

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Национальный исследовательский Томский государственный университет»

На правах рукописи



Бойко Екатерина Владимировна

РОЛЬ МЕЛАТОНИНА В РЕГУЛЯЦИИ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ  
РАСТЕНИЙ НА СЕЛЕКТИВНОМ СВЕТУ И В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ

1.5.21. Физиология и биохимия растений

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель  
доктор биологических наук, профессор  
Головацкая Ирина Феокистовна

Томск – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	5
1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ .....	13
1.1 Значение водного обмена в жизнедеятельности растений .....	13
1.2 Свет и его регуляторная роль в жизнедеятельности растений .....	19
1.2.1 Характеристика системы фоторецепции у растений.....	21
1.2.2 Роль селективного света в жизнедеятельности растений.....	24
1.3 Гормональная система регуляции в жизнедеятельности растений.....	26
1.3.1 Фитомелатонин и его роль в жизнедеятельности растений.....	29
1.3.2 Взаимосвязь мелатонина с другими гормонами растений.....	33
2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	38
2.1 Объекты исследования .....	38
2.1.1 <i>Cucumis sativus</i> L. ....	38
2.1.2 <i>Solanum tuberosum</i> L.....	39
2.1.3 <i>Triticum aestivum</i> L.....	40
2.1.4 <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.....	40
2.2 Методики исследования .....	42
2.2.1 Спектральные характеристики источников освещения .....	42
2.2.2 Условия культивирования растений <i>Cucumis sativus</i> L. в аквакультуре.....	44
2.2.3 Условия культивирования растений <i>Solanum tuberosum</i> L. в аквакультуре .....	48
2.2.4 Методика определения активности ИУК и мелатонина по стимуляции удлинения колеоптилей пшеницы.....	49
2.2.5 Условия культивирования растений <i>Arabidopsis thaliana in vitro</i> .....	50
2.2.6 Определение морфологических характеристик исследуемых растений.....	51
2.2.7 Определение состояния устьиц методом отпечатков по Полачи-Молотковскому .....	51
2.2.8 Определение содержания фотосинтетических пигментов.....	53
2.2.9 Определение функционирования окислительной и антиоксидантной систем .....	53
2.2.8.1 Определение интенсивности перекисного окисления липидов.....	54
2.2.8.2 Определение содержания свободного пролина .....	54
2.2.8.3 Определение антирадикальной активности.....	55

2.2.8.4	Определение содержания аскорбиновой кислоты .....	55
2.2.8.5	Определение суммарного содержания антоцианов.....	55
2.2.8.6	Определение суммарного содержания флавоноидов .....	56
2.2.8.7	Определение активности антиоксидантных ферментов.....	56
2.2.10	Определение интенсивности процесса фотосинтеза и транспирации .....	57
2.2.11	Определение величины выхода электролитов из клеток и степени повреждения клеточных мембран растений .....	59
2.2.12	Статистическая обработка данных .....	59
3.	<b>РОЛЬ МЕЛАТОНИНА В РЕГУЛЯЦИИ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ РАСТЕНИЙ НА СЕЛЕКТИВНОМ СВЕТУ И В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ..</b>	<b>61</b>
3.1	Влияние мелатонина на морфофизиологические параметры растений огурца...	61
3.1.1	Роль мелатонина в регуляции развития растений огурца .....	62
3.1.2	Влияние мелатонина на физиологические процессы в листьях огурца в нормальных условиях .....	65
3.1.3	Роль мелатонина в регуляции морфогенеза проростков огурца в темноте и на селективном свете .....	72
3.2	Роль мелатонина в регуляции устойчивости растений к дефициту воды на селективном свете .....	76
3.2.1	Влияние мелатонина на формирование устойчивости огурца к атмосферной засухе на белом свете.....	76
3.2.2	Протекторный эффект корневой обработки мелатонином в регуляции морфофизиологических параметров растений огурца при субстратной засухе на белом свете.....	78
3.2.3	Протекторный эффект корневой обработки мелатонином в регуляции морфофизиологических параметров растений картофеля при дефиците воды в условиях засоления и гипотермии на белом свете .....	84
3.2.4	Роль корневой предобработки мелатонином в регуляции ростовых параметров растений огурца при субстратной засухе на селективном свете.....	85
3.2.5	Влияние света разного спектрального состава и мелатонина на засухоустойчивость проростков огурца.....	88
3.2.6	Влияние света разного спектрального состава и мелатонина на засухоустойчивость растений огурца.....	94

3.3	Участие мелатонина в регуляции гормоно- и светозависимых морфофизиологических реакций у растений.....	105
3.3.1	Участие ИУК и мелатонина в регуляции растяжения клеток в темноте .....	106
3.3.2	Рострегулирующая роль мелатонина в растениях с нарушенной трансдукцией сигнала ИУК на белом свете.....	107
3.3.3	Роль мелатонина в регуляции ауксин-зависимых морфофизиологических реакций <i>A. thaliana</i> на красном и синем свете .....	112
3.3.4	Роль мелатонина в регуляции CRY1- и PHYB-зависимых морфофизиологических реакций <i>A. thaliana</i> на красном и синем свете.....	117
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	123
	СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	127
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	128
	ПРИЛОЖЕНИЕ А Карты декадного мониторинга атмосферных и почвенных засух ..	158
	ПРИЛОЖЕНИЕ Б Награды за участие в научных мероприятиях .....	160

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность исследования.** Изменения климата в сторону повышения среднегодовых температур из-за увеличения накопления в атмосфере парниковых газов приводят к уменьшению количества осадков в вегетационный период. Ожидается, что к 2050 г. засуха вызовет серьезные проблемы более чем на 50% пахотных земель по всему миру [El-Yazied et al., 2022]. Половину из обрабатываемых территорий Российской Федерации относят к зонам недостаточного и неустойчивого увлажнения [Клещенко, 2000]. Для оценки и мониторинга засухи в мире существуют несколько Центров мониторинга засухи: Межгосударственный комитет по борьбе с засухой в Сахеле (CILSS), университет штата Небраска (США), Любляне (Словения), Центр мониторинга засухи Межгосударственного совета по гидрометеорологии стран СНГ (Россия), которые следят за кратковременными и долговременными изменениями засухи, существенными для сельского и лесного хозяйства [Задорнова, 2015].

Дефицит влаги является одной из основных причин снижения урожайности и ухудшения качества продукции сельскохозяйственных культур. Водный дефицит приводит к нарушению протекания многих физиолого-биохимических процессов. Вызванный засухой осмотический стресс снижает водопоглощение растений, способствуя закрытию устьиц, снижению фотосинтеза и транспирации, уменьшению объема клеток и усилению окислительного стресса [Кудоярова и др., 2013; Ahmad et al., 2021]. Ключевая роль в регуляции морфогенеза и адаптации растений к неблагоприятным условиям, отведена гормональной [Безрукова и др., 2021] и фоторегуляторной системам.

Одним из способов повышения продуктивности и устойчивости растений к абиотическим факторам среды является применение соединений гормональной природы [Аллагулова и др., 2018; Efimova et al., 2018]. Особый интерес представляет фитомелатонин – соединение индольной природы, которое ряд исследователей относят к фитогормонам [Arnao et al., 2015]. На сегодняшний день подтверждениями гормонального статуса мелатонина в растениях являются обнаруженный в устьицах *Arabidopsis* рецептор CAND2/PMTR1, через который осуществляется регуляция мелатонином процесса транспирации за счёт активации  $G\alpha$  субъединицы; в передачу

мелатонинового сигнала вовлечены  $H_2O_2$  и  $Ca^{2+}$  и показано его участие в регуляции экспрессии хлоропластных генов при фотоокислительном стрессе [Wei et al., 2018; Vychkov et al., 2021]. Мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамин) является филогенетически древней и многофункциональной молекулой индольной природы, широко распространён в организмах различных таксономических групп. Установлено, что предшественником мелатонина, служит аминокислота триптофан, который является также предшественником хорошо изученного гормона растений индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) [Murch et al., 2000]. В настоящее время установлено, что мелатонин играет ключевую роль во многих физиологических процессах на клеточном и организменном уровнях. Известно, что экзогенный мелатонин поглощается клетками корня и накапливается в листьях растений пропорционально применяемой концентрации до 5 мМ, без насыщения [Erland et al., 2018; Yoon et al., 2019]. Мелатонин участвует в поддержании ионного гомеостаза [Li et al., 2016], регуляции углеводного и липидного обменов [Wei et al., 2015; Li et al., 2018]. Показано, что мелатонин влияет на прорастание семян и рост растений [Chen et al., 2003; Hernandez–Ruiz et al., 2005]. Кроме того, мелатонин регулирует созревание и старение плодов, а также способствует партенокарпии некоторых видов груш [Liang et al., 2018; Liu et al., 2018]. Мелатонин и продукты его деградации действуют как эффективные антиоксиданты, снижающие концентрации активных форм кислорода (АФК) или азота [Arnao, Hernandez-Ruiz, 2015; 2019]. В условиях стресса экзогенный мелатонин активизирует рост растений и их жизнеспособность, повышает эффективность фотосинтеза, уровень сахарозы и пролина [Kolar, Machackova, 2005; Shi et al., 2016; Li et al., 2017].

Проведенные транскриптомные, протеомные и метаболомные исследования на различных растениях, таких как *Arabidopsis thaliana* [Weeda et al., 2014; Qian et al., 2015], *Malus hupehensis* [Wang et al., 2014] и *Cynodon dactylon* [Shi et al., 2015] выявили множество вызванных мелатонином изменений как в экспрессии генов на уровне мРНК, так и в накоплении белков и различных метаболитов. Показано, что мелатонин регулирует экспрессию генов сигнальных путей ауксина, абсцизовой кислоты, салициловой кислоты, этилена и жасминовой кислоты [Arnao, Hernandez-Ruiz, 2018]. Опосредованные мелатонином ответы могут быть связаны с регуляцией клеточного цикла, репликации ДНК, первичного и вторичного метаболизма [Wei et al., 2015].

Выступая источником энергии для процессов фотосинтеза, свет включает многочисленные системы, контролирующие рост и развитие растений через изменение гормонального баланса растений [Карначук, Головацкая, 1998; Головацкая, 2008, De Wit et al., 2016; Ahres et al., 2023]. Большую роль в регуляции продуктивности растений играет качество света [Тихомиров и др., 1991; Минич и др. 2006; Прикупец и др., 2019; Мартиросян и др., 2019]. В отдельных исследованиях показано изменение содержания мелатонина в зависимости от спектрального состава света, изменение его физиологической роли в регуляции метаболизма растений [Afreem et al., 2006; Khan et al., 2019; Chung, Deng, 2020]. Вместе с тем, в изучении мелатонина и его многообразной роли в растениях остается еще много неясностей, требующих дальнейших исследований. Среди нерешенных вопросов важное место занимают вопросы о взаимосвязи путей передачи сигналов света разного спектрального состава и мелатонина при регуляции физиологических процессов у растений в норме и при стрессе.

В связи с чем нами были проведены исследования по выяснению возможного взаимодействия селективного света и мелатонина в регуляции морфогенеза и метаболизма растений. Исследован протекторный эффект мелатонина и света в регуляции физиологических процессов растений в условиях засухи.

**Цель исследования:** изучить протекторную роль мелатонина и селективного света в формировании засухоустойчивости растений.

**Задачи исследования:**

1. Исследовать роль мелатонина в регуляции морфофизиологических процессов проростков и растений *C. sativus* в нормальных условиях.

2. Исследовать роль мелатонина в регуляции морфофизиологических процессов проростков и растений *C. sativus* при действии засухи.

3. Изучить влияние мелатонина на физиологические параметры регенератов *Solanum tuberosum* в условиях дефицита воды при засолении и гипотермии.

4. Оценить протекторный эффект мелатонина в формировании засухоустойчивости растений *C. sativus* на селективном свету.

5. Изучить влияние мелатонина на ИУК-зависимые реакции растений на примере растяжения клеток coleoptилей *Triticum aestivum* L. и роста проростков мутанта

*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. экотипа Columbia (Col), дефектного по гену сигналинга ИУК (*AXR1*).

6. Оценить роль мелатонина в регуляции фитохром В (PHYB)- и криптохром 1 (CRY1)-зависимых морфофизиологических процессов проростков мутантов *hy3* и *hy4* *A. thaliana* экотипа Landsberg *erecta* (Ler), дефектных по фоторецепторам, в темноте и на селективном свете.

#### **Научная новизна исследования:**

Впервые установлено взаимодействие сигналов света разного спектрального состава и мелатонина при регуляции морфогенеза и метаболизма растений огурца в условиях засухи. Установлены различия в формировании засухоустойчивости на свете разного спектрального состава у проростков и взрослых растений огурца при обработке экзогенным мелатонином. Выявлена зависимость фотосинтеза, транспирации и антиоксидантной системы листа огурца от кратковременной обработки корней мелатонином. Впервые показано взаимодействие мелатонина и ИУК в процессе регуляции роста клеток на примере coleoptилей пшеницы в темноте. С помощью мутантного метода установлено действие мелатонина на свето- и ауксин-зависимые реакции морфогенеза на примере растений арабидопсиса. Выявлено протекторное действие мелатонина на устойчивость растений картофеля к дефициту воды в условиях засоления и гипотермии.

#### **Теоретическая и практическая значимость исследования:**

Данные, полученные в работе, носят фундаментальный характер, так как позволяют получить более полную картину взаимодействия мелатонина и ауксина на рост и развитие растений. Кроме того, данное исследование позволило выявить зависимость контролируемых мелатонином реакций от света разного спектрального состава. Вместе с тем, результаты, полученные в ходе этого исследования, представляют интерес и в прикладной области, так как раскрывают особенности реакции растений на корневую обработку мелатонином и могут быть применимы в сельском хозяйстве с целью повышения засухоустойчивости и продуктивности растений. Результаты настоящего исследования могут быть использованы в лекционных и практических курсах «Физиология растений», «Биохимия», «Физиологические основы устойчивости растений к факторам среды», «Экологическая физиология растений» для студентов и магистрантов ВУЗов.

## Методология и методы исследования

В качестве методологической основы данной работы выступали общепринятые протоколы и методы исследования. Исследуемые растения выращивали в условиях *in vitro* и в аквакультуре, что позволяло регулировать условия выращивания. Использование мутантных линий арабидопсиса, дефектных по фоторецепторам и чувствительности к ауксину, представляет хорошую экспериментальную модель для выяснения роли мелатонина в регуляции физиологических процессов растений и возможного его взаимодействия с ауксином ИУК. В связи с малыми размерами семядолей у растений арабидопсиса на раннем этапе онтогенеза для измерения площади их поверхности использовали цифровую камеру с программой измерения «Moticam 2300» (Испания) и микроскоп «Micros» (Австрия). В данной работе применяли спектрофотометрические методы, в том числе активность ферментов оценивали с помощью регистрации ферментативной кинетики. Интенсивность процесса фотосинтеза, транспирации, устьичной проводимости, концентрацию CO<sub>2</sub> в межклеточном пространстве определяли с использованием портативного инфракрасного газоанализатора Li-6400 (LI-COR, США). Измерение фотохимической активности фотосинтетического аппарата растений проводили на РАМ-флуориметре (MINI-РАМ-II, “Heinz-Walz”, Germany). Оценку степени повреждения мембран проводили кондуктометрическим методом с использованием кондуктометра Hanna HI98311 DiST 5 (Германия).

### Положения, выносимые на защиту:

1. Мелатонин регулирует морфогенез и физиолого-биохимические процессы растений в норме и в условиях засухи.
2. Протекторный эффект мелатонина в формировании устойчивости проростков и растений *C. sativus* к засухе зависит от света разного спектрального состава и проявляется в модификации ростовых и метаболических процессов, изменяющих аккумуляцию осмопротекторов, антиоксидантов и фотосинтетических реакций.
3. В качестве механизмов действия мелатонина на морфофизиологические процессы *T. aestivum* и *A. thaliana* выступают контролируемые мелатонином ИУК-зависимые и PHYB- и CRY-зависимые реакции.

**Степень достоверности и апробация результатов:**

При выполнении работы использованы современные методы исследования, которые соответствуют цели работы и поставленным задачам. Эксперименты проведены в достаточных для построения достоверной статистики биологических и аналитических повторностях. Сформулированные в тексте диссертации научные положения, выводы и практические рекомендации основаны на экспериментальных данных, продемонстрированных в приведенных таблицах и рисунках и отражены в печатных работах.

Основные результаты исследования были представлены на XII Международной конференции студентов и молодых ученых "Перспективы развития фундаментальных наук" (Томск, 2015); II Научно-практическом семинаре для молодых ученых и стипендиатов Фонда имени В.И. Вернадского «Актуальные научные исследования в сфере управления природопользованием и экологической безопасности» (Москва, 2016); Международном конгрессе «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2017); Годичном собрании Общества физиологов растений России, Всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых «Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды» (Иркутск, 2018); XIII Международном симпозиуме «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» (Москва, 2019); IX Съезде Общества физиологов растений России и Всероссийской научной конференции с международным участием «Физиология растений – основа создания растений будущего» (Казань, 2019); II-ой Международной научной конференции PLAMIC2020 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» (Саратов, 2020); Годичном собрании Общества физиологов растений и Всероссийской научной конференции с международным участием «Экспериментальная биология растений и биотехнология: история и взгляд в будущее» (Москва, 2021); XI Международном симпозиуме «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» (Москва, 2022).

**Связь работы с плановыми исследованиями и научными программами**  
Исследования проводились в рамках тематик кафедры физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики НИ ТГУ: «Гормональная и световая регуляция морфогенеза растений» и «Стресс у растений: механизмы адаптации на физиологическом и молекулярном уровне». Поддержаны программами развития

Томского государственного университета (Приоритет-2030) «Изучение механизмов действия антиоксидантов на процессы фотосинтеза и развития сельскохозяйственных растений» (№ 8.1.06.2019) и «Изучение физиолого-биохимических механизмов регуляции вторичного метаболизма хозяйственно ценных растений для разработки технологии управления биопроцессами» (№ НУ 2.1.8.22 ИГ). Проектами РФФИ «Механизмы защитного действия мелатонина у растений в условиях техногенного стресса» (№ 16-04-01071-а) и РФФИ «Физиологические механизмы регуляции стресс-устойчивости растений картофеля светом и брассиностероидами» (№16-16-04057), РФФИ БРФФИ «Стероидные фитогормоны и их новые производные – природный нанобиотехнологический инструмент для высокопродуктивного экологического земледелия» (№ 23-44-10019). Научно-технические разработки по результатам исследований были награждены золотыми медалями Международного биотехнологического Форума-выставки «РосБиоТех» (Москва, 2017, 2018, 2021, 2022) (Приложение Б).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, среди которых 1 статья в журнале, включенном в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук; 1 статья в отечественном издании, которое входит в международные реферативные базы данных и системы цитирования и в соответствии с пунктом 5 правил формирования перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук; 2 научные статьи и 1 глава в коллективной монографии в зарубежных изданиях, включенных в международные базы данных Scopus, WoS и Springer, 2 из которых относятся к Q1 квинтилю; 7 статей в материалах конференции, входящих в базу данных РИНЦ.

**Личный вклад автора.** Автор принимал непосредственное участие в планировании и выполнении экспериментов, статистической обработке и анализе полученных данных, поиске и изучении отечественных и зарубежных информационных источников, написании публикаций. Диссертационная работа написана соискателем самостоятельно. Автором выполнены экспериментальные исследования по выяснению взаимосвязи мелатонина и света разного спектрального состава в регуляции

морфогенеза растений, проведен колеоптильный биотест, оценено влияние мелатонина на рост и биохимические параметры растений при действии засухи.

**Структура исследования:** Диссертация изложена на 163 страницах, состоит из введения, трёх глав, заключения, списка условных обозначений и сокращений, списка использованной литературы, включающего 253 источника (из них 168 – на иностранном языке), 2 приложения. Работа содержит 13 таблиц и 46 рисунков.

**Благодарности.** Автор выражает искреннюю благодарность научным руководителям: профессору, доктору биологических наук Раисе Александровне Карначук и доктору биологических наук Ирине Феоктистовне Головацкой за всестороннюю помощь и поддержку, научное руководство в выполнении данной работы, анализе и обсуждении результатов. Автор выражает благодарность заведующей кафедрой физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики НИ ТГУ доктору биологических наук Ольге Викторовне Карначук, а также сотрудникам кафедры за помощь в освоении методик и проведении исследования. Автор чрезвычайно признательна своим соавторам и коллегам, которые помогли решению целого ряда задач во время выполнения работы: кандидату биологических наук, доценту кафедры физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики НИ ТГУ Марине Васильевне Ефимовой, кандидату биологических наук, старшему научному сотруднику Института мониторинга климатических и экологических систем СО РАН Бендер Ольге Григорьевне.

## 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

Изменение климата, рост численности населения, нерациональное использование природных ресурсов, опустынивание почв, все это сказывается на доступности воды и является важнейшей проблемой для сельского хозяйства, крупнейшего в мире водопользователя, на долю которого приходится более 70% глобального водозабора [dos Santos et. al., 2022]. Как биотические (например, фитопатогены), так и абиотические стрессоры (например, засуха, засоление, экстремальные температуры) вызывают огромные потери в сельскохозяйственном производстве. В Специальном глобальном аналитическом докладе о засухе 2021 года (GAR) подчеркивается, что изменение климата приводит к повышению температуры и нарушению структуры осадков, что становится все более мощным фактором, обуславливающим возникновение засухи, и усиливает последствия этого явления, увеличивая частоту, интенсивность и продолжительность засухи во многих регионах мира. При отсутствии своевременного мониторинга и управления – засуха является одним из факторов опустынивания и деградации земель [GAR, 2021]. Хорошо известно, что засуха является одним из абиотических факторов, которые снижают глобальную продуктивность основных сельскохозяйственных культур [Ma et. al., 2020]. К настоящему времени знания о ключевых процессах, вовлеченных в адаптацию растений к условиям абиотического стресса, все еще очень ограничены. Поэтому существует необходимость понимания механизмов толерантности/адаптации растений и стратегии смягчения последствий абиотических стрессов.

### 1.1 Значение водного обмена в жизнедеятельности растений

Одним из неотъемлемых факторов существования растительного организма является доступность воды. К настоящему времени накопился обширный объем сведений, характеризующий особенности водного режима растений, произрастающих в различных экологических условиях. Содержание воды в растениях доходит до 95% от массы организма, оно зависит от вида и возраста растений, от условий внешней среды. Большая часть содержания воды (60–90%) находится внутри клеток, а остальная часть

находится в основном в клеточных стенках. Так, содержание воды в листьях салата составляет 93–95%, кукурузы – 75–77%. Количество воды неодинаково в разных органах растений: например, клетках корня моркови содержание воды 85%, в молодых листьях салата – 95%, а в семенах 10–20% [Gimenez et. al., 2005]. Вода участвует прямо или косвенно во всех жизненных проявлениях, она является средой, в которой протекают все процессы обмена веществ. Основную часть цитоплазмы составляет вода. За счет воды поддерживается структура цитоплазмы и устойчивость её компонентов, например, коллоидов, кроме того, обеспечивается определенная конформация молекул белка. Высокое содержание воды обуславливает подвижный характер содержимому клетки. Вода – непосредственный участник многих химических реакций, такие как реакции гидролиза, многочисленные окислительно-восстановительные реакции идут с участием воды. Вода участвует в фотосинтезе, дыхании и различных гидролитических процессах. За счет водного тока обеспечивается взаимосвязь между клетками и отдельными органами растений и осуществляется транспорт питательных веществ. Наличие воды в клетках растений обуславливает тургор, который поддерживает форму, обеспечивает прочность тканей, сохраняет структуры травянистых растений. Насыщенность клеток водой определяет положение органов растений в пространстве, состояние устьиц и процесс транспирации [Кудоярова и др., 2013]. Испарение воды регулирует температуру растительных тканей. Рост клеток в фазе растяжения обеспечивается, главным образом, накоплением воды в вакуоли.

Основным источником воды для наземных растений является почва, а основным органом поглощения воды служит корневая система. Поступившая в клетки корня вода, передвигается до проводящих элементов ксилемы за счет разности водных потенциалов, которые возникают благодаря транспирации и корневого давления. Поступление, транспорт и выделение воды составляет водный обмен растения (Рисунок 1).

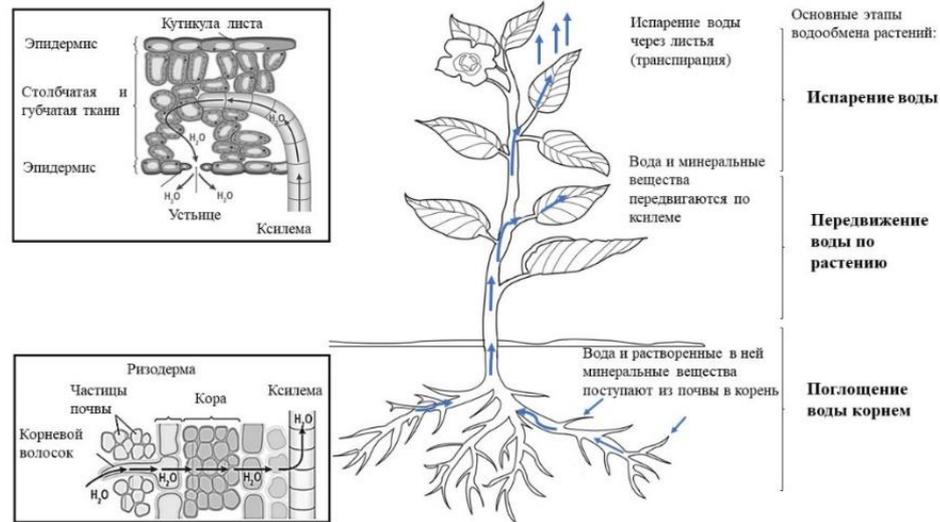


Рисунок 1 – Путь воды в растении (по Venturas et. al., 2017) с модификацией

Вода является существенным фактором, определяющим жизнедеятельность растений, она обеспечивает протекание процессов обмена, коррелятивные взаимодействия, связь организма со средой.

Для осуществления своей жизнедеятельности клетки и растительный организм в целом должны содержать определенное количество воды [Крафтс и др., 1951]. Соотношение между поступлением и расходом воды представляет собой водный баланс растения. В случае, если расходование воды в процессе транспирации не уравнивается ее поступлением, то наблюдается водный дефицит. Засуха – комплекс неблагоприятных метеорологических условий, при которых растения испытывают водный дефицит [Генкель, 1982]. На сегодняшний день выделяют 3 типа засухи по ее проявлению: почвенная, атмосферная и комбинированная (атмосферно-почвенная) [Ионова и др., 2019]. Атмосферная засуха возникает при недостаточной влажности и высокой температуре воздуха. При почвенной засухе вследствие длительного недостаточного количества осадков почва в корнеобитаемом слое значительно высыхает и растения от недостатка влаги начинают увядать. В случае комбинированной засухи наблюдают совместное действие почвенной и атмосферной засухи и отрицательный эффект их действия становится наибольшим. Для оценки и мониторинга засухи в мире существуют несколько Центров мониторинга засухи: Межгосударственный комитет по борьбе с засухой в Сахеле (CILSS), университет штата Небраска (США), Любляне (Словения), Центр мониторинга засухи Межгосударственного совета по гидрометеорологии стран СНГ (ЦМЗ МСГ СНГ)

которые занимаются слежением как за кратковременными изменениями (от нескольких дней до нескольких месяцев), существенными для сельского и лесного хозяйства, так и за долговременными изменениями (от нескольких месяцев до нескольких лет) [Задорнова, 2015]. Для большинства хозяйственно-ценных растений особенно важны дожди в первую половину лета (май, июнь), между тем именно этот период часто бывает резко засушливым (Приложение А). Мониторинг засухи является важной составляющей агрометеорологического мониторинга состояния и формирования продуктивности сельскохозяйственных культур.

В результате действия засухи у растений наблюдается уменьшение размеров листьев, удлинение корня, нарушается водный баланс, поскольку снижается эффективность использования воды [Farooq et. al., 2009]. В ответ на действие стресса растения проявляют разнообразные физиологические и биохимические реакции на клеточном и организменном уровнях, которые показаны на рисунке 2 [Iqbal et. al., 2022; Seleiman et. al., 2021].



Рисунок 2 – Реакции растений в ответ на действие засухи [по Iqbal et. al., 2022 и Seleiman et. al., 2021] с модификацией

При водном дефиците в растениях происходят значительные изменения обмена веществ. Пропадают гидратные оболочки белков и других полимеров, что приводит к конформационным нарушениям их третичной и четвертичной структуры, что в конечном счете, приводит к денатурации. Наблюдается снижение активности ферментов с последующей их инактивацией. Возрастает проницаемость мембран, так как происходит их дегидратация, мембраны утрачивают бислойные структуры и в них обнаруживаются значительные конформационные изменения [Слейчер, 1970]. При увеличении проницаемости плазмалеммы наблюдается потеря кальция, при этом повышается ее проводимость для воды. Одновременно с транспортом воды изменяется активность цАМФ- и  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой протеинкиназы, которые участвуют в качестве мессенджерных систем в регуляции транспорта воды. Так, для удержания воды в клетке необходимо цАМФ-зависимое фосфорилирование белков мембран, которое возможно в присутствии определенного количества  $\text{Ca}^{2+}$ . Так как инактивируются ферменты, в том числе десатуразы, отмечают уменьшение количества ненасыщенных жирных кислот в составе липидных компонентов мембран. Идет интенсивный распад полирибосом, снижается интенсивность синтеза РНК, и уменьшается ее количество. Активируются рибонуклеазы [Генкель, 1982; Seleiman et. al., 2021; Iqbal et. al., 2022]. Изменение же ДНК наблюдается только при сильной и длительной засухе.

В ответ на засуху начинает преобладать гидролиз различных органических веществ [Тарчевский, 1982]. В результате протеолиза происходит накопление низкомолекулярных белков, усиливается гидролиз полисахаридов и увеличивается концентрация растворимых углеводов. Таким образом, происходит повышение концентрации вакуолярного клеточного сока и роста осмотического давления, а, следовательно, большее поступление воды. Однако вследствие изменения химического состава клеток значительная часть ионов выходит из клеток, что ведет к подавлению синтеза и инактивации ферментов. Гидролитические процессы активируются в первую очередь в старых листьях нижних ярусов, продукты гидролиза поступают в верхние, молодые листья и включаются в их обмен веществ. Это позволяет растению более экономно расходовать питательные субстраты, а опадение старых листьев уменьшает транспирирующую поверхность. При засухе наблюдается задержка роста вследствие торможения процессов клеточного деления и растяжения. Рост корня особенно у засухоустойчивых растений, на начальных этапах может активироваться для

скорейшего достижения водоносных слоев почвы [Seleiman et. al., 2021; Iqbal et. al., 2022].

Изменения интенсивности дыхания в зависимости от содержания воды в тканях носит двухфазный характер. При небольшой потере воды наблюдается возрастание интенсивности дыхания, а при глубоком дефиците – понижение. Первичное повышение интенсивности дыхания обусловлено увеличением энергетических затрат на синтез осмотиков, защищающих белки при обезвоживании. При длительном воздействии засухи происходит спад интенсивности дыхания и снижается его энергетическая эффективность в результате повреждения дыхательных систем. Интенсивность фотосинтеза снижается раньше, чем интенсивность дыхания, так как ингибируются как фотохимические реакции, так и реакции восстановления  $\text{CO}_2$ . Дефицит влаги вызывает изменение сбалансированного уровня фитогормонов в клетках растений: увеличивается содержание абсцизовой кислоты и уменьшается содержание стимуляторов роста. При обезвоживании клеток антагонизм между АБК и цитокинином проявляется на уровне процессов, связанных с мембранами и приводящих к открыванию и закрыванию устьиц [Косулина и др., 2011].

Таким образом, неблагоприятное действие засухи состоит в первую очередь в обезвоживании и нарушении метаболических процессов. Такие реакции растений происходят в ответ на недостаточное снабжение водой или комплексное действие водного дефицита, интенсивного света и перегрева. Кроме того, надо иметь в виду, что в онтогенезе существуют наиболее чувствительные периоды к дефициту влаги [Кудоярова и др., 2013]. Эти периоды совпадают с наиболее интенсивным ростом растений и образованием гамет. Максимально устойчивы растения в период покоя, в виде семян, луковиц и т.п.

В виду прикрепленного образа жизни растения вынуждены существовать в постоянно изменяющихся условиях окружающей среды. В ответ на внешние раздражители растения реализуют механизмы защиты или избегания неблагоприятных факторов среды и продолжают свой жизненный цикл в условиях действия стрессоров.

## 1.2 Свет и его регуляторная роль в жизнедеятельности растений

Свет контролирует все аспекты жизнедеятельности растений в процессе онтогенеза, включая интегральные физиологические функции, как в оптимальных, так и в стрессорных условиях. Рост и фотосинтез являются одними из важнейших функций зелёного растения, составляющими основу жизнедеятельности. Исключительная сложность и многообразие связей этих двух важнейших функций растения обеспечивается системой регуляции со стороны эндогенных (фитогормоны, метаболиты и др.) и экзогенных факторов, одним из которых является свет [Карначук, Головацкая, 1998]. От света зависит вся жизнь растений, и, прежде всего, такие процессы как фотосинтез и фотоморфогенез.

### *Роль света в организации фотосинтетического аппарата*

Энергия, необходимая для процесса фотосинтеза – это энергия света. Свет может вызвать фотохимический эффект лишь после того, как он будет поглощен. Количество и качество получаемой растением лучистой энергии определяет структуру фотосинтетического аппарата, а также оказывает регуляторное воздействие на его функциональную активность [Тихомиров и др., 2000]. Лучистая энергия – это энергия электромагнитных колебаний, которая характеризуется определенной длиной волны. Вещества, избирательно поглощающие свет в видимой части спектра, называются пигментами. Участок видимого спектра, поглощаемый пигментами хлоропластов (380–700 нм), получил название фотосинтетически активной радиации (ФАР). Растительные организмы содержат несколько видов пигментов, каждый из которых выполняет определенные функции. В зеленых пластидах высших растений встречаются основные классы пигментов:

1. Хлорофиллы (Хл) (*a*, *b*) – сложные эфиры дикарбоновой кислоты хлорофиллина и двух спиртов – метилового и одноатомного непредельного спирта фитола. Спектры поглощения Хл *a* и *b* имеют ярко выраженные максимумы: в красной области соответственно 660 и 640 нм и в сине-фиолетовой – 430 и 450 нм.
2. Каротиноиды (каротины и ксантофиллы) – пигменты, относящиеся к группе полиизопреноидов. Каротины и ксантофиллы поглощают свет только в области сине-фиолетовых лучей 400–500 нм.

Процесс фотосинтеза представляет собой ряд фотофизических и биохимических реакций, протекающий в хлоропластах растений. В результате световых стадий фотосинтеза энергия, поглощённая растениями, запасается в виде химических связей молекул АТФ и сильного восстановителя НАДФ•Н, которые используются для синтеза углеводов в ходе темновых стадий фотосинтеза [Тихонов, 1997].

Известно, что действие света на автотрофный организм не ограничивается его энергетическим значением в фотосинтезе, а распространяется на множественные системы контроля роста и развития растения, выполняя, таким образом, важную регуляторную роль.

#### *Роль света в регуляции развития растений*

В зависимости от условий освещения и доступности света растения следуют по одному из двух путей развития: скотоморфогенез (этиоляция) или фотоморфогенез.

Этиоляция или скотоморфогенез – это так называемый темновой путь развития, когда растение стремится достичь оптимальных условий освещения, для фотоавтотрофного роста. В случае скотоморфогенеза проросток характеризуется удлинённым побегом и слабым развитием листьев, так как распределение ресурсов в проростке в этом случае направлено на удлинение гипокотилия вместо развития корня и семядоли. Быстрое удлинение гипокотилия является средством для поиска света, а сильно свернутый апикальный крючок защищает слабо развернутые семядоли или листья проростков. Эта стратегия роста гарантирует экономное использование ограниченных запасов семени и направлена на поиск света, предпосылки для выживания фотоавтотрофного организма [Головацкая, 2016].

Фотоморфогенез – это световой путь развития, определяет морфологию проростков, использующих максимальное поглощение света и функционирование фотосинтеза. Проростки характеризуются укороченным гипокотилем и сформированным фотосинтетическим аппаратом (семядоли, листья).

Различия в формировании проростков в темноте и на свету, обусловлены экспрессией генов, определяющих клеточную и субклеточную дифференцировку и морфологию органов. Сложная сеть межмолекулярных взаимодействий соединяет регуляторные фоторецепторы с системой, обеспечивающей развитие. Если обработать светом этиолированные проростки растений происходит ряд физиологических, биохимических и морфологических изменений (деэтиоляция). Наблюдается снижение

скорости удлинения клеток гипокотилей на фоне стимулирования деления и растяжения клеток семядолей и апекса побега, происходит дифференцирование устьиц. В ходе деэтиоляции из пропластид или этиопластов происходит формирование хлоропластов (побег), или амилопластов (корень). Все эти изменения приводят к накоплению хлорофилла и началу фотосинтеза [Головацкая, 2016].

В естественных условиях выращивания освещённость растения постоянно меняется как по интенсивности, так и по спектральному составу, что способствует различным изменениям на уровне целого растения, отдельных его органов и органоидов. Свет выступает в роли эффективного регуляторного фактора, контролирующего рост и развитие (морфогенез) растений на разных стадиях онтогенеза – начиная от прорастания семян и заканчивая индукцией зацветания. Регуляторная роль света, в большей степени, определяется его спектральным составом и реализуется через многочисленные фоторецепторы [Головацкая, 2005].

### 1.2.1 Характеристика системы фоторецепции у растений

В настоящее время у растений выделяют по меньшей мере пять групп фоторецепторов: рецепторы красного (КС) и дальнего красного света (ДКС) – фитохромы; рецепторы, воспринимающие ультрафиолетовое излучение А-диапазона (УФ-А), синий (СС) и зеленый (ЗС) свет – криптохромы, фототропины, белки семейства ZEITLUPE (ZTL); а также рецептор ультрафиолетового излучения В-диапазона (УФ-В) – белок UVR8. Например, для растений *Arabidopsis thaliana* на сегодняшний день установлено 14 фоторецепторов: это пять фитохромов (PHYA-E), три криптохрома (CRY1-3), два фототропина (PHOT1, PHOT2), три белка семейства ZEITLUPE (ZTL, FKF1, LKP2) и рецептор УФ-В UVR8 [Войцеховская, 2019].

Фоторецепторы, состоят из поглощающего свет пигмента (хромофора), связанного с молекулой белка-эффектора (апопротеина). Поглощение света хромофором стимулирует химическое или конформационное изменение в апопротеине рецептора, далее сигнал передается следующим молекулам [Головацкая, 2016]. На рисунке 3 представлена схема передачи светового сигнала в растении.

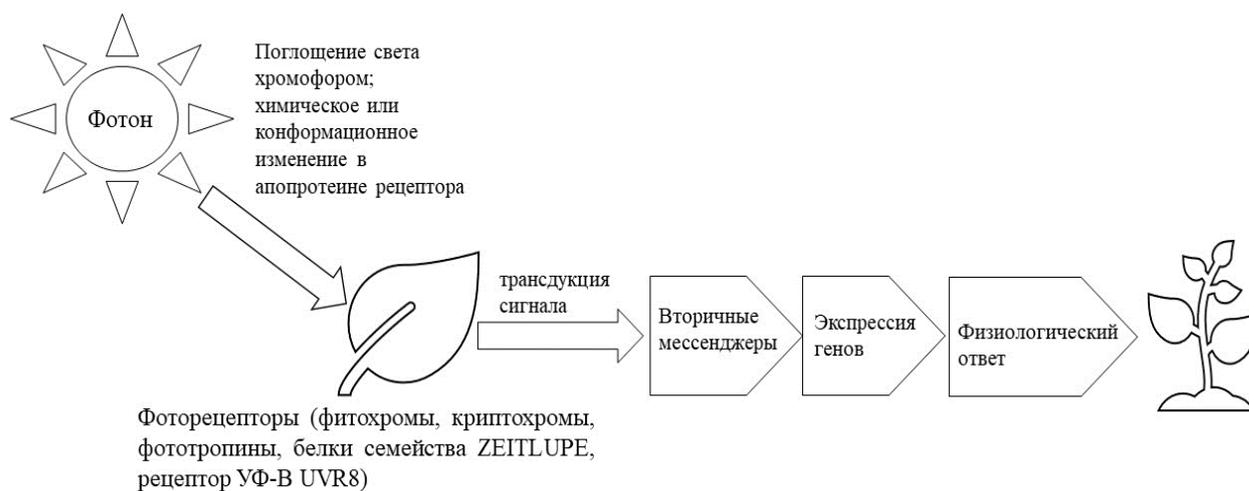


Рисунок 3 – Схема передачи светового сигнала в растении

Ключевым регулятором развития и жизнедеятельности растений является фитохромная система. Фитохром В улавливает изменения в соотношении красного (КС) и дальнего красного (ДКС) света. Он синтезируется в темноте в цитоплазме в неактивной форме, при поглощении фитохромобилином кванта света происходят конформационные изменения в самом фитохроме, а в дальнейшем его активация, что приводит к переключению генетических программ в клетке [Burgie, Vierstra, 2014]. У неактивной формы фитохрома максимум поглощения хромофора приходится на красную область спектра (660 нм), активная форма, имеет второй максимум поглощения хромофора в области ДКС (730 нм); эти формы условно обозначают Фкс и Фдкс. Освещение ДКС способствует переходу Фдкс обратно в Фкс. Фитохромная система позволяет растению реагировать на качество, интенсивность и продолжительность освещения, за счет изменения ростовых и формообразовательных процессов [Войцеховская, 2019]. Она контролирует прорастание семян, перестройку ростовых процессов, связанную с процессом деэтиоляции, обеспечивает растению оптимальную адаптацию к условиям освещения, необходимую для его фотосинтетической активности, участвует в регуляции цветения, формировании листовых зачатков и росте листьев, закладке корней, клубнеобразовании, контроле покоя почек, индукции биосинтеза пигментов антоцианов. Через фитохром происходят активация экспрессии генов хлоропластных белков, регуляция деления хлоропластов и формирования фотосинтетического аппарата растений [Кулаева, 2001].

К фоторецепторам растений, воспринимающим ультрафиолетовое излучение А-диапазона, синий и зеленый свет относят: криптохромы, фототропины и белки семейства ZTL.

Криптохромы – это хромопротеины растений, содержащие флавинадениндинуклеотид (ФАД) и птерин. Криптохромы имеют сходную структуру с бактериальными ДНК-фотолиазами, но не имеют ее активности, связанной с репарацией сшивок, возникающих в ДНК вследствие облучения УФ. Криптохромы действуют как рецепторы СС/УФ-А, имеющие два пика – в ультрафиолетовой области (320–360 нм) и области СС (420 нм), захватывая зеленую область спектра [Головацкая, 2016]. Криптохромы присутствуют во всем растительном царстве, включая голосеменные, папоротники, мхи и водоросли. Они же регулируют внутренние циркадные ритмы дрозофилы, мыши и человека [Вечтомова и др., 2020]. Для криптохромов CRY1 и CRY2, характерны как общие физиологические функции, такие как подавление удлинения гипокотыля и индукция синтеза антоцианов, так и специфические. Например, для CRY1 отмечена регуляция внутренних циркадных ритмов и индукция некоторых генов, вовлеченных в биосинтез флавоноидов, CRY2 контролирует растяжение семядолей и время цветения растений.

Фототропины – протеинкиназы, активируемые светом, как правило, локализируются у плазмалеммы, но не являются интегральными мембранными белками; кроме того, могут ассоциироваться с внешней мембраной хлоропластов [Christie et al., 2015]. Фототропины действуют как рецепторы СС/УФ-А, имеющие два пика – в ультрафиолетовой области (350–380 нм) и области СС (450 нм), поглощение в зеленой области спектра незначительно. Известно, что фототропины участвуют в регуляции фототропизма побега, корня и листьев, перемещений хлоропластов в ответ на световые и температурные сигналы, движений устьиц [Christie et al., 2015; Fujii et al., 2017].

Белки семейства ZEITLUPE – третья группа фоторецепторов, поглощающих СС, представляют собой Е3-убиквитин-лигазы. Белки семейства (ZTL/FKF1/LKP2) активируются под действием синего света и опосредуют убиквитинирование и протеасомную деградацию своих субстратов [Zoltowski, Imaizumi, 2014]. Белки семейства ZEITLUPE участвуют в регуляции циркадных ритмов (биологических часов) и фотопериодического цветения растений.

Рецептор ультрафиолетового света В-диапазона (UVR8) представляет собой семилопастной  $\beta$ -пропеллерный белок. UVR8 образует в отсутствие УФВ-света функционально неактивный гомодимер, локализованный в цитоплазме, а при поглощении УФ-В переходит в активную мономерную форму, которая может перемещаться в ядро [Фрайкин, 2018; Войцеховская, 2019]. UVR8 опосредует индукцию генов, кодирующих ферменты синтеза флавоноидов и фоторепарации УФВ-повреждений ДНК, запускает фототропизм и УФ-В-зависимый фотоморфогенез [Brown et al., 2005; Фрайкин, 2018], который может включать деэтиоляцию, остановку роста гипокотилия проростков и даже регуляцию циркадных ритмов и устойчивость растений к патогенам и грызущим насекомым [Favory et al., 2009; Tilbrook et al., 2013].

Нельзя говорить о строгом разграничении физиологических функций фоторецепторов. На сегодняшний день получены многочисленные данные, свидетельствующие о функциональном взаимодействии между криптохромами и фитохромами [Цыганкова и др., 2004]. Более того, отмечена комплексная сеть взаимодействий между двумя классами фоторецепторов (фитохромами и криптохромами), показаны преобладающее влияние одного из этих классов, антагонизм между ними и взаимодействия по типу эффектор/модулятор [Mockler, et al., 1999; Wang, Lino, 1998]. Обе фоторецепторные системы, действующие в ядерном компартменте – криптохром и фитохром – в заметной мере дополняют друг друга. Выдвинуто предположение о наличии перекрестных путей трансдукции сигнала между UVR8 и фитохромами [Войцеховская, 2019].

### **1.2.2 Роль селективного света в жизнедеятельности растений**

Регулируемые светом процессы нуждаются в небольшой энергии, но очень требовательны к его спектральному составу [Воскресенская, 1975]. Энергия света, поглощенная фоторецепторами в клетке, позволяет растению ориентироваться в окружающей обстановке и «подстраиваться» под необходимые для выживания и успешного размножения условия, например, регуляция выхода или перехода в состояние покоя, темпов и направления роста, формирования боковых побегов, перехода к цветению, а также синтеза летучих веществ, при аллелопатических взаимодействиях или запуск “запрограммированной клеточной гибели” [Casal, 2013;

Ballare, 2014; Song et al., 2015; Chai et al., 2015]. При изменении в световом потоке одного из участков спектра наблюдаются изменения в морфогенезе растений, т.к. нарушается передача сигнала в системе фоторегуляции [Карначук, 1989; Deng, 1994]. Показано, что качество света влияет на структуру фотосинтетического аппарата, газообмен при фотосинтезе [Воскресенская, 1965; Карначук и др., 1988а], на метаболизм [Гольд и др., 1973; Воскресенская, 1979], скорость электронов в транспортной цепи, активность ряда фотосинтетических ферментов, содержание фитогормонов [Карначук, 1989, Карначук и др., 1988] и прочее. Р.А. Карначук и И.Ф. Головацкой [1998] были проведены исследования, показывающие зависимость формирования баланса эндогенных гормонов от света различного спектрального состава, влияющего на рост различных видов растений. Учеными был сделан вывод о том, что свет разного спектрального состава оказывает регуляторное действие на соотношение гормонального комплекса листа растений, меняя соотношение стимуляторов и ингибиторов роста. Говоря о зависимости метаболических процессов от спектрального состава света, стоит упомянуть еще одну работу. Было проведено исследование действия света различного спектрального состава на биосинтез аскорбиновой кислоты в альбиносных проростках ячменя показало, что наибольшую активность в этом процессе проявил зеленый свет (480–600 нм) и далее по мере уменьшения активности – синий (430–520 нм) и красный (620–740 нм) [Чупахина, 1997].

В последнее время стало появляться все больше исследований, отражающих влияние качества света на стрессоустойчивость растений. На растениях огурца показано, что освещение растений огурца красным светом повышало устойчивость к мучинистой росе (*Sphaerotheca fuliginea*) за счет усиления синтеза салициловой кислоты и активации экспрессии генов [Wang et al. 2010]. Культивирование растений томата на синем свету повышало устойчивость к серой гнили за счет увеличения уровня пролина, полифенольных соединений, активности антиоксидантных ферментов [Kim et al. 2013]. Кроме того, есть данные о повышении устойчивости к абиотическим факторам среды за счет освещения растений светом определенной длины волны. Так, например, показано, что освещение дальним красным светом повышало устойчивость хлопчатника (*Gossypium hirsutum* L.) к засухе, за счет снижения скорости транспирации и повышения тургора и устьичной проводимости [Ouedraogo, Hubac, 1982]. Предварительная обработка растений красным+синим светом повышало засухоустойчивость Melissa

[Ahmadi et al., 2019]. При выращивании растений *Vicia faba* под светодиодами с определенной длиной волны, отметили, что наибольшую эффективность в повышении засухоустойчивости проявляли синий и желтый участки спектра. Синий свет повышал интенсивность фотосинтеза, активность антиоксидантных ферментов и транспирацию листа [Huang et al., 2020]. Кроме того, изменения отмечали в составе кутикулы растений, так на синем свету, первичные спирты сменились на алканы при действии стрессора. На желтом свету также отмечено снижение потери воды при засухе за счет уменьшения парафинов и изменения содержания первичных спиртов и увеличения содержания алканов.

Известно, что кратковременное воздействие синего света повышало устойчивость растений картофеля к хлоридному засолению за счет накопления компонентов неферментных систем антиоксидантной защиты (каротиноидов и пролина) [Ковтун и др., 2019]. Показано, что красный и синий свет способствуют повышению устойчивости к Cd у проростков риса [Sebastian, Prasad, 2014].

На основе результатов отдельных исследований, показавших изменение содержания мелатонина в зависимости от спектрального состава света, а также изменение его физиологической роли в регуляции метаболизма растений [Afreen et al., 2006; Khan et al., 2019; Chung, Deng, 2020], нами было высказано предположение о существовании взаимосвязи путей передачи сигналов света разного спектрального состава и мелатонина при регуляции физиологических процессов у растений в норме и при стрессе.

### **1.3 Гормональная система регуляции в жизнедеятельности растений**

Поддержание функциональной активности клетки в нормальных и неблагоприятных условиях среды требует определенной системы регуляции, включающей тесно связанные между собой генетическую, метаболическую и мембранную системы. Возникновение в процессе эволюции многоклеточных организмов привело к созданию дистанционной регуляции физиологических процессов, охватывающей взаимодействия клеток, тканей и органов. К межклеточным системам регуляции относят гормональную, трофическую и электрофизиологическую.

Гормональная система является важнейшим эндогенным фактором регуляции и управления у растений. Гормоны в общепринятом понимании являются биологически активными веществами, определяющими в известной степени состояние физиологических функций целостного организма, макро- и микроструктуру органов и тканей, и скорость протекания биохимических процессов [Розен, 1994].

Фитогормоны (гормоны растений), органические вещества небольшой молекулярной массы, образуемые в малых количествах в одних частях многоклеточных растений и действующие на другие их части как регуляторы и координаторы роста и развития. Характерной особенностью фитогормонов, отличающей их от других физиологически активных веществ (витаминов, микроэлементов), является то, что они включают физиологические и морфогенетические программы, например, такие, как корнеобразование, созревание плодов и т.д.

