

ВПЛИВ СВІТЛОВИХ УМОВ ТА ДЖЕРЕЛ КАРБОНУ НА ВОДНИЙ РЕЖИМ РОСЛИН *IN VITRO* ВИДІВ РОДУ *GENTIANA L.*

Л. Р. ГРИЦАК¹ *orcid* 0000-0002-2872-5201, Д. А. ФЕДОРЧАК¹ *orcid* 0009-0000-6171-5788,
 Д. А. БОЙКО² *orcid* 0009-0000-6071-5209, Н. М. ДРОБИК¹ *orcid* 0000-0002-8927-8687

¹ Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка,
 Україна, 46027, м. Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2,

² Львівський національний університет природокористування,
 Україна, 80831, Львівська область, м. Дубляни, вул. Володимира Великого, 1,
 e-mail: hrytsak1972@gmail.com

Мета. Дослідити зміни водного балансу рослин *in vitro* рідкісних видів роду *Gentiana L.* (*Gentiana lutea L.*, *Gentiana punctata L.*, *Gentiana ascaulis L.*) залежно від світлових умов культивування та джерела карбону у складі живильного середовища. **Методи.** Культивування *in vitro* рослин, метод визначення інтенсивності транспірації, водного дефіциту, вологоутримуючої здатності, загального вмісту води у рослинах. **Результати.** Виявлено значні міжвидові відмінності у показниках параметрів водного балансу рослин *in vitro*, культивованих на сахарозі та маніті за різних світлових умов. Встановлено, що за культивування на сахарозі, показники інтенсивності транспірації є найвищими у рослин *in vitro* *G. lutea*, а найнижчі — у *G. ascaulis*. Показники вологоутримуючої здатності, не залежно від варіанту світлової корекції (СК), також є найнижчими у рослин *G. lutea*. Другу позицію займають рослини *G. punctata*, а найбільшою здатністю до утримування води володіють тканини рослин *G. ascaulis*. Щодо кількості води, яка припадає на одиницю маси сухої речовини, то найменше її містять рослини *G. ascaulis*, а найбільше — *G. punctata*. За імітації водного стресу інтенсивність транспірації у рослин *in vitro* досліджуваних видів, порівняно із варіантами культивування на сахарозі, знижується в 1,2–4,8 рази (1.1 варіант СК) та 1,4–5,3 рази (2.1 варіант СК). Вологоутримуюча здатність рослин також підвищується за імітації водного дефіциту, однак значення цього параметру залежить від популяційної приналежності та світлового режиму культивування. **Висновки.** Встановлено, що оптимізацією світлових умов росту рослин *in vitro* *G. lutea*, *G. punctata*, *G. ascaulis* можна цілеспрямовано впливати на механізми, що регулюють їх водний баланс, як в умовах високої відносної вологості культиваційного повітря та низького водного потенціалу живильних середовищ, спричиненого додаванням до його складу сахарози, так і за імітації водного стресу за використання маніту, як джерела карбону у складі живильного середовища. Показано, що незважаючи на однакові умови культивування, види відрізняються за показниками інтенсивності транспірації, водного дефіциту, вологоутримуючої здатності та загальним вмістом води.

Ключові слова. *Gentiana L.*, рослини *in vitro*, світловий режим, водний баланс.

Вступ. Важливим аспектом успішної адаптації рослин *in vitro* до умов *ex vitro* є їхня стійкість до дефіциту атмосферної та ґрунтової вологи (Pasternak, Steinmacher 2024). Це зумовлено тим, що умови *in vitro* характеризуються особливим водним режимом, зокрема: додавання до складу живильних середовищ вуглеводів знижує у 10 раз їх водний потенціал, порівняно із ґрунтовим, відносна вологість повітря у культиваційних емностях часто становить 95 % (Phillips, Garda, 2019). У комплексі це призводить до обмеженого поглинання кореневою системою води, слабкого розвитку провідних тканин, припинення функціонування продигового апарату (Darwesh, 2015; Mohammed et al., 2023), що відображається не лише на показниках параметрів інтенсивності транспірації, водного дефіциту, вологоутримуючої здатності та оводненості рослин *in vitro*, але й призводить до розбалансування деяких процесів, що регулюють водний режим. Для підвищення адаптивного потенціалу рослин *in vitro* до умов *ex vitro* та *in situ*, пришвидшення їх росту, необхідно оптимізувати декілька чинників, пов'язаних із потребами у мінеральному живленні, регуляторах росту, вологості, складу газів, умовами освітлення, температурою та доступним об'ємом культурального посуду (Shiwani et al., 2022).

