

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) 672-33-64АДАПТАЦІЯ РОСЛИН КУКУРУДЗИ ДО ХРОНІЧНОГО
УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ОПРОМІНЕННЯ

Мета. Досліджена адаптація молодих рослин кукурудзи (*Zea mays* L.) до дії хронічного ультрафіолету В (УФ-В) опромінення в період вегетативного росту та формування фотосинтетичного апарату листків. **Методи.** Рослини кукурудзи гібриду Достаток 300 МВ у фазі двох розвинених листків опромінювали УФ-В дозою 2 кДж/м² на день потужністю 1 Вт/м² в умовах довгого дня протягом 12 діб. У цей період вимірювали ріст рослин, у листках визначали вміст фотосинтетичних пігментів та ендogenousного перекису водню (ПВ). **Результати.** Встановлено, що дія хронічного УФ-В опромінення спричиняла тимчасове інгібування росту листків, синтезу фотосинтетичних пігментів та підвищення вмісту ПВ у них. Після цього відбувалося відновлення ростових процесів і пігментного комплексу до рівня неопромінених рослин із перевищенням його, що свідчить про індукцію адаптивних реакцій у молодих рослин кукурудзи. **Висновки.** Показано, що дія невисокої дози хронічного УФ-В опромінення спричиняла затримку ростових процесів і формування фотосинтетичного комплексу з наступною адаптацією до стресу у молодих рослин кукурудзи.

Ключові слова: УФ-В опромінення, *Zea mays* L., фотосинтетичні пігменти, адаптація.

Сонячна радіація належить до визначальних факторів еволюції рослин на поверхні Землі. До її складу неодмінно входить УФ-В, промені якого мають довжину хвиль у діапазоні 280–325 нм. Озоновий шар атмосфери переважно затримує УФ-В хвилі, що коротші за 300 нм. Внаслідок антропогенної активності і зростання вмісту у повітрі хлор- та бромвмісних речовин шар стратосферного озону постійно зменшується, у ньому з'являються озонові діри, які пропускають ультрафіолет, що може спричинити значне опромінення рослинного покриву, зменшення продуктивності культурних рослин [1]. У помірних широтах денна доза УФ-В радіації залежить від положення сонця, сезону, товщини

озонового шару і складає 2–4 кДж/м² на день, але можливі її коливання від 0 до 12 кДж/м² [2]. У рослинних клітинах для сприйняття УФ-В променів ідентифіковано специфічний фоторецептор UV RESISTANCE LOCUS 8 (UVR8), який активує експресію генів, що регулюють монотерпеноїдний шлях синтезу флавоноїдів і алкалоїдів, збільшують вміст цих речовин для захисту рослин від світлового стресу [3]. Результати транскрипційного аналізу показали, що фоторецептор UVR8 є ключовим у реакції рослин на сонячну радіацію, а його функціонування необхідне за умов хронічного УФ-В опромінення. Внаслідок поглинання УФ-В локус UVR8 мономеризується і зв'язується з Е3 убіквітинлігазою, щоб ініціювати трансдукцію сигналу для формування фотоморфогенетичної відповіді на стрес. Знайдено тісну взаємодію між рецепторами УФ-В сигналу і фітохромним фоторецептором, який реагує на червоне світло та високі температури середовища [4]. Однією з реакцій на УФ-В промені за підвищених температур докілья є інгібування біосинтезу ауксину у надземній частині рослин, що призводить до пригнічення їх росту і стимуляції ростової активності кореневої системи. Встановлено, що опромінення рослин високими дозами УФ-В радіації, які становили 15–16 кДж/м² на день, спричиняло деструкцію фотосинтетичного комплексу, зменшувало об'єм хлоропластів, число і діаметр судин ксилеми, кількість продихів, викликало колапс адаксіального епідермісу у дистальних частинах листків, підвищувало вміст активних форм кисню (АФК) в клітинах [2]. Дія незначних доз хронічного УФ-В опромінення, які відповідають природним рівням, на рослини досліджена слабо.