На сегодняшний день к гормонам растений относят следующие группы фитогормонов, которые широко распространены не только среди высших, но и низших многоклеточных растений. Это ауксины, цитокинины, гиббереллины, абсцизины, этилен, брассиностероиды, (липо)олигосахарины, жасминовая кислота, салициловая кислота, пептиды, полиамины. Каждая группа фитогормонов оказывает свое характерное действие, сходное у растений разных видов. Однако в последние годы стало очевидным, что гормоны действуют не только линейно, что гормональные пути связаны между собой сложной сетью взаимодействий и цепей обратной связи, которая определяет конечный результат действия отдельных гормонов [Vanstraelen, Benkova, 2012].

Для проявления активности фитогормоны должны предварительно взаимодействовать с рецепторами. Рецепторы – это молекулы белковой природы, которые распознают гормон, специфически связываются с ним, меняя свою конформацию, с образованием гормон-рецепторного комплекса. Гормон-рецепторный комплекс передает гормональный сигнал, необходимый для «запуска» ответной физиологической реакции клетки. Рецепторы располагаются как на мембранах, так и в цитозоле. Один и тот же гормон может связываться с разными рецепторами, тем самым вызывая различные ответные физиологические реакции. Именно это является одной из причин многофункциональности в действии фитогормонов. Необходимо учитывать, что фитогормоны оказывают влияние только на восприимчивые к ним (компетентные)

клетки. Одним из важнейших условий компетентности как раз и является наличие специфических рецепторов.

Фитогормоны контролируют все этапы онтогенеза растений. Деление и растяжение клеток, лежащие в основе всех процессов роста и морфогенеза, находятся у растений под контролем ауксинов и цитокининов, поэтому полное отсутствие этих фитогормонов для растений летально. Общая форма (архитектура) растения определяется ауксинами и цитокининами, а также гиббереллинами. Ауксины присутствуют практически во всех тканях растительного организма. Синтез ИУК наиболее активно идет в апикальных меристемах побегов, молодых листьях, развивающихся плодах [Wang, Irving, 2011]. Ауксины способствуют образованию корней и определяют адаптивные изгибы растения в соответствии с направлением света или вектора силы тяжести (фото- и геотропизм), стимулируют растяжения клеток в колеоптилях и побегах, активируют деления клеток камбия [Цыганкова и др., 2005]. Гиббереллины усиливают рост растения, активируя апикальные и интеркалярные (вставочные) меристемы. Формирование аппарата фотосинтеза и транспирация растений регулируются гормонами антагонистами – цитокининами и абсцизовой кислотой: цитокинины вызывают дифференцировку хлоропластов и открывание устьиц, тогда как абсцизовая кислота подавляет оба эти процесса. Для многих растений те или иные фитогормоны (гиббереллины, цитокинины, этилен) могут быть индукторами или стимуляторами цветения. Последовательное участие фитогормонов необходимо для нормального формирования плодов и семян. Завязывание и рост плодов стимулируются ауксинами, гиббереллинами и цитокининами, выделяемыми семяпочками или семенами. Созревание и опадение плодов, а также листьев, вызываются этиленом и абсцизовой кислотой. Фитогормоны играют важную роль в регуляции ответа на воздействие различных биотических и абиотических стрессоров наряду с координацией и регуляцией большинства функций развития и роста растений [Jiang and Asami, 2018; Nowicka et al., 2018]. Стрессовые воздействия на растения вызывают всплеск количества этилена, а водный дефицит – абсцизовой кислоты. Цитокинины, гиббереллины и, в ряде случаев, этилен способствуют прорастанию семян многих растений и повышают их всхожесть. Опухоли растений, вызванные некоторыми патогенными микроорганизмами (*Agrobacterium tumefaciens* и др.), обусловлены аномально высокими концентрациями ауксинов и цитокининов, продуцируемыми патогенами.

### 1.3.1 Фитомелатонин и его роль в жизнедеятельности растений

В 1958 году была открыта плейотропная молекула индольной природы – N-ацетил-5-метокситриптамин (Рисунок 4), который был назван мелатонином. Он был выделен из экстрактов эпифизов коров и определена его структура группой ученых во главе с Аароном Лернером в 1958 г. [Lerner et al., 1958]. В 1959 г. мелатонин был обнаружен у людей [Lerner et al., 1959], а в 1960-х и 70-х годах его присутствие было описано у многих млекопитающих и позвоночных (птицы, амфибии и рыбы) [Lauber et al., 1968; Baker et al., 1965; Fenwick et al., 1970]. В 80-90х годах мелатонин был выявлен у беспозвоночных (планария, кольчатые черви, моллюски, насекомые и ракообразные). [Vivien-Roels et al., 1984; Vivien-Roels et al., 1993; Morita et al., 1991; Balzer et al., 1997; Abran et al., 1994]. А в 1995 году одновременно двумя группами ученых было определено присутствие мелатонина в высших растениях [Dubbels et al., 1995; Hattori et al., 1995].

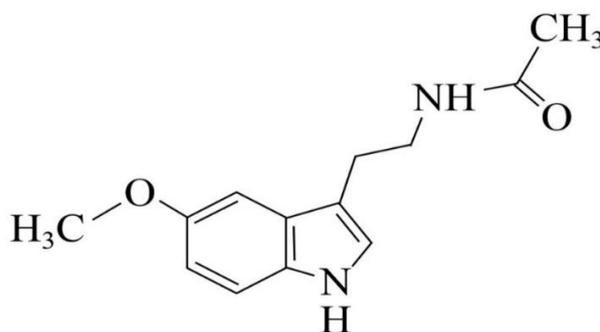


Рисунок 4 – Структурная формула мелатонина [Шибаетова и др., 2017].

У человека и животных мелатонин, являясь гормоном шишковидной железы, регулирует иммунные, нейроэндокринные и другие функции организма, контролирует биологические часы, передающие информацию о ритмах внешней среды органам и тканям. Известно о концентрационной зависимости мелатонина в организме человека от спектрального состава света. Исследования с использованием узкополосных источников освещения показали, что циркадианная система человека максимально чувствительна к коротковолновому (синему свету) излучению с пиком около 460 нм [Brainard et al., 2001; Thapan et al., 2001]. Исследования показали, что удаление коротковолновой области спектра до 530 нм из флуоресцентного белого света высокой интенсивности (> 1000 люкс) широкого спектра ограничивает подавление секреции мелатонина у человека

[Kayumov et al., 2005; Sasseville et al., 2006; Van de Werken et al., 2013; Rahman et al., 2017]. Показано, что выработка мелатонина подавляется излучением в синем диапазоне спектра с длиной волны 450–480 нм. В красном и желтом диапазонах синтез мелатонина не подавляется [Зак, Островский, 2012].

На сегодняшний день накоплено большое количество данных о влиянии мелатонина на устойчивость растений [Kolar, Machackova, 2005; Sun et al., 2020]. Так было показано, что предварительная обработка мелатонином значительно повышает устойчивость видов *Malus prunifolia* и *M. hupehensis* к засухе. Мелатонин избирательно регулирует гены *MdNCED3*, ген синтеза АБК, и до-регулирует катаболические гены, *MdCYP707A1* и *MdCYP707A2*, тем самым снижая содержание АБК. Мелатонин также непосредственно связывает  $H_2O_2$  и усиливает деятельность ферментов антиоксидантной системы [Li et al., 2015]. Установлено, что мелатонин повышает активность антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза и аскорбатпероксидаза в ответ на окислительный стресс у растений [Shi et al., 2015; Khan et al., 2020]. Отмечены протекторные свойства мелатонина в ответ на засоление, обусловленные повышением содержания хлорофилла в проростках томата, активацией фотосинтеза и стабилизацией окислительно-восстановительного гомеостаза в арбузе, повышением активности антиоксидантной системы проростков овса [Li et al. 2017; Gao et al. 2019; Sun et al., 2020]. Мелатонин увеличивал содержание хлорофилла, влиял на транспорт электронов и устьичную проводимость в ответ на действие стрессора [Wang et al., 2013, 2018; Zhang et al., 2015]. Отмечено, что экзогенный мелатонин ингибировал деградацию хлорофилла, подавлял экспрессию генов, связанных со старением, и задерживал старение листьев, регулируя факторы транскрипции SGR и NAC [Liang et al., 2015].

Известно, что в растениях мелатонин синтезируется *de novo* из триптофана в четыре стадии. Триптофан декарбоксилируется и превращается в серотонин путем гидроксирования, а затем далее превращается в мелатонин путем ацетилирования и метилирования [Nawaz et al., 2021]. Однако порядок этих реакций и вовлеченные ферменты различаются, что указывает на несколько путей биосинтеза.

Помимо биосинтеза *de novo*, мелатонин также поглощается растениями из окружающей среды. [Back et al., 2016; Yu et al., 2018]. Так, внесение мелатонина (5 мкМ) в питательную среду в течение пяти дней приводило к накоплению мелатонина в

листьях водного гиацинта (*Eichhornia crassipes*) [Tan et al., 2007]. Недавнее исследование с использованием наночастиц с квантовыми точками показало распределение абсорбированного мелатонина в зверобое продырявленном (*Hypericum perforatum*), демонстрируя поглощение и движение экзогенно внесенного мелатонина. Так, мелатонин абсорбировался клетками эпидермиса, перемещался латерально и накапливался в энтодермальных и быстро делящихся клетках перицикла. Также было обнаружено, что мелатонин транспортируется от корней к надземным частям растения, отмечена более диффузная его локализация в исследованных надземных тканях (нижняя сторона листа, жилка листа и черешок), чем серотонина. Интересно, что скопления мелатонина наблюдали в замыкающих клетках устьиц. При воздействии на растения зверобоя тепловым (37°C) или холодовым (4°C) стрессами терялась характерная закономерность распределения серотонина и мелатонина, при этом воздействие стресс-факторов не влияло на субклеточную локализацию молекул, а изменяло тканеспецифическое распределение [Erland et al., 2018].

В другом исследовании на проростках кукурузы было установлено, что мелатонин, внесенный экзогенно в корневую систему, поглощался и накапливался в листьях. Накопление мелатонина было пропорционально применяемой концентрации до 5 мМ, без насыщения (Рисунок 5). Анализ аккумуляции мелатонина во времени не показал адаптируемой (или десенсибилизируемой) системы поглощения в течение 24-часового периода. Накопление мелатонина уменьшилось в значительной степени растительными гормонами абсцизовой и салициловой кислотами. Отмечено, что закрытие устьиц, опосредованное АБК, снижает транспирацию, что приводит к уменьшению накопления мелатонина в листе, авторами был сделан вывод, что мелатонин, внесенный экзогенно в корневую систему, поглощался и транспортировался в листья за счет транспирации [Yoon et al., 2019].

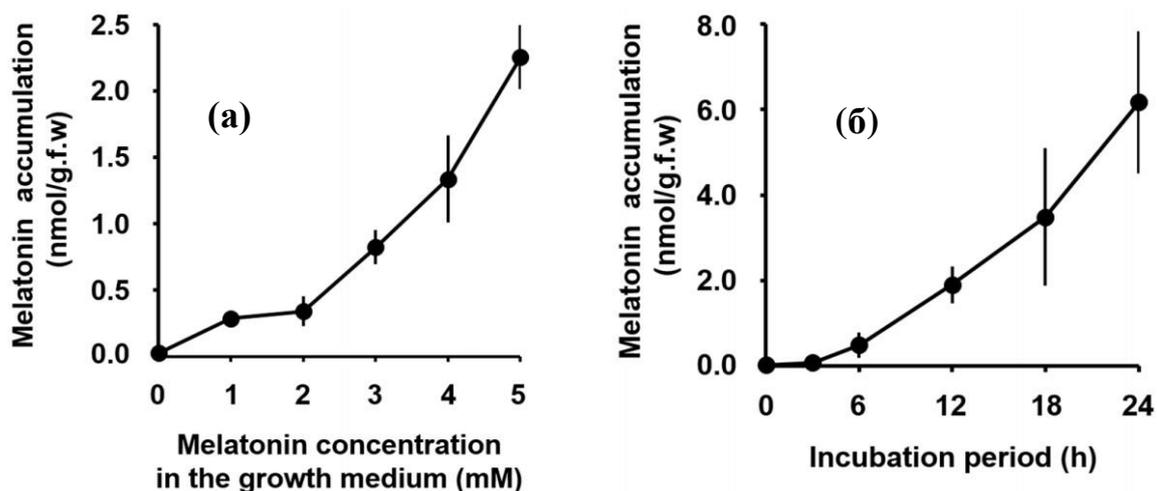


Рисунок 5 – Зависимость накопления мелатонина в листьях проростков кукурузы от концентрации мелатонина в питательной среде: (а) корреляция между накоплением мелатонина в листьях проростков кукурузы и концентрации мелатонина в питательной среде; (б) накопление мелатонина в зависимости от времени обработки мелатонином в концентрации 4 мМ [Yoon et al., 2019].

Транскриптомные и метаболомные исследования выявили влияние мелатонина на экспрессию генов, участвующих в биосинтезе жасминовой кислоты, в том числе четыре гена, связанные с липоксигеназой, и два метаболита (линолевая кислота и лецитин), что проявлялось в снижении негативного эффекта высоких концентраций меди на растениях дыни. Отмечено, что предварительная обработка мелатонином увеличила активность антиоксидантных ферментов и повышала жизнеспособность корней, а также снижала содержание пролина и малонового диальдегида (МДА) в корнях проростков дыни, подвергшихся токсическому действию меди [Hu et al., 2020]. Кроме того, показано влияние мелатонина на вторичный метаболизм растений в условиях стресса, так показано повышение уровня линолевой кислоты, флавоноидов и промежуточных продуктов биосинтеза мелатонина [Yu et al., 2018; Debnath et al., 2020; Hu et al., 2020]. Комбинированный транскриптомный и метаболомный анализ выявил опосредованный мелатонином синтез линолевой кислоты и аминокислот, участвующих в повышении солеустойчивости растений риса [Xie et al., 2021].

Установлено, что мелатонин непосредственно влияет на уровень экспрессии большого количества генов в геноме *Arabidopsis*, затрагивающих регуляцию роста и развития растений. Так же показано, что почти 900 генов, которые под действием

мелатонина изменяли наиболее значимо уровень экспрессии, почти 40% генов были так или иначе связаны с защитной системой растения, среди них рецепторы киназ и транскрипционных факторов, а также гены, кодирующие конечные продукты, которые непосредственно участвуют в защите от повреждения. Кроме того, изменялся уровень экспрессии генов, участвующих в различных сигнальных путях, это гены ауксина, АБК, салициловой кислоты, этилена и жасминовой кислоты. Эти результаты в очередной раз показывают, что мелатонин играет важнейшую роль в защите растений от стрессов окружающей среды [Weeda et al., 2014].

Роль мелатонина в растениях очень значительна и разнообразна, однако мало сведений о взаимодействии с другими гормонами при регуляции основных процессов в растении, что требует дальнейших исследований.

### 1.3.2 Взаимосвязь мелатонина с другими гормонами растений

Предшественником мелатонина в растениях является аминокислота триптофан, который также является предшественником индол-3-уксусной кислоты (ИУК) [Murch et al., 2000; Arnao, Hernandez–Ruiz, 2006]. Так как был определен общий предшественник мелатонина и ауксина, было выдвинуто предположение о том, что мелатонин возможно выполняет аналогичные физиологические функции, что и ауксин. ИУК имеет бимодальное влияние на рост растений, т. е. способствует росту при низких концентрациях и тормозит рост при высоких концентрациях. Группой ученых показано влияние мелатонина на рост корня и на эндогенный уровень ИУК в растениях *Brassica juncea* (горчица сарептская, или горчица русская) [Chen et al., 2003]. Ранние исследования выявили, что мелатонин ингибирует удлинение корня у некоторых однодольных при низких концентрациях. У *Phalaris canariensis* (канареечник птичий) и *Avena sativa* (овес посевной) 0,01 мМ мелатонин подавлял рост корней [Hernandez–Ruiz et al., 2005]. Однако у горчицы максимальное ингибирование корней произошло при действии 100 мМ, что значительно выше, чем у овса и канареечника. Эндогенный уровень мелатонина в канареечнике и овсе был ниже, чем у 2-х близких видов *Brassica* [Manchester et al., 2000; Hernandez–Ruiz et al., 2005]. Эти заметные различия в эндогенной концентрации мелатонина могли быть связаны с дифференциальным влиянием экзогенного мелатонина на рост корней. В экспериментах с *Brassica juncea*

установили, что 0,1 мМ мелатонин оказывал максимальный положительный эффект на удлинение корня. Эндогенный уровень ауксина также увеличился при действии низких концентраций (0,1 и 0,2 мМ) мелатонина. На основе этого можно заключить, что стимуляция роста корней при низкой концентрации мелатонина на самом деле вызваны мелатонин-стимулированным синтезом ИУК. При высоких концентрациях мелатонина, ауксин незначительно увеличился, но наблюдалось ингибирование корня. Таким образом, подавляющее влияние мелатонина на рост корней, вероятно, не связано с механизмами ауксина, по крайней мере, в *Brassica juncea*. Особые отношения между этими двумя гормонами остаются неизвестными, несмотря на то, что показано взаимодействие сигнальных путей этих веществ, а также их зависимость от света [Golovatskaya., Voyko, 2020]. Ответы на действие разных концентраций ИУК и мелатонина, полученные на проростках пшеницы, характеризуются гормоно- и органоспецифичностью [Golovatskaya et al., 2018].

Мелатонин, подобно ИУК, способен индуцировать рост побегов и корней, стимулировать корнеобразование, давая начало новым боковым и придаточным корням, способствует направленному отрицательному гравитропизму. Однако полученные данные демонстрируют, что мелатонин участвует в вегетативном росте, задействуя другие механизмы, отличающиеся от действия ауксинов [Arnao, Hernandez-Ruiz, 2017]. Недавние исследования показали, что высокие концентрации мелатонина могут блокировать выработку ИУК, тогда как низкие концентрации увеличивают ее. Мелатонин может изменять действие ауксина посредством изменений в активности переносчиков ауксина, за счет их блокировки, в следствие чего происходит модификация локальных градиентов ИУК [Weeda et al., 2014; Wang et al., 2016]. Кроме того, обработка растений мелатонином вызывала изменения в акропетальном транспорте ауксина за счет активации нескольких генов оттока ауксина (*PIN1*, *PIN3* и *PIN7*) и генов передачи сигналов ауксина (*IAA19* и *IAA24*) [Wang et al., 2016].

Jan Kolar и Ivana Macharckova [2005] в своей статье предполагают, что мелатонин мог бы гипотетически связываться с рецепторами ауксина и действовать непосредственно в качестве ауксина или агониста. Тем не менее, молекула мелатонина не отвечает требованиям характерным для ИУК. Минимальными структурными требованиями для ауксина-подобного действия является наличие ароматической и карбоксильной группы или группы, которые могут имитировать их с точки зрения

распределения электронов и полярности. Молекула мелатонина имеет ароматическую часть, но не хватает кислотной карбоксильной или аналогичной группы. В соответствии с этими теоретическими соображениями, показали, что мелатонин не имеет активность ауксина в двух модельных системах: колеоптили пшеницы и побег колеуса в фототропном тесте. Но работа Hernandez Ruiz с соавторами [2004] показала ауксин-подобную активность мелатонина у *Lupinus albus*. Применение мелатонина стимулировало удлинение гипокотыля в диапазоне концентраций похожих на стимулирующие концентрации ауксина (ИУК). Скорость реакций, подтверждала мнение, что мелатонин, возможно, действительно выполняет в этом случае гормональную функцию. Пока единственным выявленным рецептором мелатонина является найденный в растениях *Arabidopsis* рецептор CAND2/PMTR1, через который осуществляется регуляция процесса транспирации за счёт активации  $G\alpha$  субъединицы; в передачу мелатонинового сигнала вовлечены  $H_2O_2$  и  $Ca^{2+}$  [Wei et al., 2018]. Показано участие этого рецептора в регуляции экспрессии хлоропластных генов при фотоокислительном стрессе [Vuchkov et al., 2021].

В виду молекулярного сходства и общих путей биосинтеза первоначальные исследования взаимодействия между мелатонином и другими растительными гормонами, было направлено в сторону ауксина. Однако на сегодняшний день показана взаимосвязь между мелатонином и почти всеми известными растительными гормонами [Khan et al., 2022].

Обработка мелатонином семян огурца способствовала увеличению транскриптов генов синтеза гибберелинов в условиях засоления [Zhang et al., 2014]. Обработка мелатонином повышала концентрацию гибберелинов и синтез циклина в растениях яблони. Показано влияние мелатонина на репродуктивное развитие, так обработка мелатонином замедляло переход к цветению у арабидопсиса за счет увеличения экспрессии локуса цветения С и снижения экспрессии локуса цветения Т [Khan et al., 2022].

Исследования взаимодействия мелатонина и цитокининов показали, что экзогенная обработка мелатонином повышает их уровень, в свою очередь цитокинины увеличивают уровень экспрессии генов биосинтеза мелатонина с увеличением эндогенного мелатонина. У растений рапса отмечали активацию многочисленных

компонентов передачи сигналов цитокининов, включая A-ARR и B-ARR [Tan et al., 2019].

На растениях огурца, яблони, пекинской капусты показали, что введение в питательную среду мелатонина приводит к снижению уровня абсцизовой кислоты, за счет подавления ключевого фермента в биосинтезе (NCED) и активацию генов катаболизма (*CYP707*) АБК [Arnao, Hernandez-Ruiz, 2021]. Однако у некоторых растений, в том числе у ячменя и *Elymus nutans*, показано повышение уровня АБК в ответ на обработку мелатонином [Arnao, Hernandez-Ruiz, 2021].

В отношении этилена, установлено, что обработка мелатонином способствует запуску синтеза этилена, тем самым контролируя ряд факторов созревания плодов томатов, включая *RIN*, *CNR*, *NOR* и *AP2a* [Sun et al., 2020].

Установлено, что растения арабидопсис, инфицированные *Pseudomonas syringae*, повышали уровни мелатонина и салициловой кислоты. Мелатонин защищал растения табака и томата от вируса табачной мозаики за счет активации синтеза салициловой кислоты и NO [Zhao et al., 2019]. У нокаутных мутантов по гену *SNAT* показаны более низкие уровни мелатонина и салициловой кислоты, вследствие этого данные растения были более уязвимы к патогенам [Lee et al., 2015].

Жасмонаты контролируют широкий спектр функций, связанных с развитием, ростом и реакциями растений на стресс. Недавние исследования показали, что взаимодействие мелатонина и жасмонатов довольно сложное, так, мелатонин способствует снижению биосинтеза жасмонатов у растений рапса в условиях засоления. Мелатонин запускает выработку белков JAZ (белков-репрессоров в сигнальном пути жасмонатов), которые подавляют ответ, опосредованный жасмонатами, в результате чего возрастает солеустойчивость растений. Также установлено, что экзогенная обработка мелатонином растений томата способствовала повышению уровня жасминовой кислоты в условиях водного дефицита [Khan et al., 2022].

Так же в последнее время появились данные о влиянии мелатонина на уровень brassinosterоидов, так, на растениях риса показано, что мелатонин способствовал накоплению транскриптов генов продукции brassinosterоидов [Hwang, Back, 2018].

Вовлеченность мелатонина в пути биосинтеза и деградации фитогормонов, а также влияние на их сигнальные пути свидетельствует о важной роли данного индола в жизнедеятельности растительного организма.

Растения, ведущие прикрепленный образ жизни, постоянно подвергаются действию негативных факторов окружающей среды. Анализ литературных данных показал возрастающий интерес к роли света разного спектрального состава на формирование устойчивости растений к негативным факторам окружающей среды. Широкий спектр физиологических ответов возможен благодаря взаимодействию систем фоторецепции с гормональными системами растений, а также с сигнальными системами, основанными на продукции АФК в фотосинтетическом аппарате [Kreslavski et al., 2018; Chen et al., 2013; Martin et al., 2016]. На основании изученных источников литературы установлено светозависимое действие мелатонина на жизнедеятельность животных и человека [Thapan et al., 2001, Kayumov et al., 2005; Sasseville et al., 2006; Van de Werken et al., 2013; Rahman et al., 2017], нами выдвинуто предположение о возможном существовании фоторегуляции эффектов мелатонина в растении и его совместного действия со светом разного спектрального состава в повышении устойчивости растений к засухе.

Изучение роли спектрального состава света в регуляции жизнедеятельности растений особенно актуально при их культивировании в открытом грунте с разной плотностью посева и изменении высоты солнцестояния, а также в закрытом грунте при использовании разных типов искусственных покрытий или качества источников света с целью применения полученных данных для агропроизводств.

## 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Объекты исследования

В исследованиях нами были использованы разные растительные объекты, в том числе целые растения и отдельные их органы. Такой выбор моделей служил для более разносторонней оценки роли мелатонина в регуляции отдельных процессов.

Основными объектами для исследования действия мелатонина на процессы морфогенеза и фотосинтеза служили проростки и взрослые растения огурца *Cucumis sativus* L. Эти же растения применяли в исследованиях действия мелатонина на ростовые и метаболические процессы в условиях дефицита воды и действия света разного спектрального состава. В качестве модельного объекта исследования были использованы регенеранты растений картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Луговской, которые выращивали в условиях дефицита воды вследствие действия засоления и низких положительных температур.

Модельными растениями служили 3-суточные проростки пшеницы обыкновенной (*Triticum aestivum* L.) сорта Иргина и 7-дневные проростки *Arabidopsis thaliana* L. Колеоптили пшеницы, растущие только растяжением в центральной зоне, служили моделью для изучения процессов клеточного растяжения. Проростки *A. thaliana* использовали для изучения ското- и фотоморфогенеза, а также роли ауксина (мутант с нарушенным сигналингом ауксина) и фоторецепторов (мутанты по фоторецепторам красного и синего света) в мелатонин-зависимых процессах.

#### 2.1.1 *Cucumis sativus* L.

Огурец обыкновенный (*Cucumis sativus* L.) – двудольное растение, относящееся к семейству Тыквенные (Cucurbitaceae), однодомное травянистое растение, цветки пазушные, раздельнополые, редко обоеполые. Растения огурца имеют стержневой и разветвленный корень, основная часть которого находится в пахотном слое почвы. Стебель стелющийся, округло-граненный, опушен, длиной до 1,5 м, ветвящийся с простыми усиками. Очередное расположение листьев, листовая пластина пятилопастная

(лопасти острые), реже цельная (овальные). Теплолюбивая культура, не переносит заморозков. Оптимальная температура для роста и развития составляет +24...+28°C в солнечный день, +18...+22°C – в пасмурный, ночью желательно – не ниже +12°C. Растения требовательны к влажности почвы и относительной влажности воздуха. Огурец является одной из самых распространённых сельскохозяйственных культур данного семейства. Работа выполнена на растениях огурца раннеспелого сорта Изыщный (Рисунок 6).



Рисунок 6 – 7-дневные растения огурца раннеспелого сорта Изыщный  
В ходе эксперимента применяли аква- и почвенную культуры.

### 2.1.2 *Solanum tuberosum* L.

Исследование проводили на растениях *Solanum tuberosum* L. среднеспелого сорта Луговской (идентификатор 8301891). Многолетнее травянистое растение Семейство *Solanaceae*, род *Solanum* L., вид *Solanum tuberosum* L., влаголюбивое (особенно во время цветения и клубнеобразования), светолюбивое растение (Рисунок 7). Ценная овощная, продовольственная, кормовая и техническая культура.



Рисунок 7 – 2-недельные растений картофеля среднеспелого сорта Луговской в  
аквакультуре

### 2.1.3 *Triticum aestivum* L.

Пшеница обыкновенная (*Triticum aestivum* L.) – однодольное однолетнее травянистое растение из семейства Злаков (Poaceae). В исследованиях нами были использованы coleoptили 3-дневных проростков пшеницы (Рисунок 8). Coleoptили злаков, отличаются активным ростом, являются удобным объектом, для исследования физиологического действия экзогенных соединений на рост [Мелехов и др., 1983; Карпец и др., 2011].



Рисунок 8 – 3-суточные coleoptили (а) пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Иргина, отделение центральной зоны coleoptилей пшеницы при помощи конструкции А.Н.Бояркина (б)

Coleoptили пшеницы, растут только за счет растяжения в центральной зоне, и тем самым являются удачным объектом для изучения процессов клеточного растяжения.

### 2.1.4 *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

Часть исследований проводили на модельном растении *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. – вид из семейства Brassicaceae. Важной особенностью этих растений является короткий жизненный цикл, который занимает около 5–8 недель (Рисунок 9). Растения *A.thaliana* имеют малый размер генома в сравнении с другими растениями (125 млн пн), малое число хромосом (5 пар) и малое число повторенных последовательностей.

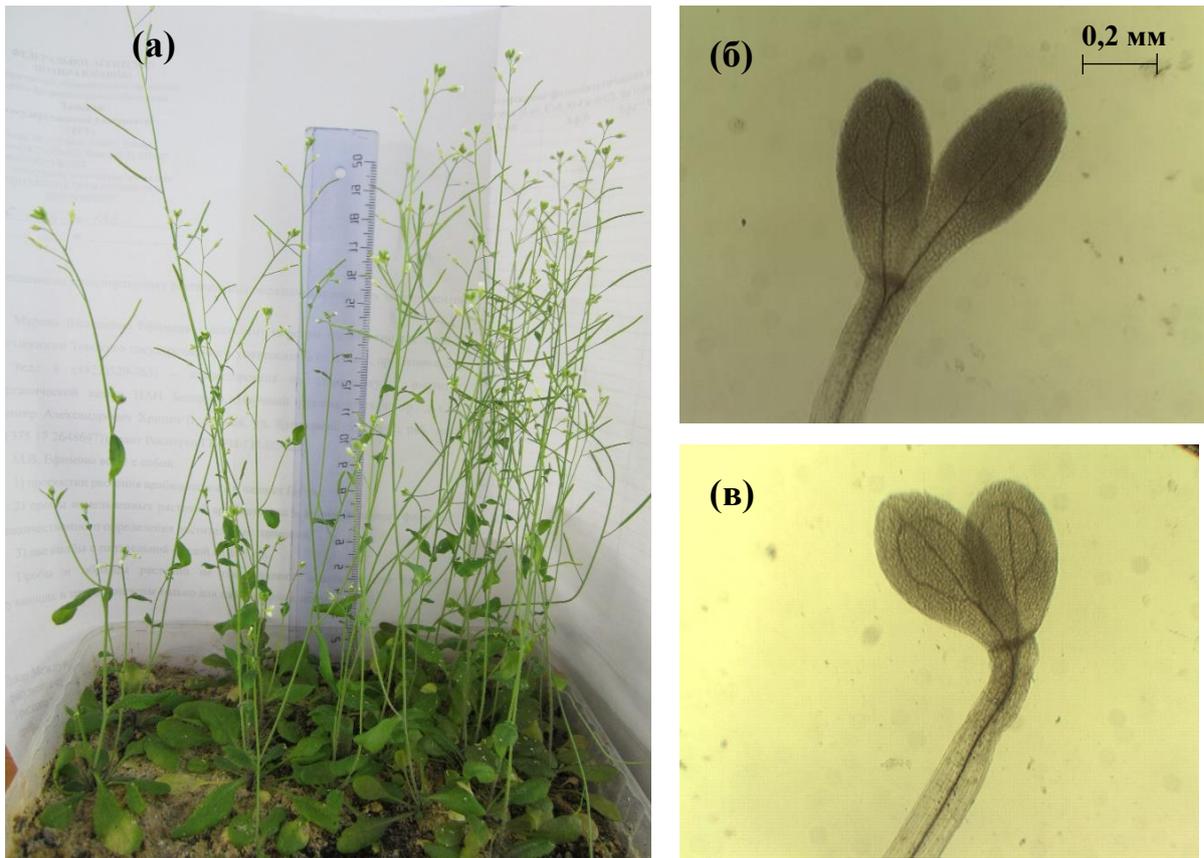


Рисунок 9 – Цветущее растение *Arabidopsis thaliana* L. экотипа Columbia дикого типа Col (а) и семядоли 7-дневных проростков *A. thaliana* дикого типа Col (б) и его мутантной линии *axr1-3* (в) (темнота)

Геном арабидопсиса является наименьшим из известных геномов цветковых растений и первым секвенированным геномом. Растения арабидопсиса самоопыляемые, что позволяет выращивать гомозиготные линии. На сегодняшний день накоплено большое количество мутантных линий [Зеленин, 2003; Koornneef, Meinke, 2010].

В эксперименте нами использованы растения *A. thaliana* экотипа Columbia дикого типа Col и его мутантной линии *axr1-3*. Все мутантные линии по гену *AXR* проявляют нарушение в чувствительности к гормону ауксину, а именно обладают устойчивостью, то есть характеризуются способностью роста при максимальных концентрациях гормона. *Axr*-мутанты различаются по степени устойчивости и отнесены к 3 локусам - *AXR1*, *AXR2*, *AXR3*.

Все мутантные линии по гену *AXR1* имеют сходный фенотип. Дефекты включают: уменьшение высоты растений, корневой гравитропизм, укорочение гипокотилия и изменения в плодоношении. Известно, что ген *AXR1* кодирует белок с молекулярным

весом 60 кДа, сходный N-терминальной убиквитинактивирующей части энзима E1. Роль самого гена в убиквитиновом пути неизвестна, предполагают, что белок Axt 1 может модифицировать энзимы в убиквитиновом пути и ген *AXR1* может кодировать и регулировать короткоживущие белки, предполагая их роль в быстрой передаче сигнала в ответ на ИУК [Лутова и др., 2011].

По результатам сканирующей электронной микроскопии четкого различия в размерах клеток не наблюдали между диким типом и мутантом. Тем не менее, сосудистые пучки мутанта, его стебли были признаны менее дифференцированными, чем у дикого типа. Фенотипически мутант *axr 1-3* является более низкорослым, имеет большее количество боковых побегов из-за сниженного апикального доминирования, большее число соцветий, по сравнению с диким типом. У этиолированных проростков *axr 1-3* гипокотиль укороченный, а при световом режиме не отличается от дикого типа [Estelle, Sommerville, 1987].

При изучении совместного действия мелатонина и спектрального состава света на рост и развитие растений были использованы проростки *Arabidopsis thaliana* дикого типа экотипа Landsberg *erecta* (Ler) и его мутантных линий *hy4* и *hy3*, дефектных соответственно по фоторецептору СС/УФ-А CRY1 и КС/дальнего красного света PHYB [Ahmad et al., 1993].

Мутант *hy3* дефектный только по структуре фитохрома В, характеризуется резким ослаблением морфогенетического ответа на красную часть спектра, что позволяет говорить о том, что именно фитохром В является основным фоторецептором, способным индуцировать морфогенез в ответ на освещение красным светом. Мутант *hy4* лишен функционально активного криптохрома в связи с чем нарушены морфогенетические реакции на действие синего, зеленого света и ближнего ультрафиолетового диапазона [Лутова и др., 2011].

## 2.2 Методики исследования

### 2.2.1 Спектральные характеристики источников освещения

Спектры излучения источников света определяли с помощью спектрометра AvaSpec и программного обеспечения AVASOFT версия 6.2 (Avantes BV, Нидерланды).

Спектры излучения ламп синего (лампы фирмы «Philips» синие TL-D 18W/18), белого (люминесцентной лампы фирмы «OSRAM» белые L36/640 G13) или красного (лампы фирмы «Philips») света представлены на рисунке 10 (а-в), спектральные характеристики светодиодов SMD 3528 на рисунке 10 (г-е). Светодиоды были собраны в модули, излучающие световой поток с разным соотношением плотности потока фотонов синего, зелёного и красного участков спектра ФАР – 2 : 3 : 1 (2СК), 1,5 : 3 : 1,5 (1,5(СК)) и 1 : 3 : 2 (С2К).

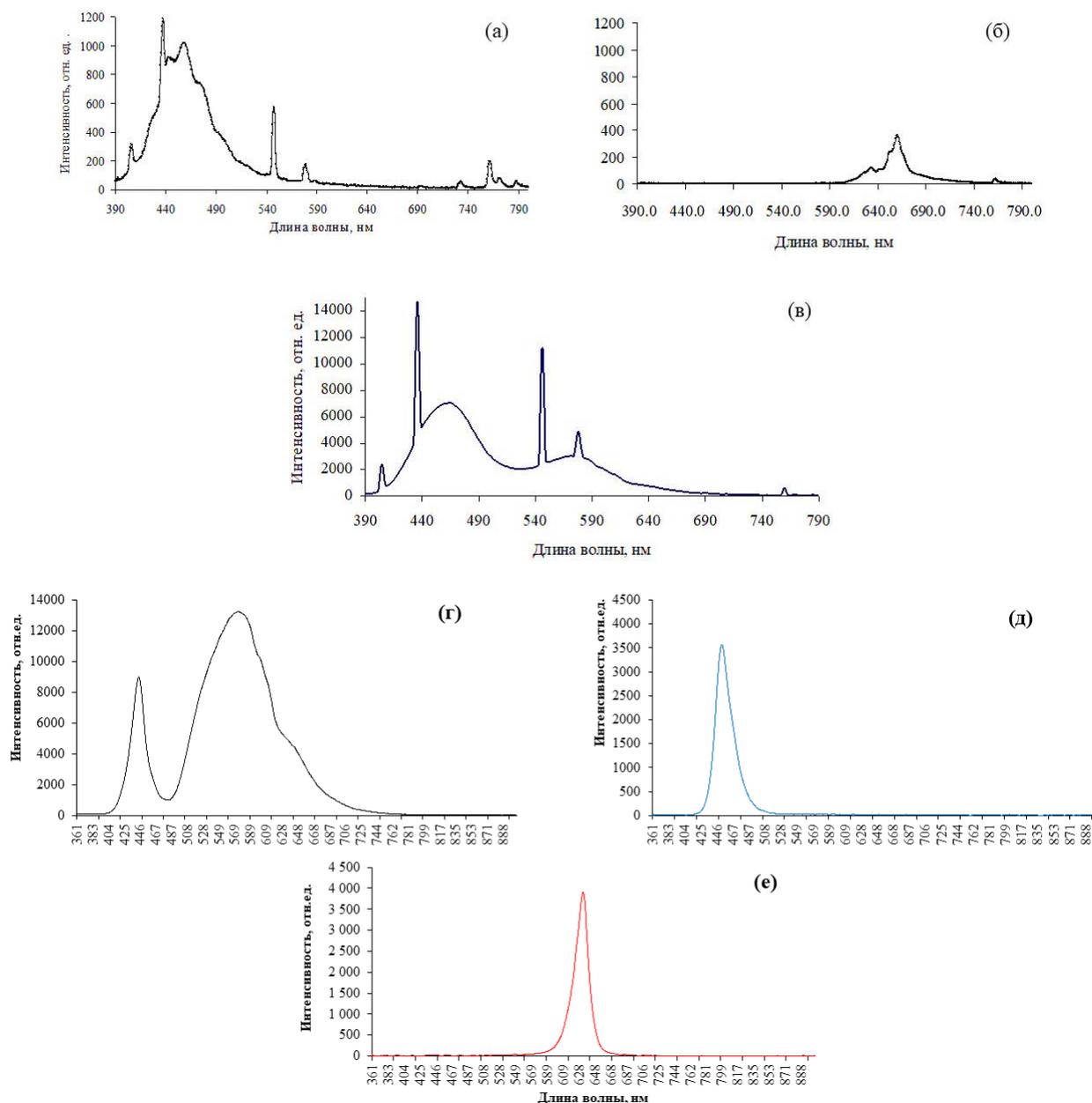


Рисунок 10 – Спектры излучения синей люминесцентной лампы TL-D 18W/18 (max = 425 – 450 nm) фирмы «Philips» (а), красной люминесцентной лампы TL-D 18W/15 (б) и белой люминесцентной лампы L36/640 G13 фирмы «OSRAM» (в), спектральные характеристики светодиодов SMD 3528: белый (г), синий (д) красный (е)

Источники света были закреплены в верхней части осветительных установок с подвижными полками. Плотность потока падающих квантов измеряли с помощью спектрометра AvaSpec в процессе культивирования на уровне среднего яруса растений. При увеличении размеров растений за счет перемещения полок вниз выставляли исследуемый световой поток.

## 2.2.2 Условия культивирования растений *Cucumis sativus* L. в аквакультуре

Выращивание растений огурца (*Cucumis sativus* L) раннеспелого сорта Изящный (Агрофирма «СеДеК») осуществляли на жидкой питательной среде МС-среда. Стерилизацию семян осуществляли обработкой их в 70% растворе этилового спирта в течение 1–2 минут с последующей промывкой стерильной дистиллированной водой. Затем открытые чашки оставляли под УФ-лучами в токе стерильного воздуха.

**На растениях огурца проведено 6 серий экспериментов:**

### Серия экспериментов №1:

Для изучения влияния кратковременного действия мелатонина («Sigma», США) на фотосинтетическую активность листьев растений огурца, проводили по следующей схеме. Семена огурца проращивали в лотках в вермикулите на 25% питательной среде Мурасиге-Скуга (МС-среда), спустя 4 дня культивирования повышали концентрацию среды до 50%, на следующие 4 дня – до 75% и еще через 4 дня – до 100%. Далее растения были ранжированы, отобран средний класс 216 растений (по 72 растения на вариант) и перенесены на 100% МС-среду в индивидуальные емкости без вермикулита, растения культивировали еще 9 суток. В таблице 1 приведён состав полной МС-среды.

Таблица 1 – Состав полной питательной среды Мурасиге-Скуга (МС-среды)

Компоненты питательной среды концентрация, мг/л			
Компоненты макросолей		Компоненты микросолей	
KNO <sub>3</sub>	1900	KJ	0,83
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	MnSO <sub>4</sub> • 4H <sub>2</sub> O	22,3
CaCl <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O	440	ZnSO <sub>4</sub> • 4H <sub>2</sub> O	8,6
MgSO <sub>4</sub> • 7 H <sub>2</sub> O	370	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> • 2H <sub>2</sub> O	0,25
FeSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O	27,8	CuSO <sub>4</sub> • 5H <sub>2</sub> O	0,025
Na <sub>2</sub> ЭДТА • 2H <sub>2</sub> O	37,3	CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O	0,025
В случае твердой питательной среды: агар-агар – 9 г/л			

Растения выращивали на белом свете при плотности потока падающих квантов – 200–230 мкмоль/(м<sup>2</sup> с), 16-часовом фотопериоде, влажности 60–70%, температуре воздуха 23–25°C. 21-дневные растения огурца делили на 3 группы и переносили по одному в новые сосуды со средой: МС-среда (контроль) или МС-среда + 0,1 пМ мелатонин или МС-среда + 1 мкМ мелатонин (опыт), предварительно промыв корни свежей МС-средой и дав питательному раствору стечь с корней на фильтровальную бумагу. На выбор изучаемых концентраций оказали влияние данные, полученные Weeda с соавторами (2014), которые установили, что корневая обработка растений арабидопсис мелатонином в концентрациях 100 пМ и 1 мМ неодинаково изменяла экспрессию генов, участвующих в фотосинтезе [Weeda et al., 2014].

Серии экспериментов 2 – 6 направлены на изучение дефицита воды. Для изучения засухоустойчивости растений использовали разные подходы к моделированию действия засухи. Например, проводили постановку почвенных моделей с постепенным снижением или полным прекращением полива. Так же были разработаны гидропонные методы имитации условий дефицита воды. Так, для создания ризосферой засухи применяли имитацию засухи за счет снижения водного потенциала корнеобитаемой среды путем внесения в питательный раствор осмотически активных веществ (осмолитов). В качестве осмолитов могут быть использованы проникающие (маннитол, мелибиоза), непроникающие (полиэтиленгликоль) агенты [Osmolovskaya et al., 2017]. Нами использован непроникающий агент, в частности полиэтиленгликоль с молекулярной массой 6000, что привело к снижению водного потенциала среды и блокированию поглощения воды корнями растений. Известно, что для влаголюбивых травянистых растений устойчивое завядание наступает при водном потенциале почвы 0,7 – 0,8 МПа, у большинства сельскохозяйственных растений при 1 – 2 МПа, а у древесных пород – при 2 – 3 МПа [Дорошенко и др., 2010]. Снижение содержания воды на 20 – 30% приводит к развитию водного дефицита в тканях, который возникает задолго до того, как содержание влаги в почве достигнет уровня устойчивого завядания [Osmolovskaya et al., 2017].

### **Серия экспериментов №2:**

Семена растений огурца проращивали в условиях аквакультуры на МС-среде без и с добавлением мелатонина 0,1 пМ и 1 мкМ, сформированные проростки культивировали в течение 14 дней.

Затем для оценки протекторного эффекта мелатонина в условиях атмосферной засухи часть двухнедельных растений огурца, выращенных при нормальной влажности (80%), переносили в условия 35 % влажности воздуха (атмосферная засуха – опыт) в климатической камере Биотрон-35, другую часть растений оставляли в исходных условиях (контроль) [Бойко и др., 2017]. Культивирование растений огурца осуществляли еще в течение 16 дней без и в присутствии мелатонина (0,1 пМ; 1 мкМ).

### **Серия экспериментов №3:**

Семена огурца высевали в стерильный почвогрунт с содержанием питательных веществ мг/л: азот (N) – не менее 250,0; фосфор ( $P_2O_5$ ) – не менее 275,0; калий ( $K_2O$ ) – не менее 275,0; кислотность (pH) – 5,5–7,0. Растения культивировали в течение 14 дней на свету, полученном от источников, представленных смесью светодиодов APEYRON (Китай) с разными комбинациями трех участков спектра ФАР. Синие светодиоды (SMD 3528) имели максимум в 440–460 нм, красные светодиоды (SMD 3528) – максимумы 630–660 нм, белые светодиоды (SMD 3528) – цветовая температура 4000К. Соотношение плотности потока фотонов синего : зеленого : красного света составило 2 : 3 : 1 (2СК), 1,5 : 3 : 1,5 (1,5(СК)) и 1 : 3 : 2 (С2К). Суммарная плотность потока падающих фотонов при всех типах освещения была равна – 130–160 мкмоль/(м<sup>2</sup> с) (Рисунок 10 г-е). 14-дневные растения были ранжированы на 2 группы в каждом световом варианте (1,5(СК), С2К, 2СК), одна группа растений оставалась контрольной, во второй группе проводили 3-дневную корневую обработку 1 мкМ мелатонина (1 мкМ Мел). Затем часть растений в каждой группы подвергали засухе путем понижения количества вносимой воды, в результате чего влагоемкость почвы составляла 40 %. Выбор влагоемкости обусловлен литературными данными, так известно, что для растений огурца оптимальная относительная влажность воздуха составляет 80–90%, тогда как оптимальная влажность почвы, в период нарастания листовой поверхности – 70–80%, в период цветения – 55–60% наименьшей влагоемкости [Терехина, 2008]. Схема эксперимента представлена на рисунке 11.

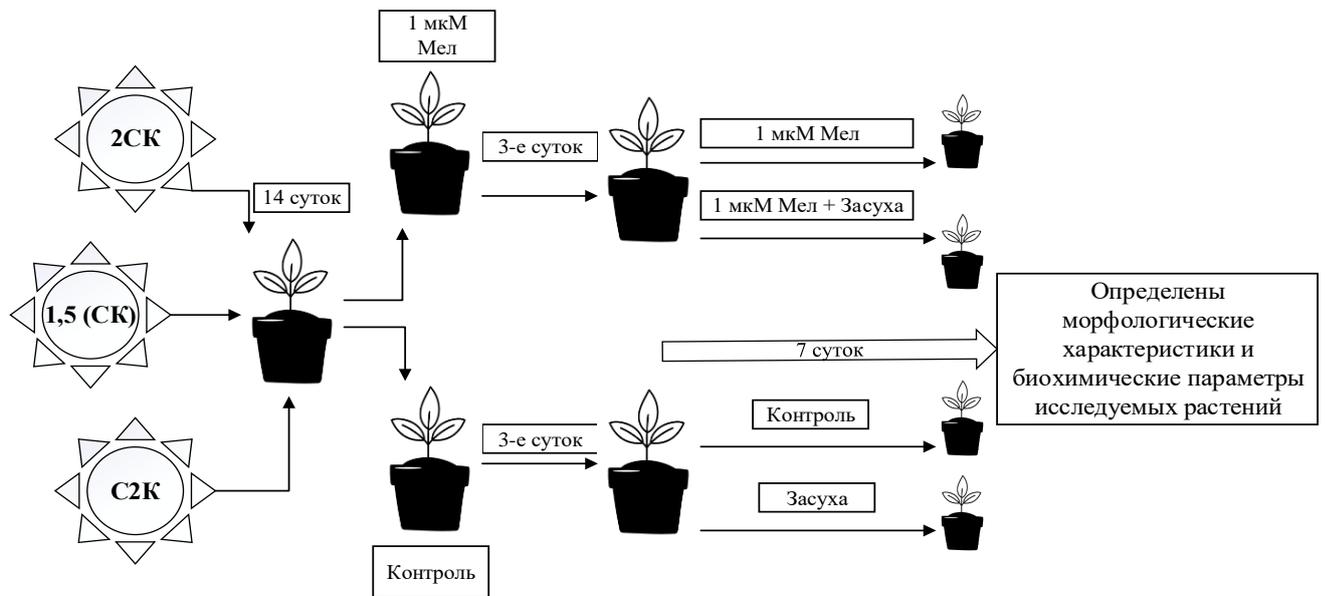


Рисунок 11 – Схема почвенного эксперимента с корневой предобработкой мелатонином растений огурца в условиях засухи

#### Серия экспериментов №4:

Растения огурца выращивали на безгормональной 50% жидкой МС-среде до 11-дневного возраста, далее воздействовали стрессором (засуха) в течение 3 суток. Для имитации умеренной засухи использовали 4% раствор полиэтиленгликоля 6000 (PanReac AppliChem, Германия) (ПЭГ 4), величина водного потенциала составила  $-0,3$  МПа. Три группы растений выращивали на разных средах: 50% МС (контроль), среда с ПЭГ4 и содержащая мелатонин среда (ПЭГ4 + 1 мкМ Мел). Выбор исследуемой концентрации мелатонина был обусловлен большей эффективностью действия 1 мкМ гормона на параметры 2-недельных растений огурца (суммарную площадь поверхности листьев, уровень пигментов фотосинтеза, содержание пролина), показанными в наших экспериментах.

#### Серия экспериментов №5:

Стерильные семена высевали на стерильные фильтры, смоченные питательной 50% МС-средой (контроль) или МС-средой с добавлением 0,1 пМ и 1 мкМ мелатонина или 4 и 8% растворов полиэтиленгликоля 6000, создающих умеренную (ПЭГ 4) и сильную (ПЭГ 8) засухи с водным потенциалом  $-0,3$  и  $0,4$  МПа соответственно. В таблице 2 представлены варианты проводимого эксперимента. Сосуды разных вариантов помещали в темноту или осветительные установки, условия освещения аналогичны экспериментам № 3 (Рисунок 10 г-е) на 7 суток.

