

УДК 581.143.6

ВЛИЯНИЕ LED-ОСВЕЩЕНИЯ РАЗЛИЧНОГО СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА НА РОСТ И БИОСИНТЕЗ АЛКАЛОИДОВ В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ *VINCA MINOR*

О. В. МОЛЧАН¹⁾, В. М. ЮРИН²⁾

¹⁾Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

²⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Показаны изменения ростовых параметров, содержания хлорофилла, каталазной и пероксидазной активности, а также активности триптофан декарбоксилазы, ключевого фермента биосинтеза фармакологически ценных индольных алкалоидов, и эндогенного уровня протоалкалоида триптамина в каллусе *Vinca minor* под действием света различного спектрального состава. Установлена максимальная стимуляция LED-освещением с преобладанием зеленого света в спектре накопления сухого вещества и активности триптофан декарбоксилазы.

Ключевые слова: каллус; каталаза; индекс роста; пероксидаза; триптофан декарбоксилаза; триптами; LED-освещение; *Vinca minor*.

EFFECT OF LED-LIGHTING WITH VARIOUS SPECTRAL COMPOSITION ON THE GROWTH AND ALKALOIDS BIOSYNTHESIS IN *VINCA MINOR* CALLUS CULTURES

O. V. MOLCHAN^a, V. M. YURIN^b

^aV. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany, National Academy of Sciences of Belarus,
27 Akademichnaja Street, Minsk 220072, Belarus

^bBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: O. V. Molchan (olga_molchan@mail.ru)

Changes in growth parameters, the chlorophyll content, catalase and peroxidase activity, as well as the activity of tryptophan decarboxylase, a key enzyme of pharmacologically valuable indole alkaloid biosynthesis and endogenous level of protoalkaloid tryptamine under the influence of light with different spectral composition are shown. Maximal stimulation by LED-illumination with a predominance of green light in the accumulation of dry matter and activity of tryptophan decarboxylase are established.

Key words: callus; catalase; growth index; peroxidase; tryptophan decarboxylase; tryptamine; LED lighting; *Vinca minor*.

Образец цитирования:

Молчан ОВ, Юрин ВМ. Влияние LED-освещения различного спектрального состава на рост и биосинтез алкалоидов в каллусных культурах *Vinca minor*. Журнал Белорусского государственного университета. Биология. 2018; 2:48–56.

For citation:

Molchan OV, Yurin VM. Effect of LED-lighting with various spectral composition on the growth and alkaloids biosynthesis in *Vinca minor* callus cultures. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2018;2:48–56 (in Russ.).

Авторы:

Ольга Викторовна Молчан – кандидат биологических наук; заведующий лабораторией водного обмена и фотосинтеза растений.

Владимир Михайлович Юрин – доктор биологических наук, профессор; профессор кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Authors:

Olga V. Molchan, PhD (biology); head of the laboratory of water exchange and photosynthesis of plants.

olga_molchan@mail.ru

Vladimir M. Yurin, doctor of science (biology), full professor; professor at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.

yurin@bsu.by

Введение

Использование светоизлучающих диодов (LED) является инновационным подходом, имеющим большие перспективы в создании и оптимизации систем освещения для точного управления физиологическими процессами растений и продукцией ценных вторичных метаболитов *in vivo* и *in vitro*. Свет – один из наиболее важных факторов окружающей среды, который используется растениями и как уникальный источник энергии в процессах фотосинтеза, и как источник информации, оказывающий непосредственное воздействие на рост и развитие. Благодаря фоторецепторам растения способны оценивать длину волны, интенсивность, направление, а также продолжительность действия света и трансформировать полученную информацию в системах фотоморфогенетической регуляции [1]. Поэтому варьирование и оптимизация параметров освещенности могут позволить контролировать рост и развитие растений, культивируемых *in vitro*, баланс между скоростью роста, накоплением биомассы, первичных и вторичных метаболитов в клеточных культурах [1; 2].

Светодиоды могут излучать свет практически любой длины волны в диапазоне физиологически активной радиации. При этом узкий диапазон длин волн излучения позволяет создавать, используя определенные LED-композиции, спектры, оптимальные для конкретного вида и типа культивируемых *in vitro* клеток, а также регулировать плотность потока фотонов (ППФ) и продолжительность излучения в пределах каждой спектральной составляющей на определенной фазе роста с учетом целей и задач культивирования. Следует также отметить, что изучение регуляции ростовых процессов и биосинтеза фармакологически ценных вторичных метаболитов в культурах клеток и тканей с помощью различных режимов LED-излучения является одним из перспективных направлений исследований.

Барвинок малый (*Vinca minor* L.) – фармакологически ценное растение, синтезирующее более 45 терпеновых индольных алкалоидов (ТИА) [3–5]. Лекарственные средства, содержащие сумму ТИА *V. minor*, применяют при артериальной гипертензии, цереброваскулярной недостаточности, неврогенной тахикардии, головокружении, снижении памяти и способности к концентрации внимания у пациентов пожилого возраста, атеросклерозе сосудов головного мозга, диабетической ангиопатии, последствиях нарушения мозгового кровообращения и т. д. [6; 7]. Для *V. minor* характерен европейско-средиземноморский тип ареала, а на территории Беларуси растение является интродуцентом и в качестве лекарственного сырья не заготавливается [8]. Поэтому альтернативным источником ТИА барвинка малого могут служить клетки, культивируемые *in vitro*. Однако применение технологии *in vitro* часто не позволяет получить достаточный уровень биосинтеза фармакологически активных метаболитов, необходимый для экономически целесообразного использования в производстве [9–11]. Дедифференцированные клетки накапливают, как правило, незначительное по сравнению с интактным растением количество вторичных метаболитов. Поэтому на первом плане – разработка технологий культивирования клеток и тканей растений, обеспечивающих их максимальную продуктивность. Одним из наиболее очевидных современных подходов для решения этой проблемы является использование LED-освещения [9–12].

