тканини поміщають у спеціальне поживне середовище, будь то пробірки, колби чи чашки Петрі. Тут важлива бездоганна стерильність. Для того, щоб клітини калюсу виживали та розвивалися у цих поживних середовищах, які містять усі необхідні компоненти для росту, тканинні клітини повинні втрачати свою здатність до диференціації – тобто, процесу, який призводить до їх спеціалізації [4].

Активація росту недиференційованих клітин відбувається через попереднє утримання експлантатів у середовищі без гормонів протягом 3-6 днів. Після цього періоду, пройшовши 4-6 тижнів культивування, утворюється первинний калус, який потрібно перемістити на свіже поживне середовище. При використанні твердого поживного середовища, маса фрагмента калусу повинна становити від 60 до 100 мг на об'єм 30-40 мл свіжого середовища [2,4].

Калусна тканина, яка виростає на поверхні твердого поживного середовища, володіє аморфною структурою та складається з тонкостінних паренхімних клітин. Структура калюсу може бути щільною або розпушеною, включаючи клітини з великим ядром, високим вмістом ДНК і РНК. Хімічний склад калусної тканини, як правило, слабо відрізняється від складу органів рослини. Сформовані калуси після поділів переходять до звичайного циклу розвитку рослини, починаючи процес диференціації, який контролюють гормони [8].

У роботі представлені результати експериментального аналізу впливу селективного світла різного спектру на ріст калусних культур гороху сорту Меценат. Отримані дані систематизовані та подані у вигляді таблиці 1 та рисунках 1,2.

Таблиця. 1 Ростова реакція (PI) калусної культури гороху посівного сорту Меценат за дії селективного світла

Варіант	Відносний приріст (PI), %
Контроль	19,70 ± 6,57
ЧС (660 нм)	32,10 ± 6,65*
ЗС (530 нм)	25,31 ± 5,62
СС (450 нм)	41,92 ± 7,93*

*) примітка - різниця з контролем істотна при $p \leq 0,018$

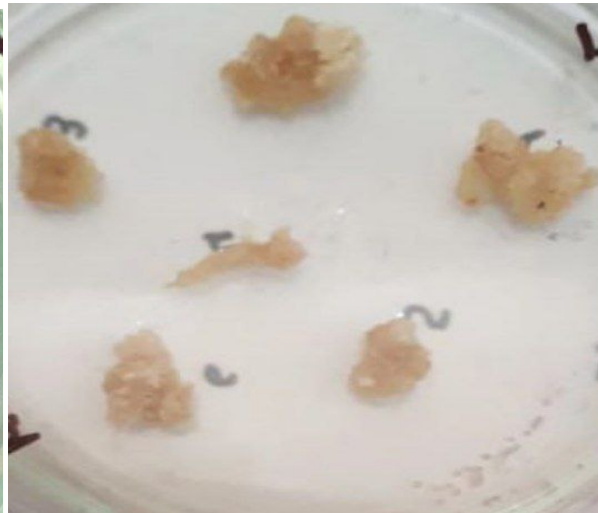


Рис.1 Вплив опромінення селективним світлом на ростову реакцію (PI) калусної культури гороху посівного сорту Меценат, %

*) примітка - різниця з контролем істотна при $p \leq 0,018$



Контроль



ЧС (660 нм)



ЗС (530 нм)



СС (450 нм)

Рис. 2 Вплив опромінення селективним світлом на ростову реакцію калусної культури гороху посівного сорту Меценат

У дослідженні ростової реакції калусної культури гороху посівного сорту Меценат під впливом селективного світла виявлені значущі відмінності в відносному прирості (PI). У контрольній групі, де калусні культури не були опромінені селективним світлом, спостерігається ріст на рівні $19,7 \pm 6,57\%$. Це служить базовим показником для порівняння з іншими варіантами. Під впливом червоного світла відзначається статистично значущий зріст росту до

$32,10 \pm 6,65\%$ ($p \leq 0,018$). Зелене світло також призводить до підвищення росту, але різниця не є статистично значущою ($25,3 \pm 5,6\%$). Найбільший вплив спостерігається при впливі синього світла, де відносний приріст складає $41,9 \pm 7,9\%$ і різниця з контролем є статистично значущою ($p \leq 0,018$). Ці результати свідчать про те, що різні довжини хвиль світла мають різний ефект на ростову реакцію калусної культури гороху, і це може бути важливим фактором у керуванні ростом та розвитком рослин.

З цих результатів можна зробити висновок, що червоне світло та синє світло сприяє збільшенню росту калусних культур гороху. Різні спектри селективного світла відзначаються своєю специфічною здатністю до стимуляції росту рослин, що може бути важливим для подальших досліджень фізіологічних механізмів відповіді рослин на світло.

Науковцями був досліджений вплив селективного освітлення на ріст культури hairy root *Artemisia annua* L. Виявлено, що вирощування під червоним світлом із довжиною хвилі 640 нм протягом 30 днів призвело до збільшення біомаси на 17% , у порівнянні з опроміненням під білим світлом. Варто відзначити, що використання зеленого світла призводить до зниження обох цих показників [131]. У випадку вирощування калусної культури серпухи вінценосної *Withania somnifera* L. на червоному світлі зафіксовано стимуляцію росту та уповільнення старіння культури [12].

3.1.2 Дія фотовпливу на зміни ендogenousного фітогормонального балансу калусних культур *Pisum sativum* L.

При дослідженні було проведено порівняльні аналізи активності фітогормонів-антагоністів ІОК та АБК у калусах гороху посівного сорту Меценат під впливом червоного, зеленого та синього світла.

Результати наведено в таблицях 2,3 та рисунку 3,4.

Таблиця.2 Активність фітогормонів у калусах гороху посівного сорту Меценат за дії селективного світла

Варіант	Активність ІОК, %	Активність АБК, %
Контроль	46,03 ± 8,16	85,7 ± 8,7
ЧС (660 нм)	27,78 ± 3,63*	89,2 ± 6,7
ЗС (530 нм)	39,68 ± 6,54	77,7 ± 6,47
СС (450 нм)	44,44 ± 10,53	78,8 ± 5,05

*) примітка - різниця з контролем істотна при $p \leq 0,018$

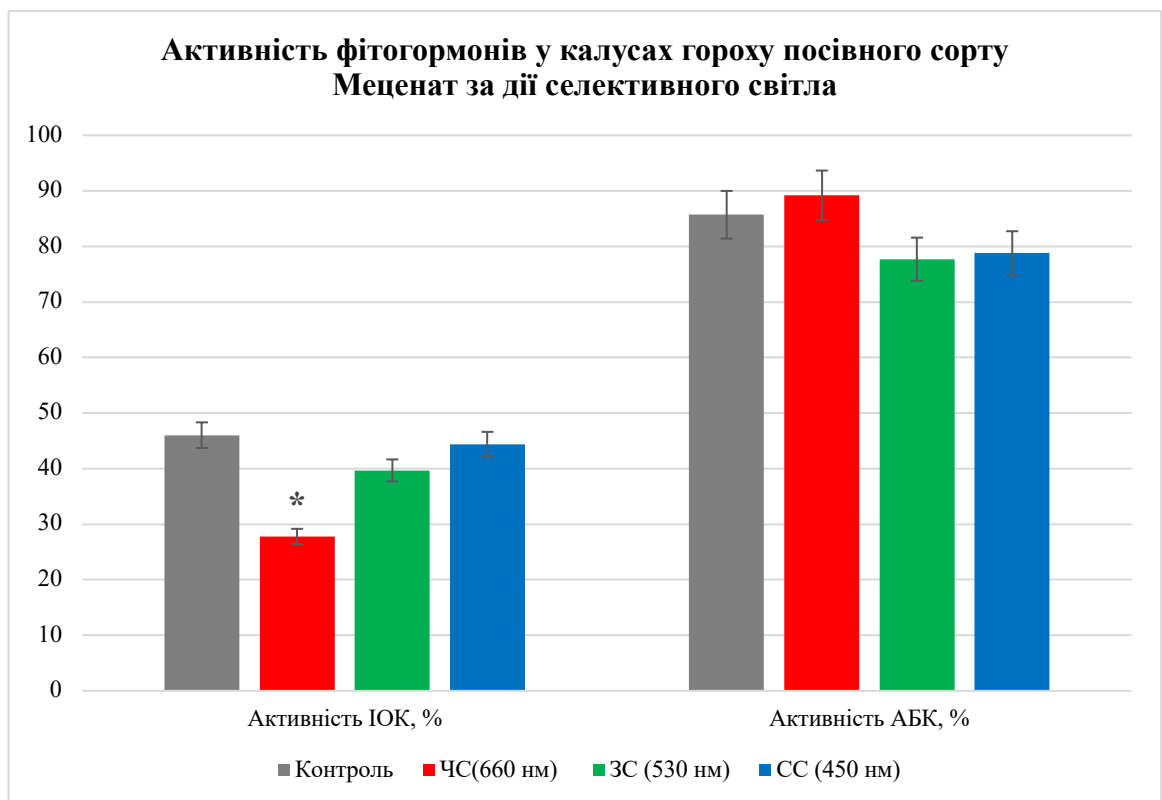


Рис.3 Активність фітогормонів у калусах гороху посівного сорту Меценат за дії селективного світла

*) примітка - різниця з контролем істотна при $p \leq 0,018$

У контрольних умовах спостерігається висока активність ІОК на рівні $46,03 \pm 8,16\%$. Однак червоне світло викликає статистично значуще зниження цього активності цього фітогормону до $27,78 \pm 3,63\%$ ($p \leq 0,018$). Зелене світло

та синє світло також спричиняє певний зниження активності ІОК, але ця різниця не є статистично значущою.

Щодо активності абсцизової кислоти (АБК), в контрольних умовах вона становить $85,7 \pm 8,7\%$. Під впливом червоного світла не виявлено статистично значущих змін у рівні АБК, який залишається на рівні $89,2 \pm 6,7\%$. Світло спектру синього та зеленого кольору призвело одночасно до зниження АБК. При оцінці значущості отриманих результатів виявлено, що різниця є, але вона не істотна в цих варіантах.

Можна зробити висновок, що червоне світло знижує активність ІОК у калусів гороху і не впливає на активність АБК.

У роботах з калусами бавовни *Gossypium hirsutum* L. відмічали, що червоне світло сприяло утворенню ембріогенних калюсів та збільшувало вміст ауксину [136].

Таблиця 3. Співвідношення ІОК/АБК в калусах гороху посівного сорту Меценат за дії селективного світла

Варіант	ІОК/АБК
Контроль	0,54
ЧС (660 нм)	0,31
ЗС (530 нм)	0,51
СС (450 нм)	0,56

У результаті дослідження співвідношення ІОК/АБК в калусах гороху посівного сорту Меценат за різних дій селективного світла були отримані наступні результати. В контрольному варіанті, де не застосовувалося селективне світло, співвідношення ІОК/АБК становило 0,54. Варіант з червоним світлом (660 нм) показав суттєве зниження співвідношення до 0,31, оскільки вміст АБК перевищував вміст ІОК. Зелене світло (530 нм) призвело

до незначного зниження співвідношення до 0,51, тоді як синє світло (450 нм) мінімально збільшило це співвідношення до 0,56.

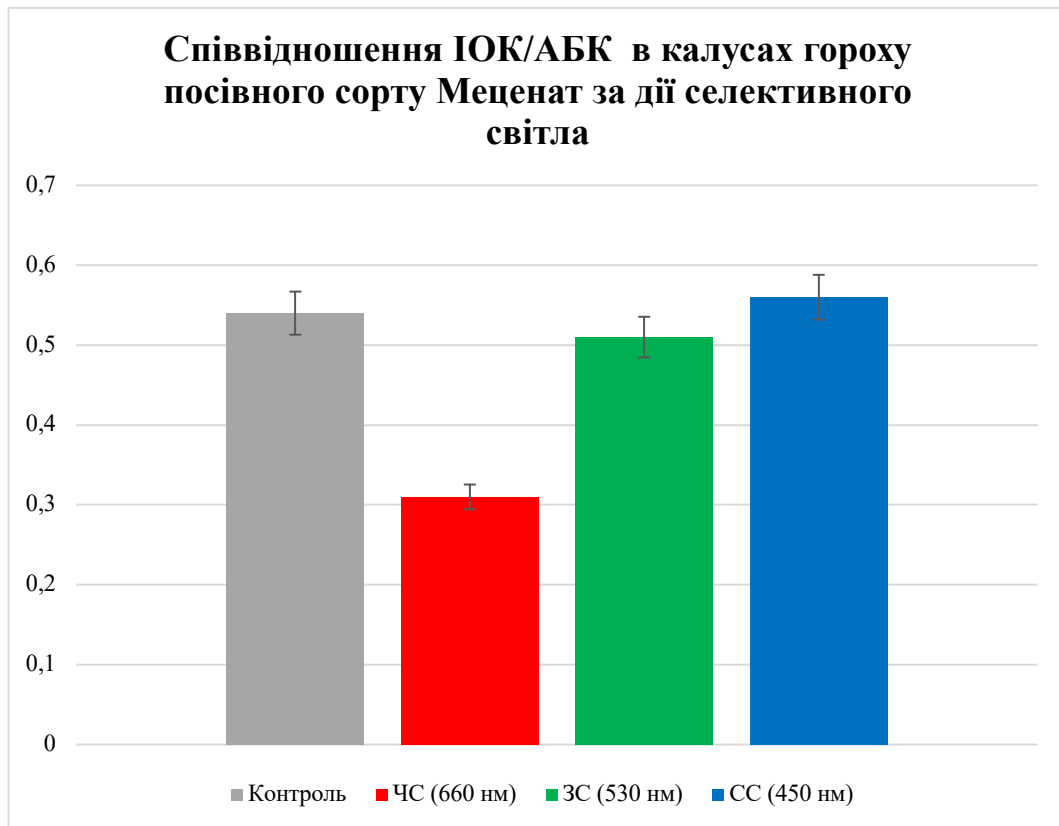


Рис. 4 Співвідношення ІОК/АБК в калусах гороху посівного сорту Меценат за дії селективного світла

Попередніми дослідженнями інших науковців було встановлено, що активність ІОК та АБК має вплив на процес калусогенезу. Відношення ІОК до АБК пов'язане з частотою калусогенезу та залежить від генотипу і реакції на фотоперіод у рослин ізоляцій сої культурної [1].

