
ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

УДК 581.132

DOI 10.31654/2786-8478-2025-BN-2-33-42

Броннікова Л. І.^{1,2}

Аспірант кафедри фізіології та інтродукції рослин

¹Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара

Молодший науковий співробітник відділу генетичної інженерії

²Інститут фізіології рослин і генетики НАН України

Zlenko_lora@ukr.net

orcid.org/0000-0002-8103-0548

**ВПЛИВ ЗАСОЛЕННЯ НА СКЛАД ХЛОРОФІЛІВ У РОСЛИН ТЮТЮНУ,
ОТРИМАНИХ КЛІТИННОЮ СЕЛЕКЦІЄЮ З ІОНАМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

Засолення гальмує життєдіяльність рослини, змінює його в процесі онтогенезу. Початкові стадії визначають характеристики інтегрального метаболізму, дозволяють розрізняти генотипи за рівнем стрес-стійкості. Метою експерименту був аналіз реакцій генотипів тютюну на модельоване засолення.

60-ти добові рослини тютюну генотипів Самсун і Дюбек були отримані методом клітинної селекції з катіонами Ba^{2+} і Cd^{2+} . Вони являли собою насіннєві покоління R1 і R2 регенерантів R0 стійких клітинних ліній і тестувались у водному розчині за умов модельованого засолення. Стрес створювали додаванням природної комплексної речовини – солей морської води, 20,0 г/л, а також чистих сполук – NaCl або Na_2SO_4 . Їхня концентрація містила однакову кількість токсичного катіону Na^+ і відрізнялась величиною осмотичної складової стресу. Для оцінки впливу модельованого засолення було обрано показники якісного та кількісного складу зелених хлорофілів а і b. Хлорофіла і b та їхнє співвідношення $Chla/Chlb$ є динамічними параметрами, залежними від впливу оточуючих факторів. Вони фіксують зміни активності систем синтезу в широкому діапазоні хвиль поглинання. Стійкість тестованих форм тютюну проявлялась на 3-тю добу у формі амплітудних флуктуацій, характерних для генотипу. Стійкі форми відзначались синхронними генотипово обумовленими модифікаціями, а саме: зміщенням співвідношення $Chla/Chlb$ у бік підвищеної акумуляції хлорофілу b. При цьому така тенденція проявлялась в рослинах обох насіннєвих поколінь. У контрольних варіантів спостерігали індивідуальні неупорядковані дії. Переваги довільних якісних і кількісних даних були проявом патологічного процесу.

Отже, клітинна селекція з іонами Ba^{2+} і Cd^{2+} є креативною системою для виділення генетично змінених форм тютюну із підвищеним рівнем стійкості до засолення. Селективна ознака експресується як на клітинному рівні, так і у інтактних рослин.

Ключові слова: тютюн, клітинна селекція з іонами барію, Ba^{2+} і кадмію, Cd^{2+} , засолення, стійкість.

Вступ. Абіотичні стреси докiлля спричиняють широкий шкодочинний вплив на генофонд всiєї планети. Одним iз найбільш рiзноспрямованих факторiв є засолення [1, 2]. Воно може бути первинним в окремих типах ґрунтiв або вторинним. Останнє особливо небезпечне, оскiльки виникає внаслiдок господарської дiяльностi людини, є непрогнозованим за якiсним та кiлькiсним складом i темпом поширення. З огляду на це особливо актуальним є моделювання та порiвняльнi дослідження рiзних типiв засолення. Загальновiдомим фактом є ступiнь стiйкостi рослин до засолення. У широкому спектри генотипи розподiляються вiд глiкофiтiв (дуже чутливи) до галофiтiв – солестiйких. Типовим глiкофiтом є тютюн (*Nicotana tabacum* L.). Тютюн посiдає виняткове мiсце серед рослин. Ця рослина є важливою непродовольчою культурою за матерiальним внеском [3, 4]. З теоретичної точки зору цю рослину поряд iз арабiдопсисом залучають як модельний об'єкт при дослідженнi фiзiологiчних, бiохiмiчних, молекулярно-бiологiчних показникiв життєдiяльностi за нормальних умов, а також за дiї бiотичних та абiотичних стресiв [5, 6]. В той же час на противагу арабiдопсису тютюн не має природного аналогу за рiвнем стрес-стiйкостi. Тому порiвняльнi дослідження iз залученням тютюну коректнi при використаннi аналогових рослинних систем, отриманих iз рослин дикого типу.

Методом клiтинної селекцiї були отриманi генетично змiненi форми *Nicotiana tabacum* L. Цей метод передбачає послiдовну низку манiпуляцiй, спрямованих на видiлення об'єкту iнтересу.

