

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ПОГОДЖЕНО

**Декан факультету захисту рослин,
біотехнологій та екології**

_____ **Юлія КОЛОМІЄЦЬ**

«_____» _____ 2026 р.

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

**Завідувач кафедри фізіології,
біохімії рослин та біоенергетики**

_____ **Світлана ПРИЛУЦЬКА**

«_____» _____ 2026 р.

БАКАЛАВРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: «Коливання вмісту фотосинтетичних пігментів рослин родини
Orchidaceae за дії стресорів»**

Спеціальність: 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнології та біоінженерія»

Гарант освітньої програми

Кандидат біол. наук, доцент

Олена КВАСКО

(підпис)

**Керівник бакалаврської
кваліфікаційної роботи**

Кандидат с.-г. наук, доцент

Наталія НЕСТЕРОВА

(підпис)

Виконала

Анастасія ІГНАТЬЄВА

(підпис)

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ЗАТВЕРДЖУЮ

**Завідувач кафедри
фізіології, біохімії рослин та
біоенергетики**

_____ **Світлана ПРИЛУЦЬКА**
«____» _____ 2026 р.

**З А В Д А Н Н Я
ДО ВИКОНАННЯ БАКАЛАВРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ
ЗДОБУВАЧУ
Ігнат'євій Анастасії Андріївні**

Спеціальність **162 «Біотехнології та біоінженерія»**

Освітньо-професійна програма **«Біотехнології та біоінженерія»**

Тема бакалаврської кваліфікаційної роботи **«Коливання вмісту фотосинтетичних
пігментів рослин родини *Orchidaceae* за дії стресорів»**

Затверджена наказом ректора НУБіП України від «30» жовтня 2025 р. №.2596 «С».

Термін подання завершеної роботи на кафедру: «22» травня 2026 р.

Вихідні дані до роботи: Об'єктом дослідження були ювенільні рослини комерційного гібриду *Phalaenopsis hybr. 'Edessa'* родини *Orchidaceae*.

Перелік питань, що підлягають дослідженню: 1) визначити вплив сухості повітря, екстремальних температур та високої сонячної інсоляції на морфометричні показники рослин *Phalaenopsis hybr. 'Edessa'*; 2) встановити динаміку змін вмісту хлорофілів а + b та каротиноїдів у листках орхідей під дією стрес-факторів; 3) оцінити динаміку накопичення вільного проліну як індикатора осмотичного та окисного стресу; 4) проаналізувати взаємозв'язок між морфометричними показниками, вмістом фотосинтетичних пігментів та рівнем проліну за різних варіантів стресу.

Дата видачі завдання: «31» жовтня 2025 р.

Керівник бакалаврської кваліфікаційної роботи _____ **Наталія НЕСТЕРОВА**
(підпис)

Завдання взяла до виконання _____ **Анастасія ІГНАТЬСВА**
(підпис)

РЕФЕРАТ

Бакалаврська кваліфікаційна робота на тему «Коливання вмісту фотосинтетичних пігментів рослин родини *Orchidaceae* за дії стресорів» налічує 49 сторінок формату А4. У ній наведено 6 таблиць, 10 рисунків та використано 44 літературних джерела.

Ключові слова: РОДИНА *ORCHIDACEAE*, *PHALAENOPSIS* *HYBR.* 'EDESSA', ФОТОСИНТЕТИЧНІ ПІГМЕНТИ, ХЛОРОФІЛИ А + В, КАРОТИНОЇДИ, АБІОТИЧНІ СТРЕСОРИ.

Актуальність дослідження: Родина *Orchidaceae* є однією з найцінніших у декоративному садівництві та біотехнології рослин. Епіфітні орхідеї надзвичайно чутливі до абіотичних стресорів, що особливо актуально в умовах глобальної зміни клімату та інтенсивного промислового вирощування. Абіотичний стрес спричиняє швидку деградацію фотосинтетичних пігментів - ключових маркерів фізіологічного стану рослин, що призводить до фотоінгібіції, зниження ефективності фотосинтезу та втрати декоративних якостей. Дослідження динаміки пігментів дозволяє зрозуміти механізми стійкості орхідей і розробити стратегії їх акліматизації та селекції толерантних сортів.

Метою дослідження було визначити закономірності коливання вмісту фотосинтетичних пігментів у представників родини *Orchidaceae* під дією абіотичних стресорів.

Об'єктом дослідження були рослини родини *Orchidaceae*, представники роду *Phalaenopsis*, як модельний вид для вивчення САМ-метаболізму (Crassulacean Acid Metabolism) та епіфітного способу життя.

Предметом дослідження були динаміка та кількісні зміни вмісту фотосинтетичних пігментів у листках орхідей за дії стрес-факторів.

Методи дослідження: фізіологічні (оцінка морфометричних параметрів), спектрофотометричні (проведення визначення вмісту пігментів – хлорофілу а, хлорофілу b, каротиноїдів) та методи статистичної обробки отриманих даних.

ABSTRACT

The bachelor's qualification thesis on the topic «Fluctuations in the content of photosynthetic pigments of plants of the *Orchidaceae* family under the action of stressors» consists of 49 pages of A4 format. It contains 6 tables, 10 figures and 44 literary sources.

Keywords: *ORCHIDACEAE* FAMILY, *PHALAENOPSIS* HYBR. 'EDESSA', PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS, CHLOROPHYLLS A + B, CAROTENOIDS, ABIOTIC STRESSORS.

Relevance of the research: The *Orchidaceae* family is one of the most valuable in ornamental horticulture and plant biotechnology. Epiphytic orchids are extremely sensitive to abiotic stressors, which is particularly relevant under conditions of global climate change and intensive industrial cultivation. Abiotic stress causes rapid degradation of photosynthetic pigments - key markers of the physiological state of plants - leading to photoinhibition, decreased photosynthetic efficiency, and loss of decorative qualities. The study of pigment dynamics allows to understand the mechanisms of orchid resistance and to develop strategies for their acclimatization and selection of tolerant varieties.

The aim of the study was to determine the patterns of fluctuations in the content of photosynthetic pigments in representatives of the *Orchidaceae* family under the action of abiotic stressors.

The object of the research were plants of the *Orchidaceae* family, representatives of the genus *Phalaenopsis*, as a model species for studying CAM-metabolism (Crassulacean Acid Metabolism) and the epiphytic way of life.

The subject of the research was the dynamics and quantitative changes in the content of photosynthetic pigments in orchid leaves under the action of stress factors.

Research methods: physiological (evaluation of morphometric parameters), spectrophotometric (determination of pigment content — chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids) and methods of statistical processing of the obtained data.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	9
1.1 Таксономія, поширення, морфолого-анатомічні особливості та господарське значення родини <i>Orchidaceae</i>	9
1.2. Хімічна структура, біосинтез, фізіологічні функції фотосинтетичних пігментів та їх співвідношенн як індикатор фізіологічного стану рослин	14
1.3. Сучасні методи кількісного визначення фотосинтетичних пігментів.	19
1.4. Абіотичні стресори та їх вплив на рослинний організм	22
1.5. Специфічна реакція та механізми відповіді представників <i>Orchidaceae</i> на абіотичні стресори	25
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	31
2.1 Об'єкт дослідження	31
2.2. Моделювання абіотичних стресорів	34
2.3. Методи визначення морфометричних показників рослин.....	34
2.4. Методи визначення вмісту фотосинтетичних пігментів	35
2.5. Методи визначення вмісту вільного проліну	36
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ	37
3.1. Вплив абіотичних стресорів на морфометричні показники рослин <i>Phalaenopsis hybr. 'Edessa'</i>	37
3.2. Вплив абіотичних стресорів на вміст фотосинтетичних пігментів у листках <i>Phalaenopsis hybr. 'Edessa'</i>	39
3.3. Динаміка накопичення вільного проліну в листках <i>Phalaenopsis hybr. 'Edessa'</i>	41
ВИСНОВКИ	43
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	44

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ

Chl a – хлорофіл a;

Chl b – хлорофіл b;

HPLC – високоефективна рідинна хроматографія;

ROS – активні форми кисню;

ABA – абсцизова кислота;

RWC (relative water content) – відносний вміст води;

ВСТУП

Орхідеї родини *Orchidaceae* відіграють незамінну роль у світовому декоративному квітництві завдяки унікальному різноманіттю форм, забарвлення і тривалості цвітіння квіток. Особливе промислове значення серед орхідей набули епіфітні гібриди роду *Phalaenopsis*. Проте, дані рослини суттєво чутливі до умов процвітання. Навіть незначні коливання можуть викликати порушення фотосинтетичного апарату орхідей.

Абіотичні стресори (сухе повітря, високі і низькі температури, висока сонячна інсоляція) швидко впливають на склад хлорофілів а і b, каротиноїдів та спричиняють синтез осмопротекторів, зокрема вільного проліну. Зміни даних показників можуть служити чутливими індикаторами фізіологічного стану рослин. Тому дослідження коливань вмісту фотосинтетичних пігментів рослин родини *Orchidaceae* має велике значення для оптимізації технологій промислового вирощування та створення стійких комерційних гібридів.

Метою дослідження у роботі було визначення закономірностей коливання вмісту фотосинтетичних пігментів в рослинах *Phalaenopsis hybr. 'Edessa'* за дії основних абіотичних стресорів.

Щоб досягти поставленої мети вирішувалися такі задачі:

1. Визначити вплив високотемпературного стресу і високої сонячної інсоляції на морфометричні показники рослин.
2. Встановити динаміку змін вмісту хлорофілів а + b і каротиноїдів листків орхідей під дією стрес-чиників.
3. Оцінити динаміку накопичення вільного проліну як індикатора осмотичного і окисного стресу.
4. Проаналізувати взаємозв'язок між морфометричними показниками, вмістом пігментів і рівнем проліну за різних варіантів стресових умов.

Отримані результати дозволяють розширити знання щодо фізіологічних реакцій епіфітних орхідей до абіотичних стресорів та створити наукові підходи до вдосконалення технологій їх культивування і селекції толерантних гібридів.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Таксономія, поширення, морфолого-анатомічні особливості та господарське значення родини *Orchidaceae*

Родина *Orchidaceae* є однією з найчисленніших і найрізноманітніших серед покритонасінних, що нараховує приблизно 30 294 види, розподілені у 695 різних родів [26]. Її представники виділяються серед усіх рослинних таксонів своєю надзвичайною морфологічною, екологічною і еволюційною різноманітністю, тому родина *Orchidaceae* є одним із головних об'єктів еволюційних, екологічних і біотехнологічних досліджень.

Орхідеї поширилися по всіх континентах планети, крім Антарктиди. Найбільше видового багатства спостерігається у тропічних вологих лісах. Вони зустрічаються як епіфіти, літоліти, наземні рослини та навіть нефотосинтезуючі організми. Орхідеї – це рослини, що мають різні життєві форми. Багато представників родини мають САМ-фотосинтез, який є важливим механізмом адаптації до посухи та обмеженого доступу до води і тому активно досліджується при вивченні стійкості до абіотичних стресорів.

Ці рослини належать до найпривабливіших і популярних декоративних видів завдяки естетично чудовим квіткам і тривалості їхнього цвітіння. Орхідеї різняться неймовірним різноманіттям форми, розміру, забарвлення, аромату і текстури квітів (рис. 1.1) [36]. Завдяки високій декоративній цінності представники родини *Orchidaceae*, особливо епіфітні гібриди роду *Phalaenopsis*, набули значного промислового і комерційного значення, ставши основою сучасного орхідейного ринку.

Декоративне вирощування орхідей стало широко поширеним і нині перетворилося на високоприбуткову галузь світового ринку квітів. Найбільшого комерційного значення набули види родів *Cymbidium*, *Paphiopedilum* і *Phalaenopsis*, які цінуються, в першу чергу, за декоративність квітів [22]. Орхідеї деяких видів роду *Cymbidium* вирощують в Китаї з найдавніших часів і на даний час - більше тисячі років [3].