3.2 Вплив селективного світла на ріст та активність фітогормонів в осьових органах проростків *Pisum sativum* L.

3.2.1 Фотоморфогенез та ростова реакція проростків ДДР рослини гороху посівного за дії селективного світла

Фотоморфогенез і ростова реакція рослин за впливу світла завжди були об'єктом інтенсивних наукових досліджень. З різних літературних джерел відомо, що рослини, як фотосинтетичні організми, вимагають світла для

здійснення багатьох життєво важливих процесів, включаючи фотосинтез, регуляцію росту та адаптацію до навколишніх умов.

Спектр світла, якому вони піддаються, грає ключову роль у формуванні їхньої морфології та фізіології [67,28,51,71,70].

Результати дослідження впливу селективного світла різного спектру на ріст проростків гороху посівного сорту Меценат представлені у таблицях 4,5,6, 7 і на рисунках 5,6,7,8,9.

Таблиця 4. Вплив опромінення селективним світлом на довжину проростків ДДР гороху посівного сорту Меценат, см

Варіант досліджу	Довжина проростку, см	% до контролю
Контроль (без опромінення)	17,11 ± 0,61	100
Червоне світло (ЧС 660 нм)	15,92 ± 0,70	93
Зелене світло (ЗС 530 нм)	19,82 ± 0,61*	115
Синє світло (СС 450 нм)	16,44 ± 0,80	96

*) примітка - різниця з контролем істотна при $p \leq 0,018$

При дослідженні виявлено, що різні спектри світла викликають різний ефект на ріст проростків. У контрольних умовах довжина проростку складає $17,11 \pm 0,61$ см. Червоне світло, представлене у відповідному діапазоні (660 нм), призвело до зменшення довжини проростків на 7% порівняно з контролем. Це свідчить про те, що цей спектральний діапазон може мати гальмівний ефект на ріст проростків гороху. При оцінці значущості отриманого результату виявлено, що ця різниця не істотна. У неактивної форми фітохром максимум поглинання хромофору припадає на червону область спектру (600 нм). Після опромінення ЧС фітохром переходить в активну форму, у якій з'являється другий максимум поглинання хромофору в області ДЧС (730 нм) [120]. Зелене світло (ЗС 530 нм) викликає статистично значуще збільшення росту до $19,82 \pm 0,61$ см (115% відносно контролю), що вказує на стимулюючий

ефект цього світла на ріст проростків. Синє світло (СС 450 нм) не призводить до статистично значущих змін у довжині проростку, який залишається на рівні $16,44 \pm 0,80$ см (96% відносно контролю).

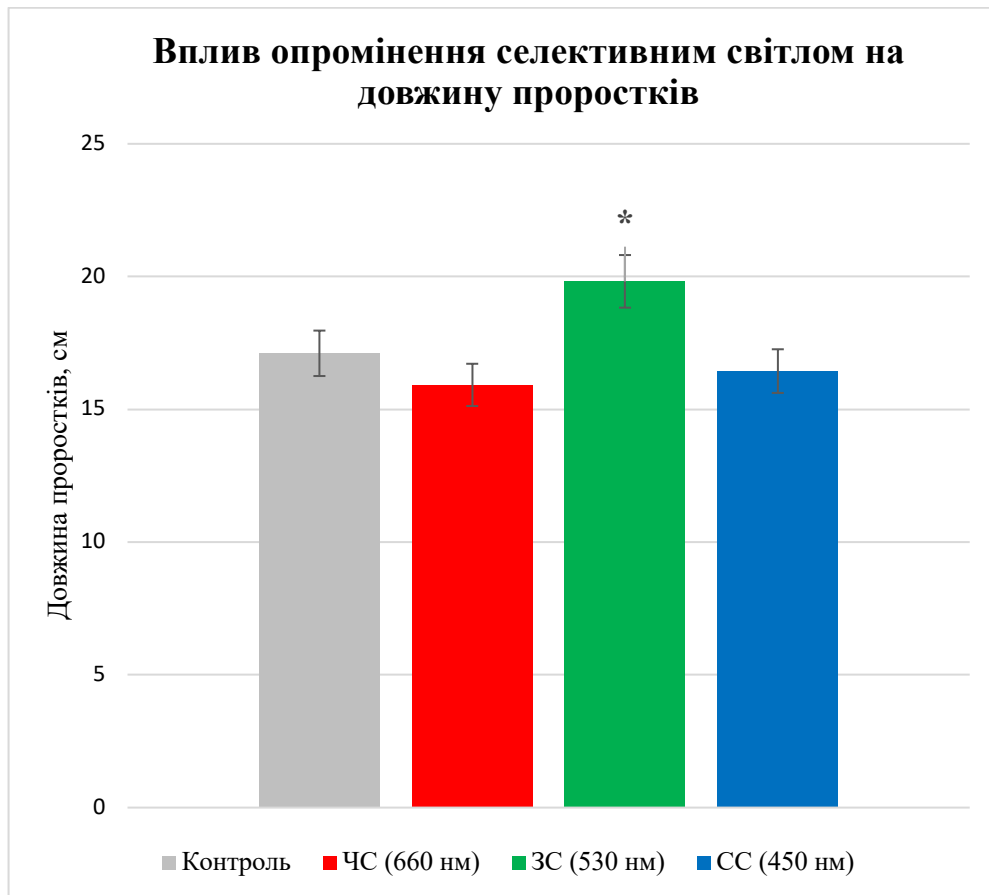


Рис.5 Вплив опромінення селективним світлом на довжину проростків ДДР гороху посівного сорту Меценат, см

Виявлено, що зелене світло стимулює ріст проростків. Можливо, воно оптимально активує фоторецептори та клітинні процеси, спрямовані на підтримання росту. Також може відбуватися певна стимуляція ендогенних фітогормонів, таких як ауксини, які впливають на клітинний розтяг та розширення, сприяючи збільшенню довжини проростку [9].



Контрольний
варіант

Червоне
світло(660 нм)

Зелене
світло(530 нм)

Синє світло
(450 нм)

Рис. 6 Вплив опромінення селективним світлом на довжину проростків ДДР гороху посівного сорту Меценат, см

Виявлено, що інтенсивна дія зеленого освітлення призводить до зменшення росту салату, зокрема, короткохвильове зелене світло виявляється особливо ефективним у цьому відношенні. Тобто, різні спектральні склади можуть активувати чи гальмувати ріст рослин на різних стадіях їхнього розвитку. При дослідженні культур рослин встановлено, що вплив світла

різного спектру на параметри росту та накопичення біомаси залежить не тільки від заданих умов, а й від виду рослин [91].

За даними літературних джерел, програма фотоморфогенезу, яка активується за допомогою PhyA, впливає на різноманітні процеси: зупинення росту гіпокотилу у дводольних рослин, призупинення росту колеоптилю у однодольних рослин, розгортання сім'ядолів, завершення розвитку фотосинтетичного апарату пластид [29]. Дослідженнями було показано, що червоне світло гальмує ріст рослин [3, 110, 88, 117]. Але є дослідження, які показують зворотній вплив червоного світла. Дослідниками було вивчено дію червоного світла на *Boehmeria nivea L.*, яке значно збільшило біомасу пагонів і листків, висоту рослин, кількість листків на рослині та діаметр стебла [102]. Дія червоного світла на рослини *Chrysanthemum morifolium* сприяла росту [15].

У нашому дослідженні синє світло не істотно впливає на ріст проростку гороху. При вивченні впливу синього світла на проростки рису було виявлено, що ширина стебла проростків збільшувалася [103]. Опромінення синім світлом садженців кавуна виявило, що цей спектр покращує продуктивність фотосинтезу [89]. Встановлено, що синє світло збільшило площу листя та площу епідермальних клітин у салату [63].

Таблиця 5. Вплив опромінення селективним світлом на довжину гіпокотилу проростків ДДР гороху посівного сорту Меценат, см

Варіант досліджу	Довжина гіпокотилу, см	% до контролю
Контроль (без опромінення)	6,07±0,25	100
Червоне світло (ЧС 660 нм)	5,90±0,38	97,2
Зелене світло (ЗС 530 нм)	6,71±0,29*	110,54
Синє світло (СС 450 нм)	5,41±0,22	89,13

*) примітка - різниця з контролем істотна при $p \leq 0,018$

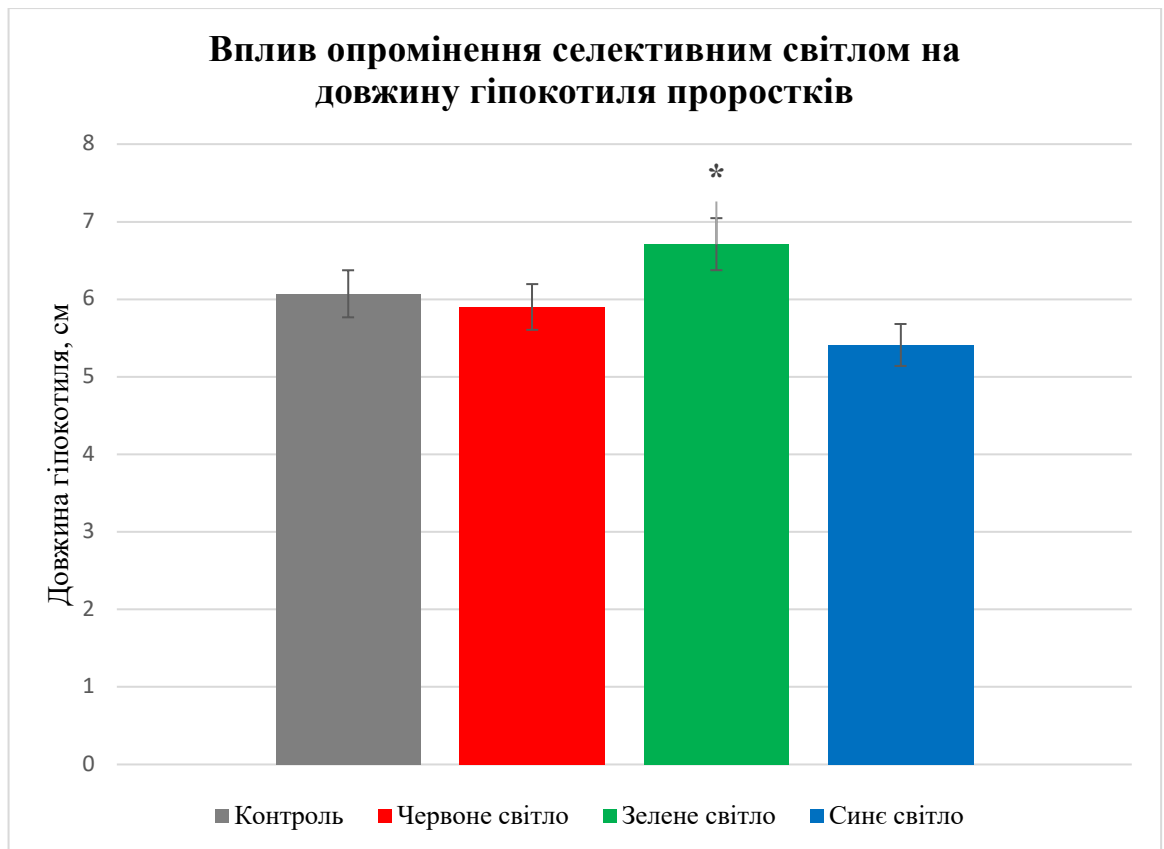


Рис. 7 Вплив опромінення селективним світлом на довжину гіпокотила проростків ДДР гороху посівного сорту Меценат, см

*) примітка - різниця з контролем істотна при $p \leq 0,018$

У контрольній групі (без опромінення) середня довжина гіпокотила становила $6,07 \pm 0,25$ см. В порівнянні з контролем, опромінення червоним світлом призвело до зменшення довжини гіпокотила до 97,2%. Зелене світло, навпаки, спричинило збільшення довжини гіпокотила до 110,54% порівняно з контролем. Вплив синього світла призвів до зменшення довжини гіпокотила до 89,13%. При оцінці значущості отриманих результатів виявлено, що статистично значуща різниця присутня у випадку опромінення зеленим світлом.

