

... ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН ... PLANT PHYSIOLOGY ...

УДК: 57.033.576.353.581.142:633.358.633.34

Вплив червоного світла (660 нм) на проліферативну активність та ростові реакції у проростків рослин з контрастною фотоперіодичною реакцією

О.О. Авксентьева, Є.Д. Батуєва

У роботі представлені результати дослідження впливу опромінення червоним світлом (660 нм) на проліферативну активність кореневих меристем та ростові реакції проростків рослин з контрастною фотоперіодичною реакцією. Як рослинний матеріал в роботі використовували представників родини Бобових (Fabaceae), контрастних за фотоперіодичною реакцією: довгоденні рослини (ДДР) гороху (*Pisum sativum* L.) сорту Меценат та короткоденні рослини (КДР) сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Корсак. Активацію фітохромів проводили, опромінюючи надземну частину дослідних проростків монохроматичним червоним світлом (ЧС) 660 нм з використанням LED матриці по 30 хвилин протягом 5 діб. Проліферативну активність клітин меристем визначали за аналізом мітотичного індексу (MI). Ростову реакцію досліджували за показниками лінійного росту: загальною довжиною проростка, довжиною надземної частини та коренів та інтегральним показником ростових і біосинтетичних процесів – накопиченням біомаси. За результатами експериментів показано, що мітотична активність кореневих меристем під впливом опромінення червоним світлом надземної частини у проростках ДДР гороху Меценат незначно знижувалася – на 8 %, а у проростках КДР сої Корсак зростала істотно – на 47 %. Лінійний ріст і накопичення біомаси у надземній частині за дії опромінення ЧС у проростках гороху сорту Меценат і сої сорту Корсак зменшувалися, причому у сої цей ефект був виражений істотніше, ніж у гороху. За дії ЧС лінійний ріст коренів і накопичення ними біомаси у ДДР проростків гороху незначно знижувалися, у той же час ці процеси у коренях КДР проростків сої істотно стимулювалися. Під впливом ЧС у проростках гороху швидкість росту у довжину надземної частини не змінювалась, а коренів – зростала, у той час як швидкість накопичення ними біомаси – знижувалася. У проростків сої за опромінення ЧС швидкість росту як надземної частини, так і коренів знижувалася, швидкість накопичення біомаси надземною частиною зростала, а коренями – знижувалася. ДДР гороху Меценат і КДР сої Корсак відрізняються за характером реакції ростових процесів у відповідь на опромінення ЧС. Активація системи фітохромів у надземній частині викликає зміни проліферативної активності та ростових процесів коренів, що може свідчити про системність відповіді рослинного організму на дію цього фактору. Обговорюється зв'язок фотоперіодичної реакції рослин з реалізацією фітохромного сигналіngu у рослинному організмі шляхом активації чи інгібування проліферативної активності кореневих меристем та ростових реакцій.

Ключові слова: *Pisum sativum* L., *Glycine max* (L.) Merr., фітохромна система, червоне світло (660 нм), фотоперіодична реакція, мітотичний індекс, ростова реакція.

Про авторів:

О.О. Авксентьева – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, avksentyeva@karazin.ua, <http://orcid.org/0000-0002-3274-3410>

Є.Д. Батуєва – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, batuyeva96@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-2532-7141>

Вступ

Проблема дослідження механізмів регуляції фотоморфогенезу рослин є актуальною в сучасній фітофізіології. Світло не тільки головне енергетичне джерело для фотосинтезу рослин, воно також є джерелом інформації для регулювання процесів фотоморфогенезу рослинного організму. Відомо, що рослини сприймають світловий сигнал за допомогою п'яти фоторецепторних систем: кріптохромів, фототропінів, F-box-білків, рецепторів UV-B світла, а також системи фітохромів, які є сенсорами червоного (ЧС) і далеко-червоного (ДЧС) світла (Войцеховская, 2019; Авксентьева и др., 2013; Quail, 2010). Інтеграція цих систем дозволяє рослинному організму отримувати інформацію про інтенсивність освітлення, його спектральний склад, тривалість світлового дня, а також навіть про температуру оточуючого середовища, присутність патогенів, сусідів-конкурентів та іншу інформацію (Войцеховская, 2019). Рослина, сприймаючи світло шляхом фоторецепції, синхронізує фактори довкілля з внутрішніми фізіолого-біохімічними процесами, що призводить до зміни перебігу процесів росту та розвитку рослин.

Головним фоторецепторним комплексом рослин є система фітохромів (Синецкоков, 2013). На сьогодні досить детально досліджені фізико-хімічні властивості фітохромів (Quail, 2010),

встановлені структура молекул та механізми їх фотоконверсії (Кулаєва, 2001), виявлені різні форми фітохромів – Phy A-E (Franklin, Quail, 2010), їх локалізація в клітині, перебіг біосинтезу та подвійний генетичний контроль (Федоренко, Савушкін, 2006), основні молекулярні механізми трансдукції фітохромного сигналу (Смирнова і др., 2012; Casal, 2013; Franklin, Whitelam, 2005a) та його інтеграція з фітогормональним та стресовим сигналігом (Wang, Wang, 2015).

Фітохромна система контролює практично весь хід індивідуального розвитку рослин – від проростання насіння до зацвітання і плодоносіння (Kami et al., 2010). На клітинному рівні фітохромному контролю підлягають такі процеси, як транспорт речовин через плазматичну мембрану, інтенсивність руху протоплазми і окремих органел рослинних клітин, утворення різних форм РНК, кількість і фракційний склад гістонів, регуляція активності деяких ферментів, синтез хлорофілу та ін. (Синецеків, 2013; Parks, 2003). На організменному рівні досліджено так звані пролонговані ефекти фітохромів – регуляцію процесів фотосинтезу (Franklin, Whitelam, 2005b), вмісту асимілятів, біологічно активних речовин, перехід до цвітіння, спокою (Osugi et al., 2011), продуктивність рослин та ін.

Відомо, що фітохроми локалізуються практично у всіх рослинних тканинах, включаючи проростки, листки однодольних і дводольних рослин, коріння, сім'ядолі, плоди, насіння і т. д. Однак показано, що різні органи рослин концентрують різні форми фітохромів. Максимальним вмістом фітохромів А – самої нестабільної форми – характеризуються клітини меристем етіологованих проростків, в зелених органах рослин та органах, що зростають за інтенсивного освітлення, – основним є фітохром В (Кулаєва, 2001). Різноманітність (іноді протилежність) ефектів фітохромного сигналігу проявляється у рослин різних систематичних груп – одно- та дводольних; рослин, що ростуть за різних умов освітлення – тіньлюбних та світлолюбних; рослин з різною будовою насіння – дрібнонасінних та крупнонасінних (з великим запасом поживних речовин).

