

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, ORCID: 0000-0003-1966-7537

✉ vzhukv@gmail.com, (097) 672-33-64

ДІЯ УФ-С-ОПРОМІНЕННЯ ТА ЦИТОКІНІНУ НА РОСЛИНИ ГОРОХУ

Мета. Досліджено дію опромінення ультрафіолетом С (УФ-С) та цитокініну бензиламінопурину (БАП) на ріст рослин гороху (*Pisum sativum* L.) і вміст фотосинтетичних пігментів у листках. **Методи.** Рослини гороху сорту Ароніс піддавали дії опромінення УФ-С у дозі 15 кДж/м² потужністю 7 Вт/м². Частину неопромінених рослин обробляли БАП, частину рослин обробляли БАП за добу, а частину через добу після дії на них УФ-С. Виміри довжини та маси пагонів і коренів рослин, відбір проб для визначення вмісту фотосинтетичних пігментів у листках проводили впродовж дослідження. **Результати.** Встановлено, що дія УФ-С затримувала ріст рослин гороху, зменшувала вміст каротиноїдів. Обробка рослин БАП після завершення дії УФ-С прискорювала відновлення фотосинтетичних пігментів. **Висновки.** Опромінення рослин гороху УФ-С дозою 15 кДж/м² спричиняло пригнічення росту, зменшення вмісту фотосинтетичних пігментів у зрілих листках. Дія БАП після опромінення прискорювала відновлення вмісту фотосинтетичних пігментів у листках.

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

Сонячна УФ-С радіація адсорбується атмосферним киснем, озоном і практично не досягає земної поверхні, однак УФ-С з довжиною хвилі 254 нм широко використовується для знезараження рослин, стерилізації насіння [1]. УФ-С з цією довжиною хвилі виявив найбільший антимікробний ефект, який обумовлений поглинанням радіації вуглевод-вуглеводними зв'язками у білках, нуклеїнових кислотах і призводить до структурних змін у ДНК, формування пірімідинових димерів, таких як циклобутан-пірімідиновий димер. Встановлено, що опромінення рослин УФ-С здатне спричинити пошкодження мітохондрій, хлоропластів, мембран клітин листового мезофіла [2, 3]. Дія УФ-С пов'язана з продукуванням високоенергетичних вільних радикалів, які викликають руйнації у клітинах на молекулярному рівні, зокрема

переокиснення поліненасичених жирних кислот, деградацію мембранних фосфоліпідів, полімеризацію білків, інактивацію ензимів, деструкцію тилакоїдів, ламел хлоропластів, інгібування транспорту електронів, біосинтезу хлорофілу і його попередника протохлорофіліду, стимулює продукування активних форм кисню (АФК). Нами показано, що опромінення насіння УФ-С спричиняло геномну нестабільність у листках вирощеної з нього ромашки лікарської [4]. Для захисту від ушкоджень УФ-С рослини посилюють синтез проліну, вільних амінокислот, цукрів, аскорбату, антоціану, флавоноїдів, токоферолу. Нами виявлено збільшення вмісту фенолів і флавоноїдів у листках ромашки лікарської, насіння якої було опромінено УФ-С перед посівом, що посилювало захисні реакції рослин [4, 5]. Окиснювальний стрес, який спричиняла дія УФ-С, зменшував ендогенний вміст регуляторів росту, зокрема цитокінінів, що управляють розтягом і диференціацією клітин, біогенезом хлоропластів, захищають від токсичного впливу АФК. Цитокініни пагонів синтезуються з аденіну у меристемах, молодих листках, плодах, здатні утилізувати вільні радикали, АФК. Екзогенні цитокініни легко проникають у клітини листового мезофіла і поповнюють пул ендогенних цитокінінів, що важливо у стресових умовах, коли швидкість деградації ендогенних цитокінінів перевищує їх новоутворення. Встановлено, що обробка рослин водним розчином цитокінінів до і після опромінення рослин томату УФ-С зменшувала його негативну дію на ріст пагонів і коренів, стимулювала синтез фотосинтетичних пігментів [6]. Одночасна дія на рослини УФ-С і аденіну посилювала антиоксидантну здатність клітин шляхом стимуляції синтезу вторинних метаболітів, затримувала деградацію фотосинтетичних пігментів [7]. Цитокінін БАП виявив захисний вплив на рослини гороху і сої в умовах хронічного опромінення високоенергетичним ультрафіолетом В (УФ-В) [8–10]. Нами показано, що обробка рослин гороху БАП до та після дії на них хронічного опромінення УФ-В