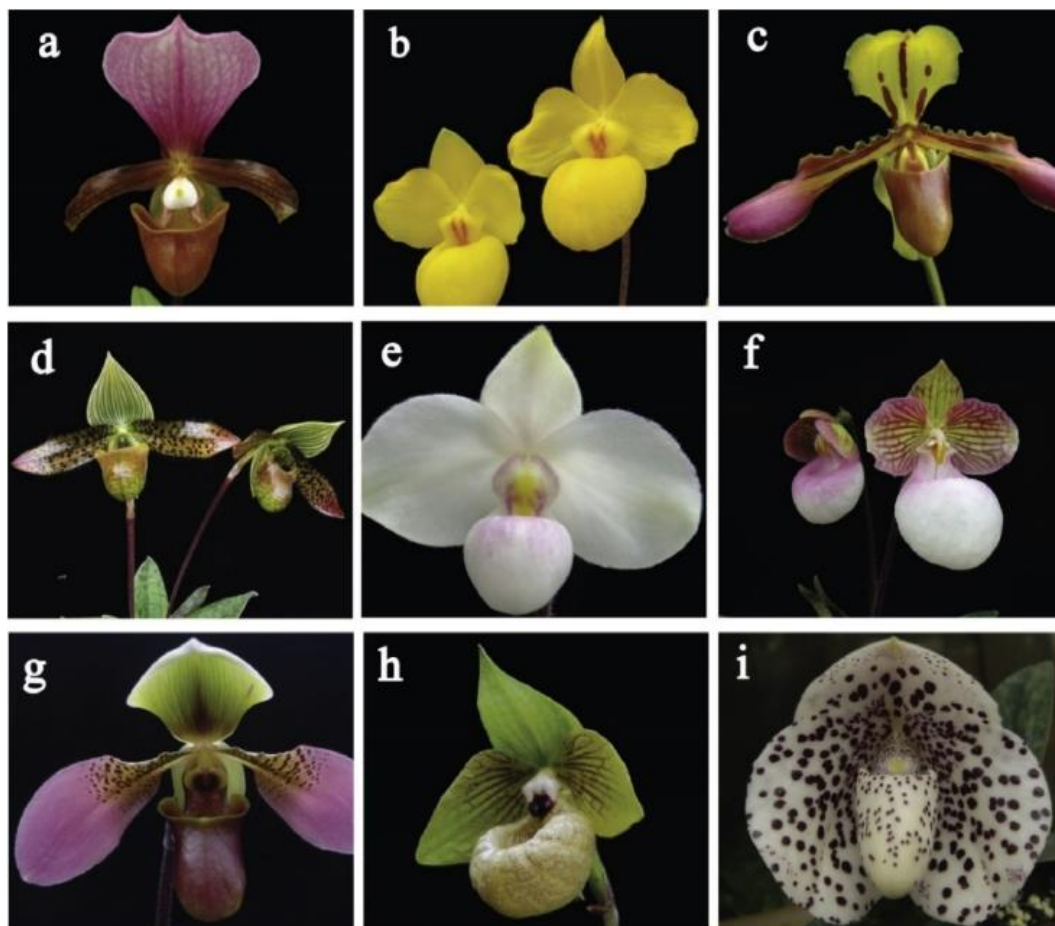


Рис.1.1 Квіти дев'яти видів *Paphiopedilum*: а) *P. charlesworthii*; б) *P. armeniacum*; в) *P. tigrinum*; д) *P. wardii*; е) *P. delenatii*; ф) *P. micranthum*; г) *P. appletonianum*; h) *P. malipoense*; і) *P. bellatulum* [36].

На сьогоднішній день орхідеї становлять значну частину світової торгівлі квітами, з річним обсягом продажів більше ніж 4 млрд доларів США. Крім естетичного декоративного призначення окремі види орхідей використовують як харчові продукти чи в традиційній медицині багатьох країн. Наприклад, висушені плоди *Vanilla planifolia* мають високу комерційну цінність як натуральний ароматизатор харчової промисловості, парфумерії, а також ароматерапії [6]. *Gastrodia elata* є однією з трьох орхідей, згаданих у найдавнішому китайському «Materia Medica», і традиційно використовується для лікування головного болю, запаморочення, правця і епілепсії.

Проте, через високу економічну важливість для квіткової й фармацевтичної промисловості і значне руйнування природного середовища

багато видів стали рідкісними. Нині всі види родини *Orchidaceae* підпадають під захист Конвенції про міжнародну торгівлю видами дикої фауни і флори, що перебувають під загрозою зникнення (CITES). Крім того, специфічна життєва історія багатьох орхідей, що передбачає обов'язкову симбіотичну залежність від мікоризних грибів, спеціалізованих запилювачів і дерев-господарів, робить ці рослини дуже вразливими до змін у навколишньому середовищі та антропогенного впливу [3].

Таким чином, подальше фізіологічне вивчення орхідей є надзвичайно важливим для раціонального використання видових ресурсів цієї родини, ефективного збереження та поглиблення нашого розуміння еволюції видового різноманіття.

Орхідеї характеризуються складною біоморфологією і різноманітними адаптивними стратегіями, що зумовило велику увагу дослідників до запилення орхідей та симбіотичних взаємин рослин з мікоризними грибами. Однак фізіологічні аспекти цих рослин досліджені фрагментарно. Зокрема, практично не вивчено динаміку зміни вмісту фотосинтетичних пігментів в орхідей під впливом різних стрес-чинників, що зумовлює актуальність дослідження.

Українську флору представлено від 66 до 70 видів родини *Orchidaceae*. Більшість орхідей в Україні є рідкісними або зникаючими і потребують охорони. Так, третє видання Червоної книги України включає 68 орхідей з родини Зозулинцеві (чим майже вичерпує крайній список цих рослин), більшість з яких занесені до «Червоної книги» як «вразливий», «рідкісний» або «зникаючий» вид через антропогенний фактор, стресори, знищення природних місцезростань і зміну клімату [5].

Особливо різноманітна флора орхідей представлена в Українських Карпатах, на Поліссі та в лісостеповій зоні, включаючи як епіфітні так і наземні форми. Таке представництво цієї родини серед флори України визначає її значимість як одного з центрів збереження різноманіття *Orchidaceae* в Європі. Проте висока частка видів родини, які занесені до Червоної книги України,

свідчить про недостатність заходів їх охорони і потребу в активному моніторингу популяцій.

З точки зору біотехнологічних можливостей орхідеї є однією з найкомерційніше та господарськи значущих груп декоративних рослин. Найбільш масово культивуються епіфітні орхідеї родів *Phalaenopsis*, *Cymbidium*, *Dendrobium* і *Cattleya*. Вони вирощуються промисловими партіями в теплицях у всьому світі. Найбільшим обсягом виробляється *Phalaenopsis* і є основним об'єктом сучасного комерційного квіткового ринку завдяки тривалому цвітінню, різноманітності забарвлення і відносної простоті розмноження *in vitro*. За даними міжнародної торгівлі орхідами щорічний обсяг ринку перевищує 4 млрд доларів США, з яких на долю *Phalaenopsis* припадає значна частка.

Висока видова та життєформна неповторність орхідей робить цю рослинну групу ідеальною для вивчення еволюції та диверсифікації, а також для розробки механізмів стійкості. Мікроклональне розмноження орхідей *in vitro* разом з гібридизацією та молекулярними методами дозволяє отримувати стійкі сорти з більш покращеною толерантністю до температурних стресів, посухи, освітлення, інших негативних факторів природного середовища, а також тривалим цвітінням і новими декоративними якостями.

Орхідеї родини *Orchidaceae* представлені переважно епіфітними формами, які заселяють верхівки дерев чи скелі тропічних лісів. На відміну від наземних орхідей епіфітні орхідеї мають специфічні морфолого-анатомічні особливості для адаптації до постійної небезпеки обмеженого доступу до ґрунту і періодичних посух.

Коренева система. Оскільки більшість орхідей - це епіфіти, то коренева система має велике значення для їхнього виживання. У багатьох орхідей корені повітряні і покриті багатошаровим веламеном - це особлива губчаста тканина, здатна швидко поглинати і утримувати атмосферну вологу й розчинені у ній мінеральні речовини. Веламен також має захисні функції і бере участь у фотосинтезі. У наземних орхідей коренева система також розвинена з багатьма кореневими волосками, що забезпечують їх кріплення до ґрунту і здатність до

поглинання поживних речовин з ґрунту. Крім того, корені більшості орхідей розвинутої мікоризи – вони утворюють симбіотичні відносини з грибами, що підвищує ефективність живлення цих рослин [42].

Стебло. Стебло орхідей може бути одно- (моноподіальне) або двоярусно розгалуженим (симподіальне). Якщо стебло росте вертикально і не галузиться (лише на вершині утворюється один апікальний пагін), як у *Phalaenopsis* – це моноподіальне стебло. У багатьох інших орхідей, наприклад родів *Coelogyne* і *Miltonia*, стебло має псевдобульби, які є потовщеними міжвузлами. Псевдобульби є резервуарами води та поживних речовин і дозволяють орхідам переживати тривалі посухи без суттєвого порушення тургору та фотосинтетичної активності. Зазвичай стебло коротке або повністю зводиться до нулю, а його функцію частково виконують псевдобульби.

Листок. У орхідей листки мають товсту сукулентну структуру, що дозволяє ефективно зберігати воду. Тканина листка має потужну кутикулу, товсті клітинні стінки, і значно менше продихів, ніж у наземних рослин. У багатьох епіфітних орхідей продихи ще й глибоко зарізані в епідерміс, що також зменшує втрати води. Листкова пластинка зазвичай є простою із паралельним жилкуванням. У *Dendrobium* можуть бути як листопадні, так і декілька років зберігаються листки. Анатомічна будова листка адаптована до періодичної посухи та високої інтенсивності світла в надлистковому просторі дерев тропічних лісів.

Суцвіття. Суцвіття орхідей надзвичайно різноманітні у формі й розмірах: китицеподібні, волотисті, колосоподібні, одиночні. Це багатоквіткові китиці, що розвиваються на довгих квітконосах. Квітки орхідей мають зигоморфну будову, три зовнішні і три внутрішні листочки оцвітини. Один з них, перетворений, утворює губу (*labellum*). Завдяки високій спеціалізації окремих органів квітки орхідей й її спритності проти комах запилювачів суцвіття ефективно забезпечують запилення рослин [7].

Плід. Плід орхідей це коробочка, яка розтріскується вздовж шести швів і виділяє величезну кількість дрібного пилкоподібного насіння. У кожній

коробочці знайдеться від декількох тисяч до більше ніж мільйона насінин. Орхідеїве насіння ще раз дуже дрібне, майже не має ендосперму і має недорозвинений зародок, тому для проростання йому потрібні симбіотичні гриби (мікориза). Така будова плоду є однією з адаптацій до епіфітного способу життя, оскільки дозволяє вітром інтенсивно розсипати насіння на великі відстані та території [26, 7].

Псевдобульби - одна з найдивовижніших адаптацій симподіальних епіфітних орхідей. Псевдобульби утворюються потовщенням одного або декількох міжвузлів стебла і виконують функцію резервуарів під час посушливого періоду. Таким чином орхіді спроможні переживати тривалі періоди без води без значного зниження тургору та фотосинтетичної активності.

Для порівняння - наземна і епіфітна орхідеї. Наземні орхідеї мають просте листя із паралельним жилкуванням, мало вираженою сукулентністю. А епіфітні – виразнішою спеціалізацією як листової пластинки, так і самого стебла.

1.2. Хімічна структура, біосинтез, фізіологічні функції фотосинтетичних пігментів та їх співвідношенн як індикатор фізіологічного стану рослин

Видобуті з рослин природні біоактивні сполуки – пігменти, є важливими регуляторами росту, розвитку й адаптації рослин до шкідливих факторів навколишнього середовища і мають високу біотехнологічну цінність у фармацевтичній, харчовій та косметичній промисловості.

