

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, 0976723364

ВПЛИВ УФ-С-ПРОМЕНІВ ТА ЕКЗОГЕННОГО ЦИТОКІНІНУ НА РОСЛИНИ ГОРОХУ

Мета. Досліджено вплив опромінення рослин гороху (*Pisum sativum* L.) ультрафіолетом С (УФ-С) та обробки цитокініном бензиламінопурином (БАП) на ріст пагонів і коренів, вміст перекису водню (ПВ) та фотосинтетичних пігментів у листках. **Методи.** Рослини гороху сорту Ароніс піддавали дії УФ-С у дозі 5 кДж/м² за потужності 7 Вт/м². Частину рослин без опромінення обробляли БАП, частину рослин через добу після дії УФ-С обробляли БАП. Виміри довжини, маси пагонів і коренів рослин, відбір проб для визначення вмісту фотосинтетичних пігментів та ПВ у листках проводили протягом досліджу. **Результати.** Встановлено, що опромінення УФ-С гальмувало ріст рослин гороху, збільшувало вміст ПВ, зменшувало вміст каротиноїдів і хлорофілів. Обробка рослин БАП після опромінення УФ-С стимулювала накопичення хлорофілів і не вплинула на вміст ПВ і каротиноїдів. **Висновки.** Опромінення рослин гороху УФ-С дозою 5 кДж/м² спричинило пригнічення росту, зниження вмісту фотосинтетичних пігментів у зрілих листках, збільшення вмісту ПВ. Дія БАП після опромінення стимулювала накопичення хлорофілів у листках.

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

Опромінення рослин малими дозами УФ-С використовується для їх знезараження від бактерій і вірусів при вирощуванні овочевих культур в умовах закритого ґрунту [1]. Встановлено, що інактивація клітин бактерій УФ-С радіацією обумовлена її абсорбуванням вуглеводними зв'язками, що призводить до формування піримідинових димерів, деструкції білків, нуклеїнових кислот, мітохондрій, хлоропластів, мембран [2]. Одночасно відзначається стресова дія УФ-С на рослинні клітини, яка викликає надмірне утворення вільних радикалів, активних форм кисню (АФК), які здатні окиснювати ненасичені жирні кислоти, фосфоліпіди, ензими, тилакоїди та ламели хлоропластів, пригнічувати транспорт електронів, біосинтез протохлорофі-

ліду і хлорофілу. У попередніх дослідженнях нами було виявлено, що опромінення сухого насіння ромашки лікарської УФ-С спричинило геномну нестабільність у клітинах пагонів рослин, які були вирощені з цього насіння [3]. Для мінімізації ушкоджень від УФ-С рослини стимулюють синтез низькомолекулярних антиоксидантів, вторинних метаболітів, зокрема фенольних сполук. Нами показано, що листки ромашки лікарської, яку виростили з опроміненого УФ-С насіння, містили більше фенолів і флавоноїдів порівняно з листками рослин, вирощених з неопроміненого насіння [4].

Встановлено, що дія екзогенних фітогормонів зменшувала індукований УФ-С стрес у томатів [5]. Обробка рослин томатів цитокініном кінетином до та після їх опромінення УФ-С значно знижувала ендogenous рівень оксидативного стресу за рахунок стимуляції антиоксидантних систем, відновлення вмісту первинних та вторинних метаболітів, що дозволило знизити деструктивну дію високоенергетичних променів УФ-С на рослинні клітини. З'ясовано, що обробка водним розчином бензиладеніну у поєднанні з опроміненням УФ-С підвищила антиоксидантну здатність і вміст фенольних сполук у культурі клітин пагона *Ceratonia siliqua* L. [6]. Комбінація дії УФ-С та екзогенного цитокініну призводила до збільшення вмісту хлорофілів, каротиноїдів, цукрів. Виявлена залежність між концентрацією бензиладеніну і реакцією клітин пагонів на УФ-С у культурі *in vitro*. Нами раніше показано, що нанесення на надземну частину рослин сої та гороху цитокініну БАП шляхом обприскування до або після хронічного опромінення ультрафіолетом В стимулювало відновлення росту рослин, вмісту фотосинтетичних пігментів у листках, знижувало рівень ендogenous ПВ після завершення дії променів на 50 % порівняно опроміненними і необробленими БАП рослинами [7, 8]. Нами встановлено, що гостре опромінення надземної частини рослин гороху УФ-С у дозі 15 кДж/м² спричинило незворотне пригнічення росту пагонів і коренів, зменшення