Таблица 2 – Варианты эксперимента по выяснению роли мелатонина в регуляции роста проростков растений огурца в условиях засухи и света разного спектрального состава

Тип среды культивирования	Вариант эксперимента			
	темнота	1,5 (СК)	2 СК	С2К
	Контроль			
	ПЭГ 4 (умеренная засуха)			
	ПЭГ 8 (сильная засуха)			
	ПЭГ4+ 0,1 пМ Мел			
	ПЭГ4+ 1 мкМ Мел			
	ПЭГ8+ 0,1 пМ Мел			
	ПЭГ8+ 1 мкМ Мел			

### Серия экспериментов №6:

Стерильные семена огурца высевали на стерильные фильтры, смоченные питательной 50% МС-средой, помещали в осветительные установки и культивировали в течение 18 суток. Далее воздействовали стресс-фактором (засуха) в течение 3 суток. Для имитации сильной засухи использовали 8% раствор полиэтиленгликоля 6000 (ПЭГ8). Четыре группы растений выращивали на разных средах: 50% МС-среда (контроль), МС-среда с ПЭГ8, МС-среда содержащая только мелатонин и МС-среда совместно с ПЭГ и мелатонином (ПЭГ8 + 1 мкМ Мел). Проростки, а в дальнейшем и растения огурца, выращивали под светодиодным освещением, с тремя комбинациями разных участков спектра ФАР аналогично серии экспериментов №3.

### 2.2.3 Условия культивирования растений *Solanum tuberosum* L. в аквакультуре

Изучали протекторную роль мелатонина в регуляции устойчивости растений к дефициту воды в условиях засоления. Оздоровленные растения-регенеранты картофеля *in vitro* получали из апикальной меристемы, культивировали на агаризованной МС-среде с половинным содержанием макро- и микроэлементов в течение 21–28 суток. Далее корни растений отмывали от агаризованной среды и проводили трехнедельную адаптацию микроклонов к жидкой МС-среде в условиях атмосферной влажности. После двухнедельного выращивания на гидропонной установке, часть растений оставляли на ½ МС-среде (контрольные растения), другую часть переносили на МС-среду, содержащую 1 мкМ мелатонин. Длительность гормональной предобработки составила 24 часа, затем корни растений отмывали от мелатонина раствором ЭДТА, после чего

часть растений переносили на 6 суток на безгормональную питательную среду, а вторую часть – на среду содержащую 125 мМ NaCl. Через 7 суток от начала эксперимента растительный материал фиксировали и использовали его для снятия ростовых и физиологических показателей.

В опытах по изучению влияния мелатонина на устойчивость растений к дефициту воды при гипотермии после двухнедельной адаптации растений к воздушной среде одну группу растений так же культивировали на 50% МС–среде (контроль), другую группу помещали на 50% МС + 0,1 мкМ Мел обработка составляла 4 часа. После обработки мелатонином корни растений отмывали от гормонов в среде и культивировали на 50% МС–среде в течение 7 суток для выявления влияния гормонов на ростовые и метаболические процессы. После этого половину растений из каждой группы охлаждали до 4 °С в течение 3 суток, после чего продолжали культивирование в нормальных условиях еще 10 суток.

#### **2.2.4 Методика определения активности ИУК и мелатонина по стимуляции удлинения coleoptилей пшеницы**

Семена пшеницы замачивали в воде на 18–20 часов, затем раскладывали в кюветы с фильтровальной бумагой, и помещали в термостат без доступа света при температуре 25°С на 2 суток. Из 3-дневных проростков пшеницы при тусклом свете выбирали coleoptили одинаковой длины, вырезали из них среднюю часть длиной 5 мм. Это осуществляли с помощью лезвия и особого станочка с трафаретными делениями – гильотинки (конструкции А.Н.Бояркина) (Рисунок 6). Данная процедура необходима, чтобы в вырезанном отрезке шел рост только растяжением. После удаления препаровальной иглой первого настоящего листа неповрежденные coleoptили в количестве по 10 штук помещали в пенициллиновые флаконы с 2 %-ым раствором сахарозы с добавлением различных концентраций ауксина (0,1 – 1000 нМ) и мелатонина (0,1 пМ и 1 мкМ) («Sigma», США). Период инкубации отрезков coleoptилей составил 18–20 часов. Затем промеряли длину отрезка coleoptилей на миллиметровой бумаге и оценивали прирост от начальной длины отрезка.

### 2.2.5 Условия культивирования растений *Arabidopsis thaliana in vitro*

Культивирование растений *A. thaliana* осуществляли на МС-среде. Питательную среду, дистиллированную воду, бумажные фильтры, пробирки-эппендорф подвергали предварительной стерилизации в автоклаве (Panasonic MLS-2420U, Япония) в течение 25 минут при 1 атмосфере. Посуду (чашки Петри, пинцеты, пипетки) вымачивали в хромовой смеси, промывали дистиллированной водой и стерилизовали 2 часа при температуре 170°C. Всю последующую работу проводили в ламинарном боксе (БМБ-II-«Ламинар-С», Россия) с соблюдением стерильности. Ниже приведена схема экспериментов в условиях *in vitro* на растениях *Arabidopsis thaliana*.

#### **Схема проведения экспериментов в условиях *in vitro*:**

##### **1 этап – Стерилизация семян в ламинарном боксе**

В чашки Петри раскладывали фильтры, на которые помещали 60–70 штук семян арабидопсиса (смачивали стерилизующей жидкостью (3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в 80 % растворе этилового спирта). Затем открытые чашки оставляли под УФ-лучами на 5 минут, УФ лампы отключали и выдерживали в токе стерильного воздуха до полного испарения стерилизующей жидкости.

##### **2 этап – Высев семян на питательные среды**

Разогретые агар-содержащие МС-среды разливали в стерильные чашки Петри. После застывания сред высевали стерильные семена. Исследуемые вещества (мелатонин, ауксин) вносили в питательную среду перед высевом семян. Чашки Петри с высеянными семенами фиксировали лентой Parafilm, помещали в условия низких положительных температур (4–6°C) и выдерживали в темноте в течение 3 дней для синхронизации всходов, а затем выставляли в осветительные установки (красный/синий свет) или убирали в темноту. Фотопериод составлял 14 часов. Проростки выращивали в течение 7 суток.

##### **3 этап – Анализ ростовых параметров**

По окончании культивирования была проведена оценка основных ростовых параметров (длина корня и стебля, площадь поверхности семядолей).

## 2.2.6 Определение морфологических характеристик исследуемых растений

У растений арабидопсиса измеряли длину корня (1) и гипокотилия (2), площадь поверхности семядолей (Рисунок 12 а). Для каждого варианта измеряли по 25–30 проростков при помощи бинокулярной лупы БМ–51–2 (8,75<sup>x</sup>).

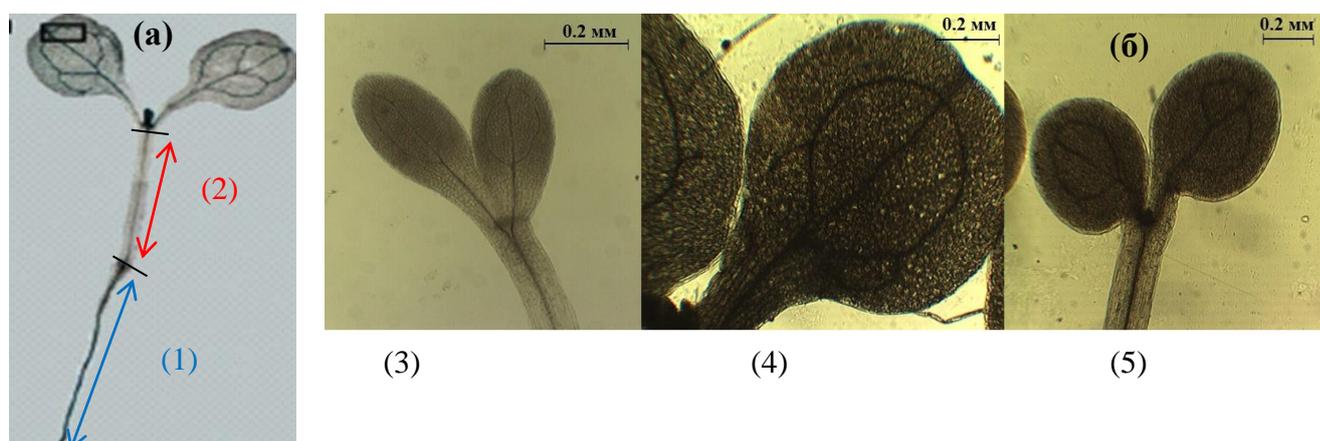


Рисунок 12 – Схема измерения ростовых параметров 7-дневных проростков *A.thaliana* (а) (1 – длина гипокотилия, 2 – длина корня); семядоли 7-дневных проростков линии Col *Arabidopsis thaliana* (б), выращенных в темноте (3), на синем (4) и на красном (5) свете (фото автора)

Площадь поверхности семядолей проростков была мала, поэтому семядоли фотографировали на цифровую камеру через микроскоп «Micros» (Австрия), а измерение и расчет площади поверхности семядоли (с учетом черешка и пластинки) проводили с использованием программы «Moticam 2300» (Испания) (Рисунок 12 б).

Определение сухой и сырой массы производили гравиметрическим методом с помощью аналитических весов Ohaus (США). Сухую массу определяли после фиксации материала при 90°C и его высушивания при 70°C до постоянной массы.

## 2.2.7 Определение состояния устьиц методом отпечатков по Полачи-Молотковскому

Метод основан на получении тонкой прозрачной пленки с отпечатками устьиц [Мазец и др., 2017]. Для изготовления отпечатков применяют вещества, образующие

пленку при испарении растворителя или в результате полимеризации. В соответствии с методом на нижнюю поверхность листа (абаксиальная сторона листа) наносили тонкий мазок раствора бесцветного лака в ацетоне. После испарения растворителя образовалась пленка, на которой отпечатались эпидермис с устьицами. Отпечаток аккуратно снимали с листа, помещали в каплю воды на предметное стекло, покрывали покровным стеклом, рассматривали под микроскопом (Рисунок 13).

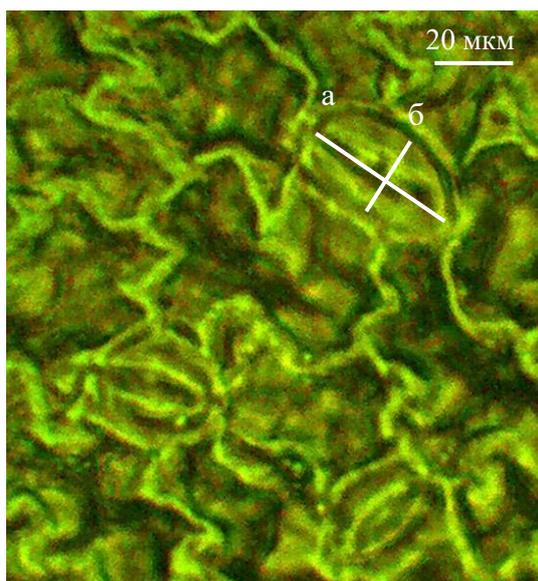


Рисунок 13 – Устьица абаксиальной поверхности листа 18-дневных растений огурца (а – длина, б – ширина устьица) фото автора

Полученные отпечатки (реплики) фотографировали на цифровую камеру через микроскоп «Micros» (Австрия) (Рисунок 13), а измерение количества устьиц в поле зрения, размеры замыкающих клеток и устьичной щели проводили с использованием программы «Moticom 2300» (Испания), затем рассчитывали плотности распределения устьиц в расчете на единицу поверхности листа (число устьиц на  $1 \text{ мм}^2$ ), отношение длины к ширине (Д/Ш) устьиц у растений, выращиваемых в различных условиях.

Анализ только нижней стороны листа растений огурца связан с тем, что сложное густое опушение, включающее разные типы волосков, было распределено беспорядочно, что затрудняло верхнюю поверхность листовой пластинки. На нижней стороне пластинки листа волоски встречаются заметно реже и сосредоточены главным образом на жилках. Для растений огурца сорта Изыщный отмечен аномоцитный тип расположения устьиц (Рисунок 13).

### 2.2.8 Определение содержания фотосинтетических пигментов

К основным группам фотосинтетических пигментов наземных растений относятся: хлорофилл *a*, хлорофилл *b* и каротиноиды. Для извлечения пигментов из растительных тканей использовали 96 %-ный раствор этилового спирта. Количественное определение пигментов основано на их способности поглощать лучи определенной длины волны. Регистрацию оптической плотности раствора пигментов проводили на спектрофотометре (Genesys 10S UV-Vis, “Thermo Scientific”, США) относительно оптической плотности растворителя. Концентрацию фотосинтетических пигментов рассчитывали по [Lichtenthaler, 1987] и выражали в мг/г сырой массы растительной ткани.

Измерение проводили при длинах волн 664 нм и 648 нм для определения содержания хлорофиллов, и при длине волны 470 нм для определения содержания каротиноидов, кроме того, промеряли мутность раствора при длине волны 720 нм.

### 2.2.9 Определение функционирования окислительной и антиоксидантной систем

Активные формы кислорода (АФК) постоянно образуются в окислительно-восстановительных реакциях в процессе жизнедеятельности организма. Оксигенный фотосинтез и аэробное дыхание два важнейших процесса, обеспечивающих энергией клетки растений. Как известно два этих процесса связаны с окислительно-восстановительными превращениями молекулярного кислорода, в ходе которых, с одной стороны, происходит запасание энергии, с другой, постоянное образование АФК [Karuppanapandian et al., 2011; Singh et al., 2016]. В нормально функционирующих клетках содержание АФК поддерживается на низком уровне, это обусловлено наличием пула антиоксидантных ферментов и низкомолекулярных органических антиоксидантов, инактивирующих активные формы молекулярного кислорода без образования каких-либо других токсичных веществ. Одной из основных мишеней действия АФК являются липиды. АФК способны инициировать их перекисное окисление (ПОЛ), в результате чего происходит повреждение этих структур, связанное с нарушением функций мембранных белков [Гарифзянов и др., 2011].

### 2.2.8.1 Определение интенсивности перекисного окисления липидов

Продуктами ПОЛ являются высокореакционные диальдегиды, среди которых малоновый диальдегид (МДА) обнаруживается в наибольших концентрациях. МДА образуется в клетках при деградации полиненасыщенных жирных кислот активными формами кислорода. Повышенное образование МДА служит маркером окислительного стресса. Метод основан на способности МДА реагировать с тиобарбитуровой кислотой образуя окрашенный комплекс [Buege, Aust, 1978]. Для этого растительный материал, измельчали в ступке с добавлением трихлоруксусной кислоты. Полученную смесь центрифугировали при 10000 g в течение 15 минут. Отбирали аликвоту супернатанта, приливали раствор тиобарбитуровой кислоты в 20% ТХУ. Реакционную смесь инкубировали 30 минут при 95°C, затем охлаждали. Содержание МДА определяли с использованием спектрофотометра (Genesys 10S UV-Vis, "Thermo Scientific", США), измеряя оптическую плотность при 532 нм и неспецифическое поглощение при 600 нм.

### 2.2.8.2 Определение содержания свободного пролина

У растений пролин является широко распространённым метаболитом, обладающим осмопротекторными и антиоксидантными свойствами [Кузнецов, Шевлякова, 1999]. Для оценки работы антиоксидантной системы растений определяли содержание свободного пролина в свежем растительном материале с помощью метода Bates с соавт [1973]. Метод основан на реакции с нингидрином в кислой среде, идущей с образованием окрашенного в красный цвет продукта.

Растительный материал растирали в ступке с добавлением дистиллированной воды, центрифугировали 17 минут при 10000 g. Отбирали аликвоту супернатанта, приливали дистиллированную воду, уксусную кислоту, нингидриновый реактив. Итоговый объем пробы составил 3 мл. Реакционную смесь инкубировали 1 час при 95°–100°C, затем переносили в емкость со льдом на 10 минут. Измеряли оптическую плотность на спектрофотометре (Genesys 10S UV-Vis, "Thermo Scientific", США) при 520 нм. Контролем служила реакционная смесь без растительного экстракта.

### 2.2.8.3 Определение антирадикальной активности

Антирадикальную активность (АРА) в растительном материале определяли с использованием стабильного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида (ДФПГ) (“Sigma”, США). За счет делокализации электрона раствор ДФПГ в этаноле имеет темно-фиолетовое окрашивание с пиком поглощения при 517 нм. При взаимодействии с веществами, обладающими антирадикальными свойствами, ДФПГ переходит в нерадикальную форму, что сопровождается исчезновением максимума поглощения при  $\lambda=517$  нм в видимой области спектра. Данный метод первоначально был разработан M.S. Blois [1958]. Определение АРА, позволяет нам оценить содержание преимущественно низкомолекулярных соединений с антирадикальной активностью.

Растительный материал гомогенизировали при температуре 2–4°C в 80% растворе этилового спирта, центрифугировали 10 минут при 8000 g при 4°C. В пробирки вносили 1 мл супернатанта и реакционную смесь, состоящую из 1 мл 80% раствора этанола и 2 мл 200 мкМ ДФПГ. В контрольную пробирку вместо экстракта вносили эквивалентный объем 80% этанола. Инкубировали реакционную смесь 30 минут при комнатной температуре в темноте. Измеряли оптическую плотность раствора при помощи спектрофотометра (Genesys 10S UV-Vis, “Thermo Scientific”, США) при 517 нм.

### 2.2.8.4 Определение содержания аскорбиновой кислоты

Растительный материал (0,15–0,25 г сырых листьев) гомогенизировали с 1,5 мл 2 %-го раствора метафосфорной кислоты. Гомогенат переносили в мерную пробирку и доводили смесью  $\text{HPO}_3$  и  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ , взятых в соотношении 3:2 (рН 7.3–7.4) до 5 мл, центрифугировали 15 мин при 3000 g. Оптическую плотность раствора измеряли на спектрофотометре (Genesys 10S UV-Vis, “Thermo Scientific”, США) при 265 нм [Hewitt, Dickes, 1961].

### 2.2.8.5 Определение суммарного содержания антоцианов

Для определения содержания антоцианов брали навеску растительного материала (0,15-0,25 г сырых листьев), измельчали, помещали в мерную пробирку, вносили 5 мл

1%-го раствора соляной кислоты. Выдерживали на водяной бане при 45°C, 20 минут. После охлаждения фильтровали через бумажный фильтр. Оптическую плотность раствора измеряли при помощи спектрофотометра (Genesys 10S UV-Vis, “Thermo Scientific”, США) при длинах волн 510 и 657 нм [Муравьева и др., 1987].

#### **2.2.8.6 Определение суммарного содержания флавоноидов**

Количественное определение суммы флавоноидов определяли спектрофотометрически в пересчете на рутин в исследуемом экстракте. Метод основан на реакции окрашивания действующего вещества с раствором алюминия хлорида в уксуснокислой среде. 100 мг измельчённого сухого растительного сырья экстрагировали 70 % раствором этилового спирта на кипящей водяной бане трижды по 60 мин, экстракты объединяли. К 0,3 мл этанольного экстракта, вносили 0,6 мл 2% раствора алюминия хлористого в 95% этиловом спирте, 1 каплю 5% уксусной кислоты и доводили объем раствора 95%-ным раствором этилового спирта до 5 мл, далее реакцию смесь инкубировали 40 минут при комнатной температуре. Поглощение раствора измеряли при 415 нм на спектрофотометре (Genesys 10S UV-Vis, “Thermo Scientific”, США). Суммарное содержание флавоноидов рассчитывали по формуле, описанной [Головацкая и др., 2018], и выражали в % от сухой массы растительной ткани.

#### **2.2.8.7 Определение активности антиоксидантных ферментов**

Для определения общей активности супероксиддисмутазы (СОД, ЕС 1.15.1.1), образцы растительного материала растирали в жидком азоте (0,2–0,3 г), экстрагировали 0,066 М К-фосфатным буфером, рН 7,4, содержащим 1 мМ дитиотреитола, 0,5 мМ фенилметилсульфонилфторида и 1–3 мг поливинилпирролидона, затем центрифугировали 20 мин при 6000 g, +4°C. Полученный супернатант использовали как ферментный препарат для оценки общей активности СОД. Реакционная смесь содержала: 100 мкл супернатанта, 1,75 мл 50 мМ Трис-НСl-буфера (рН 7,8), 0,2 мл 0,1 М DL-метионина, 0,063 мл 1,7 мМ нитросинего тетразолия (“Fermentas”, США), 0,047 мл 1% Тритона X-100 и 0,060 мл 0,004% рибофлавина. Реакцию проводили при освещении

светодиодными лампами ( $I = 232 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2\text{с})$ ) в течение 30 мин. Поглощение раствора измеряли при 560 нм на спектрофотометре (Genesys 10S UV-Vis, “Thermo Scientific”, США) [Beauchamp, Fridovich, 1971].

Определение активности гваякол-зависимой пероксидазы (ГПО, ЕС 1.11.1.7) проводили по методу, модифицированному Шевяковой с соавторами [Shevyakova et al., 2002]. Для оценки ГПО реакционная смесь содержала 50 мкл супернатанта, 1,95 мл 0,066 М калий-фосфатного буфера (pH 7,4), 200 мкл 7 мМ гваякола, 200 мкл 0,01 М  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Поглощение раствора измеряли при 470 нм на спектрофотометре (Genesys 10S UV-Vis, “Thermo Scientific”, США).

Определение активности каталазы (КАТ, ЕС 1.11.1.6) измеряли спектрофотометрически по скорости разрушения перекиси водорода каталазой [Maehly and Chance, 1954]. Для оценки активности каталазы применяли реакционную смесь, содержащую 25 мкл супернатанта, 1,875 мл 0,066 М калий-фосфатного буфера (pH 7,8), 100 мкл 0,05 М  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Измерение оптической плотности раствора проводили при длине волны 240 нм на спектрофотометре (Genesys 10S UV-Vis, “Thermo Scientific”, США) каждые 15 сек в течение 3 мин. Расчёт активности каталазы производили с помощью калибровочной кривой, построенной на известных концентрациях  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Концентрацию белка в полученных ферментных препаратах оценивали по методу Esen [Esen, 1978].

### **2.2.10 Определение интенсивности процесса фотосинтеза и транспирации**

Процесс фотосинтеза является основополагающим в жизнедеятельности растительного организма. Фотосинтез – сложный многоступенчатый процесс, включающий комплекс разнообразных по природе реакций, в котором происходит восстановление углекислого газа до уровня углеводов и окисление воды до кислорода. Правильность прохождения реакций фотосинтеза обуславливает жизнеспособность растительного организма. Для характеристики процесса фотосинтеза могут служить такие показатели как: интенсивность газообмена, энергетическая эффективность фотосинтеза, активность отдельных звеньев фотосинтеза, содержание в хлоропластах различных окислительно-восстановительных систем.

Нами была проведена оценка функционирования фотосинтетического аппарата у растений огурца с использованием портативного инфракрасного газоанализатора Li-6400 (LI-COR, США) и ПАМ-флуориметра (MINI-ПАМ-II, "Heinz-Walz", Германия).

#### **Газометрическое определение скорости фотосинтеза и транспирации**

Измерение проводили с использованием портативного инфракрасного газоанализатора Li-6400 (LI-COR, США). Фиксировали следующие параметры: интенсивности фотосинтеза (A) и транспирации (E), устьичную проводимость (gs), концентрацию CO<sub>2</sub> в межклеточном пространстве (Ci). В качестве искусственного источника света применяли систему светодиодов (6400-02B LED). Определение сопряженных процессов интенсивности фотосинтеза и транспирации проводили на интактных листьях 2 яруса растений огурца с использованием камеры-прищепки (листовой камеры). Температура внутри камеры поддерживалась специальной системой теплообмена с электрическим нагревателем и воздушным охлаждением. Температура, влажность и интенсивность ФАР в листовой камере устанавливали в соответствии с условиями выращивания растений, чтобы исключить влияния этих параметров на поглощение CO<sub>2</sub> (интенсивность фотосинтеза – A) и на интенсивность испарения H<sub>2</sub>O (транспирация – E). В листовой камере скорость потока CO<sub>2</sub> составляла 400 мкмоль/с, а его содержание 400 мкмоль/моль. Влажность в камере составляла 60–70%. Исследуемые параметры фиксировали в течение 1 мин после стабилизации в листовой камере скорости потока и концентрации CO<sub>2</sub> и влажности воздуха. Продолжительность экспозиции каждого варианта в листовой камере, включая время стабилизации и собственно измерений, составляла от 1,5 до 3 мин. Все измерения проводили с 10:00 до 14:00 ч. Растения контрольных вариантов измеряли одновременно с опытными спустя 15, 30, 60 и 120 минут от начала обработки.

#### **Оценка параметров фотосинтетической активности фотосистемы II при помощи ПАМ-флуориметрии**

Измерение фотохимической активности фотосинтетического аппарата растений проводили после корневой обработки мелатонином (1 мкМ) растений огурца в условиях засухи на ПАМ-флуориметре (MINI-ПАМ-II, Heinz-Walz, Германия) (опыт), контролем служили растения, не обработанные мелатонином и не подвергнутые засухе. Параметры флуоресценции регистрировали после 20-минутной темновой адаптации неотделенного листа растений огурца. Определяли максимальный фотохимический квантовый выход

(Fv/Fm), эффективный фотохимический квантовый выход (Y(II)), нефотохимическое тушение (NPQ), квантовый выход регулируемого светоиндуцированного нефотохимического тушения флуоресценции (Y(NPQ)) и квантовый выход нерегулируемого светом нефотохимического тушения флуоресценции (Y(NO)), относительную скорость транспорта электронов (ETR), коэффициенты фотохимического тушения (qP, qL) и нефотохимического тушения флуоресценции ФС II (qN, NPQ) [Muller et al., 2001; Гольцев и др., 2014]. Параметры коэффициентов флуоресценции и относительной скорости транспорта электронов рассчитывали с использованием программного обеспечения РАМ-флуориметра MINI-РАМ-II.

### **2.2.11 Определение величины выхода электролитов из клеток и степени повреждения клеточных мембран растений**

Оценку степени повреждения клеточных мембран проводили по выходу электролитов из высечек листьев и семядолей огурца кондуктометрическим методом с использованием кондуктометра Hanna HI98311 DiST 5 (Германия). Для этого навеску высечек листьев (0.04 г) тщательно промывали в дистиллированной воде для удаления со срезов клеточного сока и обсушивали фильтровальной бумагой. Затем высечки помещали в стаканы и добавляли 10 мл дистиллированной воды, определяли электропроводность сразу после погружения (L0), колбы с высечками выставляли на шейкер, при постоянном перемешивании выдерживали 1 час, затем измеряли электропроводность (L1), далее переносили на водяную баню выдерживали 10 минут при 100 градусах и повторно определили электропроводность (L2). Выход электролитов (L) рассчитывали в процентах от полного выхода, также рассчитывали степень повреждения клеток по величине коэффициента повреждения [Гришенкова, Лукаткин, 2005].

### **2.2.12 Статистическая обработка данных**

Полученные данные обрабатывали с помощью пакета данных Excel, применяя метод описательной статистики. В таблицах и на рисунках представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки (глава 3.1.2) или средние

арифметические ( $M$ ) параметров ( $n = 20$  для определения ростовых характеристик,  $n = 5-7$  – для биохимических показателей,  $n = 9$  – для параметров процессов фотосинтеза и транспирации) с двухсторонними доверительными интервалами ( $M \pm 1.96SEM$ ). Достоверность различий ( $p \leq 0,05$ ) оценивали по  $t$ -критерию Стьюдента, как критерий достоверности различий между средними. Все эксперименты проводили в трех аналитических и трех биологических повторностях.

### **3. РОЛЬ МЕЛАТОНИНА В РЕГУЛЯЦИИ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ РАСТЕНИЙ НА СЕЛЕКТИВНОМ СВЕТУ И В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ**

Одним из важнейших экологических факторов для жизнедеятельности растительного организма является доступность воды. Условия, нарушающие обеспеченность в потребности растения в воде, называют засухой [Российский гидрометеорологический энциклопедический словарь. 2008]. Большинство сельскохозяйственно ценных культур растений чувствительны к недостатку влаги, при засухе задерживается рост растений, уменьшается их листовая поверхность, в результате чего снижается урожай [Владимиров, 2012]. Хорошо известна роль фитогормонов в ростовых процессах, поднимается вопрос об их участии в формировании устойчивости растений к засухе. В связи с этим большой интерес представляет изучение роли мелатонина, обладающего двойственной функцией (антиоксидант и гормоноподобное вещество) в повышении стресс-устойчивости. Светозависимое действие мелатонина на жизнедеятельность животных и человека [Thapan et al., 2001, Kayumov et al., 2005; Sasseville et al., 2006; Van de Werken et al., 2013; Rahman et al., 2017] позволяет предположить существование фоторегуляции эффектов мелатонина в растении и его совместного действия со светом разного спектрального состава в повышении устойчивости растений к засухе. Именно изучению этих вопросов посвящены наши исследования.

#### **3.1 Влияние мелатонина на морфофизиологические параметры растений огурца**

Несмотря на большое количество исследований, демонстрирующих вовлеченность мелатонина в регуляцию большого количества физиологических процессов в растениях, остается еще много неизученного. На сегодняшний день недостаточно данных о взаимосвязи путей передачи сигналов света разного спектрального состава и мелатонина при регуляции физиологических процессов у растений. В связи с чем нами были проведены исследования по выяснению роли

мелатонина в регуляции морфогенеза растений и поиск возможных путей взаимодействия селективного света и мелатонина.

### 3.1.1 Роль мелатонина в регуляции развития растений огурца

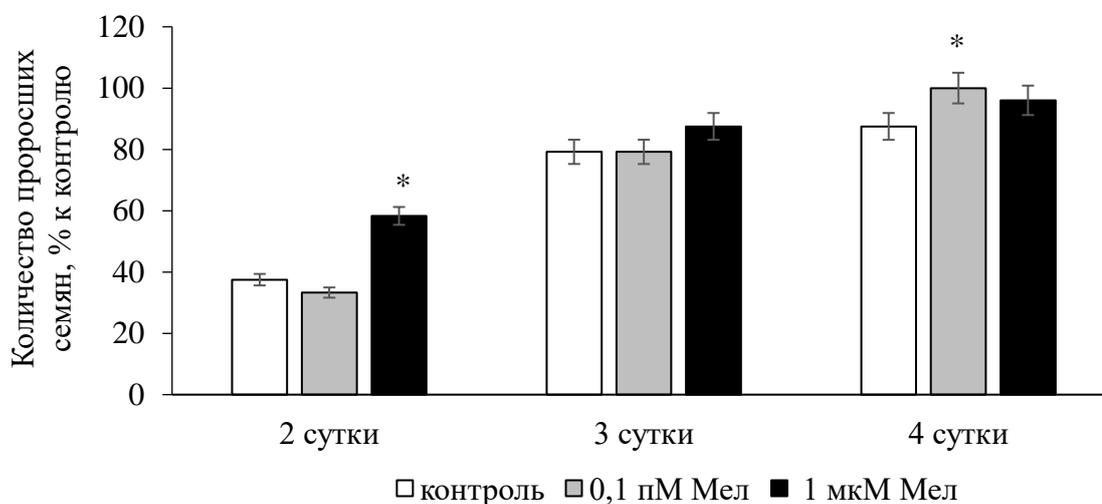
В результате проведенной серии экспериментов было показано, что при культивировании семян огурца на питательной среде, содержащей мелатонин, увеличивалась энергия прорастания семян с увеличением концентрации вещества и продолжительности его действия. Кратковременная предобработка семян 30 и 60 минут мелатонином увеличивала энергию прорастания семян по сравнению с контролем (Таблица 3). Максимальный эффект предобработки отмечен для 0,1 пМ и 1 мкМ мелатонина соответственно в 3,6 и 4,5 раз, в то время как наименьший стимулирующий эффект – при концентрации гормона 0,1 мМ [Бойко, Головацкая, 2019].

С увеличением времени обработки семян низкая концентрация мелатонина ускоряла энергию прорастания, тогда как высокие снижали величину стимуляции процесса. Вероятно, большую роль играла концентрация поступившего в семя гормона. Таблица 3 – Влияние кратковременной предпосевной обработки мелатонином на энергию прорастания семян огурца спустя 1 сутки

Энергия прорастания семян, %		
Концентрация вещества	30–минутная предобработка семян	60–минутная предобработка семян
0	13,3	13,3
0,1 пМ Мел	46,7*	60,0*
1 мкМ Мел	60,0*	46,7*
0,1 мМ Мел	40,0*	33,3*
Примечание – * $p \leq 0,05$ при сравнении с контрольным значением		

Длительное культивирование семян огурца на среде, содержащей мелатонин (0,1 пМ и 1 мкМ) в течение 4-х суток, увеличивало всхожесть семян огурца. Так 1 мкМ мелатонин увеличивал прорастание семян на 2-е сутки на 20%, на 3-и сутки на 8 %, в то время как 0,1 пМ мелатонина стимулировал прорастание только на 4-ые сутки культивирования (Рисунок 14). Вероятнее всего при более высокой концентрации происходило более быстрое накопление необходимой для прорастания семян

концентрации мелатонина. Поскольку известно, что на стадии прорастания семян растений огурца происходит увеличение уровня мелатонина, с его максимумом за 14 часов до проклевывания корешка [Zhang et al., 2014].

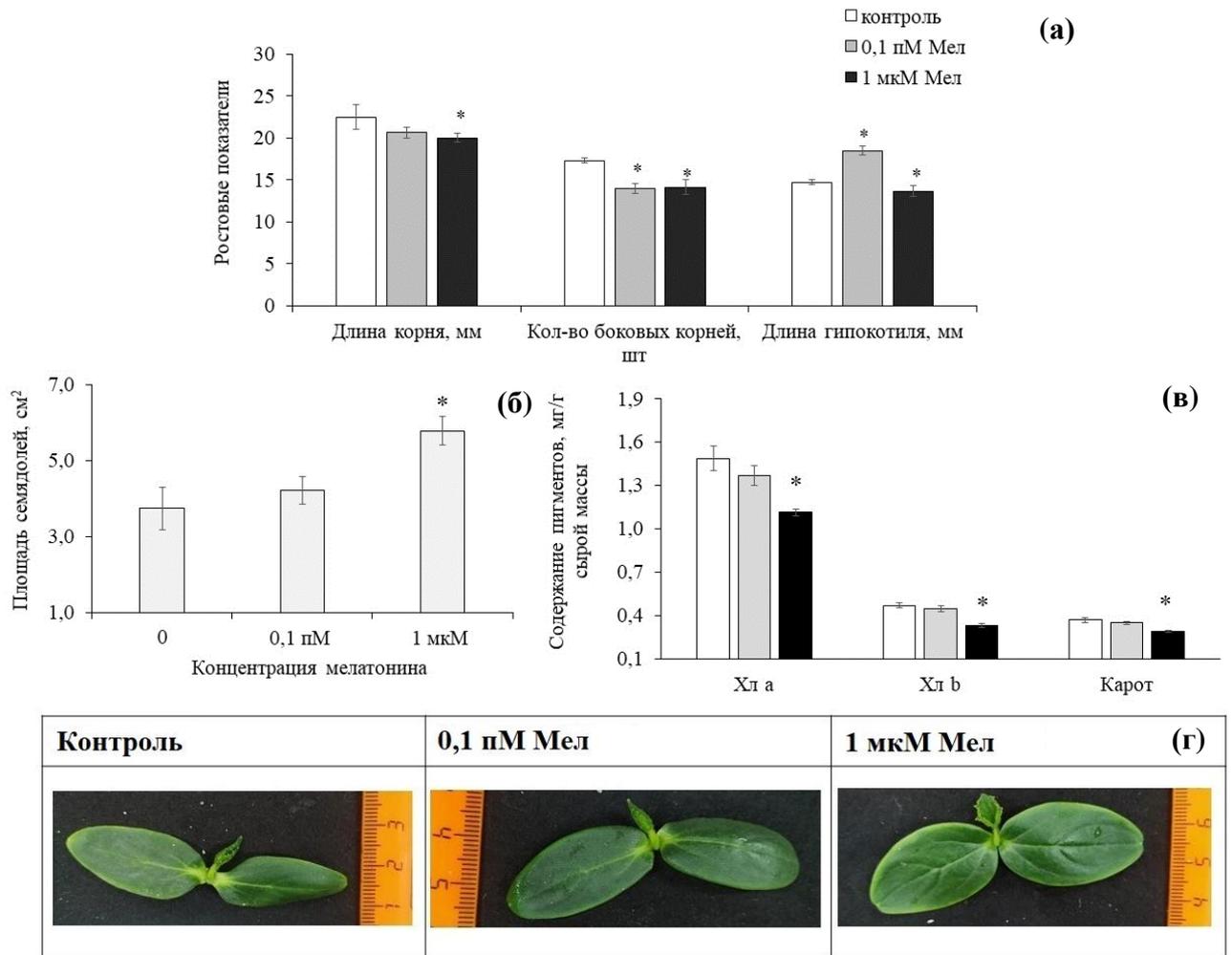


\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

Рисунок 14 – Влияние мелатонина на прорастание семян растений огурца

Дальнейшее культивирование проростков на среде, содержащей мелатонин, в течение 7 суток приводило к изменению их ростовых параметров. Действие 0,1 пМ мелатонина стимулировало рост гипокотыля, тогда как повышение его концентрации до 1 мкМ приводило к уменьшению длины. При этом снижалось ветвление корня, поскольку отмечали уменьшение количества боковых корней (Рисунок 15 а).

Формирование фотосинтетического аппарата растений огурца ускорялось в ответ на корневую обработку мелатонином высокой концентрации: увеличивалась в 2 раза площадь поверхности семядолей и происходило более раннее разворачивание первого листа (Рисунок 15 б, г). При этом действие 1 мкМ мелатонина уменьшало уровень всех групп фотосинтетических пигментов у семядолей на 21–29% (Рисунок 15 в), вероятнее всего это обусловлено отвлечением питательных веществ в более быстрорастущий первый лист [Бойко и др., 2018].



\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

Рисунок 15 – Влияние мелатонина на ростовые показатели (а, б, г) и содержание пигментов фотосинтеза (в) у 7-дневных растений огурца

При дальнейшем культивировании у 16-дневных растений огурца на среде, содержащей 0,1 пМ мелатонина, наблюдалось увеличение длины корня (Рисунок 16 а) и уменьшение уровня фотосинтетических пигментов в семядолях (Рисунок 16 в).

При формировании фотосинтетического аппарата большую роль играли донорно-акцепторные связи между органами. 1 мкМ мелатонин ингибировал растяжение стебля и в соответствии с ростовыми корреляциями увеличивал суммарную площадь поверхности настоящих листьев на 60 % от контрольного варианта (Рисунок 16 б), по-видимому, это было обусловлено отмеченным нами более ранним ростом первого листа. Действие большой концентрации регулятора активировало рост листьев, поддерживая в них контрольный уровень пигментов (Рисунок 16 б, в).

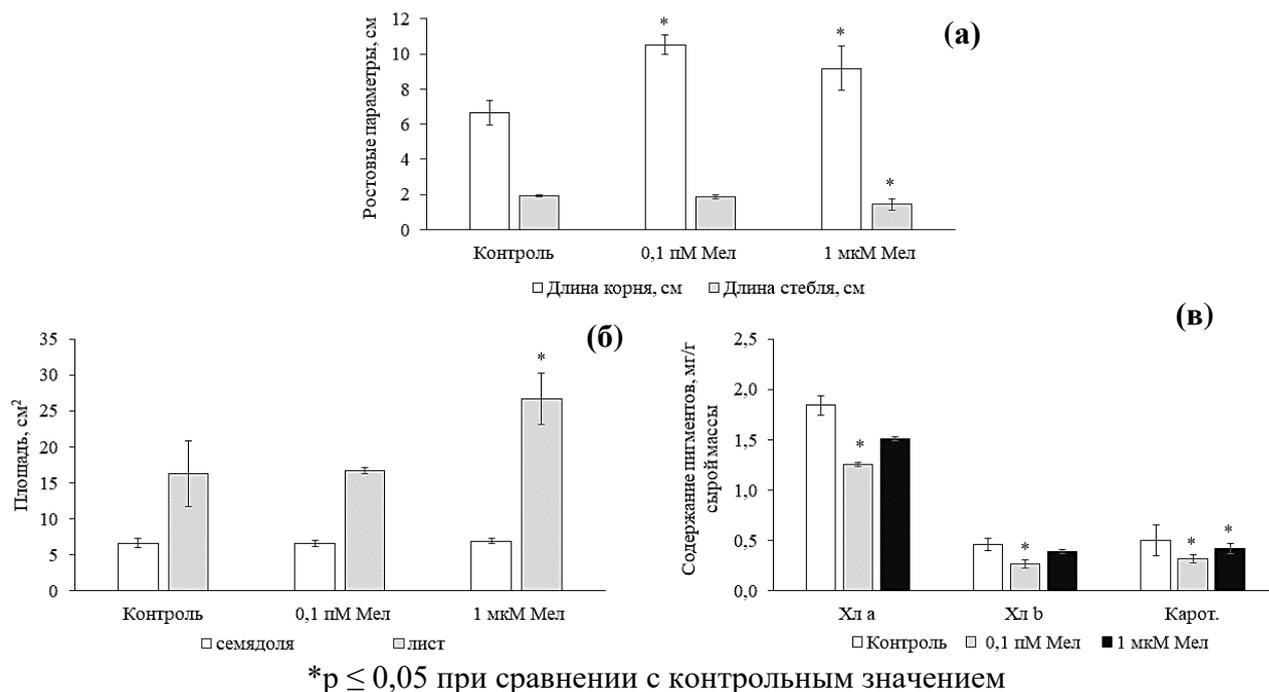


Рисунок 16 – Влияние мелатонина на ростовые показатели (а, б) и содержание пигментов фотосинтеза (в) у 16-дневных растений огурца

Ускорение темпов развития огурца (раннее прорастание, разворачивание первого листа, увеличение площади поверхности семядолей и настоящих листьев) при действии высокой концентрации мелатонина могли быть обусловлены более быстрым накоплением необходимой концентрации эндогенного мелатонина, чем при действии низкой концентрации. Ввиду неоднозначной реакции разных концентраций мелатонина на рост листовой поверхности растений огурца, нами выдвинуто предположение об участии мелатонина в регуляции процессов фотосинтеза и транспирации, как поставщиков энергии и метаболитов, и водообмена.

### 3.1.2 Влияние мелатонина на физиологические процессы в листьях огурца в нормальных условиях

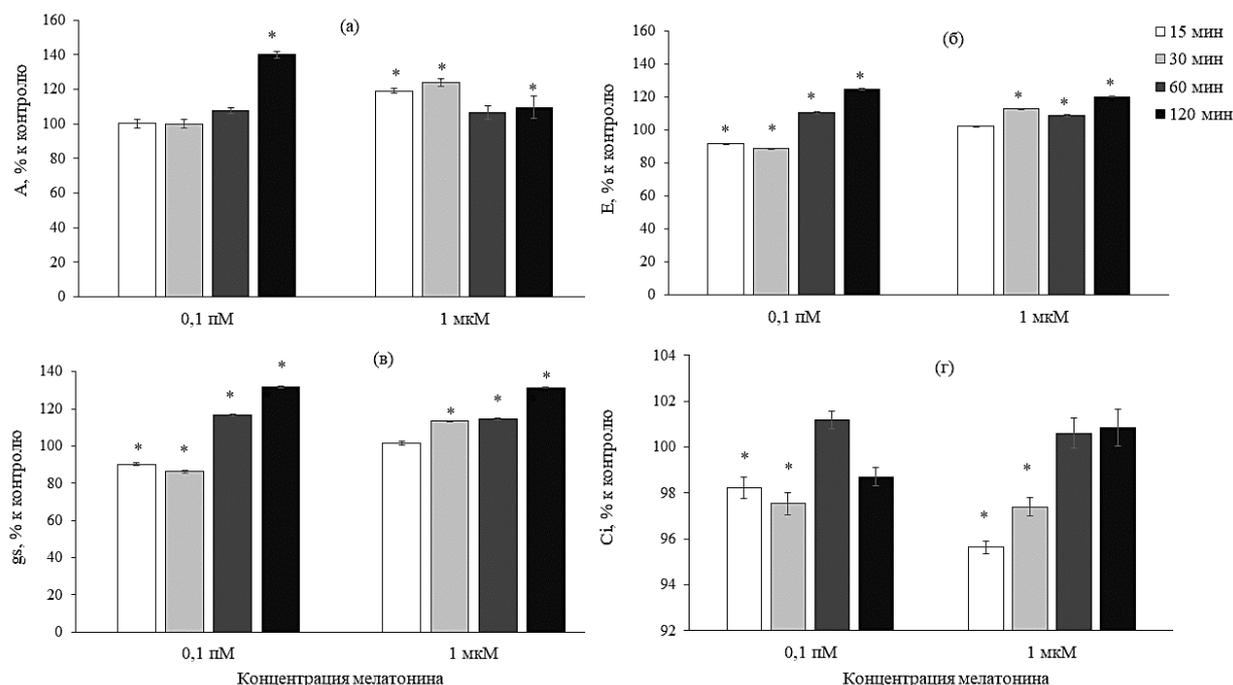
На сегодняшний день недостаточно сведений о роли мелатонина в процессах фотосинтеза, в связи с этим нами проведено исследование влияние кратковременной корневой обработки мелатонином на фотосинтез листьев огурца. Определение интенсивности фотосинтеза (А) и транспирации (Е) проводили на неотделенных листьях 2 яруса растений огурца спустя 15, 30, 60 и 120 мин от начала обработки мелатонином.

Измерение А и Е производили непосредственно за 1 мин до завершения обработки мелатонином, не вынимая растения из соответствующих опыту питательных сред. Растения контрольных вариантов измеряли одновременно с опытными спустя 15, 30, 60 и 120 минут. Данные опубликованы в статье Бойко с соавторами [Бойко и др., 2020].

Анализ полученных нами данных по влиянию мелатонина на фотосинтез листьев растений *C. sativus* показал, что добавление в питательную среду 0,1 пМ мелатонина приводило к повышению интенсивности фотосинтеза (А) на 40% спустя 120 минут от начала обработки. Внесение мелатонина высокой концентрации 1 мкМ, так же увеличивало интенсивность фотосинтеза, но уже спустя 15 мин обработки, максимум отмечен при 30 мин, затем наблюдали снижение данного показателя, но при этом значение оставалось выше контрольного (Рисунок 17 а).

Под влиянием мелатонина (0,1 пМ) отмечали снижение интенсивности транспирации (Е) через 15 и 30 мин после начала обработки, но спустя 60 мин повышалась и через 120 мин увеличение достигло 24%. Высокая концентрация мелатонина приводила к увеличению показателя Е уже спустя 30 мин обработки, максимум также отмечен после 120 мин воздействия (Рисунок 17 б). Любая из исследуемых концентраций мелатонина повышала показатель устьичной проводимости ( $g_s$ ), через 60 минут корневой обработки мелатонином показатель возрос на 14–16%, а спустя 120 минут на 31–32%. Что вероятнее всего обусловлено, количеством поступившего мелатонина и прямо пропорционально времени воздействия (Рисунок 17 в). Было отмечено, что при высокой концентрации мелатонина интенсивность фотосинтеза коррелировала с устьичной проводимостью ( $g_s$ ) и концентрацией  $CO_2$  в межклеточном пространстве ( $C_i$ ), таким образом регулировалась состоянием устьиц. Корневая обработка мелатонином низкой концентрации приводила к увеличению (А), (Е), ( $g_s$ ), но снижению значения  $C_i$  в межклетниках спустя 120 минут воздействия (Рисунок 17 г).

Эффективность использования воды (WUE) отражает отношение величины (А) к величине (Е) и показывает зависимость фотосинтеза от водного статуса листа. Корневая обработка 1 мкМ мелатонином повышала WUE в течение 15-ти минут, тогда как при более длительной обработке растений показатель возвращался к контрольным значениям.



\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

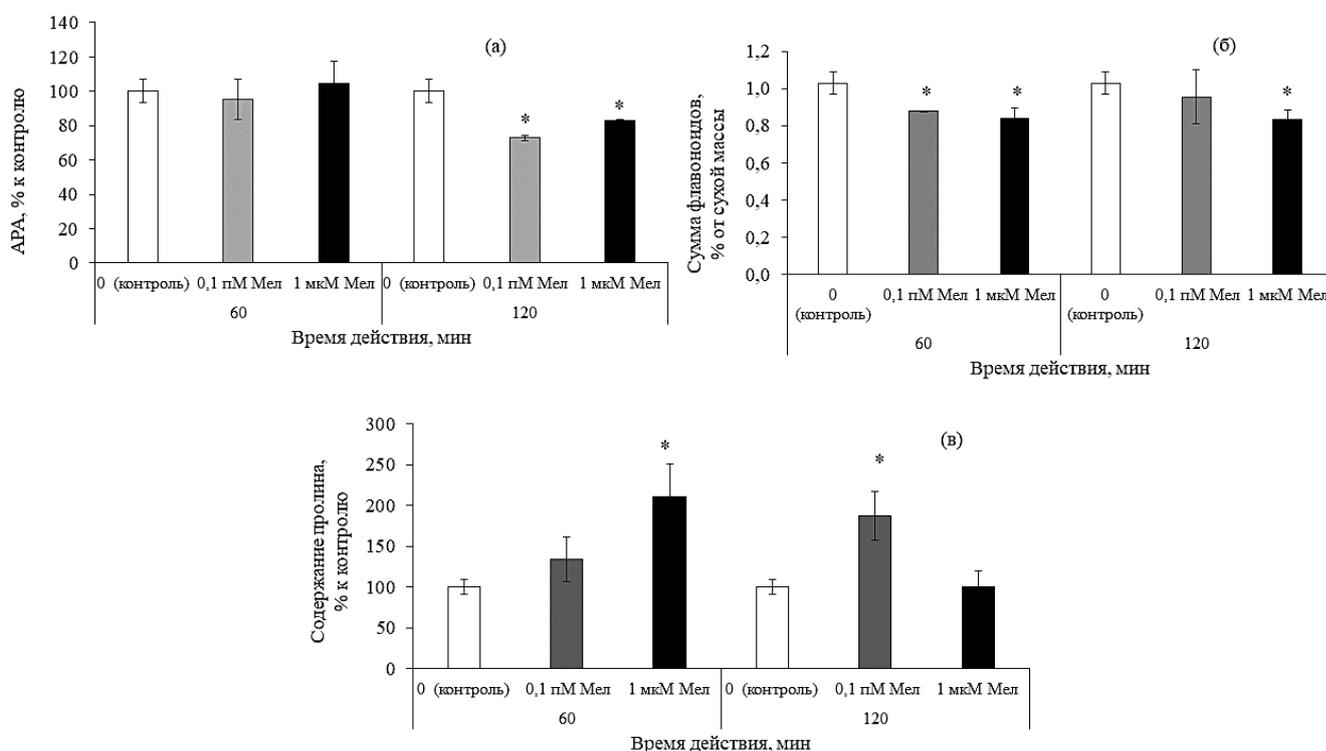
Рисунок 17 – Влияние мелатонина на поглощение  $CO_2$ , (фотосинтез А) – (а), интенсивность испарения  $H_2O$  (транспирация Е) – (б), устьичную проводимость ( $g_s$ ) – (в), содержание  $CO_2$  в межклетниках ( $C_i$ ) – (г) листа растений *C. sativus* после корневой обработки в течение 15, 30, 60 или 120 мин [Бойко и др., 2020]

Интенсивность ПОЛ зависела от длительности воздействия и концентрации мелатонина, так при 60-ти минутной обработке мелатонином высокой концентрации отмечали рост интенсивности ПОЛ, при этом низкая концентрация данный показатель не изменяла. Однако через 120 минут воздействия отмечали обратный эффект. При высокой концентрации мелатонина интенсивность ПОЛ возвращалась к контрольным значениям, а при низкой концентрации возрастала (Таблица 4).

