

ГРИЦАК Л. Р. ✉, ГЕРЦ А. І., ГЕРЦ Н. В., ДРОБИК Н. М.

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка,

Україна, 46027, м. Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2,

✉ hrytsak1972@gmail.com, +38(067) 453-94-19

ВИКОРИСТАННЯ ІНДУКЦІЇ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ ХЛОРОФІЛУ ДЛЯ ОЦІНКИ ФУНКЦІОНУВАННЯ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО АПАРАТУ РОСЛИН *GENTIANA LUTEA* L. ЗА РІЗНИХ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ *IN VITRO*

Мета. Вивчити особливості функціонування фотосинтетичного апарату рослин *in vitro* *Gentiana lutea* L. за різних умов освітлення та джерела карбону у складі живильного середовища за допомогою методу індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ). **Методи.** Флуоресценцію хлорофілу визначали у світлоадаптованих листках культивованих *in vitro* рослин *G. lutea* за допомогою РАМ флуориметра MultispeQ. Оцінювали зміну параметрів функціонування фотосинтетичного апарату культивованих *in vitro* рослин залежно від умов світлового режиму (1 варіант – 85 Вт/м², спектральний склад за співвідношення хвиль синього діапазону (Ес) : хвиль зеленого діапазону (Ез) : хвиль червоного діапазону (Еч) = 33% : 42% : 25%; 2 варіант – 100 Вт/м², спектральний склад: Ес : Ез : Еч = 25% : 27% : 48%) та джерела карбону (10 г/л сахарози або 3 г/л маніту) у складі живильного середовища МС/2 (середовище МС з половинним вмістом макро- та мікроелей), доповненого 0,1 мг/л кінетину. **Результати.** Встановлено, що у рослин *in vitro* *G. lutea*, що протягом 90 діб культивувалися за світлових умов 2 варіанту, квантовий вихід ФС II підвищується на 8,3 % порівняно із особинами *G. lutea*, які вирощували за умов 1 варіанту освітлення. Показник життєздатності у рослин із 2 варіанту підвищується на 23 %. Заміна джерела карбону у складі живильного середовища із сахарози (10 г/л) на маніт (3 г/л) не лише підвищує ефективність функціонування фотосинтетичного апарату у культивованих *in vitro* рослин *G. lutea*, але й активізує у них механізми стійкості до водного дефіциту. **Висновки.** Застосування методу ІФХ показало, що функціонування фотосинтетичного апарату *in vitro* рослин *G. lutea* залежить як від умов освітлення, так й джерела карбону у складі живильного середовища.

Ключові слова: індукція флуоресценції хлорофілу а, рослини *in vitro*, *Gentiana lutea* L.

До загальноприйнятих індикаторів стану рослин належить зміна ефективності первинних

процесів фотосинтезу. Значення цього показника визначається як важливістю фотосинтетичної функції у житті рослини, так і високою чутливістю асиміляційного апарату до ушкоджуючих впливів. Порушення в первинних процесах фотосинтезу позначаються на зміні флуоресценції хлорофілу а і з'являються задовго до видимих погіршень фізіологічного стану рослин. Це пояснюється тим, що поглинута світлова енергія, яка використовується для фотосинтезу, розсіюється через виділення тепла і ре-емісію малих, але діагностично важливих доз поглинутого випромінювання у вигляді світлових хвиль червоного та інфрачервоного діапазонів. Таку ре-емісію світла, яку називають індукцією флуоресценції хлорофілу (ІФХ), широко використовують у сучасних дослідженнях фотосинтетичних процесів, оскільки вона є дієвим методом визначення функціонального стану рослинних об'єктів [1].

В останнє десятиліття цей метод почали застосовувати й для рослин, що культивуються в умовах *in vitro*, оскільки ІФХ дозволяє оцінити ступінь залежності фотосинтетичних процесів від наявності/відсутності речовин-осмолітів у складі живильного середовища, їх концентрації, вмісту макро- та мікроелементів, інтенсивності світлового потоку в області фотосинтетично активної радіації (ФАР) тощо [2]. Крім того, цей метод часто пропонують використовувати для оцінки швидкості акліматизації отриманого біотехнологічними методами рослинного посадкового матеріалу до умов *ex vitro* [3]. Виходячи із вище зазначеного, мета роботи полягала у вивченні особливостей функціонування фотосинтетичного апарату *in vitro* рослин *Gentiana lutea* L. за різних умов освітлення та джерела карбону у складі живильного середовища за допомогою методу ІФХ.