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

сприяла відновленню росту, вмісту фотосинтетичних пігментів у листках після припинення дії стресу [8, 10]. Обробка БАП до дії УФ-В променів стабілізувала співвідношення хлорофілів, стимулювала відновлення вмісту хлорофілів і каротиноїдів у листках гороху і сої. Обприскування рослин гороху водним розчином БАП після припинення дії УФ-В прискорювало відновлення росту, підвищувало вміст фотосинтетичних пігментів у листках, знижувало вміст ендogenousного перекису водню. Однак дія опромінення УФ-С та цитокініну на рослини гороху все ще залишається недослідженою.

Метою роботи було дослідження дії опромінення УФ-С та цитокініну БАП на ріст рослин гороху та вміст фотосинтетичних пігментів у листках.

Матеріали і методи

Рослини гороху (*Pisum sativum* L.) сорту Ароніс селекції ННЦ Інституту землеробства НААН України вирощували в умовах водної культури протягом 14 днів. Режим освітлення становив 14 годин світла інтенсивністю 4,4 кЛк і 10 годин темноти. Гостре опромінення рослин УФ-С проводили у фазі трьох справжніх листків дозою 15 кДж/м² потужністю 7 Вт/м² за допомогою установки ОБН-150М з 2 лампами Philips 30W 253,7 нм. Контрольні рослини знаходились окремо. Частину рослин обприскували водним розчином БАП у концентрації 10⁻⁴ М без опромінення, частину інших рослин обробляли БАП за добу або через добу після дії на них УФ-С. Впродовж дослідів проводили визначення довжини та маси пагонів і коренів. Відбір проб для визначення вмісту фотосинтетичних пігментів у листках проводили одночасно у всіх варіантах дослідів. Вміст фотосинтетичних пігментів визначали етанольним методом за Ліхтенталером [11]. Кількість пігментів виражали у міліграмах (мг) на грам (г) маси сирової речовини. Повторність дослідів 5-разова. Результати оброблені статистично за допомогою програми Microsoft Excel. На графіках наведено середні арифметичні значення та величини дисперсії.

Результати та обговорення

Встановлено, що УФ-С-опромінення надземної частини рослин гороху пригнічувало ріст пагонів у довжину впродовж перших днів після його дії, після чого до завершення дослідів довжина пагонів у опромінених рослин вірогідно не змінилась (рис. 1 (1)). Обробка рослин гороху

БАП до та після опромінення не відновила ріст пагонів у довжину. Опромінення пагонів гороху УФ-С спричинило затримку росту коренів і до завершення дослідів довжина коренів у опромінених рослин майже не змінилась (рис. 1 (2)). Обробка надземної частини рослин БАП вірогідно не впливала на ріст коренів гороху у довжину в опромінених рослин. Опромінення рослин УФ-С не лише затримувало наростання маси пагонів, а й призводило до поступового її зменшення шляхом втрати частини листків, які зазнали ушкоджень під час дії високоенергетичних променів (рис. 1 (3)). Обробка рослин гороху БАП після дії УФ-С зменшувала втрати маси рослинами гороху, порівнюючи з іншими опроміненими рослинами впродовж 3 днів, однак надалі ефект дії БАП нівелювався, а маса рослин знижувалась. До кінця дослідів у всіх опромінених УФ-С рослин, на відміну від неопромінених, не відзначено збільшення маси пагонів. Дія БАП на надземну частину рослин гороху після їх опромінення УФ-С стимулювала наростання маси коренів, яка перевищувала масу коренів у неопромінених рослин (рис. 1 (4)).