Таблица 4 – Влияние мелатонина на содержание МДА в листьях растений *C. sativus* в зависимости от его концентрации и времени действия [Бойко и др., 2020]

Концентрация мелатонина	Содержание МДА, мкмоль/г сырой массы	
	Время обработки, мин	
	60	120
0 (контроль)	0,026±0,005	
0,1 пМ	0,025±0,006	0,050±0,006*
1 мкМ	0,044±0,009*	0,023±0,001
* $p \leq 0,05$ при сравнении с контрольным значением		

В системе защиты растений большое значение принадлежит низкомолекулярным соединениям, имеющим антирадикальные свойства. Так установили, что мелатонин спустя 120 минут снижал антирадикальную активность (АРА), на 27 и 17 % соответственно для низкой и высокой концентраций. Так же происходило снижение уровня флавоноидов в листьях растений на 15–19 % через 60 минут, вне зависимости от вносимой концентрации. Спустя 120 минут 20% ингибирующий эффект отмечали при действии 1 мкМ мелатонина. В ответ на корневую обработку мелатонином высокой концентрации в течение 60 минут увеличивалось содержание пролина в 2 раза. В то время как при 120-ти минутной обработке 0,1 пМ мелатонином количество пролина возрастало на 87% (Рисунок 18).



\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

Рисунок 18 – Влияние мелатонина на антирадикальную активность (а), содержание флавоноидов (б) и уровень пролина (в) в зависимости от концентрации и времени воздействия [Бойко и др., 2020]

При изучении действия мелатонина на активность антиоксидантных ферментов установили, что активность гваяколпероксидазы возросла на 67% после 60-ти минутного воздействия 1 мкМ мелатонина, в то время как 0,1 пМ мелатонин увеличивал

активность фермента в 3 раза при более длительном его воздействии (Таблица 5). Корневая обработка растений огурца мелатонином приводила к изменению активности СОД. Так, 0,1 пМ индол снижал активность фермента через 60 мин на 26 %, тогда как его высокая концентрация снижала активность только при 120-минутной обработке на 29 % (Таблица 5). Активность каталазы увеличивалась при введении в среду культивирования 0,1 пМ мелатонина. 60-ти и 120-ти минутная обработка увеличивала данный показатель соответственно на 28 и 23 % (Таблица 5).

Таблица 5 – Влияние мелатонина на активность антиоксидантных ферментов в листьях растений *C. sativus* в зависимости от его концентрации и времени воздействия [Бойко и др., 2020].

Концентрация мелатонина	Активность пероксидазы, моль гваякола/(мг белка мин)		Активность СОД, усл. ед./мг белка		Активность каталазы, мкмоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /(мг белка мин)	
	Время воздействия, мин					
	60	120	60	120	60	120
0 контроль	0,51±0,06		13,81±0,05		38,59±2,05	
0,1 пМ	1,02±0,50	1,67±0,6*	10,17±0,73*	11,39±5,48	49,41±4,94*	47,53±3,19*
1 мкМ	0,85±0,20*	0,60±0,37	14,00±2,18	9,72±2,37*	–	41,26±1,15
Примечание: *p ≤ 0,05 при сравнении с контрольным значением						

Таким образом, нами было показано, что увеличение концентрации мелатонина при кратковременной корневой обработке растений огурца с 0,1 пМ до 1 мкМ, изменяло время последствия для активации параметров фотосинтеза (A, E и g<sub>s</sub>) листа огурца. Аналогичная реакция исследуемых нами параметров была отмечена на растениях томата при 3-х суточной корневой и внекорневой обработке 100 мкМ мелатонином при холодовом стрессе [Yang et al., 2018].

Установленная нами разная реакция фотосинтетических параметров во времени в ответ на обработку мелатонином могла быть обусловлена скоростью транспорта мелатонина по растению на расстояние, равное длине части корня от зоны поглощения, гипокотилия и черешка листа, а также продолжительности процессов адсорбции корнями и локальных изменений водообмена по пути следования вещества. Так установлено, что при корневой обработке корня кукурузы мелатонин движется вверх по ксилеме за счет транспирационного тока. Накопление мелатонина в листьях было пропорционально экзогенно применяемым концентрациям до 5 мМ без насыщения [Yoon et al., 2019]. В то

же время показано, что при опрыскивании мелатонином листьев арбуза наблюдали увеличение его концентрации и в корнях растений [Li et al., 2017], из этого следует, что мелатонин может перемещаться в растениях различными транспортными системами в зависимости от физиологических условий. Кроме того, амфифильные свойства молекулы мелатонина обеспечивают ее свободное перемещение через клеточные мембраны на уровне растительных тканей, что может ускорять ее транспорт.

В растениях процессы фотосинтеза и транспирация тесно взаимосвязаны между собой. В связи с этим можно предположить, что изменение (А) листа огурца при обработке мелатонином может быть обусловлено или изменением состояния устьиц (gs), или состояния воды в клетках листа. В процессе функционирования фотосинтетического аппарата открытые устьица вызывают потерю воды клетками листьев. В регуляции водного баланса растений важная роль отведена совместимым осмолитам. Корневая обработка мелатонином способствовала повышению содержания важного осмопротектора листа – пролина (Рисунок 18), динамика изменения содержания которого согласуется с изменениями (А) (Рисунок 17). Возможно, что вслед за открыванием и поддержанием открытости устьиц увеличивалась эффективность функционирования фотосинтетического аппарата, обеспечивающая повышение других осмотически активных веществ в листьях.

Кроме того, на растениях яблони была показана способность мелатонина контролировать биосинтез АБК. Отмечено, что мелатонин подавлял экспрессию гена синтеза абсцизовой кислоты MdNCED3 (9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase) и усиливал экспрессию генов его катаболизма MdCYP707A1 и MdCYP707A2 (ABA8-hydroxylase), тем самым снижая содержание АБК в условиях засухи [Li et al., 2015]. Так же установлено, что в проростках кукурузы мелатонин способствует поддержанию высокого тургорного потенциала и относительного содержания воды в клетках [Ye et al., 2016], тем самым оставляя устьица открытыми как в оптимальных условиях, так и в условиях засухи.

Известно, что в световой фазе фотосинтеза процессы поглощения квантов солнечной энергии (в антенных комплексах хлоропластов) и переноса электронов (в ЭТЦ) всегда сопряжены с образованием синглетного кислорода и супероксидного радикала [Гарифзянов и др., 2011]. При активации фотосинтетической функции в растениях происходит изменение в окислительном статусе листа. Оно происходит за

счет нарастания генерации  $1O_2$  и  $O_2^{\cdot-}$  и инициации возникновения других АФК ( $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$  и т.д.) [Li et al., 2017]. Нами установлено, что мелатонин в листе огурца активирует интенсивность фотосинтеза, что вероятнее всего обуславливало повышение интенсивности ПОЛ в зависимости от концентрации и времени действия мелатонина.

Вслед за изменением окислительного статуса происходило изменение функционирования неферментативной (пролин и флавоноиды) и ферментативной (ГПО, СОД и КАТ) систем защиты. Кратковременная корневая обработка мелатонином, увеличивая А, обуславливала увеличение уровня пролина. Динамика изменения содержания пролина, сходна с таковой ПОЛ, вероятно это может свидетельствовать о роли пролина в поддержании антиоксидантных свойств клетки. Другими авторами также показано повышение уровня пролина и растворимого белка у проростков капусты, но в ответ на семенную предобработку мелатонином [Zhang et al., 2016].

Анализ наших данных показал снижение АРА листа огурца под действием мелатонина через 120 мин, чему предшествовало снижение суммы флавоноидов. В работах других авторов при действии засухи длительная обработка растений кукурузы мелатонином (4 или 8 суток) приводила к повышению уровня АРА, но эффект мелатонина не проявлялся в отсутствии действия стрессора [Ye et al., 2016]. Возможно, отмеченное снижение суммы флавоноидов в ответ на 120-минутную обработку мелатонином вызвано антагонистическими взаимодействиями между некоторыми группами флавоноидов и мелатонином. Так, учеными было показано, что обработка флавоноидами листьев растений риса уменьшала уровень мелатонина. В то время как трансгенные растения риса с повышенным содержанием флавоноидов продуцировали меньше мелатонина, чем дикий тип [Lee et al., 2018].

Изучение кратковременного действия мелатонина на активность антиоксидантных ферментов ГПО, СОД и КАТ у листа огурца показало временную и концентрационную зависимость от индоламина. «Несогласованное» изменение активности разных антиоксидантных ферментов, вероятно, связано с первичными реакциями хлоропласта огурца в ответ на действие повышенного эндогенного уровня мелатонина. Возможно, это обусловлено наличием дозо-зависимых изменений спектра экспрессированных генов и соответственно выполнением мелатонином различных ролей в регуляции роста и развития растений огурца при низких и высоких концентрациях. Это согласуется с данными по обработке растений арабидопсиса

мелатонином низкой концентрации 100 пМ в течение 16 ч, существенно изменяющей экспрессию 81 гена, тогда как высокой 1 мМ – 1308 генов. Однако не все гены, измененные низким уровнем мелатонина, были подвержены влиянию высокой концентрации [Weeda et al., 2014].

Таким образом, была показана зависимость фотосинтетических реакций в листе огурца от концентрации и продолжительности действия корневой обработки мелатонином. Повышение концентрации экзогенного мелатонина уменьшало время последствия для активации фотосинтеза, транспирации и устьичной проводимости листа огурца. Кроме того, подобная закономерность установлена для повышения интенсивности перекисного окисления липидов, содержания пролина и активации гваякол-зависимой пероксидазы. Вероятнее всего в растениях огурца одновременно функционировало несколько параллельных механизмов действия мелатонина на фотосинтез: вовлечение мелатонина в регуляцию водного обмена устьичных клеток, соответственно регуляции обмена CO<sub>2</sub>; изменение уровня активных форм кислорода, участвующих в ретроградном сигналинге хлоропластов.

### **3.1.3 Роль мелатонина в регуляции морфогенеза проростков огурца в темноте и на селективном свете**

В зависимости от условий освещения морфогенез может проходить по двум программам. При наличии света включается свободно текущая программа фотоморфогенеза, тогда как в отсутствии света запускается программа скотоморфогенеза. Фотоморфогенез это процесс, обуславливающий активный рост фотосинтезирующего органа и торможение растяжения стебля, тогда как при скотоморфогенезе происходит активный рост осевых органов (стебля) и торможение разворачивания семядолей и листьев [Casal, 2013; Головацкая, 2016]. Фенотип проростков, выросших в темноте, может служить контролем для светового фенотипа.

Последующий этап исследования был направлен на выяснение роли мелатонина в регуляции морфогенеза проростков огурца в темноте и на селективном свете. Реакция взрослого растения при длительном культивировании может отличаться от реакции молодого растения. Известно, что растения в процессе адаптации к условиям освещения меняют стратегию своего развития: свободно текущая программа фотоморфогенеза

корректируется в темноте на программу скотоморфогенеза или «ухода от тени» [Casal, 2013].

В связи с этим нами было изучено влияние мелатонина на начальных этапах онтогенеза растений (стадия проростков) в различных условиях освещения. Для этого использованы светодиодные модули, излучающие световой поток с разным соотношением плотности потока фотонов синего, зелёного и красного участков спектра ФАР: 2 : 3 : 1 (2СК), 1,5 : 3 : 1,5 (1,5(СК)) и 1 : 3 : 2 (С2К).

В качестве контроля использовали темноту. Плотность потока падающих квантов во всех вариантах освещения была равна 130–160 мкмоль/(м<sup>2</sup> с). Выбор изменения доли красного света был обусловлен литературными данными, согласно которым в растениях риса показана опосредованная фитохромом индукция синтеза мелатонина в условиях кадмиевого стресса, максимум мелатонина отмечали в растениях, выращиваемых на смешанном красно-синем свету [Hwang et al., 2020]. Для растений огурца показана зависимость ростовых и органообразовательных процессов от излучения различного спектрального состава [Тихомиров и др., 1991]. Наиболее оптимальным для процессов оказался спектр ФАР с высоким содержанием зеленых и красных лучей (по 40 %) и 20%-й добавкой синих лучей. Увеличение доли красных лучей более 50 % приводило к прогрессирующему падению продуктивности растений. В тоже время понижение доли красных лучей в ФАР для ценозов огурца ниже 40 % также вело к падению продуктивности [Тихомиров и др., 1991]. Другими авторами показано, что при выращивании растений огурца на красном свету, без синего света, происходят дисфункциональные изменения в процессах фотосинтеза, при добавлении 7% синего света функционирование систем восстанавливается [Sander et al., 2010].

В результате проведенной нами серии экспериментов на проростках огурца, было установлено, что свет разного спектрального состава изменял ростовые параметры. На свету проростки характеризовались укороченным гипокотилем и хорошо сформированными семядолями (фотосинтетический аппарат), что говорит о реализации программы фотоморфогенеза. Длина гипокотилия уменьшалась под всеми вариантами освещения по сравнению с темнотой, наиболее сильное ингибирование роста (в 8 раз) происходило под обогащённым СС вариантом освещения (2СК) и в 5 раз – под 1,5(СК) и С2К. Кроме того, под 2СК происходило уменьшение длины корня на 36% (Рисунок 19 а). Свет разного спектрального состава увеличивал линейные параметры семядолей.

Однако наибольшее увеличение отмечено под 1,5(СК) и 2СК на 92 и 67 % соответственно по сравнению с темнотой (Рисунок 19 б).

Проростки, выращенные под 2СК, характеризовались меньшими размерами корня и гипокотыля, но средними размерами семядолей по сравнению с проростками, выросшими под 1,5(СК) и С2К. При выращивании растений при 1,5(СК) отмечали снижение ингибирующего действие света на растяжение корня и гипокотыля и увеличение размеров семядолей по сравнению с С2К.

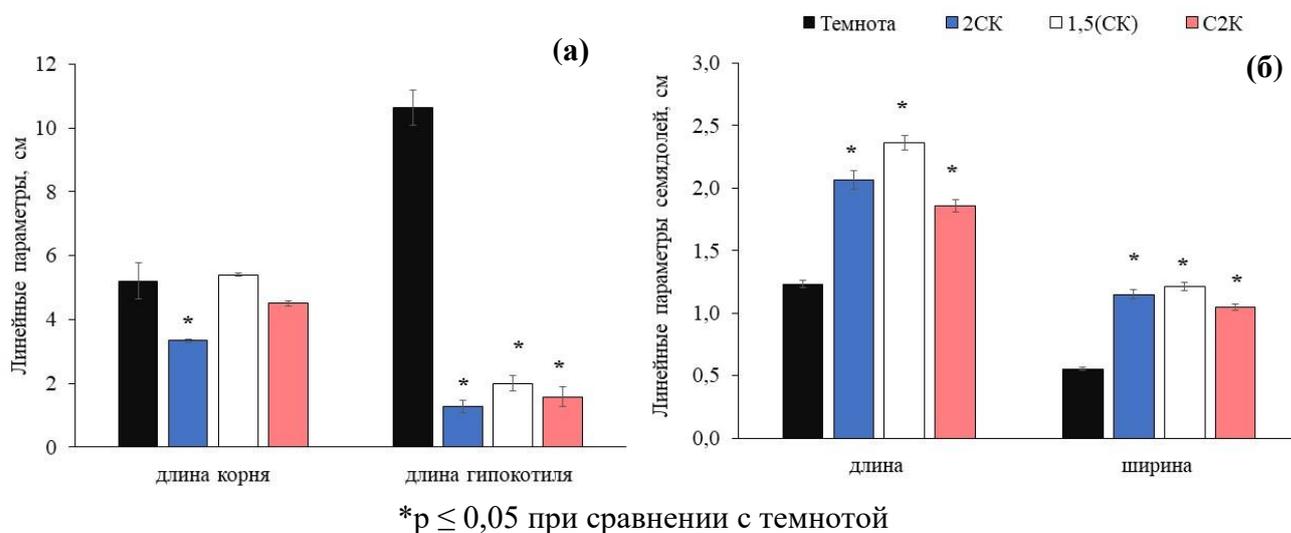


Рисунок 19 – Влияние света разного спектрального состава на морфогенез 7-дневных проростков *Cucumis sativus* L.

Действие 1 мкМ мелатонина, внесенного в питательную среду, изменяло ростовые параметры проростков в зависимости от спектрального состава света и темноты. Мелатонин стимулировал рост корня и стебля под 1,5(СК) и 2СК, но ингибировал рост корня под С2К (Рисунок 20 а, б). В темноте мелатонин ингибировал рост семядольной пластины, но стимулировал под 2СК (Рисунок 20 в, г).

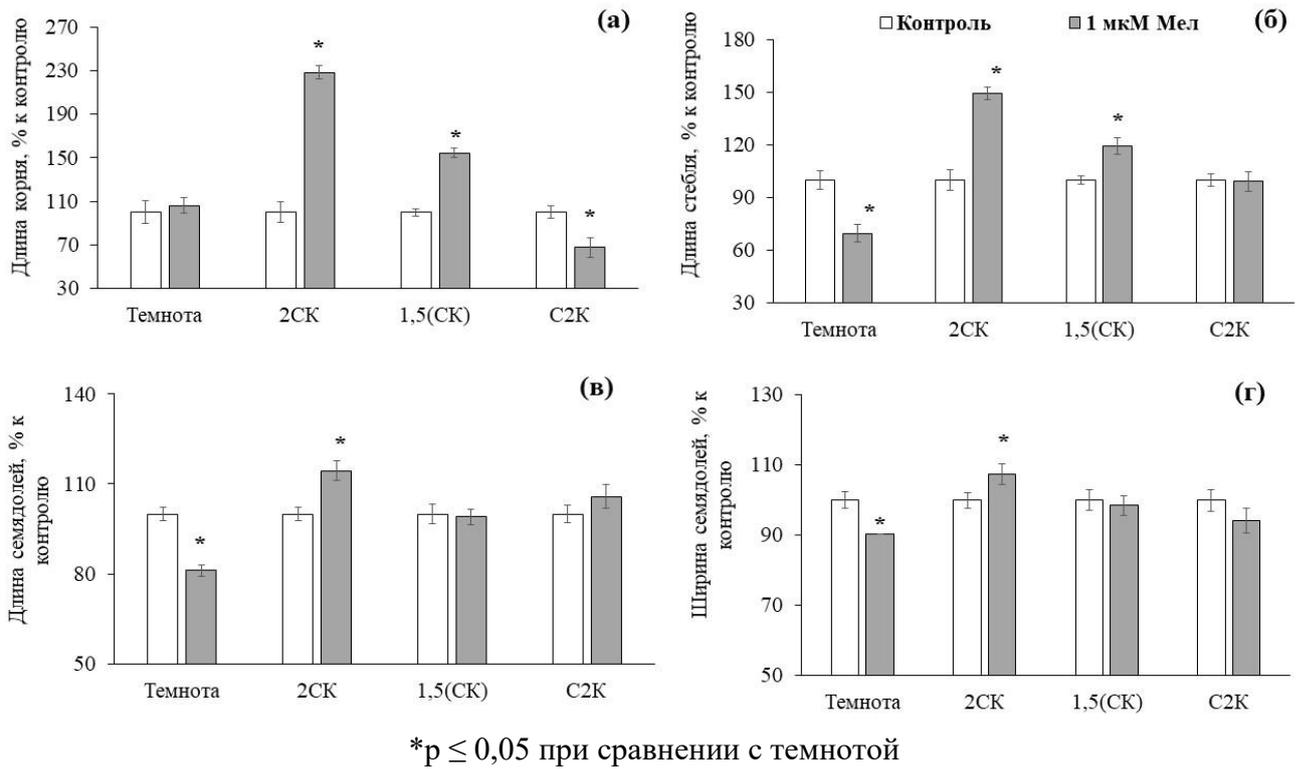


Рисунок 20 – Влияние мелатонина на морфогенез 7-дневных растений *Cucumis sativus* L. в темноте и на свету разного спектрального состава

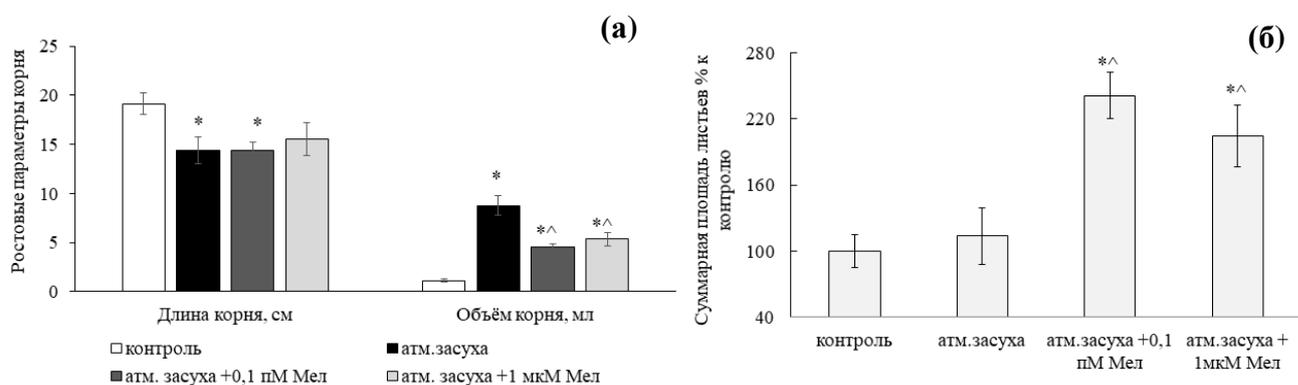
В темноте мелатонин проявлял двоякую функцию в отношении регуляции роста отдельных частей проростка: укорачивал стебель (реакция фотоморфогенеза), но ингибировал рост семядоли (реакция скотоморфогенеза), что может свидетельствовать о влиянии мелатонина на процессы ското- и фотоморфогенеза через изменение или его эндогенного уровня или чувствительности к нему. Действие мелатонина усиливало эффект синего света на рост семядолей (длина, ширина) и увеличивало размеры осевых органов. В тоже время эффективность действия мелатонина зависела от доли красного света в светопотоке. Отмеченные эффекты позволяют предположить существование зависимости действия экзогенного мелатонина на морфогенез от условий освещения, при этом интересна возможность взаимодействия мелатонина с сигналингом синего и красного света.

### **3.2 Роль мелатонина в регуляции устойчивости растений к дефициту воды на селективном свете**

В последнее время отмечен возрастающий интерес к роли света разного спектрального состава на формирование устойчивости растений к негативным факторам окружающей среды. Широкий спектр физиологических ответов возможен благодаря взаимодействию систем фоторецепции с гормональными системами растений. Так как известно светозависимое действие мелатонина на жизнедеятельность животных и человека, то нами выдвинуто предположение о возможном существовании фоторегуляции эффектов мелатонина в растении и его совместного действия со светом разного спектрального состава в повышении устойчивости растений к засухе.

#### **3.2.1 Влияние мелатонина на формирование устойчивости огурца к атмосферной засухе на белом свете**

Почвенная засуха зачастую является последствием продолжительного влияния атмосферной засухи, отсутствия дождей и сильных ветров (Приложение А). Нами было изучено длительное влияние мелатонина на формирование устойчивости растений огурца к атмосферной засухе. При атмосферной засухе в большей степени от иссушения страдали листья. Активная транспирация требовала поступление большого количества воды, что отразилось на формировании корней. Происходило укорочение корня на 25%, но увеличение его объема в 8 раз за счет увеличения корневой поверхности в процессе его ветвления. Внесение в питательную среду мелатонина не снимало торможения роста корня (Рисунок 21 а). Под действием атмосферной засухи возрастал объем корня, в то время как мелатонин частично снижал данный показатель. При действии низкой концентрации (0,1 пМ) мелатонин увеличивал объем в 4 раза, тогда как при 1 мкМ – в 5 раз по сравнению с контролем (Рисунок 21 а). В условиях засухи мелатонин проявлял стимулирующий эффект на суммарную площадь поверхности листьев (Рисунок 21 б).



\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

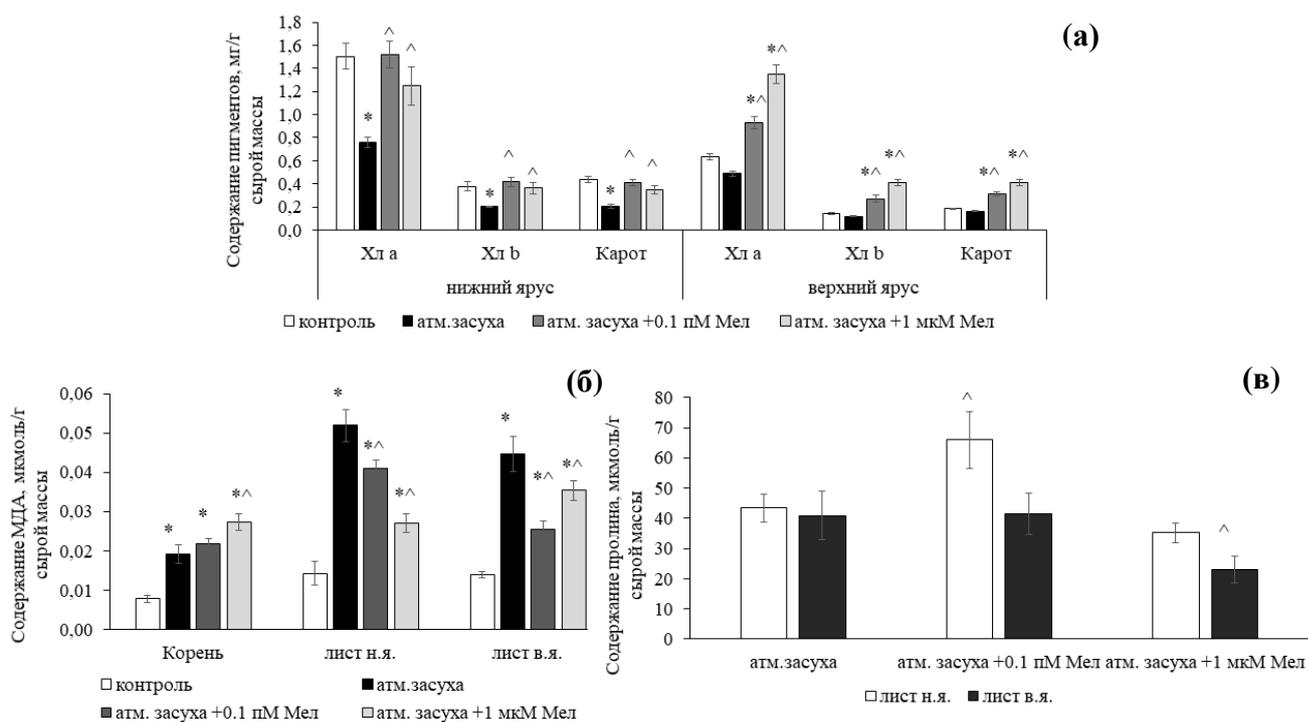
^ $p \leq 0,05$  при сравнении с действием засухи

Рисунок 21 – Влияние мелатонина на рост корня (а) и суммарной площади поверхности листьев (б) растений *C. sativus* при действии 35% атмосферной засухи

Содержание фотосинтетических пигментов снижалось в растениях, выращиваемых при атмосферной засухе. В листьях нижнего яруса отмечено снижение на 50%, для верхнего яруса – на 18–20%. Мелатонин в концентрациях 0,1 пМ и 1 мкМ восстанавливал до контрольных значений уровень всех групп пигментов фотосинтеза в листьях нижнего яруса, и значительно повышал в листьях верхнего яруса (Рисунок 22 а). Так, 0,1 пМ мелатонин увеличивал на 55, 80, 60% соответственно содержание хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов, в свою очередь 1 мкМ увеличивал в 2 раза уровень всех групп пигментов в листьях верхнего яруса.

Интенсивность ПОЛ увеличивалась в корне, листьях нижнего и верхнего ярусов соответственно в 2,5, 3,2 и 3,6 раза в растениях, подвергнутых атмосферной засухе. Мелатонин увеличивал интенсивность ПОЛ в корне, но снижал в листьях нижнего и верхнего ярусов по сравнению с растениями, выросшими при атмосферной засухе (Рисунок 22 б).

Окислительный стресс, вызванный атмосферной засухой, увеличивал уровень пролина. Действие мелатонина в концентрации 0,1 пМ увеличивало содержание пролина в листьях нижнего яруса по сравнению с растениями, выросшими при атмосферной засухе. Мелатонин высокой концентрации снижал уровень пролина в листьях верхнего яруса (Рисунок 22 в).



\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

^ $p \leq 0,05$  при сравнении с действием засухи

Рисунок 22 – Влияние мелатонина на содержание фотосинтетических пигментов (а), интенсивность перекисного окисления липидов (б) и содержание пролина (в) в листьях растений *C. sativus* при действии 35% атмосферной засухи

Таким образом, установили, что мелатонин в условиях действия атмосферной засухи тормозил рост побега в длину, но увеличивал количество ярусов и общую площадь фотосинтезирующей поверхности 30-дневных растений огурца (*C. sativus*). Долговременная корневая обработка мелатонином обеспечивала устойчивость растений огурца к атмосферной засухе за счет снижения интенсивности ПОЛ в листьях, обеспечивая тем самым восстановление уровня фотосинтетических пигментов.

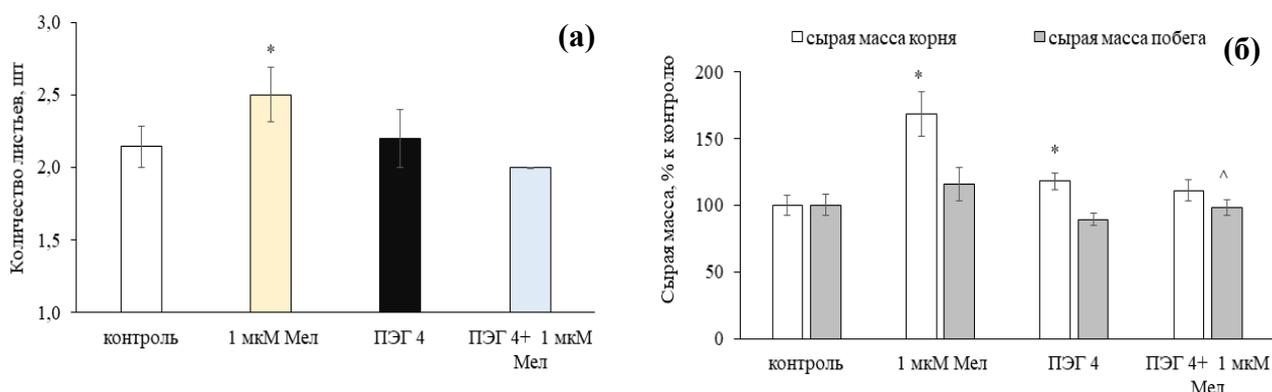
### 3.2.2 Протекторный эффект корневой обработки мелатонином в регуляции морфофизиологических параметров растений огурца при субстратной засухе на белом свету

Нами было показано, что кратковременная корневая обработка растений огурца мелатонином приводила к изменениям в интенсивности транспирации и устьичной проводимости (см. раздел 3.1.3), что может свидетельствовать о вовлечении мелатонина

в регуляцию водного обмена устьичных клеток. В связи с этим, нами исследовано влияние мелатонина на морфогенетические и антиоксидантные параметры растений огурца в условиях дефицита влаги.

Имитация засухи осуществлялась путем внесения в питательную среду непроникающего агента – полиэтиленгликоля 6000 (ПЭГ). 11-дневные растения огурца переносили на МС–среду без (контроль) или содержащую 4% раствор ПЭГ-6000 (опыт), часть растений переносили на среду, дополнительно содержащую 1 мкМ мелатонина, и выращивали в течение 3 суток.

3-дневная обработка мелатонином не оказывала действия на линейные размеры стебля и корня, но стимулировала закладку новых листьев (Рисунок 23 а). Сравнение сырой массы органов растений показало, что мелатонин увеличивал массу корня контрольных растений огурца (Рисунок 23 б). Под действием умеренной засухи увеличилась сырая масса корня. Внесение в питательную среду мелатонина на фоне засухи снимало ингибирующее действие на накопление массы побега.



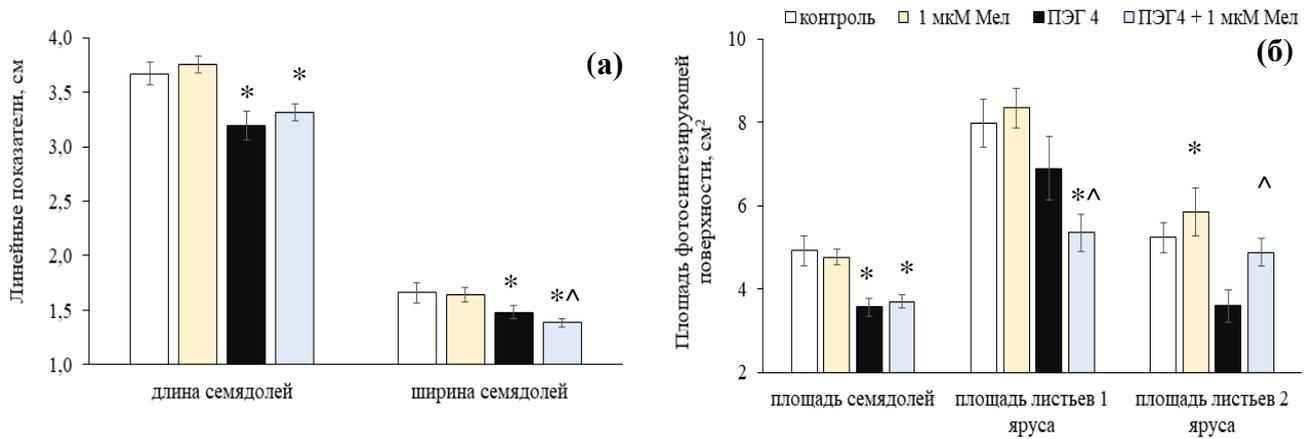
\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

^ $p \leq 0,05$  при сравнении с действием засухи

Рисунок 23 – Влияние мелатонина на морфогенез растений *C. sativus* в нормальных условиях и при действии умеренной засухи (ПЭГ 4)

Изучение формирования фотосинтезирующей поверхности (семядоли, листьев 1 и 2 ярусов) растений огурца показало снижение площади их поверхности под действием стрессора за счет торможения роста в длину и ширину. Добавление 1 мкМ мелатонина в условиях засухи незначительно удлиняло семядоли, уменьшая их ширину. В то же

время уменьшалась площадь поверхности листьев 1 яруса, но увеличивалась площадь поверхности листьев 2 яруса по сравнению с действием стрессора (Рисунок 24 а, б).

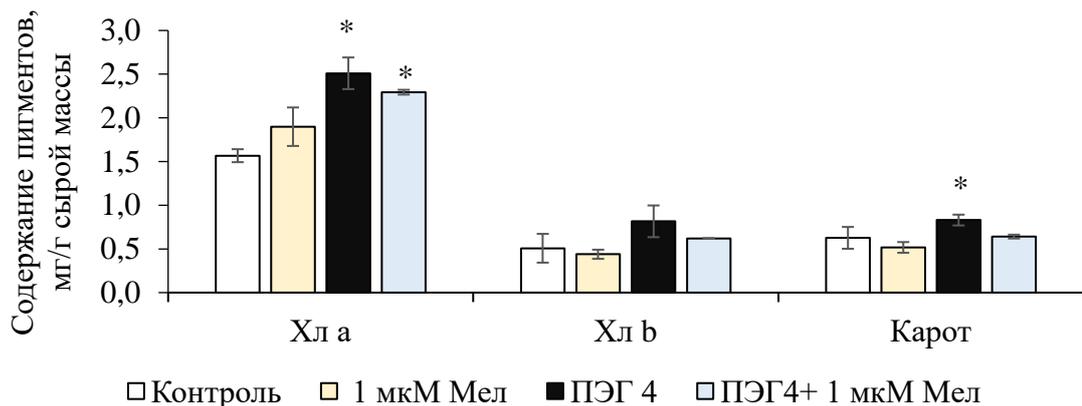


\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

^ $p \leq 0,05$  при сравнении с действием засухи

Рисунок 24 – Влияние мелатонина на формирование фотосинтетического аппарата растений *C. sativus* в нормальных условиях и при действии умеренной засухи (ПЭГ 4)

Анализ содержания фотосинтетических пигментов в листьях 1 яруса показал, что 3-дневная засуха способствовала повышению уровня хлорофилла *a* и каротиноидов (Рисунок 25).



\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

Рисунок 25 – Влияние мелатонина на уровень фотосинтетических пигментов в листьях 1-го яруса растений *C. sativus* в нормальных условиях и при действии умеренной засухи (ПЭГ 4)

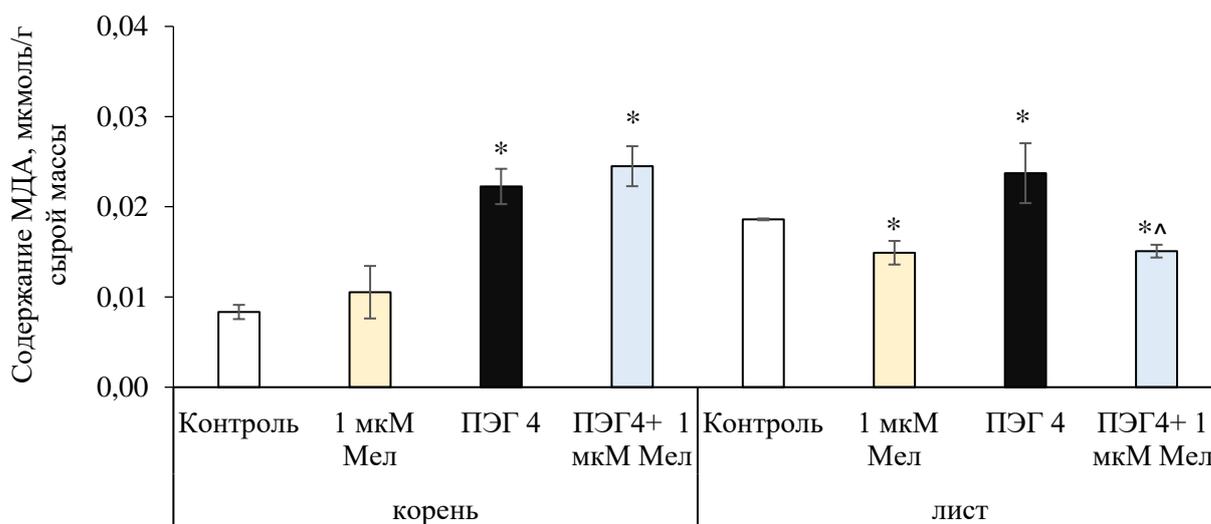
Возможно, это обусловлено уменьшением площади поверхности листьев, вызванным засухой, при сохранении скорости синтетических процессов. Поскольку уменьшение размеров листа сопряжено с уменьшением отдельных клеток и повышением их плотности в листе, а следовательно, повышением количества хлоропластов. Подобная закономерность изменения хлорофилла *a* прослеживалась и при обработке мелатонином в условиях засухи (Рисунок 25).

Действие умеренной засухи (ПЭГ 4) на корень растений огурца не изменяло максимальную квантовую эффективность ФС II ( $F_v/F_m$ ) листа, но приводило к падению величин эффективного квантового выхода ( $Y(II)$ ), регулируемой тепловой диссипации световой энергии ( $Y(NPQ)$ ), нефотохимического тушения флуоресценции фотосистемы II (NPQ), что свидетельствовало о нарушении поглощения энергии света и переносе электронов (Таблица 6). Другими авторами на растениях арабидопсиса было показано, что кратковременная засуха вызвала быструю разборку светособирающего комплекса II, но при этом димеры ФС II оставались стабильными, в связи с чем изменений в значении ( $F_v/F_m$ ) не обнаружено, значимые различия отмечали на 12–15 день засухи [Chen et al., 2016]. В нашем исследовании совместное действие стресс-фактора и мелатонина в концентрации 1 мкМ снимало торможение функциональной активности ФС II ( $Y(II)$ ,  $qN$ , NPQ) (Таблица 6).

Таблица 6 – Влияние мелатонина на фотохимическую активность фотосистемы II в листьях растений огурца в условиях умеренной засухи

	$F_v/F_m$	$Y(II)$	$Y(NO)$	$Y(NPQ)$	$qN$	NPQ
Контроль	0,83 ±0,01	0,51±0,01	0,31±0,00	0,17±0,01	0,38±0,04	0,49±0,08
ПЭГ 4	0,83±0,01	0,35±0,14*	0,34±0,04	0,15±0,02	0,29±0,004*	0,33±0,001*
ПЭГ4+ 1 мкМ Мел	0,86±0,02	0,48±0,07^	0,35±0,04	0,17±0,02	0,37±0,01^	0,49±0,01^
Примечание – * $p < 0,05$ при сравнении с контрольным значением ^ $p \leq 0,05$ при сравнении с действием засухи						

Важным показателем при изучении действия стресс-фактора является интенсивность окислительных процессов. Было установлено, что мелатонин в концентрации 1 мкМ снижал уровень ПОЛ в листьях на 20% по сравнению с контролем. Действие умеренной засухи способствовало повышению интенсивности ПОЛ в корнях в 2,6 раза и листьях на 27% по сравнению с контролем, тогда как добавление мелатонина снижало на 36 % ПОЛ в листьях растений относительно таковой при действии стрессора и на 18% относительно контроля (Рисунок 26) [Бойко и др., 2022].



\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

^ $p \leq 0,05$  при сравнении с действием засухи

Рисунок 26 – Влияние мелатонина на содержание МДА в корнях и листьях растений *C. sativus* в нормальных условиях и при действии умеренной засухи (ПЭГ 4)

Поскольку окислительные процессы нарушают целостность компонентов мембран, то нами была определена степень повреждения мембран на основании величины выхода электролитов кондуктометрическим методом (Таблица 7).

Таблица 7 – Влияние мелатонина на величину выхода электролитов и степень повреждения клеток у высечек листьев растений огурца в условиях умеренной засухи

Вариант	% от полного выхода электролитов, L	Степень повреждения клеток (коэффициент повреждения)
<b>семядоля</b>		
Контроль	17,46±4,78	0
ПЭГ 4	30,83±2,08*	12,45*
ПЭГ4+ 1 мкМ Мел	23,14±8,44	5,74*^
<b>лист</b>		
Контроль	11,25 ±0,57	0
ПЭГ 4	22,43±1,77*	12,59*
ПЭГ4+ 1 мкМ Мел	12,22±3,62^	1,09*^
Примечание – * $p \leq 0,05$ при сравнении с контрольным значением ^ $p \leq 0,05$ при сравнении с действием засухи		

Действие засухи приводило к увеличению выхода электролитов из клеток растений огурца, что говорило о повреждении мембран. Данная закономерность ранее была показана другими авторами на растениях пшеницы, где показано, что дефицит

воды на фоне маннита приводил к увеличению выхода элетролитов и нарушению целостности мембран [Безрукова и др., 2021]. Внесение в питательную среду мелатонина снижало степень повреждения мембран в 2 раза для семядолей и в 12 раз для листьев (Таблица 7). Разница в ответе листа и семядоли вероятнее всего обусловлена их функциональным состоянием, активным ростом листа и завершением его у семядолей.

Важную роль в защите от окислительных процессов выполняют антиоксиданты, среди которых выделяют низкомолекулярные антиоксиданты: аскорбиновую кислоту и антоцианы. В ответ на засуху уровень аскорбиновой кислоты уменьшался на 51%, но обработка мелатонином снимала ингибирующий эффект на данный показатель. Мелатонин в концентрации 1 мкМ повышал уровень аскорбиновой кислоты на 33% (Таблица 8).

В ответ на действие мелатонина в норме и в условиях засухи снижался на 14 % уровень антоцианов, но при совместном действии факторов (ПЭГ4+ 1 мкМ мелатонин) данный показатель возрастал в 2,8 раза (Таблица 8).

Таблица 8 – Влияние мелатонина на содержание аскорбиновой кислоты и антоцианов в листьях растений *C. sativus* в нормальных условиях и при действии умеренной засухи (ПЭГ 4)

Вариант	Содержание аскорбиновой кислоты, мг/г сырого веса	Содержание антоцианов, мкг/г сырого веса
Контроль	0,067±0,002	0,007±0,0004
1 мкМ Мел	0,089±0,005*	0,006±0,0001
ПЭГ 4	0,033±0,014*	0,006±0,0002
ПЭГ4+ 1 мкМ Мел	0,063±0,001*^	0,020±0,0074*^
Примечание – * $p \leq 0,05$ при сравнении с контрольным значением ^ $p \leq 0,05$ при сравнении с действием засухи		

Таким образом, можно сделать вывод о протекторном эффекте корневой обработки мелатонином на формирование устойчивости к умеренной засухе. 3-дневное воздействие 1 мкМ мелатонином на фоне засухи снижало интенсивность ПОЛ в листьях растений огурца за счет активации синтеза низкомолекулярных антиоксидантов (аскорбиновой кислоты, антоцианов). Торможение роста поверхности листьев 1 яруса компенсировалось увеличением уровня фотосинтетических пигментов. Кроме того, мелатонин снимал негативный эффект засухи, стимулируя рост листовой пластины 2 яруса, стабилизируя состояние мембран и показатели фотохимической активности

фотосистемы II. Полученные нами данные, согласуются с данными других авторов на растениях огурца, показавшими, что обработка мелатонином растений в условиях засухи оказывала протекторное действие на ростовые процессы, снижая деградацию хлорофилла, повышая скорость фотосинтеза и активность антиоксидантных ферментов [Zhang et al., 2012].

### 3.2.3 Протекторный эффект корневой обработки мелатонином в регуляции морфофизиологических параметров растений картофеля при дефиците воды в условиях засоления и гипотермии на белом свету

Схожие реакции корневой обработки мелатонином на синтез низкомолекулярных антиоксидантов и уровня перекисного окисления липидов нами были отмечены и в случае обработки растений картофеля при действии пониженных температур [Golovatskaya et al., 2023] и хлоридном засолении [Efimova et al., 2023]. Подобные реакции вероятнее всего обусловлены тем, что при гипотермии и засолении нарушается водообеспечение растений, что совпадает с действием засухи (Таблица 9).

Таблица 9 – Влияние корневой обработки мелатонином на морфофизиологические параметры растений картофеля при дефиците воды в условиях засоления и гипотермии

Показатель	Вариант			Вариант		
	контроль	гипотермия	1 мкМ Мел + гипотермия	контроль	125 мМ NaCl	1 мкМ Мел + 125 мМ NaCl
Оводненность, %	90,0±0,1	75,3±2,9*	86,3± 0,7^	87,3±0,7	85,67±0,53*	87,37±0,19^
Содержание МДА, мкмоль/г сырой массы	0,057±0,01	0,10±0,002*	0,06±0,01^	0,102±0,004	0,118±0,003*	0,094±0,003^
Содержание пролина, мкмоль/г сырой массы	9,02±1,35	30,01±5,26*	24,31±2,28^	4,84±0,15	39,39±4,59*	43,58±4,42*
Содержание каротиноидов, мг/г сырой массы	0,47 ±0,01	0,43±0,01	0,55±0,02*^	0,61±0,02	0,29±0,02*	0,62±0,03^
Примечание – * $p \leq 0,05$ при сравнении с контрольным значением ^ $p \leq 0,05$ при сравнении с действием стрессора						

Одинаковая реакция мелатонина в снижении негативного действия исследуемых абиотических факторов на растения разных таксономических групп говорит об универсальности мелатонин-зависимых реакций в стрессовых условиях.

### 3.2.4 Роль корневой предобработки мелатонином в регуляции ростовых параметров растений огурца при субстратной засухе на селективном свете

Регуляторная роль света, контролирующего рост и развитие растений на разных стадиях онтогенеза, в большей степени, определяется его спектральным составом и реализуется через многочисленные фоторецепторы. В единичных статьях встречаются данные об изменении содержания мелатонина и его функции в метаболизме растений на селективном свете [Afreen et al., 2006; Khan et al., 2019; Chung, Deng. 2020]. На основании этих данных можно предположить взаимодействие селективного света и мелатонина в регуляции морфогенеза и метаболизма растений.

Растения огурца выращивали в почвогрунте, при этом часть растений подвергали действию засухи и 3-дневной корневой предобработке 1 мкМ мелатонином. Отмечали, что растения огурца, выращенные на С2К, имели большую ярусность (Таблица 10).

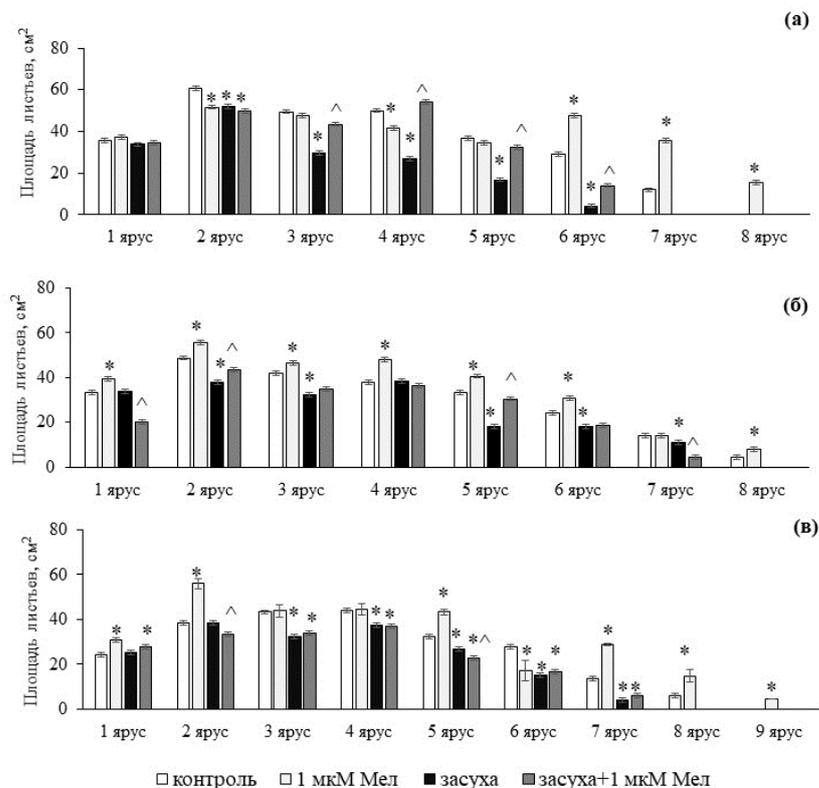
Таблица 10 – Влияние 3-дневной корневой обработки мелатонином на ростовые параметры и сырую массу растений огурца при действии почвенной засухи на свету разного спектрального состава

Вариант освещения	вариант	Длина стебля, см	Ярусы, шт	Сырая масса побега, г
2СК	Контроль	10,75±0,63	6,20±0,37	8,81±0,43
	1 мкМ Мел	12,33±0,67	7,33±0,33*	8,28±0,72
	Засуха	8,70±0,30*	5,80±0,20	5,43±0,30*
	Засуха + 1 мкМ Мел	8,38±0,69*	5,50±0,29	6,39±0,19^
1,5(СК)	Контроль	11,67±0,33	6,60±0,24	8,56±0,43
	1 мкМ Мел	16,83±0,93*	7,40±0,24*	9,00±0,58
	Засуха	10,20±0,12	6,40±0,40	6,35±0,48*
	Засуха + 1 мкМ Мел	10,50±0,22	6,00±0,002	6,01±0,58*
С2К	Контроль	12,30±1,15	7,60±0,24#	8,33±0,83
	1 мкМ Мел	17,23±1,06*	8,40±0,24	10,63±0,32*
	Засуха	10,36±0,39	6,00±0,001*	6,25±0,36*
	Засуха + 1 мкМ Мел	10,50±0,35	7,25±0,25^	6,43±0,30*
Примечание – *p < 0,05 при сравнении с контрольным значением ^p ≤ 0,05 при сравнении с действием засухи #p ≤ 0,05 при сравнении с 2СК				

3-дневная корневая предобработка мелатонином увеличивала длину стебля, ярустность и сырую массу побега, наибольший прирост отмечен на С2К. Перенос растений огурца в условия дефицита воды приводило к уменьшению сырой массы побега, торможению роста стебля (Таблица 10).

