

**ЖУК І.В.**, ШИЛІНА Ю.В., ДМИТРИЄВ О.П.

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України,

Україна, 03143, м. Київ вул. Акад. Заболотного, 148, ORCID: 0000-0002-2496-2576

✉ [ivzhukvi@gmail.com](mailto:ivzhukvi@gmail.com)

## ДІЯ БІОТИЧНОГО ЕЛІСИТОРА ТА ДОНОРА NO У КОМПЛЕКСНОМУ ЗАХИСТІ РОСЛИН ПШЕНИЦІ ВІД ГІПОКСІЇ ТА ПОРАНЕННЯ

**Мета.** Метою роботи було дослідження індукції неспецифічної стійкості *Triticum aestivum* L. з використанням біотичного елісатора ферулової кислоти та донора сигнальної молекули оксиду азоту до гіпоксії та раневого стресу. **Методи.** Рослини пшениці озимої сорту Кесарія Поліська вирощували в лабораторних умовах й обробляли розчином ферулової кислоти та нітропрусидом натрію (НПН), після чого наносили поранення чи створювали умови затоплення. Вимірювали вміст ендogenous пероксиду водню в листках протягом дослідження. **Результати.** З'ясовано, що за механічного пошкодження листків вплив донора оксиду азоту зумовлював наближення значення вмісту ендogenous пероксиду водню до рівня неушкодженого контролю. Після двох діб, коли в затоплених рослинах без впливу біотичного елісатора відбувалося зниження вмісту ендogenous пероксиду водню до трьох разів (порівняно з контролем), оброблені феруловою кислотою та затоплені рослини зменшували пул ендogenous пероксиду водню лише на 15 %. Встановлено, що за гіпоксії, спричиненої затопленням, рівень пероксиду водню за впливу донора оксиду азоту нітропрусиду натрію у першу годину був на рівні рослин, оброблених донором оксиду азоту, але без стресу. В подальшому обробка нітропрусидом натрію знижувала до третьої доби рівень пероксиду водню. **Висновки.** Ферулова кислота як біотичний елісатор, та донор оксиду азоту нітропрусид натрію є перспективними компонентами комплексного захисту за гіпоксії та поранень рослин пшениці.

**Ключові слова:** *Triticum aestivum* L., ферулова кислота, пероксид водню, гіпоксія, раневий стрес, NO.

Перспективність біотичних елісаторів як екологічно безпечних засобів захисту від фітопатогенів для рослинних біотехнологій та сільськогосподарської продукції зростає, сприяє цьому й підвищення їх ефективності за комбі-

нованого застосування з донорами сигнальних молекул.

Нашими попередніми дослідженнями доведено, що органічні кислоти є ефективними біотичними елісаторами в стимуляції неспецифічного захисту пшениці до грибних фітопатогенів (*S. tritici*, *P. recondite*, *E. graminis*, *Alternaria* sp.) в польових умовах [1–7]. Встановлено зменшення ступеня ураження листків і як наслідок – збільшення врожайності. З'ясовано, що зміни пулу ендogenous пероксиду водню в листках пшениці протягом вегетаційного періоду також є інформативним показником та критерієм для оцінки активності антиоксидантної системи рослин у ході формування неспецифічної стійкості до фітопатогенів [6; 7].

Однак сигнальні каскади адаптивних реакцій, індуковані біотичними елісаторами, можуть перетинатися з активацією стійкості рослин і до абіотичних стресових чинників середовища. Перебіг біотичного стресу також передбачає етапи, коли проникнення й розвиток фітопатогена може супроводжуватися механічними пошкодженням і пораненням для рослинних тканин та гіпоксією, яка характерна для затоплення рослин. Проте вплив біотичних елісаторів не лише під час зараження патогенами, а й у процесі супутніх стресів, зокрема таких, як пошкодження внаслідок атаки шкідниками чи гіпоксії, що розвивається за таких сприятливих для збудників грибних захворювань обставин, як тривалі та інтенсивні опади, залишається мало вивченим, незважаючи на актуальність.