Трансдукція фотоперіодичного сигналу в рослинному організмі також здійснюється за участю фітохромів, які координують циркадну ритміку рослини і регулюють процес переходу до цвітіння (Феденко і др., 1999; Тоцький та ін., 2012; Osugi et al., 2011). Крім того, відомо, що у природних умовах ефекти фітохромів реалізуються через сприйняття ними певного співвідношення ЧС/ДЧС у спектрі сонячних променів (Casal, 2013; Franklin, Whitelam, 2005b). Це співвідношення закономірно змінюється протягом доби – від сходу до заходу сонця. Тобто ефекти активації фітохромів на темпи розвитку рослин, як короткоденних так і довгоденних, за природного дня залежать від співвідношення ЧС/ДЧС.

Більшість досліджень фітохромних ефектів проводились, в основному, на модельному об'єкті *Arabidopsis thaliana* (Войцеховская, 2019; Franklin, Whitelam, 2005a,b) або на інших рослинах без урахування їх фотоперіодичної реакції, що не дозволяє зробити висновки про роль фотоперіодичної реакції рослин у ефектах впливу ЧС на процеси фотоморфогенезу.

Відомо, що фітохроми проявляють істотні ефекти на морфогенез рослин, який здійснюється за рахунок поділу клітин меристем. Проліферативна активність тканин рослин визначається цілою низкою чинників – кількістю меристематичних клітин, тривалістю підготовки і протікання мітозу, рівнем синтезу ферментів, які беруть участь в реплікації, наявності сигнальних молекул, які запускають поділ та ін. (Іванов, 2011; Singh, 2016). Мітотичний індекс дозволяє оцінити рівень проліферативної активності клітинної популяції щодо впливу різноманітних факторів на ці процеси (Дмитрієва і др., 2006). Однак питання впливу активації фітохромів на проліферативні процеси рослин є мало дослідженими.

Метою роботи було дослідження ефектів активації системи фітохромів монохроматичним червоним світлом на проліферативну активність клітин кореневої меристеми та ростові процеси проростків бобових рослин, контрастних за фотоперіодичною реакцією.

Матеріали та методи дослідження

Для досягнення мети дослідження був використаний наступний методологічний підхід. Рослина реагує як система на дію будь-якого зовнішнього чинника. Виходячи з цього, фітохромну систему активували, опромінюючи червоним світлом (660 нм) надземну частину проростків, припускаючи, що фітохромний сигнал може трансдукуватися в корені. Фотоперіодична реакція рослин є однією з головних пристосувальних властивостей, яка, зокрема, реалізується і за рахунок фітохромної регуляції їх росту і розвитку, тому як модель у дослідках були обрані рослини з контрастною фотоперіодичною реакцією.

Рослинний матеріал. Як рослинний матеріал в роботі використовували представників родини Бобових (Fabaceae), контрастні за фотоперіодичною реакцією: догоденні рослини (ДДР) гороху (*Pisum sativum* L.) сорту Меценат та короткоденні рослини (КДР) сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Корсак. Досліджені сорти внесені до Державного реєстру сортів рослин України. Насіння для досліджень було надано співробітниками Інституту рослинництва імені В.Я.Юр'єва НААНУ.

Дизайн дослідження. Насіння дослідних рослин поетапно стерилізували у 15%-ному розчині гіпохлориду натрію (15 хвилин) та 70%-ному етанолі (1 хвилину) та пророщували у зволоженому фільтрувальному папері рулонним методом в термостаті за температури 24°C протягом 3-х діб. Після цього етіольовані паростки переносили у люміністат та культивували за умов освітлення 2–5 клк та температури 22–23°C. Активацію фітохромної системи проводили за раніше розробленим протоколом (Авксентьева и др., 2013), опромінюючи дослідні рослини 30 хвилин монохроматичним червоним світлом (660 нм) за допомогою LED матриці протягом 5 діб. Контрольні рослини культивували за тих самих умов, але не проводячи фітохромну активацію селективним світлом. Відбір проб для аналізу проліферативної активності та вимірювання ростової реакції проводили на 6-ту, 7-ту та 8-ту добу, для того щоб ефекти активації фітохромів та міжорганного сигналіngu в проростках встигли проявитися.

Проліферативна активність кореневих меристем. Інтенсивність поділу клітин кореневої меристеми визначали, аналізуючи мітотичний індекс (MI) за стандартною методикою (Барыкина и др., 2004). Фіксацію рослинного матеріалу – головного кореня проростків проводили у фіксаторі Кларка (96 % етиловий спирт : крижана оцтова кислота (3 : 1)) протягом 24 годин за температури 0–3°C. Надалі проводили забарвлення ацетокарміном методом гарячого гідролізу і готували давлені тимчасові мікропрепарати за стандартною методикою (Барыкина и др., 2004). Препарати аналізували за допомогою світлового мікроскопа Микромед XS-2610 при збільшенні $\times 400$, у кожному препараті проглядали не менш 5 полів зору у двох діагоналях, для кожного варіанту було проаналізовано не менше 600 клітин. Мітотичний індекс (MI) розраховували як відношення клітин, які перебували у мета-, ана- і телофазі мітозу, до загальної кількості клітин у полі зору (Барыкина и др., 2004).

Аналіз ростової реакції. Ростову реакцію аналізували за показниками лінійного росту, вимірюючи загальну довжину проростка, довжину надземної частини та коренів, та інтегральним показником ростових і біосинтетичних процесів – накопиченням біомаси проростком та його частинами. Вимірювання проводили, аналізуючи в кожному варіанті по 10–15 проростків. Швидкість ростових процесів у надземній та підземній частині проростків розраховували як відношення приросту показників лінійного росту та накопичення біомаси до тривалості експерименту.

Статистичний аналіз. Всього проведено 3 біологічні серії експериментів, статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою пакету програми Statistica 5.0. Істотність відмінностей між контрольними та дослідними варіантами визначали з використанням *t*-критерія Стьюдента за $p \leq 0,05$ (Атраментова, Утевская, 2008). В таблицях та на графіках наведені середні значення та їх стандартні похибки.

Результати та обговорення

Відомо, що в основі активації процесів росту рослинного організму на органічному рівні лежить стимуляція процесів клітинного росту, частиною якого є мітотична активність меристеми (Іванов, 2011). Зона росту коренів рослин складається з двох зон – власне меристеми, де клітини безпосередньо діляться, і зони розтягування, де клітини інтенсивно ростуть, здійснюючи специфічний тип росту «розтягуванням», характерний для рослинного організму. Незважаючи на значні розміри кореневої системи рослин, зростання кореня здійснюється саме в зоні росту, яка не перевищує одного сантиметра. Мітози – клітинні поділи – зосереджені тільки в апікальній меристематичній зоні – зоні проліферативної активності. Проліферативна активність клітин кореня тісно пов'язана з реакцією рослин на зміни навколишнього середовища, в тому числі й опромінювання селективним світлом. Будь-який неспецифічний вплив оточуючого середовища може привести до певних порушень життєдіяльності клітин, які відображаються таким показником, як мітотичний індекс (MI) (Дмитриева и др., 2006).