У науковій літературі обговорюються результати моделювання осмотичного стресу в умовах *in vitro* з використанням осмотичних агентів (Gao et al., 2018), впливу регуляторів росту та елементів мінерального живлення на водний режим рослин (Pasternak, Steinmacher, 2024). Проте, впливу світла на водний баланс рослин *in vitro* приділяється значно менше уваги, висвітлюючи лише окремі аспекти цієї проблематики. Зазначають, що використання лише синіх та червоних світлодіодів для освітлення рослин *in vitro* *Dianthus caryophyllus* L. дозволяє зменшити оводненість їх пагонів до контрольного рівня без зміни структури білків мембрани тилакоїдів і механізмів антиоксидантного захисту (Muneeq et al., 2016). Комбінація червоних і синіх світлодіодів у співвідношенні 1 : 1 зменшує на 39 % загальний вміст води у листках пагонів *Lippia grata* Schauer, порівняно з контрольними світловими умовами вирощування (Lotfi et al., 2020). Тому, вивчення динаміки параметрів водного режиму рослин *in vitro* за зміни фізико-хімічних умов їх культивування, є необхідною умовою розробки підходів до цілеспрямованого керування водообмінними процесами. Це поглиблює наші знання щодо реакції рослин *in vitro* на зміни факторів середовища існування та дозволяє краще оцінити їх адаптивний потенціал. Однак, це складний процес, який вимагає масштабних досліджень із використанням рослин різних таксономічних груп, що відрізняються амплітудою екологічної валентності по відношенню до омброрежиму, радіаційного балансу, терморезиму тощо. Як модельні об'єкти можна використовувати й високогірні види із вузьким діапазоном толерантності до багатьох абіотичних чинників, до яких належать й рідкісні види роду *Gentiana* L.: *Gentiana lutea* L., *Gentiana punctata* L., *Gentiana acaulis* L.

Виходячи із вище сказаного, мета нашої роботи полягала у дослідженні змін водного балансу рослин *in vitro* рідкісних видів роду *Gentiana* залежно від світлових умов культивування та джерела карбону у складі живильного середовища.

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень слугували рослини *in vitro* *G. lutea*, *G. punctata*, *G. acaulis*, отримані з насіння, зібраного у їх природних популяціях (Українські Карпати, хр. Чорногора: *G. lutea* — г. Пожижевська, г. Шешул-Павлик; *G. punctata* — г. Брескул; *G. acaulis* — г. Брескул). Насіння піддавали стандартним схемам стерилізації (Страшнюк та ін., 2002, 2002b, 2004). З метою покращення стимуляції проростання, насіння попередньо обробляли розчинами

перманганату калію та гіберелової кислоти та висаджували на агаризоване живильне середовище МС/2 (середовище МС з половинним вмістом макро- та мікросолей) без регуляторів росту (Murashige, Skoog, 1962). Отримані проростки переносили на рідке живильне середовище МС/2, доповнене 0,1 мг/л кінетину (Кін) (*G. lutea*) або 0,1 мг/л 1-нафтилоцтовою кислотою (НОК) (*G. punctata*, *G. acaulis*) та різними джерелами карбону (сахарози або маніту). Оптимальні концентрації сахарози та маніту для кожного виду визначали експериментально з урахуванням попередніх досліджень (Mayorova et al., 2015), тому тестували 2 варіанти живильних середовищ МС/2, доповнених сахарозою 10 г/л (або 1 %) чи манітом у концентрації 3 г/л (або 0,3 %).

Усі дослідні варіанти рослин *in vitro* вирощували за температури 18–19 °С, фотоперіоду 16/8, інтенсивності світлового потоку в області фотосинтетично активної радіації (ФАР) 85–100 Вт/м² та різних комбінацій спектрального складу світла:

- 1.1 варіант світлової корекції (СК): 85 Вт/м², спектральний склад такого співвідношення хвиль синього (Ес) (400–500 нм) до зеленого (Ез) (500–600 нм) та червоного (Еч) (600–700 нм) діапазонів: Ес : Ез : Еч = 33 % : 42 % : 25 %;
- 2.1 варіант СК: 100 Вт/м², спектральний склад: Ес : Ез : Еч = 25 % : 27 % : 48 %.

Для з'ясування впливу інтенсивності освітлення та спектрів випромінювання використовували люмінесцентні лампи Lumilux 36W 840 холодного білого світла (ЛХБ) та фітолампи Fluora L36W/77 G13 (ФЛ) фірми «OSRAM» (Німеччина).

Водний режим рослин оцінювали за показниками загального вмісту води в листках (WCF), водного дефіциту (WSD), інтенсивності транспірації (Е) та вологоутримувальної здатності листків (WL) ваговим методом. У кожній особини *in vitro* було вилучено по 2 листка із середнього ярусу розетки. Для дослідження було відібрано 15 рослин *in vitro* досліджених видів.

Інтенсивність транспірації (Е), (мг води/см²год) розраховували за формулою:

$$E = (M_0 - M_3) \times 20/S, \quad (1.1)$$

де M_0 і M_3 — маса листка відразу після збору і через 3 хвилини відповідно, S — площа листка, 20 — коефіцієнт перерахунку хвилин у години. Площу листка визначали за використання мобільної програми *Petiole* і мобільного додатку до неї *OpenCV Manager*.

Вологоутримуючу здатність визначали за формулою:

$$WL = (FWt_0 - DWt) - (FWt - DWt) \times 100 / (FWt_0 - DWt), \quad (1.2)$$

де WL — відсоток втраченої води; FWt_0 — початкова маса свіжих листків; FWt — маса свіжих листків через 2 год; DWt — суха маса листків (Đurković et al., 2009).