Ключовим моментом загального протоколу методу є створення селективної системи iз токсичним чинником заздалегiдь запрограмованої дiї. Нами вперше запропонована та практично опрацьована гiпотеза про можливiсть використання деяких iонiв важких металiв (IBM) для отримання клiтинних лiнiй рослин, стiйких до осмотичних стресiв – засолення та водного дефiциту. З огляду на певнi фiзiологiчнi властивостi були обранi катiони барiю, Ba^{2+} i кадмiю, Cd^{2+} [7, 8]. Були видiленi стiйкi до цих iонiв клiтиннi лiнiю тютюну. При тестуваннi (вирощуваннi) в умовах прямої дiї осмотичних стресiв клiтиннi культури росли та розвивались. В подальшому iз стiйких клiтинних варiантiв були регенерованi рослини R0.

Iз рослин регенерантiв R0 були отриманi насiннєвi поколiння R1 i R2, якi були об'єктами дослідження. Нерiдко рослини, отриманi методом клiтинної селекцiї, не вiдзначаються характеристиками клiтинної культури. В iншому разi показники є властивiстю iнтактної рослини. Це стосується комплексу пiгментiв фотосинтезу, особливо хлорофiлiв *a* i *b* – Chla, Chlb.

Встановлено, що кiлькiсний та якiсний склад пiгментiв обумовлений функцiональним станом органiзму рослин, котрий, у свою чергу, залежить вiд зовнiшнього впливу – нормальнi умови (н.у.) vs стрес.

З огляду на це **метою дослідження було** вивчення динамiки акумуляцiї хлорофiлiв *a* i *b*, *a/b*–спiввiдношення в листках експериментальних рослин тютюну за умов модельованого засолення рiзного складу, а також порiвняння активностi синтезу пiгментiв у рiзних насiннєвих поколiннях.

Методика проведення експерименту охоплює декiлька незалежних напрямкiв. Першим етапом був вiдбiр насiння. Сумiш насiння декiлькох рослин згiдно правил зберiгається у сухому виглядi для запобiгання псуванню. Для дослiду насiння тонким шаром розкладали на зволоженому дистильованою водою фiльтрувальному паперi при звичайному освiтленнi та кiмнатнiй температурi. За таких умов насiння витримувалось впродовж 60 дiб. За цей перiод молодi рослини формували вегетативнi органи – кореневу систему та хлорофiлоноснi наземнi органи. Оскiльки розмiр рослин потребував попередження механiчних ушкоджень, то рослини вертикально розмiщували у спецiальних ємностях iз рiдкою водно-ґрунтовою суспензiєю. Пiсля завершення пророщування (60-та доба) проростки аналогiчного розмiру переносили на 3 доби на водний розчин солей рiзного складу та концентрацiї.

Моделльне засолення створювали додаванням солей морської води (морська сіль) 20,0 г/л. Морська сіль за хімічним складом є сульфатно-хлоридним засоленьням із додатковим включенням ряду інших мінерних іонів. Морська сіль найбільш адекватно імітує природне засоленьня. Для отримання спеціальної інформації були обрані чисті сполуки, а саме: хлорид натрію (NaCl) і сульфат натрію (Na₂SO₄). Це робилось із наступною метою. До цього часу дискутується питання про пріоритетність впливу засоленьня – осмотичне навантаження або токсична дія катіонів натрію (Na⁺). В цьому разі порівнянню підлягала лише осмотична складова.

Після витримування за стресових умов із дослідних рослин відокремлювались висічки хлорофіловмісних тканин однакового розміру. З урахуванням загальної маси їх переносили у пробірки, заливали однакоим об'ємом диметилсульфоксиду (ДМСО) та витримували без освітлення до повного екстрагування пігментів (обезбарвлення тканин). По закінченню екстрагування процес зупиняли нагріванням. Після охолодження з кожної пробірки відбирали рівні об'єми рідини для встановлення розведення. В нашому досліді воно склало 1:5 (V/V). Після проведення розведення аналітичної суміші з кожної пробірки відбирали ідентичні за об'ємом проби у кювету для визначення пігментів.

Вимірювання та аналіз зелених пігментів організовували за методом A.Wellburn, 1994 [9]. Серед чисельних методів було обрано саме його. Суть цього методу полягає у створенні сольвентної системи, котра водночас є системою вимірювання. У такий спосіб втрати практично відсутні. Серед досліджених автором розчинників найбільші переваги має ДМСО, оскільки без наведених помилок спрацьовує у широкому діапазоні хвиль поглинання. Даний факт є вельми коректним при визначенні хлорофілів *a* і *b*, для яких застосовуються хвилі різної довжини. Додатковим позитивом ДМСО є його безпека для вимірювача [10].