За результатами нашого дослідження, у ДДР гороху посівного сорту Меценат протягом досліджуваного періоду спостерігалось поступове збільшення MI (рис. 1А) з 10,3 % на 6-ту добу до 12,7 % на 8-му добу експерименту, що свідчить про активацію проліферативної активності клітин

кореневих меристем в даний онтогенетичний період. Під впливом опромінення ЧС на 6-ту та 7-му добу досліді зміни МІ в рослинах дослідного варіанту були несуттєві, а зменшення проліферативної активності клітин, порівняно з контролем, відбувалося тільки наприкінці експерименту (рис. 1А), що може свідчити про досить низьку чутливість корневих меристем довгоденної рослини гороху або якісь перешкоди на шляху трансдукції сигналу з надземної частини проростку до коренів. В цілому наприкінці експерименту спостерігалось уповільнення проліферативної активності (МІ) клітин корневих меристем за дії ЧС на 8 % відносно до контрольних рослин та зниження інтенсивності цього процесу протягом досліджуваного онтогенетичного періоду.

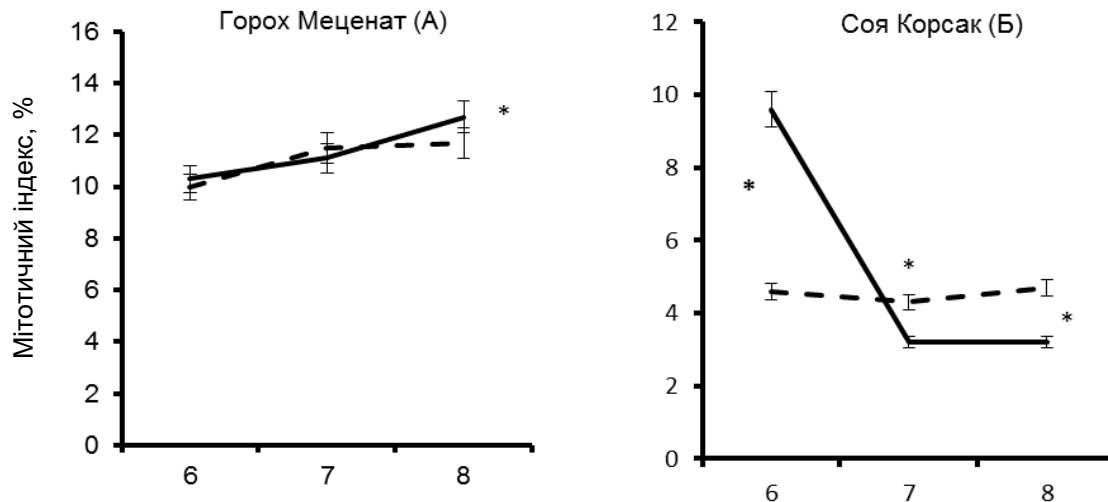


Рис. 1. Вплив опромінення червоним світлом на інтенсивність поділу клітин у апікальних меристемах коренів гороху Меценат (А) і сої Корсак (Б). Контроль ———, опромінення ЧС . - - -

Примітка: * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0,05$.

В апікальних меристемах головного кореня довгоденної рослини гороху сорту Меценат на 6–8 добу, як у контрольних, так і у дослідних проростках МІ був досить високим – 10,0–12,7 %, що свідчить про високу інтенсивність проліферації, тобто про значну кількість клітин, які заходилися на мета-, ана-, телофазах мітотичного циклу. У проростків КДР сорту Корсак МІ був значно нижчим, у порівнянні з МІ у довгоденної рослини, – 3,2–9,6 %, що, можливо, обумовлено генотиповими особливостями. Крім цього, у проростків сої спостерігалась значно менша кількість клітин, що знаходилися на різних фазах мітозу.

Протягом досліджуваного онтогенетичного періоду спостерігалось різке гальмування проліферативної активності меристематичних клітин апексу коренів у контрольних проростків сої сорту Корсак – на 6-ту добу показник МІ становив 9,6 %, а на 7-му – втричі менше – 3,2 %, на 8-му залишався на тому ж рівні – 3,2 % (рис. 1Б). Можливо, це пов'язане з періодичністю змін у інтенсивності мітотичного поділу клітин, яка характерна для рослин. Оскільки фіксацію матеріалу для аналізів проводили одночасно у контрольному і дослідному варіанті, але у дослідному варіанті не виявлено такого зниження МІ, то, вірогідно, що ЧС може викликати зміни у ритміці поділу клітин. Такі зміни за дії зовнішніх чинників можуть відбуватися за впливу, зокрема при модуляції циклу інозитом (Дмитриєва и др., 2006) та іншими екзогенними впливами. За активації фітохромної системи – опромінення ЧС (660 нм) змін протягом періоду досліді не відбувалося – МІ коливався в межах 4,3–4,7 %, тобто різкого гальмування проліферативної активності меристем не спостерігалось, можливо, це падіння відбулося раніше, тобто ще до початку вимірювань. Зниження МІ клітин досліджуваних рослин у порівнянні з контролем може свідчити про мітозомодифікуючу дію ЧС, у той час коли збільшення МІ може бути обумовлено збільшенням кількості клітин на різних стадіях мітозу або затримкою проходження клітинами мітотичних фаз через порушення структури хромосом (Singh, 2016). В цілому, на момент завершення експерименту МІ в опромінених проростках був на 32 %

вищим за показники MI в контрольних проростках короткоденної рослини сої сорту Корсак. Протягом експерименту в контрольних проростках спостерігалось значне падіння MI, в той час в дослідних – майже не відбувалось змін (рис. 1Б).

Отже, за реакцією проліферативної активності апікальних меристем у довгоденної та короткоденної рослини виявлені суттєві розбіжності: проростки довгоденної рослини гороху незначно знижують мітотичну активність за дії опромінення ЧС, а проростки короткоденної рослини, навпаки, суттєво її збільшують. Можливо, що фотоперіодична реакція рослин, яка є генетично детермінованою ознакою, може опосередковано впливати на трансдукцію фітохромного сигналу через зміни в проліферативній активності меристем. В наших попередніх дослідженнях було показано, що система генів *PPD*, яка детермінує фотоперіодичну чутливість пшениці м'якої, впливає на показники MI у корневих меристемах проростків ізогенних ліній. Лінії з довгоденною фотоперіодичною реакцією характеризувались більшими показниками MI в порівнянні з ізолініями з фотоперіодично нейтральною реакцією (Авксентьева и др., 2014).

