

ГРИЦАК Л. Р.<sup>✉</sup>, ПРОКОП'ЯК М. З., МАЙОРОВА Ю. І., КОЛІСНИК Х. М., ДРОБИК Н.М.

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка,

Україна, 47027, м. Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2

<sup>✉</sup> hrytsak1972@gmail.com, (067) 453-94-19

### ДИНАМІКА РОСТОВИХ ПАРАМЕТРІВ РОСЛИН *IN VITRO GENTIANA LUTEA L.* ЗА РІЗНИХ УМОВ ОСВІТЛЕННЯ

**Мета.** Дослідження динаміки ростових процесів у рослин *in vitro* виду *Gentiana lutea L.* залежно від зміни світлового режиму їх культивування з метою розроблення схеми підвищення їхнього адаптивного потенціалу. **Методи.** Застосовано методи культивування рослинних об'єктів *in vitro*, біометричний метод, а також дисперсійний аналіз ANOVA та аналіз середніх груп попарно за допомогою критерію Тьюкі (тест Тьюкі). **Результати.** Показано, що культивування рослин *in vitro G. lutea* за інтенсивності світлового потоку 25 Вт/м<sup>2</sup> в області фотосинтетично активної радіації та співвідношення хвиль синього (Ес) : зеленого (Ез) : червоного (Еч) діапазонів = 41,8 % : 42,7 % : 15,5 % запускає неспецифічні для інактивних рослин реакції фотоморфогенезу, які призводять до слабкого розвитку кореневої системи, витягування стебел, утворення дрібних листків із тонкою листовою пластинкою, загальної низької продуктивності та низького адаптаційного потенціалу рослин *G. lutea* до умов *ex vitro* та *in situ*. Підвищення інтенсивності світлового потоку до 44 Вт/м<sup>2</sup> та збільшення частки хвиль червоного діапазону до 20,3 % дозволяє не лише покращити біопродуктивність культивованих *in vitro* рослин *G. lutea*, але й збільшити коефіцієнт мікроклонального розмноження без додаткового застосування екзогенних регуляторів росту. Найбільший приріст надземних і підземних частин, збільшення ефективної поверхні листків спостерігаються у рослин *in vitro* за культивування при інтенсивності світлового потоку 135 Вт/м<sup>2</sup> та спектральному складі Ес : Ез : Еч = 29,5% : 32,5% : 38,0%. **Висновки.** Змінюючи світлові умови культивування рослин *in vitro*, можна покращити їх біопродуктивність та, відповідно, підвищити адаптивний потенціал до умов *ex vitro* та *in situ*.

**Ключові слова:** *Gentiana lutea L.*, рослини *in vitro*, інтенсивність світлового потоку, спектральний склад, ростові параметри.

Одним із завдань сучасної біотехнології рослин є розроблення методологій ефективного використання колекцій рослин *in vitro* як джерела посадкового матеріалу для реалізації низки програм різних галузей господарства, у тому числі й природоохоронного спрямування. Причиною обмеженого використання таких колекцій є виникнення структурно-функціональних змін у рослин в умовах *in vitro*, які й ускладнюють процес їх адаптації до нових умов росту та зумовлюють високу (до 75 %) летальність особин [1]. Розв'язання цієї проблеми потребує глибоких досліджень перебігу морфологічних процесів у рослин *in vitro* та використання критеріїв-маркерів, за якими можна швидко оцінити реакцію рослин на зміну фізико-хімічних умов їх культивування.

Відомо, що ріст рослин належить до інтегральних показників, які відображають ступінь адаптації рослин до умов їх існування [2]. Дія стресових факторів призводить до гальмування росту рослин, кардинальної перебудови метаболізму та інгібування енергозатратних анаболічних процесів [2]. Це дозволяє використовувати показник росту рослин як один із маркерів їх функціонального стану. Крім того, існує припущення, що механізми, які відповідають за ріст рослин, є регуляторними системами першого порядку, а механізми, що визначають стан пігментної системи та інтенсивність протікання фотосинтетичних реакцій, є регуляторними системами другого порядку [3].

При цьому доведено, що ріст рослин залежить від одночасного поєднання трьох складників: якості світла, його інтенсивності та тривалості дії [4]. Сучасними дослідженнями доведено, що до системи фоторегуляції морфогенезу входять рецептори та трансдуктори світлового сигналу, зокрема: фітохроми, які поглинають хвилі Еч та дальнього червоного діапазонів; криптохроми, фототропіни та нефотосинтетичні каротини – ультрафіолет (УФ А, УФ В) та Ес; суперхром (неохром) – область Ес і Еч.

На даний час немає єдиної точки зору щодо механізмів трансляції світлового сигналу у клітині. Однак схиляються до думки, що поглинене сенсорними пігментами світло не лише спричинює синтез макроергічних хімічних сполук через реалізацію фотосинтетичної функції, а також утворює сигнал, здатний передаватися по компонентах цитозолу та геному, активізуючи цитозольні компоненти, експресію генів *COP*, *DET*, *FUS*, продукти яких беруть участь у регуляції процесів морфогенезу. При цьому відбувається зміна ендogenous гормонального балансу рослини, який контролює як процеси росту та розвитку, так і роботу фотосинтетичного апарату. Припускають, що фоторегуляторні системи, які відповідають за фотосинтез і морфогенез, можуть мати як спільні фоторецептори, так й специфічні для кожної з них [5].