Флуоресценцію хлорофілу визначали у світлоадаптованих листках культивованих *in vitro* рослин *G. lutea* за допомогою РАМ флуориметра MultispeQ, що поєднує в собі портативний флуориметр і хлорофілометр, інтегрований у платформу PhotosynQ [4]. Для експерименту було відіб-

рано по 10 вихідних, отриманих шляхом про-рошування *in vitro* насіння рослин *G. lutea* з двох популяцій (г. Пожижевська, хр. Черногора, Надвірнянський р-н, Івано-Франківська обл., 1427 м н.р.м), г.г. Шешул–Павлик (хр. Черногора, Рахівський р-н, Закарпатська обл., 1627 м н.р.м). Рослини мікроклонально розмножували для отримання потрібної для дослідження кількості рослинного матеріалу.

Для з'ясування впливу інтенсивності освітлення та спектрів випромінювання на функціонування фотосинтетичного апарату культивованих *in vitro* рослин було проаналізовано 2 варіанти корекції світлового режиму (СК) культуральної кімнати: за використання люмінесцентних ламп Lumilux 36W 840 холодного білого світла (ЛХБ) (спектральний склад в області ФАР: 12,80 % – 400–450 нм, 20,1 % – 450–500 нм, 12,3 % – 500–550 нм, 29,7 % – 550–600 нм, 20,2 % – 600–650 нм, 4,9 % – 650–700 нм) та фітоламп Fluora L 36W/77 G13 (ФЛ) зі спектральним складом: 15,50 % – 400–450 нм, 3,7 % – 450–500 нм, 7,4 % – 500–550 нм, 9,6 % – 550–600 нм, 59,9 % – 600–650 нм, 3,9 % – 650–700 нм фірми «Osram» (Німеччина), а саме: 1 варіант – лампи ЛХБ, інтенсивність світлового потоку в області ФАР 85 Вт/м², сумарний спектральний склад: хвилі синього діапазону (Ес) : хвилі зеленого діапазону (Ез) : хвилі червоного діапазону (Еч) = 33% : 42% : 25%; 2 варіант – лампи ЛХБ і ФЛ у співвідношенні 1 : 1, інтенсивність світлового потоку в області ФАР 100 Вт/м², спектральний склад: Ес : Ез : Еч = 25% : 27% : 48%.

У кожному із 2 варіантів СК використовували по 40 рослин – по 20 з кожної із двох популяцій. Інтенсивність світлового потоку в області ФАР розраховували згідно із «Нормами технологічного проектування теплиць і тепличних комбінатів для вирощування овочів та розсади НТП10-95», за формулою:

$$N = \frac{SW}{W_l},$$

де N – кількість ламп, шт; S – площа приміщення, м²; W – питома потужність освітленості, Вт/м²; W_л – питома потужність лампи в області ФАР, Вт [5].

Поряд із корекцією світлового режиму, оцінювали вплив на функціонування асиміляційного апарату джерела карбону (10 г/л сахарози або 3 г/л маніту) у складі живильного середовища МС/2 (середовище МС [6] з половинним

вмістом макро- та мікроросолей), доповнених 0,1 мг/л кінетину.