Оскільки проліферативна активність меристем визначає процеси росту та розвитку (морфогенезу) рослин, було також досліджено вплив активації фітохромів на ростову реакцію проростків. Відомо, що ростова реакція рослинного організму на дію зовнішніх чинників проявляється у зміні лінійного росту органів. Вона також визначається і таким інтегральним показником, як накопичення структурної біомаси органу, що відображає інтенсивність біосинтетичних процесів у рослині (Іванов, 2011). Виходячи з цього, нами визначено дію червоного світла на динаміку лінійного росту надземної частини і коренів та динаміку їх біомаси. Виявлено загальну закономірність у протіканні ростових процесів у обох видів досліджених рослин, яка не залежала від варіанту досліду і їх фотоперіодичної реакції. У контрольному і у дослідному варіантах протягом досліду відбувалося поступове збільшення лінійного росту і наростання структурної біомаси рослин як надземної частини, так і коренів, що свідчить про нормальний хід росту і розвитку рослин.

Аналіз результатів визначення динаміки лінійного росту надземної частини проростків довгоденної рослини гороху Меценат показав (рис. 2А), що у рослин 6-денного віку, які вже опромінювалися червоним світлом протягом 3 діб, її довжина була меншою, ніж у контролі. Протягом наступної доби ріст надземної частини за впливу червоного світла істотно посилювався. При цьому її довжина була майже такою, як і у неопромінених рослин. Надалі – до 8-мої доби досліду – ріст надземної частини рослин у довжину гальмувався, про що свідчить менша її довжина, порівняно до контролю.

Отже, одержані дані свідчать про двофазний характер динаміки лінійного росту надземної частини довгоденної культури гороху Меценат під впливом опромінення червоним світлом – перша фаза характеризується інтенсифікацією, а друга його гальмуванням. При цьому показники довжини надземної частини за дії червоного світла були нижчими, ніж у контролі.

Визначення динаміки накопичення біомаси надземною частиною рослин гороху Меценат показало (рис. 2А), що за впливу триденного опромінення червоним світлом (рослини 6-денного віку) вона була дещо вищою, ніж у неопромінених рослин. Через добу біомаса за впливу червоного світла була такою ж, як і в контролі, а ще через добу – нижчою, порівняно до маси у неопромінених рослин. Таким чином, опромінення рослин гороху Меценат червоним світлом поступово (лінійно) гальмувало біосинтетичні процеси у надземній частині, порівняно до контролю.

Результати визначення динаміки лінійного росту надземної частини сої показали (рис. 2Б), що через три доби після опромінення червоним світлом (рослини 6-денного віку) довжина надземної частини була істотно меншою, ніж її довжина у неопромінених рослин. У рослин 7-денного віку – інтенсивність лінійного росту надземної частини за опромінення червоним світлом зростала, та її довжина ставала майже такою, як і в контрольному варіанті. У рослин 8-денного віку – лінійний ріст надземної частини за опромінення істотно гальмувався, порівняно до росту у неопромінених рослин. Загалом, показники довжини надземної частини за впливу червоного світла були меншими за показники у контролі.

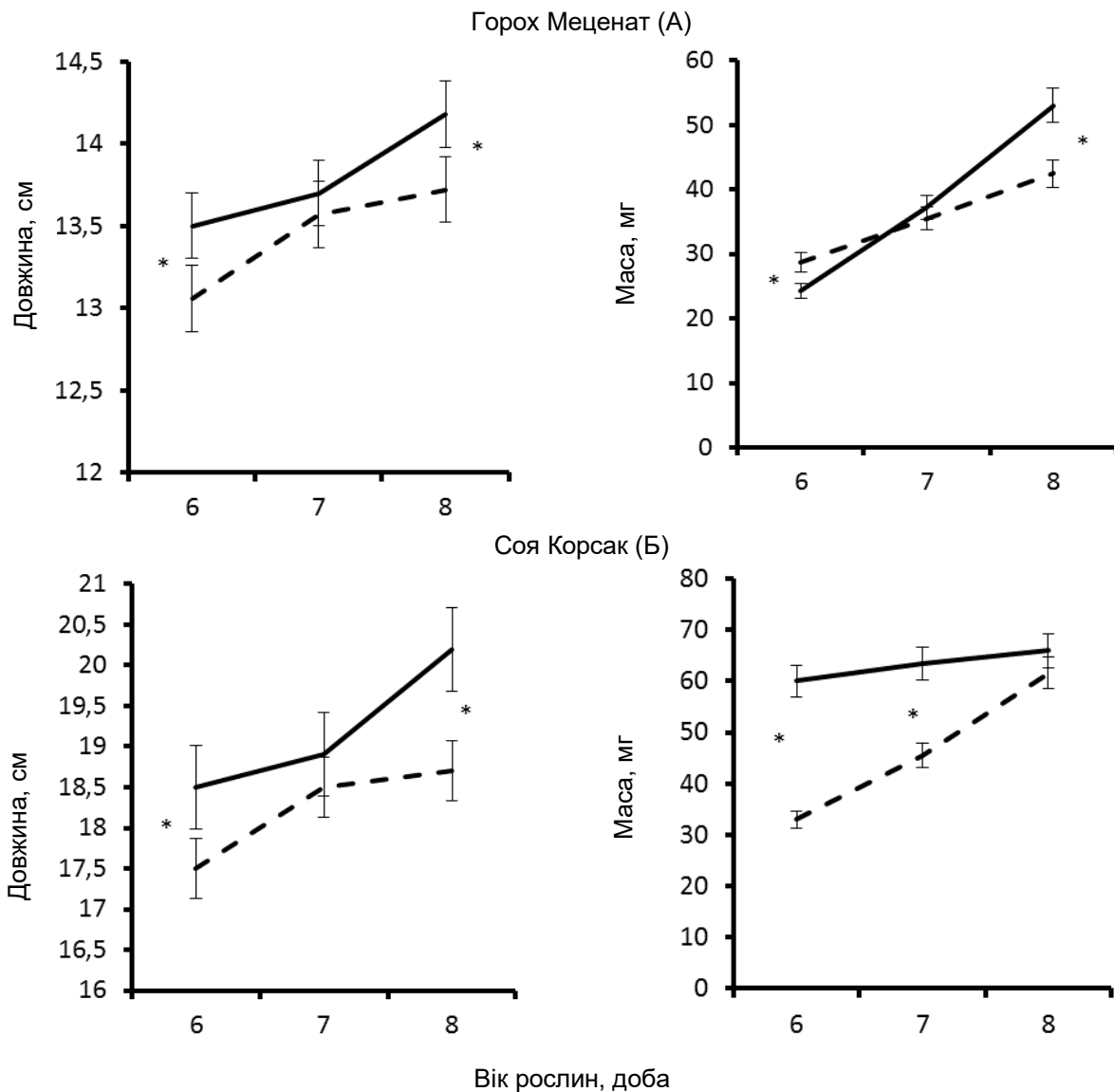


Рис. 2. Вплив опромінення червоним світлом на ростову реакцію надземної частини проростків гороху Меценат (А) і сої Корсак (Б). Контроль, — опромінення ЧС - - - -
Примітка: * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0,05$.