Можна зробити висновки, що різні спектри світла впливають на ріст гіпокотила проростків гороху по-різному, де зелене світло підсилює ріст. Реакція на зелене світло є видоспецифічною та залежить від його

інтенсивності. Відомо, що додавання зеленого світла до джерел світла (наприклад, ЧС, СС) призводить до підвищення ефективності їх впливу на морфофізіологічні процеси досліджених об'єктів. Зелене світло має відносно вищу відбивну здатність, ніж червоне та синє світло [71, 70]. Крім того, зелене світло сприяло подовженню стебла проростків картоплі *in vitro* [84]. Зелене світло також стимулює ріст *Lactuca sativa* [64].

Згідно аналізу літератури, при опроміненні саджанців *Arabidopsis* було встановлено, що синє світло пригнічувало подовження гіпокотилу [83]. Але при опроміненні мікрозелені спостерігається подовження гіпокотилу [65].

Таблиця 6. Вплив опромінення селективним світлом на довжину головного кореня ДДР гороху посівного сорту Меценат, см

Варіант досліджу	Довжина головного кореня, см	% до контролю
Контроль (без опромінення)	11,04±0,47	100
Червоне світло (ЧС 660 нм)	10,83±0,46	98,1
Зелене світло (ЗС 530 нм)	13,11±0,37*	118,75
Синє світло (СС 450 нм)	11,03±1,58	99,9

*) примітка - різниця з контролем істотна при $p \leq 0,018$

У контрольних умовах довжина головного кореня складає 11,04±0,47 см. Опромінення червоним світлом призвело до невеликого зменшення довжини головного кореня до 10,83±0,46 см, що становить 98,1% в порівнянні з контролем.

Зелене світло викликає статистично значуще збільшення довжини головного кореня до 13,11±0,37 см (118,75% відносно контролю).

Опромінення синім світлом показало невелике зменшення довжини головного кореня до 11,03 см, що відповідає 99,9% відносно контролю. Різниця є, але вона не істотна в варіантах з червоним і синім світлом.

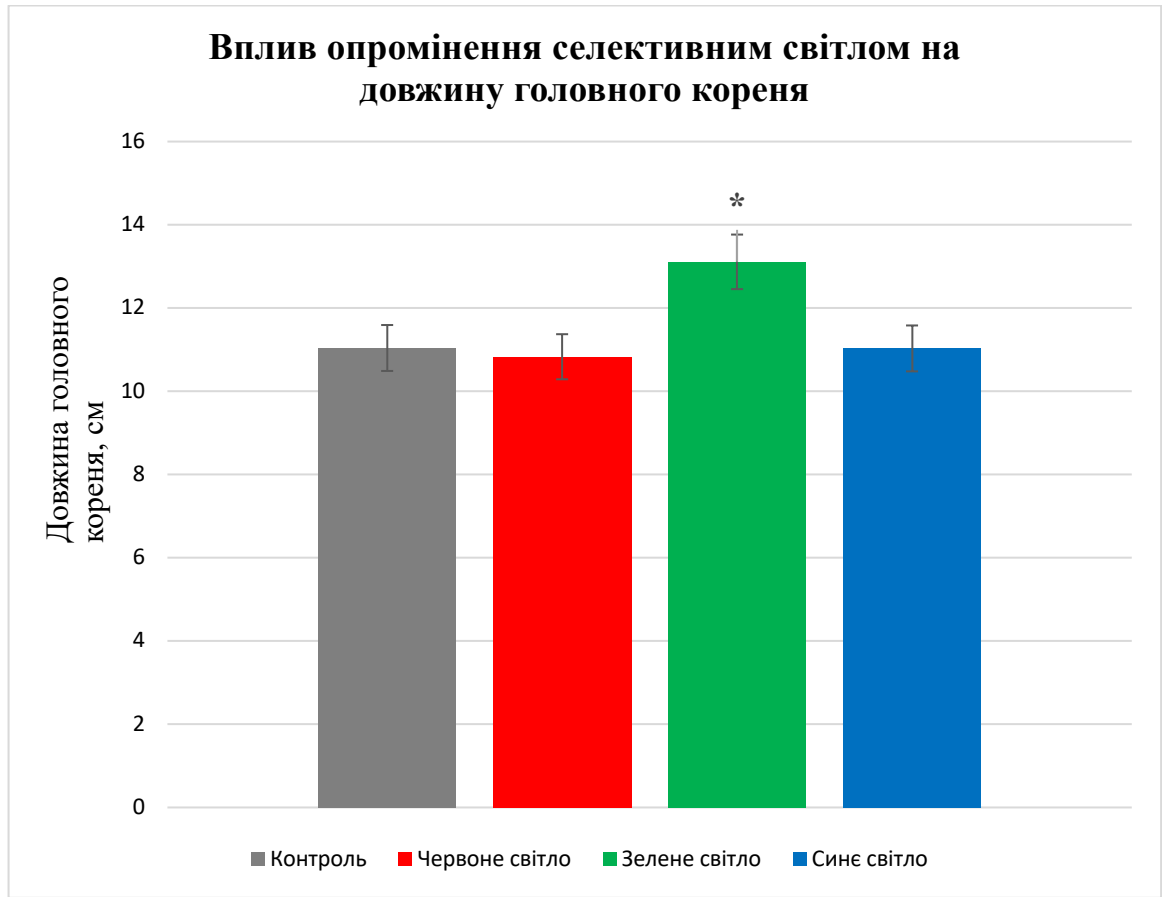


Рис. 8 Вплив опромінення селективним світлом на довжину головного кореня ДДР гороху посівного сорту Меценат, см

*) примітка - різниця з контролем істотна при $p \leq 0,018$

Виявлено, що зелене світло стимулює збільшення довжини головного кореня. Ці результати дозволяють зробити висновок про ключову роль зеленого світла у позитивному впливі на розвиток кореневої системи гороху даного сорту, що може мати практичне значення в агрономічних дослідженнях та під час вирощування рослин.

Крім того, у саджанців томатів фотосинтез стимулювався зеленим світлом, що покращувало розвиток надземних частин, посилювало транспортування ауксину від листя до зони вкорінення та сприяло укоріненню гіпокотилу [79]. Крім того, зелене світло сприяло подовженню коренів проростків картоплі [84]. Дослідження показують, що опромінення червоним світлом рослин *Gossypium hirsutum* L та *Ocimum basilicum* L сприяє

подовженню коренів [80,82]. Червоне світло забезпечувало найсприятливіші умови росту, викликаючи реакцію укорінення у 65% пагоні. [41]. Встановлено, що синє світло зменшує біомасу кореня [63].

Таблиця 7. Вплив опромінення селективним світлом на співвідношення довжини надземної та підземної частини проростків ДДР гороху посівного сорту Меценат

Варіант досліджу	Надземна/підземна частини
Контроль (без опромінення)	0,55
Червоне світло (ЧС 660 нм)	0,54
Зелене світло (ЗС 530 нм)	0,51
Синє світло (СС 450 нм)	0,49

Контроль (без опромінення) має співвідношення надземної до підземної частини проростків, рівне 0,55, що є базовим значенням для даного сорту гороху. Опромінення червоним світлом призвело до невеликого зменшення співвідношення довжини надземної до підземної частини проростків гороху сорту Меценат в порівнянні з контрольною групою. Зелене світло також зменшило це співвідношення, яке стало 0,51. Це означає, що опромінення зеленим світлом сприяє більшому розвитку підземної частини проростків порівняно з надземною. Синє світло також зменшило співвідношення, яке стало 0,49. Це свідчить про те, що опромінення синім світлом також сприяє розвитку підземної частини проростків.

Загальною тенденцією є те, що опромінення селективним світлом зменшує співвідношення довжини надземної до підземної частини проростків гороху сорту Меценат у порівнянні з контрольною групою.



Рис. 9 Вплив опромінення селективним світлом на співвідношення довжини надземної та підземної частини проростків ДДР гороху посівного сорту Меценат

*) примітка - різниця з контролем істотна при $p \leq 0,018$

3.2.2 Дослідження активності фітогормонів антагоністів в проростках гороху посівного за опромінення селективним світлом різного спектру

За результатами аналізу літератури можна визначити, що гормони ауксини відіграють важливу роль у формуванні головних та бічних коренів, а також у розвитку корневих волосків тобто активують процеси ризогенезу [107, 133]. Вони впливають на структуру кореневої системи [92].

Результати дослідження активності фітогормонів антагоністів в проростках гороху посівного за опромінення селективним світлом різного спектру представлені у таблицях 8,9 і на рисунках 10,11.

Таблиця 8. Активність ІОК в проростках ДДР гороху посівного сорту Меценат за дії селективного світла, %

Варіант	Активність ІОК, %	
	гіпокотиль	корені
Контроль	215,38 ± 18,21	107,69 ± 15,76
ЧС (660 нм)	176,92 ± 7,71	107,69 ± 30,76
ЗС (530 нм)	123,08 ± 5,11*	215,38 ± 20,14*
СС (450 нм)	84,61 ± 7,69*	77,92 ± 6,88

*) примітка - різниця з контролем істотна при $p \leq 0,018$

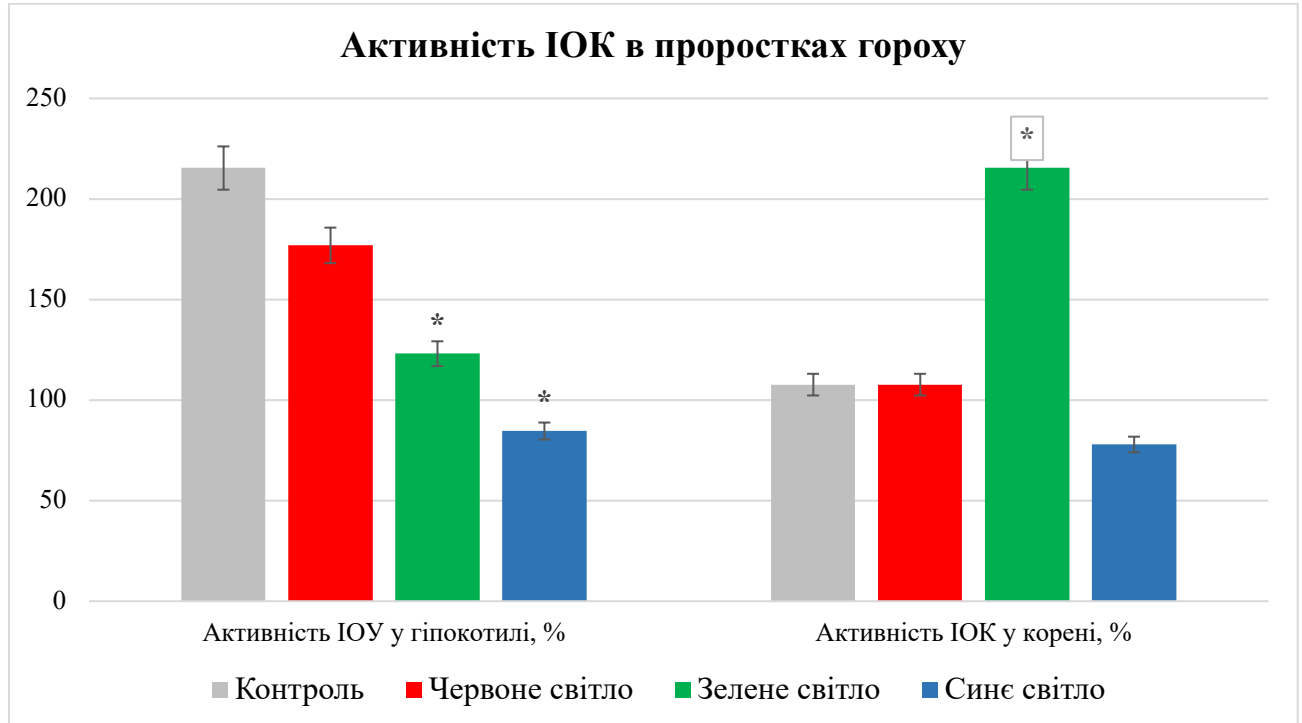


Рис 10. Активність ІОК в проростках ДДР гороху посівного сорту Меценат за дії селективного світла, %

*) примітка - різниця з контролем істотна при $p \leq 0,018$

У гіпокотилі проростків гороху посівного сорту Меценат у контрольних умовах активність ІОК складає $215,38 \pm 18,21\%$. Вплив червоного світла не призводить до статистично значущих змін. Зелене світло викликає значне зменшення активності ІОК до $123,08 \pm 5,11\%$, вказуючи на специфічний вплив зеленого світла на гіпокотиль. Синє світло також істотно зменшує активність ІОК до $84,61 \pm 7,69\%$.