Дефіцит водного насичення (WSD) і вміст води у свіжій наважці (WCf) розраховували за формулами:

$$WSD = (Ws - Wf) / (Ws - Wd) \times 100 (\%), \quad (1.3)$$

$$WCf = Wf - Wd / Wd \left(\text{г}_{\text{води}} \times e^{-1} \text{сух.маси} \right), \quad (1.4)$$

де Wf і Wd — свіжа і суха маса листків відповідно; Ws — маса листків після насичення (Catsky, 1960).

Результати та обговорення

Узагальнення результатів дослідження показало, що водний баланс рослин *in vitro* є видоспецифічним і залежить від світлових умов їх культивування та від джерела карбону у складі живильного середовища. Так, за культивування на сахарозі, у рослин *in vitro G. lutea* в умовах 2.1 варіанту СК інтенсивність транспірації та показники водного дефіциту є вищими, порівняно із 1.1 варіантом (табл. 1). Однак, значення цих параметрів залежать від популяційної приналежності. Зокрема, у рослин з г. Пожижевська показники транспірації зростають на 10,5 %, а водного дефіциту — на 43,61 %. У випадку рослин з г. Шешул-Павлик, ці значення становлять вже 33,3 % та 28,4 %, відповідно. Більш високі транспіраційні втрати води у рослин з 2.1 варіанту культивування, ймовірно, обумовлені особливістю спектрального складу світла цього варіанту СК, у якому високою є частка Еч діапазону, до складу якого (виходячи із спектрального складу фітоламп) входять й хвилі дальнього червоного спектру. Відомо, що хвилі області біля 700 нм і вище володіють тепловим ефектом. Це підвищує температуру листка, що й збільшує інтенсивність транспіраційних процесів. Посилення транспірації у рослин 2.1 варіанту супроводжується й швидшим переміщенням води та, відповідно, посиленням постачанням у надземні органи мінеральних солей і сахарози. Це призводить до швидшого накопичення рослинами біомаси, що є одним із чинників, який обумовлює кращі морфо-та алометричні параметри рослин *G. lutea* з 2.1 варіанту СК.

Відмінність світлових умов росту позначається й на інших параметрах водного балансу рослин. Так, за вищих транспіраційних втрат і вищого водного дефіциту рослин *G. lutea* (культивованих на сахарозі) з 2.1 варіанту СК, вологоутримуюча здатність листків знижується на 6,44 % (г. Пожижевська) та 11,2 % (г. Шешул-Павлик). Це вказує на низький вміст речовин-осмолітів у

рослинних тканинах. Як зазначалося вище, інтенсивність поглинання поживних речовин із живильного середовища за таких світлових умов є більшою. Тому, така невідповідність між значним надходженням мінеральних речовин і сахарози із живильного середовища та низьким вмістом речовин-осмолітів у клітинному соці, дозволяє припустити лише активне використання цих речовин в якості «будівельного матеріалу» для утворення нових клітин тканин.

На користь цього свідчить збільшення показників приросту біомаси рослин *G. lutea* з 2.1 варіанту СК і зниження загального вмісту води у тканинах на одиницю маси сухої речовини на 21,04 % (г. Пожижевська) і 1,9 % (г. Шешул-Павлик). Останнє пов'язано з тим, що вода є необхідним компонентом для забезпечення біохімічних реакцій, тому її втрати за інтенсивнішого синтезу органічної речовини збільшуються.

Щодо видів *G. punctata* та *G. acaulis*, то статистично достовірно показники інтенсивності транспірації у їхніх рослин за умов обох варіантів СК не відрізняються. Відомо, що із підвищенням значення висоти над рівнем моря, у спектральному складі світла збільшується частка хвиль дальнього Еч діапазонів. Можна припустити, що підвищення температури листків рослин *in vitro G. punctata* та *G. acaulis* в умовах 2.1 варіанту СК не виходить за межі діапазону оптимуму. Тому й не спостерігається підвищення інтенсивності транспіраційних процесів. Серед інших досліджених параметрів у рослин *G. punctata* за світлового режиму 2.1 варіанту лише водний дефіцит збільшується в 1,47 рази; показники вологоутримуючої здатності зростають на 2,2 %, а загальний вміст води знижується на 2,05 % (табл. 1). Проте, навіть така динаміка параметрів вказує на перебудову механізмів, що регулюють водний баланс рослин за зміни світлових умов культивування рослин *G. punctata*.

Таблиця 1. Залежність параметрів водний баланс рослин *in vitro* видів роду *Gentiana* L. від фізико-хімічних умов культивування, $n = 10$, $x \pm SD$