Оптимізація світлового режиму культивування рослин в умовах *in vitro* дозволяє цілеспрямовано керувати процесами їх росту та розвитку. Це позначається не лише на продуктивності рослин, але й на їхньому адаптивному потенціалі.

Виходячи із зазначеного, мета роботи полягала у дослідженні динаміки ростових процесів у рослин *in vitro* *Gentiana lutea* L. залежно від зміни світлового режиму умов їх культивування. Результати цих досліджень послужили основою для оптимізації світлового режиму вирощування *in vitro* рослин *G. lutea* та розроблення схеми підвищення їхнього адаптаційного потенціалу на першому етапі багатоступінчастої технології репатріації популяцій цього виду в Українських Карпатах.

### Матеріали і методи

Досліджували рідкісний лікарський вид *G. lutea*, що росте у високогір'ї Українських Карпат у межах гіпсометричних рівнів 1300–1500 м н.р.м. Вихідний насінневий матеріал зібрано під час експедицій в Українських Карпатах у популяціях на горах (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.), полонині (п.) Лемська (хр. Черногора, Рахівський р-н, Закарпатська обл., 1816 м н.р.м.). Збір насіння *G. lutea* проводили відповідно до дозволу, наданого Міністерством екології і природних ресурсів України №4344/11–09 від 12.05.2009 р. та №7657/19–12 від 25.07.2012 р.

Отримані *in vitro* проростки пересаджували у рідке живильне середовище МС/2, доповнене 0,1–0,2 мг/л кінетину (Кін). Мікроклональне розмноження рослин проводили за раніше розробленими методиками [6], використовуючи для досліджень апікальні живці з 2 парами листків. Для їхнього росту та вкорінення використовували живильне середовище МС/2, доповнене 0,1 мг/л Кін.

Мікроклонально розмножені рослини культивували у пробірках під люмінесцентними лампами денного світла (ЛД) фірми «General Electric» (Hungary) при інтенсивності світлового потоку в області ФАР 25 Вт/м<sup>2</sup>, фотоперіоді 16/8, температурі +19–+21 °С. Ці умови культивування розглядали як контроль. Згідно з технічними характеристиками коефіцієнт корисної дії (ККД) ЛД ламп в області ФАР коливається в межах 9–12% (або 3,71–4,94 Вт/м<sup>2</sup>), спектральний склад: 22,3% – 400–450 нм, 19,5% – 450–500 нм, 22,3% – 500–550 нм, 22,3% – 550–600 нм, 11,8% – 600–650 нм, 3,7% – 650–700 нм [7].

Для експерименту було відібрано по 10 вихідних, отриманих шляхом пророщування *in vitro* насіння рослин *G. lutea* з трьох популяцій (г. Пожижевська, г.г Шешул-Павлик, п. Лемська), які мікроклонально розмножували з метою отримання потрібної для дослідження кількості рослинного матеріалу.

Для з'ясування впливу інтенсивності освітлення та спектрів випромінювання на ростові параметри і вміст пігментів у культивованих *in vitro* рослинах було додатково використано: люмінесцентні лампи Lumilux 36W 840 холодного білого світла (ЛХБ) та фітолампи Fluora L36W/77 G13 (ФЛ) фірми «OSRAM» (Німеччина). Світловий потік ЛХБ згідно з технічними даними 2700 люмен, його інтенсивність в області ФАР (7,5 Вт/м<sup>2</sup>), спектральний склад в діапазоні ФАР: 12,8% – 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 [7]). ФЛ мають такі характеристики: інтенсивність в області ФАР – 35,28 Вт/м<sup>2</sup> або 28,22 Вт/м<sup>2</sup> через 5 000 годин, спектральний склад: 15,5% – 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 (Velyt & Guzyk, 2013). Застосування цих ламп дозволило підвищити інтенсивність світлового потоку з 25 Вт/м<sup>2</sup> до 135 Вт/м<sup>2</sup> та здійснити 2 варіанти корекції спектрального складу (СК) контролю, а саме: 1 варіант – інтенсивність світлового потоку в області ФАР

44 Вт/м<sup>2</sup>, співвідношення ламп ЛД до ЛХБ становить 1 : 1, сумарний спектральний склад: Ес : Ез : Еч = 37,35% : 42,35% : 20,3%; 2 варіант – інтенсивність світлового потоку в області ФАР 135 Вт/м<sup>2</sup>, співвідношення ламп ЛД до ЛХБ та ФЛ становить 0,6 : 1 : 1, спектральний склад: Ес : Ез : Еч = 29,5% : 32,5% : 38,0%.

У кожному із 3 варіантів (контроль та 2 варіанти корекції) використовували по 30 рослин – по 10 з кожної із трьох 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:

$$N = \frac{S \cdot W}{W_{\text{л}}}$$

де N – кількість ламп, шт; S – площа приміщення, м<sup>2</sup>; W – питома потужність освітленості, Вт/м<sup>2</sup>; W<sub>л</sub> – питома потужність лампи в області ФАР, Вт [7].

