

ЖУК В. В.[✉], МІХЄЄВ О. М., ОВСЯННІКОВА Л. Г.

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України,

Україна, 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 148

[✉] vzhukv@gmail.com, (097) 672-33-64

АДАПТИВНИЙ ВПЛИВ ЦИТОКІНІНУ НА РОСЛИНИ СОЇ ЗА ДІЇ ХРОНІЧНОГО ОПРОМІНЕННЯ УЛЬТРАФІОЛЕТОМ В

Мета. Завданням роботи було дослідження адаптивного впливу цитокініну 6-бензиламінопурину (БАП) на рослини сої (*Glycine max* (L.) Merr.) в умовах хронічного ультрафіолетового В (УФ-В) опромінення.

Методи. Рослини сої сорту «Муза» обприскували розчином БАП у концентрації 10^{-6} М у фазі двох трійчастих листків та піддавали дії хронічного опромінення УФ-В у дозі 6 кДж/м² на день протягом 8 діб. Протягом дослідження вимірювали довжину пагонів, у листках визначали вміст фотосинтетичних пігментів та перекису водню (ПВ). Після дозрівання рослин підраховували кількість стручків на рослину.

Результати. Встановлено, що дія хронічного опромінювання УФ-В на рослини сої пригнічувала ріст пагонів, зменшувала вміст хлорофілів і каротиноїдів, підвищувала концентрацію ПВ у листках, знижувала кількість стручків. Обробка сої розчином БАП перед опроміненням збільшувала кількість стручків, затримувала деградацію фотосинтетичних пігментів і стимулювала їх накопичення після завершення дії УФ-В, регулювала вміст ПВ. **Висновки.** Встановлено, що обробка рослин сої розчином БАП до початку дії УФ-В знижувала деструктивну дію опромінення на пігментний комплекс, ріст і продуктивність та стимулювала їх адаптацію до стресу.

Ключові слова: УФ-В, 6-бензиламінопурин, соя, фотосинтетичні пігменти, адаптація.

Сонячне світло, яке досягає рослинного покриву Землі, завжди містить ультрафіолетову складову. Значну частку у сонячному спектрі променів займає УФ-В, для сприйняття якого у клітинах листового епідермісу існує специфічний фоторецептор, що індукує адаптивну регуляцію метаболізму рослин, спрямовану на захист рослин від деструктивної дії надлишкового УФ-В випромінювання [1]. Встановлено, що УФ-В кванти здатні руйнувати фотосинтетичні пігменти, мембрани, ДНК, білки, ліпіди, підвищувати ендogenous вміст активних форм кисню

(АФК), спричиняти затримку росту рослин, зменшувати їх продуктивність [2]. Встановлено, що дія хронічного опромінення УФ-В у високих дозах затримувала ріст коренів сої у довжину, їх розгалуження, зменшувала вміст ауксину, цитокінінів, гіберелінів і одночасно підвищувала концентрацію перекису водню (ПВ), абсцизової кислоти [3]. Соя належить до цінних продовольчих культур в Україні і світі, тому дослідження дії хронічного опромінення УФ-В на рослини сої та засобів зменшення його негативного впливу на формування продуктивності залишається актуальною науковою проблемою.

Фітогормони відносять до головних чинників, які формують адаптивну відповідь рослин на дію абіотичних стресів. Цитокініни виконують сигнальну функцію і беруть участь у регуляції усіх стадій існування рослинного організму [4]. Найважливішими процесами, які відбуваються за участі цитокінінів, є поділ і диференціація клітин, синтез пігментів і біогенез хлоропластів, визначення типів і розмірів окремих органів, утворення і розгалуження судин, реалізація потенційної продуктивності рослин. Природні рослинні цитокініни є похідними аденіну, біологічна активність яких зумовлена здатністю зв'язуватися зі специфічними рецепторами. Рецепторами цитокінінів є АТФ-залежні гістидинкінази, які сприймають сигнал і передають його по сигнальній мережі шляхом поетапного фосфорилування відповідних білків. Сигнальна мережа цитокінінів містить численні групи регуляторних білків, які беруть участь у формуванні відповіді рослини на різноманітні чинники зовнішнього середовища. Екзогенна обробка рослин цитокінінами дозволяє поповнювати ендogenous пул в умовах їх дефіциту. Встановлено, що обробка сім'ядолей огірка цитокініном 6-бензиламінопурином (БАП) до початку їх опромінення УФ-В зменшувала ендogenous рівень АФК у тканинах, подовжувала тривалість їх функціонування [5].