Пігменти вимірювали на аналітичному приладі SPECORD – 200 (Німеччина). Дане устаткування оснащено спеціальним пакетом програм для автоматичного нівелювання стандартних відхилень, які завжди мають місце при порівняльному вимірюванні кількісних параметрів біологічних повторюваностей (похибки методу та похибки окремої проби). Тому дані таблиць, котрі наводяться у тексті, є автоматично обробленими програмою приладу.

Результати аналізу пігментів викладено у таблицях. Хлорофіл *a*, Chl *a* вимірювався при довжині хвилі поглинання 480 нм та 649 нм; хлорофіл *b* – 665 нм почергово в одній пробі.

Характерні індивідуальні особливості структури і функції хлорофілів *a* і *b* наразі встановлені. Так, хлорофіл *a* є основним пігментом. Він головним чином поглинає опромінення у оранжевій і фіолетово-голубій областях спектру. Як складова антенного комплексу він передає резонансну енергію допоміжним хлорофілам, а саме хлорофілу *b* [11 - 13]. Цей пігмент поглинає світло переважно у синій частині спектру, оскільки забарвлений у жовто-зелений колір. Форми хлорофілів різняться за типом групи замісника, а саме: в структурі хлорофілу *a* розташована метильна група, а в другому випадку – альдегідна. Співвідношення Chl*a*/Chl*b*, як 3:1, як правило порушується при зниженні вмісту азоту у листових хлорофілоносних тканинах. Ця подія виникає як результат несприятливого впливу зовнішніх факторів на активність синтезу пігментів. Табличні дані відтворюють пігментний статус рослин тююну за дії модельованого засоленьня; генотипи Самсун і Дюбек. Дані представлені з урахуванням маси хлорофілоносних тканин і розведення. Чисельні показники заокруглені до четвертого знаку.

Таблиця 1 представляє параметри рослин дикого типу (контроль); солі морської води, 20,0 г/л.

Таблиця 1

Вміст хлорофілів *a* і *b* в рослинах дикого типу за дії короткочасного модельованого засолення; солі морської води, 20,0 г/л.

Генотипи	Варіанти	Форми пігментів		
		Chla	Chlb	Chla+b
Самсун, К	1	1,1533	0,4799	1,6333
	2	1,1491	0,4633	1,6124
	3	0,9749	0,2997	1,2746
Дюбек, К	1	1,3366	0,5538	1,9004
	2	1,3063	0,5545	1,8608
	3	1,3339	0,5301	1,8641

Тиск жорсткого засолення проявлявся вже на третю добу – співвідношення Chla\Chlb, як 3:1 порушено у рослин дикого типу. Відмічено різницю між генотипами, а саме: у генотипу Самсун спостерігали певні флуктуації вмісту хлорофілу *b*. У генотипу Дюбек цього на той час не відбувалось. На нашу думку цей факт може свідчити на користь розбалансування систем синтезу пігментів у рослин Самсун, що проявлялось у перевазі індивідуальних неупорядкованих змін над генотиповим спрямуванням.

Серед недоліків методу клітинної селекції вище ми вказували на відсутність експресії характеристики клітинної лінії у інтактної рослини. Тому, ми аналізували вміст пігментів у насіннєвих поколіннях R1 і R2. Отримані числові показники були ідентичними як для генотипу Самсун так і для генотипу Дюбек. Тобто генотипової різниці не проявлялось. Тому, в **таблиці 2** ми обмежились наведенням лише параметрів генотипу Самсун.

Таблиця 2

Вміст хлорофілів *a* і *b* в рослинах тютюну, отриманих методом клітинної селекції з іонами важких металів, за дії короткочасного модельованого засолення, солі морської води; 20,0 г/л

Генотипи, покоління	Варіанти	Форми пігментів		
		Chla	Chlb	Chla+b
Самсун, R1	1	0,6439	0,2967	0,9405
	2	0,7090	0,3001	1,0100
	3	0,5120	0,2252	0,7372
Самсун, R2	1	0,7716	0,3659	1,1374
	2	0,7445	0,3429	1,0873
	3	0,7321	0,3278	1,0599

Аналіз отриманих показників може вказувати на зміну характеру функціонування біологічного об'єкту. Підтверджується динамізм організації процесів синтезу хлорофілів та їх відображення на акумуляції пігментів.

Навіть короткочасний тиск засолення викликав порушення співвідношення Chla/Chlb = 3:1. Можливо це було наслідком збільшення активності системи синтезу хлорофілу *b*, оскільки ця форма входить у світлозбиральний комплекс фотосистеми II [13]. Різниці у формуванні пігментного статусу між рослинами R1 і R2 не відмічали, що на нашу думку, може вказувати на системне (упорядковане) спрямування реакцій. Причому цей тренд зберігався у поколіннях досліджуваних форм. Так, співвідношення Chla\Chlb у R2 рослин генотипу Самсун (в таблиці 2) було порядку ~ 2, аналогічні показники були отримані і для генотипу Дюбек.

