

ЛЕШИНА Л.Г.✉, БУЛКО О.В., ПУШКАРЕВА Н.А., ПЕТЕРСОН А.А., КУЧУК Н.В.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины,

Украина, 03143, г. Киев, ул. Академика Заболотного, 148, e-mail: llioshina@ukr.net

✉ llioshina@ukr.net, (050) 581-32-95

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СВЕТОДИОДНОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РЯДА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Для выращивания светокультуры все чаще используют освещение светодиодами (LED – light-emitting diodes) источниками света, которое имеет ряд существенных преимуществ перед другими видами освещения, а именно: высокий показатель КПД, который позволяет экономить 60–90 % электроэнергии по сравнению с натриевыми, ртутными и лампами накаливания и 10–20 % электроэнергии в сравнении с энергосберегающими лампами; высокий показатель индекса цветопередачи и светоотдачи; длительный срок службы (более 50000 часов); экологичны и безопасны, т. к. не содержат ртути и радиоактивных веществ; являются низковольтным электрооборудованием, которое за счет низкого потребления электроэнергии мало нагревается, что особенно важно при выращивании растений в условиях светокультуры. Современные LED лампы перекрывают весь видимый диапазон оптического спектра, и, составляя комбинации из светодиодов разных цветовых групп, можно получить освещение практически любого спектрального состава, необходимого для направленного роста и развития растений [1, 2]. Так ростки салата выращенные под красными светодиодами в качестве единственного источника освещения, имели расширенные гипокотили и удлиненные семядоли. Растения приобрели нормальную морфологию после подсветки фотонами синего света [3]. При выращивании перца под красными светодиодами с дополнительным освещением синим или дальним красным светом также наблюдались изменения морфогенеза растения [4]. Облучение синим светом листовых зеленых культур *Brassica* показало возможность увеличить в них количество фотосинтезирующих пигментов, глюкозинолатов и основных минеральных элементов. Высказано предположение, что воздействие синего света на фоторецепторы растений вызывает каскад реакций, который и приводит к стимуляции биосинтеза первичного и вторичного метаболита [5]. Многие исследования, проведен-

ные до сегодняшнего дня, показывают, что LED освещение специфически влияет на растения и для каждого вида нужно проводить детальное изучение и подбирать оптимальные условия. Но большая часть результатов подтверждает, что светодиоды обеспечивают для роста растений очевидные преимущества.

В представленной работе, в рамках проекта по изучению влияния LED освещения на растительные системы, мы исследовали влияние монохромного синего светодиодного освещения (длина волны 440–460 нм) на морфофизиологические характеристики лекарственных растений наперстянки пурпурной (*Digitalis purpurea* L.), эрвы шерстистой (*Aerva lanata* L. Juss. ex Schult.) и барвинка розового (*Cathranthus roseus* G. Don) при их выращивании в условиях *in vitro*.

Материалы и методы

Для биотестов использовали асептические растения *Digitalis purpurea* L., *Aerva lanata* L. и *Cathranthus roseus* G. Don, культивируемые *in vitro* на среде для пролиферации МС [6] в термальной комнате с 16-часовым фотопериодом и температурой $26 \pm 1^\circ\text{C}$. Исследовано 30-дневное действие монохроматического синего света (светодиоды XBD BLUE 440–460 нм) на показатели роста и развития растений. Световой поток был выровнен по квантам, падающим на уровне $160 \text{ мкМ м}^2/\text{с}$. Интенсивность света выравнивалась с учетом поглощения стеклянной емкостью. Влияние условий культивирования на накопление фотосинтетических пигментов в растениях *in vitro* определяли количественно на спектрофлуориметре Флюорат-02-Панорама (Россия) в фотометрическом режиме, измеряя экстинкцию спиртовых экстрактов образцов при длинах волн 649 нм и 665 нм для хлорофиллов и 470 нм для каротиноидов. Из значений экстинкции при данных длинах волн вычисляли концентрации пигментов [7]. Для определения содержания флавоноидов использовали методику, основанную на поглощении света комплексом