Опромінення рослин гороху УФ-С призводило до зменшення вмісту каротиноїдів у листках до 2 разів, яке відзначалось впродовж 7 днів після дії стресу, після чого вміст каротиноїдів зростав і на 10 добу відновного періоду досягав максимального для опромінених рослин значення, яке залишилось незмінним до кінця дослідів (рис. 2 (1)). Кількість каротиноїдів у листках неопромінених рослин не змінювалась впродовж усього дослідів. Обробка рослин БАП вірогідно не вплинула на вміст каротиноїдів у листках опромінених і неопромінених рослин. Вміст хлорофілу *a* у листках опромінених УФ-С рослин з обробкою та без обробки БАП залишався близьким до такого у неопромінених рослин впродовж 7 днів, після чого у рослин оброблених БАП до опромінення вміст хлорофілу *a* продовжував знижуватись і в кінці дослідів був найнижчим серед усіх варіантів (рис. 2 (2)). Вміст хлорофілу *b* у листках усіх опромінених рослин збільшився впродовж перших 3 днів після дії стресу, порівнюючи з відповідними значеннями у неопромінених рослин до 3 разів, однак у листках, оброблених БАП до опромінення рослин, відбувалось його зниження до значень, які виявили в опромінених УФ-С рослин без обробки цитокініном (рис. 2 (3)). Обробка рослин БАП після опромінення УФ-С підвищувала вміст

хлорофілу *b* у листках, порівнюючи з відповідними значеннями контролю й інших варіантів досліду. Сумарний вміст хлорофілів у листках опромінених УФ-С рослин гороху збільшувався на 3 добу після дії стресу внаслідок зростання кількості хлорофілу *b* (рис. 2 (4)). Надалі у варіанті з обробкою рослин БАП до опромінення вміст хлорофілів у листках продовжував знижуватись, а у варіанті з обробкою БАП після опромінення залишався вищим, порівнюючи з відповідними значеннями у рослин контролю та інших варіантів досліду. Співвідношення хлорофілів *a* / *b* зменшувалось у листках усіх опромінених рослин впродовж 3 діб після дії стресу, після 7 доби відновного періоду зростало у варіанті з обробкою БАП до опромінення і наближалось до значень у контрольних рослин (рис. 2 (5)). Обробка рослин БАП після їх опромінення призводила до різкого зниження співвідношення хлорофілів, яке не змінилось до кінця досліду. У листках опромінених УФ-С рослин без обробки БАП співвідношення хлорофілів знижувалось до 7 доби після стресового періоду, залишалось незмінним до 16 доби, після чого підвищувалось до значень контролю. Опромінення рослин гороху УФ-С збільшувало співвідношення хлорофілів до каротиноїдів вна-

слідок зниження вмісту каротиноїдів, однак після 7 діб відновного періоду співвідношення хлорофілів до каротиноїдів у всіх опромінених рослин поступово знижувалось до значень у неопромінених рослин і лише у варіанті з обробкою БАП після опромінення залишалось у 2 рази вищим, порівнюючи з іншими варіантами до кінця досліду (рис. 2 (6)).

Виявлено, що опромінення надземної частини рослин гороху високою дозою УФ-С пригнічувало ріст пагонів у довжину і наростання їх маси. Після припинення дії УФ-С променів відновлення ростових процесів у пагонах не відбувалось впродовж 17 діб, що свідчить про ураження меристем пагона. Поступове зменшення маси надземної частини рослин обумовлювалось втратою листків. Ріст коренів у опромінених рослин у довжину затримувався не через їх ушкодження, а через стимуляцію розгалуження, про що свідчить наростання маси коренів. Обробка рослин цитокініном БАП до та після їх опромінення високоенергетичним видом ультрафіолету УФ-С у високій дозі не призвела до відновлення ростових процесів у пагонах гороху, що, очевидно, обумовлено загибеллю стеблових меристем.