Тому метою нашої роботи було дослідити вплив ферулової кислоти як біотичного елісатора та донора оксиду азоту (нітропрусиду натрію) за дії гіпоксії та раневого стресу в лабораторних умовах у процесі формування комплексної стійкості пшениці.

### Матеріали і методи

Рослини пшениці озимої сорту Кесарія Поліська пророщували у водній культурі й у

© **ЖУК І.В., ШИЛІНА Ю.В., ДМИТРИЄВ О.П.**

фазі двох листків обробляли розчином ферулової (0,5 мМ) кислоти та нітропрусидом натрію (НПН) (0,1 мМ), після чого наносили поранення чи переміщували у посудини, де відбувалося затоплення. Поранення робили шляхом стискання листків пластиком. Пошкодження листків мало візуальні прояви. Для гіпоксії (затоплення) рослини поміщали у скляні посудини, де рівень води тримали підвищеним до кінця досліду. Вимірювали вміст ендogenous пероксиду водню в листках із застосуванням сульфатно-титанового методу [8].

### Результати та обговорення

З'ясовано, що у першу годину в умовах затоплення у листках оброблених феруловою кислотою рослин зростає вміст ендogenous пероксиду водню, однак протягом наступної доби цей показник стабілізувався на рівні контролю (рис. 1).

Після двох діб, коли в затоплених рослин без обробки біотичним еліситором відбувалося зниження вмісту ендogenous пероксиду водню до трьох разів від контролю, оброблені феруловою кислотою рослини за умов затоплення зме-

ншували пул ендogenous пероксиду водню лише на 15 %.

Після поранення вміст пероксиду водню в листках зростає (рис. 2).

У першу годину після поранення у сорту пшениці озимої Кесарія Поліська суттєво знижувався вміст ендogenous пероксиду водню, проте у випадку обробки феруловою кислотою з наступним впливом раневого стресу він залишався на рівні контролю. Після двох діб із моменту поранення у варіанті, обробленому феруловою кислотою, було виявлено значне зростання пулу пероксиду водню. Встановлено, що й через 5 діб після поранення вплив обробки феруловою кислотою стабілізував вміст пероксиду водню на рівні, наближеному до контрольного. Ймовірно, саме це зумовило компенсацію стресового впливу, що дало рослинам можливість більш ефективного відновлення.

Доведено, що за гіпоксії, спричиненої затопленням рослин, рівень пероксиду водню (за умови обробки донором оксиду азоту нітропрусидом натрію) у першу годину був на рівні рослин, оброблених донором оксиду азоту, але без стресу (рис. 3). Надалі рівень пероксиду водню в оброблених нітропрусидом натрію рослинах знижувався до третьої доби.