Щодо динаміки накопичення структурної біомаси надземної частини за дії червоного світла, то результати показали (рис. 2Б), що на третю добу опромінення (6-денні рослини) вона була майже у два рази нижчою, ніж біомаса контрольних рослин. Протягом наступних двох діб (7- і 8-денні рослини) під впливом опромінення червоним світлом біомаса надземної частини інтенсивно зростала і після закінчення дослідження була такою ж, як і біомаса неопромінених рослин. Аналіз одержаних даних свідчить, що опромінення червоним світлом обумовлювало зниження абсолютних значень показників довжини і біомаси надземної частини. Однак при цьому відбувалася інтенсифікація лінійного росту і, особливо, накопичення біомаси надземної частини у короткоденної рослини сої.

З літератури відомо, що за низької інтенсивності опромінення червоним світлом у вегетативних органах (надземній частині у наших дослідів) активується Rhy В, який задіяний у регуляції низки фізіолого-біохімічних процесів і, зокрема, росту (Casal, 2013; Franklin, Whitelam, 2005b). У підземній частині (коренях) за такої дії активується Rhy А, який бере участь у регуляції ростових процесів (Синецеків, 2013). Показано також, що різні види рослин по-різному реагують

на активацію цих фітохромів червоним світлом слабкої інтенсивності на рівні зміни морфогенетичних процесів у надземній частині і коренях (Кулаєва, 2001). З цієї точки зору для поглиблення існуючих уявлень щодо фітохромної регуляції морфогенетичних процесів у рослин різних видів з різною фотоперіодичною реакцією доцільним було вивчення ростової реакції не тільки надземної, а й підземної частини за впливу червоного світла.

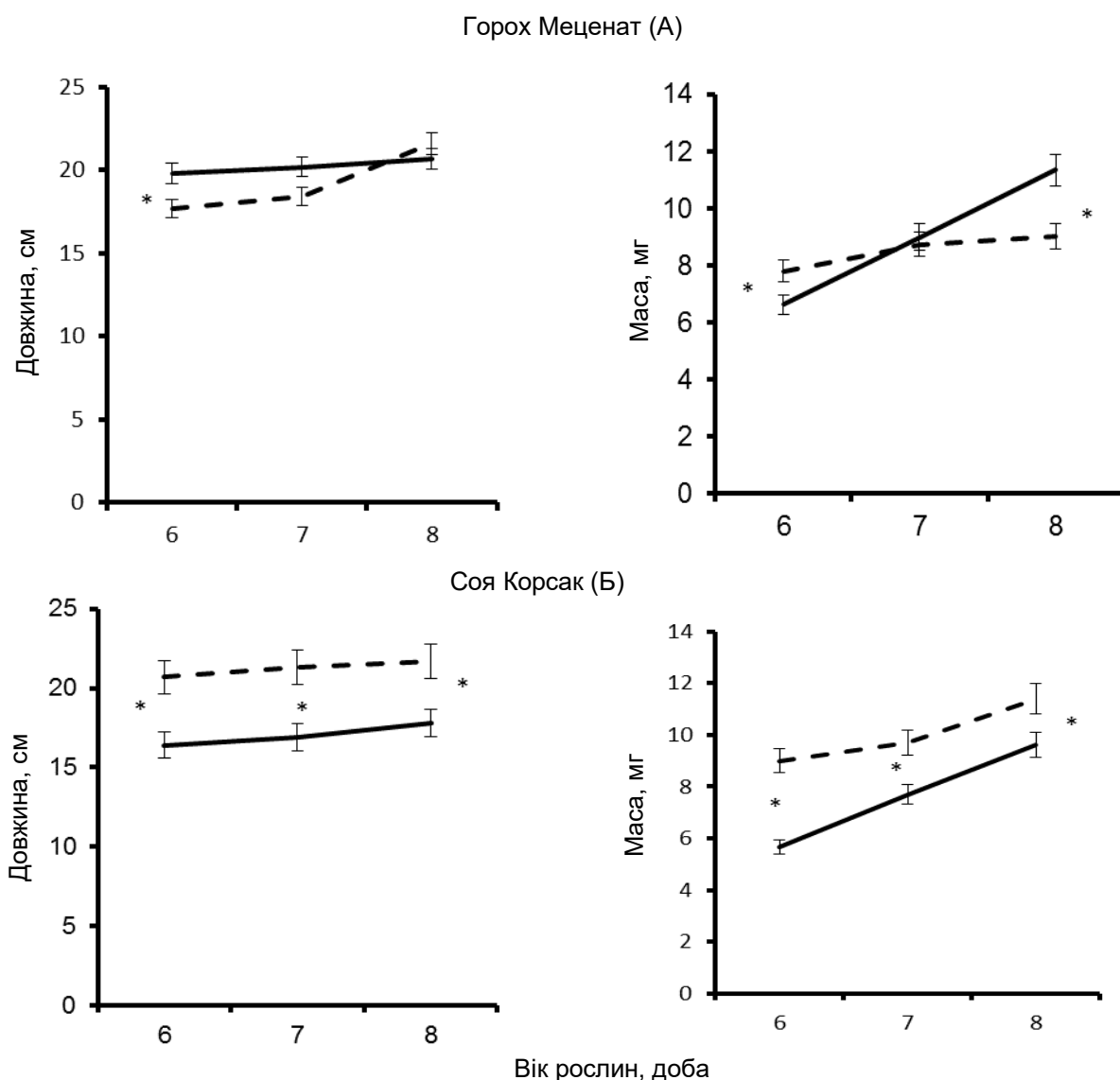


Рис. 3. Вплив опромінення червоним світлом на ростову реакцію підземної частини проростків гороху Меценат (А) і сої Корсак (Б). Контроль —————, опромінення ЧС - - - -
Примітка: * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0,05$.

Нами проведено дослідження лінійного росту і біомаси підземної частини (коренів) довгоденної рослини гороху Меценат і короткоденної рослини сої Корсак за впливу опромінення червоним світлом надземної частини. При цьому ми припускали, що активація Rhy В у надземній частині може викликати трансдукцію певних інформаційних сигналів, які, в свою чергу, можуть впливати на зміну регуляції ростових процесів у кореневій системі. Результати визначення динаміки лінійного росту коренів гороху показали (рис. 3А), що за впливу триденного опромінення, що передувало визначенню довжини кореня, у 6-денних рослин вона була меншою, ніж у контролі. Через добу вона також була меншою, а після закінчення дослідження, на 8-му добу ставала такою ж, як і

в контрольному варіанті. Динаміка накопичення біомаси коренями гороху за дії червоного світла була наступною. У 6-добових рослин після попереднього опромінення протягом трьох діб біомаса кореня була дещо вищою, ніж у контролі. Надалі, протягом наступних двох діб досліду, вона знижувалася порівняно з контролем і в кінці досліду була істотно нижчою, ніж у неопромінених рослин (рис. 3А).