Вид	Популяція	Світловий режим	Джерело карбону	Інтенсивність транспірації (E), $\Gamma_{\text{води}} / \text{см}^2 \text{ год}$	Водний дефіцит (WSD), %	Вологотримуюча здатність (WL), %	Загальний вміст води (WCF)	
							$\Gamma_{\text{води}} \times \Gamma^{-1}$	$\frac{\text{сук.маси}}{\%}$
<i>Gentiana lutea</i>	г. Пожижевська	1.1 варіант	сахароза	0,051 ± 0,009	4,28 ± 0,67	86,72 ± 8,71	6,9 ± 1,98	86,75 ± 3,11
			маніт	0,015 ± 0,002	10,26 ± 1,9	62,38 ± 7,6	4,59 ± 1,67	85,59 ± 0,74
	2.1 варіант	сахароза	0,057 ± 0,009	7,59 ± 0,81	92,69 ± 3,66	5,45 ± 0,46	84,45 ± 1,03	
		маніт	0,022 ± 0,002	9,92 ± 1,46	74,11 ± 7,08	4,26 ± 1,44	82,52 ± 2,34	
	<i>in situ</i> *	—	0,004 ± 0,001	8,84 ± 0,25	13,33 ± 3,15	4,08 ± 0,62	80,1 ± 2,31	
	гг. Шешуп-Павлик	1.1 варіант	сахароза	0,046 ± 0,009	5,95 ± 1,3	78,43 ± 7,83	6,34 ± 1,21	86,06 ± 2,13
маніт			0,011 ± 0,002	13,8 ± 2,83	76,20 ± 5,55	5,14 ± 0,75	83,51 ± 1,87	
<i>Gentiana punctata</i>	г. Брескул	1.1 варіант	сахароза	0,069 ± 0,007	8,31 ± 0,97	88,33 ± 5,79	6,22 ± 1,03	85,89 ± 1,94
			маніт	0,013 ± 0,002	10,42 ± 1,84	81,78 ± 7,42	4,49 ± 0,78	80,93 ± 4,25
	2.1 варіант	сахароза	0,016 ± 0,004	3,44 ± 0,64	79,86 ± 8,36	7,0 ± 1,19	87,23 ± 1,76	
		маніт	0,010 ± 0,003	14,72 ± 1,99	71,13 ± 6,42	4,06 ± 0,32	79,81 ± 1,25	
	<i>in situ</i> *	—	0,006 ± 0,001^c	13,72 ± 0,42	24,57 ± 4,06	4,06 ± 0,32	80,19 ± 1,25	
		г. Брескул	1.1 варіант	сахароза	0,011 ± 0,002	8,56 ± 0,68	42,95 ± 11,59	5,56 ± 1,81
<i>Gentiana acaulis</i>	г. Брескул	1.1 варіант	сахароза	0,009 ± 0,001	3,94 ± 0,97	61,89 ± 6,10	2,85 ± 0,23	73,96 ± 1,66
			маніт	0,010 ± 0,003	6,39 ± 0,85	36,39 ± 7,93	3,75 ± 1,07	77,72 ± 6,10
	2.1 варіант	сахароза	0,007 ± 0,001	4,87 ± 0,76	74,58 ± 4,57	3,45 ± 0,54	77,26 ± 2,93	
		маніт	0,031 ± 0,004^a	9,26 ± 1,10	32,92 ± 3,76	3,97 ± 0,64	79,61 ± 2,85	
	<i>in situ</i> *	—	0,009 ± 0,001^b	7,00 ± 1,09	23,79 ± 3,14	3,60 ± 0,59	77,93 ± 2,95	
	<i>in situ</i> **	—	—	—	—	—	—	—

Примітки: * — параметри рослин іматурної групи за 2024 рік, ** — параметри рослин віргінільної групи за 2024 рік.

Дещо по-іншому реагує водний баланс рослин *G. acaulis* на зміну режиму освітлення. За культивування в умовах 2.1 варіанту показники інтенсивності транспірації знижуються лише на 9,09 %; водний дефіцит, на відміну від інших видів, навпаки, зменшується в 1,34 рази. Вологоутримуюча здатність рослин *G. acaulis* є найвищою серед досліджених видів. У рослин цього виду за 2.1 варіанту СК вологоутримуюча здатність тканин підвищується на 15,27 %, а кількість води в одиниці маси сухої речовини знижується на 32,5 %. Висока концентрація речовин-осмолітів у клітинах створює градієнт водного потенціалу, що збільшує надходження води у клітину (Мусієнко М. М., Жук, 2009) та, відповідно, й кількість зв'язаної води (Сенчишина, 2005). Ймовірно, саме тому водний дефіцит рослин за 2.1 варіанту СК знижується.

Виявлені відмінності параметрів водного балансу вказують на те, що корекцією світлового режиму культивування можна ініціювати перебудову механізмів, що регулюють водообмінні процеси цих видів, навіть за специфічних умов культивування *in vitro*, зокрема, високої відносної вологості культивацийного повітря та низького водного потенціалу живильних середовищ, спричиненого додаванням до його складу сахарози. Це призводить, з одного боку, до більш інтенсивного поглинання води та кращого функціонування кореневої та провідної систем (Oliveira et al., 2018), а з іншого, — сприяє більшому надходженню поживних речовин разом із водою, що стимулює накопичення біомаси рослинами.