Нами раніше було вивчено дію гострого УФ-С та УФ-В опромінення у широкому діапазоні доз на рослини гороху, у якого характерна для дводольних горизонтальна орієнтація широких листкових пластинок, що збільшує їх чутливість до ультрафіолету [5–7]. УФ-С промені

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

більше порівняно з УФ-В інгібували ріст пагонів гороху навіть у малих дозах. Після гострого опромінення гороху УФ-В або УФ-С дозою 8 кДж/м² відзначена незворотна затримка ростових процесів, а збільшення дози до 16 кДж/м² призводило до їх зупинки. Пригнічення росту пагонів гороху після опромінення обома видами ультрафіолету спричиняло стимуляцію росту коренів. Показано, що дія УФ-С променів призводила до підвищення активності антиоксидантних ферментів аскорбатпероксидази і каталази, зменшення вмісту хлорофілу у листках [6, 7]. Виявлена гормезисна дія невисоких доз гострого УФ-С опромінення, яка проявилась у зростанні стійкості рослин до повторного опромінення УФ-С [5].

Культурні однодольні рослини займають головне місце у харчовому раціоні людства, що залишає актуальною проблеми їх інтродукції й адаптації до умов довкілля. У землеробстві країн помірних широт набула розповсюдження тропічна культура кукурудза, яка у місцях свого походження вирощується за умов короткого дня, високих доз ультрафіолету та температури довкілля [2]. У дослідженнях дії хронічного УФ-В опромінення на кукурудзу використовували дози від 7 до 49 кДж/м² на день, які призводили до зменшення біомаси рослин, вмісту хлорофілу, руйнації гранальних тилакоїдів хлоропластів, появи хлоротичних та некротичних плям на листках. Недавно виявлено, що в умовах 16-годинного дня низькі дози УФ-В опромінення були здатні інгібувати ріст гіпокотилу у *Arabidopsis thaliana*, регуляція якого опосередкована через bHLH транскрипційний фактор PHOTOCROME-INTERACTING FACTOR 4 (PIF4) [4]. Автори показали, що локальні зміни ауксинового метаболізму мають тісний зв'язок з активністю фоторецептора UVR8 та фактора PIF4. Однак реакція рослин кукурудзи на хронічну дію низьких доз УФ-В за умов довгого дня залишається досі не з'ясованою.

Метою наших досліджень було вивчення адаптації молодих рослин кукурудзи до дії низької дози хронічного УФ-В опромінення у період їх активного росту і формування фотосинтетичного апарату листків.

Матеріали і методи

Рослини кукурудзи (*Zea mays* L.) гібриду Достаток 300 МВ селекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України вирощували в

умовах водної культури за температури 25⁰С, тривалості дня 16 і ночі 8 годин. У віці 7 діб рослини з двома розвиненими листками розділяли на контрольні і дослідні. Рослини контрольного варіанта захищали від проникнення променів УФ-В скляним екраном товщиною 5 мм. Дослідні рослини піддавали дії хронічного УФ-В опромінення дозою 2 кДж/м² на день потужністю 1 Вт/м², яке створювали за допомогою УФ-В ламп фірми Philips (Special fluorescent lamp). Виміри рослин і відбір проб для визначення вмісту фотосинтетичних пігментів і ендеогенного ПВ у листках проводили щодобово у один і той же час. Збільшення довжини та маси пагонів та коренів кукурудзи визначали як відношення їх величини у досліді до відповідних значень у контролі у відсотках. Визначення вмісту пігментів проводили за Ліхтенталером [8], ПВ за Чен та Као [9]. Кількість ПВ виражали у мікрограмах (мкг), а пігментів – у міліграмах (мг) на грам (г) маси. Результати оброблені статистично за допомогою програми Microsoft Excel. На графіках наведено середні арифметичні значення та величини дисперсії.

Результати та обговорення

Встановлено, що хронічне УФ-В опромінення листків молодих рослин кукурудзи у дозі 2 кДж/м² спричиняло незначне пригнічення їх лінійного росту на 1 та 3 добу досліді, після чого відбувалося поступове його відновлення до 10 доби і наступне зменшення до 12 доби порівняно з контролем (рис. 1а). Ріст кореня також інгібувався у першу добу дії УФ-В, але до 3 доби вирівнювався з контролем; на 10 добу знову відставав від контролю і перевищував його на 12 добу. Наростання маси пагонів кукурудзи за дії УФ-В протягом першої доби затримувалося порівняно з контролем на 20 %, але уже на 2 добу досягало його рівнів, знову знижувалося до 5 доби і на 9 добу прискорювалося порівняно з контролем (рис. 1б). Відставання накопичення маси кореня у першу добу дії УФ-В на рослини не перевищувало 10 %, але збільшувалося на 5 добу. Протягом 5 діб інгібування ростових процесів УФ-В променями поступово послаблювалося і змінювалося їх стимуляцією на 8–10 добу. На 12 добу досліді інтенсивність ростових процесів у пагонах падала, а у коренях зростала. Затримка росту пагонів за тривалої дії хронічного УФ-В опромінення призводила до їх активації у коренях.