Найбільш розповсюдженим видом АФК у клітинах є ПВ, який в оптимальній концентрації виконує сигнальні функції, бере участь у регуляції рухів замикальних клітин продихів, росту та розвитку рослин у взаємодії з фітогормонами та Ca^{2+} – сигнальною системою, а у надлишковій кількості здатен викликати оксидний стрес [6, 7].

Нами встановлено, що хронічне опромінення рослин гороху УФ-В у дозах, які перевищували 4 кДж/м^2 на день, не обернено пригнічувало ріст пагонів у довжину, зменшувало продуктивність рослин [8]. Раніше нами з'ясовано, що хронічна дія УФ-В випромінювання у природних дозах на рослини кукурудзи спричиняла затримку ростових процесів і формування фотосинтетичного комплексу [9]. Висока витривалість рослин кукурудзи до ультрафіолету сприяла їх швидкій адаптації, відновленню ростової активності, зменшенню ендогенного вмісту ПВ до рівня контролю. Нами встановлено, що обробка рослин гороху водним розчином БАП у фазі 3 ярусів листків до початку дії хронічного УФ-В опромінення зменшувала його негативну дію на наростання маси рослин, синтез фотосинтетичних пігментів, знижувала вміст ПВ у листках, сприяла адаптації рослин до дії УФ-В [10]. Однак адаптивна дія цитокінінів в умовах хронічного опромінення УФ-В на рослини сої все ще досліджена недостатньо.

Метою нашої роботи було вивчення адаптивного впливу екзогенного цитокініну БАП на ріст, формування пігментного комплексу, рівень ПВ у листках рослин сої за дії хронічного УФ-В опромінення.

Матеріали і методи

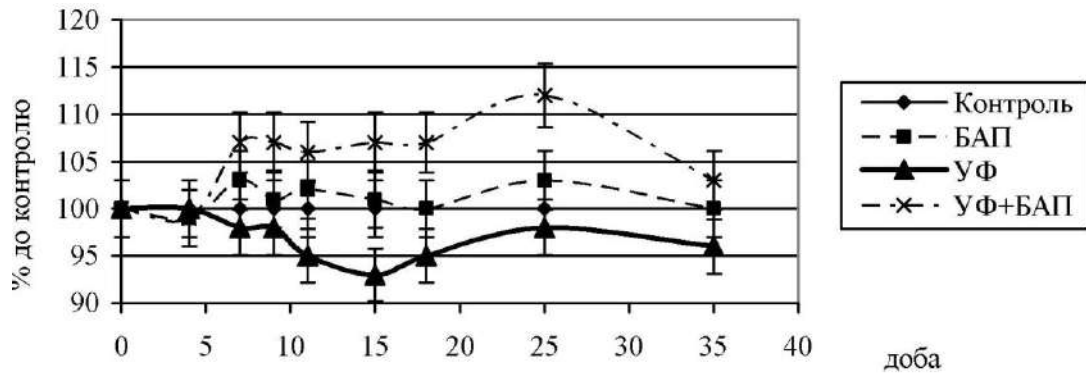
Рослини сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту «Муза» вирощували в умовах вегетаційного досліду за температури $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Режим освітлення становив 12 годин світла інтенсивністю $4,4 \text{ кЛк}$ і 12 годин темноти. Обробку рослин водним розчином БАП у концентрації 10^{-6} М проводили у фазі 2 трійчастих листків. Дослідження дії хронічного опромінення УФ-В у дозі 6 кДж/м^2 на день потужністю 1 Вт/м^2 проводили протягом 8 діб; його створювали за допомогою УФ-В ламп фірми Philips (Special fluorescent lamp), – після обробки рослин сої розчином БАП. Контрольні рослини та рослини варіанта з обробкою БАП без опромінення знаходились окремо та були захищені від променів УФ-В скляним фільтром товщиною 5 мм. Виміри довжини паго-