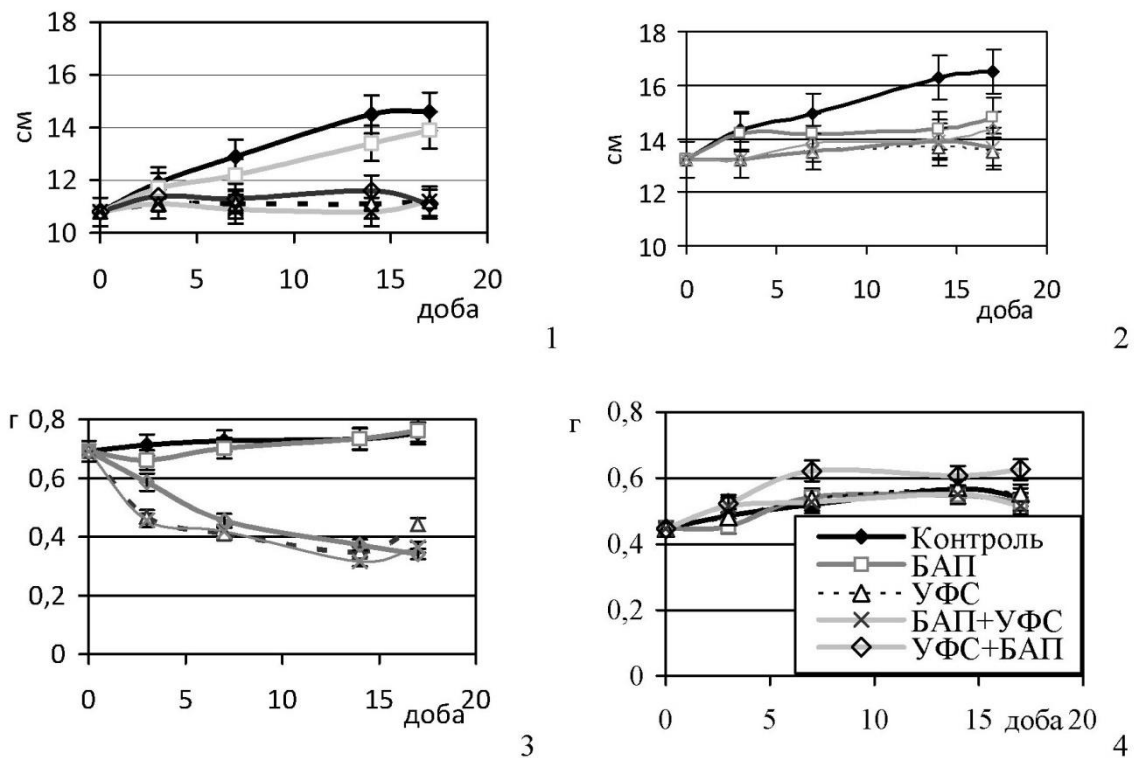


Рис. 1. Дія опромінення УФ-С і БАП на ріст рослин гороху (1 – довжина пагону, 2 – довжина кореня, 3 – маса пагону, 4 – маса кореня).

