

ЖУК В. В. ✉, МІХЄЄВ О. М., ОВСЯННИКОВА Л. Г. ©

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України,

Україна, 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 148, ORCID: 0000-0003-1966-7537

✉ vzhukv@gmail.com, (097) 672-33-64

ВІДПОВІДЬ РОСЛИН ГОРОХУ НА ОПРОМІНЕННЯ УЛЬТРАФІОЛЕТОМ В ЗА УЧАСТІ ЦИТОКІНІНУ

Мета. Досліджено дію хронічного опромінення ультрафіолетом В (УФ-В) та цитокініну бензиламінопурину (6-БАП) на ріст рослин гороху (*Pisum sativum* L.), вміст фотосинтетичних пігментів та перекису водню (ПВ) у листках. **Методи.** Рослини гороху сорту Готівський піддавали дії хронічного опромінення УФ-В у дозі 3,5 кДж/м² на день протягом 5 днів. Після завершення його дії частину опромінених і неопромінених рослин обробляли 6-БАП. Виміри довжини пагонів і коренів рослин та відбір проб для визначення вмісту фотосинтетичних пігментів і ПВ у листках проводили впродовж усього досліду. **Результати.** Встановлено, що дія УФ-В затримувала ріст рослин гороху, зменшувала вміст фотосинтетичних пігментів і підвищувала кількість ПВ у листках. Обробка рослин БАП після завершення дії УФ-В прискорювала накопичення пігментів, стабілізувала вміст ПВ у листках гороху. **Висновки.** Хронічне опромінення рослин гороху УФ-В дозою 3,5 кДж/м² на день спричиняло пригнічення росту, підвищення вмісту ПВ, зменшення вмісту фотосинтетичних пігментів у зрілих листках. Дія БАП стимулювала відновлення вмісту фотосинтетичних пігментів у листках.

Ключові слова: УФ-В, *Pisum sativum* L., БАП, фотосинтетичні пігменти, ПВ.

Сонячне світло є джерелом енергії для фотосинтезу, здійснює контроль процесів життєвого циклу рослин, забезпечує їх інформацією про навколишнє середовище [1]. Ультрафіолет неодмінно присутній у спектрі сонячного світла, займає у ньому 7–10 %, зокрема УФ-В – 1 %. Кількість УФ-В, яка досягає рослинного покриву, обумовлюється щільністю озонового шару стратосфери у різні періоди року, дня і складає для Європи від 2 до 4 кДж/м² на день. Актуальність проблеми дослідження дії УФ-В на культурні рослини обумовлена його безпосереднім впливом на якість і кількість врожаю продовольчих культур. Встановлено, що присутність

УФ-В у сонячному світлі необхідна для нормального росту і розвитку рослин і сприймається специфічним фоторецептором UV RESISTANCE LOCUS 8 (UVR8), який належить до родини фоторецепторів і локалізований у цитоплазмі більшості клітин рослини [2, 3]. Показано, що УФ-В у природних дозах бере участь у контролі фотоперіодичного цвітіння рослин дводольних шляхом активування UVR8 на транскрипційному рівні [4, 5]. Без УФ-В UVR8 знаходиться у формі димеру, а після початку його дії переходить у мономерну форму і мігрує у ядро, взаємодіє з Е3 убіквітиною лігазою CONSTITUTIVELY PHOTOMORPHOGENIC 1 (COP1) і ELONGATED HYPOCOTYL 5 (HY5). Цей шлях є головним у фотоморфогенетичній відповіді, яка включає стимуляцію біосинтезу фенолів і флавоноїдів. Морфогенетична реакція рослин на дію УФ-В проявляється також у затримці розтягу клітин, особливо за дії високих температур, що призводить до затримки або повної зупинки росту [6]. У природних умовах часто поєднуються найвищі денні температури і пікові рівні УФ-В, що посилює стресову дію ультрафіолету. Високі дози УФ-В опромінення здатні пошкоджувати ДНК, блокувати фотосистему (ФС) 2, стимулювати продукування надмірних кількостей активних форм кисню (АФК) [7]. Кванти УФ-В руйнують подвійні зв'язки ДНК, внаслідок чого формуються циклобутан пірімідинові димери, інгібується транскрипція і реплікація, зупиняється поділ клітин, включається їх запрограмована загибель. Світлозалежні фотоліази здатні репарувати ці димери і відновлювати нативність ДНК, однак їх ефективність залежить від дози та тривалості опромінення УФ-В. З'ясовано, що високі дози УФ-В підвищували ендогенний рівень оксиду азоту, ПВ, абсцизової, саліцилової і жасмонової кислот, зменшували вміст ауксину, цитокініну, гібереліну у тканинах рослин [8].