У коренях проростків гороху посівного сорту Меценат виявлено важливі зміни в активності ІОК під впливом різних частин світлового спектра. У контрольних умовах активність ІОК складає $107,69 \pm 15,76\%$. Вплив червоного світла не викликає статистично значущих змін в активності ІОК у коренях. Зелене світло істотно підвищує активність ІОК до $215,38 \pm 20,14\%$, що свідчить про високу чутливість кореневої системи до цього спектру світла. Синє світло призводить до зменшення активності ІОК у коренях до $77,92 \pm 6,88\%$, але ця різниця не є істотною.

Зелене світло викликало досить значне зниження активності ІОК в гіпокотилі до $123,08\%$, тоді як у коренях активність ІОК зросла до $215,38\%$. Це свідчить про різницю в реакції гіпокотиля та коренів на вплив зеленого світла, де гіпокотиль став менш активним у виробленні ІОК. Під впливом синього світла активність ІОК в гіпокотилі значно зменшилася до $84,61\%$.

Можна зробити висновок, що зелене світло сприяє збільшенню активності ІОК у підземній частині, але зниженню у надземній частині проростку. Синє світло в свою чергу призводить до зменшення активності ІОК в гіпокотилі. Ці зміни можуть впливати на ріст та розвиток рослин і можуть мати важливе значення для їхньої фізіології та адаптації до навколишнього середовища.

Іншими дослідниками встановлено, що червоне світло викликає зниження рівня ауксину в епідермальних клітинах мезокотилію кукурудзи [13].

Опромінення червним світлом проростків квасолі *Phaseolus vulgaris* L. стимулювало їх ріст і підвищувало чутливість до ауксину [20]. Хоча при опроміненні саджанців томату було виявлено, що опромінення червоним світлом навпаки збільшує транспорт і біосинтез ауксину [134]. Такий же ефект було виявлено у дослідженнях проростків *Pinus sylvestris* L. [96].

Таблиця 9. Активність АБК в проростках ДДР гороху посівного сорту Меценат за дії селективного світла, %

Варіант	Активність АБК, %	
	гіпокотиль	корені
Контроль	88,51 ± 4,87	75,53 ± 4,61
ЧС (660 нм)	90,63 ± 6,75	77,50 ± 5,49
ЗС (530 нм)	77,63 ± 2,69*	86,11 ± 7,78
СС (450 нм)	88,10 ± 5,4	92,11 ± 6,88*

*) примітка - різниця з контролем істотна при $p \leq 0,018$

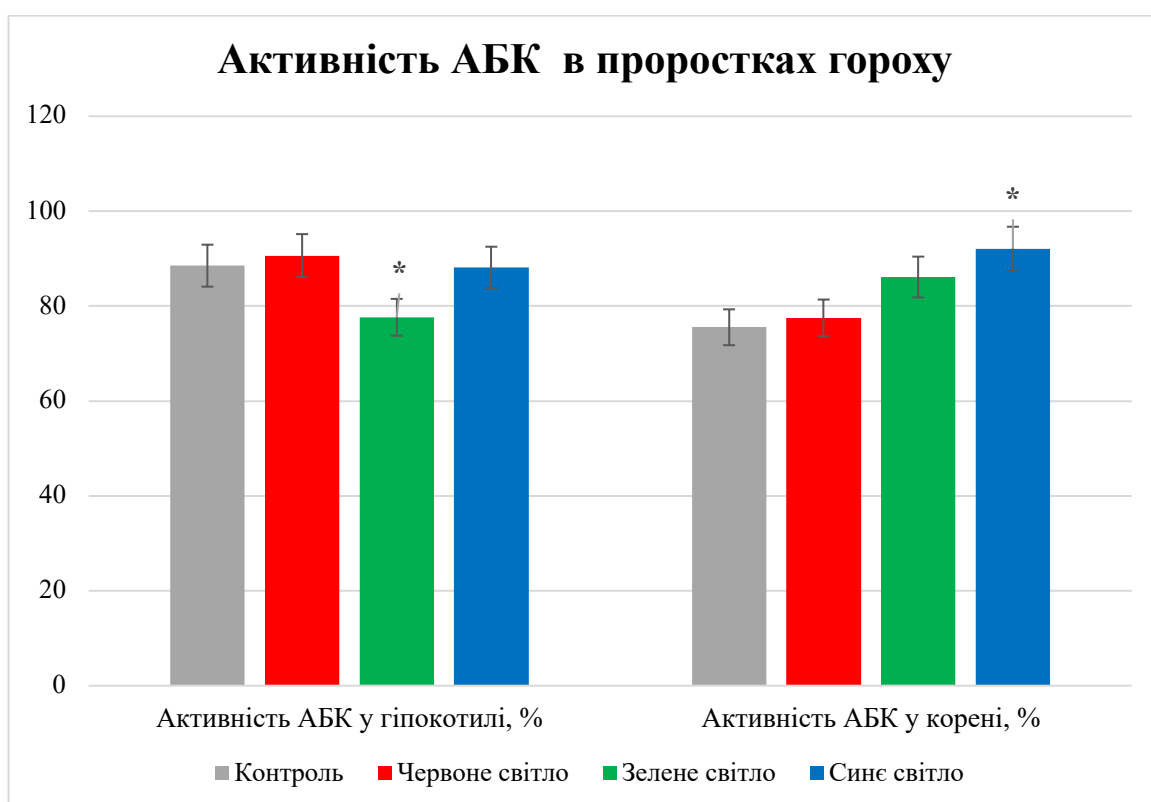


Рис. 11 Активність АБК в проростках ДДР гороху посівного сорту Меценат за дії селективного світла, %

*) примітка - різниця з контролем істотна при $p \leq 0,018$

У гіпокотилі проростків гороху сорту Меценат виявлені зміни в активності абсцизової кислоти під впливом різних довжин хвиль світла. У контрольних умовах активність АБК становила $88,51 \pm 4,87\%$. Під впливом червоного світла спостерігається не суттєве збільшення активності до $90,63 \pm 6,75\%$. В свою чергу зелене світло призводить до статистично значущого зниження активності АБК до $77,63 \pm 2,69\%$ ($p \leq 0,018$), в той час як синє світло майже не впливає, залишаючись на рівні $88,1 \pm 5,4\%$.

У корені проростків також виявлені важливі зміни в рівні АБК під впливом різних довжин хвиль світла. Активність АБК у контрольних умовах становила $75,53 \pm 4,61\%$. Червоне світло призводить до незначного збільшення активності до $77,50 \pm 5,49\%$, так само як і зелене світло - збільшення $86,11 \pm 7,78\%$. Однак різниця в цих варіантах не істотна. Синє світло виявляється найбільш впливовим, підвищуючи рівень АБК у корені до $92,11 \pm 6,88\%$, що є статистично значущим ($p \leq 0,018$). Таким чином, світловий режим має значущий вплив на рівень АБК як у гіпокотилі, так і в корені проростків гороху, вказуючи на важливу роль світлового середовища в регуляції цього гормону.

Можна зробити висновок, що опромінення зеленим спектром світла призводить до зниження активності АБК у гіпокотилі, а опромінення синім спектром світла – до збільшення активності АБК у коренях. Ці результати свідчать про вплив селективного світла на активність АБК в рослинах та показують потенційну роль різних спектрів світла у регулюванні фізіологічних процесів у ростових органах гороху посівного сорту Меценат.

Дослідниками встановлено, що червоне світло зменшувало вміст абсцизової кислоти у насінні сосни звичайної *Pinus sylvestris* L. [123]. У рослин *Arabidopsis thaliana* виявлено такий же ефект [141]. Як відомо АБК є гормоном антагоністом ІОК по відношенню до регулювання процесів росту за

умов *in vivo*. Оскільки в рослинному організмі діє єдиний фітогормональний комплекс, то важливе саме співвідношення гормонів для здійснення регуляції процесів росту і розвитку [54].

3.2.3 Аналіз фітогормонального балансу в етиольованих проростках гороху посівного за впливу селективного світла

Таблиця 10. Співвідношення ІОК/АБК в проростках ДДР гороху посівного сорту Меценат за дії селективного світла

Варіант	ІОК / АБК	
	гіпокотиль	корені
Контроль	2,43	1,43
ЧС (660 нм)	1,95	1,39
ЗС (530 нм)	1,59	2,50
СС (450 нм)	0,96	0,84

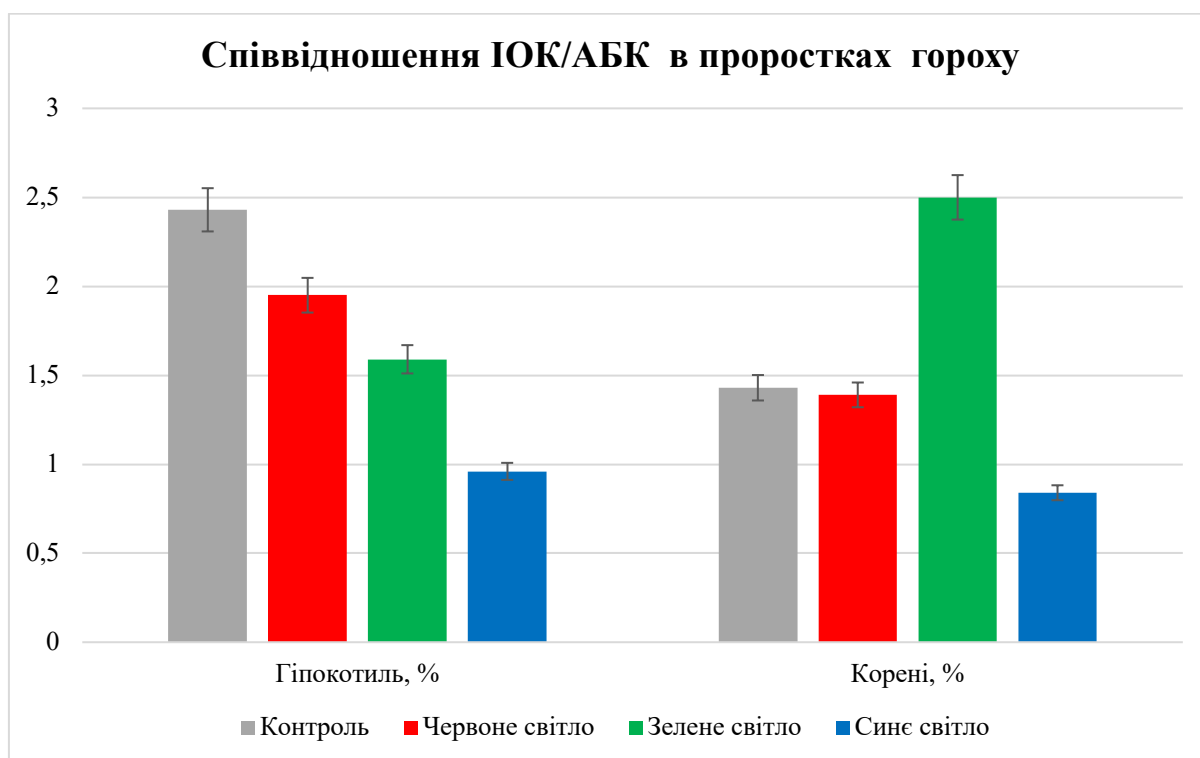


Рис. 12 Співвідношення ІОК/АБК в проростках ДДР гороху посівного сорту Меценат за дії селективного світла

Під впливом червоного світла співвідношення ІОК до АБК в гіпокотилі зменшилось до 1,95, залишаючись при цьому вищим, ніж в коренях, де це співвідношення стало 1,39. Це може вказувати на зниження активності ІОК в гіпокотилі під впливом червоного світла, але він залишається більш активним, ніж у корені. Зелене світло викликало зменшення співвідношення ІОК до АБК в гіпокотилі до 1,59, тоді як у коренях це співвідношення зросло до 2,50. Це свідчить про різницю в реакції гіпокотилі та коренів на вплив зеленого світла, де гіпокотиль став менш активним у виробленні ІОК в порівнянні з коренями. Під впливом синього світла співвідношення ІОК до АБК в гіпокотилі зменшилося до 0,96, тоді як у коренях це співвідношення стало 0,84. Це свідчить про подібні зміни співвідношення ІОК до АБК в обох частинах проростка під впливом синього світла.

Таким чином, зелене світло сприяє зменшенню співвідношення ІОК до АБК у гіпокотилі, тоді як червоне та синє світло може збільшувати це співвідношення в гіпокотилі. У коренях - співвідношення ІОК до АБК зросло найбільше, тоді як у варіанті з червоним світлом - знижується не суттєво. Опромінення зеленим світлом зменшило це співвідношення у 1,7 разів.

