

ЖУК І. В.[✉], ШИЛІНА Ю. В., КОВБАСЕНКО Р. В.

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України,

Україна, 03143, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 148, ORCID: 0000-0002-2496-2576, 0000-0002-9456-205X, 0000-0002-0774-362X

[✉] ivzhukvi@gmail.com

ІНДУКЦІЯ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ СТІЙКОСТІ ПШЕНИЦІ ДО ПАТОГЕНІВ ПРИ ДІЇ УФ-С І БІОТИЧНОГО ЕЛІСИТОРА КОЄВОЇ КИСЛОТИ

Мета. Захист рослин потребує комплексного підходу. Зміни клімату загострюють проблеми вирощування важливих сільськогосподарських культур. Дослідження індукції неспецифічної стійкості рослин пшениці *Triticum aestivum* до фонового зараження патогенами при дії УФ-С та впливі біотичного елісатора коєвої кислоти дозволить підвищити рівень безпеки для рослинних тканин при застосуванні УФ-С для захисту від фітопатогенів. **Методи.** Насіння і проростки пшениці озимої м'якої сорту Подолянка опромінювали лампою Philips TUV 30 W. Ідентифікували збудників та оцінювали фонове ураження. Обробка рослин пшениці сорту Подолянка 0,1 мМ водним розчином коєвої кислоти проводилась шляхом обприскування на етапі другого листка. Впродовж дослідів визначали вміст ендogenous пероксиду водню, проводили морфометричні вимірювання листків і коренів пшениці. **Результати.** Продемонстровано, що для опромінення УФ-С пшениці найбільш ефективними є невисокі дози; оптимальним є знаходження середньої дози між малою, яка дає стимулюючий вплив, і підвищеною. Показано, що вміст ендogenous пероксиду водню в інфікованих листках пшениці озимої *Triticum aestivum* сорту Подолянка при застосуванні цієї комбінації тримався на високому рівні у перші доби дослідного періоду та стабілізувався надалі. **Висновки.** Встановлено, що поєднання попередньої обробки коєвою кислотою з опроміненням рослин пшениці УФ-С зберігало ріст і розвиток рослин, пришвидшувало їх відновлення і знижувало ураження фітопатогеном *Mucor* sp.

Ключові слова: *Triticum aestivum*, *Mucor* sp., УФ-С опромінення, коєва кислота, пероксид водню.

Стійкість рослин в умовах глобального потепління потребує цілісного підходу [1]. Зміни клімату провокують й загострення проблеми за-

хисту рослин від патогенів. Сучасні напрями генетичної інженерії рослин розглядають внутрішньоклітинні рецептори, що реагують на ефектори патогенів, як одну з принципових можливостей для покращення врожайності й захисту, зокрема й для пшениці [2, 3]. Модифікація еволюційно консервативних структур й аналіз сигнальних шляхів рослинного імунітету приходять на зміну методом традиційної селекції на стійкість [3, 4]. Іншим екологічно безпечним підходом є стимуляція неспецифічного імунітету рослин біотичними елісаторами, до чого долучились і наші попередні дослідження [5, 6]. Нами також показано, що органічні кислоти, які виступають у ролі біотичних елісаторів, можуть і при абіотичному стресі бути залучені до комплексного захисту рослин від пошкоджень і гіпоксії [7]. Показано, що УФ-С індуктує довгострокові захисні реакції у рослин [8]. Однак у рослин відсутні притосовування до впливу УФ-С, оскільки цей фактор не властивий природному середовищу. Пошкодження рослин від опромінення УФ-С при захисті рослин від патогенних мікроорганізмів в умовах культивування у закритому ґрунті, транспортування й карантинів може мати небажані негативні наслідки для рослинних тканин [9].

Рішенням, яке може підвищити рівень безпеки для рослинних тканин при застосуванні УФ-С, може бути комбінація опромінення УФ-С з біотичним елісатором з антиоксидантними властивостями, що одночасно підвищує неспецифічну стійкість до патогенів і зменшує стресовий вплив опромінення на рослини. Використана в наших попередніх дослідженнях в якості біотичного елісатора коєва кислота має такі властивості, в природних умовах вона є продуктом, асоційованим з грибними мікроорганізмами та патогенами і водночас інгібує тирозиназу, що перешкоджає синтезу меланіну та здійснює екзогенний фізіологічний і метаболічний вплив на рослини [10–12].