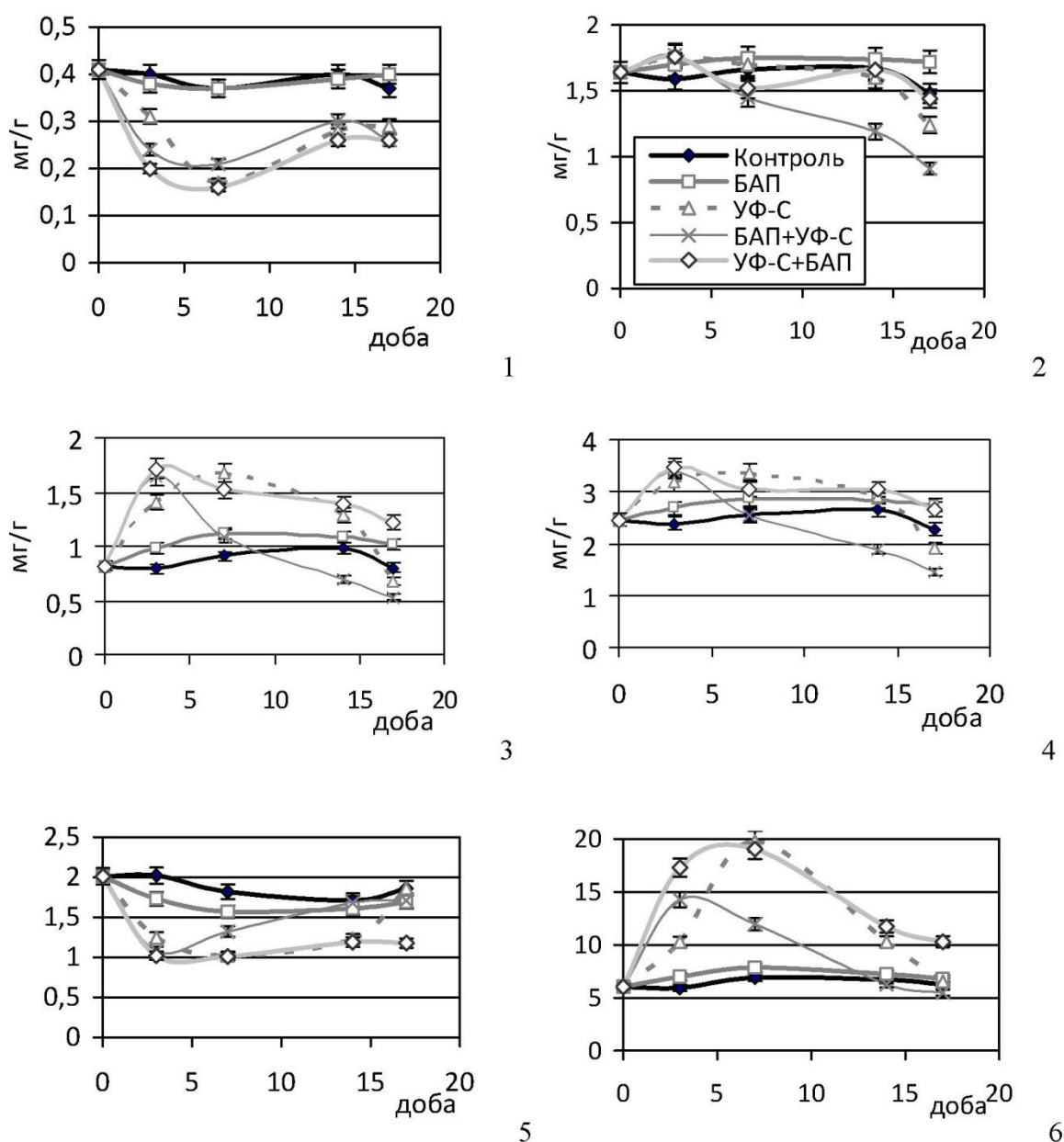


Рис. 2. Дія опромінення УФ-С і БАП на вміст фотосинтетичних пігментів у листках гороху (1 – каротиноїдів, 2 – хлорофілу *a*, 3 – хлорофілу *b*, 4 – суми хлорофілів, 5 – співвідношення хлорофілів *a* / *b*, 6 – співвідношення хлорофілів до каротиноїдів).

Меристеми коренів не зазнали безпосередньої дії УФ-С, однак їх ріст затримувався внаслідок дефіциту фотоасимілятів, якими їх забезпечувала надземна частина рослин. Обробка БАП після опромінення стимулювала наростання маси коренів у відновний період, що вказує на здатність цитокініну зменшувати негативну дію УФ-С на забезпечення ресурсами коренів з пагонів. Промені УФ-С завдали значного деструктивного впливу на фотосинтетичний комплекс листків. Відомо, що хлоропласти є головною мішен-