Додатковим аргументом на користь цього припущення може бути інформація про спосіб виділення стійкої клітинної лінії. Так, до процедури клітинної селекції були залучені катіони Ba^{2+} та Cd^{2+} . Їхні властивості суттєво відрізняються.

За н.у. метаболізм (функціонування) інтактної рослини залежить від осмотичного потенціалу, величина якого змінюється в границях рослини, а саме: в кореневій зоні потенціал перебуває на рівні $-0,5 \sim -1,0$ МПа. Такий стан обумовлює транспорт води та мінеральних осмотично активних сполук. Останні акумулюються в вакуолях клітин, вони є продуктом інтегрального метаболізму. В загальному випадку величина осмотичного потенціалу залежить від температури та інтенсивності освітлення.

З іншого боку ступінь інсоляції впливає на активність систем синтезу хлорофілів *a* і *b* та співвідношення $Chla/Chlb$. Таким чином, виникає координація осмос – інсоляція. Оскільки осмотичний потенціал водних розчинів завжди від'ємний із збільшенням концентрації цей параметр знижується.

Зрозуміло, що засолення суттєво впливає на транспорт води. З огляду на це були створені модельні системи, котрі мали однакову концентрацію токсичних іонів Na^+ . Для цього залучались чисті речовини $NaCl$ і Na_2SO_4 . За нашим припущенням такі модельні системи спрямовані на визначення ролі первинного модератора осмотичного тиску. Невеликий термін впливу (3 доби) мінімально торкався переміщення аніонів Cl^- і SO_4^{2-} [4].

Як відомо, при засоленні токсичні катіони Na^+ заміщують в клітинах фізіологічно актуальні катіони K^+ (витискують назовні де вони можуть зв'язуватись з аніонами Cl^- та SO_4^{2-}) [14].

Аналіз показників пігментів в таблиці 3 виявив певні аналогії між генотипами. По-перше, відзначаються динамічні коливання, незалежні від типу чистої сполуки. По-друге, співвідношення $Chla/Chl b$ зміщено в бік хлорофілу *b*.

Таблиця 3

Вміст хлорофілів *a* і *b* в експериментальних рослинах тютюну генотипів Самсун і Дюбек за дії короткочасного засолення, створеного однаковою кількістю катіонів натрію Na^+

Генотип, чиста сполука	Варіанти	Форми пігментів		
		Chla	Chlb	Chla+b
Самсун, $NaCl$	1	1,1442	0,4368	1,5810
	2	1,0018	0,3822	1,3839
	3	0,9964	0,4022	1,3486
Самсун, Na_2SO_4	1	3,1266	1,0178	2,1443
	2	2,5025	0,9932	3,3956
	3	2,5687	0,9766	3,5452
Дюбек, $NaCl$	1	1,8393	0,7111	2,5504
	2	1,0098	0,3889	1,3987
	3	0,8921	0,3502	1,2423
Дюбек, Na_2SO_4	1	2,1455	0,7495	2,8950
	2	1,8841	0,7234	2,6063
	3	1,7212	0,6602	2,3814

Є літературні дані, в яких відмічено наявність суттєвих коливань хлорофілів. Так О.Присяжнюк і І.Коровко, 2015 зафіксували такі події у цукрових буряків на різних стадіях онтогенезу. У першій половині вегетації у листках переважав синтез хлорофілу *b*, тоді як у другій половині, навпаки, хлорофілу *a* [15]. В іншій публікації відзначалося залежність розподілу пігментів в залежності від фізіологічного спрямування певних органів [16].

Отже, явище зміни складу - співвідношення хлорофілів є проявом динамічного спрямування загального метаболізму.

Таким чином, на нашу думку, коливання чисельних показників (варіантів в межах генотипу) можливо є швидкою реакцією на тиск стресового чинника. Подібні факти отримані при дослідженні рослин сосни різного ступеня ураження грибним патогеном соснового вертуна. Так, співвідношення між зеленими та жовтими пігментами знижувалася в межах 10,5 ~ 22,% при зростанні масштабів грибного патогенезу [17].

У такий спосіб можуть проявлятися як особливості дискретного пігменту, так і інтегральні показники пігментного статусу.

Н.Левчик із співав., 2023 визначали вміст хлорофілів *a*, *b* і каротиноїдів а також співвідношення вмісту пігментів між собою. Дане вимірювання дозволило зробити висновок про особливість фотосинтетичної та метаболічної активності рослин. Зміна співвідношення пігментів може бути пов'язана з проявом стресової відповіді на біотичні та абіотичні чинники. Екстракція ДМСО при температурі 65°C з подальшою фотометрією на трьох довжинах хвиль 480, 649, 665 нм дозволила провести надійний кількісний аналіз хлорофілів *a*, *b* і каротиноїдів у трьохтижневих проростків гірчиці сарептської, крес-салату, шпинату городнього масою 10,0 мг. У проростків оброблених наночастинками срібла були відзначені зміни у співвідношенні пігментів, характерні для розвитку стресової відповіді [10].