Досліди із соєю сорту Корсак показали, що лінійний ріст кореня істотно залежить від опромінення червоним світлом (рис. 3Б). Протягом всього досліду під впливом червоного світла довжина кореня поступово зростала і була значно більшою, ніж у неопромінених рослин. Динаміка біомаси кореня у сої також істотно залежала від опромінення червоним світлом (рис. 3Б). Так, після трьох діб опромінення (6-денні рослини) маса кореня була значно вищою, порівняно з масою у контролі. Надалі, за дії червоного світла відбувалося її зростання у рослин 7- і 8-денного віку при значно вищому рівні відносно маси контрольних рослин.

Таким чином, у ДДР гороху Меценат опромінення червоним світлом надземної частини викликало незначне зниження лінійного росту і накопичення біомаси коренями. В той же час у КДР сої Корсак за опромінення червоним світлом надземної частини істотно зростала інтенсивність лінійного росту кореня і накопичення його біомаси. Отже, рослини з контрастною фотоперіодичною реакцією до певної міри відрізнялися за ростовою реакцією коренів на опромінення червоним світлом надземної частини. Можливо, що це може бути пов'язаним з відмінностями між довгоденними і короткоденними рослинами за характером та інтенсивністю метаболічних та фітогормональних процесів.

Таблиця.

Швидкість лінійного росту і накопичення біомаси проростками рослин, контрастних за фотоперіодичною реакцією

Варіант	Надземна частина		Корені	
	Швидкість лінійного росту і накопичення біомаси			
	Ріст, см/доба	Біомаса, мг/доба	Ріст, см/доба	Біомаса, мг/доба
Горох сорт Меценат (ДДР)				
Контроль	0,23	9,57	0,32	1,57
Опромінення ЧС	0,22	4,60*	1,30*	0,41*
Соя сорт Корсак (КДР)				
Контроль	0,58	2,00	0,45	1,31
Опромінення ЧС	0,39*	9,53*	0,35*	0,80*

Примітка: * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0,05$.

Зіставлення одержаних нами результатів і даних літератури (Casal, 2013; Wang, Wang, 2015) дає підставу припустити, що активація Rhu B у надземній частині (вегетативних органах) може виступати у якості сигналу, котрий здатен запускати механізми, пов'язані з регуляцією ростових процесів у кореневій системі. Літературні дані свідчать, що у якості такого сигналу, який виникає за активації Rhu B у листках і трансдукується до коренів, можуть виступати фітогормони, зокрема ауксини і цитокиніни (Творогова и др., 2012). Як відомо, ці фітогормони задіяні у регуляції ростових процесів – цитокиніни забезпечують регуляцію інтенсивності поділу клітин, в той час як ауксини – ріст «розтягненням» (Іванов, 2011). Показано, що активація системи фітохромів пов'язана з гормональним сигналінгом у рослин (Wang, Wang, 2015).

Не виключено також, що фітохромна регуляція ростових процесів може здійснюватися за рахунок зміни інтенсивності і характеру метаболічних процесів під впливом активних форм фітохромів. Зокрема показано, що активація фітохромів викликає зміни в інтенсивності обміну вуглеводів, які посилюють ростові процеси (Щоголев, Жмурко, 2015). У результаті цього може змінюватися рівень забезпечення процесів росту пластичним та енергетичним матеріалом, від якого може залежати його прискорення або гальмування.

Виявлена нами протилежна спрямованість ростової реакції надземної частини і коренів у відповідь на дію червоного світла в обох досліджуваних рослин, вірогідно, пов'язана з тим, що у вегетативних органах (у наших дослідах надземна частина проростка), які піддавалися впливу

червоного світла, переважає функціонування Rhy B, в той час як у коренях – основної серед форм фітохромів – фотолабільного Rhy A (Войцеховская, 2019).

Вагомим показником інтенсивності протікання ростових процесів є накопичення структурної біомаси за одиницю часу, який відображує «продуктивність» біосинтетичних процесів. З цієї точки зору доцільним було визначення цього показника для лінійного росту і накопичення біомаси надземною частиною і коренями досліджуваних рослин за дії червоного світла. Розрахунки показали, що під впливом опромінення червоним світлом у ДДР гороху Меценат швидкість лінійного росту надземної частини практично не змінювалася, а накопичення біомаси знижувалася приблизно удвічі (табл.). Швидкість лінійного росту коренів у цієї рослини за впливу червоного світла зростала майже в чотири рази, в той час як накопичення біомаси, навпаки, знижувалася майже втричі (табл.). У КДР сої Корсак за опромінення червоним світлом швидкість лінійного росту надземної частини знижувалася вдвічі, а накопичення біомаси, навпаки, зростало приблизно в чотири рази (табл.). Щодо швидкості лінійного росту коренів і накопичення біомаси у цієї рослини, то вона істотно знижувалася за впливу червоного світла (табл.). Таким чином, опромінення червоним світлом, за одним винятком, істотно впливало на швидкість ростових процесів як у надземній частині, так і у коренях обох досліджуваних рослин.

При цьому швидкість ростових процесів у надземній частині за дії червоного світла у гороху і сої була різноспрямованою. Те ж саме проявлялося і у зміні швидкості лінійного росту коренів, але зміна швидкості накопичення біомаси коренями була у обох рослин односпрямованою.

Узагальнення

Аналіз власних результатів та літературних даних дозволяє висловити попередні узагальнення щодо ефектів активації системи фітохромів на ростові процеси у рослин з контрастною фотоперіодичною реакцією. Одержані результати свідчать, що довгоденна рослина горох, сорт Меценат і короткоденна рослина соя, сорт Корсак відрізняються за характером проліферативної активності кореневих меристем та ростової реакції як надземної частини, так і коренів у відповідь на активацію системи фітохромів червоним світлом (660 нм). З літератури відомо, що система фітохромів грає вагомую роль у сприйнятті фотоперіодичного сигналу, ефект якого на ріст і розвиток по-різному реалізується у довгоденних та короткоденних рослин. Тому, можливо, що ці рослини різняться за складом фітохромів і, відповідно, за характером реакції на їх активацію. Оскільки у наших досліджах активація фітохромів відбувалася у надземній частині рослин, а зміни у характері проліферативної активності та ростових процесів проявлялися у коренях, то вірогідно, що вони могли бути викликані трансдукцією фітохромного сигналу до кореневої системи. Вірогідно, що цей сигнал реалізується за рахунок зв'язку фітогормонального та фітохромного сигналіну. У ньому може бути задіяний фітогормон ауксин, який, як відомо, є провідним у регуляції ростових процесів та полярно транспортується з надземної частини до коренів рослин.

Робота виконана в рамках науково-дослідної теми «Дослідження молекулярно-генетичних та фізіолого-біохімічних механізмів яровизаційного та фотоперіодичного контролю онтогенезу рослин in vivo та in vitro» № Держреєстрації 0118U 002104.