нів рослин і відбір проб для визначення вмісту фотосинтетичних пігментів і ендогенного ПВ у листках проводили у один і той же час і відображались на графіках як доби після обробки розчином БАП. Зміни довжини пагонів сої та кількість стручків на рослину визначали як відношення їх величини у досліді до відповідних значень у контролі у відсотках. Визначення вмісту фотосинтетичних пігментів проводили етапним методом за Ліхтенталером [11], ПВ – за Чен та Као [12]. Кількість ПВ виражали у мікромолях (мкМ), а пігментів – у міліграмах (мг) на грам (г) маси сирової речовини. Повторність досліду 5-разова. Результати оброблені статистично за допомогою програми Microsoft Excel. На графіках наведено середні арифметичні значення та величини дисперсії.

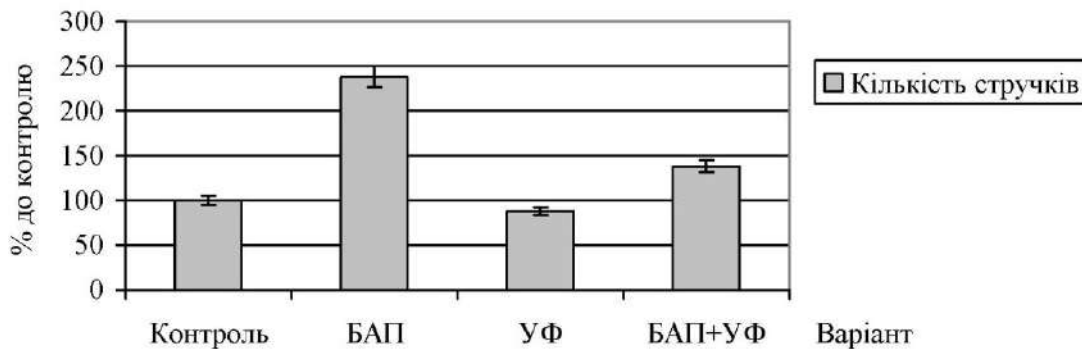
Результати та обговорення

Хронічне опромінення УФ-В у дозі 6 кДж/м^2 на день пригнічувало ріст пагонів сої (рис. 1 а). Після завершення дії УФ-В променів ріст пагонів відставав від контролю. Нашими попередніми дослідженнями встановлено, що найбільш ефективно стимулювала ріст і продуктивність рослин сої обробка їх розчином БАП у концентрації 10^{-6} М у фазі 2 трійчастих листків. З'ясовано, що обробка БАП рослин сої до початку хронічного опромінення УФ-В спричиняла стимуляцію росту пагонів до найвищого серед усіх варіантів рівня. Після завершення вегетації рослин сої була визначена їх продуктивність. Опромінення УФ-В рослин сої призвело до зменшення кількості стручків на рослину порівняно з контролем на 12 % (рис. 1 б). Виявлено, що найбільшу кількість стручків сформували рослини сої, які були оброблені БАП. Кількість утворених стручків у цьому варіанті була удвічі вищою, ніж у контролі. Обробка рослин БАП з наступним їх опроміненням УФ-В дозволила сформувати на 50 % більше стручків порівняно з опроміненими, але не обробленими екзогенним цитокініном рослинами.

З'ясовано, що дія хронічного УФ-В опромінення спричиняла поступове зменшення вмісту фотосинтетичних пігментів у листках сої; воно було найзначнішим на 11 добу досліду (рис. 2 а, б, в). Після припинення дії УФ-В вміст хлорофілів та каротиноїдів у листках залишався нижчим (порівняно з відповідними значеннями контролю). Визначення вмісту хлорофілів а і б показало, що їх співвідношення залишалось незмінним у всіх варіантах протягом досліду.



а



б

Рис. 1. Вплив УФ-В та цитокініну БАП на ріст і продуктивність рослин сої (а – довжина пагона; б – кількість стручків).

В оброблених БАП рослинах вміст хлорофілів а і б був вищим на 20 %, а каротиноїдів – на 30 % від контролю протягом дослідження. В оброблених БАП рослинах після завершення їх опромінення УФ-В вміст фотосинтетичних пігментів зростав і перевищував відповідні значення опроміненого УФ-В варіанта в 1,5 раза.