ню дії УФ-С на рослини [3]. Промені високої енергії здатні глибоко проникати у клітини листового мезофіла, спричиняти руйнацію усіх структурних елементів хлоропластів, викликати окиснювальний стрес. Каротиноїди виконують функцію утилізації й розсіювання надлишкової енергії ультрафіолету, нейтралізації окиснених молекул, вільних радикалів, утворюють головний захисний бар'єр. У процесі дезактивації квантів високої енергії відбувається окиснення і деструкція самих каротиноїдів. В умовах жорс-

ткого стресу, за дії високої дози УФ-С у наших дослідах, відбувалось різке зменшення вмісту каротиноїдів після припинення дії стресу, однак через 7 діб їх вміст у клітинах мезофілу частково починав відновлюватися. Вміст хлорофілу *a* після дії УФ-С знижувався поступово, а обробка БАП після опромінення дозволила затримати його деградацію. Збільшення відносного вмісту хлорофілу *b* у листках опромінених рослин впродовж кількох діб після дії стресу обумовлювалось його менш значною руйнацією, порівнюючи з іншими фотосинтетичними пігментами, що також призвело до відносного збільшення суми хлорофілів у цей же період. Деструкція фотосинтетичного комплексу призвела до зменшення співвідношення хлорофілів *a* / *b*, яке залишалось нижчим, порівнюючи з неопроміненими рослинами. Співвідношення хлорофілів до каротиноїдів різко зростало на початку відновного періоду внаслідок руйнації значної кількості каротиноїдів, однак через 7 діб після опромінення рослин почало знижуватись до відповідних значень у контролі. Встановлено, що обробка рослин екзогенними цитокінінами до та після опромінення здатна захищати рослини від стресової дії УФ-С у невисоких дозах, стимулювати синтез фенольних речовин, сприяти відновленню росту і розвитку рослин після припинення дії стресового чинника [6, 7]. Відомо, що ароматичні цитокініни можуть безпосередньо доповнювати пул ендогенних цитокінінів, брати участь у дезактивації вільних радикалів, АФК, сприяти синтезу хлорофілів, що стимулює захисні механізми рослин і сприяє підвищенню їх стійкості до стресових чинників середовища. Близький ефект дії екзогенного цитокініну виявлено в умовах хронічного опромінення рослин гороху та сої УФ-В [8–10]. Однак в умовах опромінення рослин високою дозою УФ-С відбувалась настільки значна деструкція цитокінінів, що обробка БАП до дії стресу була неефективною. Обприскування надземної частини рослин гороху після їх опромінення високою дозою УФ-С дозволило затримати деградацію фотосинтетичних пігментів, однак не вплинуло на ростові процеси, які залежать від функціонування меристем. Таким чином, дія УФ-С у високих дозах здатна спричинити негативний вплив на ріст і розвиток рослин гороху. Обприскування рослин цитокініном після опромінення сприяє відновленню фотосинтетичного комплексу листків, затримує їх старіння, однак не здатне відновити ростові процеси внаслідок загибелі ме-

ристом пагона. Таким чином, знезараження рослин гороху від бактерій і вірусів шляхом опромінення УФ-С потрібно проводити з використанням доз, які не спричиняють незворотного ураження меристем пагона, а використанням екзогенних цитокінінів у післястресовий період дозволить зменшити його деструктивну дію на надземну частину рослин.