Число проведенных в мире к настоящему времени исследований, посвященных влиянию света различного спектрального состава на культуры *in vitro*, крайне ограничено. В основном опубликованы результаты сравнительного анализа ростовых и биосинтетических процессов в клетках гетеротрофных и фотомиксотрофных (на белом свете с использованием люминесцентных ламп) культур [9–12]. При этом разными группами авторов получены весьма противоречивые данные при исследовании влияния света на синтез ТИА. Так, показано, что свет стимулирует синтез отдельных алкалоидов, например серпентина в каллусной культуре *C. roseus* [12]. Однако другими исследователями установлено, что в гетеротрофной культуре *C. roseus* биосинтез серпентина интенсивнее, чем в фотомиксотрофной [13]. Согласно результатам исследований еще одной группы длительная экспозиция на свете суспензионной культуры *C. roseus* приводит к существенному повышению содержания как серпентина, так и аймалицина [14]. В других работах определено, что содержание аймалицина в каллусной культуре под воздействием освещения, наоборот, снижается [15], а облучение каллусной культуры светом в синей (450 нм) или красной (670 нм) областях спектра не влияет на биосинтез аймалицина и серпентина [16].

Исследований воздействия LED-освещения различного спектрального состава на рост и биосинтез алкалоидов в каллусных культурах *V. minor* не проводилось вовсе.

Цель данной работы – оценка влияния различных режимов LED-освещения на ростовые и биохимические параметры каллуса *Vinca minor*, в том числе на активность триптофан декарбоксилазы (ТДК), ключевого фермента биосинтеза фармакологически ценных ТИА, и на эндогенный уровень протоалкалоида триптамина.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлась каллусная культура *Vinca minor* L. Гетеротрофный каллус выращивали в темноте на агаризованной среде Мурасиге – Скуга [17], содержащей 30 г/л сахарозы, по 1 мг/л нафтилуксусной кислоты и кинетина, 8 г/л агара. Пересадку осуществляли каждые 30 сут. Фотомиксотрофный каллус – на среде того же состава при люминесцентном освещении (контроль) и LED-освещении различного спектрального состава и интенсивности с фотопериодом 16/8 ч (свет/темнота).

Были использованы четыре специализированные системы LED-освещения (производства УНПП «Актагор-пром»). Для организации освещения применяли излучение всех длин волн видимого света (400–750 нм) с варьируемым соотношением квантов синего, зеленого, красного и дальнего красного спектральных диапазонов. Спектральные характеристики LED-освещения (варианты LED1, LED2, LED3, LED4) представлены на рис. 1. ППФ при всех вариантах освещения составлял в среднем $50\text{--}55 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Спектральные характеристики светильников анализировали с использованием спектрорадиометра CAS140CT (Германия).

Для характеристики ростовых процессов рассчитывали индекс роста по формуле

$$I = \frac{m_t - m_0}{m_0},$$

где m_t – масса каллуса в конце цикла выращивания (30-е сутки); m_0 – начальная масса каллуса, г.

При определении сухой массы каллусную ткань сушили при 50 °С.

Для расчета активности ферментов использовали каллус в лог-фазе (20 сут) ростового цикла. Активность ТДК и содержание триптамина находили по методу Сангван с соавторами [18]. Триптамин детектировали с помощью спектрофлуориметра Varian Cary Eclipse (США) при длине волны возбуждения $\lambda = 280 \text{ нм}$ и эмиссии 340 нм. Содержание эндогенного триптамина определяли по соответствующей калибровочной кривой.

Каталазную и пероксидазную активности определяли спектрофотометрически с небольшими изменениями согласно [19; 20] с использованием спектрофотометра СФ-2000 (Россия).

Эксперименты проводили в 4–5-кратной повторности. Для статистического анализа полученных результатов применяли стандартные методы вариационной статистики [21]. Данные на гистограммах и в таблицах представлены как среднее арифметическое и ошибка средней величины. Различия между средними показателями оценивали при уровне значимости p не более 0,05.

Результаты и их обсуждение

Высокая фотосинтетическая эффективность света в сочетании с высоким КПД, характерная для красных светодиодов, стимулировала многих исследователей использовать именно эти светодиоды для создания оптимального освещения [22]. Однако во многих случаях длительное воздействие только красного света приводило к снижению фотосинтетической активности. Более эффективным оказалось сочетание красного и синего диапазонов, такой подход существенно увеличивал квантовый выход фотосинтеза [22]. Поэтому продолжительное время считали, что для выращивания растений необходим и достаточен свет, получаемый комбинированием монохромных (красных и синих) LED-источников излучения, соответствующих максимумам поглощения хлорофилла, и большая часть работ была посвящена изучению влияния монохроматического фотосинтетически значимого освещения в красной или синей областях спектра либо их композициям [22]. Однако рост и развитие растений обеспечиваются совокупностью не только фотосинтетических, но и многих других светозависимых, фотоморфогенетических процессов, регулируемых светом различных спектральных диапазонов, а также соотношением между ними [1; 2; 22].