Ростові параметри аналізували через 90 діб культивування. Підраховували кількість листків (NL), визначали висоту стебла (LS), довжину міжвузлів (LIN), сиру масу листків (WL), кореня (WR), надземної частини (WS) та рослин у цілому (WP); площу усієї листкової поверхні (A) та площу одного листка (ALI) вимірювали за допомогою програми *Petiole* (<https://petiole.com>). Аналіз цих параметрів дозволив визначити ефективність утворення рослинами листкової поверхні та показники розвитку фотосинтетичного апарату (Bidl, 1989), а саме: відношення площі листків до біомаси рослин (LAR), фотосинтетичне зусилля (LWR), площу одиниці маси листка (SLA), а також відношення біомаси стебла до біомаси кореня (LSR).

Статистичну обробку даних, а саме дисперсійний аналіз ANOVA, з використанням критерію достовірної різниці групових середніх Тьюкі (Honestly Significant Difference) виконано за допомогою програмного забезпечення Prism 6 та R-studio. Для узагальнення даних та для виявлення взаємозв'язків між кількісними змінними використано метод головних компонент (Principal component analysis). Критичний рівень значимості при перевірці статистичних гіпотез у дослідженні приймався рівним 0,05.

### Результати та обговорення

Результати аналізу морфометричних та алометричних параметрів культивованих *in vitro* рослин *G. lutea* показали, що інтенсивність їхніх

ростових процесів і розвиток у значній мірі залежать від спектрального складу світла та інтенсивності його потоку в ділянці ФАР.

Відомо, що, у природному середовищі нижні листки рослин *G. lutea* утворюють розетку, а верхні є стеблообгортні. Культивування *in vitro* особин цього виду в умовах контролю за низької інтенсивності освітлення та збільшеної у спектрі частки хвиль Ес та Ез діапазонів призводить до змін їхнього габітусу. Це проявляється у не характерному для інтактних рослин видовженні міжвузлів, значному витягуванню стебел, а також утворенні дрібних довгочерешкових листків.

Аналіз морфометричних та алометричних параметрів культивованих *in vitro* рослин виду *G. lutea*, які репрезентують генотип його двох природних (г. Шешул–Павлик, пол. Лемська) та однієї інтродукованої популяції – г. Пожижевська, показав, що низькою є й біопродуктивність рослин контрольної групи усіх досліджених популяцій. Так, показники фітомаси їхніх надземних органів та площі листкової поверхні, які у 2,9–3,7 рази (у випадку г. Пожижевська), 2,0–3,4 рази (пол. Лемська), 2,5–3,7 рази (г.г. Шешул–Павлик) є нижчими, порівняно з 1 варіантом СК та у 2,9–5,1 рази (г. Пожижевська), 2,7–5,7 (пол. Лемська), 3,1–5,5 рази (г. Шешул) – з 2 варіантом досліду (рис. 1).

У рослин контролю найгірше, порівняно з іншими варіантами світлової корекції, розвивається коренева система та утворюється тонша (на 18–52 %) листкова пластинка. Низькими є й величини фотосинтетичного зусилля, а також показники, що характеризують потужність розвитку листкової поверхні (LAR) (рис. 2). Необхідно зазначити, що рослини контрольної групи *G. lutea* за багатьма параметрами статистично достовірно (P<0,001) відрізняються від особин обох варіантів досліду.

Такі показники морфометричних та алометричних параметрів рослин контрольної групи, ймовірно, обумовлені тим, що за низьких значень інтенсивності освітлення особини фактично не здатні поглинати хвилі Еч діапазону [8]. Ряд же регуляторних фітохромів поглинає світло у ближньому та дальньому червоному діапазонах і регулює синтез вуглеводів у процесі фотосинтезу. Не менш важливою є здатність фітохромів поглинати не лише у Еч діапазоні, але й у синьо-фіолетовій області спектру.