Проте, стійкість рослин *in vitro*, культивованих на живильних середовищах, що містять сахарозу, до дефіциту атмосферної та ґрунтової вологи є низькою. На це вказують як показники параметрів їх водного балансу, так й отримані нами результати щодо адаптації таких рослин до умов *ex vitro*. Саме тому, одне із завдань нашого дослідження полягало у вивченні динаміки водного балансу рослин *in vitro* досліджуваних видів за заміни джерела карбону у складі живильного середовища з сахарози на маніт. Така модифікація живильного середовища здатна імітувати водний стрес у рослин (Пикало та ін., 2015b). Маніт, на відміну від високомолекулярного поліетиленгліколю, є низькомолекулярним. Він здатний проникати у рослинну клітину, знижувати нормальний водний потенціал і тим самим спричинювати зневоднення та гальмування низки фізіологічних і метаболічних процесів (Пикало та ін., 2015b). Стійкість до осмотичного стресу формується на клітинному рівні (Пикало, Дубровна, 2015). Тому, за попереднього вирощування рослин *in vitro* на живильних середовищах із мані-

том, значно збільшується їхня витривалість до посухи й у польових умовах (Пикало, Дубровна, 2015). Окрім того, згідно з літературними даними (Пикало, Дубровна, 2017), підвищення осмотичності на клітинному рівні може сприяти формуванню толерантності рослин одночасно до багатьох абіотичних стресів, здатних спричинити зневоднення клітин. У контексті глобальних кліматичних змін, отримання в умовах культури *in vitro* більш стійкого до низки абіотичних стресових чинників посадкового матеріалу рідкісних видів роду *Gentiana*, збільшить їх шанси на виживання в природі. Проте зазначають, що найбільш надійну оцінку стійкості рослини до того чи іншого стресора можна отримати лише за аналізу її життєвих показників в умовах штучно змодельованого стресового чинника (Пикало, Дубровна, 2015). Саме тому, вивчення особливостей протікання водообмінних процесів рослин *in vitro* видів роду *Gentiana* в умовах водного дефіциту, дозволяє сформулювати уявлення щодо можливих шляхів підвищення їхньої стійкості до нестачі вологи ще на етапі культивування *in vitro*.

При цьому, було досліджено динаміку параметрів водного балансу не лише за штучної імітації посухи (як контроль використовували рослини, культивовані на середовищі з сахарозою), але й залежно від світлових умов культивування.

Встановлено, що у рослин *in vitro* *G. lutea* за водного стресу інтенсивність транспірації за 1.1 варіанту СК знижується у 3,4 рази (г. Пожижевська) і 4,18 рази (гг. Шешул-Павлик); за умов 2.1 варіанту — у 2,59 рази та 5,3 рази, відповідно, порівняно із особинами, культивованими на середовищі з сахарою. Зниження інтенсивності транспірації підтверджує ефективність використання маніту, навіть у невисокій концентрації (3 г/л), для імітації стану водного стресу у рослин *G. lutea*. На фоні зниження інтенсивності транспірації, показники водного дефіциту у рослин, порівняно із контролем, зростають, зокрема: за світлових умов 1.1 варіанту у 2,4 рази (г. Пожижевська) та 2,32 рази (гг. Шешул-Павлик); у рослин з 2.1 варіанту значення різниці є меншими — у 1,3 рази (г. Пожижевська) та 1,25 рази (гг. Шешул-Павлик). Останнє пояснюється й більш високими вихідними показниками водного дефіциту рослин контролю, культивованих за цих же світлових умов. Вологоутримуюча здатність рослин теж за імітації водного дефіциту у рослин підвищується. Однак, значення цього параметру залежать від популяційної приналежності та світлового режиму культивування. Вони є вищими на 2,84–7,41 % (гг. Шешул-Павлик) та 20,04–28,07 % (г. Пожижевська), порівняно зі значеннями цього параметру у рослин, які культивували на саха-

розі. Також у рослин, культивованих на маніті, зменшується й кількість води в одиниці маси сухої речовини. Усе це вказує на підвищення вмісту речовин осмолітів у клітинах рослин та, відповідно, на підвищення їхньої стійкості до нестачі атмосферної та ґрунтової вологи в умовах *ex vitro*.

Окрім того встановлено, що параметри водного балансу рослин, культивованих на маніті, залежать від світлових умов їх росту. Так, міжваріантне порівняння показників інтенсивності транспірації рослин показало, що за умов 2.1 варіанту СК вони є вищими на 31,8 % (г. Пожижевська) і 15,38 % (г. Шешул-Павлик), що теж, ймовірно, є реакцією на підвищення температури листка під впливом хвиль Еч діапазону ФАР. На фоні більш високих транспіраційних втрат за 2.1 варіанту СК, показники водного дефіциту рослин є нижчими на 3,3–24,5 %, залежно від популяційної приналежності. Це суперечить, на перший погляд, загально відомій закономірності: чим інтенсивнішою є транспірація, тим вищим є рівень водного дефіциту (Сенчишина, 2005). Пояснити такі розбіжності можна лише із врахуванням значень параметрів інших показників водного балансу за 2.1 варіанту СК. Встановлено, що вологоутримуюча здатність рослин знижується за даних умов на 6,8–15,8 %, що вказує на зменшення вмісту речовин-осмолітів. Проте, зменшення кількості води в одиниці маси сухої речовини на 7,2–12,6 % свідчить про інтенсивне метаболічне перетворення води. Детальніший аналіз змін водного балансу рослин *G. lutea*, культивованих за світлого режиму 2.1 варіанту в умовах штучної імітації посухи, потребує врахування й того факту, що у рослин, стійкіших до нестачі води, показники водного дефіциту є нижчими (Орлова, Власенко, 2015).

