

УДК 547.312.2:582.542.11.+582.736.3:57.033

ОСОБЛИВОСТІ ПРОДУКУВАННЯ ЕТИЛЕНУ ПРОРОСТКАМИ *PHASEOLUS VULGARIS* L. ТА *ZEA MAYS* L. ЗА ДІЇ АБІОТИЧНИХ СТРЕСОВИХ ЧИННИКІВ

І.В. РАСЕВИЧ¹, І.В. КОСАКІВСЬКА²

¹Черкаська державна сільськогосподарська дослідна станція Національного наукового центру «Інститут землеробства Національної академії аграрних наук України»

20731 Черкаська обл., Смілянський р-н, с. Холоднянське, вул. Докучаєва, 13

²Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної академії наук України
01601 Київ, вул. Терещенківська, 2

e-mail: phytohormonology@ukr.net

Методом газової хроматографії досліджено особливості продукування етилену проростками квасолі (*Phaseolus vulgaris* L.) сорту Білозерна і гібрида кукурудзи (*Zea mays* L.) Буковинський Т11 за дії абіотичних стресових чинників: короткочасних теплового й холодного, тривалого сольового та комбінованих стресів. Виявлено неспецифічні (спільні для всіх стресорів і досліджуваних видів) і специфічні (притаманні окремому виду рослини й стресора) особливості продукування етилену проростками *Phaseolus vulgaris* L., *Zea mays* L. на ранніх етапах вегетації. Інтенсивність продукування етилену за впливу абіотичних стресорів змінювалась у такій послідовності: тривалий сольовий стрес > короткочасний тепловий стрес > короткочасний холодний стрес > сольовий стрес + тепловий стрес > сольовий стрес + холодний стрес > контроль. Отримані результати свідчать, що в проростках однодольних рослин *Zea mays* L. порівняно з дводольними рослинами *Phaseolus vulgaris* L. етилен продукується активніше як за контрольних, так і за стресових умов.

Ключові слова: *Phaseolus vulgaris* L., *Zea mays* L., етилен, абіотичні стреси.

Етилен (C₂H₄) — газоподібний фітогормон, задіяний у регуляції багатьох процесів — від росту і розвитку до старіння рослин [25]. Збільшення вмісту етилену вважають одним із складників реакції рослин на механічні пошкодження, зміну температурного режиму, ураження патогенними грибами й мікроорганізмами, дію водного дефіциту, хімічних агентів, гіпоксію, затоплення тощо [5, 17]. Різноманітність чинників, що призводять до посилення синтезу етилену в рослинних тканинах, дає підставу стверджувати, що така реакція на стресові впливи неспецифічна й універсальна [23]. Відомо, що за стресових впливів посилюється продукування активних форм кисню (АФК), які слугують тригером для запуску каскаду захисних реакцій [4, 9, 26]. Етилен утворюється на тлі генерування АФК [29, 31]. Інтенсифікація виділення цього фітогормону свідчить про перехід клітини у стресовий стан [1, 15, 24].

Для вивчення віддалених наслідків впливу стресорів досліджують переважно дорослі рослини, хоча в природних умовах стресори особливо згубні для рослин саме на стадії проростків [21]. У попередніх наших роботах з вивчення реакції протеомів одно- (*Zea mays* L.) і дводольних

(*Phaseolus vulgaris* L.) рослин на дію абіотичних стресорів було виявлено неспецифічні й специфічні зміни у спектрі білків теплового шоку, які залежали від виду стресу й органа проростка [7, 11].

Метою цієї роботи було дослідження впливу абіотичних стресових чинників на продукування етилену у першу фазу стресу (тривоги) й після пролонгованого стресу етіюльованими проростками кукурудзи і квасолі та виявлення специфічних реакцій, характерних для раннього етапу вегетативного розвитку.