Хлорофіли і каротиноїди є найбільш поширеними та чисельними групами пігментів у листках рослин і відповідають за основні фізіологічні функції – фотосинтез і фотозахист. Склад і співвідношення хлорофілів і каротиноїдів змінюється протягом усіх фенологічних стадій рослинного циклу життя, під час різної інтенсивності освітлення в полі культури, та під впливом різних біотичних і абіотичних стресів (спека, посуха, УФ-В виділення рослинами, підвищені концентрації CO₂ і O₃). Зміни складу і співвідношення пігментів чітко

корелюють із здатністю до адаптації до нових умов і відображають функціональну продуктивність фотосинтетичного апарату рослин.

Біосинтетичні шляхи чотирьох найпоширеніших груп рослинних пігментів (хлорофілів, каротиноїдів, антоціанінів і алкалоїдів) на сьогодні добре вивчені, переважно завдяки сучасним досягненням в області оміксних технологій (геноміки, транскриптоміки, метаболоміки) і дозволили значно покращити гетерологічний синтез пігментів у різних системах *in vitro*. Завдяки глибшому розумінню синтетичних характеристик багатьох пігментів було змога покращити чистоту і стабільність отриманих компонентів.

Каротиноїди – це клас ліпофільних ізопреноїдних сполук, що містять 40 атомів вуглецю, які складаються з восьми ізопренових блоків і утворюють полієновий скелет.

У вищих рослинах каротиноїди синтезуються з попередників C5: ізопентенілдифосфату (IPP) і диметилаллідифосфату (DMAPP), які утворюються переважно шляхом метилеритритол-4-фосфатного (MEP) шляху в пластидах. Під дією ферментів ізопентеніл-дифосфат δ -ізомерази (IDI), фарнезилдифосфатсинтази (FDPS) і геранілгеранілдифосфатсинтази (GGPPS) ізопентенілдифосфат і диметилаллідифосфат перетворюються на геранілгеранілдифосфат (GGPP) – безпосередній попередник усіх каротиноїдів. Далі, GGPP за дії фітоен-синтази (PSY) перетворюється на перший безбарвний C40 каротиноїд – фітоен. Місава та співавтори вперше показали, що для перетворення фітоену у лікопен достатньо одного генного продукту – CrtI (фітоен-десатураза), тоді як у вищих рослин цей процес відбувається за участю кількох ферментів. Лікопен є центральною точкою розгалуження в біосинтезі каротиноїдів і є попередником для утворення всіх циклічних каротиноїдів, включаючи γ -каротен, β -каротен, торуларродин і астаксантин. α -Каротен утворюється під дією лише двох ферментів: лікопен- ϵ -циклази (LCYE) і лікопен- β -циклази (LCYB). Дія лише LCYB призводить до утворення виключно β -каротену.

Рослинні пігменти поділяються на дві основні групи: каротени і ксантофіли. Найвираженішою ознакою усіх каротиноїдів є довгий ланцюг кон'югованих подвійних зв'язків. Він же визначає колір речовини і здатність поглинати світло у відповідних діапазонах видимого спектра.

Хлорофілі а і b належать до тетрапірольних пігментів і є основними фотосинтетичними пігментами у зелених рослинах. Хлорофіл а (Chl a) має емпіричну формулу $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$, і є складений із порфіринового макроциклу із центральним іоном магнію і хвоста – гідрофобного фітольного ланцюга.

Хлорофіл b (Chl b) має формулу $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ і відрізняється від хлорофілу а наявністю альдегідної групи CHO, замість метильної CH_3 у положенні C-7 порфіринового кільця, що й обумовлює відмінності у спектрі поглинання між цими пігментами.

Біосинтез хлорофілу є важливою ланкою метаболізму тетрапіролів. Загальний шлях можна поділити на дві основні частини. Початкова частина включає утворення δ -амінолевулінової кислоти (ALA). Перший попередник глутамінова кислота (GLU) під дією Glu-тРНК-синтетази (GluRS) перетворюється на L-глутаміл-тРНК (Glu-tRNA). Потім цей проміжний продукт GLU піддається відновленню до глутамат-1-напівальдегіду (GSA). На останньому етапі першої частини біосинтезу GSA за допомогою глутамат-1-напівальдегід-аміотрансферази (GSAT) перетворюється на ALA. ALA є ключовим попередником біосинтезу всіх тетрапіролів, включаючи порфірини – хлорофіл і гем, в усіх організмах земної фауни і флори. Друга частина охоплює усі перетворення від протопорфірину IX до кінцевої молекули хлорофілу. Тетрапіроли (хлорофіл, гем і сірогем) проходять низку спільних для усіх шляху етапів, що починаються з ALA і закінчуються на урпорфіриногені III. Спочатку молекули ALA синтезують протопорфірин IX, який під дією магнієвої хелатази ($MgCH$) перетворюється на магній-протопорфірин IX. Далі магній-протопорфірин IX метилтрансфераза (MgPMT) каталізує утворення метилового ефіру магній-протопорфірину IX. На цьому етапі під дією кільцевої циклази, двох раундів відновлення і одного раунду окислення утворюється хлорофілід b.

Хлорофіл а є основним пігментом реакційних центрів фотосистем I і II та безпосередньо бере участь у первинних процесах фотосинтезу – поглинанні світлової енергії, розділенні зарядів і передачі електронів. Хлорофіл b є допоміжним пігментом в антенних комплексах, розширюючи смугу поглинання світла і ефективно передаючи енергію до хлорофілу а.

Каротиноїди та ксантофіли виконують кілька ключових функцій. За первинну функцію каротиноїдів вважають допоміжну пігментну функцію – поглинання світла у синьо-зеленій області спектра 400–550 нм і успішна передача енергії до хлорофілів. Другою ключовою функцією є фотозахист – гасіння триплетних станів хлорофілу, запобігання утворенню ROS і, як ксантофіли, активна участь в механізмах нефотохімічного гасіння і циклі ксантофілів.

Крім фотосинтезу та фотозахисту співвідношення каротиноїдів і хлорофілів (Car/Chl) є одним із найчутливіших показників фізіологічного стану рослин. Доведено, що за дії абіотичного стресу (низькі температури, посуха, ексцесивне світло) концентрація хлорофілу зменшується більш стрімко, ніж каротиноїдів. Таким чином, під час стресу співвідношення Car/Chl зростає і стає індикатором переходу від світлозбираючої функції до захисної. Зокрема, це один з найнадійніших індикаторів початку фотоінгібіції або старіння листків [41].

При виконанні ними цих безпосередніх функцій у фотосинтезі й фотозахисті, іншим важливим індикатором фізіологічного стану рослин є співвідношення між різними групами пігментів. На кореляцію між каротиноїдами і хлорофілами в листках впливає кілька чинників. У тому числі вид рослини, стадія онтогенезу та умови зовнішнього середовища. Під час активної вегетації концентрація обох груп пігментів спочатку низька і при піку росту досягає максимальної, що пояснює високу позитивну кореляцію між каротиноїдами і хлорофілами. Під час старіння листків загальна кількість пігментів у листках знижується, проте хлорофіл зменшується швидше через утворення абсцизійного шару біля основи черешка, який блокує подальший

синтез хлорофілу; отже каротиноїди зберігаються довше у листках і змінюється співвідношення, через що кореляція знижується.

За впливу абіотичних стресів вміст хлорофілу і каротиноїдів реагує дуже непередбачувано. При низьких температурах, засоленості та посуші вміст ксантофілів значно зростає, тоді як хлорофіли під впливом охолодження й водного дефіциту зменшуються, а під дією засолення можуть зростати [35]. Ці зміни можна пояснити внутрішньоклітинними біохімічними механізмами: при низькій температурі активність ферментів, що беруть участь у синтезі хлорофілу пригнічується, через що Chl швидко деградує. У той же час активація циклу ксантофілів зумовлює синтез зеаксантину для гасіння надлишкової енергії через зниження швидкості фотосинтезу і запобігання фотоокисленню клітини.

1.3. Сучасні методи кількісного визначення фотосинтетичних пігментів.

Сучасні методи кількісного визначення фотосинтетичних пігментів можна поділити на дві великі групи: деструктивні (з екстракцією з листової тканини) та недеструктивні (*in vivo*). Найпоширенішими є спектрофотометрія, високоефективна рідинна хроматографія (HPLC) та флуоресцентний аналіз хлорофілу. Кожен з методів має свої чіткі переваги, обмеження та сферу застосування в біотехнологічних дослідженнях.

Спектрофотометрія залишається найшвидшим і, відносно, найдешевшим деструктивним методом кількісного визначення загального вмісту хлорофілу а, хлорофілу та сумарних каротиноїдів у рослинних зразках. Метод ґрунтується на вимірюванні оптичної густини екстрактів при характерних довжинах хвиль після екстракції органічними розчинниками (80 % ацетон, N,N-диметилформамід або етанол). Для розрахунку концентрацій пігментів найчастіше використовують емпіричні рівняння Lichtenthaler (1987) або Wellburn (1994) [21, 38]. Перевагами методу є швидкість проведення, низька вартість, висока чутливість і точність вимірювань, простота виконання, а також можливість оперативного кількісного аналізу вмісту пігментів у біологічних зразках. Головними недоліками вважають

перекривання спектрів поглинання та неможливість роздільного кількісного визначення окремих каротиноїдів. Метод широко застосовується у дослідженнях орхідей зокрема для швидкої і послідовної оцінки загального змін пігментного складу під дією температурного або водного стресу.

Високоєфективна рідинна хроматографія вважається золотим стандартом точного кількісного та якісного аналізу фотосинтетичних пігментів. Метод дозволяє одночасно розділяти Chl a, Chl b і всі основні каротиноїди на зворотно-фазових колонках C18 або C8 з градієнтною елюцією. Детекцію здійснюють за допомогою діодно-матричного детектора чи мас-спектрометра. Цей підхід забезпечує високу роздільність, високу відтворюваність і можливість ідентифікації кожного із каротиноїдів (β -каротен, лютеїн, зеаксантин і тощо). Хоча й метод вимагає наявності великої і дороговартісної хроматографічної установки і кваліфікованого персоналу, це єдиний метод, який дозволяє детально вивчити зміни в пігментному профілі орхідей під впливом абіотичних стресорів, коли важливо розділити окремі компоненти каротиноїдів.

Флуоресцентний аналіз хлорофілу (РАМ-флуориметрія) – це сучасний недеструктивний метод оцінки функціонального стану фотосинтетичного апарату безпосередньо на інтактних листках. За допомогою портативних РАМ-флуориметрів вимірюють ключові параметри: максимальну квантову ефективність Фотосистеми II, ефективну квантову ефективність ФСII у світлі (ФПСII), коефіцієнт нефотохімічного гасіння (NPQ) та додатково застосовують ОЛР-тест для аналізу первинних процесів фотосинтезу безпосередньо в листовій тканині (performance index, PI) [12, 29]. Особливістю методу є можливість ранньої реєстрації стрес-реакцій орхідей, оскільки за допомогою методу можна виявити порушення ефективності фотосинтезу ще до того, як у вмісті пігментів не відбулися помітні зміни. У багатьох дослідженнях епіфітних орхідей РАМ-флуориметрія надає можливість проводити повторні вимірювання на одній і тій самій рослині протягом усього експерименту без її пошкодження, що надзвичайно цінно.

Гіпермспектральна візуалізація вважається одним із найсучасніших неdestructивних методів кількісного визначення фотосинтетичних пігментів. Метод базується на одночасній реєстрації відбиття або пропускання світла в сотнях вузьких спектральних каналах (зазвичай 200–400 каналів у діапазоні 400–2500 нм). Оскільки кожна піксельна точка зображення отримує повний спектр, дозволяє створювати дуже детальні «спектральні сигнатури» листків.

