

ЖУК І. В.✉, ШИЛІНА Ю. В.

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України,
Україна, 03143, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 148, ORCID: 0000-0002-2496-2576
✉ ivzhukvi@gmail.com

ДІЯ НІКОТИНОВОЇ КИСЛОТИ У ЗАХИСТІ ПШЕНИЦІ ВІД ГІПОКСІЇ ПРИ ЗАТОПЛЕННІ

Мета. Метою роботи було дослідження індукції неспецифічної стійкості *Triticum aestivum* L. нікотиновою кислотою до впливу гіпоксії під час затоплення. **Методи.** Рослини пшениці озимої сорту Ладижинка вирощували в лабораторних умовах й обробляли розчином нікотинової кислоти, після чого піддавали затопленню. Вимірювали вміст ендogenous пероксиду водню в листках та морфометричні параметри впродовж досліджу. **Результати.** Вплив нікотинової кислоти без дії стресу був суттєвим вже через 24 години, різко знижуючи вміст пероксиду водню в листках, а при затопленні – вже впродовж першої години. На четверту добу, через 96 годин після початку стресового впливу затоплення у дослідних рослин пшениці зрівнявся вміст у листках пероксиду водню за дії нікотинової кислоти при відсутності гіпоксії. **Висновки.** Отже, нікотинова кислота зменшує рівень стресу при затопленні пшениці шляхом регуляції пулу пероксиду водню в листках пшениці. Нікотинову кислоту можна розглядати як індуктор для стимуляції неспецифічної стійкості пшениці до затоплення та перспективний компонент комбінацій препаратів, що забезпечують комплексну стійкість рослин до абіотичних та біотичних стресів.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., нікотинова кислота, пероксид водню, гіпоксія, затоплення.

Зміни клімату – один з викликів 21 сторіччя, що обумовлює розвиток підходів та пошук рішень для ефективного вирощування рослин. До наслідків глобального потепління належить і перерозподіл опадів, більш часті та сильні шторми одночасно з аридизацією інших ділянок суходолу [1]. Затоплення при тривалому дощовому періоді може негативно позначитись на врожаї, створити сприятливі умови для розвитку фітопатогенів. Втрати важливих сільськогосподарських культур, не пристосованих до формування аеренхіми при цьому є дуже значними. Навіть кількох діб достатньо для того, або втрати були економічно відчутними. [1, 2]. Не-

регулярне зволоження при різкій зміні кліматичних умов здатне бути причиною гіпоксії, зокрема у пшениці. Напрямок на селекцію стійких рослин із залученням генів стійкості новітніми технологіями редагування геномів справа витратна і поки недостатньо відпрацьована, аби застосовуватись масово. Неможливо у польових умовах повністю позбавити рослини впливу надмірного зволоження, наслідки яких також залежать від типу ґрунту й оточення, але індукція неспецифічної стійкості у достресовий період здатна стимулювати адаптацію рослин, зменшити ризики пошкоджень, прискорити відновлення.

Нашими попередніми дослідженнями встановлено, що низькомолекулярні органічні кислоти (щавлева, лимонна, бурштинова, коєва, ферулова) здатні індукувати неспецифічну стійкість до фітопатогенів в якості біотичних елісаторів (*S. tritici*, *P. recondite*, *E. graminis*, *Alternaria* sp.) в польових умовах, і також до абіотичного стресу [3–10]. При оцінці ефективності такої індукованої неспецифічної стійкості інформативним біохімічним критерієм виявився вміст пероксиду водню, який є найбільш стабільною формою активного кисню і сигнальною молекулою для захисних реакцій рослин. Було показано, що вплив елісаторів міг відрізнитись залежно від їхньої ролі в метаболізмі, а поєднання з донором оксиду азоту (нітропрусидом натрію, НПН) посилювало ефективність. Однак розширення спектру можливих індукторів неспецифічної стійкості дає можливість оптимізації стимуляторів та їхніх комбінацій. Також актуальне питання епігенетичних наслідків попри те, що загалом застосування індукторів неспецифічної стійкості є екологічно безпечним напрямом.

Відомо, що нікотинова кислота у комбінації з наночастинками срібла та KNO_3 у пшениці здатна підтримувати окисно-відновний гомеостаз шляхом регуляції гліколізу та стимулювати активність антиоксидантних ферментів аскорбатпероксидази, фумарази [11]. Показано,

© ЖУК І. В., ШИЛІНА Ю. В.