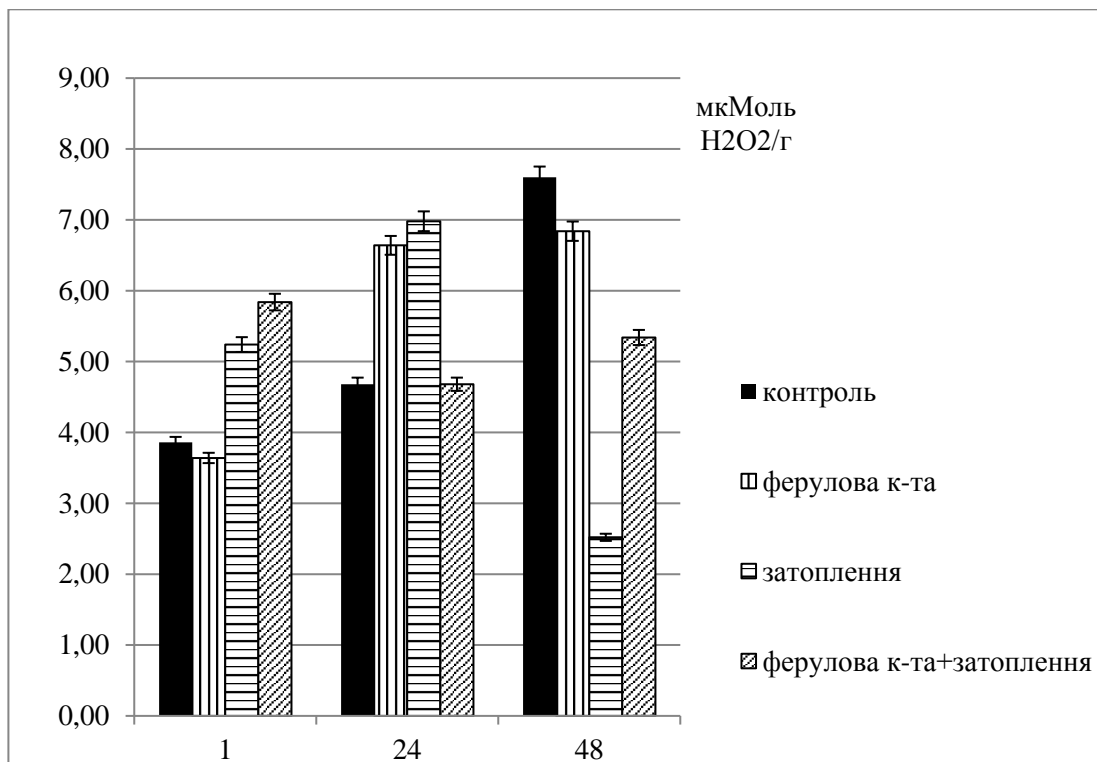


Рис. 1. Вплив ферулової кислоти та затоплення (гіпоксії) на вміст пероксиду водню у сорту Кесарія Поліська.

