

АВКСЕНТЬЄВА О. О.[✉], БАТУЄВА Є. Д.

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна,

Україна, 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4, e-mail: avksentyeva@karazin.ua

[✉] avksentyeva@karazin.ua, (057) 707-54-82

ВПЛИВ СЕЛЕКТИВНОГО СВІТЛА НА РОСТОВУ РЕАКЦІЮ ТА АНТИОКСИДАНТНУ СИСТЕМУ ПРОРОСТКІВ *PISUM SATIVUM* L.

Мета. Вивчення впливу червоного (ЧС 660 нм), зеленого (ЗС 530 нм) і синього (СС 450 нм) світла на процеси росту і стан антиоксидантної системи в осьових органах проростків рослин гороху посівного. **Методи.** Етиольовані проростки гороху посівного сорту Меценат опромінювали селективним світлом із різним спектром ЧС (660 нм), ЗС (530 нм), СС (450 нм) для активації фоторецепторних систем рослин. У 10-добових проростках визначали ростову реакцію – лінійний ріст та накопичення біомаси, а також показники антиоксидантної системи – вміст перекису водню та активність оксидаз – каталази та неспецифічної пероксидази у різних осьових органах проростків у надземній частині та коренях. **Результати.** За опромінення ЧС та ЗС відбувається стимулювання накопичення біомаси проростків надземній частині та коренях. СС інгібує ростову реакцію проростків. Максимальний стимулюючий ефект проявляє ЗС. Стан антиоксидантної системи в етиольованих проростках характеризується органоспецифічністю. За дії селективного світла істотно зростає вміст основної форми АФК – перекису водню – у пагонах і коренях, стимулюється активність ферментів каталази та ПР у надземній частині проростка та інгібується у коренях. Максимальний ефект в надземній частині проявляє ЗС, у коренях – ЧС та СС. **Висновки.** Встановлені ефекти опромінення селективним світлом по-різному проявляються в надземній і підземній частинах проростків. Обговорюються можливі механізми зв'язку стану антиоксидантної системи з окремими аспектами сигналіngu в фотоморфогенезі рослин.

Ключові слова: *Pisum sativum* L., селективне світло, ЧС (660 нм), ЗС (530 нм), СС (450 нм), ростова реакція, осьові органи, H₂O₂, каталаза, пероксидаза.

Одним із найважливіших факторів середовища, необхідних для росту, розвитку і фор-

мування продуктивності рослин, є інтенсивність і спектральний склад світла [1]. Відомо, що світло різного спектрального складу регулює процеси фотоморфогенезу рослин за участі множинних систем трансдукції світлового сигналу [2]. На сьогодні у рослин виділяють п'ять груп фоторецепторів, що сприймають інформацію про умови освітлення, тривалість світлового дня та інші фактори навколишнього середовища [3, 4]. До таких фоторецепторів відносяться рецептори червоного (ЧС) і далекого червоного світла (ДЧС) – фітохроми [5]; рецептори, що сприймають ультрафіолетове випромінювання А-діапазону, синє (СС) і зелене (ЗС) світло, – кріптохроми, фототропіни, білки сімейства ZEITLUPE [6, 7, 8], а також рецептор ультрафіолетового випромінювання В-діапазону (УФ-В) – білок UVR8 [4]. Можливо, що в рослинах функціонують також інші, ще не відомі фоторецептори, в тому числі специфічні до ЗС [8]. Сукупність таких фоторецепторів дозволяє рослинному організму орієнтуватися в умовах навколишнього середовища і адекватно реагувати на його зміни, що є необхідним для виживання і успішного репродуктивного розвитку.