Список літератури / References

- Авксентьева О.А., Жмурко В.В., Петренко В.А. и др. (2013). Фитохромная и криптохромная регуляция фотоморфогенеза в культуре *in vitro*. *Известия академии наук Молдовы. Науки о жизни*, 3(321), 72–78. [Avksentieva O.A., Zhmurko V.V., Petrenko V.A. et al. (2013). Phytochrome and cryptochrome regulation of photomorphogenesis *in vitro* culture. *News of the Academy of Sciences of Moldova. Life sciences*, 3(321), 72–78.]
- Авксентьева О.А., Москалев В.Б., Ковалёв В.В. (2014). Пролиферативная активность меристем и рост корней изогенных по генам *PPD* линий пшеницы / The 1st International Academic Conference “Science and Education in Australia, America and Eurasia: Fundamental and Applied Science”: papers and commentaries. Melbourne IADCES Press. Vol.1, pp. 585–588. [Avksentieva O.A., Moskalev V.B., Kovalev V.V. (2014). Proliferative activity of meristems and root growth of wheat line *PPD* isogenic genes. *The 1st International Academic Conference “Science and Education in Australia, America and Eurasia: Fundamental and Applied Science”*: papers and commentaries. Melbourne IADCES Press. Vol.1, pp. 585–588.]

- Атраментова Л.А., Утевская О.М. (2008). Статистические методы в биологии. Горловка: Ліхтар. 248 с. [Atramentova L.A., Utevskaia O.M. (2008). *Statistical methods in biology*. Gorlovka: Likhtar. 248 p.]
- Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятков А.Г. и др. (2004). Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М.: Изд-во МГУ. 312 с. [Barykina R.P., Veselova T.D., Devyatkov A.G. et al. (2004). *Handbook for botanical microtechnology. Principles and methods*. Moscow: Publishing House of MSU. 312 p.]
- Войцеховская О.В. (2019). Фитохромы и другие (фото)рецепторы информации у растений. *Физиология растений*, 66(3), 163–177. [Voitsekhovskaja O.V. (2019). Phytochromes and other (photo)receptors of information in plants. *Russ. J. Plant Physiol.*, 66, 351–364. <https://doi.org/10.1134/S1021443719030154>]
- Дмитриева С.А., Минибаева Ф.В., Гордон Л.Х. (2006). Митотический индекс меристематических клеток и рост корней *Pisum sativum* зависит от модуляторов цикла инозита. *Цитология*, 48(6), 475–479. [Dmitrieva S.A., Minibaeva F.V., Gordon L.K. (2006). Mitotic index of meristematic cells and root growth of *Pisum sativum* is affected by inositol cycle modulators. *Tsitologija*, 48(6), 475–479.]
- Иванов В.Б. (2011). Клеточные механизмы роста растений. М.: Наука. 104 с. [Ivanov V.B. (2011). *Cellular mechanisms of plant growth*. Moscow: Nauka. 104 p.]
- Кулаева О.Н. (2001). Как свет регулирует жизнь растений. *Соросовский образовательный журнал*, 7, 6–12. [Kulayeva O.N. (2001). How light regulates plant life. *Soros Educational Journal*, 7, 6–12.]
- Синешчиков В.А. (2013). Фитохром А: полиморфизм и функциональность. Москва: Научный мир. 162 с. [Sineshchikov V.A. (2013). *Phytochrome A: polymorphism and functionality*. Moscow: Scientific World. 162 p.]
- Смирнова О.Г., Степаненко И.Л., Шумный В.К. (2012). Механизм действия и регуляция активности конститутивного репрессора фотоморфогенеза COP1. *Физиология растений*, 59(2), 179–191. [Smirnova O.G., Stepanenko I.L., Shumny V.K. (2012). Mechanism of action and activity regulation of COP1, a constitutive repressor of photomorphogenesis. *Russ. J. Plant. Physiol.*, 59, 155–166. <https://doi.org/10.1134/S102144371202015X>]
- Творогова В.Е., Осипова М.А., Додуева И.Е., Лутова Л.А. (2012). Взаимодействие транскрипционных факторов и фитогормонов в регуляции активности меристем у растений. *Экологическая генетика*, 10(3), 28–40. [Tvorogova V.Ye., Osipova M.A., Dodueva I.Ye., Lutova L.A. (2012). The interaction of transcription factors and phytohormones in the regulation of the activity of meristems in plants. *Ecological Genetics*, 10(3), 28–40.]
- Тоцький В.М., Дьяченко Л.Ф., Мутерко О.Ф. та ін. (2012). Генетична детермінація та функція RR-білків – регуляторів фотоперіодичних реакцій і циркадних ритмів у рослин. *Цитология и генетика*, 46(5), 72–91. [Totskii V.M., Dyachenko L.F., Muterko O.F. et al. (2012). Genetic determination and function of RR proteins, regulators of photoperiodic reactions, and circadian rhythms in plants. *Cytol. Genet.*, 46, 319–334. <https://doi.org/10.3103/S009545271205009X>]
- Феденко Е.П., Агамалова С.Р., Кокшарова Т.А. (1999). Передача фитохромного сигнала и фотопериодизм. *Успехи современной биологии*, 119(1), 56–69. [Fedenko E.P., Agamalova S.R., Koksharova T.A. (1999). Transmission of the phytochrome signal and photoperiodism. *Usp. Sovrem. Biol.*, 119(1), 56–69.]
- Федоренко О.М., Савушкин А.И. (2006). Генетические аспекты фитохромной регуляции процессов фотоморфогенеза у высших растений. *Успехи современной биологии*, 126(2), 201–212. [Fedorenko O.M., Savushkin A.I. (2006). Genetic aspects of phytochrome regulation of photomorphogenesis processes in higher plants. *Usp. Sovrem. Biol.*, 126(2), 201–212.]
- Шоголев А.С., Жмурко В.В. (2015). Ростові процеси томатів (*Lycopersicon esculentum* Mill.) незахищеного ґрунту за регуляції активності фітохромів у розсаді. *Физиология растений и генетика*, 47(3), 260–267. [Schogolev A.S., Zhmurko V.V. (2015). Growth of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in field upon regulation of phytochrome activity in seedlings. *Plant Physiology and Genetics*, 47(3), 208–215.]
- Casal J.J. (2013). Photoreceptor signaling networks in plant response to shade. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 64, 403–427. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120221>
- Franklin K.A., Quail P.H. (2010). Phytochrome functions in *Arabidopsis* development. *J. Exp. Botany*, 61, 11–24. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp304>
- Franklin K.A., Whitelam G.C. (2005a). The signal transducing photoreceptors of plants. *Int. J. Dev. Biol.*, 49, 653–664. <https://doi.org/10.1387/ijdb.051989f>
- Franklin K.A., Whitelam G.C. (2005b). Phytochromes and shade-avoidance responses in plants. *Ann Bot.*, 96(2), 169–175. <https://doi.org/10.1093/aob/mci165>