© ЖУК І. В., ШИЛІНА Ю. В., КОВБАСЕНКО Р. В.

Тому метою наших досліджень було вивчити індукування неспецифічної стійкості рослин пшениці до фонового зараження патогенами при дії УФ-С і впливі біотичного елісатора коєвої кислоти.

Матеріали і методи

Насіння пшениці озимої м'якої сорту Подолянка опромінювали лампою Philips TUV 30 W і пророщували на зволоженому фільтрувальному папері. Ідентифікували збудників та оцінювали ураження з обчисленням індексу хвороби. Для дослідів з фотосинтезуючими рослинами пшеницю вирощували у водній культурі. Обробляли рослини пшениці сорту Подолянка 0,1 мМ водним розчином коєвої кислоти шляхом обприскування на етапі другого листка. Після висихання опромінення проводили лампою Philips TUV 30 W. Впродовж дослідів визначали вміст ендogenous пероксиду водню спектрофотометрично за реакцією з сульфатом титану [13]. Також проведено морфометричні вимірювання росту й розвитку листків і коренів пшениці. Повторність дослідів триразова, результати оброблені статистично.

Результати та обговорення

Встановлено, що основне фонове ураження було збудником *Mucor* sp. Показано, що індекс хвороби при опроміненні УФ-С насіння пшениці становив при дозі 1 кДж / м² 6,3 %, 10 кДж / м² 5,8 %, а при дозі 5кДж/м² 3,0 %. Таким чином, доза 5 кДж для опромінення сухого насіння була найбільш ефективною. Отже, підвищення дози опромінення УФ-С є раціональним лише до певної межі, оскільки вплив малих доз (1 кДж / м²) за індексом хвороби виявився порівнянним з десятикратно збільшеною. Ймовірно, мала доза є стимулюючою для захисних реакцій рослин, що дозволяє активувати неспецифічний імунітет й зменшити розвиток хвороби шляхом стійкості рослини. Ефективність середньої з використаних у експерименті доз може бути обумовлена балансом між дезинфікуючим впливом на поверхню насіння ультрафіолету та активацією неспецифічного імунітету.

Порівняння ефективності різних доз було продовжено у дослідях на проростках пшениці у водній культурі. Встановлено, що при опроміненні проростків пшениці сорту Подолянка УФ-С вміст пероксиду водню впродовж першої години значно знижувався при дозі 15 кДж / м²

(рис. 1). Вплив дози 20 кДж / м² був не таким суттєвим, однак через добу після опромінення ситуація змінилась – найвищий рівень пулу пероксиду водню у листках опромінених цією дозою рослин. Для дози 15 кДж / м² зростання вмісту пероксиду водню у листках було значним, однак поступалось вищій дозі (рис. 1).

На сьому добу зрівнялись значення вмісту пероксиду водню у листках неопромінених рослин пшениці та за дози 15 кДж / м², водночас опромінені дозою 20 кДж / м² мали значно вищий рівень пероксиду водню (рис. 1). Показано, що на дев'яту добу у інфікованих *Mucor* sp. рослин пшениці без опромінення вміст пероксиду водню був практично на тому ж рівні, що і на першу добу дослідного періоду, а з опромінених найвищий рівень у варіанті з дозою 20 кДж / м². За два тижні дослідного періоду, на чотирнадцяту добу зріс рівень пероксиду водню в інфікованих рослин, повернувшись до рівня сьомої доби, однак найвищий рівень був у опромінених дозою 15 кДж / м² (рис. 1). Отже, доза УФ-С 20 кДж / м² в інфікованих грибним патогеном рослин пшениці має швидший і потужний вплив на пул пероксиду водню, порівнюючи з меншою дозою 15 кДж / м², однак ефект від дози 15 кДж / м² більш пролонгований і переважає на 14-ту добу (рис. 1). Таким чином, середня доза може бути більш доцільною, якщо орієнтуватись на тривалий захист рослин, як і у випадку з опроміненням насіння. Саме тому для подальших досліджень було обрано дозу 15 кДж / м² (рис. 2).