Регуляторна роль світла проявляється не тільки в контролі росту і розвитку рослин, але і в регуляції їх захисних реакцій у відповідь на дію абіотичних і біотичних факторів [9]. Загальновідомо, що у формуванні стійкості рослин до дії екологічних факторів велику роль відіграють активні форми кисню (АФК). Однією з найбільш стабільних форм АФК є перекис водню (H₂O₂), який також має здатність поширюватися в клітинах на значні відстані і виконувати функцію сигнальної молекули. Це пов'язано з відносно невисокою реакційною здатністю і можливістю проникнення через мембрани завдяки відсутності заряду. Сигнальна роль перекису водню реалізується через активацію ізоформи кінази – представника MAPK-каскаду у *Arabidopsis*, що є частиною універсального ме-

ханізму регуляції передачі сигналів у рослинному організмі [10]. Можливо, що такий сигнальний шлях також задіяний трансдукції світлового сигналу. Кількість АФК у клітинах регулюється в основному завдяки антиоксидантній системі захисту, основна функція якої полягає в уповільненні і запобіганні реакції окислення внутрішньоклітинних органічних речовин, а також у захисті біологічних структур клітини і детоксикації вторинних метаболітів [11]. Головні компоненти ферментативної антиоксидантної системи – ферменти каталази і пероксидази – є ключовими каталізаторами реакції розкладання перекису водню [12]. Роль цих ферментів також важлива за регуляції метаболічних процесів у нормальних умовах життєдіяльності рослинного організму [13].

Дослідження специфічності ефектів окремих спектральних ділянок світла на стан антиоксидантної системи рослин має вагоме значення для розширення наявних уявлень про механізми фотоморфогенезу рослин. Виходячи з цього, метою нашого дослідження було вивчення впливу червоного (ЧС 660 нм), зеленого (ЗС 530 нм) і синього (СС 450 нм) світла на процеси росту і стан антиоксидантної системи в осьових органах проростків рослин гороху посівного.

Матеріали і методи

Як рослинний матеріал використовували етиольовані проростки довгоденної рослини гороху посівного (*Pisum sativum* L.) сорту Меценат. Цей сорт зареєстрований у Державному реєстрі сортів рослин України. Насіння для експериментів було надане співробітниками інституту рослинництва імені В. Я. Юр'єва НААН. Простерилізоване насіння пророщували на фільтрувальному папері в чашках Петрі в темряві за 22 ° С протягом 4 діб, після чого контрольні проростки залишалися за тих же умов, а дослідні опромінювали по 30 хвилин протягом 5 діб селективним світлом певного спектра: червоним (ЧС 660 нм), зеленим (ЗС 530 нм) і синім (СС 450 нм) за допомогою відповідних LED-матриць. У 10-денних проростків аналізували показники ростової реакції – довжину і біомасу цілого проростка, надземної частини і коренів. Також визначали показники антиоксидантної системи рослин: активність ферментів каталази та пероксидази (ПР), а також вміст перекису водню у надземній і кореневій частинах проростків. Активність каталази (КФ 1.11.1.6) визнача-

ли газометричним методом [14] і виражали в мл O_2 / г сирової маси \times год, активність неспецифічної пероксидази (КФ 1.11.1.7) – методом Бояркіна з використанням бензидинового реактиву [14] і виражали в ум. од. / г сирової маси \times хв, а вміст перекису водню (мкмоль / г сирової маси) – спектрофотометричним методом із використанням ксіленового реактиву [14].

Було проведено дві біологічні серії дослідів. Отримані дані статистично оброблені з використанням програмного пакета Excel 2020. Достовірність відмінностей між контрольними і дослідними варіантами розраховували з використанням t-критерію Стюдента. У таблицях наведені середні значення та їх стандартні відхилення.

Результати та обговорення

Дослідження впливу опромінення світлом різного спектра на лінійний ріст етиольованих проростків довгоденної рослини гороху посівного показали, що ефекти проявлялися по-різному (у залежності від довжини хвилі). Так, стимулюючий ефект спостерігається тільки за опромінення ЗС 530 нм (табл. 1).

Збільшення показників лінійного росту проростків за опромінення ЗС відбувалося як в надземній, так і в підземній його частині. Опромінення ЧС призводило до незначного зниження показників довжини осьових органів проростків. Дія СС проявлялося в гальмуванні росту надземної частини, але не впливала на довжину коренів. Такі реакції призводять до зміни співвідношення надземна частина / корінь, що проявляється в зменшенні такого показника за опромінення ЗС і СС в основному за рахунок зниження довжини коренів.