У рослинництві і біотехнології гіпермспектральна візуалізація дозволяє визначати вміст пігментів та розраховувати індекси вегетації без проведення відбору проб. Метод дозволяє виявляти стрес-реакції рослин ще на ранніх етапах. Зниження хлорофілу або зміна співвідношення Chl a/b приводять до характерних змін у сигналах спектральної кривої у синьо-зеленій і червоній областях. Висока просторова роздільність обладнання (до 1 мм) дозволяє виконувати аналіз окремих ділянок всієї рослини орхідеї.

У дослідженнях родини *Orchidaceae* часто використовують гіпермспектральну візуалізацію для відстеження динаміки пігментів під час дії абіотичних стресів в режимі реального часу. Можливі багаторазові заміри тієї самої рослини без пошкодження її тканин, що особливо важливо для дорогих епіфітних сортів рослин. Крім того дані з гіпермспектральної камери добре корелюють зі спектрофотометричними та флуоресцентними методами, що робить її корисним інструментом для валідації цих методів.

Переваги гіпермспектральної візуалізації полягають у високій швидкості отримання результатів, неінвазивності методу, можливості масштабування від одного листка до всієї теплиці. Недоліками методу все ще залишаються висока вартість обладнання, складність обробки результатів досліджень, необхідність створення калібрувальних моделей для кожного виду чи сорту рослин.

Після аналізу джерел, на мою думку, комбінація гіпермспектральної візуалізації зі спектрофотометрією, HPLC або РАМ-флуориметрією забезпечує найбільш повне і точне визначення фізіологічного стану рослин під час дії абіотичних стресорів. Спектрофотометрія чи HPLC дають точну кількісну інформацію про концентрацію пігментів у тканинах, а флуоресцентний метод

надає зображення про їх функціональну активність. Комбіновані методи дають змогу комплексно визначати фізіологічний стан. Це особливо важливо для вивчення динаміки стрес-реакцій.

1.4. Абіотичні стресори та їх вплив на рослинний організм

Абіотичний стрес – несприятливий вплив будь-якого абіотичного фактора середовища на рослину в певних умовах, що призводить до низки реакцій: від зміни рівня експресії генів і клітинного метаболізму до порушення росту і розвитку рослини в цілому [7]. До найбільш поширених видів абіотичного стресу належать екстремальний температурний стрес, посуха, затоплення, засолення ґрунту, дія важких металів і дисбаланс поживних речовин. Різні види стресу викликають характерні реакції рослин. Наприклад, екстремальні температури, посуха і засолені ґрунти є основними факторами, що обмежують життєздатність і природне поширення екосистем рослин [26]. Часто ці види стресу поєднуються між собою. Сприйняття, трансдукція і відповідь рослин на стресові сигнали є важливим напрямом наукових досліджень [31]. Аналіз сигналів трансдукції на різних рівнях надає переконливі докази існування численних механізмів стресової відповіді рослин [4].

Як сольовий так і посуховий стрес викликають осмотичний стрес, що супроводжується регуляцією широкого спектру неорганічних та органічних метаболітів. Це призводить до пошкодження рослин, передусім іонної токсичності, накопичення активних форм кисню, порушення цілісності плазматичної мембрани та клітинної стінки [3]. Неадаптивні зміни включають неправильне згортання білків і зміни структури клітинної стінки. Адаптивні зміни дозволяють підвищити стійкість рослин до небажаних умов [11]. Таким чином молекулярний механізм відповіді рослин на абіотичний стрес є багаторівневим і багатопроцесним. Він включає в себе сенсорне сприйняття стресу, передачу сигналів, транскрипцію, посттранскрипційну обробку, трансляцію і посттрансляційні модифікації білків і складається з складної мережі генів, сигнальних шляхів і метаболічних процесів [17].

Охолодження. Це дія низьких позитивних температур, зазвичай від 0 до 10 °С, яка пошкоджує чутливі рослини, не утворюючи льоду в їх тканинах. Відповідь на цей стрес проявляється у виключно уповільненні росту. З'являється хлороз і в'янення, зменшується площа листків, а пилок часто стає стерильним. На біохімічному рівні стає збільшена концентрація розчинних цукрів і значно зростає кількість ROS. Підвищений вміст ROS запускає перекисне окислення ліпідів, що руйнує мембрани і пригнічує фотосинтез через зниження активності ферментів і загальну дестабілізацію фотосистеми II. Чутливість до цього стресу значною мірою залежить від виду, сорту і стадії розвитку рослин. Відповідь на холод у рослин починається дуже швидко і включає активацію численних транскрипційних факторів. У свою чергу ці фактори запускають експресію генів, відповідальних за холодову стійкість рослин. Плинність мембран, стан цитоскелету та надходження іонів кальцію відіграють ключову роль у регуляції цих генів і активації мітоген-активованої протеїнкінази. Як потенційні сенсори холодового стресу розглядають кальцієві канали, що розташовані на плазматичній мембрані, і їх регулятори. Накопичення вище згаданих транскрипційних факторів сприяє стабілізації фоторецепторів.

У тропічних епіфітних орхідей, таких як *Phalaenopsis*, механізми холодової відповіді спрацьовують значно повільніше, ніж у рослин помірного поясу. Що й пояснює їх високу чутливість навіть до помірного охолодження.

Надлишок ROS, що утворюється рослиною під час впливу абіотичного стресу, відіграє роль токсичного агента, а також надзвичайно важливої сигнальної молекули. ROS регулюють експресію генів стресової відповіді, активують антиоксидантні системи і беруть участь у програмованій клітинній смерті [33]. При низьких температурах ROS накопичується у великих кількостях в хлоропластах і мітохондріях. Що спричиняє окисне пошкодження мембран тилакоїдів, а також пригнічує електронний транспорт в ультраструктурі фотосистеми II [39].

Посуха. Розвивається при тривалому дефіциті вологи як в повітрі, так і в ґрунті. Призводить до осмотичного стресу і втрати тургору. Рослина закриває

свої продихи, зменшує транспірацію і обмежує надходження CO_2 . Це призводить до загального зниження фотосинтезу, починається прискорене старіння листків. Одночасно активується синтез осмопротекторів, підвищується рівень абсцизової кислоти і ROS. Зовні це можна простежити по зменшенню листової поверхні рослин, уповільненню росту пагонів і перерозподілу ресурсів від пагонів на корені. Одночасно активується синтез осмопротекторів (пролін, гліцин-бетаїн) і антиоксидантних ферментів. За умов тривалого водного дефіциту зменшується вміст хлорофілів і посилюється фотоінгібіція [42].

Світловий стрес виникає при надлишку світлової енергії, яка перевищує оброблюваність фотосинтетичного апарату. Рослини активують механізми нефотохімічного гасіння і цикл ксантофілів для розсіювання зайвої енергії у вигляді тепла. При тривалому впливі спостерігається деградація хлорофілу, падіння фотосинтетичної ефективності і швидке старіння тканин. Часто цей вид стресу посилюється поєднанням з посухою чи високою температурою.

Занадто висока вологість ґрунту порушує дихання коренів рослин через гіпоксію та аноксію. Рослини відповідають на це активуючи механізми порушення поглинання води і поживних речовин, накопичення етилену, закриттям продихів і швидким в'яненням. На біохімічному рівні рослини змінюють свій метаболізм (зростає кількість етанолу і лактату), а також пригнічують аеробне дихання. З морфологічної точки зору рослина формує аеренхіму для поліпшення аерації кореневої системи, але при тривалому стресі відбувається відмирання коренів і значне зниження фотосинтезу. Зазвичай вологість ґрунту поєднується з дефіцитом поживних речовин і токсичністю іонів.

Засолення полягає в підвищеній концентрації солей, переважно NaCl , у ґрунті. Обидва фактори стресу – і осмотичний і іонний пошкоджують рослини. Їх вода потенціал знижується, порушується іонний баланс через надлишок Na^+ і нестачу K^+ , що гальмує ріст і продуктивність рослин.

Всі абіотичні стресори, згадані вище, мають декілька спільних механізмів відповіді – утворення ROS, активацію АВА-залежних шляхів, синтез осмопротекторів і активацію антиоксидантних систем. Водночас величина і

характер реакції рослини залежить від інтенсивності і тривалості чинника стресу і часто залежить від поєднання стрес-факторів.

Для виживання в умовах поєднаних абіотичних стресів рослини використовують інтегративні сигнальні мережі. Перекрестні шляхи (ROS, кальцієві хвилі, MAP-кінази) і гормональні взаємодії дозволяють рослині координувати відповідь на кілька абіотичних факторів одночасно, що є критично важливим у сучасній зміні клімату [42].

1.5. Специфічна реакція та механізми відповіді представників *Orchidaceae* на абіотичні стресори

Рослини родини Орхідних розвивали свої унікальні шляхи реакції на стреси з навколишнього середовища відповідно до різноманітних стрес-факторів, з якими стикалися протягом еволюції: посуха, температурні відхилення чи навіть низька стійкість до таких змін середовища. Характерна риса цієї родини пояснюється варіацією анатомічних адаптацій, типами фотосинтетичних шляхів та інших фізіологічних особливостей. Епіфіти родини *Orchidaceae* розвинули фізіологічні системи для виживання в умовах відносно стабільних параметрів температури, відносної вологості і потужності світла поряд з лісовим пологом; тому вони надзвичайно вразливі до швидких змін будь-якої з трьох змінних навколишнього середовища. Різні представники різних родів розробляють свої унікальні методи захисту свого фотосинтетичного апарату від шкоди. Тому відносна кількість хлорофілу та каротиноїдних пігментів в організмі змінюється в залежності від стрес-фактора та конкретної реакційної стратегії рослини.

Рід *Phalaenopsis* зокрема досить чутливий до низьких температур. Коли рослини охолоджують до 10 °C спостерігається статистично значуще зниження рівнів хлорофілу *a*, *b* і загального хлорофілу протягом 15 днів. Однак концентрація каротиноїдів змінюється набагато менше ніж інші пігменти. Значення максимального квантового вихід фотосистеми II (F_v/F_m), а також індексу продуктивності зазнає негайного і значного зниження протягом перших

днів впливу холоду [2]. Подібна чутливість пояснюється тим, що дані рослини формують дуже тонке листя (низький LMA) і не мають засобів для збереження або отримання води під час низькотемпературного стресу.

На відміну від *Phalaenopsis*, представники роду *Cymbidium* можуть демонструвати високу стійкість до, як холодних так і водних стресових умов. Вони мають високу LMA і товсту кутикулу. Це дві основні причини чому *Cymbidium* може мати стабільний рівень концентрації фотосинтетичного пігменту під час тривалого періоду зниження температури чи тривалого періоду посухи [8]. Крім того, здатність *Cymbidium* повільно знижувати свою фотосинтетичну ефективність разом із збільшення активності ксантофілового циклу робить їх відмінними у розсіюванні будь-якої надлишкової енергії.

Рід *Dendrobium* має середній та високий рівень стійкості до холоду та посухи. Толерантність до зазначених стресів значно варіюється залежно від секції роду і виду. Деякі види мають дуже тонку кутикулу, але дуже пухкі псевдобульби для зберігання великої кількості води, щоб компенсувати недоліки кутикули. Види з товстою кутикулою мають добре розвинену здатність нейтралізувати активні форми кисню. З даною адаптацією *Dendrobium* може впоратись як із холодним середовищем, так і з нестачею води.

Проміжне місце посідає *Cattleya*. Вона також як і більшість тропічних орхідей САМ-чутлива до холоду. Але може витримувати тривалі періоди без води завдяки своїм величезним псевдобульбам. Дефіцит води створює різні реакції. Залежно від анатомічного органу: листя залишається зеленим і зберігає свої пігменти значно довше ніж псевдобульби (хоча й псевдобульби виконують функцію буферу), але воно все ж постраждає більше ніж псевдобульби.

Порівняння стійкості основних родів *Orchidaceae* можна побачити в таблиці 1.1.

Попри простоту цих молекулярних реакцій, механізми відповіді рослин на абіотичні стресори дуже багатогарні. Включають у себе: сприйняття сигналу, передачу інформації, транскрипційну регуляцію, посттранскрипційну обробку та посттрансляційні модифікації білків [16].