флавоноидов с хлоридом алюминия (III) при 415 нм, в пересчете на стандартный раствор рутина [8]. Статистическая обработка и анализ экспериментальных данных проводились в приложении Excel стандартного пакета Microsoft Office XP («Microsoft», США). На рисунках представлены усредненные для каждого варианта значения показателей и стандартные отклонения. Для их сравнения использовали Т-критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждения

Освещение растений трех видов (*Digitalis purpurea* L., *Aerva lanata* L. Juss. ex Schult. и *Catharanthus roseus* G. Don) светодиодным монохроматическим светом с длиной волны 440–460 нм в течение месяца показало ряд морфологических изменений по сравнению с контрольными растениями, которые инкубировались под стандартными люминесцентными лампами.

У барвинка розового (*C. roseus*) наблюдали уменьшение размеров листа (средняя длина листовой пластинки – 10,1 мм, средняя ширина – 4,9 мм) по сравнению с контролем (длина – 15,36 мм, ширина – 7,18 мм) (рис. 1).

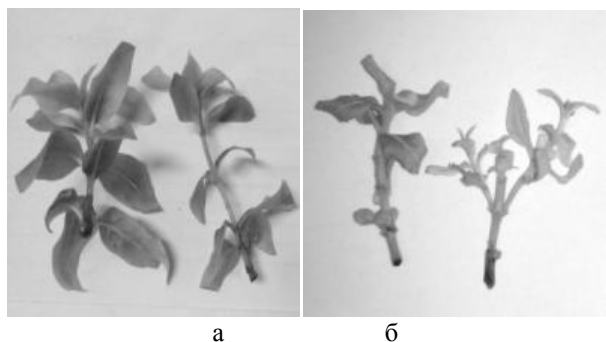


Рис. 1. Растения *Catharanthus roseus* G. Don: а – контроль; б – растения, культивируемые под светодиодным освещением с длиной волны 440–460 нм.

При этом наблюдали регенерацию побегов из боковых почек, которая не была замечена в контрольных растениях. Влияние LED освещения на укоренение растений данного вида достоверно установить не удалось, поскольку большинство как контрольных, так и экспериментальных растений не имели корней. Кроме того, было установлено укорочение междоузлий в экспериментальных растениях (3,54 мм) по сравнению с контрольными (4,5 мм).

Для растений вида *A. lanata* (эрва шерстистая), которые культивировались под освещением

светом синего спектра (рис. 2), наблюдали уменьшение лишь ширины листовой пластины при том, что длина листа, в среднем, была без изменений (длина – 15,33 мм, ширина – 5 мм) по сравнению с контрольными растениями (длина – 15,0 мм, ширина – 6,5 мм).

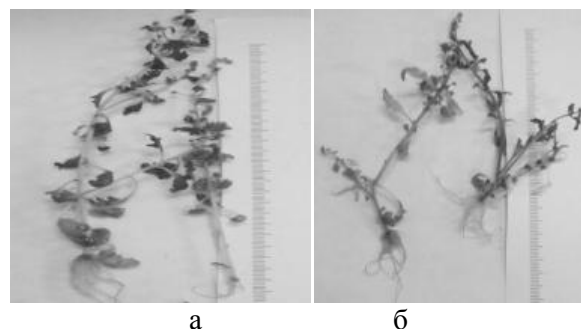


Рис. 2. Растения *Aerva lanata* L.: а – контроль; б – растения, культивируемые под светодиодным освещением с длиной волны 440–460 нм.

Кроме того, замечено увеличение количества корней без значительного изменения их длины (средняя длина корня при LED освещении – 34,8 мм, средняя длина корня контрольных растений – 30,1 мм). Также не было изменений длины междоузлий в экспериментальных растениях (9,07 мм) по сравнению с контрольными (9 мм).