Методика

Дослідження проводили з етіюльованими проростками низькорослої спаржевої квасолі сорту Білозерна та холодостійкого гібрида кукурудзи Буковинський Т11. Відкаліброване за розміром і масою насіння після стерилізації етанолом замочували на 3 год у воді, після чого для створення умов сольового стресу викладали його на фільтрувальний папір, оброблений 100 мМ розчином NaCl, і пророщували за температури +26 °С у темряві в повітряному термостаті впродовж 72 год. Водночас рослини контрольного варіанта пророщували на фільтрувальному папері, зволоженому дистильованою водою. Для створення температурних стресів частину контрольних і частину 72-годинних проростків квасолі й кукурудзи, пророщених за умов сольового стресу, витримували за температури +40 °С впродовж 2 год у повітряному термостаті (тепловий стрес) і за +2 °С впродовж 2 год у холодильній камері (холодовий стрес).

Для визначення інтенсивності виділення етилену проростки переносили у скляні флакони об'ємом 5 мл, які відразу ж герметично закривали й експонували в темряві за кімнатної температури впродовж 5 год. Після інкубації газову суміш, яка містила етилен, аналізували на газовому хроматографі Chromatograf-504 (Mera Elwgo, ПНР) із полуменевоіонізаційним детектором. Гази розділяли на колонці (0,40 × 130 см) з Rogarac N (Alltech, США) за температури +80 °С. Як газ-носії використовували азот (50 мл за 1 хв). Кількість утвореного етилену в досліджуваному зразку визначали в нанолітрах на 1 г сирової речовини й порівнювали із сертифікованим стандартом етилену (Fluka, США), концентрація якого становила 10 мкл/л (10 нл/мл) [19]. Досліди виконували в трьох біологічних і десяти аналітичних повтореннях. Результати оброблено статистично за методом Стьюдента. Статистично вірогідною вважали різницю за $p \leq 0,05$.

Результати та обговорення

Ми встановили, що в контрольних умовах 72-годинні проростки квасолі й кукурудзи інтенсивно продукували етилен, що пояснюється участю цього фітогормону в активуванні процесу проростання насіння [20]. Проростки однодольних рослин кукурудзи активніше продукували етилен, ніж проростки дводольних рослин квасолі. Після дії абіотичних стресорів продукування етилену проростками досліджуваних рослин посилювалось (рис. 1).

Разом із неспецифічним характером реакції на стресовий вплив виявлено окремі специфічні ознаки. Найбільше зростання продукування етилену було зафіксовано за тривалого сольового стресу: у кукурудзи — на 42 %, у квасолі — на 41 % (див. рис. 1). Відомо, що засолення ґрунтів розглядають як одну з головних проблем у світовому аграрному виробництві, що призводить до значних втрат урожаю насамперед через