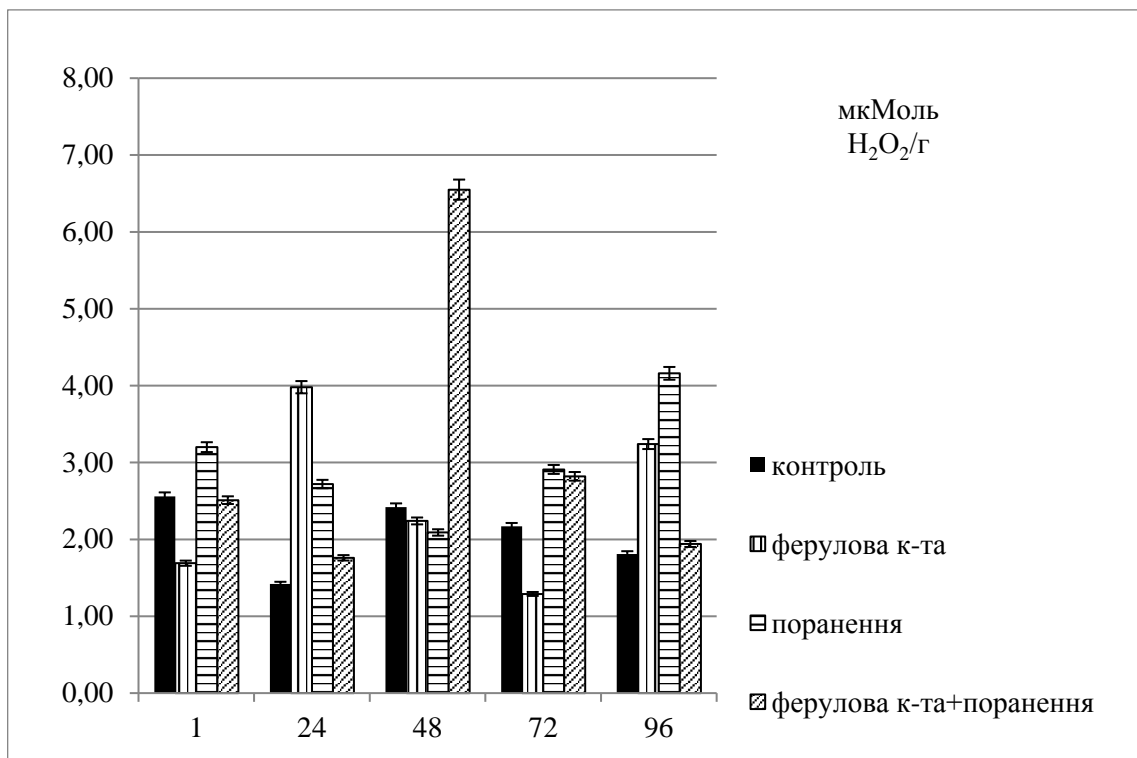


Рис. 2. Вплив ферулової кислоти та поранення на вміст пероксиду водню у сорту Кесарія Поліська.

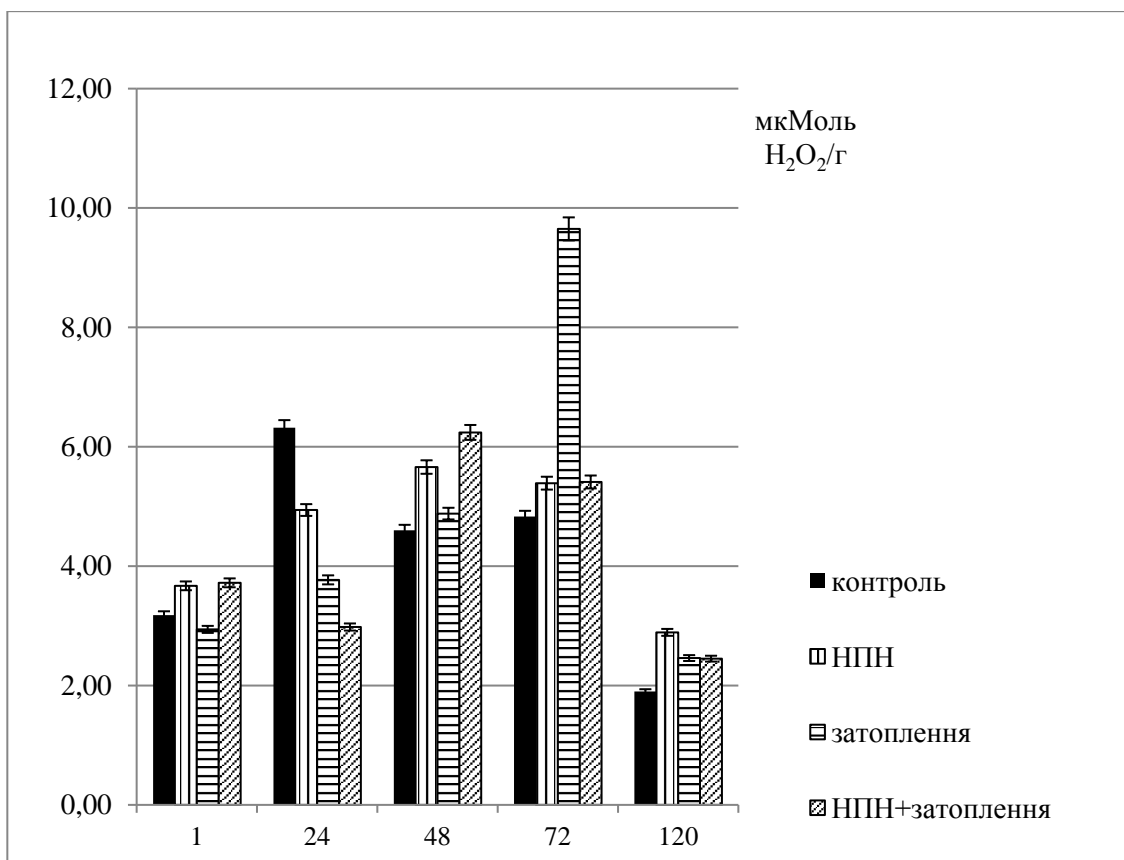


Рис. 3. Вплив НПН та затоплення (гіпоксії) на вміст пероксиду водню у сорту Кесарія Поліська.