Інтегральним показником ростових процесів є накопичення біомаси проростком. За результатами експериментів з'ясовано, що під час опромінення проростків ЧС і ЗС спостерігалось збільшення накопичення біомаси проростком, тобто стимулювання приросту маси і надземної частини, і коренів (табл. 2). Дія СС призводить до несуттєвого гальмування розвитку кореневої системи як за показниками лінійного росту, так і накопичення біомаси (табл. 1, 2). Максимальний стимулюючий ефект на накопичення біомаси проявлявся за опромінення ЗС (більшою мірою у прирості кореневої системи, ніж надземної частини проростка).

Аналіз впливу селективного світла на ростову реакцію проростків показав, що лінійне зростання і накопичення біомаси залежить тільки від дії ЗС, який стимулював ці процеси. КС стимулював тільки накопичення біомаси, а СС практично не змінював ростову реакцію проростків.

Можливо, що виявлені відмінності в ефектах селективного світла різних спектрів на ріст осьових органів проростків можуть бути пов'язані з видовими особливостями сприйняття певними фоторецепторами тієї чи іншої довжини хвилі. Ймовірно також, що осьові органи (надземна частина і корені) можуть відрізнятися між собою за рівнем біосинтезу фоторецепторів або за їх активністю щодо сприйняття світлового сигналу певної довжини хвилі світла.

Відомо, що для рослинного організму характерна специфічність метаболічних процесів у різних органах, що зумовило доцільність вивчення ефектів опромінення селективним світлом різного спектра в надземній частині і коренях етиологованих проростків гороху посівного.

Визначення впливу селективного світла на стан антиоксидантної системи показало, що рівень вмісту перекису водню, активності пероксидази і каталази в надземній частині і коренях проростків залежить від опромінення світлом із різною довжиною хвилі. У надземній частині проростків вміст перекису водню за впливу опромінення ЧС знижувався, опромінення ЗС призводило до значного, майже в два рази, підвищення вмісту перекису. Опромінення СС також підвищувало вміст перекису, але менш значно, ніж опромінення ЗС (табл. 3).

Активність пероксидази в надземній частині проростків істотно зростала за впливу ЧС і ЗС, в той час як СС викликав лише тенденцію до підвищення активності цього фермента (табл. 3). Визначення активності каталази в надземній частині проростка показало, що за впливу селективного світла всіх спектрів вона підвищувалася, але в різній мірі. Найбільшу стимулюючу дію на активність цього фермента надавав ЗС. Червоне і синє світло також її підвищували приблизно в однаковій мірі, але в меншій мірі, ніж за опромінення ЗС (табл. 3).

Таблиця 1. Вплив селективного світла на лінійний ріст проростків *P. sativum* сорту Меценат, см ($M \pm m$, $n=20$)

Варіант	Довжина, см			Надземна частина / корінь, %
	загальна	надземної частини	коренів	
Контроль	17,11±0,61	6,07±0,25	11,04±0,47	54,98
ЧС (660 нм)	15,92±0,70	5,90±0,38	10,83±0,46	55,91
ЗС (530 нм)	19,82±0,61*	6,71±0,29*	13,11±0,37*	51,12*
СС (450 нм)	16,44±0,80	5,41±0,22*	11,03±0,58	49,04*

Примітка. *) – розбіжності істотні за $p \leq 0,05$.

Таблиця 2. Вплив селективного світла на біомасу проростків *P. sativum* сорту Меценат, мг ($M \pm m$, $n=20$)

Варіант	Біомаса, мг			Надземна частина / корінь, %
	проростка	надземної частини	коренів	
Контроль	947,1±16,9	283,3±14,7	280,1±10,3	123
ЧС (660 нм)	1099,2±19,2*	381,6±16,2*	309,6±13,6*	123
ЗС (530 нм)	1134,1±14,1*	350,0±12,8*	376,6±12,8*	93*
СС (450 нм)	1069,9±20,3	339,2±15,7*	268,3±10,7	127

Примітка. *) – розбіжності істотні за $p \leq 0,05$.