Стійкість основних родів квітково-декоративних рослин до абіотичних стресорів

Рід	Стійкість до низьких температур (10 °C)	Стійкість до посухи	Стійкість до світлового стресу	LMA	Тип фотосинтезу	Загальна толерантність
<i>Phalaenopsis</i>	Низька	Середня	Середня	Низька	CAM	Низька
<i>Cymbidium</i>	Висока	Висока	Висока	Висока	CAM / C ₃	Висока
<i>Dendrobium</i>	Середня–висока	Висока	Середня–висока	Середня–висока	CAM	Висока
<i>Cattleya</i>	Низька–середня	Висока	Середня	Середня	CAM	Середня

Оскільки представники родини *Orchidaceae* еволюціонували для життя в умовах стабільних тропічних кліматів, навіть незначні коливання температури, вологості чи освітлення можуть швидко вплинути на функціонування їхнього фотосинтетичного апарату.

Головним первинним сенсором абіотичного стресу є плазматична мембрана та хлоропласти. Текучість мембран, механічні напруги і потоки іонів кальцію (Ca^{2+}) викликають активацію кальцієвих каналів і сенсорів [16]. Підвищення концентрації Ca^{2+} у цитозолі рослинних клітин активує каскад протеїнкіназ (CDPK, MAPK), що передає інформацію далі по ланцюгу. У орхідеях виявлено, що кальцієва сигналізація є однією з перших молекулярних реакцій на охолодження та посуху.

Однією із центральних молекул сигналізації є активні форми кисню. При стресі ROS швидко накопичуються в клітинних органеллах: хлоропластах, пероксисомах і мітохондріях. Поміж токсичних реакцій, ROS також діють як вторинні месенджери, що активують транскрипційні фактори і регулюють експресію генів антиоксидантного захисту. У епіфітних орхідей ROS швидко

викликають деградацію хлорофілів і змінює співвідношення Chl a/b, що є раннім ознакою початку фотоінгібування.

Гормональна регуляція дозволяє рослині адаптуватись до стресу на довгостроковій основі. Абсцизова кислота є основним гормоном стресу рослин. При дефіциті води і охолодженні АВА швидко накопичується і активує свої рецептори, запускаючи фосфорилування білків OST1. Це призводить до закриття продихів, активації синтезу осмопротекторів і експресії генів стійкості. У орхідей з САМ-фотосинтезом АВА також має регулювати ритм накопичення малату.

Транскрипційні фактори також регулюють відповідь рослин на рівні генів. Один з перших факторів, що швидко активуються при холодovому стресі – це фактори CBF/DREB1. Вони зв'язуються з CRT/DRE-елементами в промоторах генів холодової відповіді (COR) [16]. У *Phalaenopsis* експресія генів CBF починає зростати протягом кількох годин після початку охолодження. При високій температурі стресу домінують фактори HSF (Heat Shock Factors), які регулюють гени білків теплового шоку (HSP70, HSP90, sHSP).

На останок, молекулярна відповідь включає в себе посттрансляційні модифікації білків (фосфорилування, убіквітинування, SUMO-лігування) і епігенетичні зміни (метилування ДНК, модифікації гістонів). Ці механізми дозволяють швидко і оборотно адаптуватися до змін навколишнього середовища без зміни генетичного коду організму. Особливо важливою вони є для епіфітних орхідей, які потребують зберегти функціональність фотосинтетичного апарату під час короткочасного стресу.

Таким чином, молекулярні механізми відповіді орхідей на абіотичні стресори є досить складною інтегративною мережею [16, 23]. Розуміння цих процесів стає основою для цілеспрямованої селекції та біотехнологічної акліматизації толерантних сортів орхідей.

Отже, знання про динаміку фотосинтетичних пігментів має велике практичне значення в умовах сучасної біотехнології орхідей. Вміст хлорофілу а і b, каротиноїдів та їхнє співвідношення можуть бути використані як біомаркери

фізіологічного стану організму. Це дозволяє швидко оцінювати стресовий стан рослин і контролювати якість регенерантів. Отримані дані можуть бути використані для відбору перспективних генотипів на ранніх стадіях селекції та підвищення ефективності селекційного процесу.

Аналіз спектрального складу пігментів використовують для швидкого скринінгу гібридів на толерантність до різних абіотичних стресів. Аналізуючи зміни рівня хлорофілів і співвідношення Chl a/b можна виявляти лінії з вищою стійкістю до низьких температур, посухи чи малого опіку ще до посадки рослин. Сорти *Phalaenopsis* з вищим рівнем каротиноїдів під час експозиції холодом зберігають свої декоративні якості краще і мають вищу виживаність. Цей підхід дозволяє стрімко знизити тривалість селекційних випробувань і об'єктивацію витрат на польові випробування.

Моніторинг пігментів під час мікроклонального розмноження *in vitro* є одним із ключових інструментів контролю якості регенерантів. Під час етапу акліматизації *ex vitro* рослини повинні адаптуватись від способу живлення гетеротрофного до автотрофного, що супроводжується значними змінами в пігментному складі. Спектрофотометричний моніторинг забезпечує вчасне виявлення рослини з низьким вмістом хлорофілів. Що супроводжується заходами для їх виправлення шляхом корекції опіки світлом, вологою та мінеральним живленням. Це особливо важливо для дорогих епіфітних сортів орхідей, для яких втрати при акліматизації можуть сягати 30–50 % [10].

Неінвазивний моніторинг фізіологічного стану орхідей *in vivo* за допомогою ПАМ-флуориметрії та гіпермспектральної візуалізації також дає можливість швидко і продуктивно оцінювати здоров'я рослин без пошкодження їх тканин. Ці методи широко застосовуються в промисловому вирощуванні для контролю маточного матеріалу і раннього виявлення стрес-реакцій. Для прикладу, якщо F_v/F_m опускається нижче 0,75 рослина вже потрапляє в стан фотоінгібування, хоча на цьому етапі її вегетативний стан може здатись ідеальним. Такий підхід можна значно знизити втрати при акліматизації і підвищити ефективність виробництва товарної продукції.

Таким чином, комплексне використання пігментних біомаркерів відкриває перспективи для створення інноваційних технологій вирощування орхідей.

Поєднання спектрофотометричного аналізу з молекулярно-генетичними методами дозволяє проводити цілеспрямовану селекцію на стійкість до кліматичних змін. Запровадження автоматизованих систем моніторингу в тепличних комплексах суттєво підвищує рентабельність комерційного виробництва.

У майбутньому такі підходи можуть стати основою для розробки цифрових платформ управління якістю посадкового матеріалу. Крім того, отримані дані сприяють збереженню генетичного різноманіття рідкісних видів *Orchidaceae* в умовах глобального потепління. Тому, пігментний профіль виступає надійним і доступним інструментом для оптимізації всього ланцюга біотехнологічного виробництва орхідей — від *in vitro* до товарної продукції

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкт дослідження

Об'єктом дослідження були рослини *Phalaenopsis hybr. 'Edessa'* (рис.2.1) (комерційний гібрид родини *Orchidaceae*) – типовий представник епіфітних орхідей з моноподіальним типом росту, сукулентними шкірястими листками, зібраними в розетку, та САМ-метаболізмом (рис.2.2; рис.2.3; рис.2.4).



Рис. 2.1. Загальний вигляд рослини *Phalaenopsis hybr. 'Edessa'* (фото автора).



Рис. 2.2. Морфометричні особливості листка (довжина листової пластинки)(фото автора).

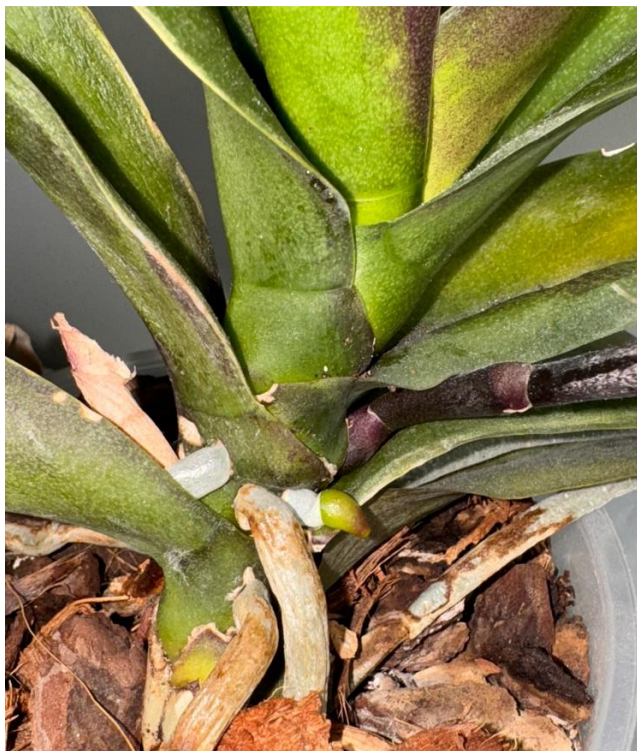


Рис. 2.3. Базальна частина розетки та коренева шийка з молодими пагонами (фото автора).



Рис. 2.4. Квітконос рослини *Phalaenopsis hybr.* 'Edessa' (фото автора).

Цей гібрид є одним із найпоширеніших модельних об'єктів для вивчення реакцій фотосинтетичного апарату на абіотичні стресори завдяки високій чутливості до змін відносної вологості повітря, температури та інтенсивності сонячної інсоляції.

Використовували ювенільні рослини однакового віку (8–10 місяців після пересадки), приблизно однакового розміру (висота 12–15 см, 4–6 листків). Дослідження проводили в контрольованих умовах лабораторії кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики Національного університету біоресурсів і природокористування України та лабораторії селекції та біотехнології деревних рослин ВП НУБіП України Боярська лісова дослідна станція у період жовтень 2025 – травень 2026 р.

Перед закладанням досліду рослини адаптували протягом 14 діб у субстраті (суміш соснової кори фракції 1–2 см, перліту та деревного вугілля в співвідношенні 2:1:1, рН 5,5–6,0). Полив здійснювали дистильованою водою з додаванням 0,5× розчину поживного середовища MS. Умови культивування в контролі: температура 24 ± 2 °C (день)/ 18 ± 2 °C (ніч), відносна вологість повітря 70–80 %, фотоперіод 16/8 годин, інтенсивність освітлення 100–150 мкмоль м⁻² с⁻¹ (білий LED-світло).

Після адаптації рослини розподілили за варіантами досліду (табл. 2.1). Кожен варіант включав 6–8 рослин з трьома біологічними повторностями. Тривалість експерименту - 21 доба. Вимірювання морфометричних показників та вмісту фотосинтетичних пігментів проводили на 7-, 14- та 21-шу добу.

Таблиця 2.1.

Схема варіантів досліду (моделювання абіотичних стресорів)

№ варіанту	Стресор	Рівень стресу
Контроль	-	-
1	Сухість повітря (низька RH)	40–45 %
2	Сухість повітря (низька RH)	55–60 %
3	Висока температура	32 ± 2 °C (день)
4	Низька температура	15 ± 2 °C (день)
5	Висока сонячна інсоляція	400 ± 50 мкмоль м ⁻² с ⁻¹
6	Комбінований стрес (RH + світло)	45 % + 400 мкмоль м ⁻² с ⁻¹

Таблиця 2.2.