В настоящей работе использовали LED-источники освещения, излучающие свет всех спектральных диапазонов видимого света (400–800 нм) с различным соотношением между ними (см. рис. 1). Анализ спектральных характеристик данных LED-излучателей позволил выявить некоторые закономерности (табл. 1). Уровень ППФ в диапазоне 400–499 нм (фиолетово-синий) был приблизительно одинаковым для люминесцентного освещения (вариант ЛЛ) и всех вариантов LED-освещения и составлял 21–26 % от всего светового потока, а в зелено-желтой области (500–599 нм) – 17; 9; 11; 18 и 45 % для вариантов ЛЛ, LED1, LED2, LED3 и LED4 соответственно. В оранжево-красном диапазоне спектра (600–699 нм) уровень ППФ был достаточно высоким: 52; 65; 60; 50 и 30 % для вариантов ЛЛ, LED1, LED2, LED3 и LED4 соответственно. Дальнего красного света (700–750 нм) в спектрах всех вариантов было в среднем 2–3 %. Наиболее близким к контрольному люминесцентному освещению по спектральным характеристикам был вариант LED3.

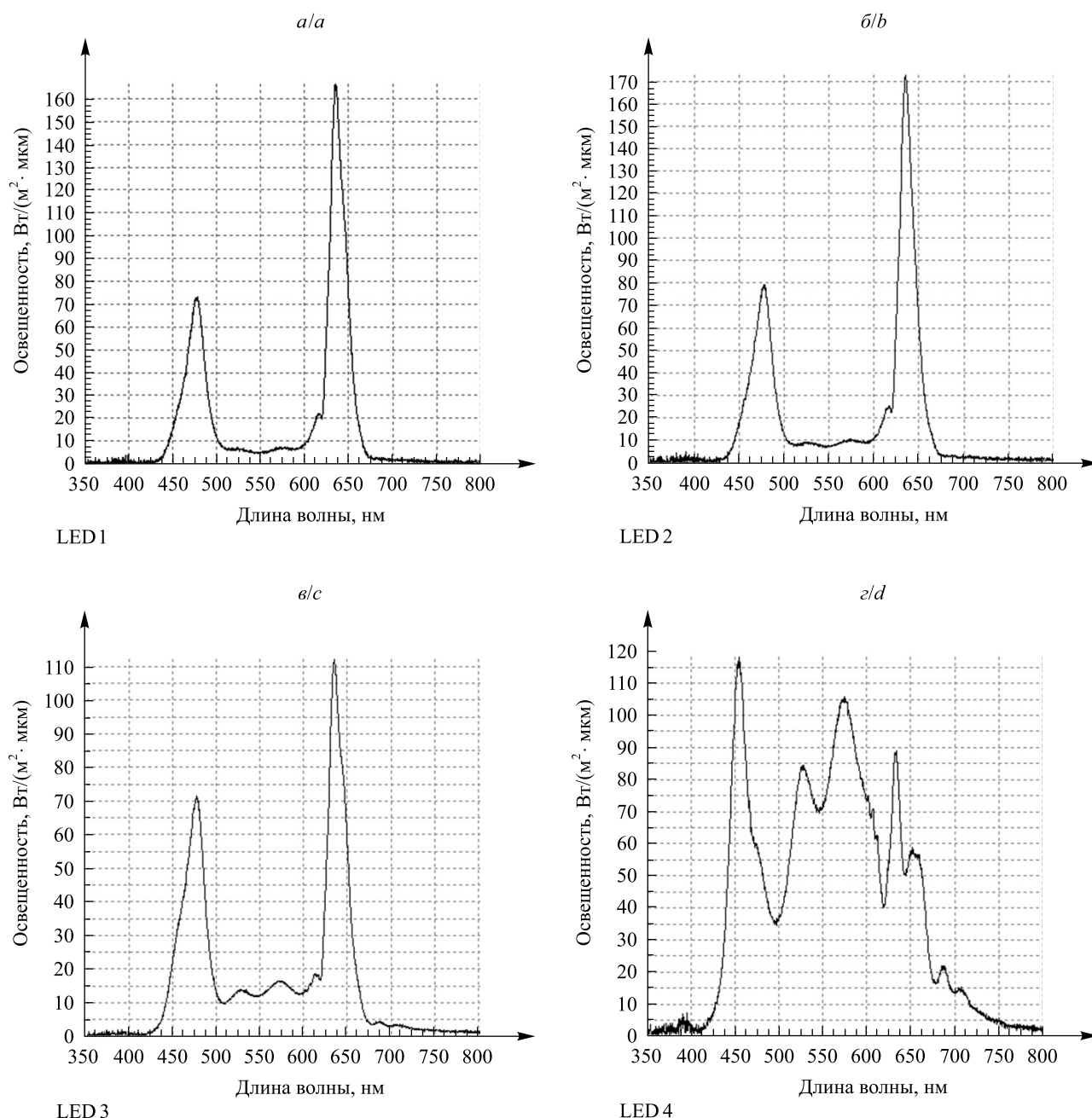


Рис. 1. Спектры специализированных систем LED-освещения для культивирования каллусных тканей

Fig. 1. Spectra of specialized LED lighting systems for the cultivation of callus tissues

Одной из наиболее существенных характеристик культур *in vitro* является интенсивность ростовых процессов. Свет – важный физический фактор (условия культивирования клеточных культур), варьирование и оптимизация параметров которого может позволить контролировать рост, а также баланс между ростовыми и биосинтетическими процессами [9–11]. Индекс роста гетеротрофной каллусной культуры часто выше, чем индекс роста фотомиксотрофного каллуса. При этом на свету культуры обычно накапливают больше сухого вещества.