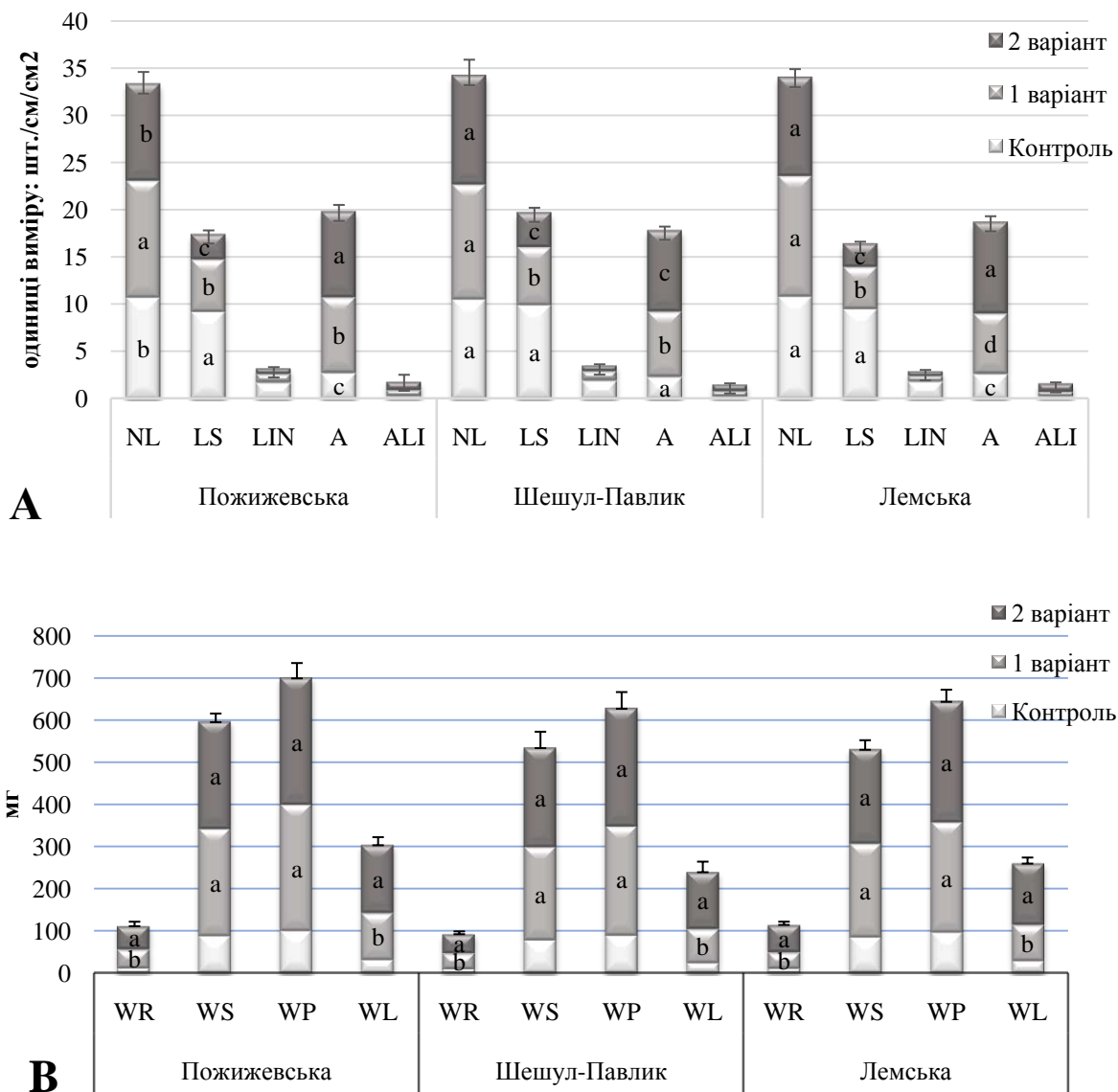


Рис. 1. Зміна морфометричних параметрів культивованих *in vitro* рослин *G. lutea* з різних популяцій залежно від джерела світла та інтенсивності світлового потоку ( $Вт/м^2$ ) в області ФАР, ( $n=10$ ,  $x \pm SD$ ). a, b, c – однакові латинські букви означають статистично незначущі розбіжності середніх у ряді за критерієм Тьюкі (HSD); **рис. А:** NL – кількість листків, LS – висота стебла, LIN – довжина міжвузля, A – площа листової поверхні, ALI – площа одного листка; **рис. В:** WL – сира маса листків, WR – сира маса кореня, WS – сира маса надземної частини, WP – загальна сира маса рослин.

Однак, ефективність поглинання синіх хвиль є нижчою, порівняно із червоними. Тому перебіг морфологічних реакцій рослин контролю може визначати низька інтенсивність світлового потоку, низька частка хвиль Е<sub>ч</sub> на фоні високої частки хвиль Е<sub>с</sub> і Е<sub>з</sub> діапазонів (із перевагою зеленого світла у спектрі ЛД ламп).

Крім того, відомо, що різні спектри світла та різна його інтенсивність можуть здійснювати протилежний вплив на один й той же фізіологі-

чний процес [9]. Відомо, що значна частка хвиль Е<sub>з</sub> діапазону збільшує вміст та активність у листках абсцизової кислоти та гіберелової кислоти, а також знижує рівень цитокінінів та індолилцетової кислоти (ІОК) [10]. Це призводить до формування низькопродуктивних рослин із тонкою листовою пластинкою, у якій зменшується кількість клітин мезофілу та розміри клітин палисадної паренхіми, а також збільшується об'єм міжклітинників [10].