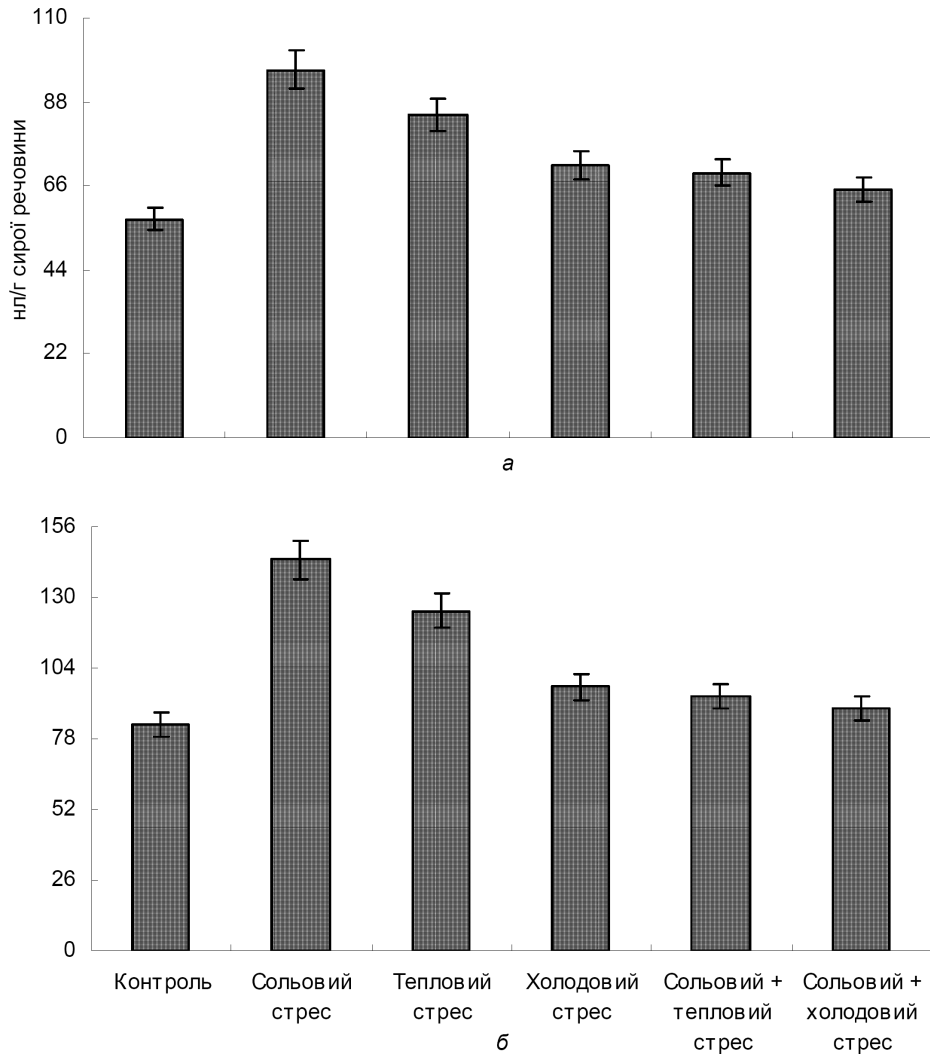


Рис. 1. Інтенсивність продукування етилену проростками *Phaseolus vulgaris* L. (а) та *Zea mays* L. (б) за умов впливу абіотичних стресорів

пригнічення росту рослин [18]. Зміна ростових процесів координується фітогормональною системою, що є важливою ланкою адаптаційних перетворень [22]. Етилен відіграє істотну роль у регуляції росту і стійкості рослин [29]. На думку більшості вчених, етилен є інгібітором росту рослин [13]. Водночас доведено, що за певних обставин етилен стимулює ріст [25], зокрема при затіненні й затопленні він підтримує ріст стебла [24]. За низької концентрації етилену активно ростуть корені [16]. Різну спрямованість дії етилену пояснюють його взаємодію з іншими фітогормонами [28]. Так, за сумісної дії з АБК, антагоністом якої він є, етилен сприяє відкриванню продихів, тоді як за дії окремо — провокує їх закриття [30].

На рис. 2 наведено дані щодо зміни біометричних показників росту зародкової осі у 72-годинних проростків квасолі й кукурудзи за дії сольового стресу. Встановлено, що пролонгований сольовий стрес значно пригнічував ріст обох видів рослин. Так, довжина зародкової осі проростків квасолі зменшувалась на 45 %, кукурудзи — на 50 %. Водночас зменшувалась маса сырої речовини проростків квасолі на 23 %, кукурудзи — на 29 %.

Ростові процеси пригнічувались на фоні значного зростання продукування етилену (див. рис. 1).

Отже, виявлене за тривалого сольового стресу зростання етиленпродукувальної активності корелювало з пригніченням ростових процесів після проростання насіння на ранніх етапах вегетації. Виразніші зміни помічено для проростків однодольних рослин кукурудзи.