У загальному випадку кожний окремих пігмент працює із оптимальною активністю у конкретній області спектру. Сумісно в процесі фотосинтезу рослини поглинають енергію у широкому діапазоні хвиль від 380 до 710 нм, який має назву зона активної радіації (ФАР) [13]. Така активність можлива у випадку динамічної організації систем синтезу пігментів, а також швидкої переорієнтації напрямків реакцій. Особливого значення це набуває за умов змін характеру зовнішніх факторів. У свою чергу зовнішній пресинг може модифікувати як поступове посилення дії конкретного агента додаванням інших чинників. В останньому випадку існує вірогідність кардинальних змін. Тому адекватність реакцій дискретної структури забезпечує інтегральну поведінку цілісного організму [18 - 20].

Природне засолення є стресором, котрий одночасно порушує як осмотичний, так і йонний баланси рослинного організму. Однак, цей дуалізм проявляється виключно у вегетуючої рослини, оскільки насіння – це консервативна стадія, а за стресових умов всі фізіологічні реакції, спрямовані на проростання, ріст і розвиток, загальмовані повністю. Розкриття особливостей генотипу (фенотипові прояви) можливі за умов модельованого засолення. У такий спосіб створюються передумови для розділення патологічних складових засолення. Швидкість сприйняття стресового сигналу, може в подальшому сприяти спрямуванню онтогенезу, а у випадку дії жорсткого засолення, навіть виживанню організму.

При аналізі фенотипових реакцій важливо розрізняти реакції стресу та реакції адаптації. Для цього доцільно залучати показники, які адекватно відображають *modus vivendi*. Характер акумуляції хлорофілів *a* і *b* а також співвідношення Chl*a*/Chl*b*, на нашу думку, створюють можливість охарактеризувати генотип з боку чутливості – стійкості до засолення. Вибір об'єкту експерименту та організація комплексної модельної системи є гарантованою умовою відбору генетично змінених форм.

В процесі росту та розвитку рослина зазнає суттєвих змін в акумуляції пігментів. Тому доцільно заздалегідь визначати стадію онтогенезу, в ході якої генотипові різниці будуть найбільш виразними. Порівняльний аналіз, здійснений за н.у. та за умов засолення надасть інформацію стосовно послідовного формування адаптивних модифікацій у стійких варіантів.

Якщо розглядати продукт фотосинтезу з боку дії на біологічний організм, то встановлено, що хлорофіли (хлорофіл *a*) є природним антиоксидантом. У практиці нативний хлорофіл застосовується як харчовий барвник Е-140, а його похідна сполука як харчовий барвник Е-141. У 2015 році Європейське Агентство із Безпеки продуктів харчування EFSA зробило висновок про відсутність фактів про небезпеку хлорофілів для людини.

Висновки.

1. Модельоване засолення – експериментальна тест-система, спрямована на оцінку сукупного стресового тиску, а також для визначення осмотичної та іонної складових стресора.
2. 60-ти добові рослини тютюну генотипів Самсун і Дюбек зі сформованими вегетативними органами є початковою аналітичною точкою диференціації стійких і чутливих форм.
3. Стійкість генотипів тютюну до модельованого засолення проявляється у формі швидких реакцій на дію стресового чинника на 3-тю добу.
4. Вміст зелених пігментів, хлорофілів *a* і *b*, а також співвідношення *a/b* є динамічним показником характеру загальних змін метаболізму за дії засолення. Амплітуди коливань є відображенням особливостей генотипу. Перевага індивідуальних якісних і кількісних даних над генотиповими є показником патологічного процесу.
5. Клітинна селекція з іонами важких металів – креативна модельна система для виділення генетично змінених форм тютюну із підвищеним рівнем стійкості до засолення. Селективна ознака експресується як на клітинному рівні, так і на рівні інтактної рослини, не втрачаючись у насінневих поколіннях.