Визначали такі параметри ІФХ: F_o' – мінімальний рівень флуоресценції адаптованих до світла листків; F_m' – максимальний рівень флуоресценції адаптованих до світла листків; Φ_{PSI} – ефективний квантовий вихід фотосистеми II (ФС II); F_v'/F_m' – ефективність «відкритих» реакційних центрів (РЦ) на світлі; NPQ_t – рівень нефотохімічного гасіння; F_s – стаціонарний рівень флуоресценції; q_L – частка РЦ ФС II, що знаходяться у «відкритому стані»; φ_{NO} – частка світла, що отримується рослиною, котра втрачається через нерегульовані процеси, побічні продукти яких інгібують фотосинтез або є шкідливими; φ_{NPQ} – частка світла, що отримується рослиною, але розсіюється у вигляді тепла через нефотохімічне гасіння; LEF – лінійний електронний транспорт у межах світлозбирального комплексу (ССК) ФС II; qP – фотохімічне гасіння хлорофілу; Rfd – індекс життєздатності. При цьому, було прийнято положення, що сума квантових виходів трьох основних процесів, що беруть участь у реалізації енергії квантів світла – Φ_{PSII} , φ_{NPQ} і φ_{NO} , дорівнює одиниці [1]. Параметри ІФХ однієї рослини визначали як середньоарифметичне із 5 визначень, а за вибіркою – вказували усереднені дані 10 рослинам та наводили стандартні відхилення.

Аналіз результатів впливу світлових режимів культивування на функціонування фотосинтетичного апарату *in vitro* рослин *G. lutea* показав, що ефективність роботи ФС II в умовах освітлення є вищою (табл.). За таких світлових умов нижчими на 16 % були втрати світла на теплову дисипацію (φ_{NPQ}) та на 6,5 % – на нерегульовані процеси (φ_{NO}), що підвищувало й ефективність флуоресценції «відкритих» реакційних центрів на світлі (F_v'/F_m') та ефективність квантового виходу ФС II (на 8,3 %) порівняно з рослинами, що вирощувалися за світлового режиму 1 варіанту СК. Проте, показники відносного хлорофілу були, навпаки, вищими у 1,6 раза у рослин, які культивували за 1 варіанту СК. Існуючу, на перший погляд, невідповідність між високим вмістом хлорофілів у рослин 1 варіанту СК і нижчою ефективністю роботою їхньої ФС II і, навпаки, нижчий вміст хлорофілів і вищі показники ефективності квантового виходу ФС II у рослин, що культивували за 2 варіанту СК, ймовірно, можна пояснити таким чином:

Таблиця 1

Зміна флуоресценції хлорофілу залежно від світлових умов культивування *in vitro* рослин *G. lutea* та джерела карбону у складі живильного середовища MC/2, n = 20, x ± SD