При культивировании наперстянки пурпурной (*D. purpurea*) под светодиодным освещением синим светом наблюдали уменьшение как длины, так и ширины листовой пластинки (длина – 55,66 мм, ширина – 10,66 мм) относительно контрольных растений (длина – 91,83 мм, ширина – 20,66 мм). Кроме того, в экспериментальных растениях было описано уменьшение средней длины корня (27,88 мм) относительно контрольных растений (59 мм). Как и в случае с растениями вида *C. roseus*, для экспериментальных растений *D. purpurea* отмечали увеличение побегообразования (в среднем образовывалось 4 побега) по сравнению с растениями, культивированными под люминесцентным освещением (рис. 3).

Представленные результаты суммированы в таблице.

Исследуемые нами растения принадлежат к разным порядкам и являются совершенно разными по морфологии и по метаболизму. Полученные результаты свидетельствуют о том, что каждое растение реагирует на измененные условия по-своему. Так, у наперстянки пурпурной

более чем в два раза уменьшается длина корней и размеры листьев.

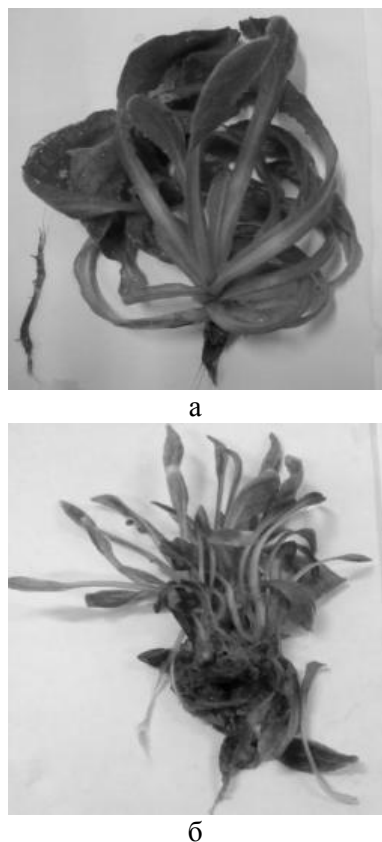


Рис. 3. Растения *Digitalis purpurea* L.: а – контроль; б – растения, культивируемые под светодиодным освещением с длиной волны 440–460 нм.

У барвинка розового за время инкубации корень не образуется, укорачиваются междоузлия и значительно уменьшается площадь листа. У этих растений наблюдается усиленное побегообразование. Лишь морфология эрвы шерстистой меняется незначительно. Общим является снижение активности роста и уплотнение тканей.

В процессе адаптации к эндогенному воздействию у растений участвуют многие метаболические процессы, в том числе и изменение фотохимической активности, которая регулируется концентрацией пигментов в фотосинтезирующих мембранах. Количество и соотношение пигментов очень восприимчиво к внешним условиям. Поглощение энергии хлорофиллом происходит в красной и синей частях солнечного спектра, при этом максимальное поглощение для хлорофилла *a* наблюдается при длине волны 430 и 663 нм, а хлорофилла *b* – при 450 и 645 нм. То есть оба хлорофилла поглощают синий свет и участвуют в фотосинтезе. Поэтому мы исследовали влияние синего светодиодного освещения на фотосинтетический аппарат исследуемых растений, а именно на количество пигментов хлорофилла *a*, хлорофилла *b*, их соотношение и концентрацию каротиноидов. Повышение величины соотношения *a/b* в облученных растениях эрвы шерстистой (рис. 4) по отношению к контролю происходит за счет более интенсивного снижения количества хлорофилла *b* и служит признаком адаптации фотосинтетического аппарата растения к действию монохромного синего света.