Предобработка мелатонином в условиях почвенной засухи увеличивала сырую массу побега на 2СК (Таблица 10) и количество ярусов на С2К. Было установлено, что мелатонин ускорял закладку новых ярусов (Рисунок 27). При культивировании растений под 2СК корневая предобработка мелатонином способствовала закладке и росту 6–7 ярусов и формированию 8-ого, но уменьшалась площадь поверхности листьев 2–4 ярусов, в то время как при 1,5(СК) площадь поверхности листьев увеличивалась на всех ярусах (Рисунок 27 а, б).

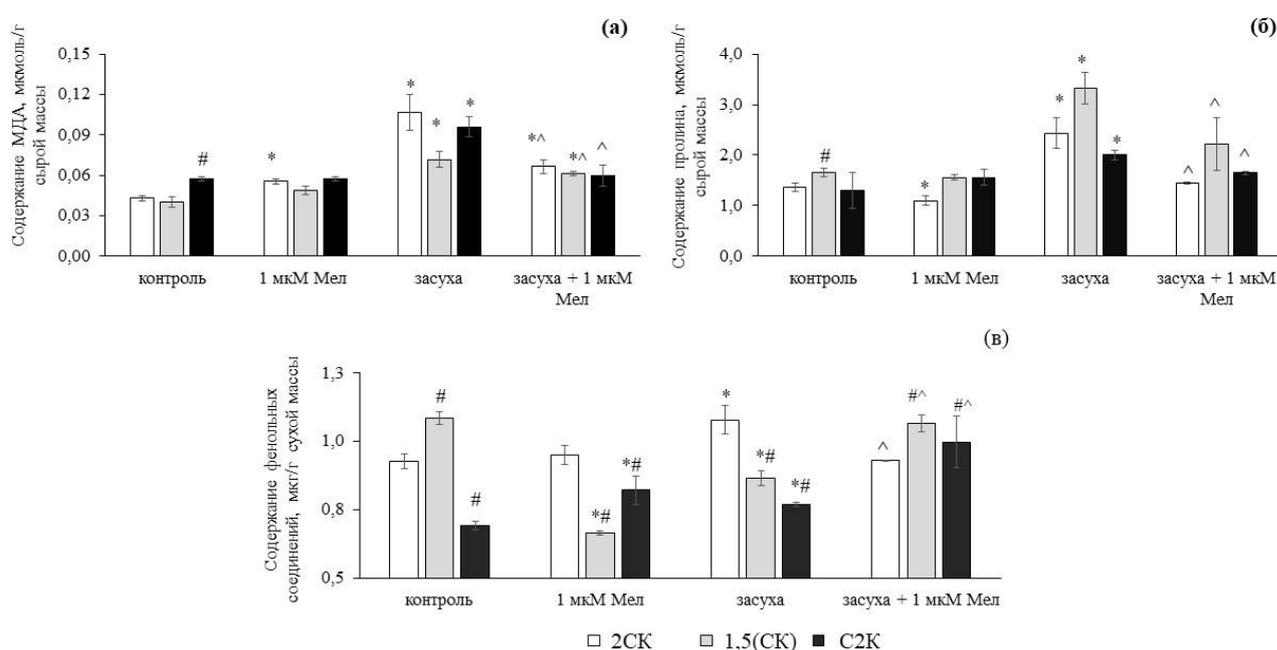
Двукратное увеличение доли красного участка спектра С2К и корневая обработка 1 мкМ Мел приводила к разной реакции, так увеличение площади поверхности листьев отмечено для 1, 2, 5, 7, 8 ярусов, формирование 9 яруса происходило только у растений, обработанных мелатонином (Рисунок 27 в).



Примечание – \* $p < 0,05$  при сравнении с контрольным значением  
 $\wedge p \leq 0,05$  при сравнении с действием засухи

Рисунок 27 – Влияние 3-дневной корневой обработки мелатонином на площадь поверхности листьев растений огурца при действии почвенной засухи на свету разного спектрального состава: (а) – 2СК, (б) – 1,5(СК), (в) – С2К

Одним из ярких показателей развития стресса у растений может служить интенсивность ПОЛ. Нами показано, что уровень ПОЛ у растений, выросших при С2К, выше, чем у других исследуемых вариантов (Рисунок 28 а). Предобработка мелатонином приводила к увеличению интенсивности ПОЛ в листьях растений при 2СК на 29 %. Для растений огурца, подвергшихся действию почвенной засухи, отмечали повышение уровня ПОЛ при освещении 2СК в 2,5 раза, при 1,5(СК) и С2К в 1,7–1,8 раз (Рисунок 28 а). Корневая предобработка мелатонином снимала негативный эффект засухи, снижая уровень ПОЛ во всех трех вариантах освещения.



Примечание – \* $p < 0,05$  при сравнении с контрольным значением  
 $\wedge p \leq 0,05$  при сравнении с действием засухи  
 $\# p \leq 0,05$  при сравнении с 2СК

Рисунок 28 – Влияние 3-дневной корневой обработки мелатонином на интенсивность перекисного окисления липидов (а), содержания пролина (б) и фенольных соединений (в) в листьях растений огурца при действии почвенной засухи на свету разного спектрального состава

Важным осмопротектором растений является аминокислота – пролин. Для растений, культивируемых в условиях 1,5(СК), отмечали больший уровень пролина (Рисунок 28 б). Мелатонин снижал уровень пролина в листьях растений огурца при 2СК. На фоне действия стресс фактора происходило накопление содержания пролина. Наибольшее увеличение уровня в 2 раза отмечено при 1,5(СК), тогда как 2СК и С2К – в

1,8 и 1,6 раза соответственно по сравнению с контрольным значением (Рисунок 28 б). Предобработка корней мелатонином не приводила к росту уровня пролина в листьях растений, подвергнутых стрессовому воздействию засухи.

Содержание фенольных соединений изменялось в зависимости от условий освещения, так, показан более высокий их уровень в листьях культивируемых при 1,5(СК) растений огурца и меньший при С2К по сравнению с 2СК (Рисунок 28 в). Предобработка растений огурца мелатонином приводила к понижению уровня фенольных соединений при 1,5(СК) (40%) и повышению при С2К (20%). В ответ на действие засухи растения повысили уровень фенольных соединений на 11–16% под 2СК и С2К, и снизили на 20 % под 1,5(СК) по сравнению с контрольным значением (Рисунок 28 в). В ответ на предобработку мелатонином в условиях дефицита воды растения восстанавливали уровень фенольных соединений при 2СК и 1,5(СК) до уровня контрольных значений, но увеличивали при С2К на 44 % (Рисунок 28 в).

В результате проведенной серии экспериментов нами установлено, что в ответ на почвенную засуху растения огурца замедлили удлинение стебля, уменьшили ярусность и площадь поверхности листьев, увеличили перекисное окисление липидов и синтез антиоксидантных молекул. Ответ растений на действие стрессора зависело от условий освещения. 3-дневная корневая предобработка растений огурца мелатонином приводила к смягчению действия стрессора, реакция растений так же зависела от спектрального состава света. Все это позволяет говорить о возможной взаимосвязи света разного спектрального состава и мелатонина в ответ на негативное воздействие засухи. Для понимания роли мелатонина и возможных механизмов защиты растений при действии засухи в условиях селективного света нами были использованы гидропонные методы имитации условий дефицита воды путем внесения в питательный раствор осмотически активных веществ (осмолитов).

### **3.2.5 Влияние света разного спектрального состава и мелатонина на засухоустойчивость проростков огурца**

В ходе онтогенеза растения часто сталкиваются с неблагоприятными воздействиями окружающей среды. Наиболее уязвимыми к стресс-факторам являются растения на ранних этапах онтогенеза, что послужило основой для изучения проростков

огурца. А поскольку процессы роста связаны с растяжением клеток и органов за счёт поступления воды, то этот фактор считается наиболее лимитирующим. В связи с этим нами исследовано влияние мелатонина и света разного спектрального состава на морфогенез проростков огурца в условиях засухи.

Анализ влияния засухи разной силы – умеренной (ПЭГ 4) и сильной (ПЭГ 8) – на рост проростков огурца показал, что в темноте умеренная засуха оказывала стимулирующее действие на длину гипокотилия (Рисунок 29 б).

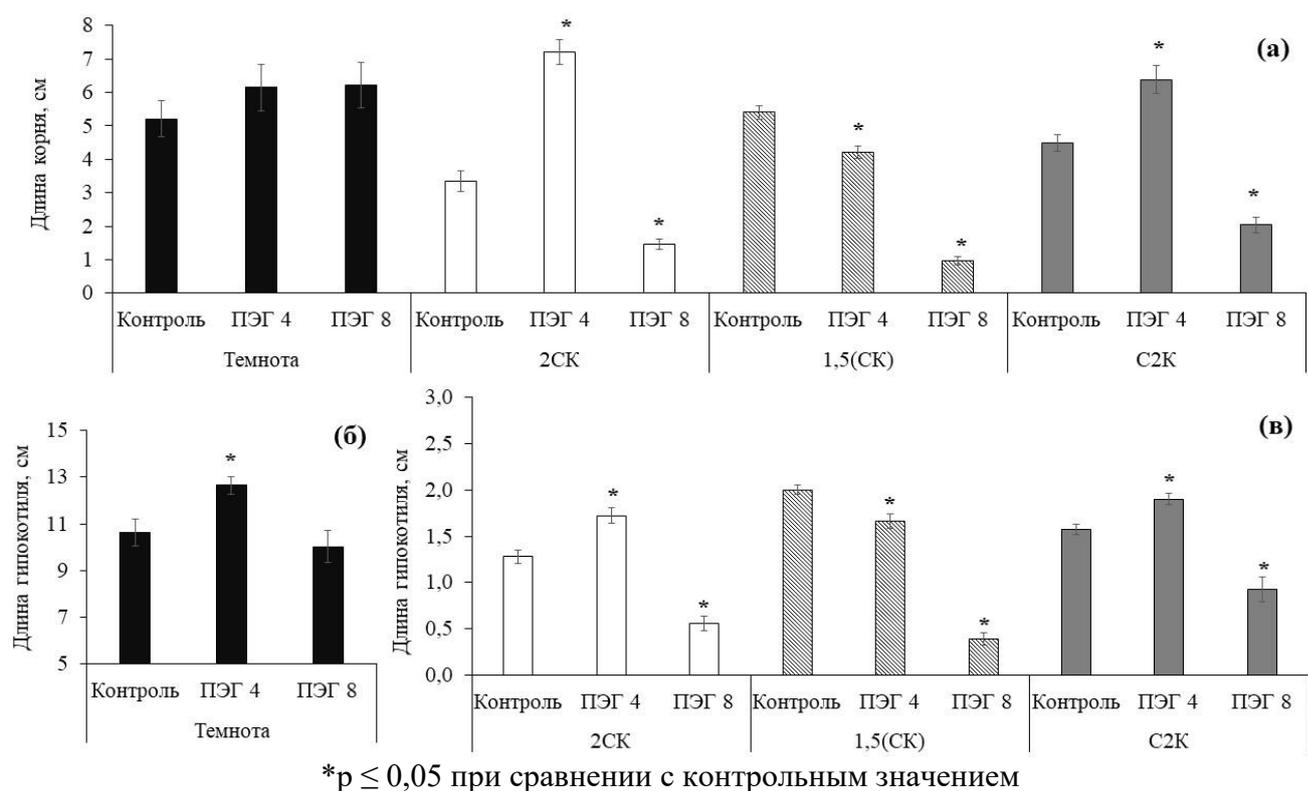


Рисунок 29 – Влияние засухи разной силы на морфогенез проростков растений *C. sativus* в темноте и на свету разного спектрального состава: (а) – длина корня, (б) – длина гипокотилия в темноте, (в) – длина гипокотилия на селективном свету

Рост проростков на свету в условиях засухи зависел от света разного спектрального состава и интенсивности засухи. Увеличение доли синего участка спектра способствовало увеличению размеров корня (в 2 раза) и гипокотилия (на 34 %) на фоне умеренной засухи по сравнению с контролем. Увеличение силы засухи приводило к уменьшению длины осевых органов на 56 % по сравнению с контролем. Воздействие 1,5(СК) способствовало ингибированию растяжения корня и гипокотилия при обоих типах засухи. Наибольший негативный эффект отмечен при действии сильной засухи (в 5–5,6

раз) по сравнению с контролем. 2-кратное увеличение доли красного света (С2К) привело к росту обоих осевых органов при действии умеренной засухи, и уменьшению растяжения длины корня и гипокотилия при сильной засухе на 54 и 41 % соответственно по отношению к контролю (Рисунок 29 а-в).

Основным органом фотосинтеза на ранних этапах онтогенеза огурца являются семядоли проростков. Установлено, что засуха негативно влияет на формирование семядольной пластинки у проростков огурца вне зависимости от силы засухи (концентрации ПЭГ), однако изменение соотношения плотности потока фотонов разных участков спектра влияют на интенсивность ростового ответа. Наименьший отрицательный эффект засухи на рост семядолей отмечен в темноте, где происходило уменьшение линейных параметров на 15% по сравнению с контролем. Выращивание проростков под 2СК при действии сильной засухи уменьшало длину семядоли на 39% и ширину на 43%. В то время как умеренная засуха влияла только на ширину семядоли, снижая её на 17%. Наибольший негативный эффект сильной засухи отмечен при культивировании под 1,5(СК), в данных условиях семядоли были слаборазвиты и располагались в семянной кожуре (Рисунок 30).

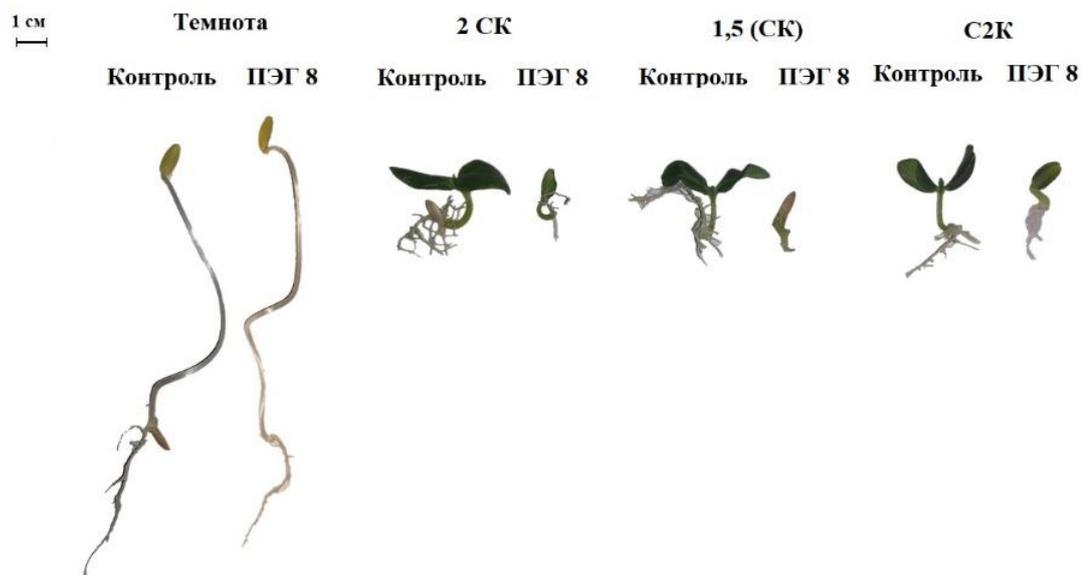


Рисунок 30 – Внешний вид проростков *C. sativus* при действии сильной засухи (ПЭГ 8) в темноте и на свете разного спектрального состава

Умеренная засуха тормозила рост семядоли, снижала ее длину и ширину на 24%. При культивировании проростков в условиях сильной засухи под С2К установлено ингибирование роста семядольной пластинки на 37 и 42% соответственно длины и

ширины по сравнению с контролем. Умеренная засуха тормозила рост семядоли в ширину на 20 % (Рисунок 31 а, б).

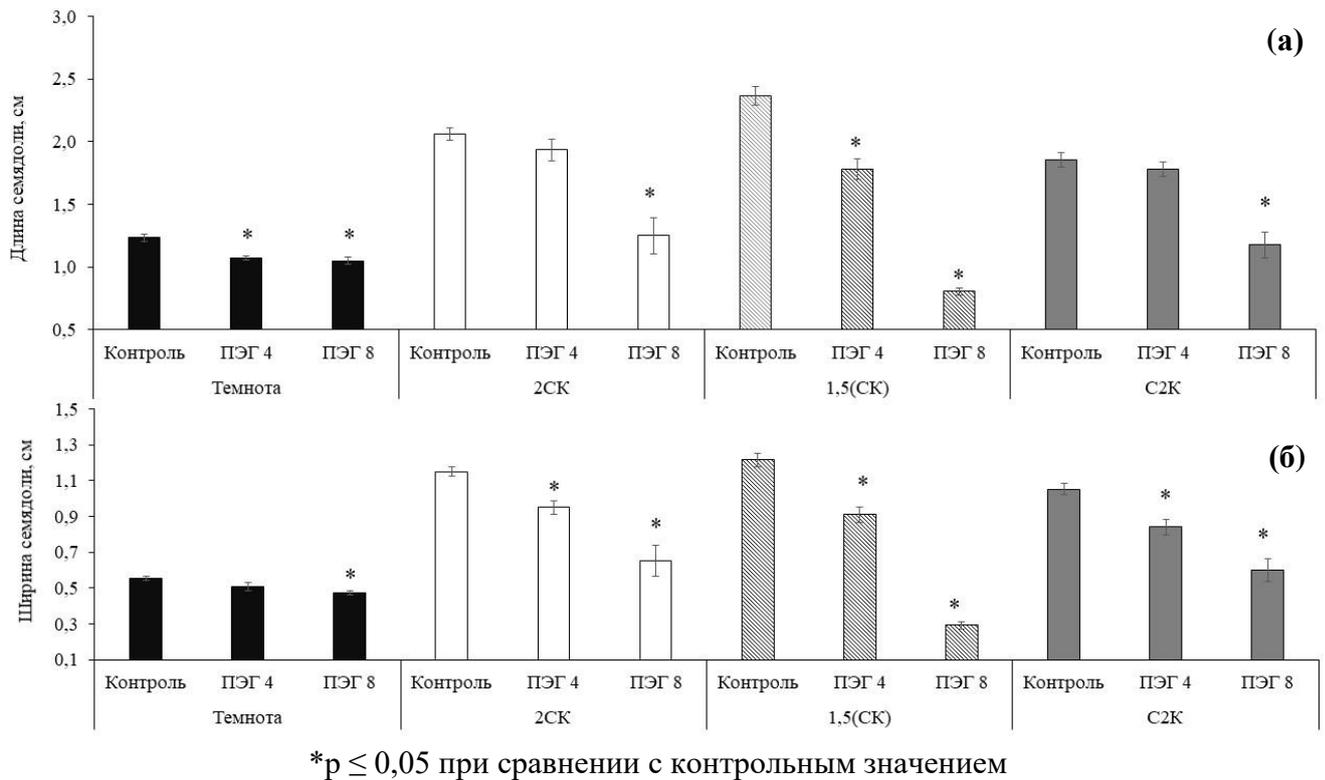


Рисунок 31 – Влияние засухи разной силы на линейные параметры семядолей проростков растений *C. sativus* в темноте и на свету разного спектрального состава: (а) – длина семядоли, (б) – ширина семядоли

Анализ полученных данных показал проявление выраженного негативного эффекта сильной засухи на морфогенез проростков огурца, в связи с чем дальнейшее исследование проводили с использованием именно этого стресс-фактора и мелатонина в концентрации 1 мкМ. Установили, что мелатонин усиливал действие засухи в темноте, но снимал негативный эффект засухи на растяжение корня в условиях 2СК и 1,5(СК), стимулируя его рост на 80 и 75 % соответственно по сравнению с засухой. Однако на свету С2К мелатонин усиливал торможение растяжения корня на 43% по сравнению с проростками, подвергнутыми действию засухи (Рисунок 32 а). Эффекты мелатонина, отмеченные для корня на свету разного спектрального состава, были аналогичны и для гипокотыля: мелатонин снижал негативный эффект сильной засухи при 2СК и 1,5(СК). Тогда как в темноте и при повышении доли красного света мелатонин еще больше ингибировал растяжение гипокотыля (Рисунок 32 б, в).

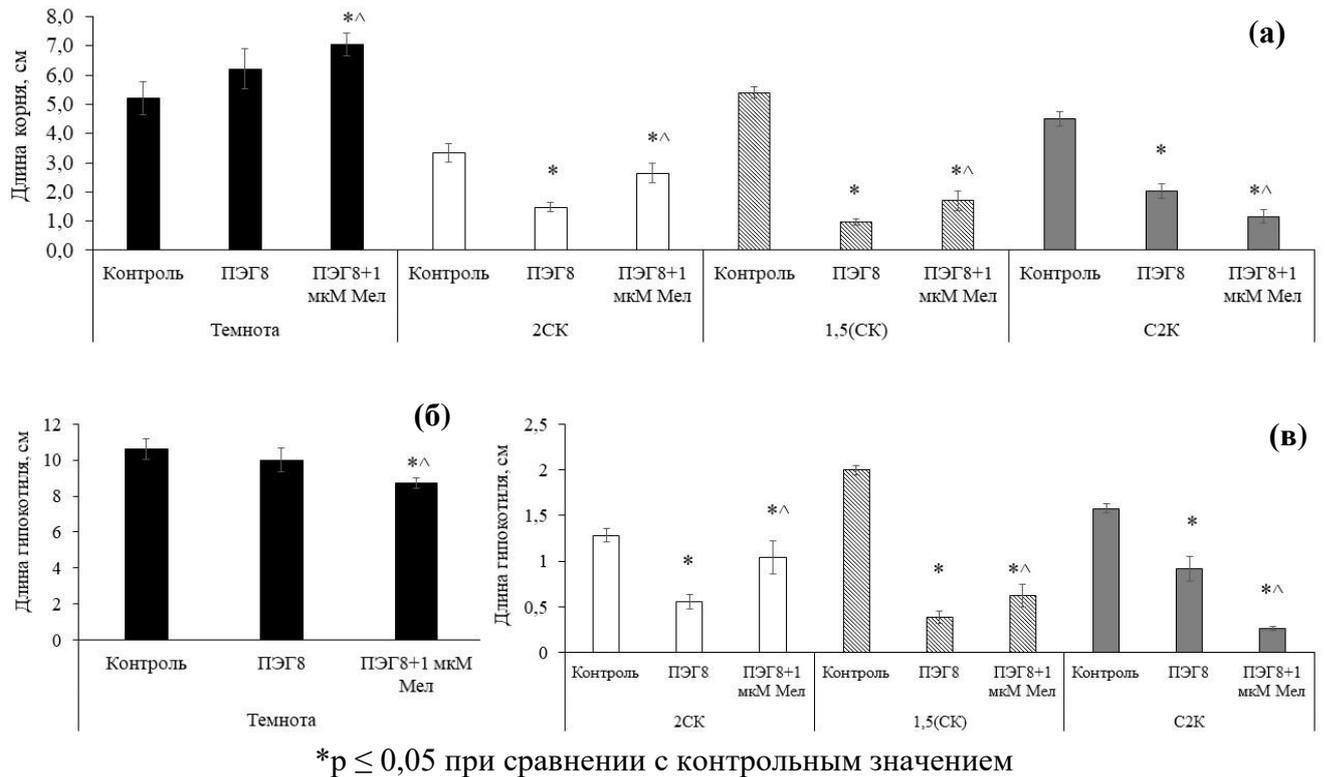


Рисунок 32 – Влияние мелатонина на морфогенез проростков растений *C. sativus* при действии сильной засухи (ПЭГ 8) в темноте и на свету разного спектрального состава: (а) – длина корня, (б) – длина гипокотыля в темноте, (в) – длина гипокотыля на свету разного спектрального состава

Мелатонин снимал негативный эффект засухи на развитие семядолей, отмеченный у выращиваемых под 1,5(СК) проростков, но оказывал угнетающее действие при С2К (Рисунок 33 а, б).

Таким образом, было показано, что формирование проростка огурца было обусловлено степенью засухи и качеством света. Так, наименьший негативный эффект засухи был отмечен для проростков, выращенных в темноте, что может быть связано с закрытыми устьицами в темноте и, следовательно, с меньшей потерей влаги. Преобладание в спектре ФАР доли синего (2СК) или красного света (С2К) уменьшало ростовые показатели проростка на фоне действия засухи. При культивировании проростков под 1,5(СК) наблюдали замедление их развития: снижение растяжения осевых органов и слаборазвитые неразвернувшиеся семядоли.

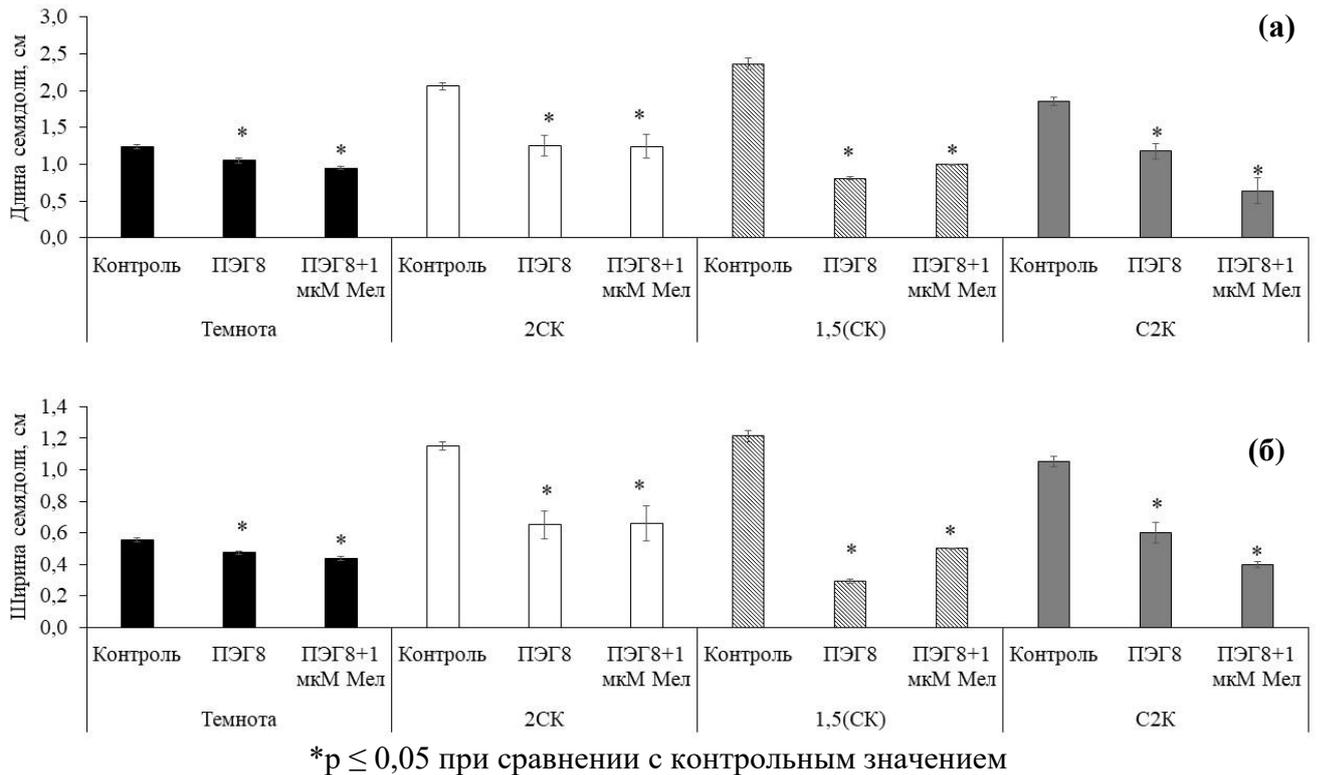


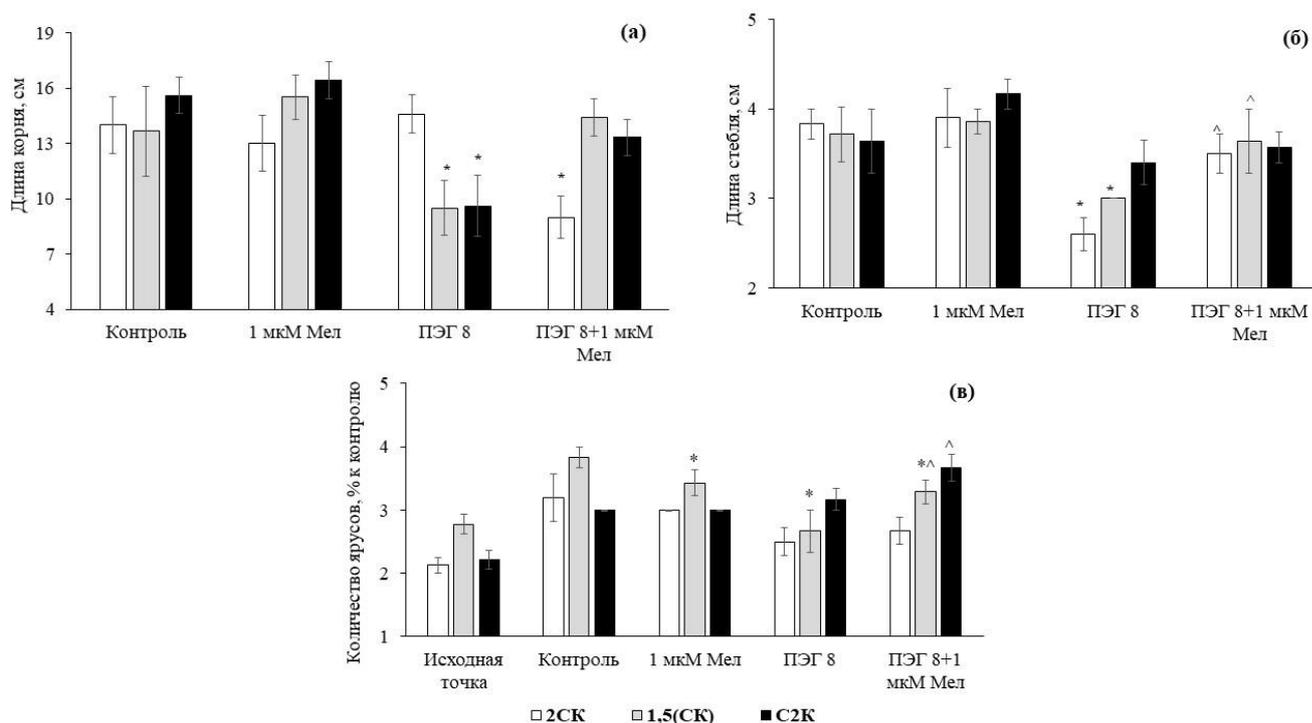
Рисунок 33 – Влияние мелатонина на линейные параметры семядолей проростков растений *C. sativus* при действии сильной засухи (ПЭГ 8) в темноте и на свету разного спектрального состава: (а) – длина семядоли, (б) – ширина семядоли

Внесение в питательную среду 1 мкМ мелатонина способствовало снятию негативного эффекта засухи в темноте и под 2СК и 1,5(СК). Однако при большей доле красного света в спектре ФАР мелатонин приводил к большему ингибированию роста проростка. Это может быть связано с фитохром-зависимым синтезом мелатонина у растений [Hwang et al., 2020]. Так, максимальное количество мелатонина было обнаружено при выращивании растений риса на смешанном красно-синем свету. Кроме того, на устойчивость к засухе могут влиять фитохром-зависимые реакции, контролируемые развитием листа. Так, у мутантной линии по гену *PHYB* растений риса отмечено снижение потери воды и скорости транспирации, за счет уменьшения площади поверхности листа и плотности и размера устьиц [Liu et al., 2012].

### 3.2.6 Влияние света разного спектрального состава и мелатонина на засухоустойчивость растений огурца

Дальнейшие исследования проводили на 18-дневных растениях огурца, которые подвергали воздействию сильной засухи в течение 3-х дней. Четыре группы растений выращивали на разных средах: 50% МС (контроль), 50% МС +1 мкМ мелатонина (1 мкМ Мел), 50% МС + 8 % раствором ПЭГ (ПЭГ8) и 50% МС+ 8% раствор ПЭГ + 1 мкМ мелатонина (ПЭГ8 + 1 мкМ Мел).

Выращивание растений огурца под светом разного спектрального состава обуславливало уменьшение площади поверхности листьев 1 и 2 яруса по мере увеличения доли красного света, не меняя ростовые показатели стебля и корня (Рисунок 34, а, б). 3-дневная обработка мелатонином не влияла на рост осевых органов растений (Рисунок 32 а, б). Перенос растений в условия засухи уменьшало растяжение стебля. Наибольшее ингибирование роста на 32% отмечено для 2СК, на 19% для 1,5(СК) (Рисунок 34 б).



\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

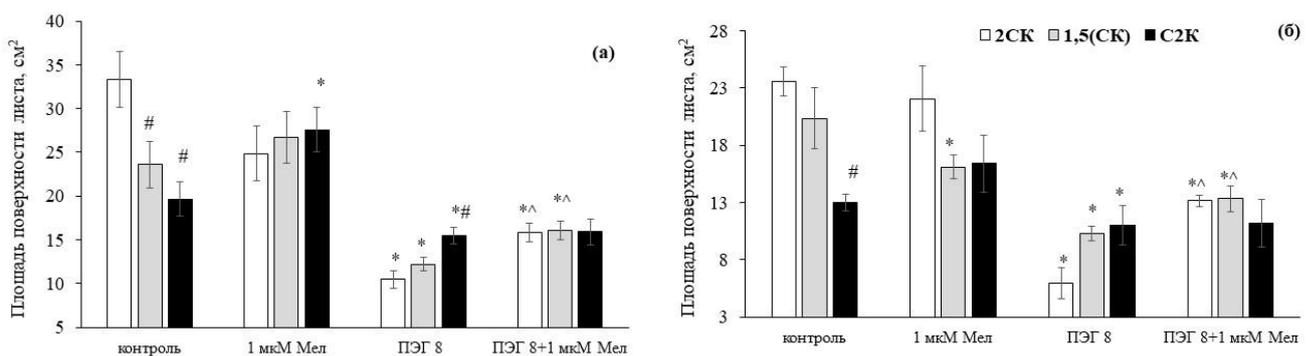
^ $p \leq 0,05$  при сравнении с действием засухи

Рисунок 34 – Влияние мелатонина на длину корня (а), стебля (б) и количество ярусов (в) растений *C. sativus* при действии сильной засухи (ПЭГ8) на свету разного спектрального состава

Внесение в питательную среду мелатонина на фоне засухи уменьшало длину корня, но увеличивало рост стебля у растений огурца, выращенных с повышенной долей синего света. При увеличении доли красного участка спектра мелатонин оказывал стимулирующее действие на корень (1,5(СК) и С2К) и стебель (1,5(СК)), снимая негативный эффект сильной засухи (Рисунок 34 а, б).

Действие селективного света 1,5(СК) способствовало формированию большей ярусности растений огурца. За исходную точку на рисунке 32 взято количество ярусов в момент переноса растений в условия засухи. Внесение в питательную среду 1 мкМ мелатонина тормозило закладку новых ярусов на 10 % под 1,5(СК). Негативный эффект засухи отмечен для растений огурца, выращиваемых при 2СК и 1,5(СК) вариантах освещения, происходило снижение на 21 и 30% соответственно. Добавление в питательную среду мелатонина на фоне сильной засухи ускоряло закладку новых ярусов под действием 1,5(СК) и С2К на 21 и 16 % соответственно по сравнению с действием одного стресс-фактора (Рисунок 34 в).

Культивирование растений огурца в условиях освещения с большей долей синего участка спектра (2СК) и 3-дневная корневая обработка 1 мкМ мелатонина способствовала уменьшению площади поверхности листьев *1-го яруса*, в тоже время при (1,5(СК)) происходило уменьшение площади поверхности листьев *2-го яруса* растений огурца (Рисунок 35 а, б).



#  $p \leq 0,05$  при сравнении с 2СК

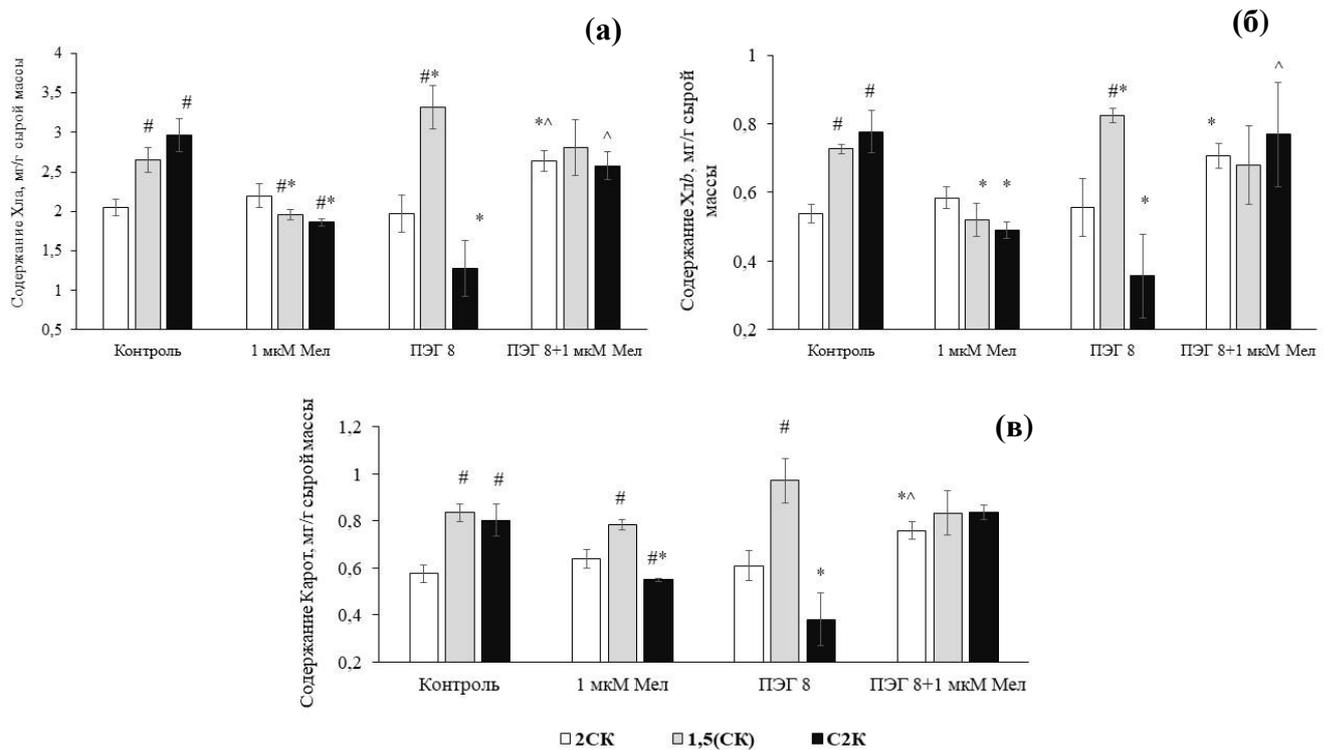
\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

^ $p \leq 0,05$  при сравнении с действием засухи

Рисунок 35 – Влияние мелатонина на площадь листьев *1 яруса* (а) и *2 яруса* (б) растений *C. sativus* при действии сильной засухи (ПЭГ 8) на свету разного спектрального состава

Засуха тормозила увеличение поверхности листьев как первого, так и второго ярусов, наибольшее снижение отмечено для 2СК и 1,5(СК) вариантов освещения, внесение 1 мкМ мелатонина частично снимало негативный эффект сильной засухи (Рисунок 35 а, б).

Содержание фотосинтетических пигментов в листьях *первого яруса* возрастало с увеличением доли красного участка спектра. Внесение 1 мкМ мелатонина уменьшало содержание всех групп пигментов фотосинтеза под 1,5(СК) и С2К, возможно, это обусловлено увеличением площади поверхности листьев *1 яруса* (Рисунок 36 а, б, в). Воздействие на растения огурца засухи увеличивало содержание всех групп пигментов под 1,5(СК), но снижало при выращивании под С2К. Мелатонин в условиях засухи увеличивал уровень пигментов при повышенной доли синего света (2СК) и восстанавливал до уровня контрольного варианта при 1,5(СК) и С2К (Рисунок 36 а, б, в).



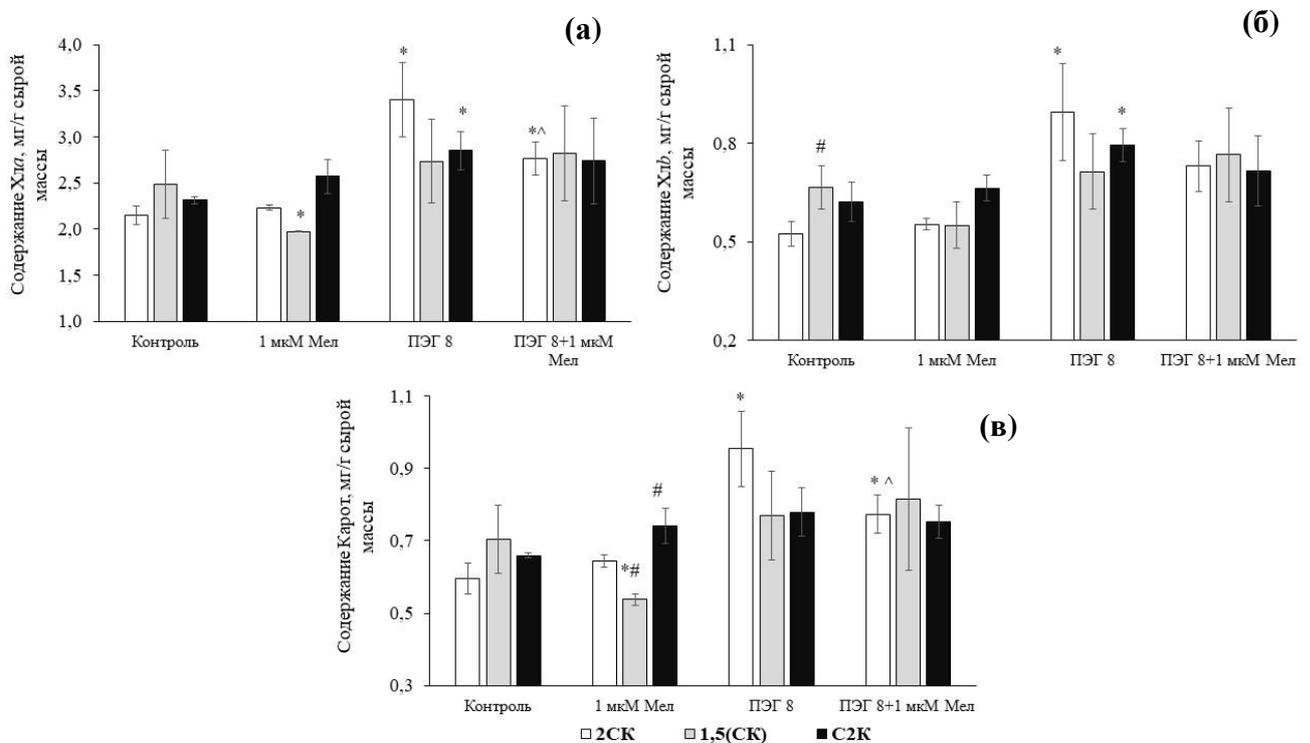
#  $p \leq 0,05$  при сравнении с 2СК

\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

^ $p \leq 0,05$  при сравнении с действием засухи

Рисунок 36 – Влияние мелатонина на содержание фотосинтетических пигментов Хл *a* (а), Хл *b* (б), Карот (в) в листьях *1 яруса* растений *C. sativus* при действии сильной засухи (ПЭГ 8) на свету разного спектрального состава

Уровень хлорофилла *b* в листьях 2-го яруса был выше в листьях контрольных растений огурца, выращенных под 1,5(СК), в тоже время небольшое увеличение каротиноидов (12%) отмечали для растений под С2К (Рисунок 37 б, в). 1 мкМ мелатонина снижал уровень хлорофилла *a* и каротиноидов при 1,5(СК). Ранее на другом объекте нами было установлено влияние мелатонина на старение высечек листьев и изолированных семядолей *Lychnis chalconica* L. под действием селективного света. Было показано, что мелатонин повышал устойчивость пигментов к фотоокислению в высечках листьев и изолированных семядолях на синем и красном свете [Бойко, Видершпан 2016; Бойко и др., 2019].



#  $p \leq 0,05$  при сравнении с 2СК

\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

^ $p \leq 0,05$  при сравнении с действием засухи

Рисунок 37 – Влияние мелатонина на содержание фотосинтетических пигментов Хл *a* (а), Хл *b* (б), Карот (в) в листьях 2 яруса растений *C. sativus* при действии сильной засухи (ПЭГ 8) на свету разного спектрального состава

Засуха, вызывающая торможение ростовых процессов листа 2 яруса (Рисунок 37 б), обуславливала увеличение содержания фотосинтетических пигментов в листьях под 2СК и С2К вариантами освещения относительно контроля. Однако внесение мелатонина

снижало уровень пигментов относительно их уровня у растений, выращенных в условиях засухи под 2СК (Рисунок 37 а, в), что тоже могло быть связано с ростовыми и биохимическими процессами.

Одновременно с изменением уровня пигментов изменялось функционирование фотосинтетического аппарата. 3-х суточное воздействие засухи снижало эффективность нефотохимического тушения флуоресценции фотосистемы II на свету с большей долей синего участка спектра (2СК). Внесение в питательную среду мелатонина на фоне засухи способствовало снятию данного эффекта относительно контроля (Рисунок 38 а, б). Известно, что одним из механизмов защиты фотосинтетического аппарата от повреждения в ответ на абиотических стресс является усиление регулируемой тепловой диссипации световой энергии (Y(NPQ)) фотосистемы II [Ruban, 2016]. При освещении 1,5(СК) нами отмечена тенденция к увеличению нефотохимического тушения и регулируемой тепловой диссипации на фоне стрессора. Тогда как на С2К мелатонин в условиях стресса достоверно снижал значение нефотохимического тушения флуоресценции фотосистемы II.

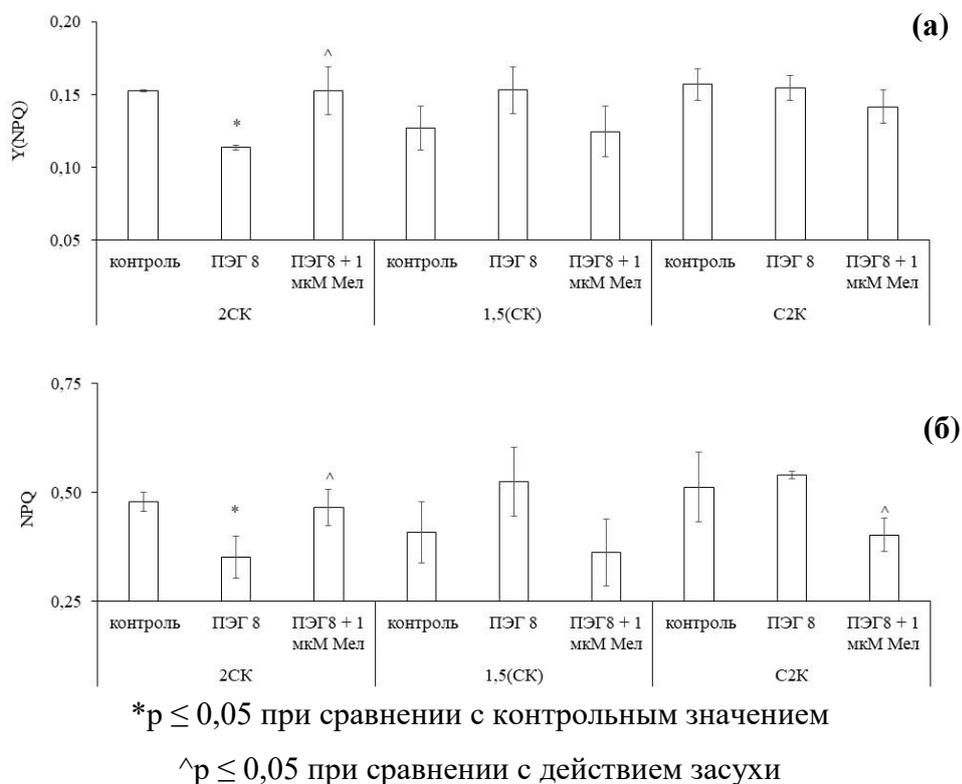


Рисунок 38 – Влияние мелатонина на фотохимическую активность фотосистемы II в листьях растений *C. sativus* при действии сильной засухи (ПЭГ 8) на свету разного спектрального состава: регулируемая тепловая диссипация световой энергии (Y(NPQ)) – (а), нефотохимическое тушение флуоресценции (NPQ) – (б)

В ответ на действие засухи происходит ограничение функционирования фотосинтетического аппарата, обусловленное закрыванием устьиц и уменьшением поступления углекислого газа, а также нарушением структуры хлоропластов и синтеза хлорофилла, разобщением транспорта электронов и фосфорилирования, что ведет к дефициту АТФ в клетке. В совокупности с ингибированием электронной цепи дыхания эти процессы способствуют торможению синтетических процессов у растения в целом [Osakabe et al., 2014]. В связи с чем нами была изучена морфология устьичного аппарата растений огурца на свету разного спектрального состава в условиях засухи. Оценку морфологии устьичного аппарата производили в утренние часы, отпечатки снимали в одно и тоже время у всех вариантов, были определены плотность устьиц в единице площади листа, площадь и линейные размеры устьиц и устьичной щели.

Изучение морфологии поверхности листа растений огурца показало, что наибольшая плотность устьиц в единице площади эпидермиса листа характерна для листьев растений, выращенных под 1,5(СК), а минимальная под С2К (Таблица 11). В тоже время для листьев, сформированных под 2СК, отмечали наибольшую площадь устьиц, тогда как под 1,5(СК) – наименьшую. Полученная закономерность согласуется с данными, полученными на растениях огурца, выращенных при красном, синем или смешанном свету [Savvides et al., 2011]. Авторами было показано, что наибольшая плотность устьиц была отмечена на смешанном свету (красный: синий свет), в то время как на красном – наименьшая, так же были показаны различия размеров устьиц в зависимости от условий освещения [Savvides et al., 2011]. Корневая обработка растений огурца мелатонином в нашем эксперименте приводила к увеличению плотности устьиц в листьях под С2К и увеличению площади устьиц. Действие мелатонина способствовало увеличению размеров устьичной щели и соответственно площади устьиц в листьях, сформированных под 1,5(СК).