що така комбінація стимулювала ріст рослин сої при затопленні [11].

Нікотинова кислота має можливість захисного впливу при окиснювальному стресі також через метилювання ДНК; вона покращує ріст та продуктивність рослин [12].

Однак залишається не до кінця з'ясованим вплив нікотинової кислоти на сигнальні системи рослин, які задіяні у відповіді на стрес затоплення та гіпоксії, що виникає при цьому, адже при затопленні гіпоксія виникає через різницю доступності кисню у повітрі та у воді, і саме збільшення рівня активних форм є одним з механізмів адаптації, що запускає автофагію та деградацію внутрішньоклітинних компонентів у рослин для утворення аеренхіми [13]. Зокрема, вже згадані дослідження сої проведені на дводобових проростках, що ще не встигли розвинути справжні листки, а комбінація зі сріблом впливає на аквапоринові канали, що транспортують пероксид водню крізь мембрани [14]. Дослідження ж на пшениці також не дають повної відповіді на вплив нікотинової кислоти на рецепцію й передачу сигналів при затопленні, автори також акцентують на комбінації ефектів зі сріблом та нітратом калію [12].

Автофагія й відмирання тканин для формування адаптації до затоплення та гіпоксії може бути вдалою довготривалою стратегією для деяких видів рослин, однак при кількадечному надмірному зволоженні пшениці внаслідок дощів це може завдати більше шкоди для врожаю через втрату фотосинтетичних тканин, які забезпечують фотоасимілятами зернівки, аніж користі. Відновлення рослинних тканин та регуляція адаптивних процесів з метою запобігання втратам продуктивності потребує розуміння внутрішньоклітинного сигналіngu як при стресових впливах, так і за дії індукторів неспецифічної стійкості.

Тому метою наших досліджень було вивчити вплив нікотинової кислоти на пул ендогенного пероксиду водню як сигнальної молекули та індуктора неспецифічної стійкості у листках пшениці при затопленні.

Матеріали і методи

Рослини пшениці озимої сорту Ладижинка пророщували у водній культурі й у фазі двох листків обробляли розчином нікотинової (0,5

мМ) кислоти, після чого переміщували у посудини, де рівень води тримали підвищеним до кінця досліду для досягнення ефекту гіпоксії при затопленні. Вимірювали в листках вміст ендогенного пероксиду водню за сульфатно-титановим методом [15]. Проводили також морфометричні вимірювання. Результати оброблені статистично.

Результати та обговорення

Показано, що впродовж першої години попередньо оброблені водним розчином нікотинової кислоти рослини без дії стресу мали вміст пероксиду водню у листках практично на рівні контролю (рис.). Однак затоплення зменшувало пул пероксиду водню в листках пшениці озимої сорту Ладижинка, а у попередньо оброблених нікотиновою кислотою проростків цей ефект був ще більш значим. Проте через 24 години після дії стресу затоплені рослини без обробки наближались до контрольного варіанту за вмістом пероксиду водню в листках, у той час як вплив нікотинової кислоти продовжував знижувати кількість пероксиду водню в проростках. Через 48 годин від початку стресового впливу затоплення й гіпоксії контрольний варіант зрівнявся із дослідним, але обробленим попередньо нікотиновою кислотою. Затоплення і нікотинова кислота як окремі фактори стимулювали зростання вмісту пероксиду водню в листках пшениці озимої сорту Ладижинка. Впродовж наступної доби, через 72 години після початку стресу різко зменшувалась кількість пероксиду водню в листках пшениці за дії лише нікотинової кислоти. При цьому вміст пероксиду водню у затоплених рослин дещо знизився, порівняно з попередньою добою і був нижчим від контрольного варіанту. Проміжний за значенням між цими варіантами рівень пулу пероксиду водню спостерігали у оброблених нікотиновою кислотою та за впливу гіпоксії листках пшениці озимої сорту Ладижинка. На четверту добу, через 96 годин після початку стресового впливу затоплення у дослідних рослин пшениці зрівнявся вміст в листках пероксиду водню у варіанті, обробленому нікотиновою кислотою при відсутності гіпоксії. Пул же пероксиду водню у затоплених рослин був вдвічі меншим, ніж у контрольному варіанті.