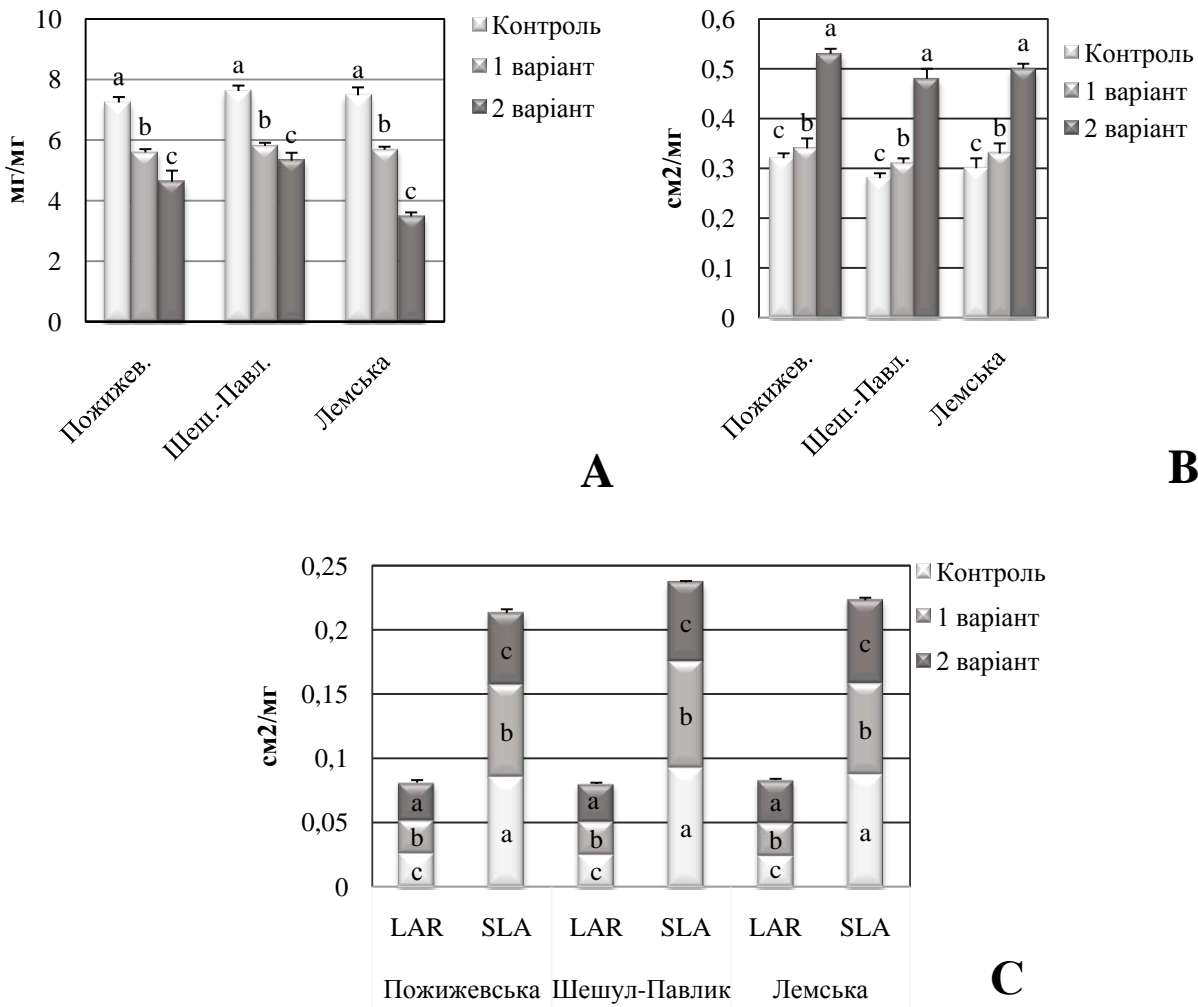


Рис. 2. Зміна алометричних параметрів культивованих *in vitro* рослин *G. lutea* з різних популяцій залежно від джерела світла та інтенсивності світлового потоку ( $\text{Вт/м}^2$ ) в області ФАР, ( $n=10$ ,  $x \pm \text{SD}$ ). **Рис. А** – відношення біомаси надземної частини до біомаси кореня (LSR); **рис. В** – фотосинтетичне зусилля (LWR); **рис. С** – інші параметри: LAR – відношення площі листків до біомаси рослин, SLA – площа одиниці маси листка; a, b, c – однакові латинські літери означають статистично незначущі розбіжності середніх у ряді за критерієм Тьюкі (HSD).

За дії хвиль Ез діапазону значно й видозмінюються міжвузля у рослин. Під впливом монохромного світла, що складається із хвиль Ес діапазону у рослинах, навпаки, знижується вміст гіберелової кислоти та ауксину, що призводить до затримки росту пагонів та коренів. Водночас, збільшується концентрація цитокініну зеатину, який стимулює поділ клітин. Завдяки цьому зменшується довжина клітин мезофілу, та, відповідно, їхній об'єм [11]. Це призводить до формування малих за площею, товстих листків [11]. Крім того, Ес спектр стимулює білковий обмін, а Еч – вуглеводний.

Описані зміни гормонального балансу, морфології та анатомії рослин спостерігаються за дії певної інтенсивності монохромного світла.