Умови освітлення	Популяція	LEF	NPQt	Φ_{PSII}	ϕNO	ϕNPQ	Relative Chlorophyll	Fm'	Fo'	Fs	Fv/Fm'	qL	qP	Rfd
Джерело карбону: сахароза														
1 варіант	г.г. Шешуль-Павлик	8,41 ± 0,40	1,55 ± 0,23	0,59 ± 0,03	0,16 ± 0,01	0,25 ± 0,03	13,57 ± 1,66	1710,4 ± 27,0	587,2 ± 81,5	700,6 ± 89,2	0,66 ± 0,02	0,77 ± 0,05	0,9 ± 0,02	1,44 ± 0,03
	г. Пожизька	8,89 ± 0,35	1,67 ± 0,04	0,60 ± 0,002	0,15 ± 0,002	0,002	15,02 ± 3,79	1687,9 ± 84,8	595,8 ± 27,6	675,0 ± 34,2	0,65 ± 0,002	0,82 ± 0,01	0,93	1,5
Середнє		8,65 ± 0,24	1,61 ± 0,06	0,60 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,25 ± 0,01	14,3 ± 0,73	1699,2 ± 11,3	591,5 ± 4,3	687,8 ± 12,9	0,66 ± 0,01	0,80 ± 0,03	0,92 ± 0,02	1,47 ± 0,1
2 варіант	г.г. Шешуль-Павлик	6,34 ± 0,23	1,70 ± 0,26	0,63 ± 0,03	0,14 ± 0,003	0,23 ± 0,03	9,63 ± 0,98	1604,1 ± 149,6	571,8 ± 96,3	603,3 ± 110,5	0,65 ± 0,02	0,93 ± 0,03	0,97	1,66
	г. Пожизька	7,02 ± 0,02	1,16 ± 0,21	0,66 ± 0,02	0,16 ± 0,01	0,18 ± 0,02	8,36 ± 0,64	1644,5 ± 8,3	498,4 ± 32,2	555,2 ± 27,4	0,69 ± 0,02	0,86 ± 0,01	0,95	1,96
Середнє		6,68 ± 0,34	1,43 ± 0,27	0,65 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,21 ± 0,02	9,0 ± 0,65	1624,3 ± 20,2	535,1 ± 36,7	579,3 ± 24,1	0,67 ± 0,02	0,90 ± 0,04	0,96 ± 0,01	1,81 ± 0,2
Джерело карбону: маніт														
1 варіант	г.г. Шешуль-Павлик	9,07 ± 0,39	0,93 ± 0,11	0,68 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,16 ± 0,01	31,10 ± 82	2407,2 ± 2,24	681,3 ± 8,2	777,3 ± 2,5	0,72 ± 0,01	0,83 ± 0,03	0,94	2,1
	г. Пожизька	8,68 ± 0,23	0,90 ± 0,01	0,69 ± 0,001	0,16 ± 0,001	0,15 ± 0,001	28,54 ± 96	2335,3 ± 38,3	652,5 ± 4,5	726,2 ± 1,5	0,72 ± 0,002	0,86 ± 0,01	0,96	2,22
Середнє		8,88 ± 0,20	0,92 ± 0,02	0,69 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,15 ± 0,01	29,82 ± 3	2371,3 ± 5,9	666,9 ± 4,4	751,7 ± 2	0,72 ± 0,01	0,85 ± 0,02	0,95 ± 0,01	2,16 ± 0,1
2 варіант	г.г. Шешуль-Павлик	7,00 ± 0,27	0,86 ± 0,91	0,70 ± 0,01	0,18 ± 0,02	0,15 ± 0,01	22,85 ± 21	2226,1 ± 87,1	638,0 ± 0,8	733,8 ± 1,7	0,73 ± 0,06	0,84 ± 0,04	0,94	2,03
	г. Пожизька	6,62 ± 0,19	0,83 ± 0,02	0,69 ± 0,01	0,17 ± 0,002	0,14 ± 0,01	21,24 ± 75	2115,3 ± 83,9	573,9 ± 6,9	643,2 ± 2,9	0,73 ± 0,002	0,85 ± 0,02	0,96	2,89
Середнє		6,81 ± 0,19	0,85 ± 0,01	0,70 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,14 ± 0,01	23,55 ± 2	2170,7 ± 5,4	606,0 ± 2,1	688,5 ± 4	0,73 ± 0,01	0,85 ± 0,01	0,95 ± 0,01	2,46 ± 0,4

Примітки: Fo' – мінімальний рівень флуоресценції адаптованих до світла листків; Fm' – максимальний рівень флуоресценції адаптованих до світла листків; Φ_{PSII} – ефективний вихід фотосистеми II (ФС II); Fv/Fm' – ефективність «відкритих» реакційних центрів (РЦ) на світлі; NPQt – рівень нефотохімічного гасіння; Fs – стаціонарний рівень флуоресценції; qL – частка РЦ ФС II, що знаходяться у «відкритому стані»; ϕNO – частка світла, що отримується рослиною, котра втрачається через нерегульовані процеси, побічні продукти яких інгібують фотосинтез або є шкідливими; ϕNPQ – частка світла, що отримується рослиною, але розсіюється у вигляді тепла через нефотохімічне гасіння; Relative Chlorophyll – відносний хлорофіл; LEF – лінійний електронний транспорт у межах світлозбирального комплексу (ССК) ФС II; qP – фотохімічне гасіння хлорофілу; Rfd – індекс життєздатності.