- Kami C., Lorrain S., Hornittshek P., Fankhauser C. (2010). Light-regulation plant growth and development. *Curr. Top. Dev. Biol.*, 91, 29–66. [https://doi.org/10.1016/S0070-2153\(10\)91002-8](https://doi.org/10.1016/S0070-2153(10)91002-8)
- Osugi A., Itoh H., Ikeda-Kawakatsu K. et al. (2011). Molecular dissection of the roles of phytochrome in photoperiodic flowering in rice. *Plant Physiology*, 157, 1128–1137. <https://doi.org/10.1104/pp.111.181792>
- Parks B.M. (2003). The red side of photomorphogenesis. *Plant Physiology*, 133, 1437–1444. <https://doi.org/10.1104/pp.103.029702>
- Quail P.H. (2010). Phytochromes. *Current Biology*, 20(12), R504–R507. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.04.014>
- Singh R.J. (2016). *Plant cytogenetics*. CRC PRESS. 528 p.
- Wang H., Wang H. (2015). Phytochrome signaling: time to tighten up the loose ends. *Molecular Plant*, 8, 540–551. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.021>

The effect of red light (660 nm) on proliferative activity and growth reactions in seedlings of plants with contrast photoperiodic reaction

O.A. Avksentieva, E.D. Batueva

The results of a study of the effect of red light irradiation (660 nm) on the proliferative activity of root meristems and growth reactions of plant seedlings with contrast photoperiodic reactions are presented in this paper. Plants of the family Fabaceae contrasting in the photoperiodic reaction were used as plant material: long-day plants (LDP) of peas (*Pisum sativum* L.) of the Metsenat variety and short-day plants (SDP) of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) of the Korsak variety. Phytochromes were activated by irradiating the aerial part of the experimental seedlings with monochromatic red light (RL) of 660 nm using an LED matrix for 30 minutes for 5 days. The proliferative activity of meristem cells was determined by analysis of the mitotic index (MI). The growth reaction was studied by linear growth indicators: the total length of the seedling, the length of the aerial part and roots, and the integral indicator of growth and biosynthetic processes – the accumulation of biomass. According to the results of the experiments, it was shown that the mitotic activity of root meristems under the influence of red light on the aerial part in seedlings of the LDP of pea Metsenat decreased slightly – by 8 %, and in the seedlings of the SDP of soybean Korsak increased significantly – by 47 %. The linear growth and accumulation of biomass in the aerial part under the action of RL irradiation in seedlings of pea of the Metsenat variety and soybean of the Korsak variety decreased, and this effect was more pronounced in soybean than in pea. During irradiation of RL the linear root growth and their biomass accumulation in seedlings of LDP pea decreased slightly, while at the same time, these processes in the roots of soybean SDP seedlings were significantly stimulated. Under the influence of RL in pea seedlings, the growth rate did not change in the length of the aerial part, but in the roots increased, while the rate of biomass accumulation by them decreased. In soybean seedlings during RL irradiation, the growth rate of both the aerial part and the roots decreased, the biomass accumulation rate by the aerial part increased, and by the roots – decreased. LDP of pea Metsenat and SDP of soybean Korsak variety differ in the nature of the reaction of growth processes in response to irradiation of RL. The activation of the phytochrome system in the aerial part causes changes in the proliferative activity and growth processes of the roots, which indicate a systemic response of the plant organism to the action of this factor. The relationship of the photoperiodic reaction of plants with the realization of phytochrome signal in the plant by activating or inhibiting the proliferative activity of root meristems and growth reactions is discussed.

Key words: *Pisum sativum* L., *Glycine max* (L.) Merr., phytochrome system, red light (660 nm), photoperiodic reaction, mitotic index, growth reaction.

About the authors:

O.A. Avksentieva – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, avksentyeva@karazin.ua, <http://orcid.org/0000-0002-3274-3410>
E.D. Batueva – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, batueva96@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-2532-7141>

Влияние красного света (660 нм) на пролиферативную активность и ростовые реакции у проростков растений с контрастной фотопериодической реакцией

О.А. Авксентьева, Е.Д. Батуева

В работе представлены результаты исследования влияния облучения красным светом (660 нм) на пролиферативную активность корневых меристем и ростовые реакции проростков растений с контрастной фотопериодической реакцией. Как растительный материал в работе использовали представителей семейства бобовых (Fabaceae), контрастных по фотопериодической реакции: длиннодневные растения (ДДР) гороха (*Pisum sativum* L.) сорта Меценат и короткодневные растения (КДР) сои (*Glycine max* (L.) Merr.) сорта

Корсак. Активацию фитохромов проводили, облучая надземную часть опытных проростков монохроматическим красным светом (КС) 660 нм с использованием LED матрицы по 30 минут в течение 5 суток. Проллиферативную активность клеток меристем определяли по анализу митотического индекса (МИ). Ростовую реакцию исследовали по показателям линейного роста: общей длине проростка, длине надземной части и корней и интегральному показателю ростовых и биосинтетических процессов – накоплению биомассы. По результатам экспериментов показано, что митотическая активность корневых меристем под влиянием облучения красным светом надземной части в проростках ДДР гороха Меценат незначительно снижалась – на 8 %, а в проростках КДР сои Корсак возрастала существенно – на 47 %. Линейный рост и накопление биомассы в надземной части при действии облучения КС в проростках гороха сорта Меценат и сои сорта Корсак уменьшались, причем у сои этот эффект был выражен существенно, чем у гороха. При облучении КС линейный рост корней и накопление ими биомассы в проростках ДДР гороха незначительно снижались, в то же время эти процессы в корнях проростков КДР сои существенно стимулировались. Под влиянием КС в проростках гороха скорость роста в длину надземной части не изменялась, а корней – возрастала, в то время как скорость накопления ими биомассы снижалась. В проростках сои при облучении КС скорость роста как надземной части, так и корней снижалась, скорость накопления биомассы надземной частью возрастала, а корнями – снижалась. ДДР гороха Меценат и КДР сои Корсак отличаются по характеру реакции ростовых процессов в ответ на облучение КС. Активация системы фитохромов в надземной части вызывает изменения пролиферативной активности и ростовых процессов корней, что может свидетельствовать о системности ответов растительного организма на действие этого фактора. Обсуждается связь фотопериодической реакции растений с реализацией фитохромного сигналинга в растительном организме путем активации или ингибирования пролиферативной активности корневых меристем и ростовых реакций.

Ключевые слова: *Pisum sativum L., Glycine max (L.) Merr., фитохромная система, красный свет (660 нм), фотопериодическая реакция, митотический индекс, ростовая реакция.*

Об авторах:

О.А. Авксентьева – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, avksentyeva@karazin.ua, <http://orcid.org/0000-0002-3274-3410>

Е.Д. Батуева – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, batuyeva96@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-2532-7141>

Представлено: В.М.Попов / Presented by: V.M.Popov

Рецензент: Г.О.Прядкіна / Reviewer: G.O.Pryadkina

Подано до редакції / Received: 14.04.2020