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

маси рослин у після стресовий період [9]. Обробка рослин БАП у концентрації 10^{-4} М до та після дії стресу тимчасово затримувала втрату маси рослинами. Висока доза УФ-С призводила до різкого зниження вмісту хлорофілу та каротиноїдів у листках. Обробка рослин гороху БАП до їх опромінення УФ-С не стимулювала відновлення вмісту фотосинтетичних пігментів у листках, однак обробка БАП після опромінення сприяла збільшенню вмісту хлорофілу *b*. Доза УФ-С 15 кДж/м^2 призвела до інактивації верхішккових меристем, що стало причиною зупинки росту і розвитку рослин гороху.

Метою даної роботи було дослідження впливу опромінення рослин гороху УФ-С та обробки БАП на ріст пагонів і коренів, вміст ПВ та фотосинтетичних пігментів у листках.

Матеріали і методи

Рослини гороху (*Pisum sativum* L.) сорту Ароніс селекції ННЦ Інституту землеробства НААН України росли в умовах водної культури протягом 14 діб. Режим освітлення становив 14 годин світла інтенсивністю $4,4 \text{ кЛк}$ і 10 годин темноти. Гостре опромінення рослин УФ-С провели у фазі трьох справжніх листків дозою 5 кДж/м^2 потужністю 7 Вт/м^2 за допомогою установки ОБН-150м з 2 лампами Philips 30W 253,7 нм. Рослини контрольного варіанту знаходились окремо. Частину неопромінених рослин обприскували водним розчином БАП у концентрації 10^{-5} М, іншу частину опромінених рослин обробляли БАП через добу після дії УФ-С. Протягом дослідів визначали довжину та масу пагонів і коренів. Проби для визначення вмісту фотосинтетичних пігментів і ПВ у листках відбирали одночасно у всіх варіантах дослідів. Вміст фотосинтетичних пігментів визначали етанольним методом за Ліхтендалером [10]. Кількість пігментів виражали у міліграмах (мг) на грам (г) маси сирової речовини. Вміст ПВ визначали за Чен, Као [11]. Повторність дослідів 5-разова. Результати обробляли статистично за допомогою програми Microsoft Excel. На графіках наведені середні арифметичні значення та величини дисперсії.

Результати та обговорення

Встановлено, що опромінення рослин гороху УФ-С у дозі 5 кДж/м^2 пригнічувало ріст пагона у довжину у всіх опромінених рослин (рис. 1(1)). До 10 доби відбувалось незначне відновлення росту пагонів, яке надалі зупиня-

лось. Обробка надземної частини рослин БАП після опромінення рослин не призвела до відновлення росту пагонів у довжину, розміри яких не змінились протягом наступних 14 діб. Ріст коренів у довжину затримувало опромінення надземної частини рослин гороху УФ-С і її обробка БАП (рис. 1(2)). Незначне видовження коренів відзначено лише протягом перших 3 діб після опромінення рослин і їх обробки БАП. До 14 доби дослідів довжина коренів рослин контрольного варіанту перевищувала довжину коренів усіх дослідних рослин. Дія УФ-С також пригнічувала наростання маси сирової речовини пагонів (рис. 1(3)). Обробка рослин гороху БАП стимулювала наростання маси пагонів у неопромінених рослин, однак, обробка БАП опромінених рослин не вплинула на наростання маси пагонів, яка достовірно не змінилась до 10 доби після стресового періоду. Протягом наступних 4 діб маса пагонів опромінених рослин поступово зменшувалась. Маса сирової речовини коренів збільшилась у всіх варіантах дослідів протягом перших 3 діб, після чого відбувалось її зменшення. На 14 добу дослідів маса кореня в опромінених рослин була нижчою, ніж у неопромінених рослин (рис. 1(4)).