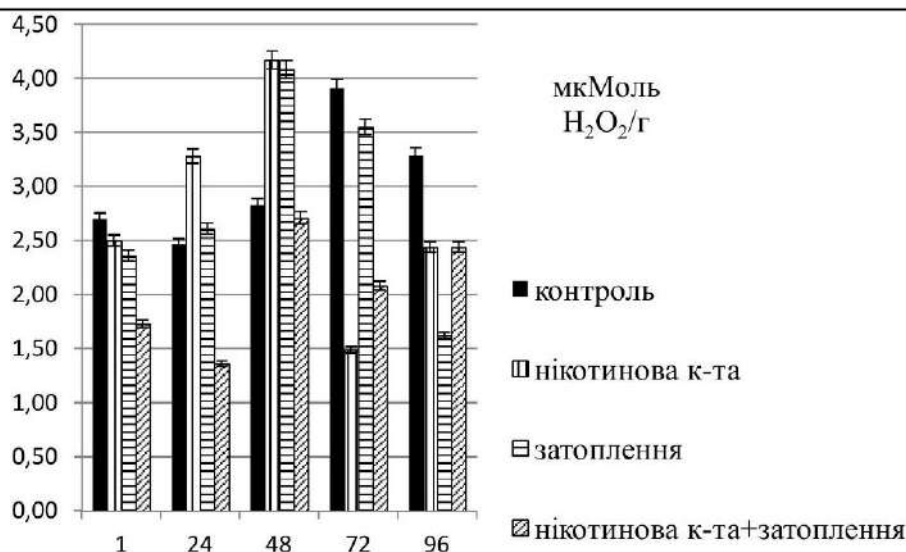


Рис. Вміст ендogenous пероксиду водню в листках пшениці сорту Ладижинка.

Таким чином, ефект від затоплення проявлявся за біохімічним критерієм стійкості – пулом ендogenous пероксиду водню – суттєво на 48 годину і далі, що узгоджується з даними літератури щодо пошкоджуючого впливу гіпоксії, адже для пшениці саме три доби затоплення вже мають незворотній вплив на врожай. Вплив нікотинової кислоти без дії стресу був суттєвим вже через 24 години, різко знижуючи вміст пероксиду водню в листках, а при затопленні – вже впродовж першої години.

Отже, антиоксидантний вплив нікотинової кислоти на листки пшениці озимої сорту Ладижинка підтримував пул ендogenous пероксиду на підвищеному рівні впродовж перших діб без впливу затоплення, водночас при гіпоксії це запобігало індукції внутрішньоклітинної загибелі органел та руйнування клітин через активацію сигналіну активних форм кисню. Відтягування такої адаптивної реакції на гіпоксію продовжує функціонування фотосинтетичних тканин проростків. Показано, що нікотинава кислота також підтримувала ріст рослин пшениці при затопленні.

Гіпоксія може бути фізіологічною, наприклад, під час проростання зернівки, однак гіпоксія, індукована стресовими умовами, має більше значення для ризиків вирощування сільськогосподарських культур. Зниження росту та врожаю відбувається також через зменшення доступності азоту до органів рослин за умов гіпоксії. У пшениці при цьому в коренях накопичуються великі кількості γ -амінобутирату та лактату, у той час як аланін акумулюється як в коренях, так і в пагонах [13].

Кисень залучений до багатьох окисно-відновних каталітичних реакцій; загалом будь-який фермент, який каталізує цей тип реакцій може бути сенсором, коли рівень кисню змінюється і падає нижче рівня спорідненості до субстрату для цього ферменту. Пероксид водню як сигнальна молекула індукуює MAPK каскад.

Різка зниження вмісту пероксиду водню у необробленому варіанті затоплених проростків пшениці сорту Ладижинка після двох діб підвищеного рівня може пояснюватись тим, що це індукція загибелі клітин рослинних тканин заради компенсації гіпоксії. Це співпадає з часом незворотного впливу гіпоксії на тканини рослин. У той час як коливання у контрольному варіанті рослин стосуються активізації процесів росту і розвитку, до яких залучений пероксид водню, стресовий вплив гіпоксії цей ріст затримує. При продовженні дії гіпоксії деградація фотосинтетичних тканин та порушення функціонування мають і візуальні прояви, такі як зупинка росту листків, побуріння та пожовтіння, підвищений ризик ураження фітопатогенами з симптомами, відповідними до захворювання, збудник якого інфікував рослину. Для фітопатогенних грибів сприятливим фактором для розвитку є підвищена вологість; з краплинною вологою поширюються спори, полегшується інфікування через продиhi. За цих умов також стимулюється розвиток збудників всередині рослини після проникнення, що пошкоджує їх й спричиняє втрати врожаю. У наших попередніх дослідженнях показано, що в польових умовах неспецифічна стійкість, індукована біотичними еліситами, зменшувала ступінь ураження

грибними фітопатогенами [3–9]. Оскільки мережа сигналіngu відповіді на біотичний та абіотичний стрес у рослин значною мірою перекриваються і включають в себе активні форми кисню, то комбінація елісатору та донору сигнальної молекули була випробувана нами і для абіотичного стресу в лабораторних умовах [10].