Встановлено, що за механічного пошкодження листків вплив донора оксиду азоту наближав значення вмісту ендogenousного пероксиду водню до рівня неушкодженого контролю (рис. 4).

Встановлено, що у першу годину після поранення зменшувався пул пероксиду водню в пошкоджених листках пшениці озимої сорту Кесарія Поліська, однак в оброблених водним розчином нітропрусиду натрію та у контролі він тримався першу добу на сталому рівні. Після цього у поранених листках встановлено зростання концентрації пероксиду водню. Отже, дія донора оксиду азоту як сигнальної молекули та у певних концентраціях антагоніста до пероксиду водню проявлялася протягом дослідження у зменшенні стресового навантаження на рослини.

Одним із критичних наслідків абіотичного стресу є порушення рівноваги між утворенням активних форм та антиоксидантною захисною системою. Абіотичний стрес призводить до накопичення активних форм кисню, а баланс між детоксифікацією та їх продукуванням регулюється як ферментною, так і неферментною антиоксидантними системами, оскільки окиснювальний стрес може призводити до загибелі клітин, у той час як низькі рівні відіграють сигнальну

роль у процесах регуляції росту, розвитку та адаптації рослин до умов середовища [9]

Оксид азоту продукується окиснювальними та відновлювальними шляхами, останні активні за умов гіпоксії. При цьому мітохондрії за участю цитохромоксидази відіграють значну роль. Відомо, що оксид азоту підвищує антиоксидантну активність протягом стресу, а за гіпоксії стимулює утворення аеренхіми у рослинах шляхом індукованої загибелі клітин. Авторегуляторний механізм полягає у тому, що зростання концентрації ендogenousного оксиду азоту за гіпоксії знижує споживання кисню. Оксид азоту інгібує цитохромоксидазу, приєднуючись до гемової групи. Зміни структури мітохондрій при цьому корелюють зі здатністю рослин виживати за гіпоксії. Також роль оксиду азоту у гомеостазі кисню важлива під час дозрівання насіння [11; 12].

Відомо, що гіпоксія, яка триває три доби та більше, має негативні наслідки для формування врожайності рослин, і одним з її наслідків є зміна транспорту азотовмісних молекул. В умовах гіпоксії ендogenousний оксид азоту NO може утворюватися в результаті активності нітратредуктази, при цьому його внутрішньоклітинний рівень контролюється активними формами кисню й фітоглобінами як скавенджерами [13].