– вміст хлорофілів впливає на спектральні властивості листка, особливо, в ділянці поглинання червоних хвиль діапазону ФАР [4]. *G. lutea* є високогірним таксоном, природні популяції якого зростають у «холодній зоні» субальпійського поясу Українських Карпат [7], Піреней та Малої Азії [8]. В Українських Карпатах протягом вегетаційного періоду кількість днів із середньодобовою температурою +15 °С не перевищує 60–70, внесок прямої радіації у сумарну є меншим 40% (1234 МДж/м²) і навіть влітку через значну хмарність не досягає середнього рівня, характерного для інших територій [9]. За таких умов освітлення у спектрі випромінювання збільшується частка синьо-фіолетових хвиль. Тому, це дозволяє припустити, що зниження концентрації хлорофілів у рослин *in vitro* тирличу жовтого за культивування в умовах 2 варіанту освітлення є компенсаторним механізмом, що дозволяє адаптуватися особинам до росту в умовах високої кількості у спектрі хвиль Еч діапазону ФАР. На користь цього припущення свідчить зафіксоване нами почервоніння листків у деяких рослин *G. lutea* через підвищення вмісту каротиноїдів та зниження, порівняно з 1 варіантом освітлення, у 1,3 раза лінійного транспорту електронів в межах ССК;

– висока інтенсивність світла та більша частка хвиль синього діапазону, порівняно із Еч у спектральному складі 1 варіанту СК, зумовлює підвищення загального вмісту пігментів, зокрема, хлорофілів [10]. Саме цим, ймовірно, можна пояснити вищий вміст хлорофілів у рослинах, які культивували за світлових умов 1 варіанту досліду. Нижчі же показники ефективності роботи ФСІІ за такого режиму культивування, порівняно із 2 варіантом, можна пояснити внутрішньою конверсією в молекулі хлорофілу *a* при поглинанні хвиль синього діапазону, зокрема: при поглинанні фотона сонячного світла ділянки ФАР (430 нм, 2,88 еВ) молекула хлорофілу *a* переходить у збуджений стан (S₂), який швидко релаксує у найнижчий збуджений стан (S₁), що відповідає енергії фотона червоної ділянки ФАР (660 нм, 1,88 еВ). Процес релаксації енергії електронного збудження з вищих енергетичних рівнів на найнижчий однієї мультиплетності називають внутрішньою конверсією. У випадку хлорофілу *a* у результаті внутрішньої конверсії збудженого стану S₂ (2,88 еВ) до S₁-стану (1,88 еВ) відбувається втрата в тепло ~35 % енергії поглинутого фотона [11]. Внутрішня конверсія у тепло поглинутої у синьому

діапазоні енергії й пояснює вищий рівень показників нефотохічного гасіння у рослин 1 варіанту порівняно з 2 варіантом досліду.

Крім того, рівень ефективності флуоресценції «відкритих» реакційних центрів на світлі у обох варіантах (Fv'/Fm') не перевищує 84 % від загальноприйнятого оптимального значення, яке $\geq 0,8$ [12]. Однак, показники фотохімічного гасіння хлорофілу (qP) є вищими у рослин 2 варіанту СК. Як результат, вищим є й показник індексу життєздатності (R_{fd}), який наближається до оптимального (> 2) для рослин значення.

Як показують результати наших досліджень, на ефективність функціонування фотосинтетичного апарату впливає й джерело карбону у складі живильного середовища МС/2 – сахароза або маніт. З'ясовано, що заміна у складу живильного середовища МС/2 сахарози на маніт (табл.) підвищує ефективність квантового виходу ФС ІІ на 13% (у випадку 1 варіанту СК) і на 8% (у випадку 2 варіанту СК) та зменшує на 40% і 33% відповідно кількість поглинутого світла, що витрачається на теплову дисипацію. Як результат – зростає більш, ніж на 8 %, рівень ефективності флуоресценції «відкритих» реакційних центрів на світлі (Fv'/Fm') за обох варіантів світлової корекції і становить вже 91,3% від оптимального значення, як і у рослин *G. lutea* з природи (не опубліковані дані). Рівень життєстійкості (R_{fd}) рослин теж зростає на 32 % і 26 %, відповідно. Нижча ефективність функціонування фотосинтетичного апарату рослин *G. lutea*, які культивують на живильних середовищах, доповнених сахарозою, пов'язана, ймовірно, із зміною активності апопластної інвертази в умовах *in vitro*. Тому вона здатна швидше каталізувати гідроліз цукрів, які надходять по апопласту з живильного середовища [13]. Присутність сахарози у складі живильного середовища змінює й експресію генів, які відповідають за рухові реакції хлоропластів у випадку зміни інтенсивності освітлення. Як результат – знижується інтенсивність протікання фотосинтетичних реакцій [14, 15]. Згідно досліджень А. Банаса із співавторами (2007), маніт не впливає на рухи хлоропластів у клітинах мезофілу *Arabidopsis thaliana* (L.) навіть за низької інтенсивності освітлення, а за інтенсивного освітлення – вже через дві доби культивування на середовищі, доповненому манітом у концентрації 3 % реакція хлоропластів на світло підвищується.