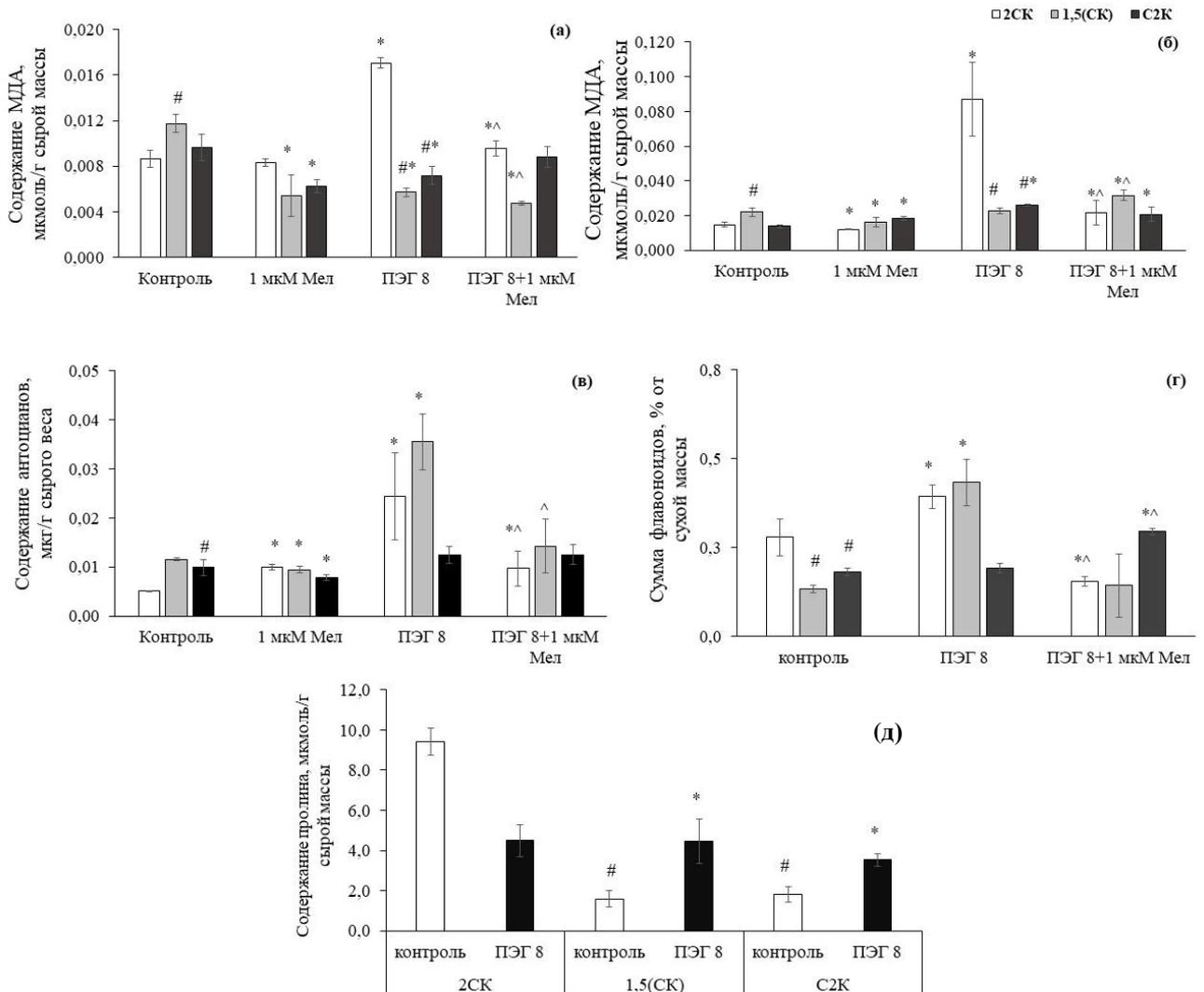
Действие сильной засухи снижало плотность устьиц на 12, 25 и 14 % соответственно на поверхности листьев, сформированных под 2СК, 1,5(СК) и С2К (Таблица 11). На обогащенном синей областью свету (2СК) в условиях засухи уменьшалась площадь устьиц, а также в 2 раза уменьшалась ширина устьичной щели. В то время как под С2К в условиях засухи увеличивалась площадь устьиц на 53 % и площадь устьичной щели на 20 %. Под 1,5(СК) наблюдали незначительное увеличение площади устьиц, при этом площадь устьичной щели не изменялась.

Таблица 11 – Влияние мелатонина на плотность устьиц (на мм<sup>2</sup>) и их морфологию в листьях 2 яруса растений *C. sativus* при действии сильной засухи (ПЭГ 8) на свету разного спектрального состава

Показатель	контроль	1 мкМ Мел	ПЭГ8	ПЭГ8+ 1 мкМ Мел
<b>2 СК (2 СС: 3ЗС: 1 КС)</b>				
Плотность устьиц (устьица·мм <sup>-2</sup> )	214,5±5,8	217,1±6,4	188,0±7,6*	166,7±5,0*^
Длина устьичной щели	23,99±0,6	22,06±1,01	21,54±0,6	24,42±0,46
Ширина устьичной щели	8,29±0,22	8,39±0,33	4,91±0,29*	10,15±0,28
Площадь устьичной щели	157,22±6,04	148,46±11,6	84,20±5,96*	195,17±6,73*^
Длина устьица (Д)	33,24±0,7	31,08±1,2	29,07±0,9	36,39±0,6
Ширина устьиц (Ш)	21,49±0,4	21,15±0,8	17,60±0,6	27,25±0,6
Д/Ш устьица	1,56±0,03	1,48±0,04	1,68±0,04	1,36±0,03
Площадь устьица, мкм <sup>2</sup>	410,1±14,3 <sup>#</sup>	378,5±29	327,56±21*	590,9±23,2*^
<b>1,5 (СК) (1,5 СС: 3ЗС: 1,5 КС)</b>				
Плотность устьиц (устьица·мм <sup>-2</sup> )	262,4±14,9 <sup>#</sup>	226,1±6,4	196,6±7,3*	199,4±9,5*
Длина устьичной щели	18,1±0,3	24,3±0,4*	19,1±0,7	23,1±0,9
Ширина устьичной щели	6,0±0,3	9,9±0,3*	5,3±0,4	8,1±0,4
Площадь устьичной щели	86,7±4,9	191,8±7,5*	80,5±7,8	148,6±12*^
Длина устьица (Д)	25,2±0,5	34,9±0,4	27,2±1,1	33,8±1,2
Ширина устьиц (Ш)	16,2±0,4	22,3±0,7	16,6±0,7	21,0±0,9
Д/Ш устьица	1,58±0,04	1,59±0,03	1,67±0,07	1,63±0,06
Площадь устьица, мкм <sup>2</sup>	237,5±8,77 <sup>#</sup>	421,8±11,6*	281,1±17,07*	417,8±30,6*^
<b>С2К (1 СС: 3ЗС: 2 КС)</b>				
Плотность устьиц (устьица·мм <sup>-2</sup> )	153,8±4,9 <sup>#</sup>	262,8±12,8*	131,1±5,1*	274,5±11,3*^
Длина устьичной щели	23,5±0,7	20,4±1,1	25,2±0,7	20,8±0,5
Ширина устьичной щели	7,8±0,3	7,6±0,4	8,5±0,4	7,2±0,3
Площадь устьичной щели	145,3±9,1	123,4±11,2	171,4±10,5*	119,1±5,5*^
Длина устьица (Д)	32,1±0,8	28,7±1,2	38,1±1,0	29,4±0,5
Ширина устьиц (Ш)	19,1±0,7	18,2±0,7	23,1±0,7	20,5±0,5
Д/Ш устьица	1,70±0,04	1,58±0,03	1,68±0,05	1,47±0,04
Площадь устьица, мкм <sup>2</sup>	344,2±21,4 <sup>#</sup>	295,6±29,6	525,1±26,3*	358,5±15,1^
Примечание: *p ≤ 0,05 при сравнении с контрольным значением ^p ≤ 0,05 при сравнении с действием засухи				

Внесение в питательную среду мелатонина на фоне засухи, способствовало уменьшению плотности устьиц в единице площади эпидермиса листа на 2СК, при этом под С2К отметили увеличение плотности устьиц, а для 1,5(СК) данный показатель остался неизменным. Мелатонин поддерживал устьица открытыми на 2СК и 1,5(СК), но несколько снижал открытость при С2К (Таблица 11).

Изменения фотосинтетических реакций проходило на фоне изменения интенсивности ПОЛ. В корнях и листьях этот процесс был выше у растений, выращенных под 1,5(СК). Внесение в питательную среду 1 мкМ мелатонина снижало интенсивность ПОЛ в корнях при 1,5(СК) и С2К и в листьях при 2СК и 1,5(СК) в растениях огурца (Рисунок 39 а, б). Воздействие засухи приводило к увеличению интенсивности ПОЛ в 2 раза в корне и в 5,8 раз в листьях под 2СК, что сопряжено со снижением фотохимической активности фотосистемы II (Рисунок 38).



#  $p \leq 0,05$  при сравнении с 2СК

\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

^ $p \leq 0,05$  при сравнении с действием засухи

Рисунок 39 – Влияние мелатонина на интенсивность перекисного окисления липидов в корне (а) и листе (б), содержание антоцианов (в), флавоноидов (г) и пролина (д) в листьях растений *C. sativus* при действии сильной засухи (ПЭГ 8) на свету разного спектрального состава

Внесение 1 мкМ мелатонина на фоне засухи снимало наблюдаемый негативный эффект. При увеличении доли красного света (1,5(СК)) в условиях засухи происходило снижение уровня МДА на 52 % в корнях по сравнению с контролем. Совместное действие 1,5(СК) и мелатонина приводило к еще большему снижению интенсивности ПОЛ в корнях, но увеличению ПОЛ на 40% в листьях по сравнению с засухой, последнее обусловлено повышением интенсивности фотосинтеза [Бойко и др., 2020]. Увеличение доли красного участка спектра ФАР (С2К) снижало интенсивность ПОЛ в корнях на 26 %, но повышало в листе на 85% по сравнению с контролем. Добавление мелатонина снижало эффект С2К, уменьшая интенсивность ПОЛ в листьях на 23 % по сравнению с засухой (Рисунок 39 а, б).

Для поддержания гомеостаза редокс-состояния растения синтезировали неферментативные антиоксиданты. Уровень антоцианов в листьях растений огурца был выше в 2 раза на свету с большей долей красного участка спектра (1,5(СК) и С2К). Действие 1 мкМ мелатонина обуславливало повышение уровня антоцианов при 2СК и снижало по мере увеличения доли красного света (1,5(СК) и С2К). Засуха многократно повышала уровень антоцианов при 2СК и 1,5(СК). Действие мелатонина в условиях засухи снижало уровень антоцианов на 58 и 61 % по сравнению с действием одной засухи (Рисунок 39 в), до уровня в контрольном варианте. Возможно, мелатонин сам выполнял роль антиоксиданта или повышал уровень других антиоксидантов (см. раздел 3.1.2).

Суммарное содержание флавоноидов в листьях растений огурца при 2СК было выше по сравнению с другими вариантами освещения. Действие засухи не однозначно повышало уровень флавоноидов на 40 % и в 3,2 раза соответственно при 2СК и 1,5(СК) относительно контроля. Мелатонин в условиях засухи снижал уровень флавоноидов на 60 % под 2СК, в то время как при С2К повышал на 54% по сравнению с действием одного стресс-фактора (Рисунок 39 г).

Более низкая интенсивность ПОЛ, отмеченная при 2СК, возможно была обусловлена высоким уровнем свободного пролина (в 4 раза) и флавоноидов, относительно растений, выращенных при 1,5(СК) и С2К (Рисунок 39 г, д). Наши данные согласуются с данными, полученными на растениях томата [Kim et al., 2013], соответственно которым под синими светодиодами повышался уровень пролина и полифенольных соединений относительно красных и зеленых светодиодов. В ходе

наших экспериментов в условиях засухи уровень свободного пролина снижался на 52 % в растениях огурца, выросших при 2СК, в то время как под 1,5(СК) и С2К вариантами освещения уровень пролина увеличивался в 2,8 и 1,9 раз соответственно по сравнению с контролем (Рисунок 39 д).

Засуха является одним из наиболее серьезных экологических факторов, которые ограничивают рост и продуктивность растений, напрямую влияя на урожайность сельскохозяйственных культур. На сегодняшний день есть работы, в которых показано влияние спектрального состава света на устойчивость растений, так синий и красный свет препятствовали образованию  $H_2O_2$  при действии NaCl в растениях пшеницы [Азизов и др., 2019]. Синий свет положительно влиял на устойчивость проростков пшеницы к избыточному содержанию ионов меди и кадмия [Якушенкова и др., 2013].

Нами установлено, что на ранних этапах онтогенеза растений (проростков и молодых растений) огурца, наименьший негативный эффект засухи на рост отмечен при культивировании в темноте. Действие засухи на растения различалось в зависимости от условий освещения (спектрального состава света). Увеличение доли синего (2СК) и красного (С2К) участков спектра ФАР стимулировало рост осевых органов при умеренной засухи и ингибировало при сильной. В условиях 1,5(СК) ингибирование роста отмечено для любого типа засухи. Отрицательное действие засухи отмечено на рост семядолей, так при 1,5(СК) наблюдали слаборазвитые семядоли, невышедшие из семенной кожуры, в то время как в темноте, а также при 2СК и С2К отмечали ингибирование роста семядольной пластинки. Возможно, наблюдаемые эффекты связаны с изменениями в направлении метаболических процессов у растений, отягощаемых дефицитом воды, поскольку для растений пшеницы, выросших на селективном свете, показано, что синий свет стимулирует синтез протеинов, тогда как красный свет стимулирует синтез углеводов [Воскресенская, 1965; Азизов и др., 2019].

Внесение мелатонина в зону корней снимает негативный эффект засухи у проростков, выращенных под 2СК и 1,5(СК), но усугубляет её действие под светом с увеличенной долей красной области спектра (С2К). Возможно, данный эффект обусловлен фитохром-индуцированным синтезом мелатонина, поскольку у мутантной линии по *PHYB* риса отмечено наименьшее количество мелатонина при обработке только красным светом [Hwang et al., 2020].

Негативный эффект кратковременной засухи (3 дня) проявлялся в снижении ростовых параметров (длины корня и стебля, площади листьев, количества ярусов), происходящих при увеличении интенсивности ПОЛ, снижении нефотохимического тушения флуоресценции фотосистемы II, уменьшении плотности и размеров устьиц, закрытии устьичной щели (исключение С2К). Повышение уровня пигментов на фоне засухи вероятнее всего было обусловлено уменьшением площади поверхности листьев, связанной с торможением клеточного растяжения и плотности клеток в листе [Карначук, Головацкая, 1998; Кудоярова и др., 2001]. Изменение спектрального состава света оказывало влияние на ответные реакции растений огурца на действие засухи через изменение метаболических процессов. Наименьший негативный эффект засухи проявлялся в растениях огурца, культивируемых при большей доле красного света (С2К), а наибольший – при увеличении доли в спектре ФАР синей области (2СК). На свету, обогащенном синей областью (2СК) уровень свободного пролина и флавоноидов был выше, а уровень антоцианов ниже, чем в вариантах с большей долей красного участка спектра (1,5(СК) и С2К), что согласуется с данными на растениях томата, согласно которым на синем свету повышалась устойчивость к серой гнили за счет увеличения уровня свободного пролина, полифенольных соединений и активности антиоксидантных ферментов [Kim et al., 2013]. У растений огурца, выращенных под С2К, отмечено снижение интенсивности ПОЛ в корнях и небольшое повышение данного показателя в листьях. Кроме того, в листьях установлено повышение уровня свободного пролина, антоцианов, активация нефотохимического тушения флуоресценции фотосистемы II. Также замечено увеличение площади устьиц и большее их открывание (увеличение размеров устьичной щели и площади устьиц).

На красном свету активируются фитохромы, которые участвуют в регуляции множества физиологических процессов, вовлекаемых в жизненный цикл растений от прорастания семени до цветения и плодоношения. Фитохромы контролируют ответные реакции растений не только на свет, но и другие абиотические факторы (температура, засоление, засуха), вызывающие стрессы. Одним из наиболее распространенных стрессов является окислительный стресс. Это связано, прежде всего, с влиянием фитохромов на биосинтез низкомолекулярных антиоксидантов и фотосинтетических пигментов, а также на уровень экспрессии некоторых генов клеточной сигнализации [Закурин и др., 2019].

Внесение в питательную среду 1 мкМ мелатонина способствовало снижению негативного действия засухи: увеличению длины корня и стебля, площади листьев, закладке новых ярусов, снижению интенсивности ПОЛ, активации нефотохимического тушения флуоресценции фотосистемы II и регулируемой тепловой диссипации световой энергии, повышению суммы флавоноидов. Большую эффективность мелатонин проявлял при культивировании растений под 1,5(СК) и С2К.

Мелатонин увеличивал количество устьиц в единице поверхности листьев растений, выросших под С2К, но уменьшал этот показатель в условиях засухи под 2СК (Таблица 11). Последний эффект, вероятно всего, обусловлен увеличением растяжения поверхности листьев 2 яруса (Рисунок 35 б). Мелатонин увеличивал площадь и линейные размеры устьиц, открывая щели в листьях, сформированных под 2СК и 1,5(СК), но снижал данные показатели под С2К. Наблюдаемые эффекты мелатонина на морфологию устьиц в условиях засухи частично согласуются с данными, полученными на растениях риса, согласно которым обработка мелатонином увеличивала плотность и линейные размеры (длина, ширина, площадь) устьиц [Ahmad et al., 2021]. Защитное действие мелатонина в условиях засухи, вероятно, связано с поддержанием водного обмена в растении, поскольку установлено, что в проростках кукурузы мелатонин способствует поддержанию высокого тургорного потенциала и относительного содержания воды в клетках [Ye et al., 2016], тем самым оставляя устьица открытыми как в оптимальных условиях, так и в условиях засухи.

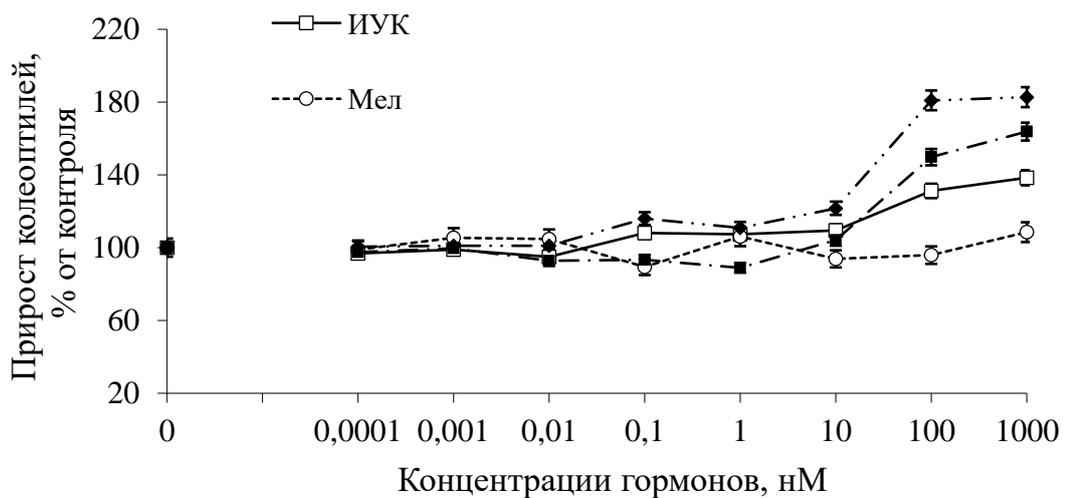
### **3.3 Участие мелатонина в регуляции гормоно- и светозависимых морфофизиологических реакций у растений**

Отмеченные нами эффекты, оказываемые мелатонином на морфогенез растений огурца, могут быть обусловлены или действием его в качестве гормона или взаимодействием с другими гормонами. Известные факты о существовании общих звеньев в пути биосинтеза мелатонина и ауксина и присутствие общего предшественника позволяют предполагать функциональную взаимосвязь между веществами. Эта взаимосвязь может проявляться как на уровне их биосинтеза, так и на уровне регуляции физиологических процессов в растениях. В соответствии с этим была поставлена задача оценить роль мелатонина в ауксин-зависимых ростовых реакциях

*Triticum aestivum* и *Arabidopsis thaliana* и выяснить характер взаимодействия мелатонина и ИУК в регуляции роста клеток и проростков. Результаты исследований поставленной задачи опубликованы в собственных статьях в соавторстве [Бойко, Головацкая 2015; Головацкая и др., 2017; Бойко и др., 2020;].

### 3.3.1 Участие ИУК и мелатонина в регуляции растяжения клеток в темноте

Удобной моделью для изучения клеточного растяжения служат coleoptили злаков (coleoptильный биотест). Тест интересен тем, что в coleoptиле можно выделить отдельную зону (центральную), в которой клетки увеличивают свои размеры растяжением. Воздействием различными гормонами на эти сегменты можно выяснить участвуют ли вещества в растяжении с помощью  $H^+$ -АТФазы. С помощью этого теста изучали роль мелатонина и ауксина и их совместного действия на ростовые процессы. Анализ прироста центральных сегментов coleoptилей пшеницы сорта Иргина при культивировании с сахарозой в темноте показал, что экзогенная ИУК увеличивала растяжение на 30–40% в диапазоне концентраций (0,1–1000 нМ), в то время как, более низкие концентрации (0,0001–0,01 нМ) не изменяли темпы роста (Рисунок 40). Действие мелатонина в диапазоне исследуемых концентраций (0,0001–1000 нМ) достоверно не изменяло растяжения coleoptилей в темноте по сравнению с контролем (Рисунок 40).



\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

Рисунок 40 – Влияние различных концентраций мелатонина и ауксина, и их совместное действие на растяжение coleoptилей пшеницы

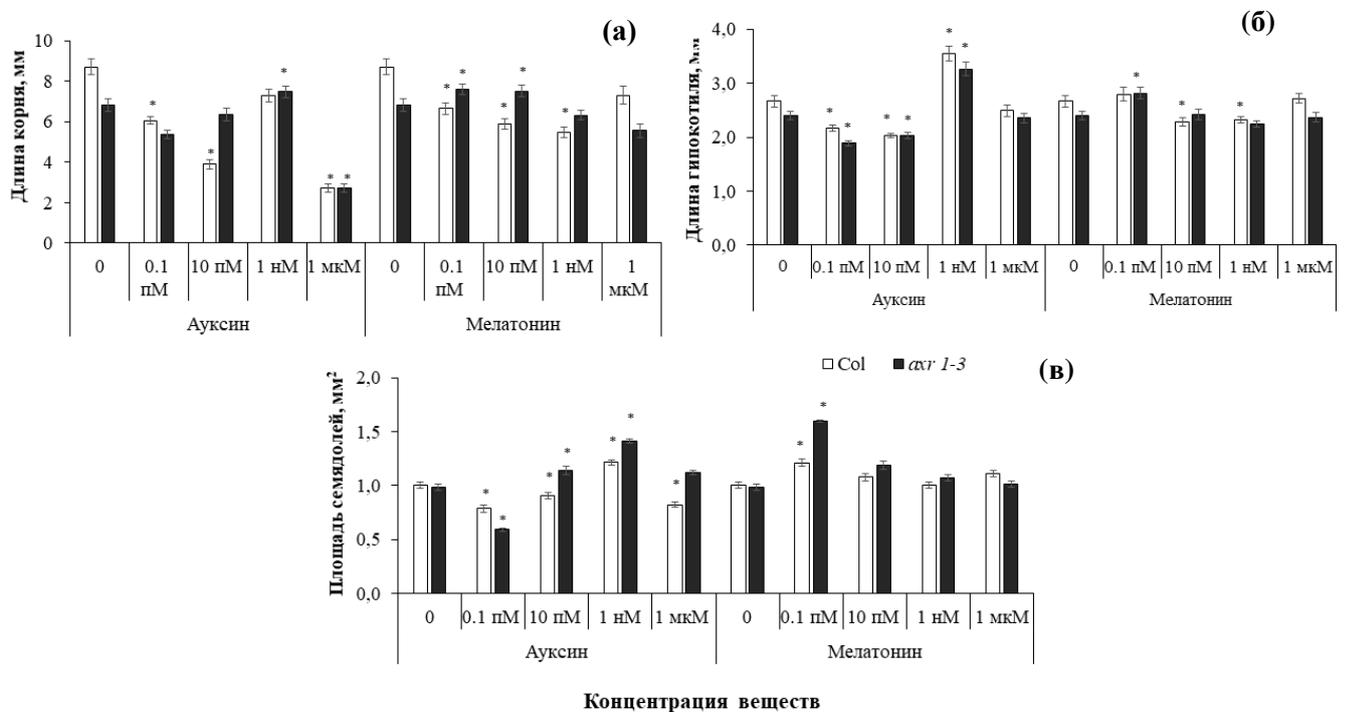
При изучении совместного действия ИУК + Мел, установили дозовую зависимость активности веществ в регуляции роста. Мелатонин в концентрации (0,1 пМ), внесенный в раствор совместно с ИУК изменял эффективность ауксина в диапазоне концентраций от 10 до 1000 нМ. Наибольшее стимулирующее действие мелатонина (0,1 пМ) отмечено при концентрациях ауксина 100 и 1000 нМ. Элонгация сегментов колеоптилей увеличивалась на 80% по отношению к контролю без гормонов или на 40% по отношению к приросту, вызванному действием одной ИУК. В свою очередь, увеличение концентрации мелатонина в смеси с ИУК (ИУК + 1 мкМ Мел) снижало их совместный эффект на 20–40% по сравнению с (ИУК + 0,1 пМ Мел) в диапазоне концентраций ИУК от 0,1 до 1000 нМ.

Анализ проведенных исследований позволяет сделать вывод об участии мелатонина в ауксин-зависимых реакциях. Результаты колеоптильного биотеста могут свидетельствовать об инертности самого мелатонина по отношению к росту клеток растяжением за счет механизма закисления клеточных стенок, контролируемого ауксином. В свою очередь совместное внесение ауксина и мелатонина изменяло действие ИУК, что может говорить об изменении чувствительности колеоптилей к ИУК или изменении трансдукции сигнала гормона под влиянием мелатонина. Так же отмеченные эффекты высоких концентраций мелатонина могли быть обусловлены действием индола на окислительно-восстановительный потенциал клеток. Концентрационная зависимость ростовых процессов у проростков и растений огурца от мелатонина могла быть связана с взаимодействием экзогенного мелатонина с эндогенным уровнем ИУК и других ауксинов [Khan et al., 2022; Weeda et al., 2014].

### **3.3.2 Рострегулирующая роль мелатонина в растениях с нарушенной трансдукцией сигнала ИУК на белом свете**

Исследования по выяснению роли мелатонина в ауксин-зависимом морфогенезе растений были проведены на проростках *Arabidopsis thaliana* двух линий Col и *axr1-3* экотипа Columbia на белом свете, а данные были опубликованы в статье Головацкая с соавторами [Головацкая и др., 2017]. Нами было установлено, что действие ИУК в малых концентрациях (0,1 и 10 пМ) тормозило растяжение корня у проростков дикого типа, в то время как меньшая эффективность 0,1 пМ ИУК подмечена для мутантной

линии (Рисунок 41 а). У гипокотилия наблюдали небольшое ингибирование роста при низкой концентрации ауксина как для дикого типа, так и для мутанта с нарушенной трансдукцией сигнала ИУК (Рисунок 41 б). С увеличением концентрации экзогенная ИУК (1 нМ) способствовала большему растяжению корня у мутанта и гипокотилия у обеих линий. Высокая концентрация ИУК (1 мкМ) приводила к торможению растяжения корня и гипокотилия, наибольший отрицательный эффект отмечен для корня (Рисунок 41). У мутанта диапазон концентраций ауксина, приводящий к увеличению площади поверхности семядолей, был шире (10 пМ – 1 мкМ), чем у дикого типа 1 (нМ). Низкая концентрация ауксина (0,1 пМ) ингибировала растяжение площади поверхности семядолей у обеих линий (Рисунок 41 в).



\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

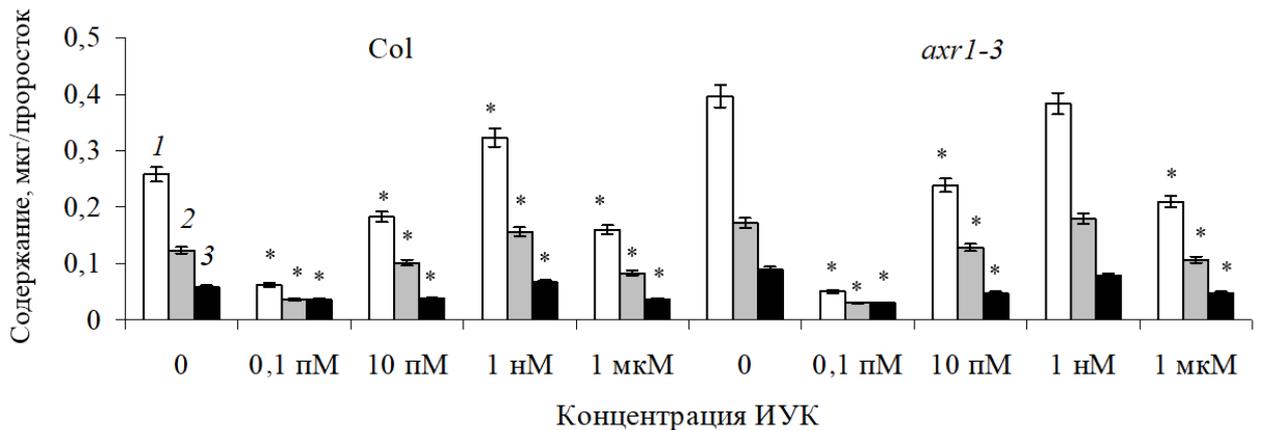
Рисунок 41 – Влияние разных концентраций мелатонина и ауксина на ростовые показатели проростков *Arabidopsis thaliana* двух линий Col и *axr1-3* на белом свете

В отличие от действия ИУК экзогенный мелатонин в малых концентрациях стимулировал растяжение корня (0,1–10 пМ), гипокотилия и семядоли (0,1 пМ) у проростков *axr1-3* (Рисунок 42). Рост осевых органов у Col тормозился при диапазоне концентраций 0,1 пМ – 1 нМ для корня и 10 пМ – 1 нМ для гипокотилия. Увеличение

площади поверхности семядолей у проростков дикого типа отмечено при низкой концентрации мелатонина (0,1 пМ) (Рисунок 41 в).

В растительном организме любые ростовые реакции обусловлены доступностью метаболитов. Одним из основных процессов, который осуществляет накопление энергии и синтез субстратов для синтетических процессов на свету, является фотосинтез. Стабильность протекания процесса фотосинтеза, его интенсивность зависят от множества факторов, в том числе и от сформированности фотосинтетического аппарата. У проростков первыми фотосинтезирующими органами являются семядоли. Содержание в них фотосинтетических пигментов свидетельствует об их потенциальной функциональной активности.

Анализ содержания пигментов фотосинтеза в семядолях проростков *A. thaliana* показал, что у проростков мутантной линии *axr1-3* содержание пигментов выше, чем у дикого типа. Введение в питательную среду экзогенных веществ приводило к изменениям уровня пигментов. Экзогенная 1 нМ ИУК повышала содержание всех трех групп пигментов у Col, тогда как у *axr1-3* данного эффекта не наблюдалось. Однако абсолютный уровень пигментов у *axr1-3* был выше, чем у Col (10 пМ-1 мкМ) (Рисунок 42).



\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

Рисунок 42 – Содержание фотосинтетических пигментов у 7-дневных проростков *A. thaliana* в зависимости от концентрации ИУК в питательной среде на белом свете: 1 – хлорофилл *a*, 2 – хлорофилл *b*, 3 – каротиноиды

Экзогенный мелатонин оказывал стимулирующее действие на уровень фотосинтетических пигментов в семядолях у Col при большей концентрации (1 мкМ)

(Рисунок 43), чем ИУК (1 нМ) (Рисунок 42). Действие других концентраций мелатонина снижало содержание хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов в семядолях проростков обеих линий (Рисунок 43). Интересно то, что действие высокой концентрации мелатонина (1 мкМ) увеличивало содержание всех пигментов в семядоле проростков Col до уровня пигментов у мутанта. С другой стороны, обработка мелатонином (10 пМ, 1 нМ) восстанавливала у мутанта *axr1-3* содержание пигментов до уровня дикого типа, как и размеров гипокотыля (0,1 пМ) и корня (0,1 и 10 пМ). Нами установлено, что мелатонин и ИУК в низких концентрациях (0,1 и 10 пМ) одинаково тормозили накопление пигментов фотосинтеза в семядолях дикого типа, тогда как у мутанта с нарушением трансдукции сигнала ИУК эффективность мелатонина снижалась по сравнению с таковой ИУК, что свидетельствовало о возможном участии мелатонина в регуляции сигналинга ИУК.

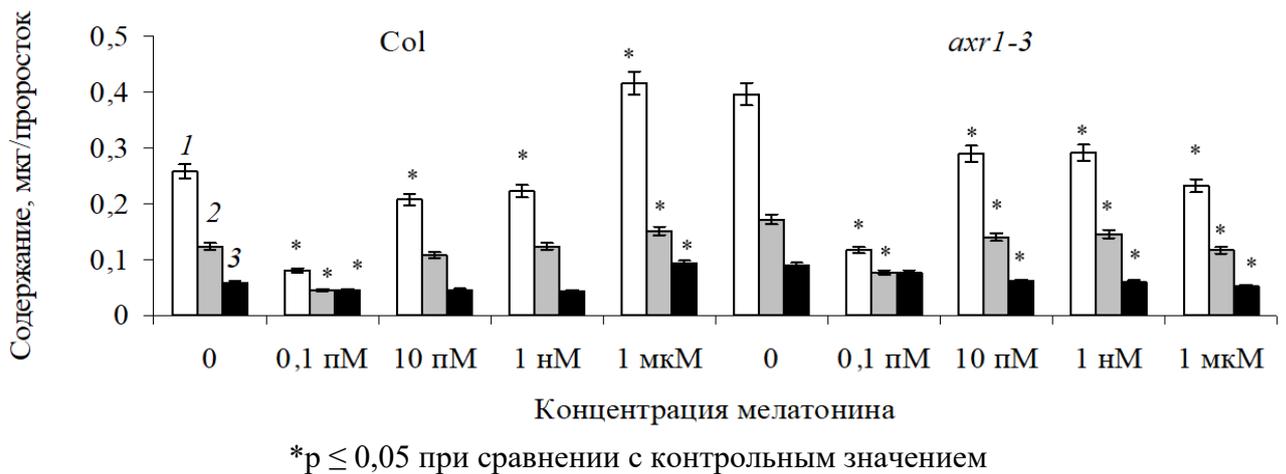


Рисунок 43 – Содержание фотосинтетических пигментов у 7-дневных проростков *A. thaliana* в зависимости от концентрации мелатонина в питательной среде на белом свету: 1 – хлорофилл *a*, 2 – хлорофилл *b*, 3 – каротиноиды

Тормозящее действие низкой концентрации ИУК (0,1 пМ) на рост корня мутантной линии проростков *A. thaliana* могло быть обусловлено нарушением пути передачи сигнала ауксина у мутанта *axr1-3*, которое определяет его устойчивость к ауксину, при одинаковом количестве гормона с диким типом [Estelle, 1987]. Установленный ингибирующий эффект ИУК высокой концентрации (1 мкМ) на рост корня проростков мог быть связан с увеличением эндогенного содержания этилена, опосредованного ауксином [Song et al., 2007], которое могло влиять на экспрессию ряда

генов  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц антранилат-синтазы (*ASA1*), *TAA1* (*TRYPTOPHAN AMINO - TRANSFERASE OF ARABIDOPSIS 1*) и *TAR* (*TAA-Related*) и транспортеров гормона. Продукты экспрессированных генов могут влиять на биосинтез ауксина (или мелатонина) или его транспорт. Изменение транспорта ауксина в зону растяжения с использованием транспортера ауксина *AUX1* и переносчиков ауксина *PIN2/EIR1* или эффективности действия ауксина на деление клеток изменяет состояние покоящего центра меристемы [Новикова и др., 2013]. Поскольку у мутантной линии была нарушена трансдукция сигнала ИУК, то следовало ожидать, что для проявления ростовых реакций семядоли требовалась большая концентрация этого гормона, которая поступала из корней.

Отмеченное рост-регулирующее действие мелатонина отличалось от такового у ауксина. Показана большая эффективность действия низких концентраций мелатонина в регуляции роста, как и в случае с клетками coleoptily пшеницы, которые могли усиливать активность эндогенного ИУК. Так, мелатонин в малых концентрациях стимулировал растяжение гипокотыля, корня и семядолей у проростков *axr1-3*, а рост осевых органов у *Col* не изменялся или тормозился. Поддержание высокого уровня пигментов могло обеспечить достаточную интенсивность фотосинтеза, поставляющего метаболиты для активации роста гипокотылей и семядолей. Кроме того, обработка мелатонином (10 пМ, 1 нМ) восстанавливала у мутанта *axr1-3* не только содержание пигментов до уровня дикого типа, но и размеры гипокотыля (0,1 пМ) и корня (0,1 и 10 пМ), возможно, это было связано с компенсацией нарушения трансдукции сигнала ИУК в проростках.

Кроме того, отмечено сходное действие экзогенных мелатонина низкой концентрации (0,1 пМ) и более высокой концентрации ИУК (1 нМ) на ростовые параметры мутанта *axr1-3* (удлинение корня и гипокотыля), возможно это обусловлено взаимодействием между этими двумя гормонами за счет изменения биосинтеза, эндогенной ИУК или трансдукции ее сигнала. Так, на проростках *Brassica juncea* установлено, что наибольший положительный эффект мелатонина на удлинение корня сопровождался увеличением эндогенного уровня ауксина [Chen et al., 2003]. Однако действие высоких концентраций мелатонина незначительно увеличивало уровень эндогенного ауксина, опосредуя ингибирование корня, возможно это связано с повышением уровня не только ауксина, но и мелатонина, поступившего в клетку.

Обнаруженная зависимость интенсивности процессов в растении от концентрации мелатонина, также вероятно, опосредована зависимым от концентрации индола уровнем и направлением экспрессии разного числа генов в геноме. Так Weeda с соавторами [2014] при анализе профилей экспрессии генов *Arabidopsis* показали, что обработка 100 пМ мелатонином вызывала экспрессию только 81 гена, тогда как обработка 1 мМ мелатонином – 1 308 генов.

Таким образом, установили участие мелатонина в ИУК-зависимых реакциях морфогенеза проростков арабидопсиса, а также растяжения клеток колеоптилей пшеницы. Отмечен стимулирующий эффект мелатонина на рост корня и гипокотилиа *axr1-3* и семядолей Col проростков *A. thaliana* в более низких концентрациях, чем ИУК. Мелатонин был менее эффективен при нарушении трансдукции сигнала ИУК (*axr1-3*) и неэффективен в отсутствие ИУК. Мелатонин частично снимал нарушения морфогенеза и синтеза фотосинтетических пигментов у мутанта *axr1-3*. Сопоставляя полученные нами данные по росту сегментов колеоптилей *T. aestivum* с данными по росту проростков *A. thaliana*, установили общую закономерность: мелатонин в низких концентрациях в присутствии ИУК увеличивал растяжение клеток. Вероятнее всего действие мелатонина не связано с активацией им  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы, но обуславливает изменение эффективности действия ИУК.

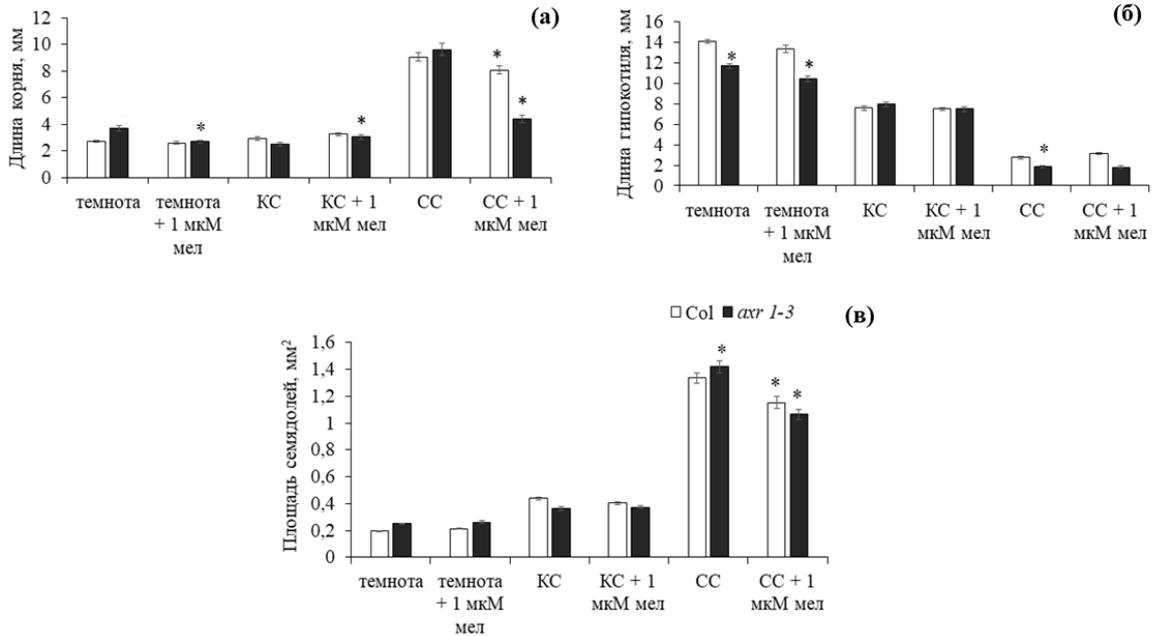
### **3.3.3 Роль мелатонина в регуляции ауксин-зависимых морфофизиологических реакций *A. thaliana* на красном и синем свете**

Для изучения роли мелатонина в регуляции ауксин-зависимых морфофизиологических реакций была проведена серия экспериментов с использованием гормонального мутанта арабидопсиса по ауксиновому сигналингу *axr1-3* и его дикого типа Col на красном (КС) и синем (СС) свете. В качестве контроля взяты этиолированные проростки. Рост проростков дикого типа в темноте сопровождался удлинением гипокотилиа, формированием петельки в районе сложенных семядолей, что свидетельствовало о проявлении типичного темнового фенотипа проростков в процессе скотоморфогенеза. Фенотип у этиолированных проростков мутанта *axr1-3* отличался от дикого типа: происходило укорочение на 17% и утолщение гипокотилей по сравнению с Col. Фенотипические отличия у мутантной линии в темноте связаны с нарушением

функционирования гена *AXR1*, который у родительской линии Col участвует в подавлении реакций фотоморфогенеза в темноте [Schwechheimer et al., 2002]. Кроме того, было установлено увеличение длины корня у мутанта *axr1-3*, которое вероятнее всего было связано с наличием донорно-акцепторных связей между органами, при ингибировании гипокотилия рост корня стимулировался. Реакция семядолей *axr1-3* на темноту кардинально отличалась от реакции родительской линии. Несмотря на отсутствие света, происходило увеличение площади их поверхности за счет поперечного роста черешков и пластинки, тогда как у дикого типа меньшие по размерам семядоли имели узкие пластинки [Головацкая и др., 2017].

При длительном культивировании *A. thaliana* на СС у проростков линии Col тормозилось растяжение гипокотилия и стимулировался рост корня и площади поверхности семядолей. Действие СС на проростки мутантной линии *axr1-3* было выражено сильнее, что проявилось в увеличении ингибирования растяжения гипокотилия на 33% и стимуляции роста семядоли на 15% по сравнению с диким типом. Аналогичные закономерности были установлены Р.А. Карначук с соавторами [2008], при культивировании проростков арабидопсиса в условиях кратковременной деэтиоляции на СС (439 нм). СС проявлял большее морфогенное действие на проростки, чем КС. У проростков обеих линий формировались более короткий корень и меньшая пластинка семядолей, а также более длинный гипокотиль по сравнению с другим участком спектра.

При анализе данных по выяснению роли мелатонина в регулировании ростовых и биохимических процессов растений установили, что направление и величина действия 1 мкМ мелатонина зависели от условий освещения и уровня сигналинга ИУК. Обработка мелатонином ингибировала растяжение в длину корня и гипокотилия у проростков мутантной линии в темноте относительно контроля без гормона (Рисунок 44).



\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

Рисунок 44 – Влияние мелатонина на длину корня (а) и гипокотыля (б), площадь поверхности семядолей (в) 7-дневных проростков *A. thaliana* линий Col и *axr 1-3* в темноте и на селективном свете (КС – красный свет, СС – синий свет)

На СС мелатонин ингибировал растяжение корня и уменьшал площадь поверхности семядолей у обеих линий. В то же время на КС мелатонин увеличивал длину корня у мутантной линии. При этом эффективность мелатонина в регулировании роста *axr1-3* была более выражена на СС по сравнению с таковой на КС (Рисунок 44).

Ростовые процессы во многом были обусловлены интенсивностью метаболических процессов проростков, прежде всего фотосинтетических. В качестве одного из критериев сформированности фотосинтетического аппарата служило содержание пигментов фотосинтеза.

Анализ уровня содержания фотосинтетических пигментов в семядолях проростков арабидопсиса на КС показал его превышение у мутантной линии *axr 1-3* на 14, 29 и 60% соответственно хлорофилла *a*, хлорофилла *b*, каротиноидов по сравнению с диким типом Col (Таблица 12). Обработка мелатонином малой концентрации 0,1 пМ приводила к снижению уровня хлорофилла *a* и *b* у обеих линий. Внесение в питательную среду мелатонина высокой концентрации изменяло уровень пигментов. Так, у дикого типа уровень хлорофилла *a* и *b* возрастал на 38 и 82% соответственно.

Реакция проростков *axr 1-3* отличалась от дикого типа тем, что уровень всех групп пигментов фотосинтеза у них снижался на 38, 24 и 60 % соответственно для хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов (Таблица 12).

Таблица 12 – Влияние мелатонина на содержание фотосинтетических пигментов в семядолях 7-дневных проростков *A. thaliana* линий Col и *axr 1-3* на красном свете

Концентрация мелатонина	Линия	Содержание пигментов, мг/г сырой массы		
		Группа пигментов		
		Хл <i>a</i>	Хл <i>b</i>	Карот
<b>0 пМ (контроль)</b>	<b>Col</b>	0,084±0,007	0,034±0,003	0,005±0,001
	<b><i>axr 1-3</i></b>	0,096±0,013	0,044±0,007	0,008±0,000
<b>0,1 пМ</b>	<b>Col</b>	0,036±0,002*	0,022±0,004*	0,005±0,000
	<b><i>axr 1-3</i></b>	0,047±0,005*	0,026±0,000*	0,009±0,001
<b>1 мкМ</b>	<b>Col</b>	0,116±0,012*	0,062±0,003*	0,006±0,000
	<b><i>axr 1-3</i></b>	0,059±0,006*	0,033±0,006*	0,003±0,001*

Примечание – \* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

Жизнеспособность растительного организма обусловлена поддержанием постоянства внутренних параметров [Мартинович, Черенкевич, 2008], важным составляющим клеточного гомеостаза является редокс-гомеостаз, характеризующий определенный баланс между процессами окисления и восстановления [Scheibe et al., 2005]. Известно, что в нормальных условиях жизнедеятельности растения постоянно присутствует определенный уровень продуктов ПОЛ, регулируемый за счет функционирования антиоксидантной системы защиты [Frankel, 2005].

Нами было показано, что интенсивность перекисного окисления липидов в проростках арабидопсиса линии Col, выращенных в темноте, была выше на 25%, чем таковая у мутантной линии. Внесение в питательную среду мелатонина низкой концентрации (0,1 пМ) способствовало увеличению интенсивности ПОЛ на 33% у дикого типа и в 4 раза у мутантной линии в темноте. Повышение концентрации мелатонина до 1 мкМ, аналогично низкой концентрации повышало интенсивность ПОЛ на 42% для Col и в 4 раза для *axr 1-3*.

При выращивании проростков обеих линий на КС не отметили различий по интенсивности перекисного окисления, однако, введение в среду мелатонина (0,1 пМ) снижало интенсивность ПОЛ у *axr 1-3* на 30%. Высокая концентрация мелатонина

снижала интенсивность ПОЛ больше у мутанта *axr 1-3* (на 44%) по сравнению с диким типом Col (на 17%) (Таблица 13).

Таблица 13 – Влияние мелатонина на интенсивность ПОЛ в 7-суточных проростках *A. thaliana* линий Col и *axr 1-3* в темноте и на красном свете

Линия	Содержание МДА, мкМ/г сырого веса		
	контроль	0,1 пМ Мел	1 мкМ Мел
Темнота			
Col	0,012±0,0015	0,016±0,0024*	0,017±0,0034*
<i>axr 1-3</i>	0,009±0,0016*	0,034±0,0124*	0,039±0,0068*
Красный свет			
Col	0,024±0,002	0,026±0,002	0,020±0,0003*
<i>axr 1-3</i>	0,027±0,002	0,019±0,002*	0,015±0,002*
Примечание – * $p \leq 0,05$ при сравнении с контрольным значением			

Ранее нами была отмечена аналогичная закономерность изменения интенсивности ПОЛ в зависимости от действия красного света у проростков *Lychnis chalconica*. Данный показатель на КС был выше в семядолях и гипокотелях, чем у контрольных растений в темноте. Внесение экзогенного мелатонина изменяло направленность окислительных процессов в зависимости от условий освещения. В темноте интенсивность ПОЛ возрастала в семядолях с повышением концентрации гормона, тогда как в гипокотиле отмечена противоположная реакция, данный показатель снижался. Выращивание растений на красном свете и экзогенная обработка мелатонином приводила к падению интенсивности ПОЛ как в семядолях, так и в гипокотелях с увеличением концентрации мелатонина [Бойко и др., 2017].