Таблица. Морфологические характеристики *in vitro* растений, инкубированных под LED-освещением с длиной волны 440–460 нм

Вид	Побегообразование, шт	Длина корней, мм	Длина междоузлия, мм	Длина листа, мм	Ширина листа, мм
<i>D. purpurea</i> (Контроль)	-	59,0±15,53	-	92,8±15,01	20,6±7,33
<i>D. purpurea</i>	4±4,35	27,9±9,79	-	55,6±8,21	10,6±3,61
<i>C. roseus</i> (Контроль)	-	3,5±0,70	4,5±2,02	15,3±2,06	7,2±2,13
<i>C. roseus</i>	0,75±0,5	-	3,5±1,45	10,1±3,07	4,9±1,28
<i>A. lanata</i> (Контроль)	-	30,1±15,04	9,1±2,58	15,0±3,63	6,5±0,83
<i>A. lanata</i>	-	34,8±20,29	9,0±4,84	15,3±2,08	5,0±1,73

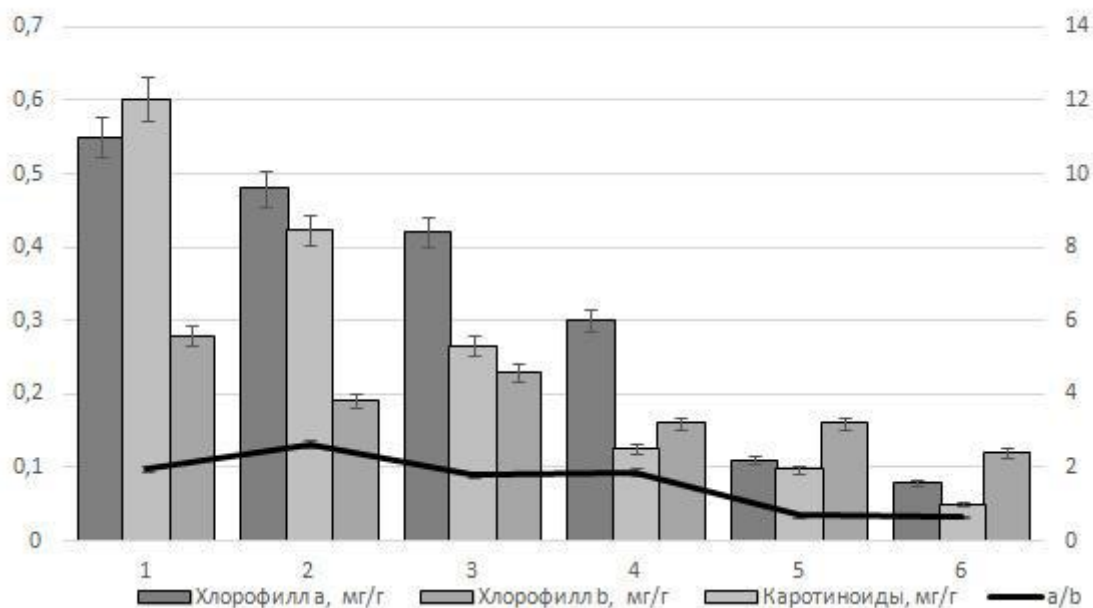


Рис. 4. Содержание фотосинтезирующих пигментов в растениях, инкубированных под светодиодным освещением с длиной волны 440–460 нм. *A. lanata*: 1–контроль; 2 – опыт; *C. roseus*: 3 – контроль; 4 – опыт; *D. purpurea*: 5 – контроль; 6 – опыт.

Содержание хлорофилла *a* у эрвы и барвинка выше хлорофилла *b* более чем в два раза, это соотношение сохраняется и после освещения. Очевидно, хлорофилл *a* более эффективный для процесса фотосинтеза, а роль хлорофилла *b* ограничивается передачей захваченной энергии на хлорофилл *a*. У наперстянки в контрольном варианте невысокое количество хлорофиллов. Снижение содержания зеленых пигментов преимущественно сопровождается торможением биосинтеза и накоплением хлорофилла *b*. У барвинка розового количество хлорофиллов на 22 % меньше, чем в эрвы шерстистой, а у наперстянки пурпурной хлорофиллов меньше, чем у барвинка (на 58 %). После инкубации под LED-освещением это соотношение изменяется на 31 % и 56 % соответственно.