ВИСНОВКИ

Результати, отримані в ході виконання дослідної роботи дозволяють сформулювати наступні висновки :

1. Встановлено, що за впливу фотоопромінення селективним світлом різних спектрів за умов *in vitro* відбувається стимулювання росту калусної культури. В умовах *in vivo* стимулювання ростової реакції показано тільки за дії фотовпливу ЗС (530 нм) світла в надземній та підземній частині проростків.
2. Показано, що активність рістстимулюючого фітогормону ІОК за дії фотоопромінення ЧС (660 нм) за умов *in vitro* гальмується в калусах пересадкової культури. В умовах *in vivo* показано органоспецифічність у відповіді на фотоактивацію селективним світлом: в надземній частині проростків відбувається зниження активності, в коренях – значна активація за впливу ЗС (530 нм).
3. Виявлено, що за впливу селективного світла активність рістінгібуючого фітогормону АБК не змінюється в калусних культурах гороху посівного сорту Меценат; за умов *in vivo* активність АБК в гіпокотиліях проростків знижується за впливу ЗС (530 нм) та стимулюється в коренях за дії СС (450 нм).
4. Встановлено, що в умовах *in vitro* зміни фітогормонального балансу відбуваються за впливу ЧС (660 нм), а в умовах *in vivo* в проростках найбільший вплив проявляється за фотоопромінення ЗС (530 нм) та СС (450 нм), як в надземній так і в підземній частині проростка.
5. Виявлено специфічні реакції-відповіді на дію фотоопромінення селективним світлом трьох спектрів у ростовій реакції та активності фітогормонів в залежності від умов дослідження *in vivo* та *in vitro* та органоспецифічність осьових органів проростка, що можливо пов'язано з різним вмістом та активністю певних форм фоторецепторів.

Список використаної літератури

1. Авксентьєва О. О. Активність та вміст фітогормонів-антагоністів у первинних калюсах ізогенних ліній сої з контрастною фотоперіодичною реакцією / О. О. Авксентьєва, М. С. Васильченко, А. В. Гаврилюк // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія : Біологія. - 2017. - № 3. - С. 55-60. -
2. Авксентьєва О. О., Шулік В. В. Біотехнологія вищих рослин: культура *in vitro* : навчально-методичний посібник – Х. : ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2017. – 92 с.
3. Авксентьєва, О. О., Батуєва, Є. Д. Вплив червоного світла (660 нм) на проліферативну активність та ростові реакції у проростків рослин з контрастною фотоперіодичною реакцією. Вісник Харківського національного університету імені ВН Каразіна - 2020 Серія «Біологія, (34), 120-130,
4. Андрєєва В. В., Бортнік Т. П., Рибак Ю. Л., Шепелюк М. О. Біотехнологія: методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт для студентів спеціальності 091 «Біологія» / Луцьк, 2022. 47 с
5. Атраментова Л. О. Статистичні методи в біології: підручник [для огуд. вищ. навч. закл.]/ Атраментовая. О, Утєвська О. М. - Горлівка: «Видавництво Ліхтар», 2008. - 248 с.
6. Войтенко Л. В., Косаківська І. В. 2016. Поліфункціональний фітогормон абсцизова кислота. Вісник Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія, 1(37): 27–41.
7. Жмурко В. В, Авксентьєва ОО, Батуєва ЄД. Фотоморфогенез та вміст вуглеводів в осьових органах проростків гороху посівного за дії селективного світла. Біофізичний вісник. 2022;47:27–39.
<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2022-47-03>

8. Задерей Н. С. Біотехнологія рослин : навч.-метод. посібн. / Н. С. Задерей.
– Одеса: Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 2015.
– 84 с.
9. Косаківська І. В., Васюк А. В., Войтенко Л. В., Щербатюк М. М.
Гормональна система рослин за дії важких металів. – Київ.: Інститут
ботаніки ім. М. Г. Холодного, 2022. – 176 с.
10. Мельничук М.Д. Біотехнологія рослин / Мельничук М.Д., Новак Т.В.,
Кунах В.А. — К.: Поліграфконсалтинг, 2003. – 315 с.
11. Abdullah H.M., Rodriguez J., Salacup J.M., Castañeda I.S., Schnell D.J., Pareek
A., Dhankher O.P. 2021. Increased cuticle waxes by overexpression of *wsd1*
improves osmotic stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Camelina sativa*.
International Journal of Molecular Sciences, 22(10): 5173.
<https://doi.org/10.3390/ijms22105173>
12. Adil, M., Abbasi, B. H., & ul Haq, I. (2019). Red light controlled callus mor-
phogenetic patterns and secondary metabolites production in *Withania somnif-
era* L. *Biotechnology Reports*, 24, e00380.
13. Alan M. Jones, Deborah S. Cochran, Patrick M. Lamerson, Michael L. Evans,
Jerry D. Cohen, Red Light-Regulated Growth : I. Changes in the Abundance of
Indoleacetic Acid and a 22-Kilodalton Auxin-Binding Protein in the Maize
Mesocotyl, *Plant Physiology*, Volume 97, Issue 1, September 1991, Pages 352–
358, <https://doi.org/10.1104/pp.97.1.352>
14. Baba-Kasai A., Hara N., Takano M. Tissue-specific and light-dependent
regulation of phytochrome gene expression in rice // *Plant Cell Environ.* 2014.
V. 37.P. 2654–2666.
15. Ballar'e C.L., Scopel A.L., S'anchez R.A. Photocontrol of stem elongation in
plant neighbourhoods: effects of photon fluence rate under natural conditions of
radiation // *Plant Cell Environ.* 1991. V. 14. P. 57–65.
16. Balzan S., Johal G.S., Carraro N. 2014. The role of auxin transporters in
monocots development. *Frontiers in Plant Science*, 5: 393–399.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00393>

17. Banerjee R., Schleicher E., Meier S., Viana R.M., Pokorny R., Ahmad M., Bittl R., Batschauer A. The signaling state of Arabidopsis cryptochrome 2 contains flavin semiquinone // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. P. 14916–14922.
18. Barrero J.M., Piqueras P., Gonzalez-Guzman M., Serrano R., Rodriguez P.L., Ponce M.R., Micol J.L. 2005. A mutational analysis of the *ABA1* gene of *Arabidopsis thaliana* highlights the involvement of ABA in vegetative development. *Journal of Experimental Botany*, 56(418): 2071–2083. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri206>
19. Batista R.A., Figueiredo D.D., Santos-Gonzalez J., Kohler C. 2019. Auxin regulates endosperm cellularization in Arabidopsis. *Genes & Development*, 33: 466–476.
20. Bernard Rubinstein, Auxin and Red Light in the Control of Hypocotyl Hook Opening in Beans, *Plant Physiology*, Volume 48, Issue 2, August 1971, Pages 187–192, <https://doi.org/10.1104/pp.48.2.187>.
21. Bernardi J., Lanubile A., Li Q.B., Kumar D., Kladnik A., Cook S.D., Ross J.J., Marocco A., Chourey P.S. 2012. Impaired auxin biosynthesis in the defective endosperm18 mutant is due to mutational loss of expression in the *ZmYuc1* gene encoding endosperm-specific YUCCA1 protein in maize. *Plant Physiology*, 160: 1318–1328. <https://doi.org/10.1104/pp.112.204743>
22. Boccalandro H.E., Rugnone M.L., Moreno J.E., Ploschuk E.L., Serna L., Yanovsky M.J., Casal J.J. Phytochrome B enhances photosynthesis at the expense of water-use efficiency in Arabidopsis // *Plant Physiol.* 2009. V. 150. P. 1083–1092.
23. Briggs W.R., Christie J.M. Phototropins 1 and 2: versatile plant blue-light receptors // *Trends Plant Sci.* 2002. V. 7. P. 204–210.
24. Brouwer B., Gardeström P., Keech O. In response to partial plant shading, the lack of phytochrome A does not directly induce leaf senescence but alters the fine-tuning of chlorophyll biosynthesis // *J. Exp. Bot.* 2014. V. 65. P. 4037–4049 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4106438/>).

25. Burgie E.S., Vierstra R.D. Phytochromes: an atomic perspective on photoactivation and signaling // *Plant Cell*. 2014. V. 26. P. 4568–4583 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4311201/>).
26. Cao J., Li G., Qu D., Li X., Wang Y. 2020. Into the seed: auxin controls seed development and grain yield. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5): 1662. <https://doi.org/10.3390/ijms21051662>
27. Cardarelli M., Costantino P. 2018. An auxin switch for male fertility. *Nature Plants*, 4(7): 408–409. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0200-3>
28. Casal J.J. Photoreceptor signaling networks in plant response to shade // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2013. V. 64. P. 403–427.
29. Casal J.J., Candia A.N., Sellaro R. Light perception and signalling by phytochrome A // *J. Exp. Bot.* 2014. V. 65. P. 2835–2845.
30. Casal J.J., Ouesta J.I. Light and temperature cues: multitasking receptors and transcriptional integrators // *New Phytol.* 2018. V. 217. P. 1029–1034.
31. Casanova-Sáez R., Voß U. 2019. Auxin Metabolism Controls Developmental Decisions in Land Plants. *Trends in Plant Science*, 24(8): 741–754. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.05.006>
32. Casson S.A., Hetherington A.M. Phytochrome B is required for light-mediated systemic control of stomatal development // *Curr. Biol.* 2014. V. 24. P. 1216–1221.
33. Cerrudo I., Keller M.M., Cargnel M.D., Demkura P.V., Wit M., Patitucci M.S., Pierik R., Pieterse C.M.J., Ballare C.L. Low red/far-red ratios reduce arabidopsis resistance to *Botrytis cinerea* and jasmonate responses via a COI1-JAZ10-dependent, salicylic acid-independent mechanism // *Plant Physiol.* 2012. V. 158. P. 2042–2052.
34. Chai T., Zhou J., Liu J., Xing D. LSD1 and HY5 antagonistically regulate red light induced-programmed cell death in *Arabidopsis* // *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6: 292. doi 10.3389/fpls.2015.00292
35. Chen D., Xu G., Tang W., Jing Y., Ji Q., Fei Z., Lina R. Antagonistic basic helix-loop-helix/bZIP transcription factors form transcriptional modules that integrate

- light and reactive oxygen species signaling in Arabidopsis // Plant Cell. 2013. V. 25. P. 1657–1673.
36. Chen F., Li B., Li G., Charron J.B., Dai M., Shi X., Deng X.W. Arabidopsis phytochrome A directly targets numerous promoters for individualized modulation of genes in a wide range of pathways // Plant Cell. 2014. V. 26. P. 1949–1966. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4079361/>)
 37. Christie J M, Blackwood L, Petersen J, Sullivan S. Plant flavoprotein photoreceptors. Plant Cell Physiol. 2015;56(3):401–13. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu196>
 38. Christie J.M., Blackwood L., Petersen J., Sullivan S. Plant flavoprotein photoreceptors // Plant Cell Physiol. 2015. V. 56. P. 401–413.
 39. Crozier A., Yokota T., Bishop G.J., Kamiya Y. 2000. Biosynthesis of hormones and elicitor molecules. In: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Eds B.B. Buchanan, W. Gruissem, R.L. Jones. Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists, pp. 850–929.
 40. Curtin C., Zhang W., Franco C. Manipulating anthocyanin composition in Vitis vinifera suspension cultures by elicitation with jasmonic acid and light irradiation // Biotechnol. Lett. - 1993. - Vol. 25. - №14. - P. 1131-1135.
 41. Daud, N., Faizal, A. & Geelen, D. Adventitious rooting of *Jatropha curcas* L. is stimulated by phloroglucinol and by red LED light. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant* **49**, 183–190 (2013). <https://doi.org/10.1007/s11627-012-9486-4>
 42. De Smet I., Zhang H., Inzé D., Beeckman T. 2006. A novel role for abscisic acid emerges from underground. *Trends in Plant Science*, 11(9): 434–439. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.07.003>
 43. Ding Y., Zeng W., Wang X., Wang Y., Niu L., Pan L., Lu Z., Cui G., Li G., Wang Z. 2019. Overexpression of Peach PpIAA19 in Tomato Alters Plant Growth, Parthenocarpy, and Fruit Shape. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38: 103–112. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9813-z>

44. Du M., Spalding E.P., Gray W.M. 2020. Rapid auxin-mediated cell expansion. *Annual Review of Plant Biology*, 71: 379–402. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-073019-025907>
45. Figueiredo D.D., Batista R.A., Roszak P.J., Hennig L., Köhler C. 2016. Auxin production in the endosperm drives seed coat development in Arabidopsis. *eLife*, 5: e20542. <https://doi.org/10.7554/eLife.20542>
46. Figueiredo D.D., Batista R.A., Roszak P.J., Köhler C. 2015. Auxin production couples endosperm development to fertilization. *Nature Plants*, 1: 15184. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.184>
47. Figueiredo D.D., Köhler C. 2018. Auxin: a molecular trigger of seed development. *Genes & Development*, 32(7–8): 479–490. <https://doi.org/10.1101/gad.312546>
48. Finkelstein R.R., Lynch T.J. 2000. The Arabidopsis abscisic acid response gene *ABI5* encodes a basic leucine zipper transcription factor. *Plant Cell*, 12(4): 599–609. <https://doi.org/10.1105/tpc.12.4.599>
49. Franklin K A, Whitelam GC. Phytochromes and shade-avoidance responses in plants. *Ann Bot.* 2005;96(2):169–75. <https://doi.org/10.1093/aob/mci165>
50. Franklin K.A. Light and temperature signal crosstalk in plant development // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2009. V. 12. P. 63–68.
51. Fujii Y., Tanaka H., Konno N., Ogasawara Y., Hamashima N., Tamura S., Hasegawa S., Hayasaki Y., Okajima K., Kodama Y. Phototropin perceives temperature based on the lifetime of its photoactivated state // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2017. V. 114. P. 9206–9211.
52. Gallei M., Luschnig C., Friml J. 2020. Auxin signalling in growth: Schrödinger’s cat out of the bag. *Current Opinion in Plant Biology*, 53: 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.10.003>;
53. Gao S., Gao J., Zhu X., Song Y., Li Z., Ren G., Zhou X., Kuai B. 2016. ABF2, ABF3, and ABF4 promote ABA-mediated chlorophyll degradation and leaf senescence by transcriptional activation of chlorophyll catabolic genes and