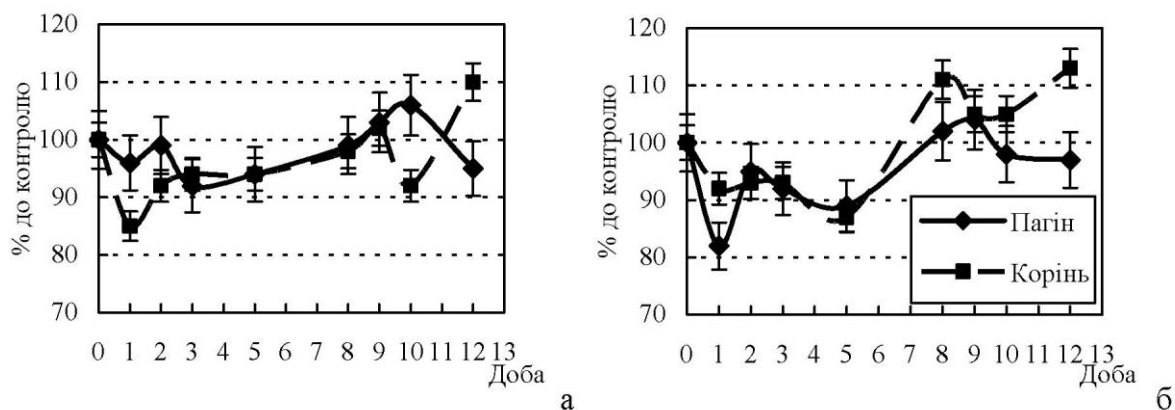


Рис. 1. Дія хронічного УФ-В опромінення на ріст рослин кукурудзи (а – довжина пагона та кореня, б – маса пагона та кореня).

Дослідження ендogenous вмісту ПВ, який є найбільш розповсюдженою формою АФК, у листках кукурудзи виявило, що дія хронічного УФ-В опромінення незначно підвищувала його у перші дві доби досліджу; у наступні

дві доби відбувалося зменшення кількості ПВ, але на 8 добу вона зростала у листках рослин дослідного варіанта і падала у контрольному, до 10 доби вирівнювалась в обох варіантах і зростала у контролі на 12 добу (рис. 2а).