Цитокініни належать до родини лігандів, які синтезуються ензиматично з аденіну і відіграють визначну роль у всіх життєвих про-

© ЖУК В. В., МІХЄЄВ О. М., ОВСЯННИКОВА Л. Г.

цесах рослин протягом онтогенезу, регулюють їх ріст і розвиток. Найвища концентрація цитокінінів виявлена у стеблових і кореневих меристемах, молодих листках, плодах, насінинах [9]. Встановлена здатність цитокінінів до утилізації оксидорадикалів і ПВ, які накопичуються за дії УФ-В променів у клітинах рослин. Показано, що УФ-В опромінення впливає на активність цитокініноксидази, а ендogenousні цитокініни взаємодіють з НУ5 у регуляції біосинтезу флавоноїдів [10]. Цитокініни здатні також інгібувати активність ксантиноксидази, яка належить до важливих джерел вільних радикалів у клітинах. Екзогенні цитокініни, зокрема БАП, легко проникають у клітини, включаються у ендogenousний пул цитокінінів і здатні до виконання їх функцій. Разом з тим роль цитокінінів у відповіді рослин на хронічне опромінення УФ-В у природних дозах все ще досліджена недостатньо.

Нами раніше встановлено, що після дії гострого опромінення УФ-В на рослини гороху сорту Ароніс дозою 8 кДж/м² відбувалась незворотна зупинка росту пагона. Після гострого опромінення рослин гороху цього ж сорту дозою 4 Дж/м² ріст пагона у висоту відновлювався, однак кількість квіток і стручків на рослину зменшувалась, порівняно з неопроміненими рослинами [11, 12]. Дослідження дії хронічного опромінення УФ-В на рослини гороху сорту Готівський дозами від 2,5 до 4 кДж/м² на день протягом 5 днів виявили, що доза 4 кДж/м² на день у таких умовах була критичною для виживання рослин, спричиняла різке підвищення ендogenousного вмісту ПВ, руйнацію пігментного комплексу зрілих листків [13]. Зменшення дози хронічного опромінення рослин гороху сприяло наростанню нових ярусів листків, відбувалось заміщення пошкоджених листків новими.

Метою цієї роботи було дослідження відповіді рослин гороху на хронічне опромінення УФ-В та участі екзогенного цитокініну БАП у відновленні росту, вмісту фотосинтетичних пігментів та зменшенні кількості ПВ у листках гороху.

Матеріали і методи

Рослини гороху (*Pisum sativum* L.) сорту Готівський вирощували в умовах водної культури протягом 14 діб. Режим освітлення становив 12 годин світла інтенсивністю 4,4 кЛк і 12 годин темноти. Хронічне опромінення УФ-В рослин гороху проводили у фазі 3 ярусів листків

протягом 5 днів дозою 3,5 кДж/м² на день потужністю 0,8 Вт/м², яке створювали за допомогою ламп фірми Philips (Special fluorescent lamp). Контрольні рослини знаходились окремо та були захищені від променів УФ-В скляним фільтром товщиною 5 мм. Після завершення дії УФ-В частину опромінених і неопромінених рослин обприскували водним розчином бензіламінопурину (6-БАП) у концентрації 10⁻⁴ М. Протягом усього дослідження проводили виміри довжини пагонів і коренів. Відбір проб для визначення вмісту фотосинтетичних пігментів і ендogenousного ПВ у листках проводили під час дії опромінення та у відновний період одночасно у всіх варіантах дослідження. Вміст фотосинтетичних пігментів визначали етанольним методом за Ліхтенталером [14], ПВ за Чен та Као [15]. Кількість ПВ виражали у мікромолях (мкМ), а пігментів – у міліграмах (мг) на грам (г) маси сирової речовини. Повторність дослідження 5-разова. Результати оброблені статистично за допомогою програми Microsoft Excel. На графіках наведено середні арифметичні значення та величини дисперсії.