У наших попередніх дослідженнях показано, що за дії донору оксиду азоту нітропрусиду натрію у першу годину вміст пероксиду водню в листках пшениці озимої був на рівні рослин, оброблених донором оксиду азоту, але без стресу, й у подальшому вплив цієї обробки знижував до третьої доби рівень пероксиду водню [10]. Також нами встановлено, що ферулова кислота як антиоксидант стримувала різке зниження пулу пероксиду водню в листках затоплених рослин пшениці після двох діб стресу [10]. Отже, ферулова та нікотинова кислоти як антиоксиданти вже за дві доби стресового впливу проявляли свою ефективність за дією на внутрішньоклітинний пул пероксиду водню в листках пшениці. Такого терміну цілком достатньо, аби суттєво зменшити для рослин негативні наслідки затоплення і гіпоксії, уникнути сценарію адаптивної відповіді, де автофагія та індукована загибель клітин завдають невиправних змін для тканин. Швидкість реакції рослин на обробку у першу годину за вмістом пероксиду водню визначається тим, що хвиля активних форм кисню індукує системний сигнал, який забезпечує активацію експресії генів та стійкість всього організму рослини [14]. Адаптаційні можливості різних сортів можуть залежати від їх генів і відрізнятися відповідно, однак неспецифічна індукція стійкості за допомогою нікотинової кислоти залишається при цьому ефективною, оскільки антиоксидантна ланка захисту є універсальною для відповіді рослин на стрес. Різні органічні кислоти, які мали здатність впливати на рівень внутрішньоклітинного пероксиду водню, проявили себе ефективними біотичними елісаторами в наших попередніх дослідженнях [8].

Поєднання ферулової кислоти з донором оксиду азоту підвищує ефективність обробки за рахунок комбінації антиоксидантного впливу на пул активних форм кисню і залучення сигналіngu оксиду азоту [10]. Таке підсилення ефекту можливе і для нікотинової кислоти, адже до комбінації наночастинок срібла з нікотиновою кислотою додавали нітрат калію як джерело азоту. Встановлено синергічність впливу цього поєднання [11, 12]. Однак можливі й інші комбінації без потреби залучати наночастинки срібла. Відомо, що іони кальцію також беруть участь у внутрішньоклітинному сигналіngu на рівні з активними формами кисню, тому поєднання з джерелами іонів кальцію може бути перспективним. Адаптаційні стратегії рослин до реакції на абіотичний стрес впливають також на ріст рослин, і хоча пригнічення росту за стресових умов та баланс між ростом за стресових умов та стійкістю залишається одним з найбільш актуальних питань для дослідників, у довготривалій перспективі затримка росту, так само і як відмирання тканин при гіпоксії, може бути не вигідною стратегією для сільськогосподарських рослин з точки зору врожайності [2].

Висновки

Нікотинова кислота впливає на пул ендогенного пероксиду водню в листках пшениці озимої сорту Ладижинка з його збільшенням у перші дві доби без дії гіпоксії і стабілізацією впродовж впливу затоплення. Показано, що вплив нікотинової кислоти вже у першу годину знижував рівень пероксиду водню при затопленні і через 96 годин стабілізував його на рівні варіанту без стресу. Регуляція пулу ендогенного пероксиду водню може впливати на адаптацію рослин до затоплення та надмірної зволоженості, зменшувати ступінь пошкодження тканин та запобігати їх відмиранню внаслідок гіпоксії. Таким чином, нікотинову кислоту можна розглядати як індуктор для стимуляції неспецифічної стійкості пшениці до затоплення та перспективний компонент комбінацій препаратів, що забезпечують комплексну стійкість рослин до абіотичних та біотичних стресів.