Параметри моделювання стресорів

Стресор	Контроль	Стрес-рівень	Спосіб моделювання
Відносна вологість повітря	70–80 %	40–60 %	Кліматичні камери з осушувачами
Температура	24/18 °C	32 °C / 15 °C	Кліматичні камери з терморегуляцією
Інтенсивність освітлення	100–150 мкмоль м ⁻² с ⁻¹	400 мкмоль м ⁻² с ⁻¹	LED-панелі з регульованою інтенсивністю

2.2. Моделювання абіотичних стресорів

Моделювання стресорів проводили в контрольованих кліматичних камерах. Сухість повітря (низька відносна вологість) створювали за допомогою автоматичних осушувачів і вентиляції, підтримуючи рівні 40–45% та 55–60% RH (контроль — 70–80%). Високу температуру (32 ± 2 °C) та низьку (15 ± 2 °C) задавали терморегуляторами камер при постійній вологості 70%. Високу сонячну інсоляцію моделювали додатковими LED-панелями (спектр 400–700 нм) з інтенсивністю 400 ± 50 мкмоль м⁻² с⁻¹ (контроль — 100–150 мкмоль м⁻² с⁻¹) [26]. Комбінований стрес (низька RH + висока інсоляція) застосовували одночасно. Обробку стрес-факторами проводили постійно протягом 21 доби. Контрольні рослини утримували в оптимальних умовах. Для запобігання вторинним ефектам рослини періодично обприскували дистильованою водою.

2.3. Методи визначення морфометричних показників рослин

Морфометричні показники визначали за стандартними фізіологічними методиками [25]. Вимірювали: висоту рослини (від основи розетки до верхівки), кількість листків, довжину та ширину листової пластинки (цифровим штангенциркулем, точність 0,01 мм), загальну площу листової поверхні. Масу сирої та сухої речовини листя і коренів визначали гравіметрично (аналітичні терези, точність 0,001 г; сушіння при 70 °C до постійної маси).

Відносний вміст води розраховували за формулою:

$$RWC (\%) = \frac{\text{свіжа маса} - \text{суха маса}}{\text{тургорна маса} - \text{суха маса}} \times 100, \quad (2.1)$$

де RWC — відносний вміст води, %;

свіжа маса — маса свіжого листя, г;

суха маса — маса висушеного листя, г;

тургорна маса — маса листя після насичення водою, г.

Тургорну масу визначали після 4-годинного насичення зразків дистильованою водою. Інтенсивність опіків листків оцінювали візуально за 5-бальною шкалою (0 — відсутність, 5 — тотальне ураження). Вимірювання проводили в 5–6 біологічних повторностях.

2.4. Методи визначення вмісту фотосинтетичних пігментів

Вміст хлорофілів а, b, сумарного хлорофілу та каротиноїдів визначали спектрофотометричним методом після екстракції в 80 % ацетоні [21]. Зразки свіжого листкового матеріалу (100–200 мг) подрібнювали з CaCO_3 та екстрагували в темряві 48–72 год. Оптичну густину вимірювали при 663 нм, 646 нм та 470 нм. Концентрації розраховували за формулами:

$$C_a (\text{мг/л}) = 12,25 \times A_{663} - 2,79 \times A_{646}, \quad (2.2)$$

$$C_b (\text{мг/л}) = 21,50 \times A_{646} - 5,10 \times A_{663}, \quad (2.3)$$

$$C_x + c (\text{мг/л}) = \frac{100 \times A_{470} - 1,82 \times C_a - 85,02 \times C_b}{198} \quad (2.4)$$

де C_a , C_b , C_{x+c} — концентрація хлорофілу а, хлорофілу b та каротиноїдів відповідно, мг/л;

A_{663} , A_{646} , A_{470} — оптична густина екстракту при відповідних довжинах хвиль.

Вміст у тканинах — мг/г сирої маси. Вимірювання — в 5–6 повторностях.

2.5. Методи визначення вмісту вільного проліну

Вміст вільного проліну в листках *Phalaenopsis hybr. 'Edessa'* визначали спектрофотометричним методом за модифікованою методикою Bates et al. (1973) [1]. Зразки свіжої листкової тканини масою 0,1–0,2 г подрібнювали і екстрагували 10 мл 3 % сульфосаліцилової кислоти протягом 1 години при кімнатній температурі з періодичним струшуванням. Екстракт центрифугували при 5000 об/хв протягом 10 хвилин. До 2 мл надосадової рідини додавали 2 мл кислого нінгідринового реагенту (1,25 г нінгідрину в 30 мл льодяної оцтової кислоти + 20 мл 6 М фосфорної кислоти) та 2 мл крижаної оцтової кислоти. Суміш інкубували в киплячій водяній бані протягом 1 години. Після охолодження на льоду додавали 4 мл толуолу, інтенсивно струшували 20–30 секунд і відстоювали до розділення фаз. Верхню (толуолову) фазу відбирали і вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 520 нм проти толуолу як бланку на спектрофотометрі.

Концентрацію вільного проліну розраховували за стандартною калібрувальною кривою, побудованою з використанням L-проліну і виражали в мкмоль на 1 г сирової маси листя.

Формула розрахунку:

$$\text{Пролін (мкмоль/г сирової маси)} = \frac{C \times V}{m \times 100} \quad (2.5)$$

де C — концентрація проліну за калібрувальною кривою, мкмоль/мл;

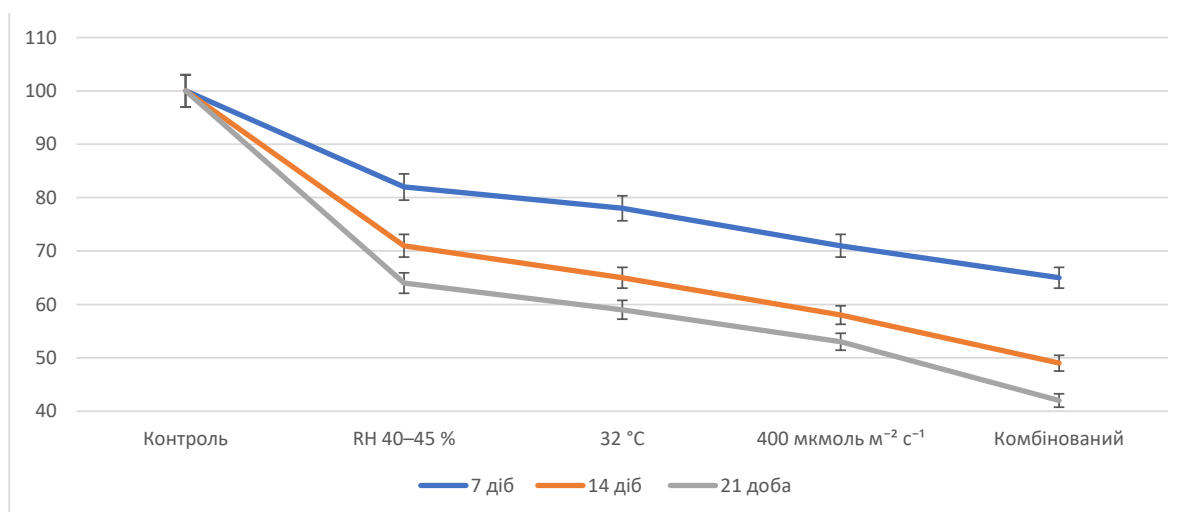
V — загальний об'єм екстракту, мл;

m — маса зразка, г.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

3.1. Вплив абіотичних стресорів на морфометричні показники рослин *Phalaenopsis hybr. 'Edessa'*

Абіотичні стресори (сухість повітря, екстремальні температури та висока сонячна інсоляція) суттєво пригнічували ріст і розвиток *Phalaenopsis hybr. 'Edessa'*, що узгоджується з біологічними особливостями епіфітних орхідей родини *Orchidaceae* (сукулентні листки, САМ-метаболізм, обмежена адаптація до низької вологості та високої інсоляції). Найбільш чутливими були висота рослини, площа листової поверхні та RWC; опіки листків спостерігалися переважно за високої інсоляції та комбінованого стресу. Динаміка висоти рослин за дії стресорів наведена на графіку 3.1.



Графік 3.1. Динаміка висоти рослин *Phalaenopsis hybr. 'Edessa'* за дії абіотичних стресорів (% від контролю).

Аналіз даних показує, що вже на 7-му добу найсильніше пригнічення спостерігалося у варіантах з високою інсоляцією (400 мкмоль м⁻² с⁻¹) та комбінованому стресі (зниження на 29–35 %). До 21-ї доби висота в цих варіантах становила лише 42–53 % від контролю. Сухість повітря (40–45 % RH) також викликала стабільне відставання в рості.

Дані морфометричних показників (у % від контролю) наведено в табл. 3.1. Найсильніше пригнічення відзначено за комбінованого стресу (низька RH +

висока інсоляція): висота зменшилася на 42–58 %, площа листкової пластинки — на 51–67 %. Сухість повітря (40–45 % RH) спричиняла швидке зниження RWC (на 28–35 %). Висока температура посилювала опіки листків (індекс 3,8–4,2 бали).

Таблиця 3.1.

Вплив стресорів на морфометричні показники *Phalaenopsis hybr.*

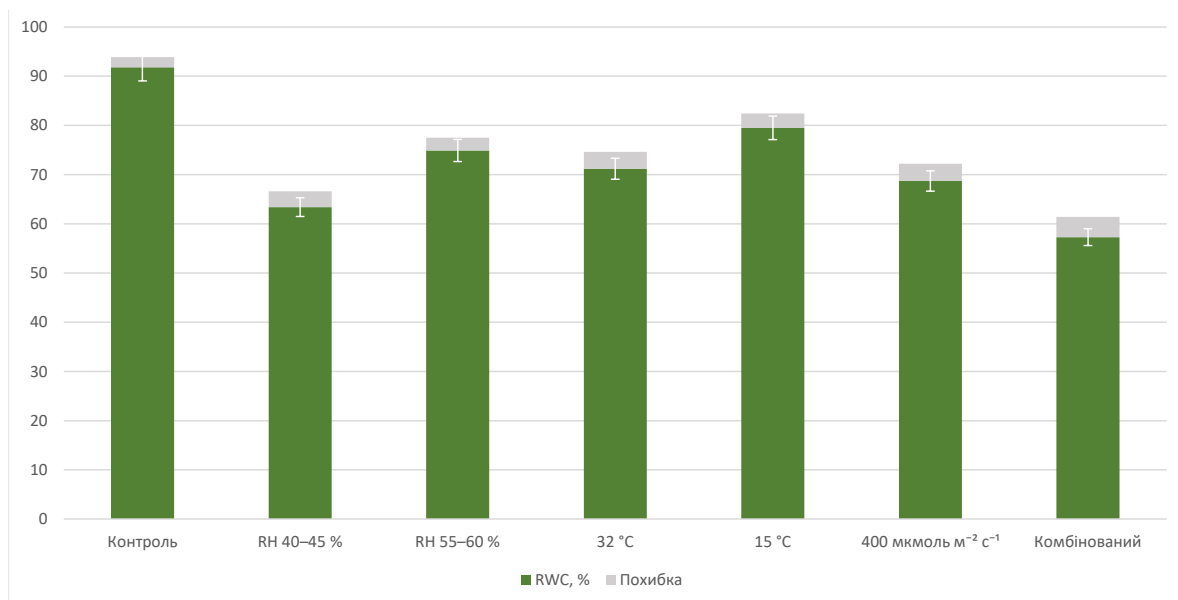
‘Edessa’ (у % від контролю, n=6)

Варіант	7 доба (висота)	21 доба (висота)	21 доба (площа листка)	RWC, % (21 доба)	Індекс опіків (бали)
Контроль	100	100	100	91,8 ± 2,1	0
RH 40–45 %	82 ± 3,4	64 ± 3,9	58 ± 4,5	63,4 ± 3,2*	1,2
RH 55–60 %	89 ± 2,8	73 ± 3,1	67 ± 3,8	74,9 ± 2,6*	0,8
32 °C	78 ± 4,1	59 ± 4,3	52 ± 5,1	71,2 ± 3,4*	2,9
15 °C	85 ± 3,2	68 ± 3,7	61 ± 4,2	79,5 ± 2,9	1,1
400 мкмоль м ⁻² с ⁻¹	71 ± 4,5	53 ± 4,8	46 ± 5,6	68,7 ± 3,5*	3,8*
Комбінований	65 ± 4,9	42 ± 5,2	33 ± 6,1	57,3 ± 4,1*	4,5*

*Примітка: * — $P \leq 0,05$.