В нашем исследовании оценка индекса роста каллусных тканей *V. minor* к концу ростового цикла (30-е сутки) показала, что наиболее интенсивным накоплением сырой биомассы отличается гетеротрофный каллус, а также фотомиксотрофный при освещении LED 1 и LED 2 с наименьшим уровнем ППФ в сине-зеленой области (400–599 нм) (табл. 2). Для данных вариантов освещения (особенно для LED 1) было характерно превалирование красного света в спектре (600...699 нм – 60...63 %) по сравнению с другими спектральными диапазонами. Так, в варианте освещения LED 1 соотношения К/С, К/ДК, К/З, С/З (см. табл. 1) были максимальными среди используемых вариантов освещения и составляли 2,5; 40,8; 7,2 и 2,9 соответственно.

Таблица 1

Спектральные характеристики специализированных систем
LED-освещения для культивирования каллусных тканей

Table 1

Spectral characteristics of specialized
LED lighting systems for the cultivation of callus tissues

Вариант	ППФ, %				К/С	К/ДК	К/З	С/З
	400–499 нм	500–599 нм	600–699 нм	700–799 нм				
ЛЛ	26,50	16,80	51,61	2,92	1,95	17,8	3,1	1,6
LED 1	25,93	8,80	63,71	1,56	2,5	40,8	7,2	2,9
LED 2	26,77	11,12	59,90	2,20	2,2	27,2	5,4	2,4
LED 3	28,95	18,43	49,84	2,78	1,7	17,9	2,7	1,6
LED 4	21,35	44,92	30,12	3,61	1,4	8,3	0,7	0,5

Примечание. К – красный свет (640–680 нм); С – синий свет (300–480 нм); ДК – дальний красный свет (700–750 нм); З – зеленый свет (510–565 нм).

Таблица 2

Индекс роста, содержание сухого вещества
и хлорофилла каллусных тканей *V. minor* при различных вариантах освещения

Table 2

Growth index, dry matter and chlorophyll content
of *V. minor* callus tissues under different lighting options

Показатели	Гетеротрофный каллус (темнота)	Фотомиксотрофный каллус				
		ЛЛ	LED 1	LED 2	LED 3	LED 4
Индекс роста, отн. ед.	6,59 ± 0,52	4,54 ± 0,44	8,59 ± 0,56	7,63 ± 0,51	5,59 ± 0,37	5,89 ± 0,62
Содержание сухого вещества, %	4,35 ± 0,21	6,45 ± 0,62	4,22 ± 0,25	4,45 ± 0,31	6,45 ± 0,15	7,12 ± 0,56
Содержание хлорофилла, мкг/г _{сыр. в-ва}	–	4,45 ± 0,32	4,92 ± 0,25	4,95 ± 0,31	4,15 ± 0,15	3,22 ± 0,26

Накопление сухого вещества каллусными тканями варьировало в среднем от 4,0 до 7,5 % и было максимальным при люминесцентном освещении и освещении вариантов LED 3 и LED 4. Важно отметить, что именно эти варианты характеризовались максимальной интенсивностью света в сине-зеленом диапазоне длин волн, а соотношения К/З и С/З в их спектре были меньше единицы (см. табл. 1). Самый высокий уровень ксероморфности был характерен для каллусов при освещении варианта LED 4 с максимальным содержанием зеленого света (см. табл. 2).

Известно, что интенсивность ростовых процессов во многом зависит от деления и растяжения клеток. В ряде работ показано, что зеленый свет (550 нм), нарушая митотическую фазу клеточного цикла, уменьшает растяжение клеток растений [23; 24]. Таким образом, может формироваться ткань с мелкими клетками и высоким уровнем ксероморфности, что, вероятно, и происходило при освещении каллуса *V. minor* LED-излучателями варианта LED 4. С другой стороны, биологическая роль зеленого света обусловлена его необходимостью для жизнедеятельности затененных нижних ярусов фитоценоза, нижних листьев кроны растений и нижних слоев клеток листа, куда проникает свет, обедненный красным и синим и обогащенный зеленым и дальним красным светом [25; 26]. Для *V. minor* характерно существование в плотных наземных фитоценозах. Возможно, именно этим фактом обусловлены достаточно высокие эффекты освещения варианта LED 4 на уровень ростовых процессов и накопления сухого вещества каллусов *V. minor*.

Образование хлорофилла в каллусах было в среднем одинаковым при люминесцентном и светодиодном (LED 1–3) вариантах освещения (см. табл. 2). При всех этих вариантах каллусы накапливали 4–5 мкг/г_{сыр. в-ва} хлорофилла. Вероятно, уровень образования хлорофилла при данных вариантах освещения определялся в большей степени суммарной интенсивностью света, чем его спектральным составом. Несколько ниже ((3,22 ± 0,26) мкг/г_{сыр. в-ва}) было содержание хлорофилла при варианте освещения LED 4 с повышенным содержанием зеленого света в спектре. Нужно отметить, что публикации об

участии зеленого света в регуляции ростовых и биосинтетических процессов каллусных культур практически отсутствуют. Незначительное число работ проведено с использованием проростков и растений и показано, что зеленый свет, с одной стороны, ингибирует рост при длительном культивировании растений, с другой – на начальных этапах онтогенеза стимулирует дегидроксиацию проростков [23–25]. Также было показано, что на ранних фазах морфогенеза сочетание желтого и зеленого света ускоряло формирование мембранной системы пластид, а на более поздних – замедляло переход к гранальной системе хлоропласта [26]. Также при длительной адаптации к зеленому свету у большого числа видов растений уменьшался уровень пигментов в единице площади листа, но увеличивался в единичном хлоропласте [27].