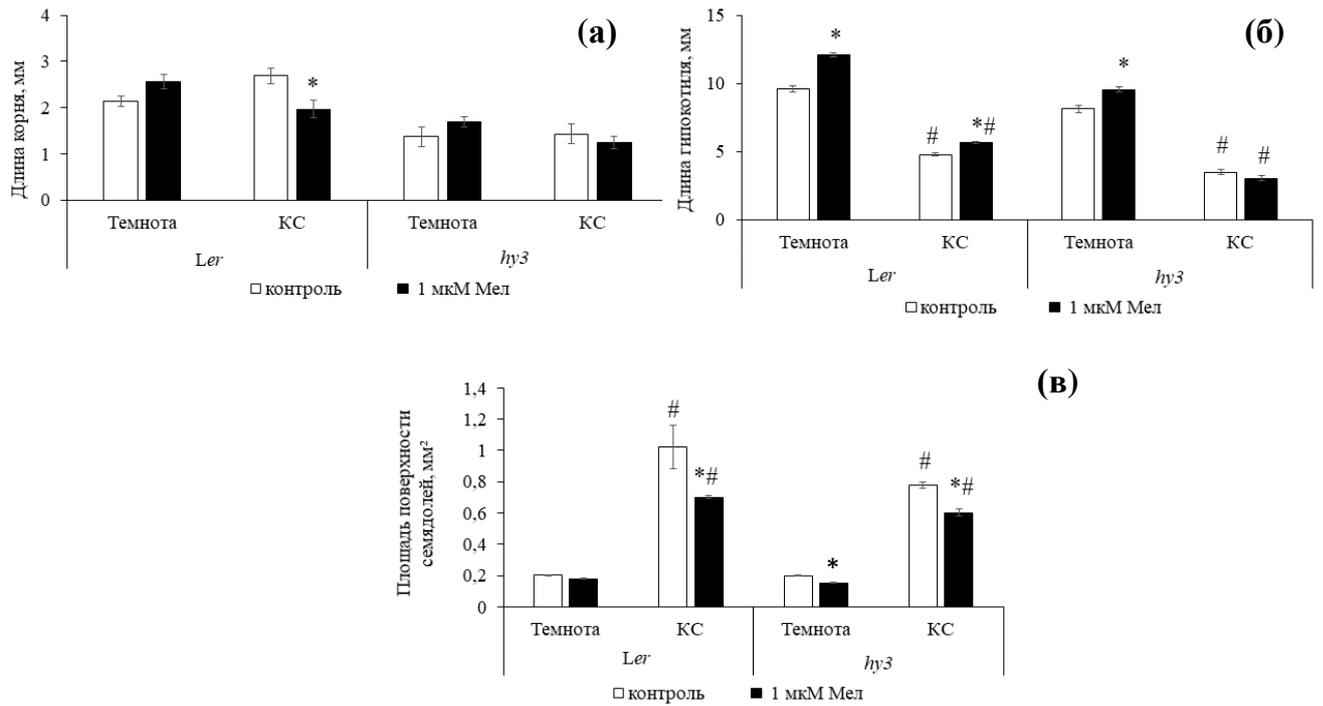
Возможно, это связано с тем, что у растений, выросших в темноте, образование АФК в этиопластах невелико. Наиболее вероятными производителями АФК являются митохондрии. В то же время имеются данные о фитохром-зависимой регуляции активности некоторых дыхательных ферментов на уровне экспрессии их генов [Rasmusson, Escobar, 2007]. Увеличение интенсивности ПОЛ у вариантов, обработанных мелатонином, возможно, связано со способностью мелатонина изменять интенсивность метаболических процессов дыхания, поскольку установлены изменения в профилях экспрессии генов, связанных с гликолизом, циклом трикарбоновых кислот, циклом глиоксильной кислоты, метаболизмом первичного азота и катаболизмом нескольких ключевых аминокислот [Wan et al., 2018]. С дифференцированным изменением

дыхания, как источника АФК, мы связали изменение ПОЛ у клеточной культуры *Saussurea orgaadayi* под действием мелатонина и селенита натрия в темноте [Головацкая и др., 2020].

### **3.3.4 Роль мелатонина в регуляции CRY1- и RHYB-зависимых морфофизиологических реакций *A. thaliana* на красном и синем свету**

При изучении совместного действия мелатонина и света разного спектрального состава на физиологические процессы у растений огурца показана специфика ответных реакций. Поскольку регуляторная роль света, в большей степени, определяется его спектральным составом и реализуется через многочисленные фоторецепторы, в следствие этого нами была проведена серия экспериментов с привлечением более чувствительной модели, а именно проростков растений *A. thaliana* экотипа *Landsberg erecta* (*Ler*) и его мутантных линий *hy4* и *hy3*, дефектных соответственно по фоторецептору СС/УФ-А CRY1 и КС/дальнего красного света RHYB [Ahmad, Cashmore, 1993]. Проростки выращивали на соответствующем индуктивном свету КС (*hy3*) или СС (*hy4*), контролем служили растения, выращенные в темноте.

В ходе эксперимента отмечено, что размеры проростков арабидопсиса зависели от генотипа и качества света. Действие КС уменьшало длину гипокотилия у обеих линий (*Ler* и *hy3*) и увеличивало площадь семядолей (Рисунок 45). Действие КС на размеры семядолей у дикого типа было выражено сильнее, чем у *hy3*, что свидетельствовало о меньшей чувствительности мутанта к этой области спектра в следствии отсутствия одного из фитохромов – фоторецептора RHYB (Рисунок 45 в). Кроме того, отмечено, что проростки мутантной линии отличались меньшими размерами длины корня и гипокотилия по сравнению с диким типом как в темноте, так и на КС. Внесение в среду мелатонина в концентрации 1 мкМ изменяло ростовые параметры проростков. У проростков дикого типа уменьшалась длина корня на КС (Рисунок 45 а).



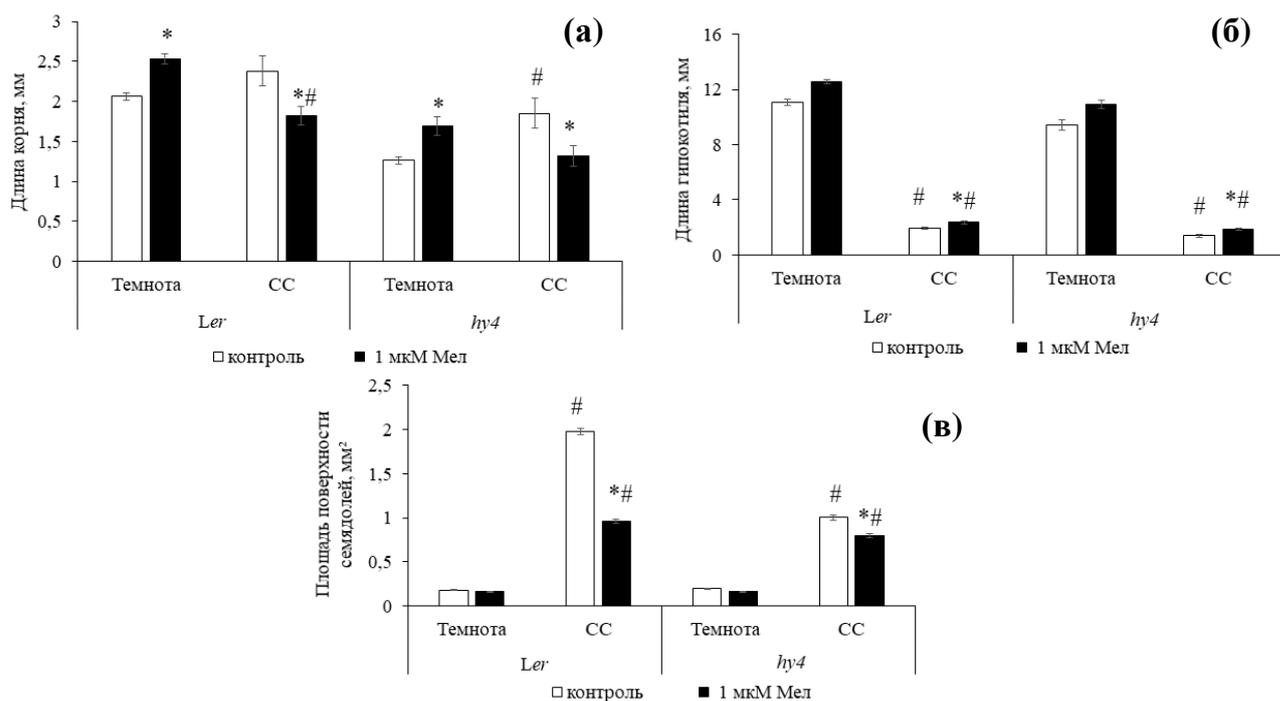
#  $p \leq 0,05$  при сравнении с темновым вариантом

\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

Рисунок 45 – Влияние мелатонина на длину корня (а) и гипокотыля (б), площадь поверхности семядолей (в) 7-дневных проростков *Arabidopsis thaliana* линий *Ler* и *hy3* в темноте и на красном свете

Мелатонин увеличивал длину гипокотыля у дикого типа как в темноте, так и на красном свете на 26 и 18% соответственно. Для мутантной линии *hy3* показана аналогичная закономерность в изменении размеров гипокотыля, но только в темноте. Обработка мелатонином приводила к уменьшению площади поверхности семядолей на КС у мутантной линии и дикого типа (Рисунок 45 б).

Совместное действие мелатонина и синего света на ростовые процессы изучали на примере проростков *A. thaliana* дикого типа *Ler* и его мутантной линии *hy4*. В результате отметили эффекты действия СС: укорочение гипокотыля, и увеличение площади семядолей как у дикого типа, так и у мутантной линии, дефектной по фоторецептору криптохрому 1 (Рисунок 46 б, в).



#  $p \leq 0,05$  при сравнении с темновым вариантом

\* $p \leq 0,05$  при сравнении с контрольным значением

Рисунок 46 – Влияние мелатонина на длину корня (а) и гипокотыля (б), площадь поверхности семядолей (в) 7-дневных проростков *Arabidopsis thaliana* линий *Ler* и *hy4* в темноте и на синем свете

При этом проростки мутантной линии отличались меньшими размерами (длина корня и гипокотыля, площадь поверхности семядолей) по сравнению с диким типом как в темноте, так и на СС. Полученные эффекты согласуются с данными по ростовым реакциям этиолированных проростков дикого типа и дефектного по криптохрому 1 мутанта [Карначук и др., 2001]. Эксперимент с увеличением времени действия СС, проведенный другими исследователями, показал насыщение криптохрома 2 и подключение других фоторецепторов в передаче светового сигнала [Карначук и др., 2001].

Экзогенный мелатонин в концентрации 1 мкМ увеличивал длину гипокотыля на СС, наибольший прирост был показан для мутантной линии *hy4* (Рисунок 46 б). Для корня отмечена разная реакция в ответ на обработку мелатонином в зависимости от условий освещения, так, в темноте длина корня увеличивалась, а на синем свете уменьшалась у обеих линий. Обработка мелатонином на СС способствовала

уменьшению растяжения поверхности семядолей на 51 % у дикого типа и на 21 % у линии *hy4* (Рисунок 46 в).

Установлено, что мелатонин изменяет морфогенез проростков *A. thaliana* на селективном свете. Он снимает ингибирующее действие СС на удлинение гипокотыля у обеих линий. В то же время снимает стимулирующее действие СС у *hy 4* и *Ler* на рост семядолей, при этом большее тормозящее действие мелатонина отмечено для дикого типа. Аналогичная закономерность на рост поверхности семядолей отмечена и при действии мелатонина на КС, но эффект, оказываемый мелатонином, был ниже. Эти реакции свидетельствуют об его участии в этиоляции растений, поскольку он удлиняет гипокотыли и уменьшает поверхность семядолей. Отсутствие отдельных фоторецепторов изменяет чувствительность проростков к мелатонину. Неактивированный CRY1 у *hy 4* снижает чувствительность гипокотыля к мелатонину, но увеличивает на СС. РНУВ меняет чувствительность к мелатонину гипокотыля на противоположную. Эти факты свидетельствуют о действии мелатонина на CRY1- и РНУВ-зависимые реакции.

Совместное действие света и мелатонина может быть связано с влиянием на гормональный баланс или экспрессию генома. Другими авторами показано регуляторное действие красного люминесцентного излучения низкой интенсивности на состояние гормонального баланса растений арабидопсиса [Минич и др., 2006]. Так у растений арабидопсиса дикого типа *Ler*, выращенных под светом низкой интенсивности с максимумом 617 нм, происходило накопление ИУК и зеатина, и уменьшение содержания АБК и рибозида зеатина; тогда как у мутантной линии *hy4* – накопление зеатина и уменьшение уровня ИУК, АБК и рибозида зеатина; а у *hy3* – уменьшение содержания ИУК, АБК и зеатина, но увеличение уровня рибозида зеатина [Минич и др., 2006].

Известно, что обработка растений арабидопсиса мелатонином, приводила к изменению в уровне экспрессии генов, участвующих в различных сигнальных путях гормонов ауксина, АБК, салициловой кислоты, этилена и жасминовой кислоты. Кроме того, установлено, что большинство идентифицированных генов в сигнальных путях абсцизовой, салициловой и жасминовой кислот, а также этилена были активированы, в то время как гены, относящиеся к ответам на ауксин и отвечающие за передачу сигналов

пероксидазам, а также гены, связанные с синтезом и модификациями клеточной стенки, преимущественно были подавлены [Weeda et al., 2014; Khan et al., 2022].

Исследование действия селективного света на морфогенез растений арабидопсиса (линий Col и *axr 1-3*) согласуется с данными, полученными на световых мутантах, лишенных функциональных рецепторов СС и КС. При анализе изменений ростовых параметров структурных элементов проростка в зависимости от условий освещения, нами показана положительная корреляция между длиной корня и площадью поверхности семядолей. Так, было установлено, что мутанты *hy3* и *hy4* характеризовались меньшими размерами как в темноте, так и на свету по сравнению с диким типом. В свою очередь проростки *axr 1-3* с мутацией по гену *AXR1-3* уменьшали длину гипокотыля, но увеличивали длину корня и площадь поверхности семядолей проростков *A. thaliana* в темноте, на СС и БС. Отмечено, что на СС происходили более сильные фотоморфогенетические реакции в проростке мутанта по гену *AXR1-3*, чем на смешанном БС. Установленные различия, вероятно обусловлены тем, что на БС [Головацкая и др., 2013] задействовано большее число регуляторных фоторецепторов, но в силу перекрестного взаимодействия путей сигналинга света разного спектрального состава их действия частично ослаблялись. В частности, показано зависимое от света взаимодействие фоторецепторов CRY1 и PHYB [Hughes et al., 2012], участвующих в подстройке реакций на действие света различного спектрального состава по СС/УФ-А и КС/ДКС. Другим объяснением могут служить известные принципы фоторегуляции активности криптохромов. СС активирует криптохромы, тогда как присутствие ЗС в смешанном световом потоке БС инактивирует их, а, следовательно, снижает эффективность СС [Головацкая, Карначук, 2015].

Рост проростков, обработанных мелатонином, отличался от роста проростков контрольных вариантов, выращенных на среде без гормона. Отмечено ингибирование роста проростков *A. thaliana* мутантной линии по фоторецептору фитохрома В в ответ на обработку мелатонином (1 мкМ) на КС. В темноте у *hy3* отмечена стимуляция роста гипокотыля и корня, но ингибирование роста семядолей. Проростки арабидопсиса, дефектные по фоторецептору криптохрому 1, так же изменяли рост при обработке мелатонином. У мутантной линии *hy4* под воздействием мелатонина почти полностью восстанавливался фенотип дикого типа *Ler* как в темноте, так и на СС. Реакция на мелатонин корня данной мутантной линии отличалась в темноте и на свету. В темноте

наблюдали стимулирующий эффект, в то время как на свету ингибирующий эффект мелатонина. Площадь поверхности семядолей *Ler* и *hy4* под действием мелатонина уменьшалась, наибольшее ингибирование отмечено для семядолей дикого типа на СС.

Наблюдаемые нами различия ростовых реакций корней арабидопсиса на действие мелатонина в условиях разного селективного света могли быть опосредованы эндогенным уровнем мелатонина. Данное предположение согласуется с данными других авторов [Afreen et al., 2006]. Высокое содержание мелатонина показано в корнях *Glycyrrhiza uralensis*, выращенных на КС, в то время как в корнях растений, выращенных на СС, оно не отличалось от варианта на БС. Другими авторами показано, что условия освещения влияют на содержание мелатонина в растениях *Oryza sativa*: в темноте отмечен наименьший уровень, тогда как на свету происходило его 3- и 5-кратное увеличение соответственно на КС (или СС) и смешанном свете [Hwang et al., 2020]. Ключевым геном, ответственным за светозависимую индукцию мелатонина, предполагают *TDC* (триптофан декарбоксилаза). Экспрессия *SNAT1* и *SNAT2* также увеличивалась при всех условиях освещения по сравнению с темнотой. Показана необходимость фитохромов для синтеза мелатонина, поскольку индукция синтеза мелатонина наиболее значимо подавлялась при обработке КС + СС у мутанта по *PHYA*, и несколько ниже у мутанта по *PHYB* [Hwang et al., 2020].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Глобальное потепление и климатические изменения являются главными причинами возникновения засухи, сопровождающейся аномально высокими температурами и малым количеством атмосферных осадков. Именно эти факторы определяют существенное снижение продуктивности и урожайности сельскохозяйственных культур, обеспечивающих продовольственную безопасность страны.

Большинство абиотических стрессовых факторов (засуха, засоление, высокие и низкие температуры) вызывают изменения в водном статусе растения. Понимание механизмов действия засухи на рост и развитие растений открывает возможности к созданию способов регуляции устойчивости и адаптации растений к изменяющимся условиям среды.

Разработка технологий применения экологически безопасных веществ (например, фитогормонов и антиоксидантов) с целью повышения устойчивости и продуктивности растений позволит более рационально использовать природные ресурсы. Развитие светодиодных технологий позволяет совершенствовать производство сельскохозяйственной продукции в условиях защищенного грунта. Поиск взаимосвязи между качественными характеристиками света и гормональной регуляцией в растениях на фоне действия стресс-фактора способствует более глубокому пониманию механизмов адаптации растений, ведущих прикрепленный образ жизни.

Известно, что мелатонин выполняет антиоксидантные функции в растении, поэтому он может быть использован в качестве защитного вещества. Найдены рецепторы, контролирующие мелатонин-зависимые реакции. Однако практически не изучена роль мелатонина в регуляции засухи на свету разного спектрального состава, не изучены механизмы, в которых мелатонин может участвовать в качестве гормон-подобного вещества.

В настоящем исследовании было охарактеризовано защитное действие кратковременной и длительной обработки мелатонином на растения огурца сорта Изящный, подверженных атмосферной и субстратной засухи на основании динамики морфофизиологических параметров на разных стадиях онтогенеза (прорастание семян, проростки, вегетирующие растения). Была показана зависимость засухоустойчивости

растений от света разного спектрального состава, а также участие мелатонина в ауксин-зависимых, фитохром- и криптохром-зависимых реакциях.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что растения огурца сорта Изящный отвечают на разную степень засухи торможением роста органов растений, увеличением интенсивности ПОЛ, снижением функциональной активности фотосистемы II, повреждением мембран. В условиях засухи мелатонин способствует формированию устойчивости за счет активации системы антиоксидантной защиты, регуляции фотосинтетических процессов, работы устьичного аппарата.

Результаты исследований характеризуют мелатонин как важный компонент системы защиты растений при дефиците воды, выполняющей не только антиоксидантные функции, но ауксин-зависимые и CRY1- и PHYB- зависимые функции в растении.

На основании представленных материалов исследования можно сделать следующие **выводы**:

1. Показано, что действие экзогенного мелатонина способствует ускорению развития растений *C. sativus* (раннее прорастание, разворачивание первого листа, увеличение площади поверхности семядолей и настоящих листьев). Установлена зависимость фотосинтетических реакций в листе *C. sativus* от концентрации и продолжительности действия корневой обработки мелатонином. Повышение концентрации экзогенного мелатонина уменьшало время последствия для активации фотосинтеза, транспирации и устьичной проводимости листа огурца, неферментативной (пролин) и ферментативной (ГПО) систем защиты.

2. Установлен протекторный эффект мелатонина в регуляции морфофизиологических реакций растений *C. sativus* в ответ на действие засухи (атмосферной и субстратной). Он проявляется в более быстром прорастании семян и развитии растений, в снижении окислительного статуса и восстановлении контрольного уровня нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла, увеличении содержания фотосинтетических пигментов и антиоксидантов (антоцианов, аскорбиновой кислоты), что обеспечивает снижение степени повреждения мембран растительных клеток.

3. Установлен протекторный эффект мелатонина в регуляции морфофизиологических реакций растений *S. tuberosum* в ответ на действие дефицита воды в условиях засоления и гипотермии.

4. Показано, что действие мелатонина зависело от условий освещения: в темноте мелатонин укорачивал стебель (реакция фотоморфогенеза), но ингибировал рост семядоли (реакция скотоморфогенеза) *C. sativus*; на свету мелатонин увеличивал размеры семядолей при большей плотности потока фотонов синего участка спектра (2СК) и осевых органов при равном соотношении синего и красного участков или при увеличенной доле синего (2СК, 1,5(СК)), но тормозил растяжение корня при двукратном увеличении красного участка спектра (С2К).

Установлена опосредованная светом засухоустойчивость проростков *C. sativus*: наименьший негативный эффект засухи отмечен в темноте, увеличение плотности потока фотонов синего (2СК) и красного (С2К) участков спектра ФАР стимулировало рост осевых органов при умеренной засухе и ингибировало – при сильной. В условиях равного соотношения плотности потока фотонов красного и синего участков спектра ФАР (1,5(СК) ингибирование роста осевых органов и семядоли отмечено при действии обоих типов засухи.

Для взрослых растений *C. sativus* наименьший негативный эффект сильной засухи на их морфофизиологические параметры проявлялся в условиях повышенной плотности потока фотонов красного участка спектра (С2К). Мелатонин обуславливал снижение негативного действия засухи на биохимические параметры при равном соотношении плотности потока фотонов исследуемых участков спектра или при увеличении доли красного (1,5(СК) и С2К), тогда как при большей доле синего участка и равном соотношении исследуемых участков спектра (2СК и 1,5(СК)) он увеличивал площадь поверхности листьев, размеры устьиц, способствовал открыванию устьичной щели. При двукратном увеличении плотности потока фотонов красного участка спектра (С2К) мелатонин, не изменяя площадь поверхности листьев, увеличивал количество устьиц в единице площади эпидермиса листа и уменьшал их размеры.

5. Установлено, что механизмы регуляции ростовых процессов мелатонином направлены на изменения окислительного статуса клеток (АРА и перекисное окисление липидов) и активности ауксинов. Первый механизм действия мелатонина состоит в регулировании формирования антиоксидантной системы за счет увеличения активности

ферментативных и содержания неферментативных антиоксидантов. Вторым механизмом действия мелатонина состоит в дозо-зависимой регуляции ИУК-опосредованных реакций колеоптилей *T. aestivum* и проростков *A. thaliana*. Нарушение сигналинга ИУК (мутант *axr 1-3*) усиливало негативный эффект мелатонина на рост корня и семядолей проростков арабидопсиса на синем свете (СС), который не был выражен на красном свете (КС).

6. Показано, что мелатонин оказывает негативный эффект на рост семядолей проростков мутантов *hy3* и *hy4* *A. thaliana*. Мутации по генам *PHYB* и *CRY1* снижают эффективность действия мелатонина на ростовые процессы в проростках арабидопсиса на индуктивном свете. Эти факты свидетельствуют о взаимодействии мелатонина с *PHYB*- и *CRY1*-зависимыми реакциями.

Дальнейшие исследования роли мелатонина в растениях могут быть посвящены изучению влияния мелатонина и света разного спектрального состава в формировании устойчивости к другим видам абиотических факторов среды. Полученные данные будут иметь важное значение как для фундаментальных исследований, так и могут служить основой для разработки инновационных агробiotехнологий, направленных на улучшение продуктивности агропроизводств, а также как способ повышения качества пищи (функциональное питание). Однако принимая во внимание, что мелатонин – это гормональное соединение, существует ряд значимых ограничений, требующих проработки: (1) в настоящее время не установлена летальная доза мелатонина для животных и в отношении здоровья человека он классифицируется как неопасное вещество в категориях перорального, кожного, ингаляционного и раздражающего действия, мутагенности и канцерогенности. Тем не менее, в некоторых странах мелатонин классифицируется как опасное для здоровья вещество с точки зрения репродуктивной токсичности, поскольку предполагается, что он может оказывать влияние на фертильность; (2) поскольку мелатонин представляет собой амфипатическую молекулу, проникающую через биологические мембраны, и адъювант не требуется, следовательно, высокие концентрации мелатонина могут оказывать токсическое воздействие на человека и окружающую среду; (3) мало информации о его влиянии на бактерии и грибы, особенно на те, которые входят в состав почвенной микробиоты (ризосферы); (4) относительно дорогостоящее, так как на сегодняшний день не разработаны эффективные способы экстракции мелатонина из растений.

## СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

**CRY1** – фоторецептор криптохром-1

**RHYB** – фоторецептор фитохром В

**Ler** – *A. thaliana* дикого типа экотипа *Landsberg erecta*

**hy3** – мутантная линия *A. thaliana* экотипа *Ler*, дефектная по фоторецептору КС/дальнего красного света RHYB

**hy4** – мутантная линия *A. thaliana* экотипа *Ler*, дефектная по фоторецептору СС/УФ-А CRY1

**Col** – *A. thaliana* экотипа *Columbia*

**axr1-3** – мутантная линия *A. thaliana* экотипа *Col* по гену *AXR* с нарушенной чувствительностью к гормону ауксину

**2СК, 1,5(СК), С2К** – источники света, излучающие разные соотношения плотности потока фотонов синего, зелёного и красного участков спектра ФАР: 2 : 3 : 1 (2СК), 1,5 : 3 : 1,5 (1,5(СК)) и 1 : 3 : 2 (С2К).

**БС** – белый свет

**СС** – синий свет

**КС** – красный свет

**ДКС** – дальний красный свет

**УФ-А** – ультрафиолетовое излучение А-диапазона

**ИУК** – индолил-3-уксусная кислота

**ДФПГ** – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил

**СОД** – супероксиддисмутаза

**ГПО** – гваякол-зависимая пероксидаза

**Кат** – каталаза

**АРА** – антирадикальная активность

**МДА** – малоновый диальдегид

**ПОЛ** – перекисное окисление липидов

**АФК** – активные формы кислорода

**ФС II** – фотосистема II

**ФАР** – фотосинтетически активная радиация

**пМ** – пикомоль/л

**мкМ** – микромоль/л

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Азизов И. В. Влияние синего и красного света на физиологические и биохимические характеристики растений пшеницы / И. В. Азизов, Ф. И. Гасымова, У. Ф. Ибрагимова [и др.] // *Sciences of Europe*. – 2019. – № 41-1. – С. 3–6.
2. Активность фотохимических реакций у аспидистры на синем и красном свету / В. М. Гольд, Н. А. Гаевский, Т. И. Боткина, Ю. С. Григорьев // *Физиология растений*. – 1973. – Т. 20, №3. – С. 539–543.
3. Бойко Е. В. Влияние мелатонина и ИУК на рост семядолей проростков *A. thaliana* на свету разного спектрального состава / Е. В. Бойко, И. Ф. Головацкая // *Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего «PLAMIC2020»* : Материалы II Междунар. науч. конф., Саратов, 5–9 окт. 2020 г. – Саратов, 2020. – С. 49.
4. Бойко Е. В. Влияние мелатонина на содержание низкомолекулярных антиоксидантов в растениях огурца в условиях засухи / Е. В. Бойко, И. Ф. Головацкая, М. К. Кадырбаев // *Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты* : материалы докл. XI междунар. симпозиума, Москва, 11-15 апр. 2022 г. – М., 2022. – С. 78.
5. Бойко Е. В. Влияние предпосевной обработки мелатонином и селенитом натрия на прорастание семян / Е. В. Бойко, И. Ф. Головацкая // *Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования* : материалы XIII Междунар. симпозиума. – М., 2019. – С. 135.
6. Бойко Е. В. Мелатонин – регулятор ростовых процессов в растениях / Е. В. Бойко, И. Ф. Головацкая // *Материалы тр. XII Междунар. конф. студентов и молодых ученых "Перспективы развития фундаментальных наук"*, Томск, 21-24 апр. 2015 г. – Томск, 2015. – С. 766–768.
7. Бухов Н. Г. Динамическая световая регуляция фотосинтеза // *Физиология растений*. – 2004. – Т. 51, № 6. – С. 825–837.
8. Ванюшин Б. Ф. Апоптоз у растений // *Успехи биологической химии*. – 2001. – Т. 41. – С. 3–38.
9. Вечтомова Ю. Л. Эволюция белков семейства ДНК-фотолиаз/криптохромов / Ю. Л. Вечтомова, Т. А. Телегина, М. С. Крицкий // *Успехи биологической химии*. – 2020. – Т. 60. – С. 277–316.

10. Владимиров А. М. Классификация гидрологических засух // Ученые Записки РГГМУ. – 2012. – № 23. – С. 5–12.

11. Влияние 24-эпибрассинолида на водный обмен отличающихся по засухоустойчивости сортов пшеницы при осмотическом стрессе / М. В. Безрукова, Г. Р. Кудоярова, А. Р. Лубянова [и др.] // Физиология растений. – 2021. – Т. 68, № 2. – С. 161–169.

12. Влияние 24-эпибрассинолида на водный обмен отличающихся по засухоустойчивости сортов пшеницы при осмотическом стрессе / М. В. Безрукова, Г. Р. Кудоярова, А. Р. Лубянова [и др.] // Физиология растений. – 2021. – Т. 68, № 2. – С. 161–169.

13. Влияние кратковременной корневой обработки мелатонином на фотосинтез листьев огурца / Е. В. Бойко, И. Ф. Головацкая, О. Г. Бендер, И. Н. Плюснин. – DOI: 10.1134/S0015330320020037 // Физиология растений. – 2020. – Т. 67. – С. 196–205. – URL: [https://sciencejournals.ru/issues/fizrast/2020/vol\\_67/iss\\_2/FizRast2002003Boiko/FizRast2002003Boiko.pdf](https://sciencejournals.ru/issues/fizrast/2020/vol_67/iss_2/FizRast2002003Boiko/FizRast2002003Boiko.pdf) (дата обращения: 24.11.2022).

14. Влияние мелатонина на морфофизиологические параметры растений огурца / Е. В. Бойко, Е. В. Симон, И. Н. Плюснин [и др.] // Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды : сб. материалов Годичного собрания Общества физиологов растений России, Всерос. науч. конф. с междунар. участием и школы молодых ученых : в 2 ч., Иркутск, 10–15 июля 2018 г. – Иркутск, 2018. – С. 143–145.

15. Влияние мелатонина на редокс-процессы в растениях / Е. В. Бойко, А. Н. Видершпан, Е. В. Симон, И. Ф. Головацкая // Материалы II Междунар. симпозиума «Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений» и Междунар. науч. школы «Роль активных форм кислорода в жизни растений», Уфа, 26 июня – 1 июля 2017 г. – Уфа, 2017. – С. 78–80.

16. Влияние мелатонина на старение листьев *Lychnis chalconica* L. под действием селективного света / Е. В. Бойко, И. Ф. Головацкая, И. Н. Плюснин [и др.] // IX Съезд общества физиологов растений России «Физиология растений – основа создания растений будущего», Казань, 19-21 сент. 2019 г. – Казань, 2019. – С. 76.

17. Влияние мелатонина на устойчивость огурца к действию засухи на начальных этапах онтогенеза / И. Ф. Головацкая, Е. В. Бойко, И. Н. Плюснин [и др.] // Экспериментальная биология растений и биотехнология: история и взгляд в будущее : материалы Всерос. науч. конф. с междунар. участием, школы для молодых ученых и Годичного собрания Общества физиологов растений России, Москва, 27 сент. – 1 окт. 2021 г. – М., 2021. – С. 66.

18. Возрастные аспекты адаптации растений в экстремальных условиях / О. Б. Гонтарь, В. К. Жиров, А. Х. Хаитбаев, А. Ф. Говорова // Вестник МГТУ. – 2006. – Т. 9 (5). – С. 729–734.

19. Возрастные морфофизиологические и биохимические изменения у растений *Lactuca sativa* L. Под влиянием селена и света разной интенсивности / И. Ф. Головацкая, Е. В. Бойко, А. Н. Видершпан, Н. И. Лаптев // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53, № 5. – С. 1025–1036.

20. Войцеховская О. В. Фитохромы и другие (фото)рецепторы информации у растений // Физиология растений. – 2019. – № 66 (3). – С. 163–177.

21. Воскресенская Н. П. Принципы фоторегулирования метаболизма растений и регуляторное действие красного и синего света на фотосинтез // Фоторегуляция метаболизма и морфогенеза растений. – М., 1975. – С. 16–36.

22. Воскресенская Н. П. Фоторегуляторные аспекты метаболизма растений : доложено на тридцать восьмом ежегодном Тимирязевском чтении 3 июня 1977 г. / Н. П. Воскресенская ; отв. ред. А. Л. Курсанов. – М. : Наука, 1979. – 46 с.

23. Воскресенская Н. П. Фотосинтез и спектральный состав света. Фитохромы и другие (фото)рецепторы информации у растений / Н. П. Воскресенская. – М. : Наука, 1965. – 309 с.

24. Гарифзянов А. Р. Образование и физиологические реакции активных форм кислорода в клетках растений / А. Р. Гарифзянов, Н. Н. Жуков, В. В. Иванищев // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 2. – С. 35–48.

25. Генетический и эпигенетический контроль роста и развития растений. Гены биосинтеза ауксинов и ауксин-регулируемые гены, контролирующие деление и растяжение клеток растений / В. А. Цыганкова, Л. А. Галкина, Л. И. Мусатенко, К. М. Сытник // Биополимеры и клетка. – 2005. – Т. 21, № 2. – С. 107–133.

26. Генетический и эпигенетический контроль роста и развития растений. Гены фотоморфогенеза и регуляция их экспрессии светом / В. А. Цыганкова, Л. А. Галкина, Л. И. Мусатенко, К. М. Сытник // Биополимеры и клетка. – 2004. – Т. 20, № 6. – С. 451–471.
27. Генкель П. А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений / П. А. Генкель. – М. : Наука, 1982. – 280 с.
28. Головацкая И. Ф. Морфогенез растений и его регуляция : учеб. пособие : в 2 ч. / И. Ф. Головацкая. – Томск : Издательский Дом Томского государственного университета, 2016. – Ч. 1. – 170 с.
29. Головацкая И. Ф. Регуляция гиббереллинами роста, развития и гормонального баланса растений *Arabidopsis* на зеленом и синем свете // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 3. – С. 348–354.
30. Головацкая И. Ф. Роль зеленого света в жизнедеятельности растений / И. Ф. Головацкая, Р. А. Карначук // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 6. – С. 776–791.
31. Головацкая И. Ф. Роль криптохрома и фитохромов в регуляции фотоморфогенетических реакций растений на зеленом свете // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, № 6. – С. 822–829.
32. Головацкая И. Ф. Роль мелатонина в регуляции ИУК-зависимых реакций растений в разных условиях освещения / И. Ф. Головацкая, Е. В. Бойко, Р. А. Карначук. – DOI: 10.17223/19988591/37/8 // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2017. – № 37. – С. 144–160. – URL: <http://journals.tsu.ru/engine/download.php?id=90491&area=files> (дата обращения: 24.11.2022).
33. Гришенкова Н. Н. Определение устойчивости растительных тканей к абиотическим стрессам с использованием кондуктометрического метода / Н. Н. Гришенкова, А. С. Лукаткин // Поволжский экологический журнал. – 2005. – № 1. – С. 3–11.
34. Дорошенко Т. Н. Адаптивный потенциал плодовых растений юга России : монография / Т. Н. Дорошенко, Н. В. Захарчук, Л. Г. Рязанова. – Краснодар : Просвещение-Юг, 2010. – 131 с.
35. Задорнова О. И. Сравнительная характеристика зарубежных индексов оценки засух по основным зерносеющим субъектам Европейской территории России // Труды Главной геофизической обсерватории им. А. И. Воейкова. – 2015. – № 578. – С. 126–139.

36. Зак П. П. Потенциальная опасность освещения светодиодами для глаз детей и подростков / П. П. Зак, М. А. Островский // Светотехника. – 2012. – № 3. – С. 4–16.

37. Закурин А. О. Светокультура растениеводства защищенного грунта: фотосинтез, фотоморфогенез и перспективы применения светодиодов / А. О. Закурин, А. В. Щенникова, А. М. Камионская. – DOI: 10.31857/S0015330320030227 // Физиология растений. – 2020. – Т. 67, № 3. – С. 246–258. – URL: <https://sciencejournals.ru/view-article/?j=fizrast&y=2020&v=67&n=3&a=FizRast2003022Zakurin> (дата обращения: 24.11.2022).

38. Зеленин А. В. Геном растений // Вестник Российской Академии наук. – 2003. – Т. 73, № 9. – С. 797–806.

39. Интеграция сигналов синего света и жасмоновой кислоты в морфогенезе *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh / Р. А. Карначук, М. А. Большакова, М. В. Ефимова, И. Ф. Головацкая // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 5. – С. 534–538.

40. Ионова Е. В. Засуха и гидротермический коэффициент увлажнения как один из критериев оценки степени ее интенсивности (обзор литературы) / Е. В. Ионова, В. А. Лиховидова, И. А. Лобунская. – DOI: 10.31367/2079-8725-2019-66-6-18-22 // Зерновое хозяйство России. – 2019. № 6. – С. 18–22. – URL: <https://www.zhros.online/jour/article/view/804/537> (дата обращения: 24.11.2022).

41. Карначук Р. А. Гормональный статус, рост и фотосинтез растений, выращенных на свету разного спектрального состава / Р. А. Карначук, И. Ф. Головацкая // Физиология растений. – 1998. – Т. 45, вып. 6. – С. 925–934.

42. Карначук Р. А. Регуляторная роль света разного спектрального состава в процессах роста и фотосинтетической активности листа растений : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Р. А. Карначук. – М., 1989. – 42 с.

43. Карначук Р. А. Рост и фотосинтез листа серпухи, адаптированной к спектральному составу света / Р. А. Карначук, И. Ф. Головацкая, Н. Н. Протасова // Вопросы взаимосвязи фотосинтеза и дыхания. – Томск, 1988. – С. 163–168.

44. Карначук Р. А. Рост растений и содержание гормонов в зависимости от спектрального состава света / Р. А. Карначук, Н. Н. Протасова, И. Ф. Головацкая // Рост и устойчивость растений. – Новосибирск, 1988. – С. 71–81.

45. Карначук Р. А. Эндогенные фитогормоны и регуляция морфогенеза *Arabidopsis thaliana* синим светом / Р. А. Карначук, С. Ю. Тищенко, И. Ф. Головацкая // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, № 2. – С. 262–267.
46. Карпец Ю. В. Замедление процесса гибели клеток в сегментах колеоптилей пшеницы, инкубируемых на растворе сахарозы / Ю. В. Карпец, Ю. Е. Колупаев, Н. В. Швиденко // Физиология и биохимия культурных растений. – 2011. – Т. 43, № 6. – С. 513–519.
47. Клещенко А. Д. Современные проблемы мониторинга засух // Труды ВНИИСХМ. – 2000. – Вып. 33. – С. 3–13.
48. Колупаев Ю. Е. Активные формы кислорода в растениях при действии стрессоров: образование и возможные функции // Вестник Харьковского национального аграрного университета. Серия Биология. – 2007. – Вып. 3, № 12. – С. 6–26.
49. Косулина Л. Г. Физиология устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды / Л. Г. Косулина, Э. К. Луценко, В.А. Аксенова. – Ростов н/Д : Изд-во Рост. ун-та, 2011. – 236 с.
50. Крафтс А. Вода и ее значение в жизни растений / А. Крафтс, Х. Карриер, К. Стокинг ; пер. с англ. Д. А. Сабина. – М. : Иноиздат, 1951. – 388 с.
51. Кудоярова Г. Р. Современное состояние проблемы водного баланса растений при дефиците воды / Г. Р. Кудоярова, В. П. Холодова, Д. С. Веселов // Физиология растений. – 2013. – № 60 (2). – С. 155–165.
52. Кузнецов В. В. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм и регуляция / В. В. Кузнецов, Н. И. Шевякова // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, вып. 2. – С. 305–320.
53. Кулаева О. Н. Как свет регулирует жизнь растений // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – Т. 7, вып. 4. – С. 6–12.
54. Лутова Л. А. Генетика развития растений : учебник / Л. А. Лутова, Т. А. Ежова, И. Е. Додуева, М. А. Осипова ; под ред. С. Г. Инге-Вечтомова. – СПб. : Изд-во Н-Л., 2011. – 432 с.
55. Мазец Ж. Э. Практикум по физиологии растений / Ж. Э. Мазец, И. И. Жукова, А. А. Деревинская. – Минск : БГПУ, 2017. – 176 с.
56. Мартинович Г. Г. Редокс-гомеостаз клеток / Г. Г. Мартинович, С. Н. Черенкевич // Успехи физиологических наук. – 2008. – Т. 39 (3). – С. 29–44.

57. Мартиросян Ю. Ц. Динамика фотосинтетических процессов в условиях переменного спектрального облучения растений / Ю. Ц. Мартиросян, Л. Ю. Мартиросян, А. А. Кособрюхов // Сельскохозяйственная биология. – 2019. – Т. 54, № 1. – С. 130–139.

58. Мелатонин и селен регулируют рост и окислительный статус клеточных культур *Saussurea orgaadayi in vitro*, полученных от разных эксплантов / И. Ф. Головацкая, Е. В. Бойко, А. Е. Резниченко, И. Н. Плюснин. – DOI: 10.31857/S001533032005005X // Физиология растений. – 2020. – Т. 67, № 6. – С. 625–635. – URL: [https://sciencejournals.ru/issues/fizrast/2020/vol\\_67/iss\\_6/FizRast2005005Golovatskaya/FizRast2005005Golovatskaya.pdf](https://sciencejournals.ru/issues/fizrast/2020/vol_67/iss_6/FizRast2005005Golovatskaya/FizRast2005005Golovatskaya.pdf) (дата обращения: 24.11.2022).

59. Мелатонин ингибирует продукцию перекиси водорода митохондриями растений / П. А. Буцанец, А. С. Байк, А. Г. Шугаев, В. В. Кузнецов // Доклады Академии наук. – 2019. – Т. 489, № 2. – С. 205–208.

60. Мелехов Е. И. Методы количественной оценки гербицидных повреждений и их модификации / Е. И. Мелехов, Л. Х. Рамазанова, А. В. Васильева // Известия АН СССР. Серия биологическая. – 1983. – № 3. – С. 785–788.

61. Муравьева Д. А. Спектрофотометрическое определение суммы антоцианов в цветках василька синего / Д. А. Муравьева, В. Н. Бубенчикова, В. В. Беликов // Фармакология. – 1987. – Т. 36. – С. 28–29.

62. Оптимизация светотехнических параметров облучения при светокультуре салатно-зеленных растений с использованием светодиодных облучателей. / Л. Б. Прикупец, Г. В. Боос, В. Г. Терехов, И. Г. Тараканов // Светотехника. – 2019. – № 4. – С. 6–13.

63. Оптимизация условий освещения при культивировании микроклонов *Solanum tuberosum* L. сорта Луговской *in vitro* / И. Ф. Головацкая, В. Ю. Дорофеев, Ю. В. Медведева [и др.] // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2013. – № 4 (24). – С. 133–144.

64. Передача сигналов и быстрая стрессовая реакция растений / Г. Р. Кудоярова, А. В. Дедов, Р. Г. Фархутдинов, С. В. Веселова // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского Серия Биология. – 2001. – Вып. Материалы выездной сессии

ОФР РАН по проблемам биоэлектrogenеза и адаптации у растений, 11–12 окт. 2000 г. – С. 85–87.

65. Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла а – теоретические основы и практическое приложение в исследовании растений / В. Н. Гольцев, М. Х. Каладжи, М. А. Кузманова, С. И. Аллахвердиев. – М.–Ижевск : Институт компьютерных исследований, 2014. – 220 с.

66. Пролиферация клеток растений и ее регуляторы / Г. В. Новикова, А. В. Носов, Н. С. Степанченко [и др.] // Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 4. – С. 529–537.

67. Регуляция мелатонином устойчивости растений огурца к атмосферной засухе / Е. В. Бойко, Е. В. Симон, А. Н. Видершпан И. Ф. Головацкая // Материалы международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» Москва, 20-22 февр. 2017 г. : в 2 т. – М., 2017. – Т. 2. – С. 133–135.

68. Регуляция мелатонином устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению / Е. В. Бойко, М. К. Малофий, Л. В. Коломейчук [и др.] // Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты : материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Томск, 10–13 апреля 2018 года. – Томск : Национальный исследовательский Томский государственный университет, 2018. – С. 37–40.

69. Розен В. Б. Химическая структура гормонов и ее связь с биологической активностью // Основы эндокринологии. – М., 1994. – С. 40–93.

70. Роль красного люминесцентного излучения низкой интенсивности в регуляции морфогенеза и гормонального баланса *Arabidopsis thaliana* / А. С. Минич, И. Б. Минич, Н. С. Зеленчукова [и др.] // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, № 6. – С. 863–868.

71. Российский гидрометеорологический энциклопедический словарь : в 4 т. – СПб. : Летний сад, 2008. – Т. 1. – 333 с.

72. Рубин А. Б. Регуляция первичных процессов фотосинтеза / А. Б. Рубин, Т. Е. Кренделева // Успехи биологической химии. – 2003. – Т. 43. – С. 225–266.

73. Селективный свет регулирует устойчивость растений картофеля к хлоридному засолению / И. С. Ковтун, М. В. Ефимова, М. К. Малофий, В. В. Кузнецов. – DOI: 10.31857/S0869-56524843377-380 // Доклады Академии наук. – 2019. – Т. 484, № 3. – С.

377–380. – URL: <https://journals.eco-vector.com/0869-5652/article/view/11782> (дата обращения: 24.11.2022).

74. Слейчер Р. Водный режим растений / Р. Слейчер. – М. : Мир, 1970. – 365 с.

75. Сравнительный анализ защитного действия 6-бензиламинопурина и метилжасмоната на проростки пшеницы в условиях дефицита влаги / Ч. Р. Аллагулова, А. М. Авальбаев, Р. А. Юлдашев, Ф. М. Шакирова // Известия Уфимского научного центра РАН. – 2018. – № 3-1. – С. 11–15.

76. Тарчевский И. А. Механизм влияния засухи на фотосинтетическое усвоение CO<sub>2</sub> // Физиология фотосинтеза. – М., 1982. – С. 118–129.

77. Терехина Н. В. *Cucumis sativus* L. – Огурец посевной // Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения. – СПб., 2008. – URL: [http://www.agroatlas.ru/ru/content/cultural/Cucumis\\_sativus\\_K/index.html](http://www.agroatlas.ru/ru/content/cultural/Cucumis_sativus_K/index.html) (дата обращения: 05.11.2022).

78. Тихомиров А. А. Светокультура растений: Биофизические и технологические основы : учеб. пособие / А. А. Тихомиров, В. П. Шарупич, Г. М. Лисовский. – Новосибирск : Изд. СО РАН, 2000. – 213 с.

79. Тихомиров А. А. Спектральный состав света и продуктивность растений / А. А. Тихомиров, Г. М. Лисовский, Ф. Я. Сидько. – Новосибирск : Наука, 1991. – 168 с.

80. Тихонов А. Н. Молекулярные преобразователи энергии в живой клетке // Соросовский Образовательный Журнал. – 1997. – № 7. – С. 10–17.

81. Фрайкин Г. Я. Сигнальные механизмы, регулирующие различные ответы растительных клеток на действие УФВ-излучения. – DOI: 10.1134/S0320972518070023 // Биохимия. – 2018. – Т. 83, № 7. – С. 972–980. – URL: <https://biochemistrymoscow.com/ru/archive/2018/83-07-0972/> (дата обращения: 24.11.2022).

82. Черемисинов А. Ю. Определение потребности в гидромелиорации на основе оценки атмосферного увлажнения / А. Ю. Черемисинов, А. А. Черемисинов, В. Д. Красов // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: География. Геоэкология. – 2012. – № 2. – С. 70–75.

83. Чупахина Г. Н. Система аскорбиновой кислоты растений : монография / Г. Н. Чупахина. – Калининград : КГУ, 1997. – 120 с.

84. Шиббаева Т. Г. Фитомелатонин : обзор / Т. Г. Шиббаева, Е. Ф. Марковская, А. В. Мамаев // Журнал общей биологии. – 2017. – Т. 78, № 5. – С. 46–62.

85. Якушенкова Т. П. Активность лектинов проростков озимой пшеницы, выращенных на разнокачественном составе света в условиях засоления и действия тяжелых металлов / Т. П. Якушенкова, О. А. Тимофеева, А. А. Зиятдинова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2013. – Т. 15, № 3-5. – С. 1526–1530.

86. Abran D. Melatonin activity rhythms in eyes and cerebral ganglia of *Aplysia californica* / D. Abran, M. Anctil, M. A. Ali // General and Comparative Endocrinology. – 1994. – Vol. 96, №. 2. – P. 215–222.

87. Action spectrum for melatonin regulation in humans: evidence for a novel circadian photoreceptor / G. C. Brainard, J. P. Hanifin, J. M. Greeson [et al.] // Journal of Neuroscience. – 2001. – Vol. 21. – P. 6405–6412.

88. Afreen F. Melatonin in *Glycyrrhiza uralensis*: response of plant roots to spectral quality of light and UV-B radiation / F. Afreen, S. M. A. Zobayed, T. Kozai // Journal of Pineal Research. – 2006. – Vol. 41. – P. 108–115.

89. Ahmad M. HY4 Gene of *Arabidopsis thaliana* encodes a protein with characteristics of a blue-light photoreceptor / M. Ahmad, A. R. Cashmore // Nature. – 1993. – Vol. 366. – P. 162–166.

90. Ahmadi T. Improvement in drought tolerance of lemon balm, *Melissa officinalis* L. under the pre-treatment of LED lighting / T. Ahmadi, L. Shabani, M. R. Sabzalian // Plant Physiology and Biochemistry. – 2019. – Vol. 139. – P. 548–557.

91. Ameliorative effect of melatonin improves drought tolerance by regulating growth, photosynthetic traits and leaf ultrastructure of maize seedlings / S. Ahmad, I. Muhammad, G. Y. Wang [et al.]. – DOI: 10.1186/s12870-021-03160-w // BMC Plant Biology. – 2021. – Vol. 21. – P. 1–14. – URL: <https://bmcplantbiol.biomedcentral.com/counter/pdf/10.1186/s12870-021-03160-w.pdf> (access date: 24.11.2022).

92. Antagonistic actions of *Arabidopsis* cryptochromes and phytochrome B in the regulation of floral induction / T. C. Mockler, H. Guo, H. Yang [et al.] // *Development*. – 1999. – Vol. 126. – P. 2073–2082.

93. Antagonistic basic helix-loop-helix/bZIP transcription factors form transcriptional modules that integrate light and reactive oxygen species signaling in *Arabidopsis* / D. Chen, G. Xu, W. Tang [et al.] // *Plant Cell*. – 2013. – Vol. 25. – P. 1657–1673.

94. Apel K. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction / K. Apel, H. Hirt // *Annual Review of Plant Biology*. – 2004. – Vol. 55. – P. 373–399.

95. *Arabidopsis* serotonin N-acetyltransferase knockout mutant plants exhibit decreased melatonin and salicylic acid levels resulting in susceptibility to an avirulent pathogen / H. Y. Lee, Y. Byeon, D. X. Tan [et al.] // *Journal of Pineal Research*. – 2015. – Vol. 58. – P. 291–299.

96. *Arabidopsis* transcriptome analysis reveals key roles of melatonin in plant defense systems / S. Weeda, N. Zhang, X. Zhao [et al.] // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9. – P. 1–18.

97. Arnao M. B. Amino acids in higher plants / M. B. Arnao, J. Hernández-Ruiz // *Amino Acids In Higher Plants*. – Boston, 2015. – P. 390–435.

98. Arnao M. B. Functions of melatonin in plants : a review / M. B. Arnao, J. Hernández-Ruiz // *Journal of Pineal Research*. – 2015. – Vol. 59, is. 2. – P. 133–150.

99. Arnao M. B. Growth activity, rooting capacity, and tropism: Three auxinic precepts fulfilled by melatonin / M. B. Arnao, J. Hernandez-Ruiz // *Acta Physiologiae Plantarum*. – 2017. – Vol. 39. – P. 1–9.

100. Arnao M. B. Melatonin and its relationship to plant hormones / M. B. Arnao, J. Hernández-Ruiz. – DOI: 10.1093/aob/mcx114 // *Annals of Botany*. – 2018. – Vol. 121. – P. 195–207. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5808790/pdf/mcx114.pdf> (access date: 24.11.2022).

101. Arnao M. B. Melatonin and reactive oxygen and nitrogen species: a model for the plant redox network / M. B. Arnao, J. Hernandez-Ruiz. – DOI: 10.32794/mr11250036 // Melatonin Research. – 2019. – Vol. 2, № 3. – P. 152–168. – URL: <https://www.melatonin-research.net/index.php/MR/article/view/45/366> (access date: 24.11.2022).