Високі й низькі температури є одним із абіотичних стресових чинників, які впливають на ріст і розвиток рослин, їх продуктивність. Оскільки в рослин відсутні теплоутримувальні механізми, вони постійно пристосовуються до коливань температури середовища. Однією з найчутливіших ланок є фітогормони. За умов впливу короткочасного теплового стресу ми встановили істотне підвищення продукування

етилену у проростків як квасолі (на 33 %), так і кукурудзи (на 34 %). Інтенсивність продукування етилену зростала й після дії короткочасного холодого стресу, проте менше порівняно з реакцією на дію високої температури і становила для проростків квасолі 20 %, кукурудзи — 15 % (див. рис. 1). Природний ареал *Phaseolus vulgaris* має вузький екологічний діапазон за чинником температури, ніж *Zea mays* [3]. Отримані нами результати щодо інтенсивнішого продукування етилену в контрольних умовах і після дії температурних стресів проростками кукурудзи порівняно з проростками квасолі узгоджуються з температурними характеристиками зон природного походження досліджуваних видів. Раніше ми встановили, що після дії короткочасних температурних стресів вміст розчинного білка в 72-годинних етіюльованих проростках квасолі і кукурудзи зменшувався, причому реакція на тепловий стрес була сильнішою порівняно з реакцією на холододовий, а проростки квасолі активніше реагували на дію високої температури [8]. Отже, реакція тривоги, яка спостерігалась відразу після припинення короткочасного температурного стресу, характеризувалась активним продукуванням етилену, причому в холодостійкого сорту кукурудзи у відповідь на холододовий стрес реакція була менш виразною порівняно з реакцією на тепловий стрес і з відповіддю на температурні стреси етіюльованих проростків квасолі. Загалом зміни етиленпродукувальної активності і вмісту розчинних білків, зафіксовані нами після дії нетривалих температурних стресів, виявились односпрямованими.

За комбінованої дії стресів (тривалий сольовий та короткочасні тепловий або холододовий стреси) інтенсивність продукування етилену також

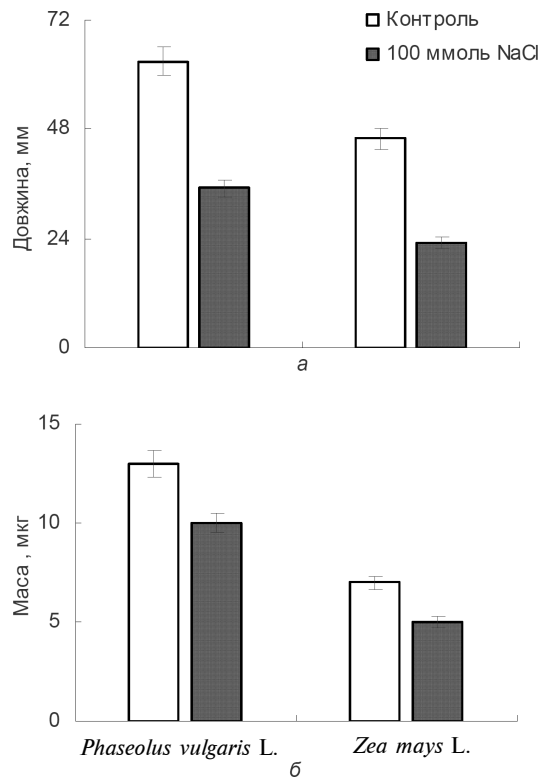


Рис. 2. Вплив пролонгованого сольового стресу на довжину (а) і масу сирової речовини (б) зародкових осей 72-годинних проростків *Phaseolus vulgaris* L., *Zea mays* L.

збільшувалась, проте кількість виділеного фітогормону була меншою, ніж за впливу одного зі стресорів (див. рис. 1). У цілому інтенсивність продукування етилену під впливом абіотичних стресорів вибудовувалась у такій послідовності: тривалий сольовий стрес > короткочасний тепловий стрес > короткочасний холодний стрес > сольовий стрес + тепловий стрес > сольовий стрес + холодний стрес > контроль.