Характер активности антиоксидантных ферментов – каталазы и пероксидазы – в каллусных тканях *V. minor* при различных вариантах освещения менялся в зависимости от интенсивности света в красном и сине-зеленом диапазонах (рис. 2). При уменьшении в спектре освещения доли красного света, увеличении доли зеленого и, таким образом, снижении соотношений К/С, К/З, К/ДК и С/З в исследуемых каллусах возрастала каталазная активность (см. рис. 2, а). Для пероксидазной активности зависимость от спектрального состава освещения была не столь выражена (см. рис. 2, б). В большей степени активность пероксидазы соответствовала содержанию сухого вещества (см. рис. 2, б, табл. 2). Известно, что, с одной стороны, в стрессовых условиях в растениях увеличивается активность каталазы и пероксидазы, так как последние являются ферментами антиоксидантной системы, с другой – указанная активность часто коррелирует с интенсивностью фотосинтетических процессов, поскольку активация фотосинтеза связана с образованием активных форм кислорода [28].

Полученные данные свидетельствуют о том, что зеленый свет не лимитирует фотосинтетическую активность и регулирует ростовые процессы и, таким образом, может быть использован в спектральном составе LED-источников освещения для культивирования каллусной ткани *V. minor*. Однако главный вопрос заключался в следующем: насколько интенсивны процессы биосинтеза ТИА, фармакологически значимых вторичных метаболитов *V. minor*, в каллусной ткани при использовании LED-источников освещения. Для ответа на этот вопрос были определены активность ТДК, ключевого фермента биосинтеза ТИА, и уровень накопления триптамина (рис. 3).

Биосинтез продуктов вторичного метаболизма, как правило, наиболее интенсивен в определенной стадии роста клеточной культуры, для каллуса *V. minor* – к концу лог-фазы ростового цикла [29]. Поэтому активность ТДК и содержание эндогенного триптамина в каллусной ткани определяли именно на этом этапе ростового цикла – на 20-е сутки культивирования. Наблюдаемая стимуляция светом активности ТДК (см. рис. 3, а) позволяет предположить участие фермента в реакциях и вторичного, и первичного метаболизма. ТДК может являться важным элементом первичного метаболизма, регулируя шикиматный путь биосинтеза и катаболизма L-триптофана. В данной работе максимальная активность фермента отмечена при освещении варианта LED4. При других вариантах освещения уровень ТДК достоверно превышал контрольное значение (активность ТДК в гетеротрофном каллусе), но отличия между вариантами ЛЛ и LED 1–3 отсутствовали.

В то же время было показано, что, хотя освещение и приводило к стимуляции накопления эндогенного триптамина, выраженного эффекта какого-либо из вариантов не было отмечено. Кроме того, эндогенный уровень содержания триптамина не соответствовал активности ТДК (см. рис. 3), т. е. при

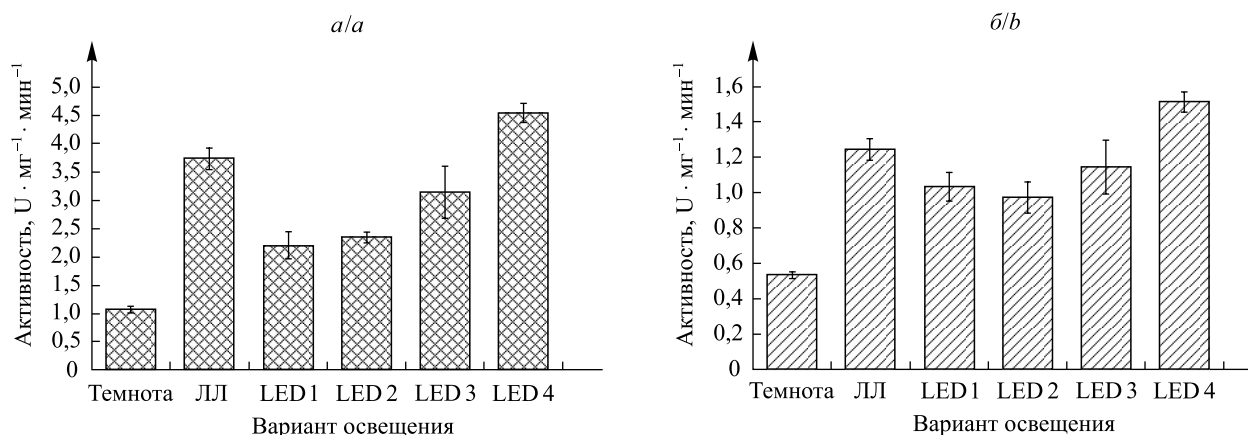


Рис. 2. Активность каталазы (а) и пероксидазы (б) в каллусных тканях *V. minor* при различных вариантах освещения

Fig. 2. Catalase (а) and peroxidase (б) activity in *V. minor* callus tissues under different illumination options