Показано, що гостре опромінення рослин гороху УФ-С дозою 5 кДж/м^2 спричинило значне підвищення вмісту ПВ у листках протягом перших 7 діб після його дії (рис. 2). Вміст ПВ у листках опромінених рослин збільшився майже у 5 разів порівняно з його вмістом у рослин контролю. На 10 добу дослідів вміст ПВ у листках опромінених УФ-С рослин без обробки БАП знизився внаслідок появи молодих листків, однак до 14 доби дослідів зріс. У оброблених БАП опромінених рослин вміст ПВ залишався практично на тому ж рівні, який він досягнув на 7 добу дослідів. Обробка БАП неопромінених рослин достовірно не впливала на вміст ПВ у листках до кінця дослідів. Вміст ПВ у листках рослин контрольного варіанту залишався стабільно низьким протягом 14 діб.

Дослідження вмісту каротиноїдів у листках гороху виявило, що обробка БАП неопромінених рослин підвищувала їх вміст порівняно з рослинами контрольного варіанту (рис. 3). Опромінення рослин гороху дозою 5 кДж/м^2 призвело до зменшення вмісту каротиноїдів у листках протягом 7 діб після стресового періоду, після чого вміст каротиноїдів зростав і на 10 добу дослідів перевищував рівень контролю. Обробка рослин БАП після опромінення не зу-

пинила зменшення вмісту каротиноїдів протягом 7 діб після дії УФ-С. На 10 добу вміст каротиноїдів у листках опромінених і оброблених БАП рослин підвищився внаслідок заміни опромінених листків новими, однак залишився нижчим ніж у інших варіантах дослідження до його завершення.

Виявлено, що опромінення УФ-С рослин гороху спричинило зменшення вмісту суми хлорофілів у листках на 7 добу після дії стресу (рис. 4 (1)). На 10 добу після опромінення вміст суми хлорофілів у листках збільшувався до рів-

ня контролю і залишався таким до кінця дослідження. Обробка БАП опромінених рослин призвела до зменшення вмісту хлорофілу протягом 3 діб, після чого до 7 доби його вміст зростав і перевищував відповідні значення контролю. До 10 доби дослідження вміст хлорофілів у листках у цьому варіанті знижувався через заміщення верхніх листків на нові, однак до 14 доби дослідження знову зростав і досягав рівнів контрольного варіанту. Вміст хлорофілу *a* залишався найвищим протягом дослідження у оброблених БАП неопромінених рослин (рис. 4, 2).