Отже, можна припустити, що використання маніту підвищує перехресну стійкість рослин одночасно до двох чинників: нестачі вологи та більш високих температур. Це узгоджується з висновками інших дослідників, що осмоліти можуть мати додаткові функції в стресостійкості, включаючи здатність стабілізувати білки і пом'якшувати окислювальний стрес, який може виникати, коли рослини піддаються дефіциту води (Bray, 2007). На адаптацію до існування в умовах підвищеної температури вказує посилення транспіраційних процесів за світлового режиму 2.1 варіанту. Аналогічні процеси спостерігалися й у рослин, культивованих на сахарозі. Однак, підвищення інтенсивності транспірації в умовах водного дефіциту, вимагає інтенсивнішої роботи регуляторних механізмів для зменшення небезпеки термічного шоку. Додаткові наші дослідження показують, що за культивування на маніті зро-

стає концентрація фотосинтетичних пігментів, покращується й функціонування фотосинтетичного апарату. Припускаємо, що це супроводжується й активнішим синтезом ендogenous цукрів, збільшення концентрації яких у клітинному соці відбувається у поєднанні з транспіраційними процесами. Ці месенджери ініціюють відповідні сигнальні шляхи, що впливають на регуляторні системи, які забезпечують інтенсивніше надходження води із живильного середовища. Ймовірно, це й впливає на показники водного дефіциту рослин, які за даних світлових умов є нижчими, порівняно із 1.1 варіантом. Водночас, рослини *in vitro G. lutea* з 2.1 варіанту СК характеризуються більшим приростом біомаси надземних і підземних органів. Такі морфо-фізіологічні зміни обов'язково супроводжуються активізацією метаболічних процесів, інтенсивнішим використанням води, екзогенних та ендogenous речовин. Тому, синтезовані вуглеводи не накопичуються у клітинах, а використовуються у процесах метаболічного і пластичного обміну, зокрема, стабілізують мембрани та білки (Сенчишина, 2005). Саме з цієї позиції й можна пояснити нижчу вологоутримуючу здатність рослин за 2.1 варіанту СК, меншу кількість води у перерахунку на одиницю маси сухої речовини та вищий приріст останньої.

Така низка морфо-фізіологічних змін є частиною стратегії, що й дозволяє зменшити наслідки нестачі води для рослин та впливу на них підвищених температур. Можна припустити, що інтенсивніші водообмінні процеси у рослин *G. lutea* з 2.1 варіанту СК сприяють збільшенню поглинаючої здатності кореневої системи та кращому функціонуванню провідної систем, що є важливою умовою успішної адаптації рослин *in vitro* до умов *ex vitro*.

Імітація водного стресу позначається й на параметрах водного балансу рослин *in vitro G. punctata*. Інтенсивність транспірації, порівняно із варіантами культивування на сахарозі, знижується в 1,6 рази (1.1 варіант) та 1,9 рази (2.1 варіант). Щодо водного дефіциту, то його показники, порівняно із контролем, зростають у 4,28 рази за 1.1 варіанту СК та у 3,23 рази за 2.1 варіанту СК. Це найвищий показник серед досліджених видів, що вказує або на низьку поглинальну здатність кореневої системи у таких умовах, або на слабкий розвиток і функціонування тканин провідної системи. Тим більше, що вологоутримуюча здатність видів підвищується на 10,9 % (1.1 варіант СК) і 11,45 % (2.1 варіант СК). Останнє є ознакою відновлення функціонування фотосинтетичного апарату рослин, на що й вказує не лише збільшення вмісту фотосинтетичних пігментів у рос-

линах за культивування на живильних середовищах, до складу яких додано маніт, але й частки хлорофілу а (неопубліковані дані), який визначає продуктивність рослин. Тому, можна припустити, що за таких умов збільшується синтез вуглеводів та інших осмолітів, що й підвищує вологоутримуючу здатність рослин. Однак, зменшення кількості води у сухій речовині на 42 % (за 1.1 варіанту) та 48 % (за 2.1 варіанту), порівняно із контролем, вказує на активізацією біохімічних процесів, що підвищує використання води. За низької швидкості її надходження із живильного середовища й створюється такий значний водний дефіцит.

Аналіз показників параметрів водного балансу рослин, культивованих на маніті, залежно від світлових умов їх росту показав, що за режиму 2.1 варіанту СК транспіраційні втрати води рослинами *G. punctata* зменшуються на 20 %. Значення водного дефіциту також є вищим на 9,69 % за даних умов освітлення. Більшою на 2,83 % є вологоутримуюча здатність, тоді як частка води зменшується на 13,79 %, що вказує на більшу активізацію систем, які регулюють водний баланс за світлових умов 2.1 варіанту СК. Водночас, невідповідність процесів, що контролюють швидкість надходження води та її використання клітинами, збільшення показників водного дефіциту у рослин *G. punctata*, вказує на повільнішу перебудову механізмів, які визначають функціонування систем, що регулюють водний баланс. Як результат — у рослин *G. punctata* може бути дещо нижча стійкість до нестачі води, порівняно із іншими видами.