- senescence-associated genes in *Arabidopsis*. *Molecular Plant*, 9: 1272–1285.
<https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.06.006>.
54. Gaspar T. Changing concepts in plant hormone action / [Gaspar T., Kevers C., Faivre-Rampant O. et al.] // *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. — 2003. — № 39. — P.85—106.
 55. Smith H. L., McAusland L., Murchie E. H. Don't ignore the green light: exploring diverse roles in plant processes // *Journal of experimental botany*. — 2017. — T. 68. — №. 9. — C. 2099-2110.
 56. Gulati A., Bharel S., Jain S.K., Abdin M.Z. In vitro micropropagation and flowering in *Artemisia annua* // *J. Plant. Biochem. Biotech.* - 1996. - Vol. 5. -P.31-35.
 57. Harper S.M., Neil L.C, Gardner K.H. Structural basis of a phototropin light switch // *Science*. 2003. V. 301. P. 1541–1544.
 58. Harris M.J. 2015. Absciscic Acid: Hidden Architect of Root System Structure. *Plants*, 4(3): 548–572. <https://doi.org/10.3390/plants4030548>
 59. Hewage K.A.H., Yang J-F., Wang D., Hao G-F., Yang G-F., Zhu J-K. 2020. Chemical manipulation of absciscic acid signaling: A new approach to abiotic and biotic stress management in agriculture. *Advanced Science*, 7(18): article 2001265. <https://doi.org/10.1002/advs.202001265>
 60. Huang Y., Baxter R., Smith B.S., Partch C.L., Colbert C.L., Deisenhofer J. Crystal structure of cryptochrome 3 from *Arabidopsis thaliana* and its implications for photolyase activity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103. P. 17701–17706. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1635974/>)
 61. Inagaki N., Kinoshita K., Kagawa T., Tanaka A., O. Ueno, H. Shimada, M. Takano. Phytochrome B mediates the regulation of chlorophyll biosynthesis through transcriptional regulation of ChlH and GUN4 in rice seedlings // *PLoS ONE*. 2015. V. 10: e0135408.
 62. Inoue S., Takemiya A., Shimazaki K. Phototropin signaling and stomatal opening as a model case // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2010. V. 13. P. 587–593.

63. Izzo LG, Mickens MA, Aronne G, Gómez C. Spectral effects of blue and red light on growth, anatomy, and physiology of lettuce. *Physiol Plant*. 2021 Aug;172(4):2191-2202. doi: 10.1111/ppl.13395. Epub 2021 Mar 23. PMID: 33715155.
64. Johkan, M., Shoji, K., Goto, F., Hahida, S. N., & Yoshihara, T. (2012). Effect of green light wavelength and intensity on photomorphogenesis and photosynthesis in *Lactuca sativa*. *Environmental and Experimental Botany*, 75, 128-133.
- Kim H. H. et al. Green-light supplementation for enhanced lettuce growth under red-and blue-light-emitting diodes // *HortScience*. – 2004. – T. 39. – №. 7. – C. 1617-1622.
65. JOHNSON, Rebecca E.; KONG, Yun; ZHENG, Youbin. Elongation growth mediated by blue light varies with light intensities and plant species: A comparison with red light in arugula and mustard seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 2020, 169: 103898.
66. Jung J.H., Domijan M., Klose C., Biswas S., Ezer D., Gao M., Khattak A.K., Box M.S., Charoensawan V., Cortijo S., Kumar M., Grant A., Locke J.C., Schäfer E., Jaeger K.E., Wigge P.A. Phytochromes function as thermosensors in *Arabidopsis* // *Science*. 2016. V. 354. P. 886–889.
67. Kami C., Lorrain S., Hornitschek P., Fankhauser C. Light-regulation plant growth and development. *Curr. Top. Dev. Biol*. 2010. Vol. 91. P. 29–66.
68. Kebrom T.H. 2017. A growing stem inhibits bud outgrowth – the overlooked theory of apical dominance. *Frontiers in Plant Science*, 8: 1874. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01874>
69. Keller M.M., Jaillais Y., Pedmale U.V., Moreno J.E., Chory J., Ballare C.L. Cryptochrome 1 and phytochrome B control shade-avoidance responses in *Arabidopsis* via partially independent hormonal cascades // *Plant J*. 2011. V. 67. P. 195–207. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3135679/>)
70. Kim J., Song K., Park E., Kim K., Bae G., Choi G. Epidermal phytochrome B inhibits hypocotyl negative gravitropism non-cell-autonomously // *Plant Cell*.

2016. V. 28. P. 2770–2785
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5155346/>).
71. Klein, R.M. 1992. Effects of green light on biological systems. *Biol. Rev.* 67:199–284.
 72. Korasick D.A., Enders T.A., Strader L.C. 2013. Auxin biosynthesis and storage forms. *Journal of Experimental Botany*, 64(9): 2541–2555.
<https://doi.org/10.1093/jxb/ert080>
 73. Kosakivska I.V., Babenko L.M., Romanenko K.O., Korotka I.Y., Potters G. 2021. Molecular mechanisms of plant adaptive responses to heavy metals stress. *Cell Biology International*, 45(2): 258–272. <https://doi.org/10.1002/cbin.11503>
 74. Franklin K. A., Larner V. S., Whitelam G. C. The signal transducing photoreceptors of plants // *International Journal of Developmental Biology*. – 2005. – T. 49. – №. 5/6. – C. 653.
 75. Smith H. Phytochromes and light signal perception by plants—an emerging synthesis // *Nature*. – 2000. – T. 407. – №. 6804. – C. 585-591.
 76. Kurata H., Achioku T., Okuda N., Furusaki S. Intermittent light irradiation with a second-scale interval enhances caffeine production by *Coffea arabica* cells I I *Biotechnol. Prog.* - 1998. - Vol. 14. - №. 5. - P. 797-799
 77. Kurata H., Mochizuki A., Okuda N., Seki M. Intermittent light irradiation with second- or hour-scale periods controls anthocyanin production by strawberry cells // *Enz. Microb. Tech.* - 2000. - Vol. 26 - P. 621-629
 78. Lau O.S., Deng X.W. The photomorphogenic repressors COP1 and DET1: 20 years later // *Trends Plant Sci.* 2012. V. 17. P. 584–593.
 79. Li F. et al. Green light promotes healing and root regeneration in double-root-cutting grafted tomato seedlings // *Scientia Horticulturae*. – 2021. – T. 289. – C. 110503.
 80. Li H., Xu Z., Tang C. Effect of light-emitting diodes on growth and morphogenesis of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plantlets in vitro // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. – 2010. – T. 103. – C. 155-163.

- 81.Li Z., Zhang X., Zhao Y., Li Y., Zhang G., Peng Z., Zhang J. 2018. Enhancing auxin accumulation in maize root tips improves root growth and dwarfs plant height. *Plant Biotechnology Journal*, 16(1): 86–99. <https://doi.org/10.1111/pbi.12751>
- 82.Lim, You Jin, and Seok Hyun Eom. "Effects of different light types on root formation of *Ocimum basilicum* L. cuttings." *Scientia Horticulturae* 164 (2013): 552-555
- 83.Liscum, E., Young, J. C., Poff, K. L. and Hangarter, R. P. (1992). Genetic separation of phototropism and blue light inhibition of stem elongation. *Plant Physiol.* 100, 267–271. <https://doi.org/10.1104/pp.100.1.267>
- 84.Ma, X., Wang, Y., Liu, M., Xu, J., & Xu, Z. (2015). Effects of green and red lights on the growth and morphogenesis of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlets in vitro. *Scientia Horticulturae*, 190, 104-109.
- 85.Martin G., Leivar P., Ludevid D., Tepperman J.M.,Quail P.H., Monte E. Phytochrome and retrograde signalling pathways converge to antagonistically regulate a light-induced transcriptional network // *Nat. Commun.* 2016. V. 7. P. 11431.
- 86.Maurya J.P., Bhalerao R.P. Photoperiod- and temperature-mediated control of growth cessation and dormancy in trees: a molecular perspective // *Ann. Bot.*2017. V. 120. P. 351–360.(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5591416/>)
- 87.Mazzoni-Putman S.M., Brumos J., Zhao C., Alonso J.M., Stepanova A.N. 2021. Auxin Interactions with Other Hormones in Plant Development. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 13(10): a039990. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a039990>
- 88.Mérai Z, Xu F, Musilek A, Ackerl F, Khalil S, Soto-Jiménez LM, Lalatović K, Klose C, Tarkowská D, Turečková V, Strnad M, Mittelsten Scheid O. Phytochromes mediate germination inhibition under red, far-red, and white light in *Aethionema arabicum*. *Plant Physiol.* 2023 May 31;192(2):1584-1602. doi: 10.1093/plphys/kiad138. PMID: 36861637; PMCID: PMC10231562.

89. Moosavi-Nezhad M, Salehi R, Aliniaiefard S, Tsaniklidis G, Woltering EJ, Fanoourakis D, Żuk-Golaszewska K, Kalaji HM. Blue Light Improves Photosynthetic Performance during Healing and Acclimatization of Grafted Watermelon Seedlings. *Int J Mol Sci*. 2021 Jul 28;22(15):8043. doi: 10.3390/ijms22158043. PMID: 34360809; PMCID: PMC8347074
90. Munemasa S., Hauser F., Park J., Waadt R., Brandt B., Schroeder J.I. 2015. Mechanisms of abscisic acid-mediated control of stomatal aperture. *Current Opinion in Plant Biology*, 28: 154–162. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.10.010>.
91. Noe N., Eccher T., Del Signore E., Montoldi A. Growth and proliferation in vitro of *Vaccinium corymbosum* under different irradiance and radiation spectral composition // *Biologia Plantarum*. - 1998. - V. 42. - № 2. - P. 161-167.
92. Olatunji D., Geelen D., Verstraeten I. 2017. Control of endogenous auxin levels in plant root development. *International Journal of Molecular Sciences*, 18: 2587. <https://doi.org/10.3390/ijms18122587>
93. Osugi A., Itoh H., Ikeda-Kawakatsu K., Takano M., Izawa T. Molecular dissection of the roles of phytochrome in photoperiodic flowering in rice // *Plant Physiol*. 2011. V. 157. P. 1128–1137.
94. Ouyang J., Wang X., Zhao B., Wang Y. Light intensity and spectral quality influencing the callus growth of *Cistanche deserticola* and biosynthesis of phenylethanoid glycosides // *Plant Science*. - 2003. - №. 165. - P. 657-661.
95. Paik I., Yang S., Choi G. Phytochrome regulates translation of mRNA in the cytosol // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012. V. 109. P. 1335–1340.
96. Stuefer J. F., Huber H. Differential effects of light quantity and spectral light quality on growth, morphology and development of two stoloniferous *Potentilla* species // *Oecologia*. – 1998. – T. 117. – C. 1-8.
97. Pearce S., Kippes N., Chen A., Debernardi J.M., Dubcovsky J. RNA-seq studies using wheat phytochrome B and phytochrome C mutants reveal shared and specific functions in the regulation of flowering and shadeavoidance pathways // *BMC Plant Biol*. 2016. V. 16. P. 141. doi 10.1186/s12870-016-0831-3