Проте, за сумачії ефектів впливів хвиль Ес та Ез діапазонів на фоні низької кількості хвиль Еч у спектрі у рослин контролю досліджуваного виду баланс ендогенних регуляторів росту може бути іншим, саме тому у цієї групи особин спостерігається слабкий розвиток кореневої системи, витончення стебел та їх витягування, утворення дрібних листків з тонкою листовою пластинкою та загальна низька продуктивність. Такі зміни морфотипу рослин опосередковано вказують на підвищення концентрацій ендогенних гіберелінів. Вміст же ауксинів, ймовірно, є нижчим, саме тому коренева система у рослин є слабо розвиненою, а листовка пластинка – дрібна та тонка. Подібні зміни морфометричних та алометричних відзначали й К. Р. Копе та Б. Буг-

бе (2013) у рослин *Raphanus sativus* під впливом низької інтенсивності світла з високою часткою хвиль Ес і Ез [12]. Як наслідок – такі особини можуть мати слабкий адаптаційний потенціал до умов *in situ*.

Застосування ламп ЛХБ у 1 варіанті СК дозволило підвищити інтенсивність світлового потоку до 44,0 Вт/м<sup>2</sup>, а також скоригувати спектральний склад світла, зменшивши у ньому частку хвиль синього діапазону та збільшивши частку хвиль червоного спектру порівняно з контролем. При цьому частка хвиль зеленого спектру (500–600 нм) залишилася майже незмінною.

Аналіз габітусу та ростових процесів показав, що такі світлові умови культивування є сприятливішими для рослин *G. lutea*. Так, висота стебел особин усіх досліджених популяцій у 1,6 рази (г. Пожижевська, г. Шешул–Павлик) та 2,1 рази (у випадку п. Лемська) зменшується порівняно з контролем (рис. 1А). Водночас покращуються й параметри, що визначають продуктивність рослин, а саме: фітомаса кореневої системи та надземної частини, площа листової поверхні та відносною площі, що припадає на один листок. Слід зазначити, що вибірка рослин усіх популяцій 1 варіанту СК за показниками загальної сирової маси та маси надземної частини статистично достовірно не відрізняється від 2 варіанту СК. Однак за результатами аналізу даних алометричних параметрів ефективність утворення листової поверхні є ще доволі низькою, що позначається й на фотосинтетичному зусиллі рослин (рис. 2В).

Особливістю цього світлового режиму є активізація розвитку пазушних меристем у рослин *in vitro*. Формування бічних пагонів спостерігалось у 76 ± 5,2 % висаджених живців *G. lutea*, а кількість утворених адвентивних пагонів на одному живці коливалася від 4 шт. до 7 шт.

Подібні результати були отримані й А. Л. Немойкіною та Р. А. Карначук (2002) при культивуванні *in vitro* під лампами «білого спектру» (ЛХБ) рослин виду *Yucca elephantipes* Regel. Відомо, що за переважання у спектрі хвиль Ес діапазону збільшується ефект впливу екзогенного цитокініну, доданого у живильне середовище для культивування [11]. Про значну роль у морфогенезі культур *in vitro* *Vaccinium angustifolium* Ait. відносно низької (15 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>) інтенсивності світлового потоку відзначав й С. Дебнатх [13]. Цим автором було встановлено, що за таких умов збільшується здат-

ність до формування адвентивних пагонів [13]. Вища інтенсивність (понад 50 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>) світла, навпаки, гальмує проліферацію пагонів.

Ймовірно, що сумування спектрів ЛД і ЛХБ ламп підсилює дію введеного до складу живильного середовища регулятора росту Кін. Це сприяло активізації росту пазушних меристем у рослин *in vitro* *G. lutea*. Зміна спектрального складу лише, ймовірно, посилює ендогенний синтез регуляторів росту цієї групи. Відповідно, така оптимізація світлового режиму дозволяє збільшити коефіцієнт мікроклонального розмноження рослин *in vitro* дослідженого виду без застосування вищих концентрацій екзогенних регуляторів росту. Застосування нижчої інтенсивності освітлення при повторному субкультивуванні рослин *in vitro* *V. angustifolium* у випадку їх масового промислового розмноження пропонував й С. Дебнатх [13]. На наш погляд, це зменшує ризик генетичних змін і здешевлює процес отримання посадкового матеріалу. Крім того, така корекція світлового режиму стимулює й розвиток кореневої системи у рослин *G. lutea* без додаткового використання регулятора росту 1-нафтилоцтової кислоти (НОК). Ймовірно, що завдяки утворенню коренів значно покращується поглинання поживних речовин рослинами. Це й зумовлює інтенсивніший розвиток пагонів та листків.

Корекція світлового фону контролю лампами ЛХБ та ФЛ (варіант 2), як й у випадку варіанту 1, дозволила підвищити освітленість до 3000 лк, значно збільшити інтенсивність світлового потоку (135 Вт/м<sup>2</sup>) та оптимізувати спектральний склад. Так, зменшилися у 1,4 рази частка хвиль синього та у 1,3 рази – зеленого діапазонів, а червоного спектру – збільшилася у 2,5 рази.