Результати та обговорення

Опромінення надземної частини рослин гороху сорту Готівський УФ-В упродовж 5 днів призводило до зупинки росту пагонів у висоту і коренів у довжину (рис. 1). Після припинення дії УФ-В, протягом 5 діб ріст пагонів і коренів відновлювався, але їх відставання у рості від рослин контролю зберігалось впродовж усього відновного періоду. Обробка рослин БАП частково призупинила ріст пагона рослин у довжину, однак збільшила ріст кореня у післястресовий період.

Визначення вмісту фотосинтетичних пігментів у листках гороху контрольних та дослідних рослин проводили у період опромінення рослин УФ-В та після його завершення (рис. 2). Дія УФ-В променів протягом 5 діб достовірно не змінювала вміст каротиноїдів у листках гороху. Після завершення опромінення рослин вміст каротиноїдів у листках поступово знижувався до 20 доби дослідження і був найнижчим з-поміж усіх варіантів. Обробка рослин БАП після завершення дії УФ-В призводила до зростання кількості каротиноїдів у листках на 5 добу, яка перевищувала вміст каротиноїдів у листках рослин інших варіантів.

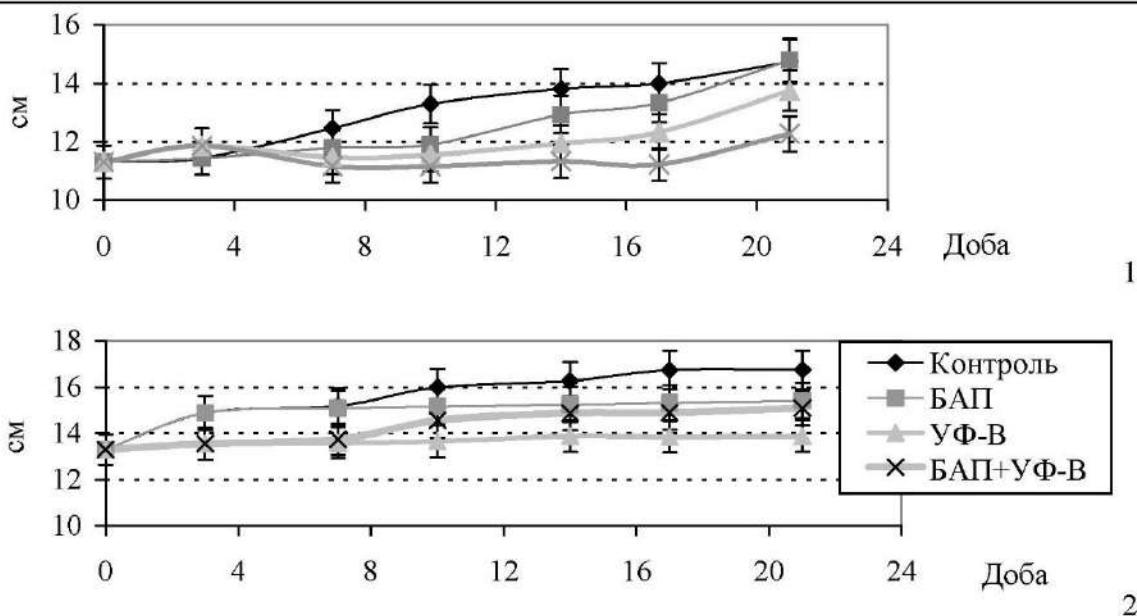


Рис. 1. Ріст пагонів (1) і коренів (2) рослин гороху за та після дії хронічного опромінення УФ-В і БАП.

Протягом наступних 16 діб досліджу вміст каротиноїдів у листках опромінених і неопромінених рослин зменшувався і став нижчим відповідних значень контролю. Сумарний вміст хлорофілів під час опромінення рослин гороху УФ-В знизився на 30 %. Обробка рослин БАП одразу після завершення дії УФ-В призводила до зростання кількості хлорофілів у листках через 3 доби, яка перевищила їх кількість у листках інших варіантів досліджу у цей період. В опромінених УФ-В рослин, які не були оброблені БАП, підвищення вмісту хлорофілів у листках відбувалось на 3 доби пізніше, ніж у оброблених БАП. Після 5 діб відновного періоду вміст суми хлорофілів у листках усіх опромінених УФ-В рослин гороху зменшувався. Вміст хлорофілу *a* у листках зменшувався на 4 день опромінення УФ-В і залишився найнижчим у період після опромінення. Після завершення дії УФ-В у оброблених БАП рослин вміст хлорофілу *a* через 3 доби збільшувався і перевищував вміст хлорофілу *a* в опромінених рослин. У подальшому вміст хлорофілу *a* у листках опромінених рослин поступово зменшувався; на 16 добу відновного періоду у оброблених БАП рослин був вищим, ніж у необроблених рослин. Вміст хлорофілу *b* у листках гороху знижувався у період дії УФ-В одночасно зі зменшенням вмісту хлорофілу *a*. У листках опромінених УФ-В рослин відновлення вмісту хлорофілу *b* до контрольного рівня відбувалось через 3 доби після припинення опромінення з перевищенням