Необхідно також відзначити, що у рослин, які культивують на живильних середовищах з манітом, зростають на 6 % (1 варіант) і 17 % (2 варіант) показники φ_{NO} , які свідчать про збільшення втрат світла на ряд нерегульованих процесів, побічні продукти яких інгібують фотосинтез або є шкідливими у рослин. Вважається, що підвищення показника φ_{NO} є ознакою перебування рослин в умовах водного дефіциту [16]. Фотохімічні реакції, пов'язані з фотосистемою II, чутливі до посухи і зумовлені деструктивними процесами, зокрема втратою або зниженням вмісту білків D1 та D2 — найважливіших компонентів фотосистеми II [17]. Тому, за водного стресу порушується електронному транспорту, що спричинює надмірне утворення супероксидних радикалів ($O_2^{\cdot-}$) завдяки відновленню молекулярного кисню НАДФ на акцепторній ділянці фотосистеми I [18]. Це дозволяє припустити, що додавання до складу живильних середовищ маніту не лише підвищує ефективність функціонування фотосинтетичного апарату у культивованих *in vitro* рослин

G. lutea, але й активізує у них механізми стійкості до водного дефіциту.

Висновки

Застосування методу ІФХ показало, що на функціонування фотосинтетичного апарату *in vitro* рослин *G. lutea* впливають як умови освітлення, так й джерело карбону у складі живильного середовища. Встановлено, що за інтенсивності світлового потоку в області ФАР 100 Вт/м² та спектрального складу: Ес : Ез : Еч = 25% : 27% : 48% ефективний квантовий вихід ФС II у рослин підвищується на 8,3 % порівняно із особинами *G. lutea*, які культивували за інтенсивності світлового потоку 85 Вт/м² та спектрального складу: Ес : Ез : Еч = 33% : 42% : 25%; показник життєздатності – на 23 %. Заміна джерела карбону у складі живильного середовища із сахарози (10 г/л) на маніт (3 г/л) не лише підвищує ефективність функціонування фотосинтетичного апарату у культивованих *in vitro* рослин *G. lutea*, але й активізує у них механізми стійкості до водного дефіциту.