98. Petrášek J., Friml J. 2009. Auxin transport routes in plant development. *Development*, 136: 2675–2688. <https://doi.org/10.1242/dev.030353>
99. Piotrowska A., Bajguz A. 2011. Conjugates of abscisic acid, brassinosteroids, ethylene, gibberellins, and jasmonates. *Phytochemistry*, 72(17): 2097–2112. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.08.012>
100. Qi J.L., Zhanga W.J., Liua S.H., Wanga H. Expression analysis of lightregulated genes isolated from a full-length-enriched cDNA library of *Onosma paniculatum* cell cultures I I *Journal of Plant Physiology*. - 2008 - Vol. 165. - P. 1474-1482
101. Rebeille F. Photosynthesis and respiration in air-grown and CO₂-grown photoautotrophic cell suspension cultures of carnation. // *Plant Sci*. 1988. V. 54. P. 11 – 21.
102. Rehman, M., Fahad, S., Saleem, M. H., Hafeez, M., Rahman, M. U., Liu, F., & Deng, G. (2020). Red light optimized physiological traits and enhanced the growth of ramie (*Boehmeria nivea* L.). *Photosynthetica*, 58(4).
103. Ren, M., Liu, S., Tang, C., Mao, G., Gai, P., Guo, X., ... & Tang, Q. (2023). Photomorphogenesis and Photosynthetic Traits Changes in Rice Seedlings Responding to Red and Blue Light. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(14), 11333.
104. Rösler J., Klein I., Zeidler M. Arabidopsis fhl/fhy1 double mutant reveals a distinct cytoplasmic action of phytochrome A // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007. V. 104. P. 10737–10742.
105. Ross A.R., Ambrose S.J., Cutler A.J., Feurtado J.A., Kermode A.R., Nelson K., Zhou R., Abrams S.R. 2004. Determination of endogenous and supplied deuterated abscisic acid in plant tissues by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry with multiple reaction monitoring. *Analytical Biochemistry*, 329(2): 324–333. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.02.026>
106. Ross J.J., Reid J.B. 2013. Evolution of growth-promoting plant hormones. *Functional Plant Biology*, 7: 795–805. <https://doi.org/10.1071/FP10063>

107. Saini S., Sharma I., Kaur N., Pati P.K. 2013. Auxin: a master regulator in plant root development. *Plant Cell Reports*, 32(6): 741–757. <https://doi.org/10.1007/s00299-013-1430-5>
108. Sakamoto K., Iida K., Sawamura K., Hajiro K. Anthocyanin production in cultured cells of *Aralia cordata* // Thunb. *Plant Cell Tissue Org. Cult.* - 1994. - Vol. 36. - №. 1.-P. 21-26.
109. Sakata Y., Komatsu K., Takezawa D. 2014. In: ABA as a universal plant hormone. progress in botany, 75. Eds U. Lüttge et al. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, pp. 57–96. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-38797-5_2
110. Seif, M., Aliniaieifard, S., Arab, M., Mehrjerdi, M. Z., Shomali, A., Fanourakis, D., ... & Woltering, E. (2021). Monochromatic red light during plant growth decreases the size and improves the functionality of stomata in chrysanthemum. *Functional Plant Biology*, 48(5), 515-528.
111. Sellaro R., Crepy M., Trupkin S.A., Karayekov E., Buchovsky A.S., Rossi C., Casal J.J. Cryptochrome as a sensor of the blue/green ratio of natural radiation in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 2010. V. 154. P. 401–409.
112. Sharrock R.A., Clack T. Patterns of expression and normalized levels of the five *Arabidopsis* phytochromes // *Plant Physiol.* 2002. V. 130. P. 442–456(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC166576/>).
113. Shikata H., Hanada K., Ushijima T., Nakashima M., Suzuki Y., Matsushita T. Phytochrome controls alternative splicing to mediate light responses in *Arabidopsis* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014. V. 111. P. 18781–18786. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4284612/>)
114. Los D. A., Murata N. Responses to cold shock in cyanobacteria // *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* – 1999. – T. 1. – №. 2. – C. 221-230.
115. Smith, H. 1993. Sensing the light environment: the functions of the phytochrome family, p. 377–416. In: R.E. Kendrick and G.H.M. Kronenberg (eds.). *Photomorphogenesis in plants*. Kluwer Academic Publ., Dordrecht.
116. Somers D.E., Quail P.H. Temporal and spatial expression patterns of PHYA and PHYB genes in *Arabidopsis* // *Plant J.* 1995. V. 7. P. 413–427.

117. Song X, Gu X, Chen S, Qi Z, Yu J, Zhou Y, Xia X. Far-red light inhibits lateral bud growth mainly through enhancing apical dominance independently of strigolactone synthesis in tomato. *Plant Cell Environ.* 2023 Nov 2. doi: 10.1111/pce.14758. Epub ahead of print. PMID: 37916615.
118. Song Y.H., Shim J.S., Kinmonth-Schultz H.A., Imaizumi T. Photoperiodic flowering: time measurement mechanisms in leaves // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2015. V. 66. P. 441–464.(
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4414745/>)
119. Taiz L., Zeiger E. 2003. Absciscic acid: A seed maturation and antistress signal. In: Taiz L., E. Zeiger (eds.). *Plant Physiology*. 3rd ed. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA, pp. 539–558.
120. Tanada T. A rapid photoreversible response of barley root tips in the presence of 3-indoleacetic acid // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1968. V. 59. P. 376–380 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC224682/>).
121. Thalmann M., Pazmino D., Seung D., Horrer D., Nigro A., Meier T., Kölling K., Pfeifhofer H.W., Zeeman S.C., Santelia D. 2016. Regulation of leaf starch degradation by absciscic acid is important for osmotic stress tolerance in plants. *Plant Cell*, 28(8): 1860–1878. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00143>
122. Tilbrook K., Arongaus A.B., Binkert M., Heijde M., Yin R., Ulm R. The UVR8 UV-B Photoreceptor: perception, signaling and response // *Arabidopsis book*. 2013. V. 11: e0164. doi 10.1199/tab.0164
123. TILLBERG, Elisabeth. Effect of light on absciscic acid content in photosensitive Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seed. *Plant growth regulation*, 1992, 11: 147-152
124. Usami T., Mochizuki N., Kondo M., Nishimura M., Nagatani A. Cryptochromes and phytochromes synergistically regulate Arabidopsis root greening under blue light // *Plant Cell Physiol.* 2004. V. 45. P. 1798–1808.
125. Ushijima T., Hanada K., Gotoh E., Yamori W., Kodama Y., Tanaka H., Kusano M., Fukushima A., Tokizawa M., Yamamoto Y.Y., Tada Y., Suzuki Y.,

- Matsushita T. Light controls protein localization through phytochrome mediated alternative promoter selection // *Cell*. 2017. V. 171. P. 1316–1325.
126. Velasquez S.M., Barbez E., Kleine-Vehn J., Estevez J.M. 2016. Auxin and Cellular Elongation. *Plant Physiology*, 170: 1206–1215. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01863>
127. Verma S., Attuluri V.P.S., Robert H.S. 2021. An Essential Function for Auxin in Embryo Development. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 13: a039966. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a039966>
128. Wang H., Haiyang H. Phytochrome signaling: time to tighten up the loose ends // *Molecular Plant*. 2015. V. 8. P. 540–551.
129. Wang M.L., Jiang Y.S., Wei J.Q., Wei X. Effects of irradiance on growth, photosynthetic characteristics, and artemisinin content of *Artemisia annua* L. // *Photosynthetica*. - 2007. - Vol. 46. - №. 1. - P. 17-20.
130. Wang Y., Zhang T., Wang R., Zhao Y. 2018. Recent advances in auxin research in rice and their implications for crop improvement. *Journal of Experimental Botany*, 69(2): 255–263. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx228>
131. Wang Y.C., Zhang H.X., Zhao B., Yuan X.F. Improved growth of *Artemisia annua* L. hairy roots and artemisinin production under red light conditions // *Biotechnol. Lett.* - 2001 - Vol. 23. - P. 1971-1973
132. Wu J., Ichihashi Y., Suzuki T., Shibata A., Shirasu K., Yamaguchi N., Ito T. 2019. Absciscic aciddependent histone demethylation during postgermination growth arrest in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environment*, 42(7): 2198–2214. <https://doi.org/10.1111/pce.13547>
133. Xie X., Wang Y., Datla R., Ren M. 2021. Auxin and Target of Rapamycin Spatiotemporally Regulate Root Organogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21): 11357. <https://doi.org/10.3390/ijms222111357>
134. Xing Liu, Jerry D. Cohen, Gary Gardner, Low-Fluence Red Light Increases the Transport and Biosynthesis of Auxin , *Plant Physiology*, Volume 157, Issue 2, October 2011, Pages 891–904, <https://doi.org/10.1104/pp.111.181388>

135. Yu, Y., Qin, W., Li, Y. et al. Red light promotes cotton embryogenic callus formation by influencing endogenous hormones, polyamines and antioxidative enzyme activities. *Plant Growth Regul* 87, 187–199 (2019). <https://doi.org/10.1007/s10725-018-0461-x>
136. Zhang T., Maruhnich S.A., Folta K.M. Green light induces shade avoidance symptoms // *Plant Physiol.* 2011. V. 157. P. 1528–1536.
137. Zhao J., Zhou J.-J., Wang Y.-Y., Gu J.-W., Xie X.-Z. Positive regulation of phytochrome B on chlorophyll biosynthesis and chloroplast development in rice // *Rice Sci.* 2013. V. 20. P. 243–248.
138. Zhao Y., Gao J., Im Kim J., Chen K., Bressan R.A., Zhu J.-K. 2017. Control of Plant water use by ABA induction of senescence and dormancy: An overlooked lesson from evolution. *Plant & Cell Physiology*, 58(8): 1319–1327. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcx086>
139. Zhao Y., Zhang Z., Gao J., Wang P., Hu T., Wang Z., Hou Y.J., Wan Y., Liu W., Xie S., Lu T., Xue L., Liu Y., Macho A.P., Tao W.A., Bressan R.A., Zhu J.K. 2018. Arabidopsis duodecuple mutant of PYL ABA receptors reveals PYL repression of ABA-independent SnRK2 activity. *Cell Reports*, 23(11): 3340–3351. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.044>.
140. Zhou Y., He R., Guo Y., Liu K., Huang G., Peng C., Liu Y., Zhang M., Li Z., Duan L. 2019. A novel ABA functional analogue B2 enhances drought tolerance in wheat. *Scientific Reports*, 9: 2887. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39013-8>
141. Zhu, M., Geng, S., Chakravorty, D., Guan, Q., Chen, S., & Assmann, S. M. (2020). Metabolomics of red-light-induced stomatal opening in *Arabidopsis thaliana*: coupling with abscisic acid and jasmonic acid metabolism. *The Plant Journal*, 101(6), 1331–1348.
142. Suetsugu N., Wada M. Evolution of three LOV blue light receptor families in green plants and photosynthetic stramenopiles: phototropin, ZTL/FKF1/LKP2 and aureochrome // *Plant and Cell Physiology*. – 2013. – T. 54. – №. 1. – С. 8–23

RESUME

The work is laid out on 75 pages, contains 10 tables, 12 figures, 142 literary sources, of which 132 are in English, and 3 appendices.

The work was performed on the basis of the laboratory of the "Morphogenesis of higher plants *in vitro*" department.

The purpose of this work was to study the influence of selective light of three spectra RL (660 nm), GL (530 nm) and BL (450 nm) on the activity of endogenous phytohormones in calli and seedlings of *Pisum sativum* L. under *in vivo* and *in vitro* conditions.

The objects of the study were seedlings and transplanted callus culture of peas of the Mecenat seed variety. Morphometric, biotechnological, biotesting methods and statistical research methods were used in the work.

In the course of the conducted research, it was demonstrated that under the influence of photoirradiation with selective light of various spectra under *in vitro* conditions, the growth of callus culture is stimulated. Under *in vivo* conditions, the stimulation of the growth reaction is shown only under the action of the photoinfluence of the GL (530 nm) light in the above-ground and underground parts of the seedlings. It was shown that the activity of the growth-stimulating phytohormone IOK under the action of photoirradiation of RL (660 nm) under *in vitro* conditions is inhibited in the calli of the transplant culture. Organ specificity in the response to photoactivation by selective light is shown *in vivo*: activity decreases in the aerial part of the sprouts, and significant activation occurs in the roots under the influence of GL light (530 nm). It was found that under the influence of selective light, the activity of the restinhibiting phytohormone ABA does not change in callus cultures of peas of the Mecenat seed variety; under *in vivo* conditions, the activity of ABA in the hypocotyls of seedlings decreases under the influence of GL (530 nm) and is stimulated in the roots under the influence of BL (450 nm). It was established that under *in vitro* conditions, changes in the phytohormonal balance occur under the influence of RL (660 nm), and under *in vivo* conditions in seedlings, the greatest

effect is manifested by photoirradiation of GR (530 nm) and BL (450 nm), both in above-ground and in the underground part of the sprout.

Key words: *Pisum sativum* L., callus culture, RL (660 nm), GL (530 nm), BL (450 nm), growth response, IAA, ABA, phytohormonal balance.

ДОДАТКИ

Додаток А

Склад поживного середовища Мурасиге-Скуга (МС).

Компоненти середовища	Кількість на 1 л
	МС для індукції калусогенезу
Маточні розчини макро-солей	100 мл
Маточні розчини мікросолей	1 мл
Fe-хелат	5 мл
Вітаміни: РР	0,5 мг
В1	1 мг
В6	1 мг
Мезоінозит	100 мг
ФГ: НОК	-
ІОК	-
2,4-Д	5-10
Кінетин	-
БАП	-
Сахароза	30 г
Агар-агар	7 г



EXPERIMENTAL BOTANY

DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-235-7-3>

**ACTIVITY OF PHYTOHORMONES IN AXIAL ORGANS
OF *PISUM SATIVUM* L. SEEDLINGS DUE TO ACTIVATION
OF PHOTORECEPTOR SYSTEMS**

**АКТИВНІСТЬ ФІТОГОРМОНІВ У ОСЬОВИХ ОРГАНАХ
ПРОРОСТКІВ *PISUM SATIVUM* L. ЗА АКТИВАЦІЇ
ФОТОРЕЦЕПТОРНИХ СИСТЕМ**

Batuieva Ye. D.