References

1. Eckardt N. A., Ainsworth E. A., Bahuguna R. N. et al. Climate change challenges, plant science solutions. *The Plant Cell*. 2023. Vol. 35, Is. 1. P. 24–66. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac303>.
2. Verslues P., Bailey-Serres E., Brodersen J. C. et al. Burning questions for a warming and changing world: 15 unknowns in plant abiotic stress. *The Plant Cell*. 2023. Vol. 35, Is. 1. P. 67–108. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac263>.
3. 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. b2 (41). P. 68–76. [in Ukrainian]

4. Zhuk I. V., Dmitriev A. P., Lisova G. M., Kucheroва 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/FEE0.v20.761. [in Ukrainian]
5. Zhuk I. V., Dmitriev A. P., Lisova G. M., Kucheroва 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]
6. Zhuk I. V., Dmitriev A. P., Lisova G. M., Kucheroва L. O. The combination of NO donor and ferulic acid effect on the elicitation of *Triticum aestivum* tolerance against *Septoria tritici* *Factors in Experimental Evolution of Organisms*. 2018. Vol. 22. P. 240–245. doi: 10.7124/FEE0.v22.955. [in Ukrainian]
7. Zhuk I. V., Dmitriev A. P., Lisova G. M., Kucheroва 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/FEE0.v25.1166. [in Ukrainian]
8. Zhuk I. V., Dmitriev A. P., Shylina Ju. V., Lisova G. M., Kucheroва 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/FEE0.v26.1266. [in Ukrainian]
9. 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/FEE0.v28.1379. [in Ukrainian]
10. Zhuk I. V., Shylina Ju. V., Dmitriev A. P. Effect of biotic elicitor and donor NO treatment in complex defence of wheat plants against hypoxia and wounding stress. *Factors in experimental evolution of organisms*. 2022 Vol. 30. P. 73–78. doi: <https://doi.org/10.7124/FEE0.v30.1464>. [in Ukrainian]
11. Hashimoto T., Mustafa G., Nishiuchi T., Komatsu S. Comparative Analysis of the Effect of Inorganic and Organic Chemicals with Silver Nanoparticles on Soybean under Flooding Stress. *Int J Mol Sci*. 2020. 21 (4). P. 1300. doi: 10.3390/ijms21041300.
12. Jhazab H. M.; Razzaq A., Bibi Y., Yasmeen F., Yamaguchi H., Hitachi K., Tsuchida K., Komatsu S. Proteomic analysis of the effect of inorganic and organic chemicals on silver nanoparticles in wheat. *Int. J. Mol. Sci*. 2019. 20, 4. P. 825. doi: 10.3390/ijms20040825.
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/eraa59.
14. Singh A., Mehta S., Yadav S., Nagar G., Ghosh R., Roy A., Chakraborty A., Singh I. K. How to Cope with the Challenges of Environmental Stresses in the Era of Global Climate Change: An Update on ROS Stave off in Plants. *Int J Mol Sci*. 2022. 23 (4). P. 1995. doi: 10.3390/ijms23041995.
15. 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.

ZHUK I. V. SHYLINA Ju. V.

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, Natl. Acad. Sci., Ukraine, 03143, Kyiv, Acad. Zabolotnogo str., 148

EFFECT OF NICOTINIC ACID IN DEFENCE OF WHEAT PLANTS AGAINST HYPOXIA UNDER FLOODING STRESS

Aim. The aim of the research was to investigate the induction of the *Triticum aestivum* L. non-specific tolerance by nicotinic acid to hypoxia during the flooding stress. **Methods.** Winter wheat plants cv. Ladyzhynka were grown in laboratory conditions and had been treated by nicotinic acid solution then flooding stress started. The hydrogen peroxide content in leaves and morphometric parameters were measured during the experimental period. **Results.** It is shown that the influence of the nicotinic acid was essential during the first hour of the flooding stress. After 96 hours of flooding stress the nicotinic acid balanced the hydrogenous peroxide level in wheat leaves close to control. **Conclusions.** Nicotinic acid decreased the stress level in wheat plants under flooding conditions via regulation of hydrogen peroxide content in leaves. The regulation of the hydrogen peroxide level could influence on plant adaptation to flooding stress and conditions of high humidity, decrease the damage of tissues and prevent their loss under flooding. Nicotinic acid could be used as a perspective component for compound combinations to induce complex stimulation of plant tolerance and defense against plant biotic and abiotic stresses.

Keywords: *Triticum aestivum* L., nicotinic acid, hydrogen peroxide, hypoxia, flooding stress.