References

1. Korneev D.Iu. Informatsionnye vozmozhnosti metoda induksii fluorestsentsii khlorofilla: monografiia. Kiev: "Al'terpres", 2002. 188 s. [in Ukrainian] / Корнеев Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла: монография. Киев: "Альтерпрес", 2002. 188 с.
2. Zandrea I., Vacarin M.A., Schmitz D.D., Braga J.B., Peters J.A., Bras R. Chlorophyll fluorescence in *in vitro* cultivated apple. *Agrociência, Pelotas*. 2006. Vol. 12, No 3. P. 305–308.
3. Keutgen N. Figas A. Anna, Tomaszewskasowa M., Raunest K., Keutgen A. J. Chlorophyll Fluorescence as a Tool to Assess the Regeneration Potential of African Violet Leaf Explants. *Not Bot Horti Agrobo*. 2016. Vol. 44, No 1. P. 11–16. doi: 10.15835/nbha44110298.
4. Herts A.I., Herts N.V. Vyavlennia funktsional'noi neodnorodnosti fotosyntetychnoho aparatu roslin metodom fotoreestratsii spektru vidbytta svitla. Naukovi zapysky Ternopil'skoho natsional'noho pedahohichnoho universytetu imeni Volodymyra Hnatiuka. Seriya: Biologiia. 2016. T. 2, № 66. P. 41–49 [in Ukrainian] / Герц А.І., Герц Н.В. Виявлення функціональної неоднорідності фотосинтетичного апарату рослин методом фотореєстрації спектру відбиття світла. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*. 2016. Т. 2, № 66. С. 41–49.
5. Velyt, I.A., G'uzyk, D.V. Vybir dzhерel svitla dlja optychnogo oprominennja roslin tomativ, ogirkiv ta rozsadu [Selection of light sources for optical irradiation of plants of tomatoes, cucumbers and seedlings]. *Academic Journal. Control, Navigation and Communication Systems*. 2013. T.1, № 25. P. 128–132 [in Ukrainian] / Велит І. А., Гузик Д. В. Вибір джерел світла для оптичного опромінення рослин томатів, огірків та розсади. *Системи управління, навігації та зв'язку*. 2013. Т.1, № 25. С. 128–132.
6. Murashige T., Skoog F.A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. plant*. 1962. Vol. 15. P. 473–497. doi:10.1111/j.1399–3054.1962.tb08052.x.
7. Kobiv Yu., Prokopiv A., Nachychko V., Borsukevych L., Helesh M. Distribution and population status of rare plant species in the Marmarosh Mountains (Ukrainian Carpathians). *Ukrainian Botanical Journal*. 2017. Vol. 74, No 2. P. 163–176. doi:10.15407/ukrbotj74.02.163.
8. Rossi M., Fisogni A., Galloni M. Biosystematic studies on the mountain plant *Gentiana lutea* L. reveal variability in reproductive traits among subspecies. *Plant Ecology & Diversity*. 2016. Vol. 9, No 1. P. 97–104. doi:10.1080/17550874.2015.1074625.
9. Rybchenko L.S., Savchuk, S.V. Potencial gelioenergetychnyh klimatychnyh resursiv sonjachnoi' radiacii' v Ukraini [Potential of the climatic solar radiation energy resources in Ukraine]. *Ukrainian Geographical Journal*. 2015. № 4, P. 16–23 [in Ukrainian]. Рибченко Л.С., Савчук С.В. Потенціал геліоенергетичних кліматичних ресурсів сонячної радіації в Україні. *Український географічний журнал*. 2015. № 4. С. 16–23. doi:10.15407/ugz2015.04.016.
10. Muneer S., Kim E. J., Park J. S., Lee J. H. Influence of green, red and blue light emitting diodes on multiprotein complex proteins and photosynthetic activity under different light intensities in lettuce leaves (*Lactuca sativa* L.). *Int. J. Mol. Sci*. 2014. Vol. 15. P. 4657–4670. doi:10.3390/ijms15034657.