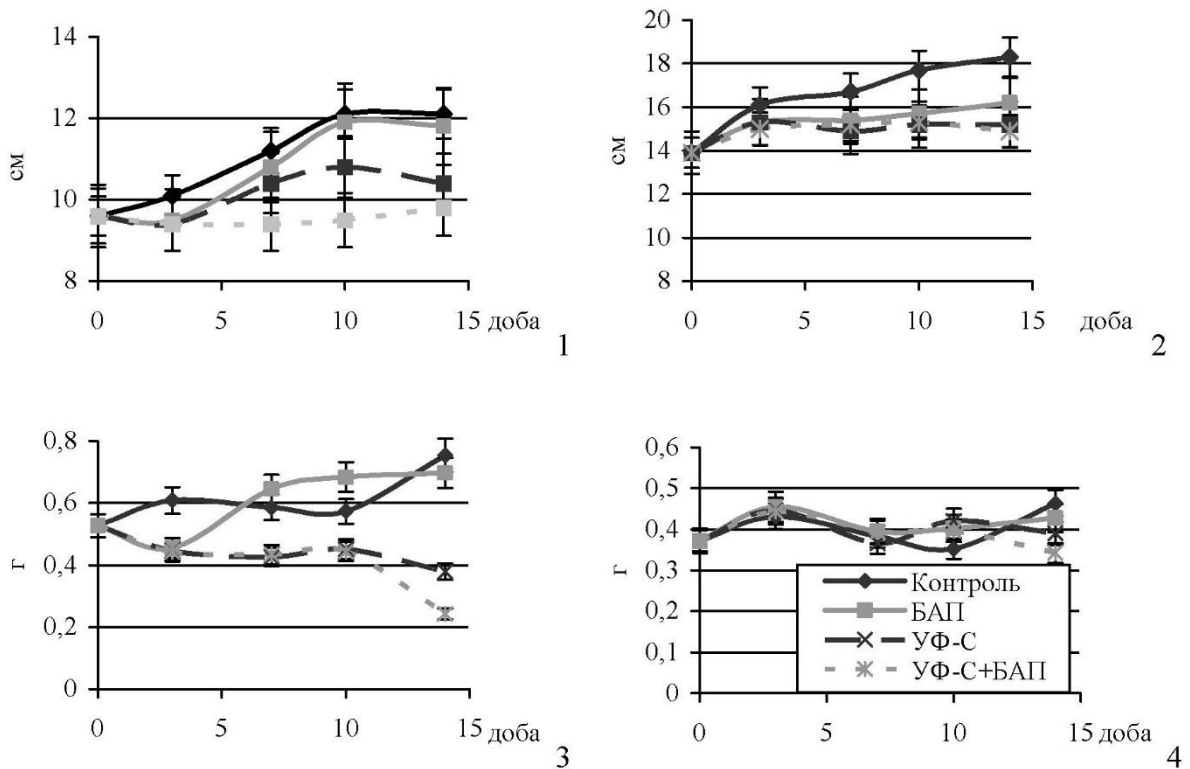


Рис. 1. Дія опромінення УФ-С та БАП на ріст рослин гороху (1 – довжина пагона, 2 – довжина кореня, 3 – маса пагона, 4 – маса кореня).

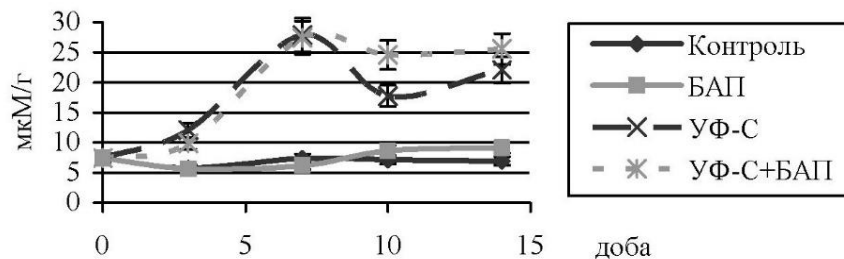


Рис. 2. Дія опромінення УФ-С та БАП на вміст ПВ в листках рослин гороху.

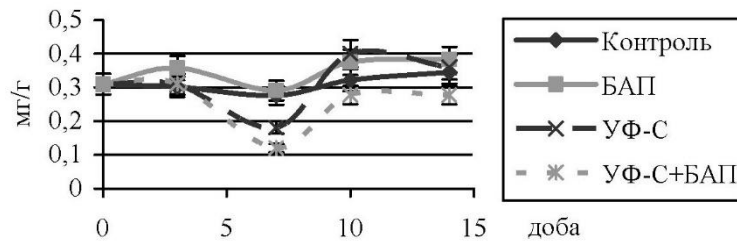
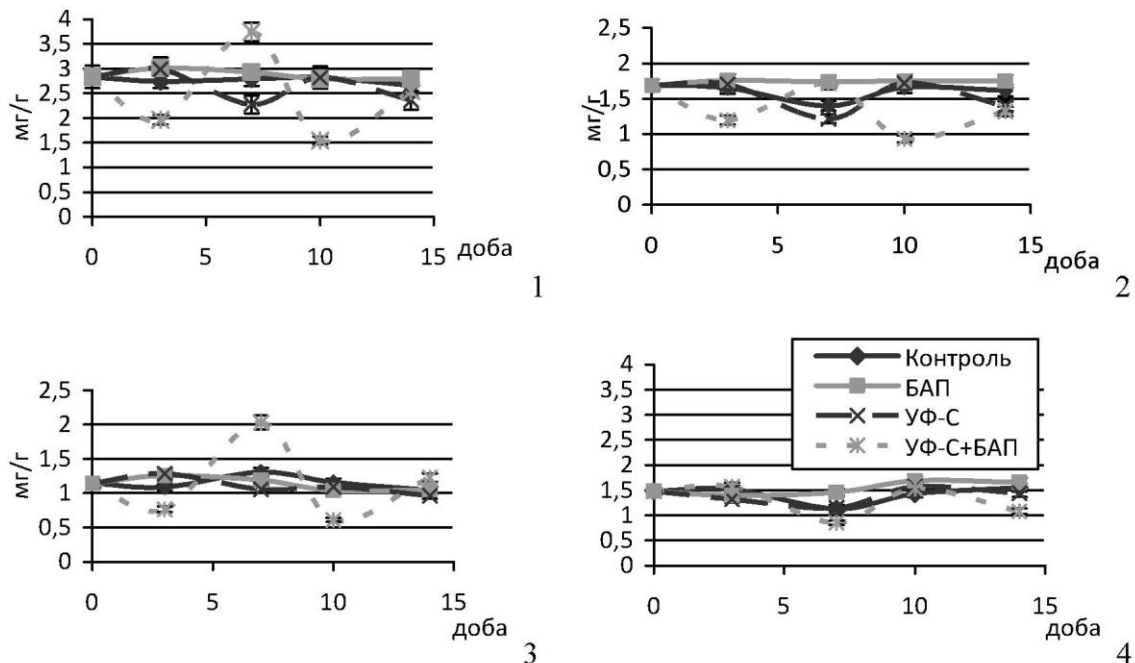