Висновки

Встановлено, що опромінення рослин гороху сорту Ароніс у фазі трьох справжніх листків високою дозою УФ-С 15 кДж/м² потужністю 7 Вт/м² спричиняло припинення росту пагонів у довжину і наростання їх маси. Відновлення ростових процесів у пагонах не відбувалось впродовж 17 діб після дії стресу. Обробка пагонів БАП до та після опромінення рослин УФ-С не сприяла відновленню росту пагонів, що свідчить про загибель верхівкових меристем. Ріст коренів у довжину після опромінення надземної частини рослин тимчасово затримувався, після чого частково відновлювався, однак був значно повільнішим, порівнюючи з рослинами контролю. Наростання маси коренів у опромінених і неопромінених рослин продовжувалось до кінця досліду і свідчить про посилення їх розгалуження. Обробка пагонів БАП після опромінення стимулювала наростання маси коренів у післястресовий період, яка зростала швидше, порівнюючи з іншими варіантами досліду. Дія УФ-С на комплекс фотосинтетичних пігментів спричинила різке зменшення вмісту каротиноїдів у листках гороху у перші кілька діб після опромінення, поступову деградацію хлорофілів, зменшення співвідношення хлорофілів *a* / *b*, збільшення співвідношення хлорофілів до каротиноїдів. Обробка рослин цитокініном. БАП до опромінення рослин призвела до прискорення деградації хлорофілів у листках опромінених УФ-С рослин гороху, кількість яких до кінця досліду була найнижчою, порівнюючи з такою в інших варіантах дослідів. Обробка рослин БАП після дії стресу сприяла відновленню пігментного комплексу листків, однак вміст фотосинтетичних пігментів у опромінених рослин залишався нижчим, порівнюючи з неопроміненими. Обробка БАП до та після опромінення вірогідно не впливала на вміст каротиноїдів, який після значного зниження поступово підвищувався, однак залишався нижчим, порівнюючи з таким у рослин контролю. Співвідношення хлорофілів *a* / *b* різко зменшувалось впро-

довж 3 діб після дії УФ-С, однак обробка рослин БАП до опромінення поступово підвищувала його до рівнів контролю. Співвідношення хлорофілів до каротиноїдів значно збільшилось у всіх опроміненних рослин, після чого до кінця дослідження знижувалось до рівнів неопроміненних рослин. Таким чином, використання високих

доз УФ-С для знезараження від мікроорганізмів здатне спричинити значну деструктивну дію на молоді рослини гороху та зупинити їх подальший ріст і розвиток. Обприскування рослин розчинами цитокінінів після опромінення зменшувало негативну дію УФ-С на рослини.

References

- Otake M., Okamoto Yoshiyama K., Yamaguchi H., Hidema J. 222 nm ultraviolet radiation C causes more severe damage to guard cells and epidermal cells of Arabidopsis plants than does 254 nm ultraviolet radiation. *Photochem Photobiol Sci.* 2021. Vol. 20 (12). P. 1675–1683. doi: 10.1007/s43630-021-00123-w.
- 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. doi: 10.3390/plants10010011.
- Urban L., Charles F., de Miranda M.R.A., Aarouf 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. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.04.004.
- 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. doi: 10.1016/j.jplph.2024.154171.
- 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. doi: 10.21448/ijsm.889860.
- 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. doi: 10.1007/s11356-022-19378-6.
- 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. doi: 10.3390/agronomy13030621.
- 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: 10.7124/FEEO.v26.1265. [in Ukrainian]
- 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. doi: 10.7124/FEEO.v28.1378. [in Ukrainian]
- 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. doi: 10.7124/FEEO.v32.1541. [in Ukrainian]
- 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.

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 RADIATION AND CYTOKININ ON PEA PLANTS

Aim. The effect of ultraviolet C (UV-C) radiation and cytokinin benzylaminopurine (BAP) on the growth and content of 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 15 kJ/m² with a power of 7 W/m². Part of the non-irradiated plants was treated with BAP, part of the plants was treated with BAP one day before irradiation and part of plants were treated with BAP in one day after UV-C irradiation. Length and mass of plant shoots and roots were measured during the experiment. Content of photosynthetic pigments in leaves were determined during all time the experiment. **Results.** It was shown that pea plants growth delayed content of carotenoids in leaves reduced after the UV-C radiation of pea plants. Treatment of plants with BAP after the end of the UV-C radiation accelerated the restoration of photosynthetic pigments content. **Conclusions.** It was shown that UV-C radiation of pea plants by dose of 15 kJ/m² caused inhibition of growth, decreasing photosynthetic pigments content in leaves. The BAP treatment after radiation stimulated the restoration of photosynthetic pigments content in the leaves.

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