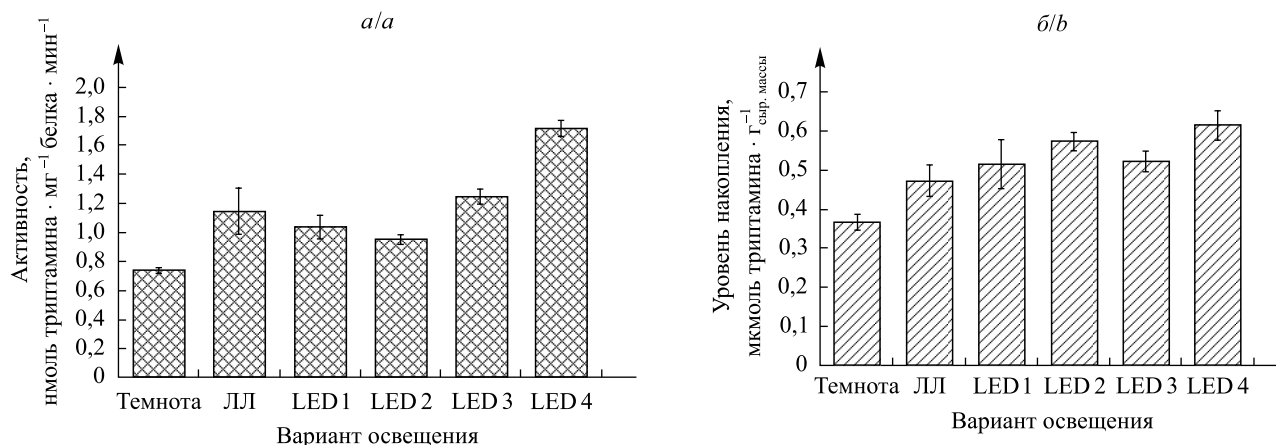


Рис. 3. Активность ТДК (а) и уровень накопления триптамина (б) в каллусных тканях *V. minor* при различных вариантах освещения

Fig. 3. TDC activity (a) and the level of tryptamine accumulation (b) in *V. minor* callus tissues under different illumination options

максимальной активности ТДК (под влиянием варианта освещения LED4 с повышенным содержанием зеленого света в спектре) повышения уровня эндогенного триптамина по сравнению с другими вариантами освещения не наблюдалось. Не исключено, что это обусловлено включением триптамина в дальнейшую цепочку биосинтеза ТИА. Хорошо известно, что свет контролирует развитие хлоропластов, и, поскольку алкалоиды барвинка малого синтезируются в хлоропластсодержащих тканях, становится очевидной функциональная роль зеленого света в биосинтезе данных соединений в каллусных тканях.

Таким образом, исследование влияния спектрального состава LED-излучения на ростовые и биосинтетические процессы каллусной культуры *V. minor* показало, что наиболее интенсивными процессами накопления сырой биомассы отличаются каллусы при освещении с преобладанием красного света в спектре. Биосинтез и накопление хлорофилла в большей степени зависели от уровня ППФ, чем от спектрального состава используемых источников света. Было также установлено выраженное стимулирующее влияние зеленого света на образование сухого вещества и активность ТДК в каллусных тканях. Можно заключить, что зеленый свет представляется важным экзогенным фактором, регулирующим биосинтез ТИА барвинка малого, и, таким образом, ключевым компонентом спектрального состава источников света, используемых для организации LED-освещения при культивировании *V. minor* в культуре *in vitro*.

Библиографические ссылки

1. Nagatani A. Photomorphogenesis. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*. 2nd edn. 2017;1:442–447.
2. Demotes-Mainard S. Plant responses to red and far-red lights, application in horticulture. *Environmental and experimental Botany*. 2016;121:4–21.
3. Opke W. Alkaloids from *Vinca minor*. *Tetrahedron Letters*. 1968;58:6065–6066.
4. Kostka K. Trials of isolating alkaloids from the domestic species *Vinca minor* L. *Dissertationes Pharm.* 1961;13:37–48.
5. Победимова ЕГ. Сем. Аросунаеae. В: Шишкина БК, Боброва ЕГ (ред.) *Флора СССР. Том 18*. Москва: АН СССР; 1952. с.646–652.
6. Вышковский ГА. *Регистр лекарственных средств России*. 11-е изд. Москва: РЛС; 2004.
7. *Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России*. Москва: АстраФармСервис; 2001.
8. Джус МА, Молчан ОВ, Кухарева ЛВ, Спиридович ЕВ, Юрин ВМ. Особенности распространения и эколого-ценотическая характеристика видов рода *Vinca* L. во флоре Беларуси. *Украинский ботанический журнал*. 2009;66(6):783–793.
9. Юрин ВМ, Дитченко ТИ, Молчан ОВ, Шапчиц МП, Ромашко СН, Булатова АА и др. Культура растительных клеток и тканей: технология получения, разнообразие фармакологически активных метаболитов и приемы регуляции их синтеза. *Труды Белорусского государственного университета. Серия: Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем*. 2009;4(2):168–182.
10. Verpoorte R, Contin A, Memelink J. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochemistry Reviews*. 2002;1(1):13–25. DOI: 10.1023/A:1015871916833.
11. Rao RS, Ravishankar GA. Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*. 2002;20(2):101–153. DOI: 10.1016/S0734-9750(02)00007-1.
12. Loyola-Vargas VM, Méndez-Zeal M, Monforte-González M, de Lourdes Miranda-Ham M. Serpentine accumulation during greening in normal and tumor tissues of *Catharanthus roseus*. *Journal of Plant Physiology*. 1992;140(2):213–217. DOI: 10.1016/S0176-1617(11)80937-5.
13. Pietrosiuk A, Furmanowa M, Łata B. *Catharanthus roseus*: micropropagation and *in vitro* techniques. *Phytochemistry Reviews*. 2007;6(2–3):459–473. DOI: 10.1007/s11101-006-9049-6.