Література

1. Cook B.I., Mankin J.S., Anchukaitis K.J. Climate change and drought: from past to future. *Curr. Clim Change Rep.* 2018, 4, 164 – 179 <https://doi.org/10.1007/s40641-018-0093-2>
2. Osakabe Y., Osakabe K., Shinozaki K., Tran L.S. Response of plants to water stress. *Front. Plant Sci.* 2014. <https://doi.org/3389/fpls.2014.00086>
3. Yang P., Drohan P.J., Long H., Yang M., Bian Y., Ma E. Water use efficiency, yield and quality of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) using negative pressure irrigation. *Industrial Crops and Products.* 2022. 178, 114552 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114552>
4. Ding H., Wang S., Zhang Y., Dong J., Zhang R., Zhng B., Ma S., Liu D., Cui R., Chen B., Wang Q., Sun J., Xing S., Wang Z., Zhang H. Investigation into the impact of chloride ion uptake inhibitors on tobacco plants. *Frontiera in Soil Science.* 2025. 5.1554922 <https://doi.org/10.3389/fsoil.2025.1554922>
5. Seung - A Baek, Taejun Han, Soon – Kil, Ahn, Hara Kang, Myung Chao, Suk-Chan Lee, Kyung – Hoanlm. Effects of heavy metal on plant growth and pigment contents in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Pathol. J.* 2012, 28(4), 446 – 452 <https://doi.org/10.5423/PPJ.NT.01.2012.0006>
6. Yavary N., Gazestani V.H., Wu B.S., MacPherson S., Kushalappa A., Lefsrn M.G. Comperative proteomics analysis of *Arabidopsis thaliana* response to light emitting diode of narrow wavelength 450nm, 595 nm, and 650 nm. *J. Proteomics.* 2022. 265, 104635 <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2022.104635>
7. Sergeeva L.E., Bronnikova L.I. Cadmium ions in cell selection for obtaining wheat cell forms tolerant to water stress. *Cherkasy University Bulletin: Biologycal Science Series.* 2019. 2, 74 – 80 <https://doi.org/10.31651/2076-5835-2018-1-2019-2-74-80>
8. Sergeeva L.E., Bronnikova L.I. Cell selection with barium ions for obtaining genetically modified tobacco. *Cherkasy University Bulletin: Biologycal Science Series.* 2020. 1, 71 – 78 <https://doi.org/10.31651/2076-5835-2018-1-2020-1-71-78>
9. Ashenafi E.L., Nyman M.C., Shelley J.T., Mattson N.S. Spectral properties and stability of selected carotenoid and chlorophyll compounds in different solvent systems. *Food Chemistry Advances.* 2023. 2, 100178 <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100178>
10. Левчик Н.Я., Скрипка Г.І., Левон В., Любінська А.В. Закрасов О.В., Горбенко Н.С. Зміна вмісту фотосинтетичних пігментів у листках *Plox paniculata* L. під впливом збудника борошнистої роси в умовах НБС М.М.Гришка НАН України. *Науковий вісник НЛТУ України.* 2023. 33, 1, 22 – 35 <https://doi.org/10.36930/40330104>
11. Zhu X.-G., Long S.P., Ort D.R. Improving photosynthesis efficiency for greater yield. *Annu.Rev.Plant Biol.* 2010. 61, 35 – 261 <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112206>

12. Zhu X.-G., Long S.P., Ort D.R. What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass. *Curr.Opin.Biotechnol.* 2008. 19, 153 – 159 <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.02.004>
13. Shevchenko V.V., Bondarenko O. Yu., Korniyev D.Yu. Short-term heating causes thylakoid restructuring in pea chloroplasts and modifies spectral properties of pigment – protein complexes. *Фізіологія рослин і генетики.* 2022. 54(2), 34 – 147 <https://doi.org/10.15407/frg2022.02.134>
14. Liu H.Y., Sun W.-H., Su W.A., Tang Z.C. Cu-Regulation of water channels and potassium channels in rice. *Physiologia Plantarum.* 2006, 128, 58 – 69 n complexes. *Фізіологія рослин і генетики.* 2022. 54(2), 34 – 147 <https://doi.org/10.15407/frg2022.02.134>
15. Присяжнюк О. І. Коровко І.І. Динаміка вмісту хлорофілів у листках цукрового буряку. *Новітні агротехнології.* 2015, 1(3), 11 – 29 [https://doi.org/10.21498/na.1\(3\).2015.118908](https://doi.org/10.21498/na.1(3).2015.118908)
16. Бабенко Л.М., Косаківська І.В.Особливості пігментного складу та ультраструктурної будови хлоропластів рослин різних таксонів. *Фізіологія рослин і генетика.* 2017. 49(1)б 25 – 35 <https://doi.org/10.15407/frg.2017.01.025>
17. Рибак І.О., Шепелюк М. Вміст пластидних пігментів у дерев сосни звичайної уражених сосновим вертуном в умовах Західного Полісся. *Нотатки сучасної біології.* 2024. 7, 26 – 30 <https://doi.org/10.29038.NBIO.24.1-3>
18. DeRosaA., McGaughey, S., Magrathtl., ByrtC. Molecular membrane separations: plants inspire new technologies. *New Phytol.* 2023. 238, 33 – 54 <https://doi.org/10.1111/nph.18762>
19. MoshelionM., HalperinO., Wallach R., Oren R.A., Way D.A. Role of aquaporins in determining transpiration and photosynthesis in water – stressed plants crop water use efficiency, growth and yield. *Plant Cell Environ.* 2015. 38, 1785 – 1793 <https://doi.org/10.1111.pce.12410>
20. Munne-Bosch S., Jubany – Mari T., Alegre L. Drought – induced senescence is characterized by a loss of antioxidant defence in chloroplasts. *Plant Cell Environ.* 2001. 24(12), 13 – 19 <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00794.x>