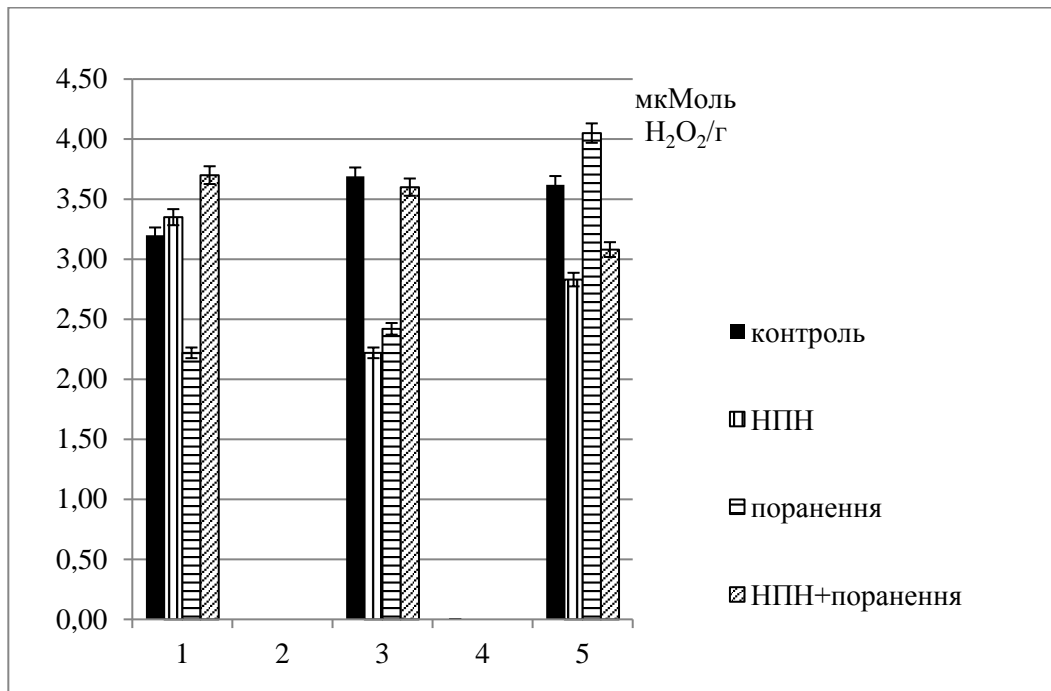


Рис. 4. Вплив донора оксиду азоту нітропрусиду натрію на вміст ендogenousного пероксиду водню за дії раннього стресу в листках пшениці озимої сорту Кесарія Поліська.

Встановлено, що попередня обробка феруловою кислотою та донором оксиду азоту нітропрусидом натрію стимулює відновлення рослин за дії абіотичного стресу. Відомо, що захисні реакції рослин проти траводічних комах-шкідників індукуються сигналінгом від поранення та специфічними молекулярними патернами (HAMPs), до того ж можуть бути ефектори, що пригнічують рослинний імунітет [14]. Рослинні ж відповіді на патогени використовують дворівневу систему активації з внутрішньоклітинними рецепторами та рецепторами на поверхні клітин [15].

## Висновки

Отже, ферулова кислота як біотичний елісатор та донор оксиду азоту нітропрусид натрію є перспективними компонентами комплексного захисту за гіпоксії та механічних пошкоджень рослин пшениці. Доведено, що обробка ними індукує зміни пулу ендogenous пероксиду водню в листках пшениці озимої сорту Кесарія Поліська за дії раневого стресу та гіпоксії, спричиненої затопленням. З'ясовано, що активація сигнальних систем відрізнялася за різних типів абіотичного стресу.