Аналіз морфометричних та алометричних показників показав, що у рослин виду *G. lutea* в умовах 2 варіанту СК, порівняно з контролем, більш ніж утричі скорочується довжина міжвузлів; у 1,6–1,7 рази зростають величини фотосинтетичного зусилля, від 5,5 до 9,9 рази збільшується маса листків, у 3,3–3,8 рази – загальна площа листової поверхні (рис. 1, 2). Значно краще розвивається й коренева система, про що свідчать показники відношення біомаси пагона до біомаси кореневої системи (LSR). За культивування в умовах 2 варіанту СК у рослин формувалася розетка листків, відповідно, за габітусом вони у найбільшій мірі відповідали особинам з природних місць росту. Такі зміни рослин *in vitro* обумовлені значним

скороченням довжини міжвузлів під впливом хвиль Еч діапазону [14]. Крім того, відомо, що за дії монохромного світла, що складається із хвиль Ес діапазону, концентрація ендogenous ауксину зменшується [11]. По іншому хвилі Ес діапазону впливають у складі спектру, що містить вже високу щільність потоку фотонів хвиль Еч, а також за наявності хвиль Ез діапазону [15]. У такому випадку знижується рівень репресії генів, які відповідають за синтез ауксинів. Завдяки цьому вміст ендogenous ауксину зростає, що й гальмує ріст міжвузлів [15]. Оптимізація спектрального складу в області ФАР штучного світла за рахунок підвищення частки хвиль Еч діапазону збалансовує регуляторні системи, що відповідають за ріст та фотосинтез [11]. За таких умов у рослин не лише збільшується загальна площа листової поверхні але й спостерігається максимальний фотосинтез з одиниці її поверхні, що значно покращує продуктивність рослин [16].

Згідно із дослідженнями Р. А. Карначук та А. Л. Немойкіною (2002), корекція «білого світла» лампами «червоного спектру» у культивованих *in vitro* рослин збільшує концентрацію ендogenous регулятора росту ІОК, що й сприяє їхньому швидшому укоріненню. Це дозволяє на етапі укорінення рослин *in vitro* зі складу живильного середовища виключити регулятор росту НОК.

### Висновки

Встановлено, що зміна інтенсивності світлового потоку в області ФАР, спектрального

складу світла дозволяє цілеспрямовано впливати на ростові процеси рослин *in vitro* *G. lutea* та змінювати їх морфотип. Показано недоцільність культивування рослин *G. lutea* під лампами ЛД, оскільки такі світлові умови запускають специфічні реакції фотоморфогенезу, які призводять до слабкого розвитку кореневої системи, витягування стебел, утворення дрібних листків з тонкою листовою пластинкою та загальної низької продуктивності рослин. Корекція спектрального складу та інтенсивності освітлення ламп ЛД лампами ЛХБ ефективно впливає на процеси росту та розвитку *in vitro* рослин *G. lutea*. Зроблено припущення, що сумування спектрів ЛД і ЛХБ підсилює дію введеного до складу живильного середовища екзogenous Кін, що, у свою чергу, ініціює ріст пазушних меристем. Тому культивування *in vitro* рослин *G. lutea* в таких світлових умовах не лише покращує їхню біопродуктивність, порівняно із умовами контролю, але й дозволяє збільшити коефіцієнт мікроклонального розмноження без додаткового використання екзogenous регуляторів росту, що значно здешевлює процес отримання посадкового матеріалу. Показано, що застосування фітоламп значно підвищує частку хвиль Еч діапазону. Це приводить до збільшення ефективної поверхні листків, найбільшого приросту надземної та підземної частин рослин *in vitro* *G. lutea* та, відповідно, підвищує їх адаптивний потенціал до умов *ex vitro*.

### References

1. Mathur A., Mathur A. K., Verma P. et al. Biological hardening and genetic fidelity testing of micro-cloned progeny of *Chlorophytum borivillanum*. *African Journal of Biotechnology*. 2008. Vol. 7 (8). P. 1046–1053. Retrieved from: <http://www.academicjournals.org/AJB>.
2. Deryabin A. N., Trunova T. I. Morphological and biochemical characteristics of potato plants expressing the invertase gene SUC2 from *Saccharomyces cerevisiae*, under cultivation *in vitro*. *Tomsk State University Journal of Biology*. 2014. 4 (28). P. 150–168. doi: 10.17223/19988591/28/10. [in Russian]
3. Hrytsak L. R., Herts A. I., Nuzhyna N. V., Cryk M. M., Shevchenko V. V., Drobyk N. M. The influence of light regime on the growth data and pigment composition of the plant *Gentiana lutea* L. cultured *in vitro*. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2018. Vol. 9, № 2. P. 258–266. [in Ukrainian]
4. Folta K. M., Childers K. S. Light as a growth regulator: controlling plant biology with narrow-bandwidth solid-state lighting systems. *HortScience*. 2008. Vol. 43, Iss. 7. P. 1957–1964. doi: 10.21273/HORTSCI.43.7.1957.
5. Lau O. S., Deng X. W. Plant hormone signaling lightens up: integrators of light and hormones. *Current Opinion in Plant Biology*. 2010. Vol. 13 (5). P. 571–577. doi: 10.1016/j.pbi.2010.07.001.
6. Strashniuk N. M., Hrytsak L. R., Leskova O. M., Melnyk V. M. Introduction to the *in vitro* culture of some species of genus *Gentiana* L. *Physiology and biochemistry of cultivated plants*. 2004. Vol 36, № 4. P. 327–334. [in Ukrainian].
7. Velyt I. A., Guzik D. V. Electing a light source for optical irradiated plants of tomato, cucumber and sprouts. *Control, Navigation and Communication Systems*. Vol. 1, № 25. P. 128–132. [in Ukrainian]
8. Dong C., Fu Y., Liu G., Liu H. Low light intensity effects on the growth, photosynthetic characteristics, antioxidant capacity, yield and quality of wheat (*Triticum aestivum* L.) at different growth stages in BLSS. *Advances in Space Research*. 2014. Vol. 53. P. 1557–1566. doi: 10.1016/j.asr.2014.02.004.
9. Dou H., Niu G., Gu M., Masabni J. G. Effects of light quality on growth and phytonutrient accumulation of herbs under controlled environments. *Horticulturae*. 2017. Vol. 3 (2). P. 36. doi: 10.3390/horticulturae3020036.