*Postgraduate student at the Department
of Plant and Microorganisms Physiology
and Biochemistry
V. N. Karazin Kharkiv National
University*

Батуєва Є. Д.

*аспірантка кафедри фізіології та
біохімії рослин і мікроорганізмів
Харківський національний університет
імені В. Н. Каразіна*

Avksentieva O. O.

*Candidate of Biological Sciences,
Associate Professor at the Department
of Plant and Microorganisms Physiology
and Biochemistry
V. N. Karazin Kharkiv National
University*

Авксентьєва О. О.

*кандидат біологічних наук,
доцент кафедри фізіології та біохімії
рослин і мікроорганізмів
Харківський національний університет
імені В. Н. Каразіна*

Udod Yu. O.

*Bachelor at the Department of Plant
and Microorganisms Physiology
and Biochemistry
V. N. Karazin Kharkiv National
University
Kharkiv, Ukraine*

Удод Ю. О.

*бакалавр кафедри фізіології
та біохімії рослин і мікроорганізмів
Харківський національний університет
імені В. Н. Каразіна
м. Харків, Україна*

It is known that light acts as a factor that regulates the processes of plant photomorphogenesis with the participation of various signaling systems, including the phytohormonal system [1, pp. 1423–1425]. The photo-receptors of plants are represented by receptors of red light (RL) and far red light (FRL) – phytochromes; receptors of ultraviolet A radiation, blue (BL)

and green (GL) light – cryptochromes, phototropins, proteins of the ZEITLUPE family, as well as a UV-B receptor – protein UVR8 [2, pp. 163–167]. One of the mechanisms of plant growth and development regulation by light is the influence on the synthesis and activity of phytohormones [1, p. 1427]. Phytohormones are low-molecular organic substances synthesized by plants and perform regulatory functions [3, pp. 15–20]. Unlike animals, plants do not have special organs that synthesize phytohormones. At the same time, there is a greater saturation of hormones in some of their organs compared to others. For example, the apical meristems of the stem and root are enriched with auxins (IAA), and abscisins (ABA) usually act at the point of synthesis, spreading only a short distance [4, pp. 115–117]. It is also believed that it is not the influence of a single phytohormone that is important, but the hormonal status of plants, in other words the activity levels of phytohormones and the ratio between them [5, pp. 56–57]. IAA and ABA are antagonistic hormones in the regulation of plant growth and development [6, p. 13–19]. Interaction of photoreceptor and phytohormonal systems ensures control and regulation of plant growth and development processes [4, pp. 107–109]. Hormonal status in connection with the activation of photoreceptor systems of plants is actively studied. The aim of the work was to analyze the effect of selective light on the activity of IAA and ABA in the above-ground and underground parts of pea seedlings.

As a plant material in the work a long-day plant of pea (*Pisum sativum* L.) of the Metsenat variety was used. The seeds were sterilized in a 15% solution of sodium hypochlorite and 70% ethanol, after which 10–15 seeds were germinated in Petri dishes on moistened filter paper at a temperature of 22 °C in the dark in a thermostat for 3 days to stabilize the growth reaction. Then activation of the photoreceptor systems of the studied seedlings was carried out by irradiation with light of a different spectrum. Etiolated seedlings in an isolated box in the dark were irradiated daily for 30 minutes for 5 days using a Korobov LED matrix with red light (RL 660 nm), green (GL 530 nm) and blue (BL 450 nm). Control plants were cultivated under the same conditions without activation of photoreceptor systems by selective light. Plant material was fixed on the 10th day of the experiment. Phytohormones were extracted from fixed plant material, followed by purification and chromatographic separation of the mixture of hormones by thin-layer chromatography. The activity of PH was determined by the method of biotests: IAA – by the growth of wheat coleoptiles, ABA – by the inhibition of mustard seed germination.

According to the results of the analysis in the control seedlings, the activity of IAA in the above-ground part is significantly higher than in the underground part (Table 1). Irradiation with selective light leads to a decrease in activity in the above-ground part of seedlings: it is insignificant in the case of RL irradiation and almost twice in the case of BL and GL irradiation, which may be related to the different content of phytochromes and cryptochromes, which participate in photoreception, in the above-ground part of seedlings. The activity of IAA in the root part is affected by selective light in a different way. Irradiation of the GL leads to an increase in the activity of IAA almost twofold, while irradiation of the BL leads to inhibition of the activity. Irradiation of RL does not lead to a significant effect, which may be related to the absence or insufficient concentration of activated phytochromes that perceive RL in the underground part of etiolated seedlings.

Table 1

**The influence of selective light on the activity of IAA
in the above-ground and underground parts of etiolated seedlings
of seeded pea *Pisum sativum* L.**

Factors	IAA activity, %	
	Aboveground part	Underground part
Control (w/r)	215±32,31	107,6±26,5
RL (660 nm)	176±15,57	107±23,07
GL (530 nm)	123±20,53*	215±45,8*
BL (450 nm)	85±12,66*	77±16,17

*) note – the difference with the control is significant for $P \leq 0.05$

According to the results of the experiment, a significant difference between the activity of ABA in the above-ground and underground parts is not observed in all variants (Table 2). But the effect of selective light on the activity of ABA in different parts of seedlings is somewhat different. The activity of ABA in the above-ground part has the greatest influence on GL: there is a decrease in ABA activity compared to the control. In the case of irradiation of GL and BL in the root part, stimulation of ABA activity is observed compared to the control.

Table 2

**The effect of selective light on the activity of ABA
in the aboveground and underground parts of etiolated seedlings
of *Pisum sativum* L.**

Factors	ABA activity, %	
	Aboveground part	Underground part
Control (w/r)	88,51±3,57	75,53±8,07
RL (660 nm)	90,63±14,02	77,5±17,61
GL (530 nm)	77,63±14,07*	86,11±5,09*
BL (450 nm)	88,1±7,8	92,11±1,31*

*) note – the difference with the control is significant for $P \leq 0.05$

In the above-ground and underground parts of the control seedlings, the dominance of IAA over ABA is observed by approximately 2,5 and 1,5, respectively (Table 3), that may be associated with active growth in length, which is one of the signs of etiolation. But irradiation with selective light leads to a change in the phytohormonal balance. In the above-ground part, irradiation with selective light leads to a change in the balance towards ABA. BL and GL have the greatest effect. In turn, in the underground part, the irradiation of RL and BL also leads to a decrease in the IAA/ABA ratio, while GL, on the contrary, changes the phytohormonal balance in the direction of IAA.

Table 3

**The effect of selective light on the phytohormonal balance
in the above-ground and underground parts of etiolated seedlings
of *Pisum sativum* L.**

Factors	Phytohormonal balance of IAA/ABA	
	Aboveground part	Underground part
Control (w/r)	2,44	1,43
RL (660 nm)	1,95	1,39
GL (530 nm)	1,69	2,51
BL (450 nm)	0,97	0,83

Thus, the activity of phytohormones is affected by the activation of photoreceptor systems, which is associated with the crossing of their signaling pathways [1, p. 1427]. Above-ground and underground parts

of seedlings differ in their response to selective light, because of which we can assume that the root system contains a slightly different composition of photoreceptors than in the above-ground part of seedlings. GL has the greatest influence on the phytohormonal status of a long-day pea plant both in the above-ground and underground parts, although the direction of its action in the axial organs is opposite.

Bibliography:

1. Su W. P., Howwell S. H. The Effects of Cytokinin and Light on Hypocotyl Elongation in Arabidopsis Seedlings Are Independent and Additive. *Plant Physiology*. 1995. № 108. P. 1423–1430. DOI: 10.1104/pp.108.4.1423
2. Войцеховская О. В. Фитохромы и другие (фото)рецепторы информации у растений. *Физиол. растений*. 2019. Т. 66, № 3. С.163–177.
3. Кульчин Ю. Н., Булгаков В. П., Гольцова Д. О., Субботин Е. П. Оптогенетика растений – светорегуляция генетического и эпигенетического механизмов управления онтогенезом. *Вестник ДВО РАН*. 2020. № 1(209). С. 5–25. DOI: 10.25808/08697698.2020.209.1.001
4. Цыганкова В. А., Галкина Л. А., Мусатенко Л. И., Сытник К. М. Генетический и эпигенетический контроль роста и развития растений. Молекулярно-генетический контроль проведения и реализации сигналов ауксинов. *Биополимеры и клетка*. 2005. Т. 21, № 3. С. 187–219.
5. Авксентьева О. О., Васильченко М. С., Гаврилюк А. В. Активність та вміст фітогормонів-антагоністів в первинних калусах ізогенних ліній сої з контрастною фотоперіодичною реакцією. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету. Серія : Біологія*. 2017. № 3(70). С. 55–60.
6. Finkelstein R. Absciscic acid synthesis and response. *The Arabidopsis book. American society of plant biologists*. 2013. № 11. P. 1–36. DOI: 10.1199/tab.0166



14th INTERNATIONAL CONFERENCE ON ENGINEERING & NATURAL SCIENCES

July 18-19, 2022 / Sivas, TURKEY
Sivas Science and Technology University

(THE PROCEEDINGS BOOK)

EDITOR
Assoc. Prof. Dr. Emre BİÇER

All rights of this book belong to ISPEC. Without permission can't be duplicate or copied.
Authors are responsible both ethically and juridically
ISPEC Publications – 2021 ©
Issued: 13.08.2022
ISBN: 978-625-7720-81-6

Bu Kitabın Tüm Hakları ISPEC Yayınevi'ne aittir.
Yazarlar etik ve hukuki olarak eserlerden sorumludurlar.
ISPEC Yayınevi – 2021 ©
Yayın Tarihi: 13.08.2022
ISBN: 978-625-7720-81-6

<https://www.ispeccongress.org/fenmuhendislik>

ACTIVITY OF PHYTOHORMONES-ANTAGONISTS IN AXIAL ORGANS OF SEEDLINGS UNDER IRRADIATION OF SELECTIVE LIGHT

Batuieva Y.D

V. N. Karazin KhNU 61022
 ORCID: 0000-0003-2532-7141

Avksentieva O.O.

V. N. Karazin KhNU 61022
 ORCID: 0000-0002-3274-3410

Udod Yu.O.

V. N. Karazin KhNU 61022
 ORCID: 0000-0003-2366-8102

ABSTRACT

It is known that light is the main factor that regulates the processes of plant photomorphogenesis with the participation of various signaling cascade systems, including the phytohormonal system. The phytohormonal complex in plants organism is one of the most important regulatory systems that determines the processes of growth, proliferation, metabolism, the course of individual development of the plant organism, etc. Irradiation with selective light can regulate the content of endogenous phytohormones, their transport, and redistribution between plant organs, stimulate or inhibit the expression of genes activated by phytohormones. The study of the signaling effect of selective light on the activity of endogenous phytohormones is important for understanding and regulating the processes of plant photomorphogenesis as an adaptive response to the action of light - a multicomponent environmental factor. The aim of the work was to analyze the effect of selective light: red RL 660 nm, green GL 530 nm, and blue BL 450 nm on the activity of phytohormones-antagonists - auxins (IOO) and abscisic acid (ABA) in the above-ground and underground parts of etiolated pea seedlings of *Pisum sativum* L. Irradiation of experimental seedlings was carried out for 5 days using LED matrices. The activity of phytohormones was determined by the biotesting method: IOO - by the growth of wheat coleoptiles, ABA - by the inhibition of mustard seed germination. According to the results of the experiments, it was shown that in the control seedlings, the activity of IOO in the above-ground part is significantly higher than in the underground part. Irradiation with selective light leads to a decrease in activity in the above-ground part of the seedlings: it is insignificant when exposed to RL (660 nm) and almost twice when exposed to BL (450 nm) and GL (530 nm). GL (530 nm) has the greatest influence on IOO activity in the root part: a two-fold increase in IOO activity is observed. BL irradiation (450 nm), on the contrary, leads to a decrease in IOC activity. The results of the research on the activity of the growth-inhibiting phytohormone - ABA showed that there was no significant difference between its activity in the above-ground and underground parts in all variants of the experiment. GL (530 nm) has the greatest influence on ABA activity in the above-ground part: a decrease in ABA activity is observed in comparison with the control. When exposed to GL (530 nm) and BL (450 nm) in the root part, an increase in ABA activity is observed compared to the control.

Thus, in the course of the conducted research, it was shown that the action of light of each spectrum leads to specific reactions in changing the activity of phytohormones-antagonists in the above-ground and underground parts of pea seedlings.

Keywords: selective light, RL (660 nm), GL (530 nm), BL (450 nm), phytohormones-antagonists, IOO, ABA