Щодо рослин *in vitro G. acaulis*, то в умовах штучного водного стресу, інтенсивність транспірації у них, порівняно із контролем, знижується: за умов 1.1 варіанту на 18,2 %, а 2.1 варіанту — на 30 %. Це найнижчий показник серед досліджених видів. При цьому, водний дефіцит за 1.1 варіанту СК зменшується на 53,97 %, а 2.1 — на 23,78 %, порівняно із контролем. Показники вологоутримуючої здатності у рослин цього виду на сахарозі є найвищими, а в умовах штучної посухи зменшуються на 30,6 % (1.1 варіант) і 51,2 % (2.1 варіант), порівняно із контролем. Як вже зазначалося вище, у рослин стійкіших до нестачі води, показники водного дефіциту є нижчими (Орлова, Власенко, 2015). Тому, отримані нами результати лише вказують на генетично обумовлену підвищену стійкість рослин *G. acaulis* до дефіциту вологи. Регулюючі системи, що контролюють водний баланс, здатні швидко перелаштовуватися та підтримувати певний рівень водонасичення тканин навіть в умовах водного стресу. Це позначається як на прирості біомаси рослин та їх ростових проце-

сах, так і забезпечує високий адаптивний потенціал до умов *ex vitro*.

Висновки

Встановлено, що оптимізацією світлових умов росту рослин *in vitro G. lutea, G. punctata, G. acaulis* можна цілеспрямовано впливати на механізми, що регулюють їх водний баланс, як в умовах високої відносної вологості культивацийного повітря та низького водного потенціалу живильних середовищ, так і за імітації водного стресу, викликаного додаванням сахарози або маніту. Показано, що, незважаючи на однакові умови культивування, види відрізняються за показниками інтенсивності транспірації, водного дефіциту, вологоутримуючої здатності та загальним вмістом води. Використання світлового режиму інтенсивністю потоку фотонів 100 Вт/м² із співвідношенням діапазонів хвиль Ес : Ез : Еч = 25 : 27 % : 48 % у області фотосинтетично активної радіації є найбільш оптимальним серед протестованих світлових умов для відновлення функціонування провідних систем рослин *in vitro*.

Перелік літератури

1. Bray E. A. Plant Response to Waterdeficit Stress. *Encyclopedia of life sciences*. 2007. P. 1–7.
2. Catsky J. Determination of water deficit in disks cut out from leaf blades. *Biologia Plantarum*. 1960. № 2(1). P. 76–78.
3. Darwesh R. S. S. Morphology, physiology and anatomy in vitro affected acclimatization ex vitro date palm plantlets: A Review. *International Journal of Chemical, Environmental & Biological Sciences (IJCEBS)*. 2015. Vol. 3, Iss. 2. P. 183–190.
4. Đurković J., Čaňová I., Pichle V. Water loss and chlorophyll fluorescence during ex vitro acclimatization in micropropagated black mulberry (*Morus nigra* L.). *Propagation of Ornamental Plants*. 2009. Vol. 9, № 2. P. 107–112.
5. Gao H., Li J., Ji H., An L., Xia X. Hyperhydricity-induced ultrastructural and physiological changes in blueberry (*Vaccinium* spp.). *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2018. Vol. 133. P. 65–76.
6. Lotfi M., Bayouh C., Werbrouck S., Mars M. Effects of meta-topolin derivatives and temporary immersion on hyperhydricity and in vitro shoot proliferation in *Pyrus communis*. *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 2020. Vol. 143. P. 499–505.
7. Mohammed M., Munir M., Ghazzawy H. S. Design and evaluation of a smart ex vitro acclimatization system for tissue culture plantlets. *Agronomy*. 2023. 13(1):78. <https://doi.org/10.3390/agronomy13010078>.
8. Muneer S., Soundararajan P., Jeong B. R. Proteomic and antioxidant analysis elucidates the underlying mechanism of tolerance to hyperhydricity stress in in vitro shoot cultures of *Dianthus caryophyllus*. *J. Plant Growth Regul.* 2016. Vol. 35. P. 667–679.
9. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 1962. Vol. 15(3). P. 473–97.
10. Mayorova O. Yu., Hrytsak L. R., Drobyk N. M. Adaptation of *Gentiana lutea* L. plants obtained in vitro to ex vitro and in situ condition. *Biotechnologia Acta*. 2015. Vol. 8, № 6. P. 77–86.
11. Oliveira L., Cardoso M. N., Oliveira A., Machado C., Cardoso B., Silva A., Léo A. Effects of in vitro drought stress