Відомо, що інтенсивність продукування етилену за несприятливих умов зростає на початковому етапі впливу стресора задовго до виявлення зовнішніх ознак ушкодження [2, 6, 14]. За стресових умов відбувається експресія генів, які кодують синтез АЦК-синтази — ключового ферменту біосинтезу етилену, в результаті чого збільшується його продукція [27, 31]. У свою чергу етилен бере участь у трансдукції стресового сигналу, який ініціює формування загальних і спеціалізованих адаптаційних механізмів рослин [9]. Встановлено, що одним із найраніших ефектів за умов впливу різних стресорів є окиснювальний стрес, зумовлений накопиченням АФК [5, 10]. Зростання етиленпродукувальної активності під час стресу пов'язують саме зі збільшенням концентрації АФК [17, 26]. У попередніх дослідженнях ми встановили, що нетривалі температурні стреси спричинювали зростання вмісту пероксиду водню в 7-добових проростках *Amaranthus caudatus* L., причому реакція на тепловий стрес була значно виразнішою порівняно з відповіддю на холодний стрес [8]. Оскільки АФК є компонентом системи неспецифічного реагування рослинних клітин на стреси, логічно припустити, що виявлене нами активне продукування етилену етіюльованими проростками кукурудзи й квасолі після дії абіотичних стресорів пов'язане з утворенням продуктів окиснювального стресу й разом із ними утворює один із ланцюгів адаптаційного синдрому.

Отже, в результаті вивчення впливу абіотичних стресорів на особливості продукування етилену проростками квасолі й кукурудзи на ранніх етапах вегетації виявлено неспецифічні (спільні для всіх стресорів і досліджуваних видів) і специфічні (притаманні окремому виду рослин і стресора) характеристики. Доведено, що інтенсивність виділення етилену проростками квасолі й кукурудзи посилюється за впливу всіх досліджуваних стресорів, що підтверджує не лише активування захисних механізмів рослин, а й безпосередню участь етилену в індукованих стресорами реакціях. У проростках однодольних рослин кукурудзи порівняно з дводольними рослинами квасолі етилен продукувався активніше як у контрольних, так і стресових умовах, а найвиразнішою була реакція на пролонгований сольовий стрес. Водночас у фазу реакції тривоги рослин на дію короткочасного теплового стресу етилен продукувався активніше, ніж за холодного стресу.

Автори щиро вдячні канд. біол. наук, старшому науковому співробітнику відділу симбіотичної азотфіксації Інституту фізіології рослин і генетики НАН України П.М. Маменку за допомогу в проведенні досліджень.

1. Борисова Т.А., Бугадже С.М., Ракитин В.Ю. и др. Тепловой стресс повышает устойчивость растений к УФ-Б облучению. 2. Выделение этилена и CO_2 // Физиология растений. — 2001. — 48, № 5. — С. 733—738.
2. Васинская А.Н., Коробова А.В. Влияние этилена на рост побегов и корней, соотношение их биомассы и содержание цитокининов в растениях арабидопсиса // Агробиология. — 2012. — № 5. — С. 16—20.
3. Доброчаева Д.Н., Котов М.И., Прокудин Ю.Н. и др. Определитель высших растений Украины. — Киев: Наук. думка, 1978. — 548 с.

4. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Активные формы кислорода при адаптации растений к стрессовым температурам // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — **41**, № 2. — С. 95—108.
5. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессов. — Киев: Основа, 2010. — 352 с.
6. Колупаев Ю.Е., Косаківська І.В. Роль сигнальных систем і фітогормонів у реалізації стресових реакцій рослин // Укр. ботан. журн. — 2008. — **65**, № 3. — С. 418—430.
7. Косаківська І.В., Голов'янюк І.В. Вплив температурних стресів на вміст та електрофоретичний спектр білків різних органів *Phaseolus vulgaris* L. і *Zea mays* L. на ранніх етапах вегетативного розвитку // Вісн. Харків. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2007. — Вип. 2 (11). — С. 58—63.
8. Косаківська І.В., Негрецький В.А., Пушкарєв В.М. та ін. Вплив короточасних температурних стресів на синтез білка теплового шоку 70 кДа й утворення пероксиду водню в проростках *Amaranthus caudatus* L. // Укр. ботан. журн. — 2013. — **70**, № 4. — С. 552—556.
9. Креславский В.Д., Карпентьер Р., Климов В.В. и др. Молекулярные механизмы устойчивости фотосинтетического аппарата к стрессу // Биол. мембраны. — 2007. — **24**, № 3. — С. 195—217.
10. Креславский В.Д., Лось Д.А., Аллавердиев С.И., Кузнецов В.В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. — 2012. — **9**, № 2. — С. 163—178.
11. Расевич І.В. Вплив температурних стресів на білки різних органів проростків *Zea mays* L. на ранніх етапах вегетативного розвитку // Вісн. Київ. нац. ун-ту імені Тараса Шевченка: Інтродукція та збереження рослинного різноманіття. — 2013. — № 31. — С. 52—56.
12. Царенко О.М., Злобін Ю.А., Скляр В.Г., Панченко С.М. Комп'ютерні методи в сільському господарстві та біології: Навч. посіб. — Суми: Університет. книга, 2000. — 203 с.
13. Achard P., Vriegen W., van der Straeten D., Harberd N. Ethylene regulates Arabidopsis development via the modulation of DELLA protein growth repressor function // Plant Cell. — 2003. — **15**. — P. 2816—2825.
14. Cheng M.-C., Liao P.-M., Kuo W.-W., Lin T.-P. The Arabidopsis ethylene response factor1 regulates abiotic stress-responsive gene expression by binding to different cis-acting elements in response to different stress signals // Plant Physiol. — 2013. — **162**, N 3. — P. 1566—1582.
15. Chow B., McCourt P. Hormone signalling from developmental context // J. Exp. Biol. — 2004. — **55**. — P. 247—251.
16. Dodd I., Beveridge C. Xylem-borne cytokinins: Still in search a role? Opinion // J. Exp. Bot. — 2006. — **57**. — P. 1—4.
17. Gamalero E., Glick B.R. Ethylene and abiotic stress tolerance in plants // Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change.— New York: Springer, 2012. — P. 395—412.
18. Gupta B., Huang B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization // Int. J. Genomics. — 2014. — 18 p.
19. Guzman P., Ecker J. Exploiting the triple response of *Arabidopsis* to identify ethylene-related mutants // Plant Cell. — 1990. — **2**, N 2. — P. 513—523.
20. Hall M., Mur L., Smith A. et al. Ethylene signal perception and transduction: Multiple paradigms? // Biol. Rev. — 2001. — **1**. — P. 103—128.
21. Hasanussaman M., Nahar K., Mahabub Alam et al. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants // J. Mol. Sci. — 2013. — **14**(5). — P. 9643—9684.
22. Jackson R.B., Luo Y.Z., Cardon Z.G. et al. Photosynthesis, growth and density for the dominant species in a CO₂-enriched grassland // J. Biogeography. — 1995. — **22**. — P. 221—225.
23. Khan A.N., Kgan M.I.R. The ethylene: from senescence hormone to key player in plant metabolism // J. Plant Biochem. Physiol. — 2014. — **2**, N 2. — P. 245—247.
24. Pierik R., Sasidharan R., Voeselek L. Growth control by ethylene: Adjusting phenotypes to the environment // J. Plant Growth Regul. — 2007. — **26**. — P. 188—200.
25. Pierik R., Tholen D., Poorter H. et al. The Janus face of ethylene: Growth inhibition and stimulation // Trends Plant Sci. — 2006. — **11**. — P. 178—182.
26. Roy S.J., Negrao S., Tester M. Salt resistant crop plants // Curr. Opin. Biotechnol. — 2014. — **26**. — P. 115—124.
27. Sharma P., Jha A.B., Dubey R.S., Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions // J. Bot. — 2012. — **1**. — P. 26—35.
28. Vandebussche F., van der Straeten D. One for all for one: Cross-talk of multiple signals controlling the plant phenotype // J. Plant Growth Regul. — 2007. — **26**. — P. 178—187.