10. Golovatskaya I. F., Dorofeev V. Yu., Medvedeva Yu. V., Nikiforov P. E., Karnachuk R. A. Optimization of illumination Conditions in cultivation process of *Solanum tuberosum* L. CV. Lugovskoy microcuttings *in vitro*. *Tomsk State University Journal of Biology*. 2013. № 4 (24). P. 133–144. doi: 10.17223/19988591/24/11. [in Russian]
11. Nemoykina A. L., Karnachuk R. A. Morphogenesis and hormonal balance of *Yucca elephantipes* in *in vitro* culture in light of different spectral composition. *Scientific Herald of Chernivtsy University. Biology (Biological Systems)*. 2002. № 145. P. 72–76. [in Ukrainian]
12. Cope K. R., Bugbee B. Spectral effects of three types of white light-emitting diodes on plant growth and development: absolute versus relative amounts of blue light. *Horticultural Science*. 2013. Vol. 48, Iss. 4. P. 504–509.
13. Debnath S. C. 2004. *In vitro* culture of lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium* Ait.). *Small Fruits Review*. 2004. Vol. 3, Iss. 3–4. P. 393–408. doi: 10.1300/J301v03n03\_16.
14. Trivedi A., Sengar R. S. Effect of various light-emitting diodes on growth and photosynthetic pigments of banana (*Musa acuminata*) CV. grande naine *in vitro* plantlets. *International Journal of Chemical Studies*. 2017. Vol. 5 (5). P. 1819–1821. Retrieved from: <https://www.researchgate.net/publication/333652559>.
15. Li C-X., Xu Z-G., Dong R-Q. et al. An RNA-Seq Analysis of Grape Plantlets Grown *in vitro* Reveals Different Responses to Blue, Green, Red LED Light, and White Fluorescent Light. *Frontiers in Plant Science*. 2017. Vol. 8. Article ID: 78. doi: 10.3389/fpls.2017.00078.
16. Hogewoning S. W., Wientjes E., Douwstra P. et al. Photosynthetic quantum yield dynamics: from photosystems to leaves. *The Plant Cell*. 2012. Vol. 24, Iss. 5. P. 1921–1935. doi: 10.1105/tpc.112.097972.

**HRYTSAK L. R., PROKOPIAK M. Z., MAYOROVA O. Yu, KOLISNYK Kh. M., DROBYK N. M.**

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

#### **DYNAMICS OF GROWTH PARAMETERS OF *GENTIANA LUTEA* L. *IN VITRO***

**Aim.** Study of the dynamics *Gentiana lutea* L. plant growth processes *in vitro* depending on the light regime changes of their cultivation in order to develop a scheme to increase their adaptive potential. **Methods.** Methods of plant cultivation *in vitro*, biometric method, as well as ANOVA variance analysis and middle group analysis in pairs using the Tukey test (Tukey test) were used. **Results.** It is shown that the cultivation of *G. lutea* plants *in vitro* using 25 W/m<sup>2</sup> light flux intensity in the region of photosynthetically active radiation and the ratio of blue (Eb): green (Eg): red (Er) ranges = 41.8%: 42.7%: 15.5% triggers non-specific photomorphogenesis reactions for intact plants, which lead to poor root system development, stem elongation, formation of small leaves with a thin leaf blade, overall low productivity and low adaptation potential of *G. lutea* plants to *ex vitro* and *in situ* conditions. Increasing the light flux intensity to 44 W/m<sup>2</sup> and increasing the red wave proportion up to 20.3% allows not only to improve the bioproductivity of *G. lutea* plants which are cultivated *in vitro*, but also to increase the coefficient of microclonal reproduction without the additional use of exogenous growth regulators. The greatest growth of the aboveground and underground parts, increase in effective leaf surface are observed *in vitro* plants during cultivation at 135 W/m<sup>2</sup> light flux intensity and spectral composition Eb: Eg: Er = 29.5%: 32.5%: 38.0%. **Conclusions.** It is possible to improve plant bioproductivity by changing the light conditions of plant cultivation *in vitro*, and, accordingly, to increase the adaptive potential to *ex vitro* and *in situ* conditions.

**Keywords:** *Gentiana lutea* L., *in vitro* plants, light flux intensity, spectral composition, growth parameters.