14. Zhao J, Zhu W-H, Hu Q. Effects of light and plant growth regulators on the biosynthesis of vindoline and other indole alkaloids in *Catharanthus roseus* callus cultures. *Plant Growth Regulation*. 2001;33(1):43–49. DOI: 10.1023/A:1010722925013.
15. Vazquez-Flota FA, de Luca V. Developmental and light regulation of desacetoxyvindoline 4-hydroxylase in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Plant Physiology*. 1998;117(4):1351–1361. DOI: 10.1104/pp.117.4.1351.
16. Iwase A, Aoyagi H, Ohme-Takagi M, Tanaka H. Development of a novel system for producing ajmalicine and serpentine using direct culture of leaves in *Catharanthus roseus* intact plant. *Journal of bioscience and bioengineering*. 2005;99(3):208–215. DOI: 10.1263/jbb.99.208.
17. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(13):473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
18. Sangwan RS, Mishra S, Kumar S. Direct fluorometry of phase-extracted tryptamine-based fast quantitative assay of L-tryptophan decarboxylase from *Catharanthus roseus* leaf. *Analytical biochemistry*. 1998;255(1):39–46. DOI: 10.1006/abio.1997.2377.
19. Kumar KB, Khan PA. Peroxidase and polyphenol oxidase in excised ragi (*Eleusine coracana* cv.PR 202) leaves during senescence. *Indian Journal of Experimental Botany*. 1982;20:412–416.
20. Chandlee JM, Scandalios JG. Analysis of variants affecting the catalase development program in maize scutellum. *Theoretical and Applied Genetics*. 1984;69(1):71–77. DOI: 10.1007/BF00262543.
21. Рокицкий ПФ. Введение в статистическую генетику. Минск: Вышэйшая школа; 1974.
22. Xu Y, Chang Y, Chen G, Lin H. The research on LED supplementary lighting system for plants Optik. *International Journal for Light and Electron Optics*. 2016;127(18):7193–7201. DOI: 10.1016/j.ijleo.2016.05.056.
23. Головацкая ИФ, Карначук РА. Роль зеленого света в жизнедеятельности растений. *Физиология растений*. 2015;62(6):776–791. DOI: 10.7868/S0015330315060081.
24. Klein RM. Reversible effects of green and orange-red radiation on plant cell elongation. *Physiologia Plantarum*. 1979;63(1):114–116. DOI: 10.1104/pp.63.1.114.
25. Terashima I, Fujita T, Inoue T, Chow WS, Oguchi R. Green light drives leaf photosynthesis more efficiently than red light in strong white light: revisiting the enigmatic question of why leaves are green. *Plant Cell Physiology*. 2009;50:684–697. DOI: 10.1093/pcp/pcp034.
26. Шахов АА. Фотознергетика растений и урожай. Москва: Наука; 1993.
27. Карначук РА, Головацкая ИФ. Гормональный статус, рост и фотосинтез растений, выращенных на свету разного спектрального состава. *Физиология растений*. 1998;45(6):925–934.
28. Dietz KJ, Turkan I, Krieger-Liszka A. Redox- and Reactive Oxygen Species-Dependent Signaling into and out of the Photosynthesizing Chloroplast. *Plant Physiology*. 2016;171(3):1541–1550. DOI: 10.1104/pp.16.00375.
29. Молчан ОВ, Юрин ВМ. Получение мутантных каллусных линий *Vinca minor* L. с повышенными уровнями активности триптофандекарбоксилазы и содержания триптамина. *Труды Белорусского государственного университета. Серия: Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем*. 2016;11(2):148–155.