Рис. 3. Дія опромінення УФ-С та БАП на вміст каротиноїдів у листках рослин гороху.

Рис. 4. Дія опромінення УФ-С та БАП на вміст хлорофілів у листках рослин гороху 1 – вміст суми хлорофілів, 2 – вміст хлорофілу *a*, 3 – вміст хлорофілу *b*, 4 – співвідношення хлорофілів *a/b*.

Опромінення рослин УФ-С призвело до зменшення вмісту хлорофілу *a* на 7 добу дослідження, однак до 10 доби вміст хлорофілу *a* у листках рослин цього варіанту зростав і досягав рівнів контролю. Обробка рослин БАП після їх опромінення УФ-С призвела до зниження вмісту хлорофілу *a* на 3 добу, на 7 добу його вміст збільшився і перевищив відповідні значення контролю, однак до 10 доби дослідження знову зменшився і відновився лише на 14 добу після стресового періоду. Зміни вмісту хлорофілу *b* у всіх варіантах дослідження були подібними змінам вмісту суми хлорофілів і хлорофілу *a*, однак коливання кількості хлорофілу *b* у листках після опромінення УФ-С і обробки БАП були значнішими (рис. 4 (3)). На 14 добу дослідження вміст хлорофілу *b* у листках рослин усіх варіантів дослідження наблизився до контрольного рівня. Співвідношення хлорофілів *a/b* зменшувалося протягом 7 діб дослідження (рис. 4 (4)). Воно було найвищим у варіанті з обробкою рослин БАП без опромі-

нення і залишалося незмінним до кінця дослідження. Обробка рослин БАП після їх опромінення призводила до зниження співвідношення хлорофілів внаслідок зростання вмісту хлорофілу *b*, яке підвищувалося знову на 10 добу дослідження і знижувалося на 14 добу. Опромінення рослин УФ-С без обробки БАП не вплинуло на співвідношення хлорофілів.

Встановлено, що опромінення УФ-С у дозі 5 кДж/м² рослин гороху затримувало наростання надземної маси рослин, спричиняло оксидний стрес та призводило до часткової деградації пігментного комплексу листків. Зростання вмісту ПВ у листках опромінених рослин у 4-5 разів вказує на наростання дестабілізуючих процесів. Зниження вмісту ПВ на 10 добу дослідження було тимчасовим, після чого його вміст знову зростав. Високий рівень ПВ у листках зберігався протягом наступних діб дослідження. Обробка рослин БАП у післястресовий період у концентрації 10⁻⁵ М не призвела до зниження вмісту ПВ