## References

1. Zhuk I. V., Lisova G. M., Dmitriev A. P. Effects of oxalic acid and sodium nitroprusside on productivity and resistance of winter wheat to *Septoria tritici* leaf blotch and leaf rust infections. *The Bulletin of Kharkiv national agrarian university. Series Biology*. 2017. Vol. 2 (41). P. 68–76. [in Ukrainian]
2. Zhuk I. V., Dmitriev A. P., Lisova G. M., Kucherova L.O. Participation of ferulic acid in elicitation of winter wheat plants resistance against *Septoria tritici* infection *Factors in experimental evolution of organisms*. 2017. Vol. 20. P. 190–193. doi: 10.7124/FEEO.v20.761. [in Ukrainian]
3. Zhuk I. V., Dmitriev A. P., Lisova G. M., Kucherova L.O. The role of ferulic acid as a biotic elicitor in elicitation of systemic resistance in *Triticum aestivum* against *Alternaria* spp. *Studia biologica*. 2017. Vol. 11 (3–4). P. 84–85. doi: /10.30970/sbi.1103. [in Ukrainian]
4. Zhuk I. V., Dmitriev A. P., Lisova G. M., Kucherova L.O. The combination of NO donor and ferulic acid effect on the elicitation of *Triticum aestivum* tolerance against *Septoria tritici* infection *Factors in Experimental Evolution of Organisms*, 2018. Vol. 22. P. 240–245. doi: 10.7124/FEEO.v22.955. [in Ukrainian]
5. Zhuk I. V., Dmitriev A. P., Lisova G. M., Kucherova L.O. The influence of kojic acid and donor NO on *Triticum aestivum* L. under biotic stress. *Factors in experimental evolution of organisms*. 2019. Vol. 24. P. 219–224. doi: 10.7124/FEEO.v25.1166. [in Ukrainian]
6. Zhuk I. V., Dmitriev A. P., Shylina Ju.V., Lisova G. M., Kucherova L.O. The estimation of organic acids effectiveness as biotic elicitors via changes of endogenous peroxide content *Factors in experimental evolution of organisms*. 2020. Vol. 26. P. 202–206. doi: 10.7124/FEEO.v26.1266. [in Ukrainian]
7. Zhuk I. V., Shylina Ju.V., Dmitriev A. P. The activation of wheat resistance against powdery mildew by combination of biotic elicitor and NO donor. *Factors in experimental evolution of organisms*. 2021. Vol. 28. P. 78–82 doi: /10.7124/FEEO.v28.1379. [in Ukrainian]
8. Chen L.-M., Kao Ch.-H. Effect of excess copper on rice leaves: evidence involvement of lipid peroxidation. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 1999. Vol. 40. P. 283–287.
9. Hasanuzzaman M., Bhuyan M.H.M.B., Zulfiqar F., Raza A., Mohsin S.M., Mahmud J.A., Fujita M., Fotopoulos V. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants (Basel)*. 2020. Vol. 9 (8). P. 681. doi: 10.3390/antiox9080681.
10. Gupta K.J., Mur L.A.J., Wany A., Kumari A., Fernie A.R., Ratcliffe R.G. The role of nitrite and nitric oxide under low oxygen conditions in plants. *New Phytol.* 2020. Vol. 225 (3). P. 1143–1151. doi: 10.1111/nph.15969.
11. Loreti E., Striker G.G. Plant Responses to Hypoxia: Signaling and Adaptation. *Plants (Basel)*. 2020. Vol. 9 (12). P. 1704. doi: 10.3390/plants9121704.
12. Loreti E., Perata P. The Many Facets of Hypoxia in Plants. *Plants (Basel)*. 2020. Vol. 9 (6). P. 745. doi: 10.3390/plants9060745.
13. León, José et al. The hypoxia-reoxygenation stress in plants. *Journal of experimental botany*. 2021. Vol. 72 (16). P. 5841–5856. doi: 10.1093/jxb/eraa591.
14. Snoeck S., Guayazán-Palacios N., Steinbrenner A. D. Molecular tug-of-war: Plant immune recognition of herbivory. *The Plant Cell*. 2022. doi: 10.1093/plcell/koac009.
15. Pok B., Ngou M., Ding P., Jones J. D. G. Thirty years of resistance: Zig-zag through the plant immune system. *The Plant Cell*. 2022. doi: 10.1093/plcell/koac041.

**ZHUK I.V. SHYLINA Ju.V., DMYTRIEV A.P.**

*Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, Natl. Acad. Sci.,  
Ukraine, 03680, Kyiv, Acad. Zabolotnogo str., 148*

**EFFECT OF BIOTIC ELICITOR AND DONOR NO TREATMENT IN COMPLEX DEFENCE OF WHEAT PLANTS AGAINST HYPOXIA AND WOUNDING STRESS**

**Aim.** The aim of the research was to investigate the induction of the *Triticum aestivum* L. non-specific tolerance by ferulic acid as a biotic elicitor and donor of nitric oxide as a signal molecule to hypoxia and wounding stress. **Methods.** Winter wheat plants cv. Kesariia Polis`ka were grown and had treated by ferulic acid and sodium nitroprusside (SNP) solutions then wounding or flooding stress started. The hydrogen peroxide content was measured in leaves during the experimental period. **Results.** It is shown that an influence of the nitric oxide donor balanced the hydrogenous peroxide level in wounded leaves close to control. After two days of flooding stress plants treated by ferulic acid decreased hydrogen peroxide level on 15 % against threefold decreasing in non-treated stressed plants. Donor NO treatment also paid contribution to hydrogen peroxide equilibrium during the first hour under hypoxia conditions caused by flooding stress and decreased hydrogen peroxide content till the third day of stress. **Conclusions.** Ferulic acid and nitric oxide donor are perspective components for complex defense against hypoxia and wounding in wheat plants.  
**Keywords:** *Triticum aestivum* L., ferulic acid, hydrogen peroxide, hypoxia, wounding stress, NO.