Зниження RWC та поява опіків листків призводили до гальмування поділу клітин і зменшення біомаси, що доволі типово для САМ-орхідей за дефіциту вологи та надлишку світла. Дані відносного вмісту води в листках на 21-шу добу експерименту представлено на графіку 3.2.

Найнижчий рівень RWC спостерігався у варіанті комбінованого стресу (57,3 ± 4,1 %) та при сухості повітря 40–45 % RH (63,4 ± 3,2 %). Це є ознакою інтенсивного зневоднення тканин, що супроводжується порушенням водного режиму.



Графік 3.2. Відносний вміст води (RWC, %) у листках *Phalaenopsis hybr.* 'Edessa' на 21-шу добу.

3.2. Вплив абіотичних стресорів на вміст фотосинтетичних пігментів у листках *Phalaenopsis hybr.* 'Edessa'

Динаміка вмісту хлорофілів а + b та каротиноїдів представлена у таблиці 3.2. Згідно з отриманими даними наявні пошкодження фотосинтетичного апарату та листкової поверхні.

Найзначніше зниження хлорофілів (на 48–65 % на 21-шу добу) спостерігалось за високої інсоляції та комбінованого стресу через фотоокислення та ROS. Каротиноїди зменшувалися меншою мірою, виконуючи фотопротекторну роль. Співвідношення Chl a/b зростало, що свідчить про адаптивну перебудову антенного комплексу [37].

Вміст каротиноїдів знижувався меншою мірою порівняно з хлорофілами, що свідчить про їхню виражену фотопротекторну роль за умов надлишку світлової енергії. У стрес-варіантах з високою інсоляцією та комбінованим стресом концентрація каротиноїдів зменшилася лише на 37–48 %, тоді як сумарний вміст хлорофілів а + b — на 48–65 %, як написано вище. Така відносна стабільність каротиноїдів пояснюється активізацією циклу ксантофілів (зокрема

синтезом зеаксантину), який ефективно розсіює надлишкову світлову енергію у вигляді тепла та запобігає утворенню активних форм кисню у хлоропластах.

Таблиця 3.2.

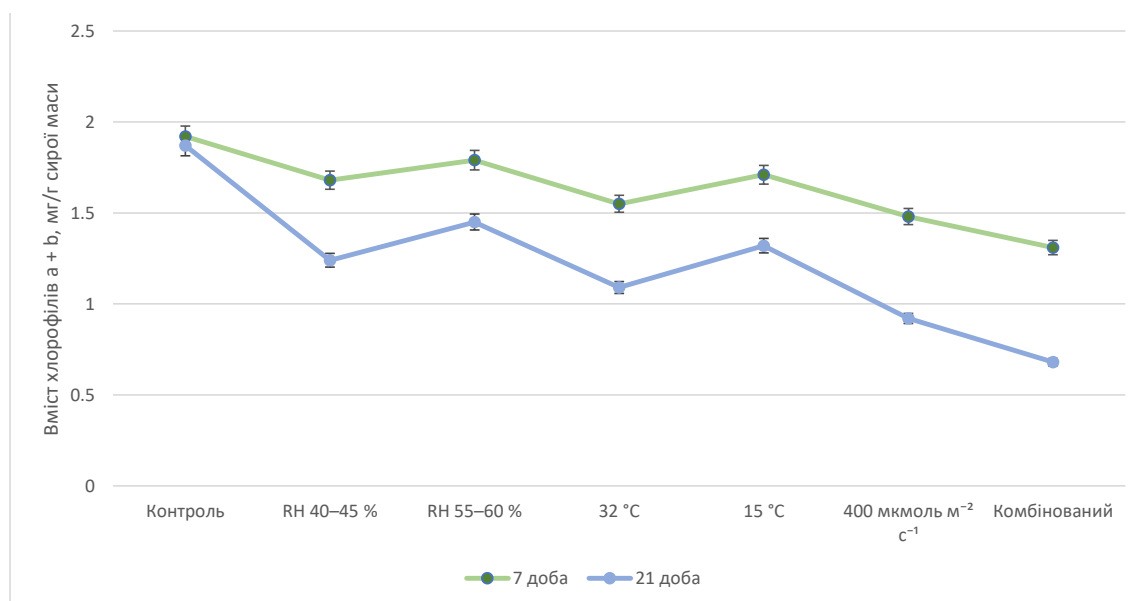
Вміст фотосинтетичних пігментів у листках *Phalaenopsis hybr.*

‘Edessa’ (мг/г сирої маси, n=6)

Варіант	7 доба (Chl a+b)	21 доба (Chl a+b)	21 доба (каротиноїди)	Chl a/b (21 доба)
Контроль	1,92 ± 0,11	1,87 ± 0,09	0,46 ± 0,03	2,8
RH 40–45 %	1,68 ± 0,13	1,24 ± 0,10*	0,38 ± 0,04	3,4*
RH 55–60 %	1,79 ± 0,12	1,45 ± 0,11*	0,41 ± 0,03	3,1
32 °C	1,55 ± 0,14*	1,09 ± 0,08*	0,33 ± 0,05*	3,6*
15 °C	1,71 ± 0,10	1,32 ± 0,09*	0,39 ± 0,04	3,2
400 мкмоль м ⁻² с ⁻¹	1,48 ± 0,15*	0,92 ± 0,07*	0,29 ± 0,05*	3,9*
Комбінований	1,31 ± 0,16*	0,68 ± 0,06*	0,24 ± 0,04*	4,2*

*Примітка: * — $P \leq 0,05$.

Динаміка вмісту хлорофілів a + b протягом експерименту представлена на графіку 3.3.



Графік 3.3. Динаміка вмісту хлорофілів a + b (мг/г сирої маси) у листках *Phalaenopsis hybr.* ‘Edessa’ протягом 21 доби.

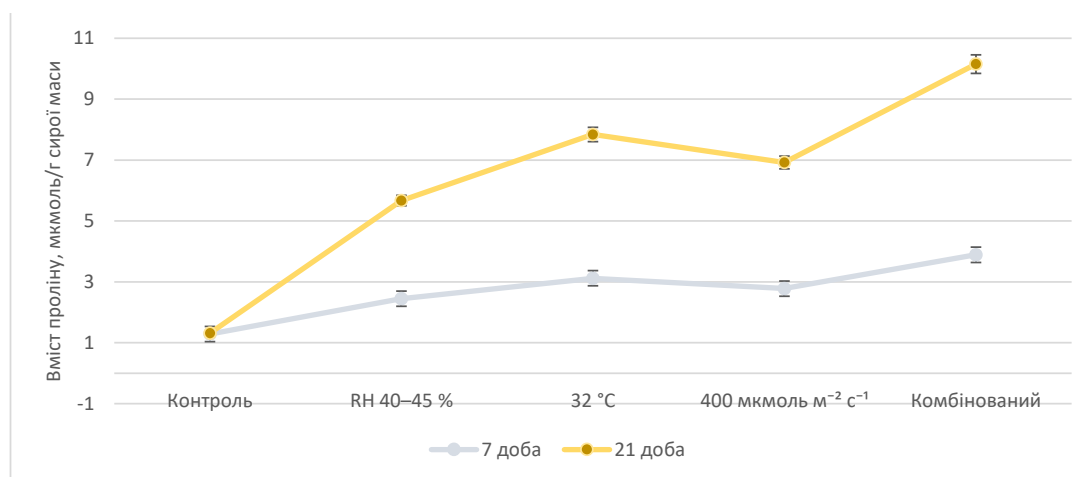
На 7-му добу спостерігалось статистично значуще зниження вмісту хлорофілів у варіантах з високою температурою (32 °C), високою сонячною інсоляцією (400 мкмоль м⁻² с⁻¹) та комбінованим стресом. До 21-ї доби

пригнічення стало найбільш вираженим: у варіанті комбінованого стресу вміст хлорофілів $a + b$ зменшився до $0,68 \pm 0,06$ мг/г сирої маси (зниження на 63,6 % порівняно з контролем $1,87 \pm 0,09$ мг/г). Сухість повітря (40–45 % RH) також викликала суттєве зниження вмісту пігментів (на 33,7 % на 21-шу добу).

3.3. Динаміка накопичення вільного проліну в листках *Phalaenopsis hybr. 'Edessa'*

Вільний пролін є одним із головних осмопротекторів і антиоксидантів, що накопичується в рослинах *Orchidaceae* під впливом абіотичних стресорів. Його рівень відображає ступінь осмотичного стресу та активацію захисних механізмів орхідеї [24]. У епіфітних орхідей пролін швидко синтезується в листковій тканині, сприяючи збереженню клітинного тurgору та захисту фотосинтетичного апарату від окисного пошкодження. За умов модельованих стрес-факторів його концентрація зростає в 5–7 разів порівняно з контролем. Що свідчить про інтенсивну мобілізацію осмотичного захисту.

Динаміка накопичення вільного проліну протягом експерименту представлена на графіку 3.4.



Графік 3.4. Динаміка накопичення вільного проліну (мкмоль/г сирої маси) у листках *Phalaenopsis hybr. 'Edessa'* протягом 21 доби.

Як демонструє графік, уже на 7-му добу вміст проліну значно зріс у всіх стрес-варіантах. До 21-ї доби накопичення було найбільш вираженим у варіанті

комбінованого стресу ($10,15 \pm 0,62$ мкмоль/г — у 7,7 раза вище контролю). Висока температура ($32\text{ }^{\circ}\text{C}$) та висока інсоляція також викликали суттєве підвищення рівня проліну (у 5,9 та 5,2 раза відповідно). Це свідчить про активну включення осмопротекторних механізмів у відповідь на зневоднення та окисний стрес.

Рівень накопичення вільного проліну в листковій тканині під впливом модельованих стрес-чинників представлено в табл. 3.3.

Таблиця 3.3.

Вміст вільного проліну (мкмоль/г сирої маси, n=6)

Варіант	7 доба	21 доба
Контроль	$1,29 \pm 0,10$	$1,32 \pm 0,09$
RH 40–45 %	$2,45 \pm 0,18$	$5,67 \pm 0,31^*$
$32\text{ }^{\circ}\text{C}$	$3,12 \pm 0,22$	$7,84 \pm 0,45^*$
$400\text{ мкмоль м}^{-2}\text{ с}^{-1}$	$2,78 \pm 0,19$	$6,92 \pm 0,38^*$
Комбінований	$3,89 \pm 0,27$	$10,15 \pm 0,62^*$

*Примітка: * — $P \leq 0,05$.

Отже, отримані дані дозволяють припустити, що зміст фотосинтетичних пігментів та рівень вільного проліну можуть бути надійними біомаркерами фізіологічного стану рослин родини *Orchidaceae* за умов дії абіотичних стресів. Розроблена модель відкриває можливості для подальших досліджень у біотехнологічному моніторингу, акліматизації регенерантів *in vitro* і селекції стійких комерційних гібридів *Phalaenopsis*.

ВИСНОВКИ

1. Абіотичні стресори значно подавляли морфометричні показники функціонування *Phalaenopsis hybr. 'Edessa'*. Найстресочутливішими параметрами були висота рослин та площа листкової поверхні, а також RWC. Найсильніше пригнічення спостерігалось за дії комбінованого стресу. Так, висота рослин на 21-шу добу становила лише 42 % від контролю, а RWC знизилася до $57,3 \pm 4,1$ %.

2. Вміст фотосинтетичних пігментів суттєво зменшувався під впливом досліджуваних стресорів. Найбільше зниження хлорофілів $a + b$ (на 63,6 %) виявлено у варіанті комбінованого стресу. Збільшення співвідношення Chl a/b з 2,8 в контролі до 4,2 у всіх стрес-варіантах свідчить про переважну деградацію хлорофілу b та адаптивну перебудову антенного комплексу. Каротиноїди достовірно знижувалися, але меншою мірою.