Таблиця 3. Вплив селективного світла на показники антиоксидантної системи в надземній частині проростків *P. sativum* сорту Меценат ($M \pm m$, $n=6$)

Варіант	H_2O_2 , мкмоль/г	Активність	
		пероксидази (ПП) ум.од.	каталази мл O_2 / г × год
Контроль	42,0±1,4	6,6±0,3	340,2±21,2
КС (660 нм)	35,6±1,7	15,8±0,8*	408,1±34,3*
ЗС (530 нм)	76,0±3,7*	20,7±0,9*	464,4±17,5*
СС (450 нм)	50,8±2,8	8,5±0,4	392,3±19,2

Примітка. *) – розбіжності істотні за $p \leq 0,05$.

Аналіз отриманих результатів показує, що за зниженням рівня ефектів різних довжин хвиль на вміст перекису водню, активність пероксидази і каталази в надземній частині проростків гороху, ці хвилі можна ранжувати в такому порядку: ЗС > ЧС > СС.

Результати аналізу впливу опромінення селективним світлом на показники антиоксидантної системи в коренях проростків показали, що реакція так само, як і в надземній частині, залежить від спектра світла, яким опромінювали проростки. Вміст перекису водню в коренях за впливу опромінення ЧС і СС підвищувався, але особливо значним було підвищення за дії СС. Зелене світло майже не змінювало вміст перекису водню в коренях (табл. 4). Активність пероксидази в коренях проростків зростала за впливу ЧС. Опромінення зеленим і синім світлом викликало зниження активності пероксидази (табл. 4). Що стосується активності каталази, вона знижувалася за опромінення червоним, зеленим і синім світлом. При цьому рівень зниження за опромінення був практично однаковим (табл. 4).

Під час аналізу стану антиоксидантної системи в коренях проростків виявлена стимуляція накопичення перекису водню червоним і синім світлом. Червоне світло зумовило підвищення активності пероксидази, а зелене і синє – її зниження. Активність каталази знижувалася за опромінення проростків (табл. 4).

Той факт, що ростові процеси етиольованих проростків гороху залежать від спектра селективного світла, вірогідно, можна пояснити участю фоторецепторних систем у регуляції фітогормональних процесів, які визначають ріст рослин. Відомо, що активація фітохромів пов'язана з трансдукцією ауксинових і цитокінінових сигналів, що може викликати зміни у ростових процесах [9, 15].

Зіставлення результатів вивчення антиоксидантної системи в органах проростків гороху показало істотні його відмінності. Так, в конт-

рольному варіанті (базовий рівень показників) у надземній частині проростка вміст перекису водню був вищим, у той час як активність пероксидази і каталази нижчою, ніж у коренях проростків. Це, ймовірно, пов'язано з відомим положенням про те, що для різних органів рослини характерний специфічний метаболізм [1, 2]. Мабуть, із цим пов'язаний і різний рівень показників стану антиоксидантної системи в надземній частині і коренях проростків.

Аналіз отриманих результатів показав також, що ефекти червоного, зеленого і синього світла на антиоксидантну систему в надземній частині і коренях проростків проявляються по-різному. У надземній частині проростків значні стимулюючі ефекти на складові антиоксидантної системи виявлені для зеленого та червоного світла і незначні – для синього світла. При цьому найбільш сильний вплив виявлявся за опромінення зеленим світлом, а найбільш слабкий – за дії синього світла. На противагу цьому, в кореневій системі зелене світло, навпаки, зумовило зниження всіх компонентів антиоксидантної системи. Опромінення червоним світлом зумовило підвищення вмісту перекису водню і активність пероксидази, але не активність каталази. Синє світло незначно в надземній частині, але істотно в кореневій системі підвищувало вміст перекису водню, дещо підвищувало активність пероксидази і каталази в надземній частині, але знижувало активність обох ферментів у кореневій системі.

На нашу думку, виявлені відмінності можуть бути пов'язані з різним складом фоторецепторів у надземній частині і кореневій системі етиольованих проростків гороху посівного. Зокрема, було з'ясовано, що різні органи рослин містять різні форми фітохромів [5]. Встановлено також, що у надземній частині переважає функціонування Phy B, в той час як у коренях – Phy A [4]. Вірогідно, що різні осьові органи проростків відрізняються за вмістом і активністю рецепторів синього та зеленого світла.