Вивчення ендogenous вмісту ПВ у листках сої виявило, що за дії УФ-В променів відбувалося різке зростання кількості ПВ, яке було на 80 % більшим порівняно зі значеннями контролю. Водночас у попередньо оброблених БАП рослинах сої вміст ПВ за дії УФ-В променів збільшувався на 40 % порівняно з контрольним варіантом. Після завершення дії УФ-В опромінення вміст ПВ у листках зменшувався, але залишався на вищому порівняно з контролем рівні, що пов'язано з формуванням фотосинтетичного комплексу, який є головним джерелом АФК у рослин. У листках, оброблених БАП, рослин сої за відсутності опромінення УФ-В вміст ПВ перевищував відповідні значення контролю, що зумовлювалося стимуляцією їх розвитку.

Дослідження сигнальної мережі цитокінінів дозволило виявити її безпосередню участь у найважливіших процесах у рослинах на всіх стадіях онтогенезу, тісну взаємодію з іншими сигнальними шляхами [4]. Встановлено, що сприйнятий акцепторами цитокінінів сигнал передається до генома, спричиняє зміни в експресії генів, внаслідок чого відбувається відповідна корекція метаболізму. БАП належить до групи природних цитокінінів, які функціонують у клітинах надземної частини рослин. Він здатен легко проникати у клітини і безпосередньо включатись у пул ендogenous цитокінінів, що має важливе значення в умовах їх дефіциту, який виникає за дії несприятливих чинників середовища. Проведені нами дослідження впливу екзогенного цитокініну БАП на адаптацію рослин сої до дії хронічного УФ-В опромінення виявили, що відбувалася стимуляція росту пагона у довжину, яка свідчить про безпосередню участь цитокініну у регуляції процесів поділу клітин у меристемах, диференціації і формуванні тканин листка і стебла.