3. Вільний пролін накопичувався в листках активно як осмопротектор і антиоксидант. Максимальне збільшення (на 7,7 разів відносно контролю) спостерігалось за комбінації низької відносної вологості + високої інсоляції ($10,15 \pm 0,62$ мкмоль/г сирої маси на 21 ДБ). Ці дані підтверджують активацію захисних механізмів рослин на відповідь до осмотичного і окисного стресу.

4. Представники роду *Phalaenopsis* демонструють високу чутливість до дії засухи повітря, температурного і світлового стресу, що відповідає їх САМ-метаболізму та епіфітному способу життя. Синергічно діючі стресори суттєво посилюють шкоду фотосинтетичному апарату та морфометричним показникам рослин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // *Plant and Soil*. – 1973. – Vol. 39. – P. 205–207.
<https://doi.org/10.1007/BF00018060> (дата звернення: 22.05.2026).
2. Brunello L., et al. Root photosynthesis prevents hypoxia in the epiphytic orchid *Phalaenopsis* // *Functional Plant Biology*. – 2024. – Vol. 51, № 3. –
<https://doi.org/10.1071/FP23227> (дата звернення: 22.05.2026).
3. Crain B.J., Tremblay R.L. Hot and Bothered: Changes in Microclimate Alter Chlorophyll Fluorescence Measures and Increase Stress Levels in Tropical Epiphytic Orchids // *International Journal of Plant Sciences*. – 2017. – Vol. 178, № 7. – P. 503–511. <https://doi.org/10.1086/692767> (дата звернення: 22.05.2026).
4. Daems S., Ceusters N., Valcke R., Ceusters J. Effects of chilling on the photosynthetic performance of the CAM orchid *Phalaenopsis* // *Frontiers in Plant Science*. – 2022. – Vol. 13. – 981581. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.981581> (дата звернення: 22.05.2026).
5. Червона книга України. Рослинний світ / під заг. ред. Я.П. Дідуха. – Київ : Глобалконсалтинг, 2009. – 912 с.
6. Fay M.F., Chase M.W. Orchid biology: from Linnaeus to the 21st century // *Annals of Botany*. – 2009. – Vol. 104, № 3. – P. 359–364.
7. Fay M.F. How threatened are orchids? A review of the state of play and conservation priorities // *Biodiversity and Conservation*. – 2025.
<https://doi.org/10.1007/s10531-025-03187-7> (дата звернення: 22.05.2026).
8. Guevara-Pérez C.I., et al. Epiphytic orchids *Stanhopea tigrina* and *Prosthechea cochleata* are differentially affected by drought in a subtropical cloud forest // *Photosynthetica*. – 2019. – <https://doi.org/10.32615/ps.2019.016> (дата звернення: 22.05.2026).
9. He J., Norhafis H., Teo P. Responses of Green Leaves and Green Pseudobulbs of CAM Orchid *Cattleya laeliocattleya* Aloha Case to Drought Stress //

Journal of Botany. – 2013. – Article ID 710539. <https://doi.org/10.1155/2013/710539> (дата звернення: 22.05.2026).

10. Hew C.S., Yong J.W.H. The Physiology of Tropical Orchids in Relation to the Industry. 2nd ed. – Singapore : World Scientific Publishing, 2004.

11. Hinsley A. et al. A review of the trade in orchids and its implications for conservation // Botanical Journal of the Linnean Society. – 2018. – Vol. 186, № 4. – P. 435–455. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/box083> (дата звернення: 22.05.2026).

12. Huang M.Y., et al. Rapid Light-Response Curve of Chlorophyll Fluorescence Parameters in the CAM Orchid *Phalaenopsis* // Plants. – 2021. – Vol. 10, № 3. – 445. – <https://doi.org/10.3390/plants10030445> (дата звернення: 22.05.2026).

13. Hulkko L.S.S., Chaturvedi T., Thomsen M.H. Extraction and Quantification of Chlorophylls, Carotenoids, Phenolic Compounds, and Vitamins from Halophyte Biomasses // Applied Sciences. – 2022. – Vol. 12, № 2. – 840. <https://doi.org/10.3390/app12020840> (дата звернення: 22.05.2026).

14. Ibrahim A.E.A. et al. Exogenously applied proline enhances morphophysiological responses and yield of drought-stressed maize plants grown under different irrigation systems // Frontiers in Plant Science. – 2022. – Vol. 13. – 897027. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.897027> (дата звернення: 22.05.2026).

15. Jiang Z. et al. Mechanisms of plant acclimation to multiple abiotic stresses // Communications Biology. – 2025. – Vol. 8. – 655. <https://doi.org/10.1038/s42003-025-08077-w> (дата звернення: 22.05.2026).

16. Khan A.A. et al. Mechanistic insights and future perspectives of drought stress management in staple crops // Frontiers in Plant Science. – 2025. – Vol. 16. – 1547452. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1547452> (дата звернення: 22.05.2026).

17. Kindlmann P., Kull T., McCormick M. The Distribution and Diversity of Orchids // Diversity. – 2023. – Vol. 15, № 7. – 810. <https://doi.org/10.3390/d15070810> (дата звернення: 22.05.2026).

18. Khasim S.M. et al. (eds.) *Orchid Biology: Recent Trends & Challenges*. – Singapore : Springer, 2020. – 551 p. <https://doi.org/10.1007/978-981-32-9456-1> (дата звернення: 22.05.2026).
19. Kopecká R. et al. Abiotic Stress in Crop Production // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24, № 7. – 6603. <https://doi.org/10.3390/ijms24076603> (дата звернення: 22.05.2026).
20. Kumar A. et al. Biosynthesis and extraction of high-value carotenoid from algae // *Frontiers in Bioscience-Landmark*. – 2021. – Vol. 26, № 6. – P. 4932. <https://doi.org/10.52586/4932> (дата звернення: 22.05.2026).
21. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and Carotenoids determination (after Lichtenthaler 1987): a practical instruction. – Karlsruhe : Karlsruhe Institute of Technology, 2010. – 2 p. URL: https://www.jkip.kit.edu/molbio/download/1A_Chlorophylls_Carotenoid_determin-HKLi_2010.pdf (дата звернення: 22.05.2026).
22. Lubinsky P. et al. Origins and dispersal of cultivated vanilla (*Vanilla planifolia*) // *Economic Botany*. – 2008. – Vol. 62, № 4. – P. 355–367.
23. Manghwar H. et al. Waterlogging stress in plants: Unraveling the mechanisms and impacts on growth, development, and productivity // *Environmental and Experimental Botany*. – 2024. – Vol. 224. – 105824. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2024.105824> (дата звернення: 22.05.2026).
24. Maulidah N.I., Lin I.-H., Yen Y.-T., Liou T.-Y., Chuang H.-w. Microbial-derived metabolites coordinate growth regulation and stress tolerance in *Phalaenopsis* orchids // *Journal of Plant Physiology*. – 2026. – Vol. 322. – 154798. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2026.154798> (дата звернення: 22.05.2026).
25. Munns R. Plant water content and relative water content [Електронний ресурс] // *PROMETHEUS Protocols*. – Режим доступу: <https://prometheusprotocols.net/function/water-relations/water-content-and-rwc/plant-water-content-and-relative-water-content/> (дата звернення: 22.05.2026).
26. *Orchidaceae* Juss. 1789. In: Jussieu A.L. de. *Genera Plantarum*. – Parisiis [Paris]: Apud Viduam Herissant, p. 64. nom. cons. URL:

<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30000046-2> (дата звернення: 22.05.2026).

27. Ouzounis T., et al. Spectral Effects of Artificial Light on Plant Physiology and Secondary Metabolism // *HortScience*. – 2015. – Vol. 50, № 8. – P. 1128–1135. – <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.50.8.1128> (дата звернення: 22.05.2026).

28. Perez-Gil J. et al. The methylerythritol phosphate pathway as an oxidative stress sense and response system // *Nature Communications*. – 2024. – Vol. 15. – 5213. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-49483-8> (дата звернення: 22.05.2026).

29. Petibon F., Wiesenberg G.L.B. Characterization of complex photosynthetic pigment profiles in European deciduous tree leaves by sequential extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography // *Frontiers in Plant Science*. – 2022. – Vol. 13. – 957606. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.957606> (дата звернення: 22.05.2026).

30. Petjukevics A., et al. Chlorophyll fluorescence changes, as plant early state indicator under different water salinity regimes on the invasive macrophyte *Elodea canadensis* // *One Ecosystem*. – 2022. – Vol. 7. – e82389. – <https://doi.org/10.3897/oneeco.7.e82389> (дата звернення: 22.05.2026).

31. Pessoa E.M. et al. An Overview of Orchidaceae from Brazil: Advances and Shortfalls After 400 Years of Studies // *Plants*. – 2025. – Vol. 14, № 22. – 3520. <https://doi.org/10.3390/plants14223520> (дата звернення: 22.05.2026).

32. Qian Z., He L., Li F. Understanding cold stress response mechanisms in plants: an overview // *Frontiers in Plant Science*. – 2024. – Vol. 15. – 1443317. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1443317> (дата звернення: 22.05.2026).

33. Raza A. et al. Panomics to manage combined abiotic stresses in plants // *Trends in Plant Science*. – 2025. – Vol. 30, № 10. – P. 1079–1084. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2025.03.001> (дата звернення: 22.05.2026).

34. Sachdev S., et al. Abiotic Stress and Reactive Oxygen Species: Generation, Signaling, and Defense Mechanisms // *Antioxidants*. – 2021. – Vol. 10, № 2. – 277. – <https://doi.org/10.3390/antiox10020277> (дата звернення: 22.05.2026).
35. Semida W.M. et al. Exogenously applied proline enhances growth and productivity of drought stressed onion by improving photosynthetic efficiency, water use efficiency and up-regulating osmoprotectants // *Scientia Horticulturae*. – 2020. – Vol. 272. – 109580. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109580> (дата звернення: 22.05.2026).
36. Species of Orchid [Електронний ресурс] // VistaCreate. – Режим доступу: <https://create.vista.com/es/photos/species-of-orchid/>. (дата звернення: 22.05.2026).
37. Tay S., et al. CAM plasticity in epiphytic tropical orchid species responding to environmental stress // *Frontiers in Plant Science*. – 2019. – <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6513927/> (дата звернення: 22.05.2026).
38. Wellburn A.R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution // *Journal of Plant Physiology*. – 1994. – Vol. 144, № 3. – P. 307–313. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2) (дата звернення: 22.05.2026).
39. Xu W. et al. ROS signaling and its involvement in abiotic stress // *Plant Stress*. – 2024. – Vol. 11. – 100278. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100278> (дата звернення: 22.05.2026).
40. Yang G.S., et al. A Key Regulator of Leaf Pigmentation in Cymbidium Orchids // *Horticulturae*. – 2025. – Vol. 11, № 2. – 190. – <https://doi.org/10.3390/horticulturae11020190> (дата звернення: 22.05.2026).
41. Yu X. et al. Biosynthesis and Extraction of Chlorophyll, Carotenoids, Anthocyanins, and Betalaine In Vivo and In Vitro // *Current Issues in Molecular Biology*. – 2024. – Vol. 46, № 9. – P. 10662–10676. <https://doi.org/10.3390/cimb46090633> (дата звернення: 22.05.2026).
42. Zhang S. et al. Physiological diversity of orchids: the importance of physiological traits for ecological niche differentiation and species coexistence //

Plant Diversity. – 2018. – Vol. 40, № 5. – P. 196–208.

<https://doi.org/10.1016/j.pld.2018.09.001> (дата звернення: 22.05.2026).

43. Zhang Y. et al. Plants' Response to Abiotic Stress: Mechanisms and Strategies // *Frontiers in Plant Science*. – 2023. – Vol. 14. – 10341657.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2023.10341657> (дата звернення: 22.05.2026).

44. Злобін В.В. та ін. Фізіологічні методи дослідження рослин : навч. посіб. – Вінниця : Нова книга, 2009. – 260 с.