102. Arnao M. B. Melatonin as a regulatory hub of plant hormone levels and action in stress situations M. B. Arnao, J. Hernandez-Ruiz // Plant Biology. – 2021. – Vol. 23. – P. 7–19.

103. Arnao M. B. The physiological function of melatonin in plants / M. B. Arnao, J. Hernandez-Ruiz. – DOI: 10.4161/psb.1.3.2640 // Plant Signaling and Behavior. – 2006. – Vol. 1, № 3. – P. 89–95. – URL: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2635004/pdf/psb0103\\_0089.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2635004/pdf/psb0103_0089.pdf) (access date: 24.11.2022).

104. Back K. Melatonin biosynthesis in plants: Multiple pathways catalyze tryptophan to melatonin in the cytoplasm or chloroplasts / K. Back, D. X. Tan, R. J. Reiter // Journal of Pineal Research. – 2016. – Vol. 61. – P. 426–437.

105. Baker P. C. Development of hydroxyindole-O-methyl transferase activity in eye and brain of the amphibian, *Xenopus laevis* / P. C. Baker, W. B. Quay, J. Axelrod // Life Sciences. – 1965. – Vol. 4, № 20. – P. 1981–1987.

106. Ballare C. L. Light regulation of plant defense // Annual Review of Plant Biology. – 2014. – Vol. 65. – P. 335–363.

107. Balzer I. Daily variations of immunoreactive melatonin in the visual system of crayfish / I. Balzer, I. R. Espinola, B. Fuentes-Pardo // Biology of the Cell. – 1997. – Vol. 89, № 8. – P. 539–543.

108. Bates L.S. Rapid determination of free proline for water stress studies / L. S. Bates, R. P. Waldren, I. D. Teare // Plant and Soil. – 1973. – Vol. 39. – P. 205–207.

109. Beauchamp Ch. Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels / Ch. Beauchamp, I. Fridovich // Analytical Biochemistry. – 1971. – Vol. 44. – P. 276–287.

110. Blocking low-wavelength light prevents nocturnal melatonin suppression with no adverse effect on performance during simulated shift work / L. Kayumov, R. F. Casper, R. J. Hawa [et al.]. – DOI: 10.1210/jc.2004-2062 // The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. – 2005. – Vol. 90, № 5. – P. 2755–2761. – URL: <https://academic.oup.com/jcem/article-pdf/90/5/2755/10776368/jcem2755.pdf> (access date: 24.11.2022).

111. Blois M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical // Nature. – 1958. – Vol. 181. – P. 1199–1200.

112. Blue blocker glasses impede the capacity of bright light to suppress melatonin production / A. Sasseville, N. Paquet, J. Sévigny, M. Hébert // Journal of Pineal Research. – 2006. – Vol. 41. – P. 73–78.

113. Blue light dose–responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light / S. W. Hogewoning, G. Trouwborst, H. Maljaars [et al.]. – DOI: 10.1093/jxb/erq132 // Journal of Experimental Botany. – 2010. – Vol. 61, № 11. – P. 3107–3117. – URL: <https://academic.oup.com/jxb/article/61/11/3107/435743> (access date: 24.11.2022).

114. Buege J. A. Microsomal lipid peroxidation / J. A. Buege, S. D. Aust // Methods in Enzymology. – 1978. – Vol. 52. – P. 302–310.

115. Burgie E. S. Phytochromes: an atomic perspective on photoactivation and signaling / E. S. Burgie, R. D. Vierstra // Plant Cell. – 2014. – Vol. 26. – P. 4568–4583.

116. Calcium transport across plant membranes: mechanisms and functions / V. Demidchik, S. Shabala, S. Isayenkov [et al.]. – DOI: 10.1111/nph.15266 // New Phytologist. – 2018. – Vol. 220. – P. 49–69. – URL: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/nph.15266> (access date: 24.11.2022).

117. Casal J. J. Photoreceptor signaling networks in plant response to shade // Annual Review of Plant Biology. – 2013. – Vol. 64. – P. 403–427.

118. Chance B. Assay of catalase and peroxidases / B. Chance, A. C. Maehly // Methods in Enzymology. – 1955. – Vol. 2. – P. 764–775.

119. Chromium-induced accumulation of peroxide content, stimulation of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in green gram (*Vigna radiata* L. cv. Wilczek) leaves / T. Karuppanapandian, P. B. Sinha, A. Kamarul Haniya, K. Manoharan // *African Journal of Biotechnology*. – 2009. – Vol. 8. – P. 475–479.

120. Chung M. H. Effects of circadian clock and light on melatonin concentration in *Hypericum perforatum* L. (St. John's Wort) / M. H. Chung, T. S. Deng. – DOI: 10.1186/s40529-020-00301-6 // *Botanical Studies*. – 2020. – Vol. 61. – P. 1–9. – URL: <https://as-botanicalstudies.springeropen.com/counter/pdf/10.1186/s40529-020-00301-6.pdf> (access date: 24.11.2022).

121. Comparative metabolomic analysis highlights the involvement of sugars and glycerol in melatonin-mediated innate immunity against bacterial pathogen in *Arabidopsis* / Y. Qian, D. X. Tan, R. J. Reiter, H. Shi // *Scientific Reports*. – 2015. – Vol. 5. – P. 1–11.

122. Comparative physiological responses and transcriptome analysis reveal the roles of melatonin and serotonin in regulating growth and metabolism in *Arabidopsis* / J. Wan, P. Zhang, R. Wang [et al.]. – DOI: 10.1186/s12870-018-1548-2 // *BMC Plant Biology*. – 2018. – Vol. 18. – P. 1–14. – URL: <https://bmcplantbiol.biomedcentral.com/counter/pdf/10.1186/s12870-018-1548-2.pdf> (access date: 24.11.2022).

123. Comparative physiological, metabolomic, and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved abiotic stress resistance in bermudagrass [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.] by exogenous melatonin / H. Shi, C. Jiang, T. Ye [et al.]. – DOI: 10.1093/jxb/eru373 // *Journal of Experimental Botany*. – 2015. – Vol. 66. – P. 681–694. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4321537/pdf/eru373.pdf> (access date: 24.11.2022).

124. De Wit M. Light-mediated hormonal regulation of plant growth and development. / M. De Wit, V. C. Galvao, C. Fankhauser. – DOI:10.1146/annurev-arplant-043015-112252 // *Annual Review of Plant Biology*. – 2016. – Vol. 67, № 1. – P. 513–537.

125. Deng X.-W. Fresh view of light signal transduction in plants // *Cell*. – 1994. – Vol. 102. – P. 426–432.

126. Different response of photosystem II to short and long-term drought stress in *Arabidopsis thaliana* / Y.-E. Chen, W.-J. Liu, Y.-Q. Su [et al.]. – DOI: 10.1111/ppl.12438 // *Physiologia Plantarum*. – 2016. – Vol. 158, № 2. – P. 225–235. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ppl.12438> (access date: 24.11.2022). – Access mode: for registered users.

127. Direct visualization of location and uptake of applied melatonin and serotonin in living tissues and their redistribution in plants in response to thermal stress / L. A. E. Erland, A. Yasunaga, I. T. S. Li [et al.] // *Journal of Pineal Research*. – 2018. – Vol. 66. – P. 1–10.

128. Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects / M. F. Seleiman, N. Al-Suhaibani, N. Ali [et al.]. – DOI: 10.3390/plants10020259 // *Plants*. – 2021. – Vol. 10. – P. 1–25. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7911879/pdf/plants-10-00259.pdf> (access date: 24.11.2022).

129. Drought tolerance of faba bean (*Vicia faba* L.) can be improved by specific LED light wavelengths / L. Huang, Y. Xiao, J. Ran [et al.]. – DOI: 10.32615/ps.2020.052 // *Photosynthetica*. – 2020. – Vol. 58, № 4. – P. 1040–1052. – URL: <https://ps.ueb.cas.cz/pdfs/phs/2020/04/16.pdf> (access date: 27.10.2023).

130. Effect of melatonin priming on photosynthetic capacity of tomato leaves under low-temperature stress / X. L. Yang, H. Xu, D. Li [et al.] // *Photosynthetica*. – 2018. – Vol. 56. – P. 884–892.

131. Emerging complexity in reactive oxygen species production and signaling during the response of plants to pathogens / T. Vellosillo, J. Vicente, S. Kulasekaran [et al.] // *Plant Physiology*. – 2010. – Vol. 154. – P. 444–448.

132. Esen A. A simple method for quantitative, semiquantitative, and qualitative assay of protein // *Analytical Biochemistry*. – 1978. – Vol. 89. – P. 264–273.

133. Estelle M. A. Auxin-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana* with an altered morphology / M. A. Estelle, C. Sommerville // *Molecular Genetics and Genomics*. – 1987. – Vol. 206. – P. 200–206.

134. Exogenous application of melatonin improves plant resistance to virus infection // L. Zhao, L. Chen, P. Gu [et al.] // *Plant Pathology*. – 2019. – Vol. 68. – P. 1287–1295.

135. Exogenous melatonin application delays senescence of kiwifruit leaves by regulating the antioxidant capacity and biosynthesis of flavonoids / D. Liang, Y. Shen, Z. Ni [et al.]. – DOI: 10.3389/fpls.2018.00426. // *Frontiers in Plant Science*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1–14. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5896581/pdf/fpls-09-00426.pdf> (access date: 24.11.2022).

136. Exogenous melatonin confers salt stress tolerance to watermelon by improving photosynthesis and redox homeostasis / H. Li, J. Chang, H. Chen [et al.]. – DOI: 10.3389/fpls.2017.00295 // *Frontiers in Plant Science*. – 2017. – Vol. 8. – P. 1–9. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5331065/pdf/fpls-08-00295.pdf> (access date: 24.11.2022).

137. Exogenous melatonin improved potassium content in *Malus* under different stress conditions / C. Li, B. Liang, C. Chang [et al.]. – DOI: 10.1111/jpi.12342 // *Journal of Pineal Research*. – 2016. – Vol. 61. – P. 218–229. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jpi.12342> (access date: 24.11.2022). – Access mode: for registered users.

138. Fenwick J. C Demonstration and effect of melatonin in fish // *General and Comparative Endocrinology*. – 1970. – Vol. 14, № 1. – P. 86–97.

139. Flavonoids inhibit both rice and sheep serotonin N-acetyltransferases and reduce melatonin levels in plants / K. Lee, O. J. Hwang, R. J. Reiter, K. Back // *Journal of Pineal Research*. – 2018. – Vol. 65, № 3. – P. 1–12.

140. Foyer C. H. Ascorbate and glutathione: The heart of the redox hub1 / C. H. Foyer, G. Noctor // *Plant Physiology*. – 2011. – Vol. 155. – P. 2–18.

141. Foyer C. H. Oxidant and antioxidant signaling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context / C. H. Foyer, G. Noctor // *Plant, Cell and Environment*. – 2005. – Vol. 29. – P. 1056–1071.

142. Frankel E. N. *Lipid Oxidation* / E. N. Frankel. – 2nd ed. – Dundee : The Oily Press, 2005. – 470 p.

143. Fujii Y. Phototropin perceives temperature based on the lifetime of its photoactivated state / Y. Fujii, H. Tanaka, N. Konno [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. – 2017. – Vol. 114. – P. 9206–9211.

144. Fundamental issues of melatonin-mediated stress signaling in plants / H. Shi, K. Chen, Y. Wei, C. He. – DOI: 10.3389/fpls.2016.01124 // *Frontiers in Plant Science*. – 2016. – Vol. 7. – P. 1–6. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4961697/pdf/fpls-07-01124.pdf> (access date: 24.11.2022).

145. Gao W. Melatonin-mediated regulation of growth and antioxidant capacity in salt-tolerant naked oat under salt stress / W. Gao, Z. Feng, Q. Bai // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2019. – Vol. 20. – P. 1–18.

146. GAR 2021 – Специальный доклад о засухе: Резюме для директивных органов / Управление ООН по снижению риска бедствий. – Женева, 2021. – 27 с. – URL: <https://www.undrr.org/media/72527/download> (дата обращения: 24.11.2022).

147. Gimenez C. Plant water relations / C. Gimenez, M. Gallardo, R. B. Thompson // *Encyclopedia of Soils in the Environment*. – Oxford, 2005. – P. 231–238.

148. Golovatskaya I. F. Auxin and melatonin regulate the growth of wheat seedlings / I. F. Golovatskaya, E. V. Boyko, M. V. Efimova // *Auxins and Cytokinins in Plant Development and Interactions with Other Phytohormones International Symposium 2018, Prague, 1–5 July 2018*. – Prague, 2018. – P. 92–93.

149. Golovatskaya I. F. Melatonin and the transmission of light and auxin signals in plants / I. F. Golovatskaya, E. V. Boyko. – DOI: 10.1007/978-3-030-54478-2\_10 // *Neurotransmitters in Plant Signaling and Communication*. – Cham, 2020. – P. 189–211. – URL: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-54478-2\\_10](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-54478-2_10) (access date: 24.11.2022). – Access mode: for registered users.

150. Golovatskaya I. F. Protective Role of Melatonin and IAA in the Regulation of Resistance of Potato Regenerants to Cold Stress / I. F. Golovatskaya, M. K. Kadyrbaev, E. V. Boyko. – DOI: 10.1007/s11540-023-09642-8 // *Potato Research*. – 2023. – URL: [https://link.springer.com/article/10.1007/s11540-023-09642-8?utm\\_source=xmol&utm\\_medium=affiliate&utm\\_content=meta&utm\\_campaign=DD\\_CN\\_1\\_GL01\\_metadata](https://link.springer.com/article/10.1007/s11540-023-09642-8?utm_source=xmol&utm_medium=affiliate&utm_content=meta&utm_campaign=DD_CN_1_GL01_metadata) (access date: 27.10.2023).

151. Groß F. Nitric oxide, antioxidants and prooxidants in plant defence response / F. Groß, J. Durner, F. Gaupels // *Frontiers in plant science*. – 2013. – Vol. 4. – P. 1–13.

152. Hardeland R. Melatonin and 5-methoxytryptamine in nonmetazoans // *Reproduction, Nutrition, Development*. – 1999. – Vol. 39. – P. 399–408.

153. Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics / S. Singh, P. Parihar, R. Singh [et al.]. – DOI: 10.3389/fpls.2015.01143 // *Frontiers in Plant Science*. – 2016. – Vol. 6. – P. 1–36. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4744854/pdf/fpls-06-01143.pdf> (access date: 24.11.2022).

154. Hernandez–Ruiz J. Melatonin acts as a growth–stimulating compound in some monocot species / J. Hernández-Ruiz, A. Cano, M. B. Arnao // *Journal of Pineal Research*. – 2005. – Vol. 39. – P. 137–142.

155. Hewitt E. J. Spectrophotometric measurements on ascorbic acid and their use for the estimation of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in plant tissue / E. J. Hewitt, G. J. Dickes // *Biochemical Journal*. – 1961. – Vol. 78, № 2. – P. 384–391.

156. Hong S. Y. Oxidative stress-related transcription factors in the regulation of secondary metabolism / S. Y. Hong, L V. Roze, J. E. Linz // *Toxins*. – 2013. – Vol. 5. – P. 683–702.

157. Hwang O. J. Effects of light quality and phytochrome form on melatonin biosynthesis in rice / O. J. Hwang, K. Kang, K. Back. – DOI: 10.3390/biom10040523 // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10, № 4. – P. 1–11. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7226006/pdf/biomolecules-10-00523.pdf> (access date: 24.11.2022).

158. Hwang O. J. Melatonin is involved in skotomorphogenesis by regulating brassinosteroid biosynthesis in rice plants / O. J. Hwang, K. Back // *Journal of Pineal Research*. – 2018. – Vol. 65, № 2. – P. 1–13.

159. Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates / A. Hattori, H. Migitaka, M. Iigo [et al.] // *Biochemistry and molecular biology international*. – 1995. – Vol. 35. – P. 627–634.

160. Identification of melatonin in the compound eyes of an insect, the locust (*Locusta migratoria*), by radioimmunoassay and gas chromatography-mass spectrometry / B. Vivien-Roels, P. Pevet, O. Beck, M. Fevre-Montange // *Neuroscience Letters*. – 1984. – Vol. 49, № 1-2. – P. 153–157.

161. Improving photosynthesis, plant productivity and abiotic stress tolerance - current trends and future perspectives / B. Nowicka, J. Ciura, R. Szymańska, J. Kruk. – DOI: 10.1016/j.jplph.2018.10.022 // *Journal of Plant Physiology*. – 2018. – Vol. 231. – P. 415–433. – URL: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0176-1617\(18\)30522-4](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0176-1617(18)30522-4) (access date: 24.11.2022). – Access mode: for registered users.

162. Integrated analysis of the transcriptome and metabolome revealed the molecular mechanisms underlying the enhanced salt tolerance of rice due to the application of exogenous melatonin / Z. Xie, J. Wang, W. Wang [et al.]. – DOI: 10.3389/fpls.2020.618680 // *Frontiers in Plant Science*. – 2021. – Vol. 14. – P. 1–14. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7840565/pdf/fpls-11-618680.pdf> (access date: 24.11.2022).

163. Interaction of COP1-UVR8 regulates UVB-induced photomorphogenesis and stress acclimation in Arabidopsis / J. J. Favory, A. Stec, H. Gruber [et al.] // *EMBO Journal*. – 2009. – Vol. 28. – P. 591–601.

164. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes / A. Lerner, J. Case, Y. Takahashi [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. – 1958. – Vol. 80, № 10. – P. 2587–2587.

165. Jiang K. Chemical regulators of plant hormones and their applications in basic research and agriculture / K. Jiang, T. Asami. – DOI:

10.1080/09168451.2018.1462693 // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. – 2018. – Vol. 82, № 8. – P. 1265–1300. – URL: <https://academic.oup.com/bbb/article-pdf/82/8/1265/36846314/bbb1265.pdf> (access date: 24.11.2022).

166. Kader M. A. Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity stress / M. A. Kader, S. Lindberg. – DOI: 10.4161/psb.5.3.10740 // Plant Signaling and Behavior. – 2010. – Vol. 5, № 3. – P. 233–238. – URL: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2881266/pdf/psb0503\\_0233.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2881266/pdf/psb0503_0233.pdf) (access date: 24.11.2022).

167. Kolar J. Melatonin in higher plants: Occurrence and possible functions / J. Kolar, I. Machackova // Journal of Pineal Research. – 2005. – Vol. 39. – P. 333–341.

168. Koornneef M. The development of *Arabidopsis* as a plant model / M. Koornneef, D. W. Meinke. – DOI: 10.1111/j.1365-313X.2009.04086.x // The Plant Journal. – 2010. – Vol. 61. – P. 909–921. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-313X.2009.04086.x> (access date: 24.11.2022). – Access mode: for registered users.

169. Lauber J. K. Enzymatic synthesis of melatonin in avian pineal body: extraretinal response to light / J. K. Lauber, J. E. Boyd, J. Axelrod // Science. – 1968. – Vol. 161, № 840. – P. 489–490.

170. Leaf shedding and non-stomatal limitations of photosynthesis mitigate hydraulic conductance losses in scots pine saplings during severe drought stress / D. Nadal-Sala, R. Grote, B. Birami [et al.]. – DOI: 10.3389/fpls.2021.715127 // Frontiers in Plant Science. – 2021. – Vol. 12. – P. 1–17. – URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2021.715127/pdf> (access date: 24.11.2022).

171. Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and Carotenoides: Pigments of Photosynthetic biomembranes // Methods on Enzymology. – 1987. – Vol. 148. – P. 350–382.

172. Light quality affects incidence of powdery mildew, expression of defence-related genes and associated metabolism in cucumber plants / H. Wang, Y. P. Jiang, H. J. Yu [et al.] // European Journal of Plant Pathology. – 2010. – Vol. 127. – P. 125–135.

173. Light-dependent, dark-promoted interaction between *Arabidopsis* cryptochrome 1 and phytochrome B proteins / R. M. Hughes, J. D. Vrana, J. Song, C. L. Tucker // *Journal of Biological Chemistry*. – 2012. – Vol. 287. – P. 22165–22172.

174. Local melatonin application induces cold tolerance in distant organs of *Citrullus lanatus* L. via long distance transport / H. Li, J. Chang, J. Zheng [et al.] // *Scientific Report*. – 2017. – Vol. 7. – P. 1–15.

175. LSD1 and HY5 antagonistically regulate red light induced-programmed cell death in *Arabidopsis* / T. Chai, J. Zhou, J. Liu, D. Xing. – DOI: 10.3389/fpls.2015.00292 // *Frontiers in Plant Science*. – 2015. – Vol. 6. – P. 1–13. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4419654/pdf/fpls-06-00292.pdf> (access date: 24.11.2022).

176. Ma Y. Drought and salinity stress responses and microbe-induced tolerance in plants / Y. Ma, M. C. Dias, H. Freitas. – DOI: 10.3389/fpls.2020.591911 // *Frontiers in plant science*. – 2020. – Vol. 11. – P. 1–18. – URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2020.591911/pdf> (access date: 24.11.2022).

177. Melatonin alleviates low PS I-limited carbon assimilation under elevated CO<sub>2</sub> and enhances the cold tolerance of offspring in chlorophyll b-deficient mutant wheat / X. Li, M. Brestic, D.-X. Tan. [et al.] // *Journal of Pineal Research*. – 2018. – Vol. 64, № 1. – P. 1–13.

178. Melatonin as Master Regulator in Plant Growth, Development and Stress Alleviator for Sustainable Agricultural Production: Current Status and Future Perspectives / K. Nawaz, R. Chaudhary, A. Sarwar. – DOI: 10.3390/su13010294 // *Sustainability*. – 2021. – Vol. 13. – № 1. – P. 1–25. – URL: <https://www.mdpi.com/2071-1050/13/1/294/pdf?version=1609409864> (access date: 27.10.2023).

179. Melatonin enhances drought resistance by regulating leaf stomatal behaviour, root growth and catalase activity in two contrasting rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes / L. Daia, J. Lia, H. Harmensd [at al.] // *Plant Physiology and Biochemistry* – 2020. – Vol. 149. – P. 86–95.

180. Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants / W. Wei, Q. T. Li, Y. N. Chu [et al.]. – DOI: 10.1093/jxb/eru392 // Journal of Experimental Botany. – 2015. – Vol. 66. – P. 695–707. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4321538/pdf/eru392.pdf> (access date: 24.11.2022).

181. Melatonin function and crosstalk with other phytohormones under normal and stressful conditions / M. Khan, S. Ali, H. Manghwar [et al.]. – DOI: 10.3390/genes13101699 // Genes. – 2022. – Vol. 13. – P. 1–17. – URL: <https://www.mdpi.com/2073-4425/13/10/1699/pdf> (access date: 24.11.2022).

182. Melatonin immunoreactivity in the photosynthetic prokaryote *Rhodospirillum rubrum*: implications for an ancient antioxidant system / L. C. Manchester, B. Poeggeler, F. L. Alvares [et al.] // Cellular and Molecular Biology Research. – 1995. – Vol. 41. – P. 391–395.

183. Melatonin improved anthocyanin accumulation by regulating gene expressions and resulted in high reactive oxygen species scavenging capacity in cabbage / N. Zhang, Q. Q. Sun, H. F. Li [et al.] // Frontiers in Plant Science. – 2016. – Vol. 7. – P. 222–238.

184. Melatonin in Chinese medicinal herbs / G. Chen, Y. Huo, D. X. Tan [et al.] // Life Sciences. – 2003. – Vol. 73. – P. 19–26.

185. Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry / R. Dubbels, R. J. Reiter, E. Klenke [et al.] // Journal of Pineal Research. – 1995. – Vol. 18. – P. 28–31.

186. Melatonin in peripheral nerve / A. B. Lerner, J. D. Case, W. Mori, M. R. Wright // Nature. – 1959. – Vol. 183, № 4678. – P. 1821.

187. Melatonin increased maize (*Zea mays* L.) seedling drought tolerance by alleviating drought-induced photosynthetic inhibition and oxidative damage / J. Ye, S. Wang, X. Deng [et al.] // Acta Physiologiae Plantarum. – 2016. – Vol. 38, № 2. – P. 1–13.

188. Melatonin induces parthenocarpy by regulating genes in gibberellin pathways of ‘starkrimson’ pear (*Pyrus communis* L.) / J. Liu, R. Zhai, F. Liu [et al.]. –

DOI: 10.3389/fpls.2018.00946 // *Frontiers in Plant Science*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1–12. – URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2018.00946/pdf> (access date: 24.11.2022).

189. Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behavior in two *Malus* species under drought stress / C. Li, D. X. Tan, D. Liang [et al.] // *Journal of Experimental Botany*. – 2015. – Vol. 66. – P. 669–680.

190. Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two *Malus* species under drought stress / C. Li, D. X. Tan, D. Liang [et al.] // *Journal of Experimental Botany*. – 2015. – Vol. 66. – P. 669–680.

191. Melatonin mitigates drought induced oxidative stress in potato plants through modulation of osmolytes, sugar metabolism, ABA homeostasis and antioxidant enzymes / A. A. El-Yazied, M. F. M. Ibrahim, M. A. R. Ibrahim [et al.]. – DOI: 10.3390/plants11091151 // *Plants*. – 2022. – Vol. 11. – P. 1–16. – URL: <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/9/1151> (access date: 24.11.2022).

192. Melatonin production in an aerobic photosynthetic bacterium: an evolutionarily early association with darkness / A. R. Tilden, M. A. Becker, L. L. Amma [et al.] // *Journal of Pineal Research*. – 1997. – Vol. 22. – P. 102–106.

193. Melatonin promotes carotenoid biosynthesis in an ethylene-dependent manner in tomato fruits / Q. Sun, L. Liu, L. Zhang [et al.] // *Plant Science*. – 2020. – Vol. 298. – P. 1–21.

194. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.) / N. Zhang, B. Zhao, H.-J. Zhang [et al.]. – DOI: 10.1111/j.1600-079x.2012.01015.x // *Journal of Pineal Research*. – 2012. – Vol. 54, № 1. – P. 15–23. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1600-079X.2012.01015.x> (access date: 24.11.2022). – Access mode: for registered users.

195. Melatonin regulates proteomic changes during leaf senescence in *Malus hupehensis* / P. Wang, X. Sun, Y. Xie [et al.]. – DOI: 10.1111/jpi.12169 // *Journal of Pineal Research*. – 2014. – Vol. 57. – P. 291–307. – URL:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jpi.12169> (access date: 24.11.2022). – Access mode: for registered users.

196. Melatonin regulates root meristem by repressing auxin synthesis and polar auxin transport in *Arabidopsis* / Q. Wang, B. An, Y. Wei [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2016. – Vol. 7. – P. 1–11.

197. Melatonin-induced transcriptome variation of rapeseed seedlings under salt stress / X. Tan, W. Long, L. Zeng [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2019. – Vol. 20. – P. 1–23.

198. Melatonin-mediate acid rain stress tolerance mechanism through alteration of transcriptional factors and secondary metabolites gene expression in tomato / B. Debnath, M. Li, S. Liu [et al.] // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2020. – Vol. 200. – P. 1–9.

199. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *Trends in Plant Science*. – 2002. – Vol. 7. – P. 405–410.

200. Modeling of drought in the experiment and assessment of its effects on plants / N. G. Osmolovskaya, J. S. Shumilina, T. V. Grishina [et al.] // *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*. – 2017. – Vol. 13, № 4. – P. 110–120.

201. Muller P. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy / P. Muller, X.-P. Li, K. K. Niyogi // *Plant Physiology*. – 2001. – Vol. 125. – P. 1558–1566.

202. Multi-level modeling of light-induced stomatal opening offers new insights into its regulation by drought / Z. Sun, X. Jin, R. Albert, S. M. Assmann. – DOI: 10.1371/journal.pcbi.1003930 // *PLOS Computational Biology*. – 2014. – Vol. 10. – P. 1–19. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4230748/pdf/pcbi.1003930.pdf> (access date: 24.11.2022).

203. Murch S. J. Tryptophan is a precursor for melatonin and serotonin biosynthesis in vitro regenerated St. John's wort (*Hypericum perforatum* L. cv. Anthos) plants / S. J. Murch, S. KrishnaRaj, P. K. Saxena // *Plant Cell Reports*. – 2000. – Vol. 19, № 7. – P. 698–704.

204. Novel rhythms of N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine and its precursor melatonin in water hyacinth: Importance for phytoremediation / D. X. Tan, L. C. Manchester, P. Di Mascio [et al.] // *FASEB Journal*. – 2007. – Vol. 21. – P. 1724–1729.

205. Ouedraogo M. Effect of far red light on drought resistance of cotton / M. Ouedraogo, C. Hubac // *Plant and Cell Physiology*. – 1982. – Vol. 23. – P. 1297–1303.

206. Overexpression of caffeic acid O-methyltransferase 1 (COMT1) increases melatonin level and salt stress tolerance in tomato plant / S. Sun, D. Wen, W. Yang [et al.] // *Journal of Plant Growth Regulation*. – 2020. – Vol. 39, № 3. – P. 1–15.

207. Photoperiodic flowering: time measurement mechanisms in leaves / Y. H. Song, J. S. Shim, H. A. Kinmonth-Schultz, T. Imaizumi // *Annual Review of Plant Biology*. – 2015. – Vol. 66. – P. 441–464.

208. Physiological responses to drought, salinity, and heat stress in plants: A Review / T. B. dos Santos, A. F. Ribas, S. G. H. de Souza [et al.]. – DOI: 10.3390/stresses2010009 // *Stresses*. – 2022. – Vol. 2. – P. 113–135. – URL: <https://www.mdpi.com/2673-7140/2/1/9> (access date: 24.11.2022).

209. Phytochrome and retrograde signalling pathways converge to antagonistically regulate a light-induced transcriptional network / G. Martín, P. Leivar, D. Ludevid [et al.] // *Nature Communications*. – 2016. – Vol. 7. – P. 1–10.

210. Phytochrome B control of total leaf area and stomatal density affects drought tolerance in rice / J. Liu, F. Zhang, J. Zhou [et al.] // *Plant Molecular Biology*. – 2012. – Vol. 78. – P. 289–300.

211. Phytohormones trigger drought tolerance in crop plants: outlook and future perspectives / S. Iqbal, X. Wang, I. [et al.]. – DOI: 10.3389/fpls.2021.799318 // *Frontiers in Plant Science*. – 2022. – Vol. 12. – P. 1–14. – URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2021.799318/pdf> (access date: 24.11.2022).

212. Phytomelatonin receptor PMTR1-mediated signaling regulates stomatal closure in *Arabidopsis thaliana* / J. Wei, D. X. Li, J. R. Zhang [et al.] // *Journal of Pineal Research*. – 2018. – Vol. 65, № 2. – P. 1–11.

213. Pineal hormone melatonin oscillates also in the dinoflagellate *Gonyaulax polyedra* / B. Poeggeler, I. Balzer, R. Hardeland, A. Lerchl // *Naturwissenschaften*. – 1991. – Vol. 78. – P. 268–269.

214. Plant drought stress: effects, mechanisms and management / M. Farooq, A. Wahid, N. Kobayashi [et al.]. – DOI: 10.1051/agro:2008021 // *Agronomy for Sustainable Development*. – 2009. – Vol. 29, № 1. – P. 185–212. – URL: <https://link.springer.com/article/10.1051/agro:2008021> (access date: 24.11.2022).

215. Plant flavoprotein photoreceptors / J. M. Christie, L. Blackwood, J. Petersen, S. Sullivan // *Plant and Cell Physiology*. – 2015. – Vol. 56. – P. 401–413.

216. Priming potato plants with melatonin protects stolon formation under delayed salt stress by maintaining the photochemical function of photosystem II, ionic homeostasis and activating the antioxidant system / M. V. Efimova, E. D. Danilova, I. E. Zlobin [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24, № 7. – P. 1–20.

217. Pryor W. The chemistry of peroxyxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide / W. Pryor, G. Squadrito // *American Journal of Physiology*. – 1995. – Vol. 268. – P. 699–700.

218. Rahman S. A. The effects of spectral tuning of evening ambient light on melatonin suppression, alertness and sleep / S. A. Rahman, M. A. St. Hilaire, S. W. Lockley // *Physiology and Behavior*. – 2017. – Vol. 177. – P. 221–229.

219. Rasmusson A. G. Light and diurnal regulation of plant respiratory gene expression / A. G. Rasmusson, M. Escobar // *Physiologia Plantarum*. – 2007. – Vol. 129. – P. 57–67.

220. Reactive oxygen species (ROS): beneficial companions of plants' developmental processes / R. Singh, S. Singh, P. Parihar [et al.]. – DOI: 10.3389/fpls.2016.01299 // *Frontiers in plant science*. – 2016. – Vol. 7. – P. 1–19. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5037240/pdf/fpls-07-01299.pdf> (access date: 24.11.2022).

221. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death / T. S. Gechev, F. Van Breusegem, J. M. Stone [et al.] // *BioEssays*. – 2006. – Vol. 28. – P. 1091–1101.

222. Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria / N. Navrot, N. Roubier, E. Gelbaye, J.-P. Jacquot // *Physiologia Plantarum*. – 2007. – Vol. 129. – P. 185–195.

223. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms / T. Karuppanapandian, J. C. Moon, C. Kim [et al.] // *Australian Journal of Crop Science*. – 2011. – Vol. 5. – P. 709–725.

224. Reactive oxygen species mediate IAA-induced ethylene production in mungbean (*Vigna radiata* L.) hypocotyls / Y. J. Song, J. H. Joo, H. Y. Ryu [et al.] // *Journal of Plant Biology*. – 2007. – Vol. 50. – P. 18–23.

225. Reiter R. J. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions // *Endocrine Reviews*. – 1991. – Vol. 12. – P. 151–180.

226. Response of plants to water stress / Y. Osakabe, K. Osakabe, K. Shinozaki, L.-S. P. Tran // *Frontiers in plant science*. – 2014. – Vol. 5. – P. 1–8.

227. Ruban A. V. Nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching: mechanism and effectiveness in protecting plants from photodamage. – DOI: 10.1104/pp.15.01935 // *Plant Physiology*. – 2016. – Vol. 170, is. 4. – P. 1903–1916. – URL: [https://academic.oup.com/plphys/article-pdf/170/4/1903/36056223/plphys\\_v170\\_4\\_1903.pdf](https://academic.oup.com/plphys/article-pdf/170/4/1903/36056223/plphys_v170_4_1903.pdf) (access date: 24.11.2022).

228. Savvides A. Co-ordination of hydraulic and stomatal conductances across light qualities in cucumber leaves / A. Savvides, D. Fanourakis, W. van Ieperen. – DOI: 10.1093/jxb/err348 // *Journal of Experimental Botany*. – 2011. – Vol. 63, № 3. – P. 1135–1143. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3276089/pdf/err348.pdf> (access date: 24.11.2022).

229. Scandalios J. G. The rise of ROS // *Trends in Biochemical Sciences*. – 2002. – Vol. 27. – P. 483–486.

230. Schwechheimer C. Multiple ubiquitin ligase-mediated processes require COP9 signalosome and AXR1 function / C. Schwechheimer, G. Serino, X.-W. Deng // *Plant Cell*. – 2002. – Vol. 14. – P. 2553–2563.

231. Sebastian A. Red and blue lights induced oxidative stress tolerance promote cadmium rhizocomplexation in *Oryza sativa* / A. Sebastian, M. N. V. Prasad. – DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2013.12.011 // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – 2014. – Vol. 137. – P. 135–143. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1011134413002911> (access date: 24.11.2022). – Access mode: for registered users.

232. Short-wavelength attenuated polychromatic white light during work at night: limited melatonin suppression without substantial decline of alertness / M. van de Werken, M. C. Gimenez, B. de Vries [et al.] // *Chronobiology International*. – 2013. – Vol. 30. – P. 843–854.

233. Strategies to maintain redox homeostasis during photosynthesis under changing conditions / R. Scheibe, J. E. Backhausen, V. Emmerlich, S. Holtgreffe. – DOI: 10.1093/jxb/eri181 // *Journal of Experimental Botany*. – 2005. – Vol. 56. – P. 1481–1489. – URL: <https://academic.oup.com/jxb/article/56/416/1481/459372> (access date: 24.11.2022).

234. Synergistic effects of melatonin and distinct spectral lights for enhanced production of anti-cancerous compounds in callus cultures of *Fagonia indica* / T. Khan, M. A. Ullah, L. Garros [et al.]. – DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2018.10.010 // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – 2019. – Vol. 190. – P. 163–171. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1011134418305736> (access date: 24.11.2022). – Access mode: for registered users.

235. Thapan K. An action spectrum for melatonin suppression: evidence for a novel non-rod, non-cone photoreceptor system in humans / K. Thapan, J. Arendt, D. J. Skene // *Journal of Physiology*. – 2001. – Vol. 535. – P. 261–267.

236. The activity of the peroxidase system in the course of stress-induced CAM development / N. I. Shevyakova, L. A. Stetsenko, A. B. Meshcheryakov, V. V. Kuznetsov // *Russian Journal of Plant Physiology*. – 2002. – Vol. 49. – P. 598–604.

237. The effect of blue-lightemitting diodes on antioxidant properties and resistance to *Botrytis cinerea* in tomato / K. Kim, H. S. Kook, Y. J. Jang [et al.] // *Journal of Plant Pathology and Microbiology*. – 2013. – Vol. 4. – P. 1–5.

238. The impact of the phytochromes on photosynthetic processes / V. D. Kreslavski, D. A. Los, F. J. Schmitt [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2018. – Vol. 1859. – P. 400–408.

239. The melatonin receptor CAND2 is involved in the regulation of photosynthesis and chloroplast gene expression in *Arabidopsis thaliana* under photooxidative stress / I. A. Bychkov, N. V. Kudryakova, E. S. Pojidaeva, V. V. Kusnetsov // *Photosynthetica*. – 2021. – Vol. 59, № 4. – P. 683–692.

240. The priming of potato plants induced by brassinosteroids reduces oxidative stress and increases salt tolerance / M. V. Efimova, V. A. Khripach, E. V. Boyko [et al.] // *Doklady Biological Sciences*. – 2018. – Vol. 478, № 1. – P. 33–36.

241. The RNA-seq approach to discriminate gene expression profiles in response to melatonin on cucumber lateral root formation / N. Zhang, H. J. Zhang, B. Zhao [et al.] // *Journal of Pineal Research*. – 2014. – Vol. 56. – P. 39–50.

242. The Role of Phyto-Melatonin and Related Metabolites in Response to Stress / Y. Yu, Y. Lv, Y. Shi [et al.] // *Molecules*. – 2018. – Vol. 23. – P. 1887.

243. The UVR8 UV-B Photoreceptor: perception, signaling and response / K. Tilbrook, A. B. Arongaus, M. Binkert [et al.]. – DOI: 10.1199/tab.0164 // *Arabidopsis book*. – 2013. – Vol. 11. – P. 1–21. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3711356/pdf/tab.0164.pdf> (access date: 24.11.2022).

244. Transcriptomic and metabolomic analyses reveal that melatonin promotes melon root development under copper stress by inhibiting jasmonic acid biosynthesis / Z. Hu, Q. Fu, J. Zheng [et al.]. – DOI: 10.1038/s41438-020-0293-5 // *Horticulture Research*. – 2020. – Vol. 7. – P. 1–15. – URL: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7261800/pdf/41438\\_2020\\_Article\\_293.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7261800/pdf/41438_2020_Article_293.pdf) (access date: 27.10.2023).

245. UV-B specific signaling component orchestrates plant UV protection / B. A. Brown, C. Cloix, G. H. Jiang [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. USA. – 2005. – Vol. 102. – P. 18225–18230.

246. Vanstraelen M. Hormonal interactions in the regulation of plant development / M. Vanstraelen, E. Benkova // Annual Review of Cell and Developmental Biology. – 2012. – Vol. 28, № 1. – P. 463–487.

247. Venturas M. D. Plant xylem hydraulics: What we understand, current research, and future challenges / M. D. Venturas, J. S. Sperry, U. G. Hacke // Journal of Integrative Plant Biology. – 2017. – Vol. 59, № 6. – P. 356–389.

248. Vivien-Roels B. Melatonin: presence and formation in invertebrates / B. Vivien-Roels, P. Pevet // Experientia. – 1993. – Vol. 49, № 8. – P. 642–647.

249. Wang X. Interaction of cryptochrome 1, phytochrome, and ion fluxes in blue-light-induced shrinking of *Arabidopsis* hypocotyl protoplasts / X. Wang, M. Lino // Plant Physiology. – 1998. – Vol. 117 – P. 1265–1279.

250. Wang Y. H. Developing a model of plant hormone interactions / Y. H. Wang, H. R. Irving. – DOI: 10.4161/psb.6.4.14558 // Plant Signaling and Behavior. – 2011. – Vol. 6, № 4. – P. 494–500. – URL: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.4161/psb.6.4.14558?needAccess=true> (access date: 24.11.2022).

251. Water availability as dominant control of heat stress responses in two contrasting tree species / N. K. Ruehr, A. Gast, C. Weber [et al.]. – DOI: 10.1093/treephys/tpv102 // Tree Physiology. – 2016. – Vol. 36. – P. 164–178. – URL: <https://academic.oup.com/treephys/article/36/2/164/2364606> (access date: 24.11.2022).

252. Yoon Y. Foliar accumulation of melatonin applied to the roots of maize (*Zea mays*) seedlings / Y. Yoon, M. Kim, W. Park // Biomolecules. – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 1–9.

253. Zoltowski B. D. Structure and function of the ZTL/FKF1/LKP2 group proteins in *Arabidopsis* / B. D. Zoltowski, T. Imaizumi // Enzymes. – 2014. – Vol. 35. – P. 213–239.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

## Карты декадного мониторинга атмосферных и почвенных засух

(справочное)

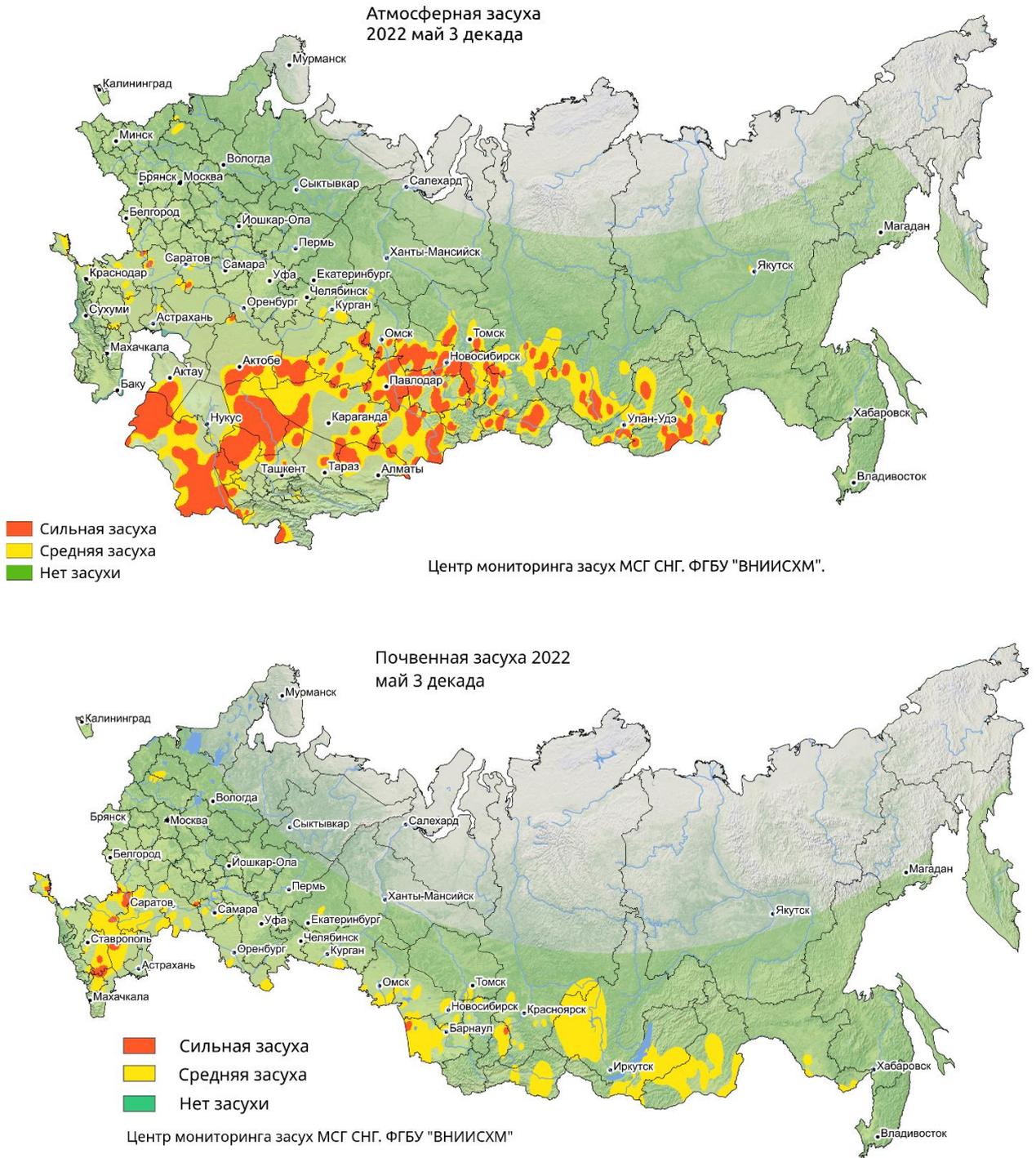


Рисунок А.1 Карты декадного мониторинга атмосферных и почвенных засух территорий СНГ май 2022 г.

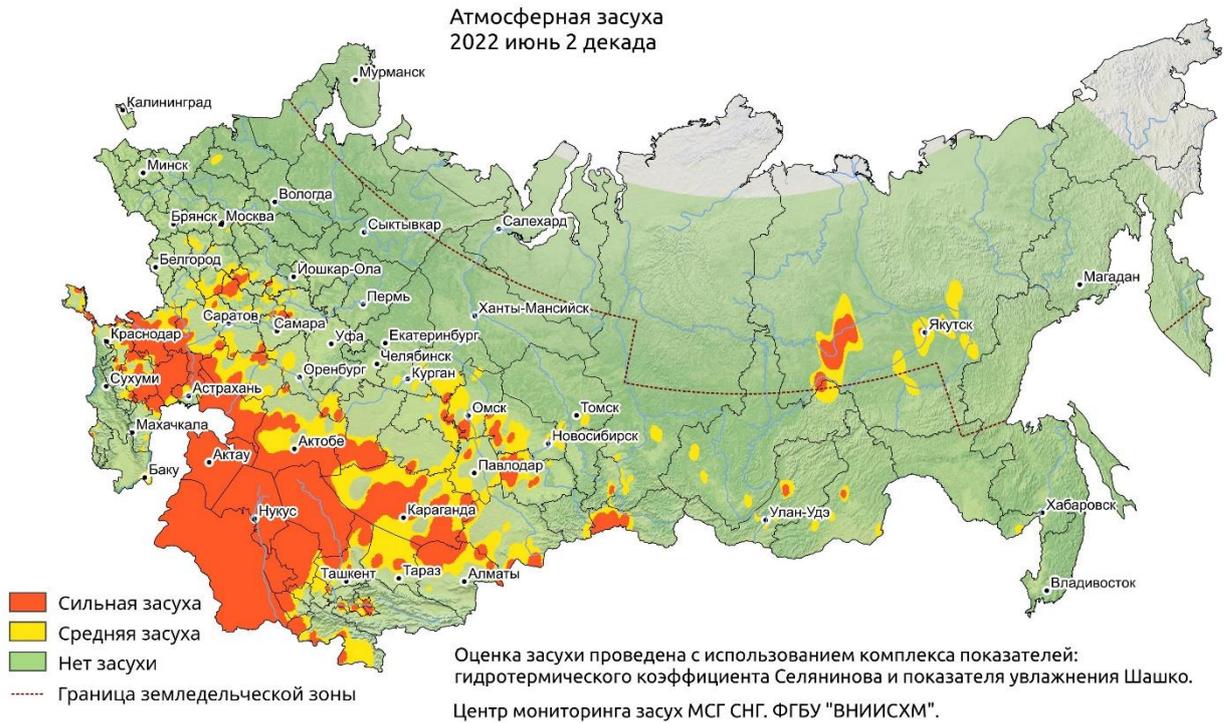


Рисунок А.2 Карты декадного мониторинга атмосферных и почвенных засух территорий СНГ июнь 2022 г.

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Награды за участие в научных мероприятиях

XI Международный биотехнологический  
Форум-выставка «РосБиоТех -2017»

23-25 мая 2017г.



## ДИПЛОМ

награждается золотой медалью

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский  
Томский государственный университет»Технология применения селена и мелатонина для  
повышения продуктивности растений»Головацкая И.Ф., Бойко Е.В., Видершпан А.Н.,  
Симон Е.В., Чигинцова А.Е., Плюснин И.Н.,  
Лошкарева Т.В., Лаптев Н.И.Председатель Оргкомитета  
Академик РАН, член Президиума РАН

Лисицын А.Б.

# XII Международный биотехнологический Форум-выставка «РосБиоТех -2018»

2 – 4 октября 2018 г.



## ДИПЛОМ

**награждается золотой медалью**

**Конкурс инновационных разработок и проектов  
в области биотехнологий**

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский  
государственный университет»

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
«Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН»

**Способ повышения продуктивности растений мелатонином в норме и  
при абиотическом стрессе**

Ефимова М.В., Данилова Е.Д., Коломейчук Л.В., Малофий М.К., Бойко Е.В.,  
Кайлер О.А., Холодова В.П., Васильев С.В., Кузнецов Вл.В.

Председатель Оргкомитета  
Академик РАН, член Президиума РАН

Лисицын А.Б.



**XV МЕЖДУНАРОДНЫЙ BIOTEХНОЛОГИЧЕСКИЙ  
ФОРУМ-ВЫСТАВКА «РОСБИОТЕХ-2021»**

**15-17 ноября 2021 г.**



# Диплом

**НАГРАЖДАЕТСЯ**

**Золотой медалью**

Национальный исследовательский  
Томский государственный университет

***Применение антиоксидантов в качестве регуляторов  
продуктивности и вторичного метаболизма растений и  
их клеточной культуры in vitro***

Головацкая И.Ф., Бойко Е.В., Кадырбаев М.К., Савельева М.В.,  
Медведева Ю.В., Лаптев Н.И., Матвейкина Д.А., Кононенко В.Н.

**Председатель Программного  
комитета, академик РАН**

**А.Б. Лисицын**



**НИИ РИНКЦЭ**



**Иноватика Экспо**



**XV ЮБИЛЕЙНЫЙ МЕЖДУНАРОДНЫЙ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ  
ФОРУМ-ВЫСТАВКА «РОСБИОТЕХ»**

**26-28 апреля 2022 г.**



# Диплом

**НАГРАЖДАЕТСЯ**

**Золотой медалью**

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский  
Томский государственный университет»

***Способ повышения продуктивности и вторичного метаболизма  
хозяйственно-ценных растений и  
их клеточных культур in vitro***

Головацкая И.Ф., Бойко Е.В., Филонова М.В., Кадырбаев М.К., Савельева М.В.,  
Плюсин И.Н., Медведева Ю.В., Лаптев Н.И., Матвейкина Д.А., Кононенко В.Н.

**Председатель Программного  
комитета, академик РАН**

**А.Б. Лисицын**



**Иноватика Экспо**