References

1. Cook B.I., Mankin J.S., Anchukaitis K.J. Climate change and drought: from past to future. *Curr. Clim Change Rep.* 2018, 4, 164 – 179 <https://doi.org/10.1007/s40641-018-0093-2> [in English]
2. Osakabe Y., Osakabe K., Shinozaki K., Tran L.S. Response of plants to water stress. *Front. Plant Sci.* 2014. <https://doi.org/3389/fpls.2014.00086> [in English]
3. Yang P., Drohan P.J., Long H., Yang M., Bian Y., Ma E. Water use efficiency, yield and quality of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) using negative pressure irrigation. *Industrial Crops and Products.* 2022. 178, 114552 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114552> [in English]
4. Ding H., Wang S., Zhang Y., Dong J., Zhang R., Zhng B., Ma S., Liu D., Cui R., Chen B., Wang Q., Sun J., Xing S., Wang Z., Zhang H. Investigation into the impact of chloride ion uptake inhibitors on tobacco plants. *Frontiera in Soil Science.* 2025. 5.1554922 <https://doi.org/10.3389/fsoil.2025.1554922> [in English]
5. Seung - A Baek, Taejun Han, Soon – Kil, Ahn, Hara Kang, Myung Chao, Suk-Chan Lee, Kyung – Hoanlm. Effects of heavy metal on plant growth and pigment contents in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Pathol. J.* 2012, 28(4), 446 – 452 <https://doi.org/10.5423/PPJ.NT.01.2012.0006> [in English]
6. Yavary N., Gazestani V.H., Wu B.S., MacPherson S., Kushalappa A., Lefsrn M.G. Comparative proteomics analysis of *Arabidopsis thaliana* response to light emitting diode of narrow wavelength 450nm, 595 nm, and 650 nm. *J.Proteomics.* 2022. 265, 104635 <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2022.104635> [in English]
7. Sergeeva L.E., Bronnikova L.I. Cadmium ions in cell selection for obtaining wheat cell forms tolerant to water stress. *Cherkasy University Bulletin: Biological Science Series.* 2019. 2, 74 – 80 <https://doi.org/10.31651/2076-5835-2018-1-2019-2-74-80> [in English]
8. Sergeeva L.E., Bronnikova L.I. Cell selection with barium ions for obtaining genetically modified tobacco. *Cherkasy University Bulletin: Biological Science Series.* 2020. 1, 71 – 78 <https://doi.org/10.31651/2076-5835-2018-1-2020-1-71-78> [in English]