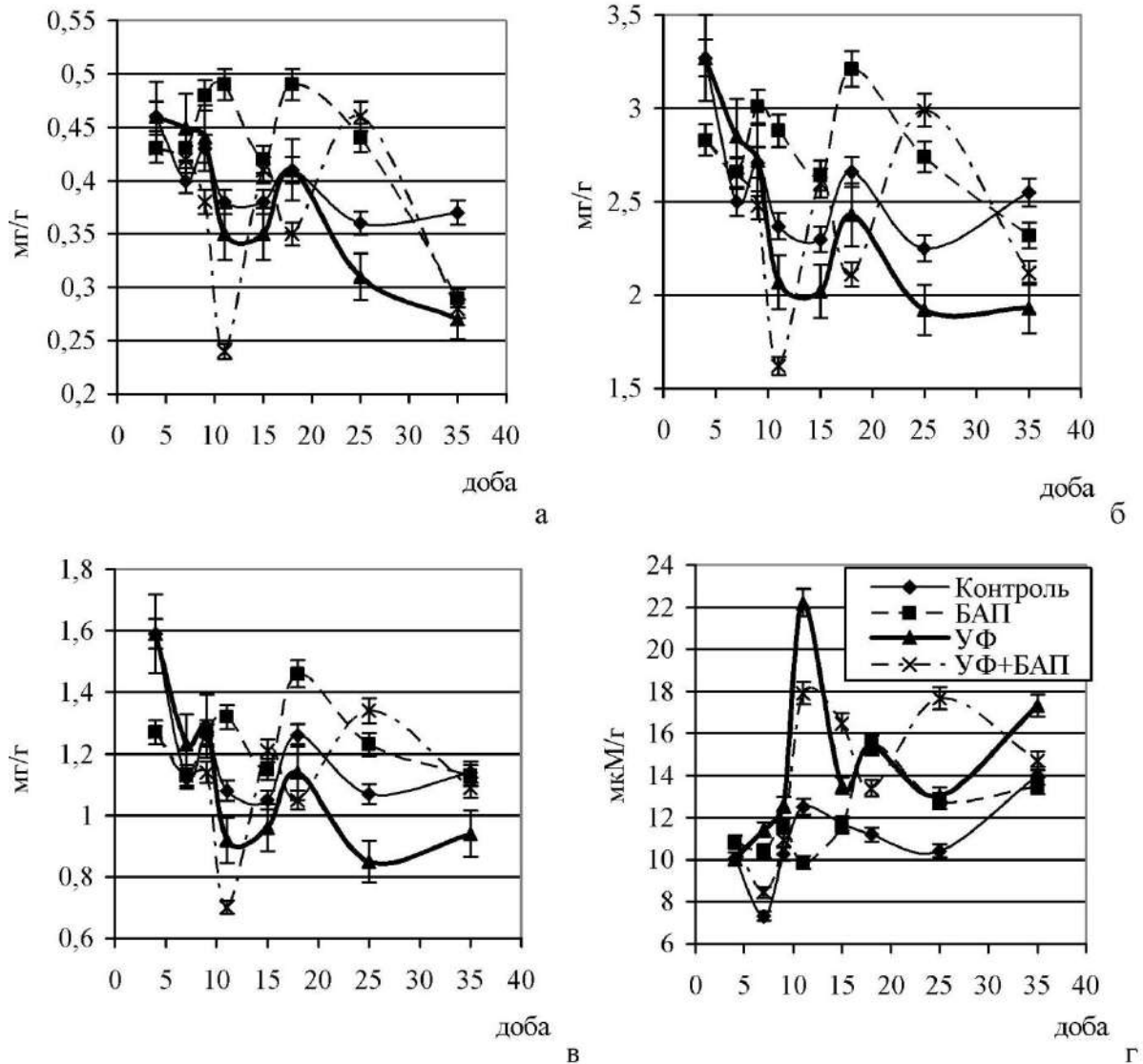


Рис. 2. Вплив УФ-В та цитокініну БАП на вміст фотосинтетичних пігментів та ендогенного ПВ у листках сої (вміст а – каротиноїдів; б – хлорофілу; а, в – хлорофілу; б, г – ПВ).

Збільшення кількості стручків у рослинах сої, які були оброблені БАП, зумовлено його впливом на процеси розвитку, детермінації клітин меристем у напрямку формування репродуктивних органів і стимуляції продуктивності. Відомо також участь цитокінінів у процесах синтезу фотосинтетичних пігментів і біогенезу хлоропластів. В умовах наших дослідів у листках рослин сої накопичення хлорофілів і каротиноїдів відбувалось у процесі їх формування, було максимальним у зрілих листках і зменшувалось у процесі розвитку рослин. Обробка надземної частини рослин сої БАП стимулювала утворення більшої кількості хлорофілів і каротиноїдів порівняно з рослинами контролю. Хронічне УФ-В опромінення рослин зменшувало вміст фотосинтетичних пігментів у листках

протягом періоду дії ультрафіолету. Після завершення опромінення кількість фотосинтетичних пігментів у листках сої збільшувалась, однак не досягала величин контрольного варіанта. У листках рослин сої, оброблених БАП, до початку дії УФ-В вміст фотосинтетичних пігментів зменшувався, однак протягом короткого періоду після завершення опромінення підвищувався і перевищував значення опроміненого варіанта, що свідчить про адаптуючу дію БАП.

Дослідження вмісту ПВ у листках сої виявило його збільшення за дії УФ-В опромінення, однак в оброблених БАП рослинах сої до початку дії УФ-В вміст ПВ у листках був нижчим (порівняно з необробленими рослинами) протягом дії стресу. Стимуляція росту і розвитку рослин сої у відновний період після завер-

шення дії опромінення призвела до стабільно більш високого вмісту ПВ у листках, ніж у контрольних рослинах, який зумовлений прискоренням накопичення фотосинтетичних пігментів і комплексів, активізацією їх функціонування за дії БАП, що свідчить про його участь у регуляції метаболізму, який пов'язаний із продукуванням і утилізацією АФК.