29. Wang K.L.-C., Li H., Ecker J.R. Ethylene biosynthesis and signaling networks // *Plant Cell*. — 2002. — **14**, N 1. — P. 131–151.
30. Wilkinson S., Davies W. Ozone suppresses soil drying- and abscisic acid (ABA)-induced stomatal closure via an ethylene-dependent mechanism // *Plant Cell Environ.* — 2009. — **32**. — P. 949–959.
31. Yamori W., Hikosaka K., Way D.A. Temperature response of photosynthesis in C₃, C₄ and CAM plants: temperature acclimation and temperature adaptation // *Photosynth. Res.* — 2013. — **4**. — P. 1–17.

Отримано 23.06.2015

ОСОБЕННОСТИ ПРОДУЦИРОВАНИЯ ЭТИЛЕНА ПРОРОСТКАМИ *PHASEOLUS VULGARIS* L. И *ZEA MAYS* L. ПРИ ДЕЙСТВИИ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

И.В. Расевич¹, И.В. Косаковская²

¹Черкасская государственная сельскохозяйственная исследовательская станция Национального научного центра «Институт земледелия Национальной академии аграрных наук Украины», с. Холоднянское

²Институт ботаники им. Н.Г. Холодного Национальной академии наук Украины, Киев

Методом газовой хроматографии исследованы особенности продуцирования этилена проростками фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) сорта Белозерная и гибрида кукурузы (*Zea mays* L.) Буковинский Т11 при действии абиотических стрессовых факторов: кратковременных теплового и холодного, продолжительного солевого и комбинированных стрессов. Выявлены неспецифические (общие для всех стрессоров и исследуемых видов) и специфические (присущие отдельному виду растения и стрессора) особенности продуцирования этилена проростками *Phaseolus vulgaris* L., *Zea mays* L. на ранних этапах вегетации. Интенсивность продуцирования этилена под влиянием абиотических стрессоров изменялась в следующей последовательности: продолжительный солевой стресс > кратковременный тепловой стресс > кратковременный холодный стресс > солевой стресс + тепловой стресс > солевой стресс + холодный стресс > контроль. Полученные результаты свидетельствуют, что у проростков однодольных растений *Zea mays* L. по сравнению с двудольными растениями *Phaseolus vulgaris* L. этилен продуцируется более активно как в контрольных, так и стрессовых условиях.

PECULIARITIES OF ETHYLENE PRODUCTION BY *PHASEOLUS VULGARIS* L. AND *ZEA MAYS* L. SEEDLINGS UNDER ABIOTIC STRESSES

I.V. Rasevich¹, I.V. Kosakivska²

¹Cherkassy State Agricultural Research Station of the National Scientific Center Institute of Agriculture, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

13 Dokuchaieva St., v. Holodnyanske, Smila district, Cherkassy region, 20731, Ukraine

²M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine

2 Tereshchenkivska St., Kyiv, 01661, Ukraine

By gas chromatography method the peculiarities of ethylene production by *Phaseolus vulgaris* L. and *Zea mays* L. seedlings under abiotic stresses: short-term heat and cold, prolonged salt and the combined action of both types of stress have been studied. The level of ethylene production depended on kind of stress and was characterized by next arrangement: prolong salt stress > short-time heat stress > short-time cold stress > salt stress + heat stress > salt stress + cold stress > control. The unspecific (common to all kinds of stressors and plant species) and specific (inherent to plant species and kind of stress) peculiarities in ethylene production by *Phaseolus vulgaris* and *Zea mays* seedlings in the early stages of growth were revealed. It was shown that seedlings of monocot *Zea mays* compared to dicot *Phaseolus vulgaris* produced ethylene more actively in both control and stressful conditions.

Key words: *Phaseolus vulgaris* L., *Zea mays* L., ethylene, abiotic stress.