на 6 добу після опромінення. Обробка рослин БАП після завершення опромінення стимулювала накопичення хлорофілу *b*, кількість якого протягом 3 діб відновного періоду збільшилась вдвічі і на 60 % перевищила відповідні значення у рослин інших варіантів. У подальшому вміст хлорофілу *b* у всіх опромінених рослин поступово зменшувався і на 16 добу після завершення дії УФ-В був нижчим, ніж у листках неопромінених рослин.

Опромінення рослин гороху УФ-В протягом 5 днів призвело до зниження співвідношення хлорофілів *a/b* у листках, яке залишалось найнижчим після завершення дії ультрафіолету за рахунок значного зменшення вмісту хлорофілу *a* і збільшення вмісту хлорофілу *b*. Обробка БАП опромінених рослин призвела до підвищення співвідношення хлорофілів, яке на 12 добу відновного періоду перевищило відповідні значення інших варіантів досліджу за рахунок зростання вмісту хлорофілу *a* і зменшення кількості хлорофілу *b*. Співвідношення хлорофілів до каротиноїдів у листках гороху знижувалось протягом періоду дії УФ-В. Після завершення опромінення це співвідношення підвищувалось і перевищувало контрольний рівень за рахунок зменшення кількості каротиноїдів у листках. Обробка рослин БАП після завершення опромінення УФ-В підвищувала співвідношення хлорофілів до каротиноїдів на 3 добу відновного періоду, однак поступово знизилось і наближалось до

контролю за рахунок підвищення вмісту каротиноїдів у листках.

Опромінення рослин гороху УФ-В спричиняло підвищення ендogenous вмісту ПВ у листках, яке продовжувало збільшуватись і досягало найвищих значень через 5 днів після завершення дії УФ-В, після чого поступово знижувалось, але перевищувало рівень контролю на 50 % на 16 добу після стресового періоду (рис. 3). Обробка рослин БАП одразу після завершення опромінення затримувала наростання кількості ПВ у листках, що було нижчим на 50 %, порівняно з опроміненими і необробленими рослинами, однак на 12 добу

відновного періоду кількість ПВ у листках рослин цього варіанту досліду знову зростала.

Проведені дослідження впливу хронічного опромінення гороху УФ-В дозою 3,5 кДж/м² на день протягом 5 днів виявили, що ця доза ультрафіолету пригнічувала ріст пагонів і коренів, спричиняла деструкцію фотосинтетичних пігментів, підвищувала ендogenous вміст ПВ у листках. У відповідь на УФ-В у період його дії відбувалось незначне збільшення кількості каротиноїдів у листках, однак після припинення дії опромінення їх вміст зменшувався. Вміст хлорофілів знижувався суттєво впродовж періоду опромінення рослин УФ-В.