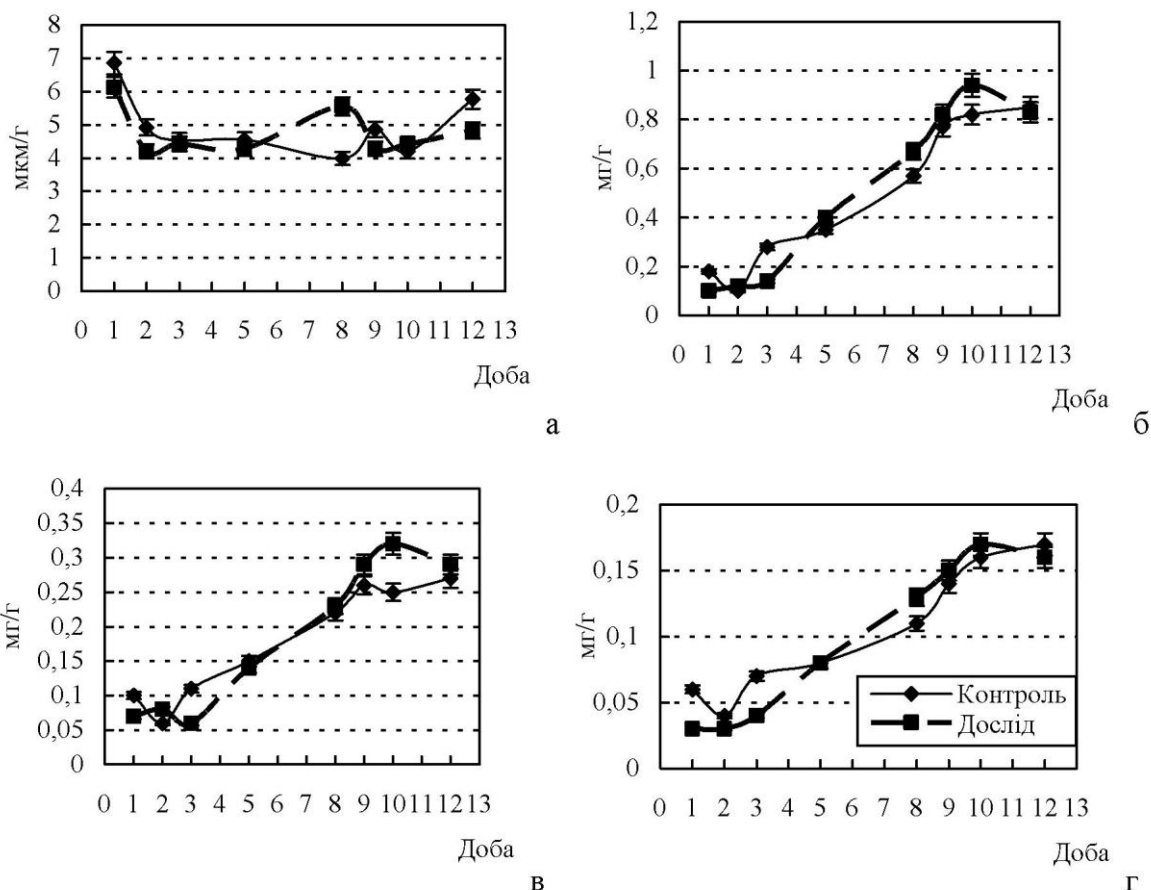


Рис. 2. Дія хронічного УФ-В опромінення на вміст ендogenous перекису водню (а), хлорофілів а і б (б, в) і каротиноїдів (г).

Вміст хлорофілу *a* у листках рослин контрольного і дослідного варіантів зростав протягом 10 діб досліду (рис. 2б). За дії хронічного УФ-В опромінення накопичення хлорофілу *a* у дослідних рослин відставало від контрольних на 1 та 3 добу; після 4 доби вміст хлорофілу *a* у листках дослідних рослин збільшувався швидше порівняно з контрольними. Протягом 10 діб досліду кількість хлорофілу *a* у листках кукурудзи зростає у п'ять разів і найзначніше у тих, які зазнавали дії хронічного УФ-В опромінення. На 12 добу вміст хлорофілу *a* у листках рослин контрольного та дослідного варіантів вирівнювався. Кількість хлорофілу *b* у листках кукурудзи також зростала протягом 10 діб у всіх рослин (рис. 2в). Накопичення хлорофілу *b* у листках контролю та досліду відбувалося паралельно з хлорофілом *a*. Найбільший вміст хлорофілу *b* виявлено на 10 добу у рослин дослідного варіанта, який також зменшувався до 12 доби і ставав близьким до такого у контрольному варіанті. Кількість каротиноїдів у листках кукурудзи збільшувалась одночасно з хлорофілом, а її зміни були аналогічними тим, які відзначали для хлорофілу *a* (рис. 2 г). Незначне відставання накопичення каротиноїдів у рослин дослідного варіанта протягом перших 5 діб змінювалося його прискоренням у наступні 5 діб дії УФ-В. Найвищий вміст каротиноїдів, як і хлорофілів, відзначено на 10 добу у листках рослин дослідного варіанта.

Таким чином, накопичення пігментів фотосинтетичного комплексу у листках кукурудзи відбувалося синхронно і зумовлювалася процесами диференціації і спеціалізації клітин листових пластинок. Максимальна кількість пігментів у листках співпадала з найзначнішим збільшенням їх розмірів. Ріст листових пластинок у дослідному варіанті відбувався до 10 доби дії хронічного опромінення УФ-В, після чого відзначена його суттєва затримка порівняно з контролем. Зменшення маси листків дослідного варіанта могло бути зумовлене реутилізацією речовин із перших листків, які завершували період свого функціонування під впливом УФ-В раніше порівняно з контрольними. Однак вміст пігментів у листках після 12 днів хронічного опромінення УФ-В залишався близьким до того, який знайдено у контролі, що дозволяє вважати відсутньою його деструктивну дію на фотосинтетичний апарат.