References

1. Nagatani A. Photomorphogenesis. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*. 2nd edn. 2017;1:442–447.
2. Demotes-Mainard S. Plant responses to red and far-red lights, application in horticulture. *Environmental and experimental Botany*. 2016;121:4–21.
3. Opke W. Alkaloids from *Vinca minor*. *Tetrahedron Letters*. 1968;58:6065–6066.
4. Kostka K. Trials of isolating alkaloids from the domestic species *Vinca minor* L. *Dissertationes Pharm*. 1961;13:37–48.
5. Pobedimova EG. Sem. Apocynaceae. In: Shishkina BK, Bobrova EG (eds.) *Flora SSSR. Volume 18*. Moscow: Academy of Sciences of the USSR; 1952. p.646–652 (in Russ.).
6. Vyshkovskii GA. *Registr lekarstvennykh sredstv Rossii*. 11th edn. Moscow: RLS; 2004 (in Russ.).
7. *Spravochnik Vidal'. Lekarstvennye preparaty v Rossii*. Moscow: AstraFarmServis; 2001.
8. Dzhus MA, Molchan OV, Kukhareva LV, Spiridovich EV, Yurin VM. Osobennosti rasprostraneniya i ekologo-tsenoticheskaya kharakteristika vidov roda *Vinca* L. vo flore Belarusi. *Ukrainskii botanicheskii zhurnal*. 2009;66(6):783–793 (in Russ.).
9. Yurin VM, Ditchenko TI, Molchan OV, Shapchits MP, Romashko SN, Bulatova AA, et al. Kul'tura rastitel'nykh kletok i tkanei: tekhnologiya polucheniya, raznoobrazie farmakologicheskii aktivnykh metabolitov i priemy regulyatsii ikh sinteza. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Fiziologicheskie, biokhimicheskie i molekulyarnye osnovy funktsionirovaniya biosistem*. 2009;4(2):168–182 (in Russ.).
10. Verpoorte R, Contin A, Memelink J. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochemistry Reviews*. 2002;1(1):13–25. DOI: 10.1023/A:1015871916833.
11. Rao RS, Ravishankar GA. Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*. 2002;20(2):101–153. DOI: 10.1016/S0734-9750(02)00007-1.
12. Loyola-Vargas VM, Méndez-Zeel M, Monforte-González M, de Lourdes Miranda-Ham M. Serpentine accumulation during greening in normal and tumor tissues of *Catharanthus roseus*. *Journal of Plant Physiology*. 1992;140(2):213–217. DOI: 10.1016/S0176-1617(11)80937-5.
13. Pietrosiuk A, Furmanowa M, Łata B. *Catharanthus roseus*: micropropagation and in vitro techniques. *Phytochemistry Reviews*. 2007;6(2–3):459–473. DOI: 10.1007/s11101-006-9049-6.
14. Zhao J, Zhu W-H, Hu Q. Effects of light and plant growth regulators on the biosynthesis of vindoline and other indole alkaloids in *Catharanthus roseus* callus cultures. *Plant Growth Regulation*. 2001;33(1):43–49. DOI: 10.1023/A:1010722925013.
15. Vazquez-Flota FA, de Luca V. Developmental and light regulation of desacetoxyvindoline 4-hydroxylase in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Plant Physiology*. 1998;117(4):1351–1361. DOI: 10.1104/pp.117.4.1351.
16. Iwase A, Aoyagi H, Ohme-Takagi M, Tanaka H. Development of a novel system for producing ajmalicine and serpentine using direct culture of leaves in *Catharanthus roseus* intact plant. *Journal of bioscience and bioengineering*. 2005;99(3):208–215. DOI: 10.1263/jbb.99.208.
17. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(13):473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.

18. Sangwan RS, Mishra S, Kumar S. Direct fluorometry of phase-extracted tryptamine-based fast quantitative assay of L-tryptophan decarboxylase from *Catharanthus roseus* leaf. *Analytical biochemistry*. 1998;255(1):39–46. DOI: 10.1006/abio.1997.2377.
19. Kumar KB, Khan PA. Peroxidase and polyphenol oxidase in excised ragi (*Eleusine coracana* cv.PR 202) leaves during senescence. *Indian Journal of Experimental Botany*. 1982;20:412–416.
20. Chandlee JM, Scandalios JG. Analysis of variants affecting the catalase development program in maize scutellum. *Theoretical and Applied Genetics*. 1984;69(1):71–77. DOI: 10.1007/BF00262543.
21. Rokitskii PF. *Vvedenie v statisticheskuyu genetiku*. Minsk: Vysheishaya shkola; 1974 (in Russ.).
22. Xu Y, Chang Y, Chen G, Lin H. The research on LED supplementary lighting system for plants Optik. *International Journal for Light and Electron Optics*. 2016;127(18):7193–7201. DOI: 10.1016/j.ijleo.2016.05.056.
23. Golovatskaya IF, Karnachuk RA. Role of green light in physiological activity of plants. *Fiziologiya rastenii*. 2015;62(6):776–791. DOI: 10.7868/S0015330315060081 (in Russ.).
24. Klein RM. Reversible effects of green and orange-red radiation on plant cell elongation. *Physiologia Plantarum*. 1979;63(1):114–116. DOI: 10.1104/pp.63.1.114.
25. Terashima I, Fujita T, Inoue T, Chow WS, Oguchi R. Green light drives leaf photosynthesis more efficiently than red light in strong white light: revisiting the enigmatic question of why leaves are green. *Plant Cell Physiology*. 2009;50:684–697. DOI: 10.1093/pcp/pcp034.
26. Shakhov AA. *Fotoenergetika rastenii i urozhai*. Moscow: Nauka; 1993 (in Russ.).
27. Karnachuk RA, Golovatskaya IF. Gormonal'nyi status, rost i fotosintez rastenii, vyrashchennykh na svetu raznogo spektral'nogo sostava. *Fiziologiya rastenii*. 1998;45(6):925–934 (in Russ.).
28. Dietz KJ, Turkan I, Krieger-Liszkay A. Redox- and Reactive Oxygen Species-Dependent Signaling into and out of the Photosynthesizing Chloroplast. *Plant Physiology*. 2016;171(3):1541–1550. DOI: 10.1104/pp.16.00375.
29. Molchan OV, Yurin VM. Poluchenie mutantnykh kallusnykh linii *Vinca minor* L. s povyshennymi urovnymi aktivnosti triptofandekarboksilazy i sodержaniya triptamina. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Fiziologicheskie, biokhimicheskie i molekulyarnye osnovy funktsionirovaniya biosistem*. 2016;11(2):148–155 (in Russ.).

Статья поступила в редколлегию 14.05.2018.
Received by editorial board 14.05.2018.