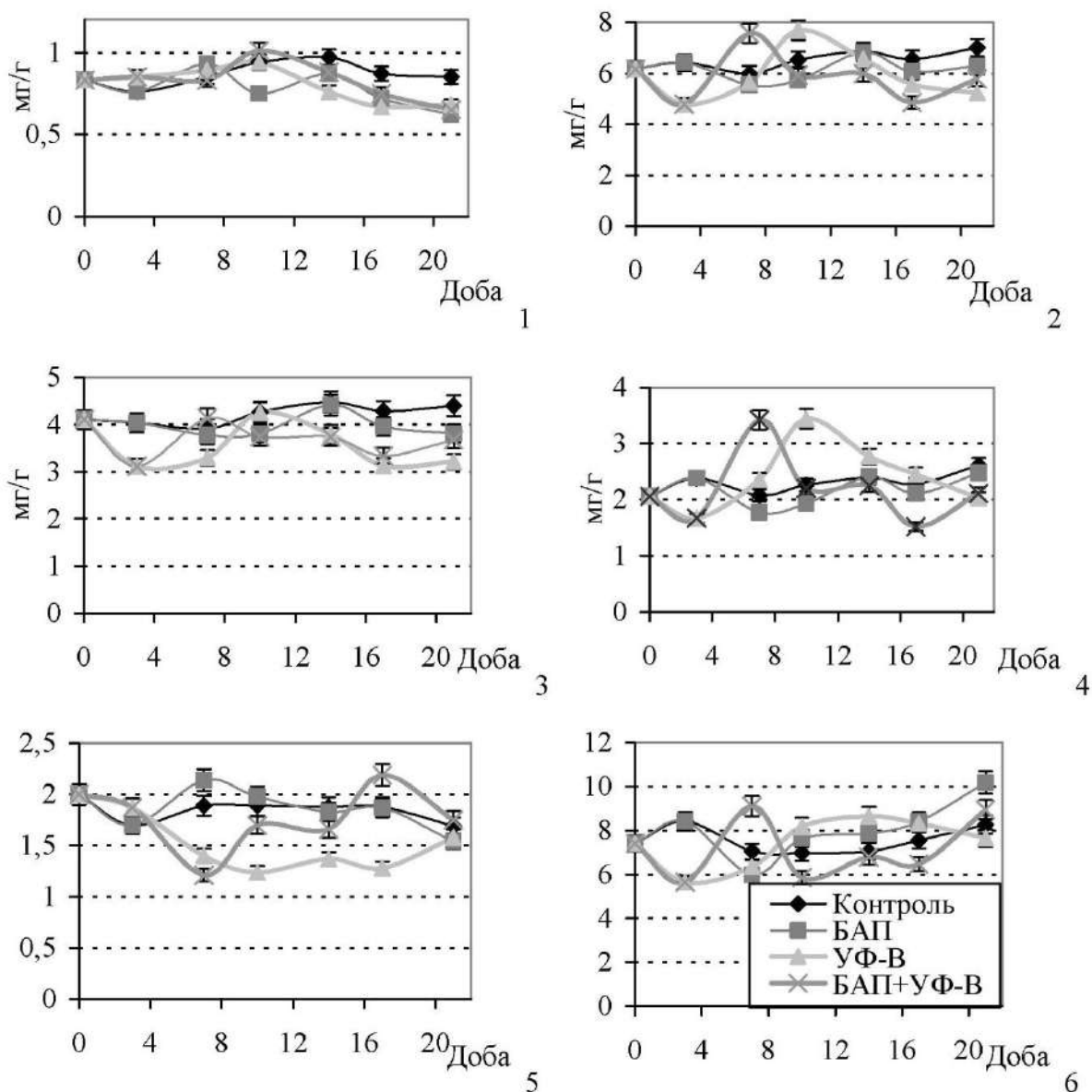


Рис. 2. Вміст фотосинтетичних пігментів у листках гороху під час хронічного опромінення УФ-В 3,5кДж/м² на день та у відновний період (1 – каротиноїдів, 2 – суми хлорофілів, 3 – хлорофілу *a*, 4 – хлорофілу *b*, 5 – співвідношення хлорофілів *a/b*, 6 – співвідношення хлорофілів до каротиноїдів).

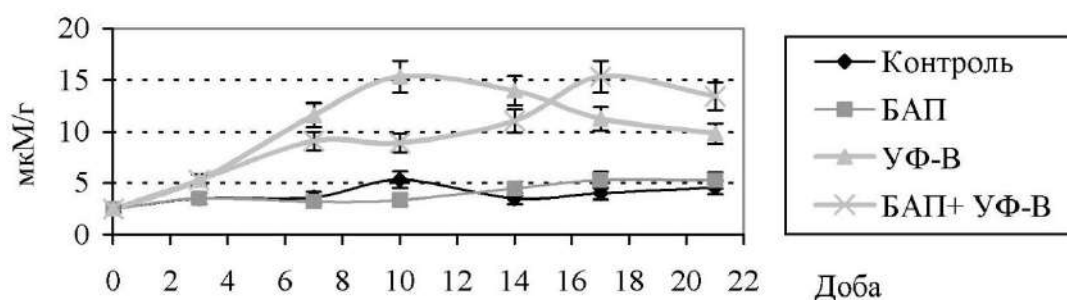


Рис. 3. Вміст ПВ у листках гороху після хронічного опромінення рослин УФ-В.