Отримані результати досліджень дії хронічного УФ-В опромінення у дозі, яка відповідає природному фоновому, на молоді рослини кукурудзи свідчать про те, що воно спричиняло тимчасове інгібування росту рослин, формування пігментного комплексу листків порівняно з рослинами, які були захищені від дії УФ-В радіації. У цей період відзначено підвищення ендогенного вмісту ПВ у листках кукурудзи за дії УФ-В, що було зумовлено посиленням його генерації у відповідь на стрес. Головними джерелами ПВ у клітинах листового мезофілу служать фотосинтетичний комплекс, цитоплазматичні оксидази, пероксидази клітинних стінок [10]. ПВ виконує важливі сигнальні функції, які полягають у його участі в регуляції активності каскаду мітогенактивних протеїніназ, Ca^{2+} -сигнальної системи, Ca^{2+} -каналів, рухів замикальних клітин продихів; взаємодіє з ліпідною сигнальною системою, що зумовлює його участь у регуляції росту [10, 11]. Періоди інгібування росту листків кукурудзи співпадали зі збільшенням вмісту ПВ, затримками у накопиченні пігментів, що свідчить про його вагому роль у формуванні відповіді на стресовий чинник середовища. Зростання вмісту ПВ у дослідному варіанті на 8 добу дії УФ-В порівняно з відповідними значеннями контролю відбувалось одночасно з компенсаторною стимуляцією ростових процесів після адаптації рослин. Найбільші кількості ПВ у листках виявлено на початку росту листків за найнижчого вмісту пігментів, що вказує на значний внесок у його генерацію цитоплазматичних джерел для забезпечення контролю за процесами поділу та диференціації клітин [10].

Адаптація рослин до дії хронічного УФ-В опромінення за умов довгого дня відбувалася протягом 5 діб, після чого відзначена стимуляція ростових процесів, яка супроводжувалася формуванням фотосинтетичного комплексу листових пластинок, що завершувалася протягом 10 діб. Виявлена нами на початку досліду за дії хронічного УФ-В опромінення затримка ростових процесів у кукурудзи могла бути зумовлена дефіцитом ауксину, що було показано іншими дослідниками на прикладі *Arabidopsis thaliana* [4]. Створення градієнта концентрації ауксину у клітині зумовлює її ріст після завершення поділу. Більш раннє завершення росту за дії УФ-В могло бути пов'язане також з негативним впли-

вом на поділ клітин в інтеркалярних меристемах листків на початку їх росту.

Отримані нами результати досліджень свідчать про те, що рослини кукурудзи гібриду Достаток 300 МВ, який був створений для вирощування у помірних широтах, чутливі до хронічного УФ-В опромінення у дозах, що відповідають природному фону, у період формування перших листків, але здатні адаптуватися до нього протягом кількох діб, створити функціональний фотосинтетичний апарат і відновити темпи росту. Таким чином, хронічне УФ-В опромінення за умов довгого дня не перешкоджало росту та розвитку рослин кукурудзи, не виявляло деструктивної дії, однак скорочувало тривалість росту листків порівняно з рослинами, які були захищені від його впливу.

Висновки

Встановлено, що дія хронічного УФ-В опромінення у дозі 2 кДж/м² на день в умовах довгого дня спричиняла тимчасове інгібування

росту листків у молодих рослин кукурудзи, синтезу фотосинтетичних пігментів та підвищення вмісту ПВ у них, після чого відбувалося відновлення ростових процесів і пігментного комплексу до рівня неопромінених рослин із перевищенням його, що свідчить про індукцію адаптивних реакцій у молодих рослин кукурудзи. Завершення адаптації відзначалося компенсаторною стимуляцією росту і накопиченням пігментів фотосинтетичного комплексу. Отримані результати свідчать, що природні для помірних широт дози хронічного УФ-В випромінювання не призводять до незворотних пошкоджень у молодих рослин кукурудзи, здатні викликати стимуляцію ростових процесів. Виведений для умов України гібрид кукурудзи Достаток 300 МВ характеризувався високою адаптивністю до хронічної дії природних для помірних широт доз УФ-В випромінювання, що дозволяє рослинам реалізувати потенційну продуктивність протягом вегетаційного періоду.