- on growth, proline accumulation and antioxidant defense in sugarcane. *Journal of Agricultural Science*. 2018. Vol. 10, № 5. P. 135–149. doi: 10.5539/jas.v10n5p135.
12. Pasternak T. P., Steinmacher D. Plant growth regulation in cell and tissue culture *in vitro*. *Plants*. 2024. Vol. 13, 327. <https://doi.org/10.3390/plants13020327>.
 13. Phillips G. C., Garda M. Plant tissue culture media and practices: An overview. *Vitr. Cell. Dev. Biol. Plant*. 2019. Vol. 55. P. 242–257.
 14. Shiwani K., Sharma D., Kumar A. Improvement of plant survival and expediting acclimatization process. In: Gupta S., Chaturvedi P. (eds) *Commer scale tissue cult hortic plant crops*. Springer, Singapore. 2022. P. 277–291.
 15. Musiienko M. M., Zhuk I. V. Molecular mechanisms of induction of protective reactions of plants under drought conditions. *Ukrainskyi botanichnyi zhurnal*. 2009. T. 66, № 4. S. 580–595 [in Ukrainian].
 16. Orlova L. D., Vlasenko N. A. Water deficit of meadow plants of the left-bank forest-steppe of Ukraine. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*. Poltava: PNPU imeni V. H. Korolenka. 2015. T. 2 (125), Vyp. 4. S. 84–87 [in Ukrainian].
 17. Pykalo C. V., Dubrovna O. V. Cross resistance of cell lines and regenerative plants of winter triticale to abiotic stress factors. *Plant Varieties Studying and protection*. 2017. Vol. 13, № 4. S. 387–395 [in Ukrainian].
 18. Pykalo C. V., Dubrovna O. V. Resistance to abiotic stressors of r1 triticale plants obtained by cell selection. *Visnyk Kharkivskoho natsionalnoho ahrarnoho universytetu*. Serii «Biolohiia». 2015. Vyp. 3 (36). S. 76–82 [in Ukrainian].
 19. Pykalo S. V., Zinchenko M. O., Voloshchuk S. I., Dubrovna O. V. In vitro selection of winter triticale for resistance to water deficit. *Biotechnologia Acta*. V. 8, No 2. 2015b. S. 69–77 [in Ukrainian].
 20. Senchyshyna I. Characteristics of water exchange in representatives of the genus *Acer* L. *Visnyk Lvivskoho universytetu*. Serii biologichna. 2005. Vyp. 40. S. 166–173. [in Ukrainian]
 21. Strashniuk N. M., Hrytsak L. R., Leskova O. M. The use of biotechnological methods for the conservation of *Gentiana acaulis* L. in the Ukrainian Carpathians. *Naukovyi visnyk Chernivetskoho universytetu : zbirnyk nauk. prats*. Vyp. 145: Biolohiia. 2002. C. 154–159 [in Ukrainian].
 22. Strashniuk N. M., Hrytsak L. R., Leskova O. M., Hrubinko V. V. Peculiarities of introduction into *in vitro* culture of medicinal species *Gentiana punctata* L. *Naukovi zapysky Ternopiiskoho derzhavnogo pedahohichnoho universytetu imeni Volodymyra Hnatiuka*. Serii: Biolohiia. 2002. № 1(16). S. 91–96 [in Ukrainian].
 23. Strashniuk N. M., Hrytsak L. R., Leskova O. M., Melnyk V. M. Introduction to *in vitro* culture of some species of *Gentiana* L. *Fiziolohiia i biokhimiia kulturnykh roslyn*. 2004. T. 36, № 4. C. 327–334 [in Ukrainian].

THE INFLUENCE OF LIGHT CONDITIONS AND CARBON SOURCES ON THE WATER BALANCE OF *IN VITRO* PLANTS OF THE GENUS *GENTIANA* L.

L. R. Hrytsak¹, D. A. Fedorchak¹, D. A. Boiko², N. M. Drobyk¹

¹Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University, M. Kryvonos Str, 2, Ternopil, Ternopil Region, 46000

²Lviv National University of Environmental Management, Volodymyr Velyky Str., 1, Dublyany, Lviv region, 80831 e-mail: hrytsak1972@gmail.com

Aim to study the changes in the water balance of plants *in vitro* of rare species of the genus *Gentiana* L. (*Gentiana lutea* L., *Gentiana punctata* L., *Gentiana acaulis* L.) depending on the light conditions of cultivation and the source of carbon in the culture medium. **Methods.** *In vitro* cultivation of plants, method of determination of transpiration intensity, water deficit, water-holding capacity, total water content in plants. **Results.** Significant interspecific differences in the parameters of water balance of plants *in vitro* cultivated on sucrose and mannitol under different light conditions were revealed. It was found that during cultivation on sucrose, the transpiration intensity was the highest in *G. lutea in vitro* plants, and the lowest in *G. acaulis*. Indicators of water holding capacity, regardless of the variant of SC, are also the lowest in *G. lutea* plants. The second position is occupied by *G. punctata* plants, and the tissues of *G. acaulis* plants have the highest water retention capacity. Regarding the amount of water per unit mass of dry matter, the least of it is contained in *G. acaulis* plants, and the most — in *G. punctata* plants. Under simulated water stress, the intensity of transpiration in *in vitro* plants of the studied species, compared to the sucrose cultivation variants, decreases by 1.2–4.8 times (1.1 variant SC) and 1.4–5.3 times (2.1 variant SC). The water-holding capacity of plants also increases under simulated water deficit in plants, but the values of this parameter depend on the population and light regime of cultivation. **Conclusions.** It has been established that optimization of light conditions for *in vitro* growth of *G. lutea*, *G. punctata*, and *G. acaulis* species can be used to target the mechanisms regulating their water balance both under conditions of high relative humidity of cultivation air and low water potential of nutrient media caused by the addition of sucrose to its composition, and under simulated water stress with the use of mannitol as a carbon source in the nutrient medium. It is shown that despite the same cultivation conditions, the species differ in terms of transpiration intensity, water deficit, moisture retention capacity, and total water content.

Keywords. *Gentiana* L., plants *in vitro*, light regime, water balance.