Дія УФ-В променів у цій дозі протягом 5 днів не спричинила загибель рослин гороху, однак відбулась деструкція фотосинтетичного комплексу опромінених верхніх листків. Часткове відновлення пігментного комплексу почалось лише протягом 4–5 діб після завершення опромінення. Листки, які отримали найбільшу кількість квантів УФ-В, прискорили деградацію і старіння, порівняно з листками аналогічного ярусу рослин контрольного варіанту. Наслідком дії УФ-В було зростання ендogenous вмісту ПВ у листках, що вказує на значну дестабілізацію функціонування ФС, які належать до головних джерел АФК у зелених рослин. Відставання рослин у рості не було компенсовано повністю і довжина пагонів та коренів дослідних рослин не досягала відповідних значень контролю протягом 15 діб відновного періоду. Тривала зупинка росту пагона у висоту, очевидно, обумовлена пошкодженням клітин верхівкової меристеми, а кореня – дефіцитом необхідних ресурсів, які надходять з пагона. Дія екзогенного цитокініну значніше вплинула на відновні процеси у клітинах листового мезофілу, що обумовлено його проникненням у ці клітини внаслідок обробки рослин. Відомо, що дія УФ-В на рослини спричиняє зменшення ендogenous вмісту фітогормонів ауксинів, цитокінінів, гіберелінів [9]. Обробка рослин гороху БАП після завершення їх опромінення підвищувала ендogenous вміст цитокінінів, які були використані для стимуляції синтезу фотосинтетичних пігментів. БАП здатен безпосередньо включатись у пул ендogenous цитокінінів надземної частини рослин і виконувати їх функції, однак цитокініни у клітинах рослин швидко метаболізуються, а їх кількість повинна постійно відновлюватись шляхом синтезу. Високий рівень оксидного стресу після дії УФ-В на рослини гороху, очевидно, не сприяв швидкому відновленню ендogenous синтезу фітогормонів, тому ефект

екзогенного цитокініну виявився нетривалим. Дія БАП у післястресовий період прискорила відновлення фотосинтетичного пігментного комплексу, стимулювала накопичення хлорофілів і каротиноїдів у листках опромінених рослин. Синтез ендogenous цитокінінів відбувається у меристемах, тому інгібування верхівкових меристем в умовах хронічного опромінення пригнічувало їх утворення, накопичення і надходження у клітини інших частин рослин [8]. Участь цитокінінів необхідна для біогенезу хлоропластів. Імовірно, що дефіцит цитокінінів у листках опромінених УФ-В рослин був однією з причин зниження співвідношення хлорофілів *a/b*. Збільшення співвідношення хлорофілів *a/b* в оброблених БАП після опромінення листках рослин гороху свідчить, що екзогенний цитокінін сприяв саме цим процесам і дозволив сформувати достатню кількість функціональних хлоропластів у клітинах листового мезофілу гороху. Таким чином, хронічне опромінення рослин гороху УФ-В дозою 3,5 кДж/м² на день протягом 5 днів здатне затримувати ріст рослин гороху внаслідок дії на верхівкову меристему, а також спричиняти деструкцію пігментного комплексу листків, підвищення ендogenous вмісту ПВ. Дія екзогенного БАП на рослини гороху одразу після завершення їх опромінення УФ-В стимулювала відновлення пігментного комплексу, стабілізувала вміст ПВ, сприяла формуванню необхідного співвідношення хлорофілів у клітинах.

Висновки

Встановлено, що дія хронічного опромінення УФ-В у дозі 3,5 кДж/м² на день протягом 5 днів на рослини гороху затримувала ріст пагонів і коренів у довжину, зменшувала вміст фотосинтетичних пігментів і підвищувала рівень ПВ у листках. Дія екзогенного БАП прискорювала відновлення вмісту фотосинте-

тичних пігментів хлорофілів і каротиноїдів, стабілізувала вміст ПВ у листках. Співвідношення хлорофілів *a/b* після дії УФ-В та обробки рослин БАП підвищувалось і залишалось на високому рівні до кінця досліду.

Використання екзогенного цитокініну після припинення дії УФ-В на рослини гороху прискорювало їх відновлення і сприяло компенсації пошкоджень.