ПВ належить до найбільш розповсюдженої у рослині форми АФК, головним джерелом якої є процеси фотосинтезу у хлоропластах, з якими також пов'язані основні сигнальні функції ПВ [7]. Водночас ПВ має найбільшу тривалість існування серед АФК, транспортується на значні відстані по аквапоринових каналах, що дозволяє йому взаємодіяти з іншими сигнальними системами у рослині, брати участь у регуляції процесів її розвитку. Різне зростання вмісту ПВ у клітинах листкового мезофілу за дії стресу насамперед зумовлюється дисбалансом у його продукуванні й утилізації у фотосистемах. Цитокініни стимулюють адаптацію метаболізму рослин у напрямку посилення утилізації надлишкової кількості АФК, заміни нефункціональних структур клітин, що зумовлено їх сигнальними функціями. Відома здатність екзогенного БАП включатися в ендogenous пул цитокінінів у клітинах листкового мезофілу пов'язана з його ідентичністю з відповідним ендogenous природним цитокініном, що дозволяє йому брати участь у функціонуванні сигнальної мережі цитокінінів, регуляції ключових процесів метаболізму, новоутворенні клітин і внутрішньоклітинних структур, формуванні тканин і органів рослин на усіх стадіях їх онтогенезу [5]. Отримані нами дані свідчать про те, що обробка рослин сої цитокініном БАП до початку їх опромінення УФ-В підвищила їх адаптивну здатність до дії стресового чинника, дозволила зменшити стресове навантаження на рослини і сприяла їх відновленню після завершення дії УФ-В променів. Захист головних продовольчих культур від надмірного опромінення УФ-В у польових умовах шляхом попередньої обробки рослин цитокінінами і препаратами з цитокініновою активністю на ранніх фазах росту і розвитку дозволить зменшити їх ушкодження і підвищити продуктивність у несприятливих умовах довкілля.

References

1. Hayes S., Sharma A., Fraser D.P., Fankhauser Ch., Jenkins G.I., Franklin K.A. UV-B Perceived by the UVR8 photoreceptor inhibits plant thermomorphogenesis. *Curr. Biol.* 2017. Vol. 27. P. 120–127. doi: 10.1016/j.cub.2016.11.004.
2. Kakani V.G., Reddy K.R., Zhao D., Sailaja K. Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review. *Agricultural and forest meteorology.* 2003. Vol. 120. P. 191–218. doi: 10.1016/j.agrformet.2003.08.015.

Висновки

Встановлено, що хронічне опромінення рослин сої УФ-В у дозі 6 кДж/м² на день у фазі двох трійчастих листків пригнічувало ріст пагонів сої, який після завершення дії УФ-В променів продовжував відставати від рослин контролю. Обробка рослин сої БАП до початку опромінення УФ-В стимулювала ріст пагонів до найвищого серед усіх варіантів рівня. Опромінення рослин сої УФ-В зменшувало кількість стручків на рослину. Обробка сої БАП з наступним опроміненням УФ-В дозволила їй сформувати на 50 % більше стручків порівняно з опроміненними, але не обробленими екзогенним цитокініном рослинами. Дія хронічного УФ-В опромінення спричиняла зменшення вмісту фотосинтетичних пігментів у листках сої, який залишався нижчим порівняно з контролем після завершення дії УФ-В. Визначення вмісту хлорофілів а і b показало, що їх співвідношення залишалось незмінним у всіх варіантах протягом досліду. Обробка рослин БАП підвищувала вміст хлорофілів а і b на 20 %, а каротиноїдів – на 30 % порівняно з контролем протягом досліду. В оброблених БАП рослин після завершення їх опромінення УФ-В вміст фотосинтетичних пігментів перевищував відповідні значення опроміненого УФ-В варіанта в 1,5 раза.

Ендogenous вміст ПВ у листках за дії УФ-В опромінення перевищував рівень контролю на 80 %. Обробка рослин БАП до початку опромінення УФ-В призводила до збільшення вмісту ПВ на 40 % порівняно з контролем. Після завершення опромінення УФ-В вміст ПВ у листках зменшувався, але перевищував відповідний рівень контролю. Обробка сої БАП за відсутності опромінення їх УФ-В підвищувала вміст ПВ у листках, що зумовлювалося стимуляцією розвитку рослин. Використання екзогенних цитокінінів природного і штучного походження, препаратів із цитокініновою активністю дозволить зменшити деструктивну дію надлишку УФ-В на рослини сої, стимулювати їх ріст і розвиток, підвищити продуктивність за несприятливих і нестабільних умов навколишнього середовища.