Таблиця 4. Вплив селективного світла на показники антиоксидантної системи в коренях проростків *P. sativum* сорту Меценат ($M \pm m$, $n=6$)

Варіант	H ₂ O ₂ , мкмоль/г	Активність	
		пероксидази (ПР) ум.од.	каталази мл O ₂ /г × год
Контроль	27,7±1,3	20,3±1,2	484,3±22,1
КС (660 нм)	35,6±1,8*	31,1±1,4*	352,7±19,1*
ЗС (530 нм)	23,2±1,1	16,2±0,9	348,2±22,3*
СС (450 нм)	54,3±2,8*	14,8±0,8	336,5±25,3*

Примітка. *) – розбіжності істотні за $p \leq 0,05$.

Отримані результати з урахуванням наукових літературних даних [15] дають підставу для деяких узагальнень. Оскільки перекис водню є активною формою кисню і задіяний у трансдукції сигналів у рослинному організмі [3, 10], то, цілком ймовірно, що зміна його вмісту в етиологованих проростках гороху у відповідь на опромінення різними довжинами хвиль видимого спектра світла може свідчити про участь цієї молекули в трансдукції світлового сигналу в морфогенезі рослини. Різний рівень ефекту тієї чи іншої довжини хвилі на вміст перекису водню, мабуть, може бути пов'язаний зі сприйняттям певної довжини хвилі специфічним щодо до неї фоторецептором.

Відомо, що каталаза є основним ферментом, який здійснює регулювання рівня перекису водню в рослинах [12]. Пероксидаза, як і каталаза, задіяна в генерації та утилізації активних форм кисню [13]. Ймовірно, що за дії на рослину світла різної довжини хвилі зміна рівня активності цих оксидаз може відображати зміну в окремих механізмах сигналіngu в процесах фотоморфогенезу. Про це може свідчити виявлена в наших дослідах залежність активності каталази і пероксидази від довжини хвилі світла, який використовували в експериментах.

Висновки

1. Результати досліджень показали, що за впливу опромінення ЧС (660 нм) і особливо значно за опромінення ЗС (530 нм) активувалися ростові процеси у етиологованих проростків гороху посівного сорту Меценат. Ростові ефекти по-різному проявлялися у надземній частині та коренях (залежно від довжини хвилі селективного світла).

2. Вміст перекису водню у надземній частині проростків зростає за впливу опромінення світлом усіх спектрів, а в кореневій – за дії ЧС (660 нм) та СС (450 нм).

3. Активність каталази за опромінення червоним, зеленим і синім світлом у надземній частині проростків зростала, а у коренях – не змінювалась. Активність пероксидази підвищувалася за впливу червоного і зеленого світла у надземній частині, а у коренях – тільки за дії червоного світла.

4. Ростові процеси та стан антиоксидантної системи проростків гороху залежать від специфічної дії фоторецепторних систем, ефекти яких по-різному проявляються у надземній частині та коренях проростків гороху сорту Меценат.