References

1. Santin M., Ranieri A., Castagna A. Anything new under the sun? An update on modulation of bioactive compounds by different wavelengths in agricultural plants. *Plants*. 2021. Vol. 10. P. 2–38. doi: 10.3390/plants10071485.
2. Balcerowicz M. Ancient sun protection: the evolutionary origin of plant UV-signaling. *Plant Physiol*. 2022. Vol. 188. P. 29–31. doi: 10.1093/plphys/kiab517.
3. Moricony V., Binkert M., Costigliolo C., Sellaro R., Ulm R., Casal J.J. Perception of sunflecks by the UV-B photoreceptor UV RESISTANCE LOCUS 8. *Plant Physiol*. 2018. Vol. 177. P. 75–81. doi: 10.1104/pp.18.00048.
4. Qian M., Rosenqvist E., Prinsen E., Peschek F., Flygare A. M., Kalbina J., Jensen A. K., Strid A. Downsizing in plants- UV-B light induces pronounced morphological changes in the absence of stress. *Plant Physiol*. 2021. Vol. 187. P. 378–395. doi: 10.1093/plphys/kiab262.
5. Zioutopoulou A., Patitaki E., O'Donnel L., Kaiserli E. Low fluency ultraviolet-B promotes ultraviolet resistance 8-modulated flowering in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*. 2022. Vol. 13. P. 1–11. doi: 10.3389/fpls.2022.840720.
6. Jin H., Zhu Z. Dark, light, and temperature: key players in plant morphogenesis. *Plant Physiol*. 2019. Vol. 180. P. 1793–1802. doi: 10.1104/pp.19.00331.
7. Roeber V. M., Bajaj J., Rohde M., Schmullig Th., Cortleven A. Light acts as a stressor and influences abiotic and biotic stress responses in plants. *Plant Cell Environ*. 2021. Vol. 44. P. 645–664. doi: 10.1111/pce.13948.
8. Zhang R., Huang G., Wang L., Zhou Q., Huang X. Effects of elevated ultraviolet-B radiation on root growth and chemical signaling molecules in plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019. Vol. 171. P. 683–690. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.01.035.
9. Kataria S., Guruprasad K. N. Interaction of cytokinins with UV-B (280-315 nm) on expansion growth of cucumber cotyledons. *Horticult. Int. J.* 2018. Vol. 2. P. 45–53. doi: 10.15406/hij.2018.02.00025.
10. Vanhaelewyn L., Prinsen E., Van Der Straeten D., Vandenbusche F. Hormone-controlled UV-B responses in plants. *J. Exp. Bot.* 2016. Vol. 67. P. 4469–4482. doi: 10.1093/jxb/erw261.
11. Zhuk V. V., Mikhteyev 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]
12. Zhuk V. V., Mikhteyev A. N., Ovsyannikova L. G. The photomorphogenetic reaction of pea plants (*Pisum sativum* L.) on ultraviolet irradiation effect. *Factors in experimental evolution of organisms*. 2017. Vol. 20. P. 179–183. [in Ukrainian]
13. Zhuk V. V., Mikhteyev A. N., Ovsyannikova L. G. Effect of chronic ultraviolet B radiation of pea plants. *Factors in experimental evolution of organisms*. 2022. Vol. 30. P. 67–72. doi: 10.7124/FEEO.v30.1463. [in Ukrainian]
14. 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.
15. 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

THE RESPONSE OF PEA PLANTS TO ULTRAVIOLET B RADIATION AND CYTOKININ

Aim. The effect of chronic ultraviolet B (UV-B) radiation and cytokinin benzylaminopurine (6-BAP) on the growth, content of photosynthetic pigments and hydrogen peroxide (HP) in leaves of pea plants (*Pisum sativum* L.) was studied.

Methods. Pea plants cultivar Gotivsky were irradiated by chronic UV-B at a dose of 3.5 kJ/m² per day during 5 days. Groups of the irradiated and non-irradiated plants were treated with 6-BAP after the end of the UV-B radiation. Length of shoots and roots of pea plants were measured during all time of experiment. Content of photosynthetic pigments and HP in leaves were determined during the experiment.

Results. It was shown that plant growth delayed, content of photosynthetic pigments reduced, content of HP increased in the leaves after the chronic UV-B radiation of pea plants. The content of pigments increased and content of HP stabilized in pea leaves after the treatment of plants with 6-BAP.

Conclusions. It was shown that chronic UV-B radiation of pea plants by dose of 3.5 kJ/m² per day caused inhibition of plants growth, increasing HP content, decreasing photosynthetic pigments content in mature leaves. The BAP treatment of irradiated plants stimulated the restoration of photosynthetic pigments content in leaves.

Keywords: UV-B, *Pisum sativum* L., BAP, photosynthetic pigments, HP.