9. Ashenafi E.L., Nyman M.C., Shelley J.T., Mattson N.S. Spectral properties and stability of selected carotenoid and chlorophyll compounds in different solvent systems. *Food Chemistry Advances*. 2023. 2, 100178 <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100178> [in English]
10. Levchyk N.Y., Skrypka G.I., Levon V., Liubinska A.V., Zakrasov O.V., Horbenko N.E. Changes in the content of photosynthetic pigments in leaves of *Plox paniculata* L. under the influence of powdery mildew pathogen in the conditions of M.M. Hryshko National Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Ukraine. *Scientific Bulletin of the National Technical University of Ukraine*. [Zmina vmistu fotosintetichnih pigmentiv u listkah *Plox paniculata* L. pid vplyvom zbudnika boroshnistoi rosi v umovah NBS M.M.Grishka NAN Ukraini. *Naukoviy vistnik NLTU Ukraini*] 2023. 33, 1, 22 – 35 [in Ukrainian] <https://doi.org/10.36930/40330104>
11. Zhu X.-G., Long S.P., Ort D.R. Improving photosynthesis efficiency for greater yield. *Annu.Rev.Plant Biol.* 2010. 61, 35 – 261 <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112206> [in English]
12. Zhu X.-G., Long S.P., Ort D.R. What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2008. 19, 153 – 159 <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.02.004> [in English]
13. Shevchenko V.V., Bondarenko O. Yu., Korniyev D.Yu. Short-term heating causes thylakoid restructuring in pea chloroplasts and modifies spectral properties of pigment – protein complexes. *Фізіологія рослин і генетики*. 2022. 54(2), 34 – 147 <https://doi.org/10.15407/frg2022.02.134> [in English]
14. Liu H.Y., Sun W.-H., Su W.A., Tang Z.C. Cu-Regulation of water channels and potassium channels in rice. *Physiologia Plantarum*. 2006, 128, 58 – 69 [in English]
15. Prysyazhnyuk O.I., Korovko I.I. Dynamika vmistu hlorofiliv u listkah tsukrovogo buryaku. *Novitni agrotehnologii*. [Dynamics of chlorophyll content in sugar beet leaves. *Newest agrotechnologies*.] 2015, 1(3), 11 – 29 [https://doi.org/10.21498/na.1\(3\).2015.118908](https://doi.org/10.21498/na.1(3).2015.118908) [in Ukrainian]
16. Babenko L. M., Kosakivska I. V. Osoblyvosti pigmentnogo skladu ta ultrastrukturnoi budovy hloroplastiv roslin riznih taksoniv. *Fiziologiya roslin i genetyka*. [Features of pigment composition and ultrastructural structure of chloroplasts of plants of different taxa. *Plant Physiology and Genetics*] 2017. 49(1), 25 – 35 <https://doi.org/10.15407/frg.2017.01.025> [in Ukrainian]
17. Rybak I. O., Shepelyuk M. Vmist plastydnyh pigmentiv u derev sosny zvychnoyi urazhenykh sosnovym vertunom v umovah Zahidnogo Polissya. *Notatky suchasnoi biologii*. [Rybak I.O., Shepelyuk M. Plastid pigment content in Scots pine trees affected by the pine beetle in Western Polissya. *Notes of modern biology*] 2024. 7, 26 – 30 <https://doi.org/10.29038.NBIO.24.1-3> [in Ukrainian]
18. De Rosa A., McGaughey, S., Magratthl., Byrt C. Molecular membrane separations: plants inspire new technologies. *New Phytol.* 2023. 238, 33 – 54 <https://doi.org/10.1111/nph.18762> [in English]
19. Moshelion M., Halperin O., Wallach R., Oren R.A., Way D.A. Role of aquaporins in determining transpiration and photosynthesis in water – stressed plants crop water use efficiency, growth and yield. *Plant Cell Environ.* 2015. 38, 1785 – 1793 <https://doi.org/10.1111.pce.12410> [in English]
20. Munne-Bosch S., Jubany – Mari T., Alegre L. Drought – induced senescence is characterized by a loss of antioxidant defence in chloroplasts. *Plant Cell Environ.* 2001. 24(12), 13 – 19 <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00794.x> [in English]

^{1,2} Bronnikova L.

¹Postgraduate student Department of Physiology and Plant Introduction Oles Honchar Dnipro national university

²Junior research Department of Genetic Engineering Institute of Plant Physiology and Genetic, NAS Ukraine

Zlenko_lora@ukr.net

orcid.org/0000-0002-8103-0548

THE SALINITY INFLUENCE ON CHLOROPHYLLS CONTENT IN TOBACCO PLANTS OBTAINED THROUGH CELL SELECTION WITH HEAVY METAL IONS

*The objects of investigation were of *Nicotiana tabacum* L. *N. tabacum* is both a cultural plant and a model system in plant biology, therefore the effect of salinity stress on plant metabolism were fixed in publications. Tobacco is a typical glycophyte, so that's why it is a suitable experimental object.*

The salinity toxicity decreases plant osmotic potential and water availability, which will subsequently cause cultural turgor loss. Under salinity ion uptake and photosynthesis will be impaired also.

Chlorophylls are the peculiar structures that ensure the use of sunlight in the photosynthesis implementation. Its content defines the photosynthetic plant potential.

The chlorophyll a/b ratio depends on the state plant both under normal and stress conditions. The chlorophyll a/b ratio can also be affected by stage of plant ontogenesis. Plants can be sensitive to external pressure during early vegetation stages.

The aim of the research was to determine contents of chlorophylls a and b and a/b ratios in 60-day old tobacco plants cv, Samsun and Dyubek. Those plants are R1 and R2 seed progenys of R0 regenerants from resistant cell lines, obtained through cell selection with Ba^{2+} and Cd^{2+} ions. R1 and R2 generations demonstrated normal development under in vitro salinity. The chlorophylls analyses were executed according to A.Wellburn, 1994 method, with dimethyl sulphoxide (DMSO) as a solvent agent.

During 3 days tobacco plants were kept under model salinity. There were sea water salts, NaCl, Na_2SO_4 solutions. Short-term salt stress resulted in a/b ratios changes. There were displacement to the side of chlorophyll b higher accumulation. This event was accompanied by continuous content fluctuations of both experimental and control variants. The fluctuations in new forms were synchronous within each genotype. This fact reflected the maintainance of general metabolism. On the contrary the control plants demonstrated unregulated content fluctuations due to the beginning of photosynthesis reactions division.

Key words: tobacco, cell selection with Ba^{2+} , Cd^{2+} cations, salinity, tolerance.

**Стаття до редакції надійшла 12.05.2025 року
Рецензія на статтю надійшла 02.06.2025 року**