Література

1. Jansen M.A.K., Hectors K., O'Brien N.M., Guisez Y., Pottersd G. Plant stress and human health: Do human consumers benefit from UV-B acclimated crops? *Plant Sci.* 2008. Vol. 178. P. 449–458. doi: 10.1016/j.plantsci.2008.04.010.
2. Kakani V.G., Reddy K.R., Zhao D., Sailaja K. Field 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.
3. Jenkins G.J. Signal transduction in responses to UV-B radiation. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2009. Vol. 60. P. 407–431. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092953.
4. 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.
5. Міхеєв О.М., Жук В.В., Овсяннікова Л.Г., Гродзинський Д.М. Гормезисний вплив УФ-С опромінення на пігментний комплекс і антиоксидантні ферменти клітин листків *Pisum sativum* L. *Доповіди НАН України.* 2016. № 11. С. 99–103. doi: 10.15407/dopovidi2016.11.099.
6. Жук В.В., Міхеєв О.М., Овсяннікова Л.Г. Фотоморфогенетична відповідь рослин гороху (*Pisum sativum* L.) на дію ультрафіолетової радіації. *Фактори експериментальної еволюції.* 2017. Т. 20. С. 179–183.
7. Жук В.В., Міхеєв О.М., Овсяннікова Л.Г. Розвиток гороху після дії УФ-В опромінення. *Modern Phytomorphology.* 2017. Vol. 11. P. 111–116. doi: 10.5281/zenodo.1050465.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Neil S., Desican R., Hancock J. Hydrogen peroxide signaling. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2002. Vol. 5. P. 388–395.

References

1. Jansen M.A.K., Hectors K., O'Brien N.M., Guisez Y., Pottersd G. Plant stress and human health: Do human consumers benefit from UV-B acclimated crops? *Plant Sci.* 2008. Vol. 178. P. 449–458. doi: 10.1016/j.plantsci.2008.04.010.
2. Kakani V.G., Reddy K.R., Zhao D., Sailaja K. Field 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.
3. Jenkins G.J. Signal transduction in responses to UV-B radiation. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2009. Vol. 60. P. 407–431. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092953.
4. 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.
5. Mikhayeyev A.N., Zhuk V.V., Ovsyannikova L.G., Grodzinsky D.M. Hormesys effect of UV-C irradiation on pigment complex and antioxidant enzymes of leaves cells *Pisum sativum* L. *Reports of NAS of Ukraine.* 2016. № 11: P. 99–103. doi: 10.15407/dopovidi2016.11.099. (In Ukrainian).

6. Zhuk V.V., Mikhteyev A.N., Ovsyannikova L.G. The photomorphogenetic reaction of pea plants (*Pisum sativum* L.) on ultra-violet irradiation effect. *Factors in experimental evolution of organisms*. 2017. Vol. 20. P. 179–183. (In Ukrainian).
7. 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).
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Neil S., Desican R., Hancock J. Hydrogen peroxide signaling. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2002. Vol. 5. P. 388–395.

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

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

ADAPTATION OF CORN PLANTS TO CHRONIC ULTRAVIOLET IRRADIATION

Aim. The adaptation of young corn plants (*Zea mays* L.) to the effect of chronic ultraviolet B (UV-B) irradiation during vegetative growth and formation of photosynthetic apparatus of leaves was studied. **Methods.** Corn plants hybrid Dostatok 300 MB in the phase of two developed leaves was irradiated with UV-B in dose of 2 kJ/m² per day with a power of 1 W/m² in long day conditions during 12 days. During this period, the growth of plants was measured, content of photosynthetic pigments and endogenous hydrogen peroxide (HP) was determined in the leaves. **Results.** It was established that the effect of chronic UV-B irradiation caused the temporary inhibition of leaf growth, synthesis of photosynthetic pigments and increasing of HP content in them. Then the growth processes and pigment complex recovered to the level of no irradiated plants and exceed it, indicating the induction of adaptive reactions in young corn plants. **Conclusions.** It was shown that the effect of a low dose of chronic UV-B irradiation caused a delay in growth processes and the formation of a photosynthetic complex with subsequent adaptation to stress in young corn plants.

Keywords: UV-B irradiation, *Zea mays* L., photosynthetic pigments, adaptation.