Важную роль в процессе фотосинтеза играют каротиноиды, которые поглощают солнечную энергию и с помощью хлорофилла *a* передают ее в центр фотохимических реакций листа. Каротиноиды выполняют также защитные функции, в частности, предотвращают деструктивное фотоокисление органических соединений протоплазмы на свету, в присутствии свободного кислорода. Поэтому их количество может служить показателем стресса растений. В

нашем случае ни в одном варианте количество каротиноидов не повысилось, что свидетельствует о том, что подобное освещение не является серьезным стрессовым фактором для растений. А снижение содержания каротиноидов является основанием считать, что каротин участвует в передаче фотосинтетического сигнала в основном при освещении красным светом.

Известно, что при воздействии абиотических факторов стресса усиливается биосинтез общей суммы флавоноидов как компонента, который способен связывать образующиеся свободные радикалы. Поэтому нами проанализировано содержание флавоноидов в исследуемых растениях (рис. 5).

Небольшое увеличение содержания флавоноидов на 5 % под влиянием светодиодного облучения наблюдалось только у эрвы шерстистой. У барвинка розового содержание флавоноидов было меньше, чем в контрольном варианте, на 21,9 %, а у наперстянки этот показатель был ниже контрольного на 16,3 %, что подтверждает отсутствие повреждающего действия монохромного синего света на исследованные растения.

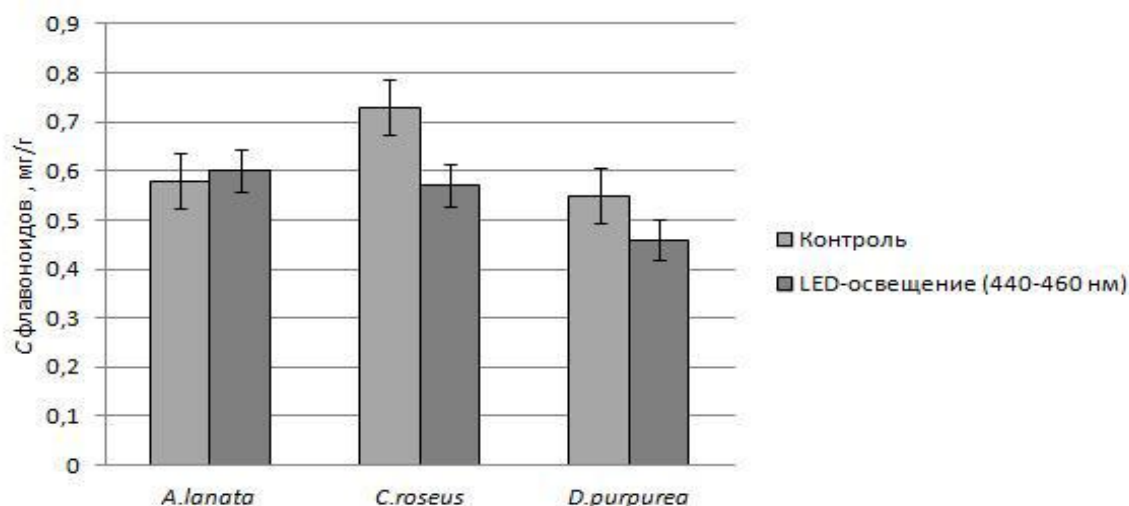


Рис. 5. Содержание флавоноидов в растениях и культуре клеток, выращенных под светодиодным освещением с длиной волны 440–460 нм.