у опромінених листках, який залишався на одному рівні до кінця дослідів. Підтримання високого вмісту ПВ у клітинах опромінених УФ-С рослин могло бути обумовлено частковою деградацією фотосинтетичного комплексу, антиоксидантів, диспропорцією у продукування і утилізації АФК, недостатньою активністю антиоксидантних систем. Одночасно зі зростанням вмісту ПВ виявлено значне зменшення кількості каротиноїдів у листках. Каротиноїди належать до первинної ланки сполук, яка сприймає і поглинає високоенергетичні промені, утилізує АФК. На 10 добу після опромінення вміст каротиноїдів у листках відновлювався і перевищував відповідні значення контролю, однак цього виявилось недостатньо для зниження рівня ПВ. Обробка рослин БАП стимулювала накопичення каротиноїдів і хлорофілів у листках неопромінених рослин. У опромінених рослин обробка БАП сприяла зростанню вмісту хлорофілів на 7 добу після стресового періоду. Вміст хлорофілів у цей період у листках дослідних рослин був вищим, ніж у рослин контролю, однак на 10 добу відбувалось його зниження. Раніше нами було показано, що опромінення УФ-С рослин гороху в дозі 15 кДж/м² спричинило зупинку росту рослин гороху, деградацію фотосинтетичного комплексу листків, на яку не вплинула обробка екзогенним цитокініном [9]. Використання низьких доз УФ-С для знезараження поверхні рослин спричиняло пригнічення росту та розвитку рослин гороху, а обробка цитокініном стимулювала відновні процеси у після стресовий період. Однак, висока енергія променів УФ-С, на відміну від УФ-В, викликала значний оксидний стрес за дії відносно низької дози, що було причиною затримки росту рослин. Підтримка високого рівня ПВ після дії УФ-С вказує на дефіцит його утилізаторів у зрілих клітинах листків і недостатнє відновлення антиоксидантного комплексу протягом тривалого періоду. Дія УФ-С у дозі 5 кДж/м² не призвела до інактивації верхівкових меристем пагона, що дозволило рослинам утворювати нові листки на заміну тих, які безпосередньо сприйняли промені УФ-С, і продовжити їх ріст. Таким чином, опромінення рослин УФ-С у дозі 5 кДж/м² призводило до тимчасового пригнічення їх росту і поступову заміну верхніх опромінених листків на нові. Обробка рослин екзогенним цитокініном БАП стимулювала відновлення фотосинтетичних пігментів, однак не знижувала рівень оксидного стресу протягом

тривалого періоду. Отже, опромінення рослин високоенергетичними променями УФ-С у низьких дозах здатне спричинити руйнівну дію на сформовані листки, однак дозволяє відновити листковий апарат за рахунок утворення нових листків і продовжити ріст гороху.

Висновки

Встановлено, що опромінення УФ-С рослин гороху сорту Ароніс у фазі трьох справжніх листків дозою 5 кДж/м² спричиняло затримку росту пагонів і коренів в довжину, наростання сирі маси пагонів і коренів. Обробка рослин БАП після їх опромінення не вплинула на ріст пагонів і коренів у довжину і наростання їх сирі маси. Показано, що опромінення УФ-С спричинило зростання вмісту ендogenous ПВ у листках, який досягнув максимуму на 7 добу після стресового періоду. Обробка рослин цитокініном БАП після їх опромінення не призвела до зниження вмісту ПВ у листках. Дія УФ-С викликала зменшення вмісту каротиноїдів, який був найнижчим на 7 добу після опромінення, після чого зростав і на 14 добу дослідів перевищував відповідні значення рослин контролю. Обробка опромінених рослин БАП не стимулювала відновлення вмісту каротиноїдів, який не досягнув рівнів контролю до кінця дослідів. Опромінення рослин УФ-С низькою дозою спричинило поступове зниження вмісту хлорофілів протягом 7 діб, після чого його вміст відновлювався до відповідних значень у контрольних рослин. У оброблених БАП опромінених рослин відзначено зниження вмісту хлорофілів у листках протягом 3 діб, після чого вмісту хлорофілів зростав і на 7 добу після стресового періоду перевищував відповідні значення контролю та інших варіантів дослідів. Заміщення зрілих опромінених листків новими з несформованим фотосинтетичним комплексом призвело до зниження вмісту хлорофілів у даному варіанті дослідів. Наприкінці дослідів вміст хлорофілів у листках опромінених і неопромінених рослин був близьким, що свідчить про відновлення їх фотосинтетичного комплексу. Співвідношення хлорофілів змінювалось відповідно до зміни їх вмісту. Таким чином, використання дози 5 кДж/м² УФ-С для опромінення рослин гороху не спричинило незворотних ушкоджень пагонів рослин, що дозволило відновити їх подальше функціонування. Після стресової обробки рослин цитокініном БАП у низькій концентрації сприяла відновленню фотосинтетичного ком-

плексу листків, однак була недостатньою для відновлення росту рослин до рівня неопромієних рослин. УФ-С у низьких дозах може бути

використаний для знезараження поверхні рослин овочевих культур.