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

References

- Kami C., Lorrain S., Hornitshek P., Fankhauser C. Light-regulation plant growth and development. *Curr. Top. Dev. Biol.* 2010. Vol. 91. P. 29–66. doi: 10.1016/S0070-2153(10)91002-8.
- Golovatskaya I.F. Plant morphogenesis and its regulation. Part 1. Photoregulation of plant morphogenesis. Tomsk: Izdatelskiy Dom Tomskogo gosudarstvennogo universiteta, 2016. 171 p. [in Russian]
- Franklin K.A., Whitelam G.C. The signal transducing photoreceptors of plants. *Int. J. Dev. Biol.* 2005. Vol. 49. P. 653–664. doi: 10.1387/ijdb.051989kf.
- Voitsekhovskaja O.V. Phytochromes and Other (Photo) Receptors of Information in Plants. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2019. Vol. 66, № 3. C. 163–177. doi: 10.1134/S0015330319030151. [in Russian]
- Quail P.H. Phytochromes. *Current Biology*. 2010. T. 20, № 12. C. R504–R507. doi: 10.1016/j.cub.2010.04.014.
- Christie J.M., Blackwood L., Petersen J., Sullivan S. Plant flavoprotein photoreceptors. *Plant Cell Physiol.* 2015. Vol. 56. P. 401–413. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu196>.
- Folta K.M., Maruhnich S.A. Green light: a signal to slow down or stop. *J. Exp. Bot.* 2007. Vol. 58. (12). P. 3099–3111. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm130>.
- Golovatskaya I.F., Karnachuk R.A. Role of green light in physiological activity of plants. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2015. Vol. 62, № 6. C. 727–740. doi: <https://doi.org/10.7868/S0015330315060081>.
- Kulchin Yu.N., Bulgakov V.P., Goltsova D.O., Subbotin E.P. Plant optogenetics – photoregulation of genetic and epigenetic mechanisms of ontogenesis control. *Vestnik of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2020. № 1. P. 1–7. doi: 10.25808/08697698.2020.209.1.001. [in Russian]
- Tarchevsky I.A. Plant Cell Signaling Systems. M.: Nauka, 2002. 294. [in Russian]
- Zagoskina N.V., Nazarenko L.V. Active Oxygen Species and Antioxidant System of Plants. *Vestnik Moscow City University. Series Natural Sciences*. 2016. 2 (22). P. 9–23. [in Russian]
- Mhamdi A., Queval G., Chaouch S., Vanderauwera S., Breusegem F., Noctor G. Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models. *Journal of Experimental Botany*. 2010. Vol. 61 (15). P. 4197–4220. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq282>
- Pandey V., Awasthi M., Singh S., Tiwari S., Dwivedi U. A Comprehensive Review on Function and Application of Plant Peroxidases. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*. 2017. 6 (1). <https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000308>.

14. Avksentieva O.O., Zhmurko V.V., Shchoholiev A.S., Yukhno Yu.Iu. Plant physiology and biochemistry: a textbook. Kh.: KhNU imeni V.N. Karazina, 2018. 156 p. [in Ukrainian]
15. Wang H., Haiyang H. Phytochrome signaling: time to tighten up the loose ends. *Molecular Plant*. 2015. Vol. 8. P. 540–551. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.021>.

AVKSENTIEVA O.O., BATUEVA E.D.

V. N. Karazin Kharkiv National University,

Ukraine, 61022, Kharkiv, Maidan Svobody, 4, e-mail: avksentyeva@karazin.ua

THE INFLUENCE OF SELECTIVE LIGHT ON THE GROWTH REACTION AND ANTIOXIDANT SYSTEM OF SEEDLINGS *PISUM SATIVUM* L.

Aim. Study of the effect of red (660 nm), green (530 nm) and blue (450 nm) light on the growth processes and the state of the antioxidant system in the axial organs of seedlings of pea plants. **Methods.** Etiolated seedlings of pea Maecenat variety were irradiated with selective light with different spectrum of RL (660 nm), GL (530 nm), BL (450 nm) to activate photoreceptor systems of plants. In 10-day-old seedlings, growth response was determined – linear growth and biomass accumulation, as well as indicators of antioxidant system – hydrogen peroxide content and activity of oxidases – catalase and nonspecific peroxidase in axial organs of seedlings: in the aboveground part and roots. **Results.** Irradiation of the RL and the GL stimulates the accumulation of seedling biomass in the aboveground part and roots. BL inhibits the growth response of seedlings. The maximum stimulating effect is shown by the GL. The state of the antioxidant system in etiolated seedlings is characterized by organ specificity. Under the action of selective light, the content of the main form of ROS – hydrogen peroxide and shoots and in the roots, significantly stimulates the activity of catalase and peroxidase enzymes in the aboveground part of the seedling and is inhibited in the roots. The maximum effect in the aboveground part is shown by the GL, in the roots of the RL and the BL. **Conclusions.** The established effects of selective light irradiation are manifested differently in the aboveground and underground parts of seedlings. Possible mechanisms of connection of a condition of antioxidant system with separate aspects of signaling in photomorphogenesis of plants are discussed.

Keywords: *Pisum sativum* L., selective light, RL (660 nm), GL (530 nm), BL (450 nm), growth reaction, axial organs, H₂O₂, catalase, peroxidase.