Выводы

Таким образом, нами установлено, что выращивание растений *in vitro* под светодиодным освещением с длиной волны 440–460 нм вызывает в растениях адаптивные морфофизиологические изменения ксероморфного типа, а именно уплотнение тканей, уменьшение размеров листьев, сокращение количества и размеров корней и укорочение междоузлий. Снижается количество пигментов, что свидетельствует о нарушении нормального функционирования фотосинтезирующего аппарата. Уменьшение содержания флавоноидов свидетельствует о стабилизации физиологического статуса у растений после месячной инкубации в условиях относительного стресса.

Полученные результаты свидетельствуют о недостаточности монохромного освещения и необходимости подбора оптимального спектрального состава света, но данные об увеличении побегообразования под действием синего света могут быть полезны для мультипликации растений методом микроклонального размножения *in vitro*, а замедление роста побегов и укорочение междоузлий может быть использовано при выращивании рассады в условиях закрытого грунта.

Публикация содержит результаты исследований, проведенных при грантовой поддержке Государственного фонда фундаментальных исследований по конкурсному проекту Ф 73/85-2016.

Литература

1. Bourget C.M. An introduction to light-emitting diodes // HortScience. – 2008. – V. 43. – P. 1944–1946.
2. Morrow R.C. LED lighting in horticulture // HortScience. – 2008. – V. 43. – P. 1947–1950.
3. Hoenecke M.E., Bula R.J., Tibbitts T.W. Importance of 'Blue' photon levels for lettuce seedlings grown under red-light-emitting diodes // HortScience. – 2002. – V. 27. – P. 427–430.
4. Brown C.S., Schuerger A.C., Sager J.C. Growth and photomorphogenesis of pepper plants under red light-emitting diodes with supplemental blue or far-red lighting // J. Amer. Soc. Hort. Sci. – 1995. – V. 120. – P. 808–813.
5. Kopsell D.A., Sams C.E., Morrow R.C. Blue wavelengths from LED lighting increase nutritionally important metabolites in specialty crops // HortScience. – 2015. – V. 50. – P. 1285–1288.
6. Murashige I., Scoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plantarum. – 1962. – V. 15, N 3. – P. 473–497.
7. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in Enzymology. – 1987. – V. 148. – P. 350–382.
8. Gage T.B., Wende S.H. Quantitative determination of certain flavonol 3-glycosides // Anal. Chem. – 1950. – V. 22. – P. 708–711.

LIOSHINA L.H., BULKO O.V., PUSHKAROVA N.O., PETERSON A.A., KUCHUK M.V.

*Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of Natl. Acad. Sci. of Ukraine,
Ukraine, 03143, Kyiv, Akad. Zabolotnogo str., 148, e-mail: llioshina@ukr.net*

THE INFLUENCE OF LED LIGHTING ON *IN VITRO* GROWTH AND DEVELOPMENT OF SOME MEDICAL PLANTS

Aim. Modern light-emitting diodes cover all of the visible range of the optical spectrum and with the right LEDs color groups combination any spectral composition can be achieved. Also, the use of different wavelength combinations can influence plants grows and development. The aim of the present work was to study the monochrome blue LED lighting effect on the morphologic characteristics of some medical plants during *in vitro* cultivation. **Methods.** *Digitalis purpurea* L., *Aerva lanata* L. Juss. ex Schult. and *Cathranthus roseus* G. Don *in vitro* cultivated plants were used for monochrome blue LED lighting effect estimation. Spectrometric methods of photosynthetic pigments and flavonoid content estimation were used. **Results.** *In vitro* plants grows with 440–460 nm LED lighting causes adaptive morpho-physiological changes with pigments and flavonoids content decrease. An increase in shoots formation, plant grows deceleration and interstices shortening were also found. **Conclusions.** Obtained results suggest insufficiency of monochrome LED lighting and the need of optimal spectral composition determination for successful plants cultivation.

Keywords: LED lighting, *Digitalis purpurea* L., *Aerva lanata* L. Juss. ex Schult., *Cathranthus roseus* G. Don, morpho-physiological changes.