3. Zhang R., Huang G., Wang L., Zhou Q., Huang X. Effect of elevated ultraviolet-B radiation on root growth and chemical signaling molecules in plants. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2019. Vol. 171. P. 683–690. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.01.035.
4. Keshishian E.A., Rashotte A.M. Plant cytokinin signaling. *Essays Biochem.* 2015. Vol. 58. P. 13–27. doi: 10.1042/BSE0580013.
5. Kataria S., Guruprasad K.N. Interaction of cytokinins with UV-B (280–315nm) on the expansion growth of cucumber cotyledons. *Horticult Int J.* 2018 Vol. 2. P. 46–54. doi: 10.15406/hij.2018.02.00025.
6. Swanson S., Gilroy S. ROS in plant development. *Physiol. Plant.* 2010. Vol. 138. P. 384–392. doi: 10.1111/j.1399-3054.2009.01313.x.
7. Neil S., Desican R., Hancock J. Hydrogen peroxide signaling. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2002. Vol. 5. P. 388–395. doi: 10.1016/s1369-5266(02)00282-0.
8. Zhuk V.V., Mikheyev A.N., Ovsyannikova L.G. The pea development after UV-B irradiation. *Modern Phytomorphology.* 2017. Vol. 11. P. 111–116. doi: 10.5281/zenodo.1050465. [in Ukrainian]
9. Zhuk V.V., Mikheyev A.N., Ovsyannikova L.G. Adaptation of corn plants to chronic ultraviolet irradiation *Factors in experimental evolution of organisms.* 2018. Vol. 22. P. 246–251. doi: 10.7124/FEEO.v22.956. [in Ukrainian]
10. Zhuk V.V., Mikheev A.N., Ovsyannikova L.G. Interaction of chronic ultraviolet radiation and cytokinin in adaptive reaction of pea plants. *Factors in experimental evolution of organisms.* 2020. Vol. 26. P. 196–201. doi: org/10.7124/FEEO.v.26.1265. [in Ukrainian]
11. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 1987. Vol. 148. P. 350–382. doi: 10.1016/0076-6879(87)48036-1.
12. Chen L.M., Kao C.H. Effect of excess copper on rice leaves: evidence for involvement of lipid peroxidation. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 1999. Vol. 40. P. 283–287.

ZHUK V.V., MIKHEEV A.N., OVSYANNIKOVA L.G.

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of Nat. Acad. Sci. of Ukraine, Ukraine, 03143, Kyiv, Akad. Zabolotnoho str., 148, e-mail: vzhukv@gmail.com

ADAPTIVE EFFECT OF CYTOKININ ON SOYBEAN PLANTS UNDER THE ACTION OF CHRONIC ULTRAVIOLET B IRRADIATION

Aim. The adaptive effect of cytokinin 6-benzylaminopurine (BAP) on soybean plants (*Glycine max* (L.) Merr.) under the action of chronic ultraviolet B (UV-B) radiation was studied. **Methods.** Soybean plants cultivar Musa were sprayed with the 10^{-6} M BAP solution in the phase of two trifoliolate leaves and exposed by chronic UV-B radiation at a dose of 6 kJ/m² per day for 8 days. Shoot length was measured, content of photosynthetic pigments and hydrogen peroxide (HP) were determined in the leaves. After the plants matured, the number of pods per plant was counted. **Results.** It was shown that the chronic UV-B radiation inhibited growth of soybean shoots, reduced the content of chlorophylls and carotenoids, increased the concentration of HP in the leaves, reduced the number of pods. Treatment of soybean plants by BAP solution before irradiation increasing of number of pods, delayed the degradation of photosynthetic pigments and stimulated their accumulation after UV-B radiation, regulated content of HP. **Conclusions.** It was shown that the treatment of soybean plants by BAP solution before the beginning of UV-B irradiation decreased the destructive effects of radiation on pigment complex, growth and productivity of plants and stimulated their adaptation to stress.

Keywords: UV-B, 6-benzylaminopurine, soybean, photosynthetic pigments, adaptation.