11. Ouzounis T., Rosenqvist E., Ottose C. O. Spectral effects of artificial light on plant physiology and secondary metabolism: a review. *Hortscience*. 2015. Vol. 50, No 8. P. 1128–1135.
12. Venediktov P.S., Volgin S.L., Kazimirko Iu.V., Krendeleva T.E., Kukarskikh G.P., Makarova V.V., Lavrukina O.G., Pogosian S.I., Iakovleva O.V., Rubin A.B. Ispol'zovanie fluorestsentsii khlorofilla dlia kontroliia fiziologicheskogo sostoiianiia zelenykh nasazhdeniy v ekosistemakh. *Biofizika*. 1999. T.44, № 6. P. 1037–1047 [in Russian] / Венедиктов П.С., Волгин С.Л., Казимирко Ю.В., Кренделева Т.Е., Кукарских Г.П., Макарова В.В., Лаврухина О.Г., Погосян С.И., Яковлева О.В., Рубин А.Б. Использование флуоресценции хлорофилла для контроля физиологического состояния зеленых насаждений в экосистемах. *Биофизика*. 1999. Т. 44, № 6. С. 1037–1047.
13. Deriabin A.N., Trunova T.I. Morfofiziologicheskie i biokhicheskie kharakteristiki rasteniy kartofelia, ekspressiruiushchikh gen SUC2 invertazy *Saccharomyces cerevisiae*, pri vyrashchivanii in vitro. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologii*. 2014. № 4 (28). P. 150–168 [in Russian] / Дерябин А.Н., Трунова Т.И. Морфофизиологические и биохимические характеристики растений картофеля, экспрессирующих ген SUC2 инвертазы *Saccharomyces cerevisiae*, при выращивании in vitro. *Вестник Томского государственного университета. Серия: Биология*. 2014. № 4 (28). С. 150–168.
14. Banas A.K., Gabrys H. Influence of sugars on blue light-induced chloroplast relocations. *Plant Signaling & Behavior*. 2007. Vol. 2, № 4. P. 221–230. doi:10.4161/psb.2.4.4392.
15. Eckstein A., Zieba P., Gabrys H. Sugar and light effects on the condition of the photosynthetic apparatus of *Arabidopsis thaliana* cultured in vitro. *J. Plant Growth Regul.* 2012. Vol. 31. P. 90–101. doi: 10.1007/s00344-011-9222-z.
16. Musiienko M.M., Zhuk I.V. Molekuliarni mekhanizmy induktsii zahysnykh reaktsiy roslin v umovakh posukhy. *Ukr. Botan. zhurn.* 2009. T. 66, № 4. P. 580–595 [in Ukrainian] / Мусієнко М.М., Жук І.В. Молекулярні механізми індукції захисних реакцій рослин в умовах посухи. *Укр. Ботан. журн.* 2009. Т. 66, № 4. С. 580–595.
17. Lu C., Zhang J. Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants. *J. Exp. Bot.* 1999. 50. P. 1199–1206.
18. Reddy A.R., Chaitanya K.V., Vivekanander M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J. Plant Physiol.* 2004. Vol. 161, No 11. P. 1189–1202. doi:10.1016/j.jplph.2004.01.013.

HRYSYAK L. R., HERTS A. I., HERTS N. V., DROBYK N. M.

*Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University,
Ukraine, 46027, Ternopil, M. Kryvonosa str., 2, e-mail: hrytsak1972@gmail.com*

INDUCTION OF CHLOROPHYLL FLUORESCENCE USE FOR ASSESSMENT OF FUNCTIONING OF GENTIANA LUTEA L. PLANTS PHOTOSYNTHETIC APPARATUS IN DIFFERENT CONDITIONS OF CULTURING IN VITRO

Aim. To study the peculiarities of functioning of photosynthetic apparatus of *Gentiana lutea* L. plants in vitro under different light qualities and source of carbon in the composition of nutrient medium by using the induction of chlorophyll fluorescence (ICF) method. **Methods.** Chlorophyll fluorescence was determined in light-adapted leaves of cultivated in vitro *G. lutea* plants by use of PAM fluorometry MultispeQ. The parameters change of photosynthetic apparatus functioning of cultivated in vitro plants was assessed with regard to light qualities (Variant 1: light intensity – 85 W/m², when different spectra combinations of blue-wave band (Eb) and green-wave band (Eg) and red-wave band (Er) was 33% : 42% : 25%; Variant 2: light intensity – 100 W/m², with wave bands of spectra – Eb : Eg : Er = 25% : 27% : 48%) and the source of carbon (10 g/l of sucrose or 3 g/l of mannite) in the composition of nutrient medium MS/2 (MS medium with half amount of macro- and microsalts), supplemented with 0.1mg/l of kinetin. **Results.** It was established that *G. lutea* plants cultivated in vitro for 90 days in light conditions of Variant 2 had a quantum yield photochemical of PS II 8.3 % higher in comparison to *G. lutea* specimens cultured in light conditions of Variant 1. The vitality value of Variant 2 plants was 23 % higher. Change of carbon source in the composition of nutrient medium from sucrose (10 g/l) to mannite (3 g/l) was both increasing the efficiency of functioning of photosynthetic apparatus of *Gentiana lutea* L. plants in vitro and activating their resistance mechanisms to water deficit. **Conclusions.** The ICF method use shows that functioning of photosynthetic apparatus of *G. lutea* plants in vitro depends different qualities light and source of carbon in the composition of nutrient medium.

Key words: induction of chlorophyll a fluorescence, plants in vitro, *Gentiana lutea* L.