References

1. Dawood M. F. A., Tahjib-Ul-Arif M., Sohag A. A. M., Latef A. A. H. A., Ragaey M. M. Mechanistic Insight of Allantoin in Protecting Tomato Plants Against Ultraviolet C Stress. *Plants (Basel)*. 2020. Vol. 10 (1). P. 11. <https://doi.org/10.3390/plants10010011>.
2. Urban L., Charles F., de Miranda M.R.A., Aarrouf J. Understanding the physiological effects of UV-C light and exploiting its agronomic potential before and after harvest. *Plant physiology and biochemistry: PPB*. 2016. Vol. 105. P. 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.04.004>.
3. Sokolova D. A., Halych T. V., Zhuk V. V., Kravets A. P. Involvement of UV-C-induced genomic instability in stimulation plant long-term protective reactions. *J. Plant Physiol*. 2024. Vol. 293. P. 154171. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2024.154171>.
4. Zhuk V., Sokolova D., Kravets A., Sakada V., Gluschenko L., Kuchuk, M. Efficiency of pre-sowing seeds by UV-C and X-ray exposure on the accumulation of antioxidants in inflorescence of plants of *Matricaria chamomilla* L. genotypes. *Int. J. Sec. Metab*. 2021. Vol. 8 (3). P. 186–194. <https://doi.org/10.21448/ijsm.889860>.
5. Dawood M. F. A., Abu-Elsaoud A. M., Sofy M. R., Mohamed H. I., Soliman M. H. Appraisal of kinetin spraying strategy to alleviate the harmful effects of UVC stress on tomato plants. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2022. Vol. 29 (35). P. 52378–52398. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19378-6>.
6. Costa-Pérez A., Ferrer M.A., Calderón A. A. Combined Effects of Cytokinin and UV-C Light on Phenolic Pattern in *Ceratonotia siliqua* Shoot Cultures. *Agronomy*. 2023. Vol. 13 (3). P. 621. <https://doi.org/10.3390/agronomy13030621>.
7. Zhuk V. V., Mikheev A. N., Ovsyannikova L. G. Adaptive effect of cytokinin on soybean plants under the action of chronic ultraviolet B radiation. *Factors in experimental evolution of organisms*. 2021. Vol. 28. P. 72–77. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v28.1378>. [in Ukrainian]
8. Zhuk V. V., Mikheev A. N., Ovsyannikova L. G. The response of pea plants to ultraviolet B radiation and cytokinin. *Factors in experimental evolution of organisms*. 2023. Vol. 32. P. 85–90. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v32.1541>. [in Ukrainian]
9. Zhuk V. V., Mikheev A. N., Ovsyannikova L. G. The effect of UV-C-radiation and cytokinin on pea plants *Factors in experimental evolution of organisms*. 2024. Vol. 34. P. 154–159. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v34.1633>. [in Ukrainian]
10. Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol*. 1987. Vol. 148. P. 350–382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1).
11. 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 EFFECT OF UV-C EXPLOSION AND EXOGENOUS CYTOKININ ON PEA PLANTS

Aim. The effect of ultraviolet C (UV-C) explosion and cytokinin benzylaminopurine (BAP) treatment on the growth shoots and roots, content of hydrogen peroxide (HP) and photosynthetic pigments in leaves of pea plants (*Pisum sativum* L.) was studied. **Methods.** Pea plants cultivar Aronis were irradiated by UV-C at a dose of 5 kJ/m² with a power of 7 W/m². Part of the non-irradiated plants were treated with BAP, part of the plants were treated with BAP one day after UV-C explosion. Plant shoots and roots length and mass were measured, content of photosynthetic pigments and HP in leaves were established during the experiment. **Results.** It was shown that UV-C explosion inhibited growth of pea plants, increased HP and decreased chlorophylls and carotenoid content in leaves. Treatment of plants with BAP after the UV-C explosion stimulated the accumulation of chlorophyll, but had no effect on HP and carotenoid content. **Conclusions.** It was shown that UV-C explosion of pea plants by dose of 5 kJ/m² caused inhibition of growth, reduction photosynthetic pigments content, increased HP content in leaves. The BAP treatment after explosion stimulated the accumulation of chlorophylls content in leaves.

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