При опроміненні УФ-С обраною дозою 15 кДж / м² і за впливу обробки розчином коєвої кислоти до опромінення показано, що вміст ендogenous пероксиду водню у листках пшениці сорту Подолянка різко зростав на першу добу, порівнюючи з контрольним варіантом (рис. 2). В інфікованих рослин таке поєднання теж стимулювало збільшення пулу пероксиду водню. Показано, що вміст ендogenous пероксиду водню в інфікованих листках пшениці озимої *Triticum aestivum* сорту Подолянка при застосуванні комбінації коєвої кислоти та ультрафіолету тримався на високому рівні у перші доби дослідного періоду та стабілізувався надалі (рис. 3). Вже на третю добу такого впливу пул ендogenous пероксиду водню вийшов на рівень неінфікованого контролю (рис. 3). Морфометричні виміри листків і коренів проростків пшениці сорту Подолянка, оброблених коєвою кислотою, продемонстрували краще відновлення рослинних тканин

після опромінення і зменшення ступеня ураження фітопатогеном.

Збереження фотосинтетичних тканин листків і продовження їх функціонування забезпечує ріст вегетативних частин рослин фотоасимилятами. Вплив обробки коевою кислотою дозволив мінімізувати або уникнути опіків поверхні листків після опромінення, застосувати меншу дозу опромінення з вищою ефективністю захисту від патогену.

Сучасні досягнення у розумінні ролі вторинних метаболітів рослин і спеціалізованих метаболічних шляхів зокрема пшениці дають підстави для нового рівня комплексного захисту рослин [14, 15]. Дослідження метаболізму дозволяють розробляти стратегії захисту та покращення врожайності без впливу на геном або з його мінімізацією, також це зменшує ризики накопичення хімікатів у продукції, яку споживає людина.

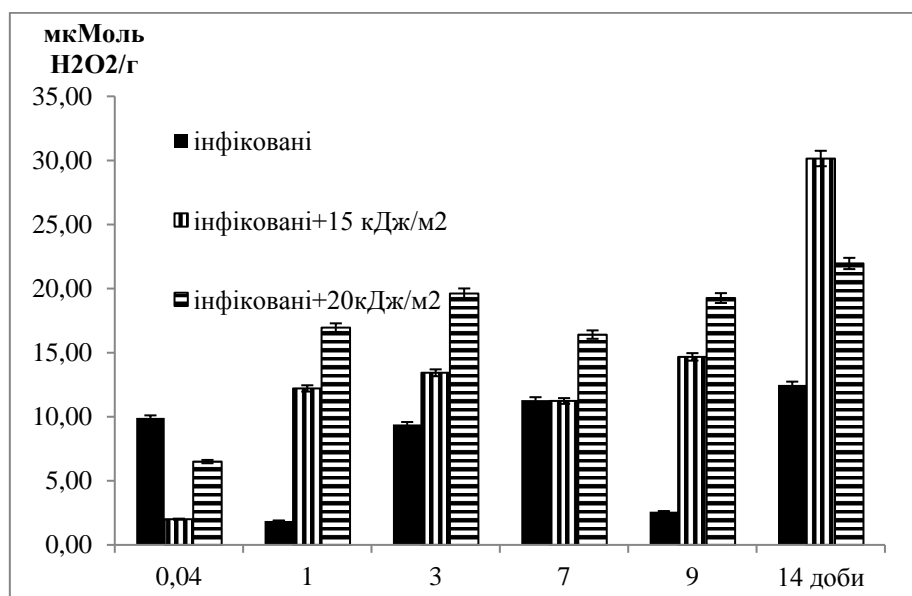


Рис. 1. Вплив УФ-С опромінення на вміст пероксиду водню в листках пшениці озимої сорту Подолянка.

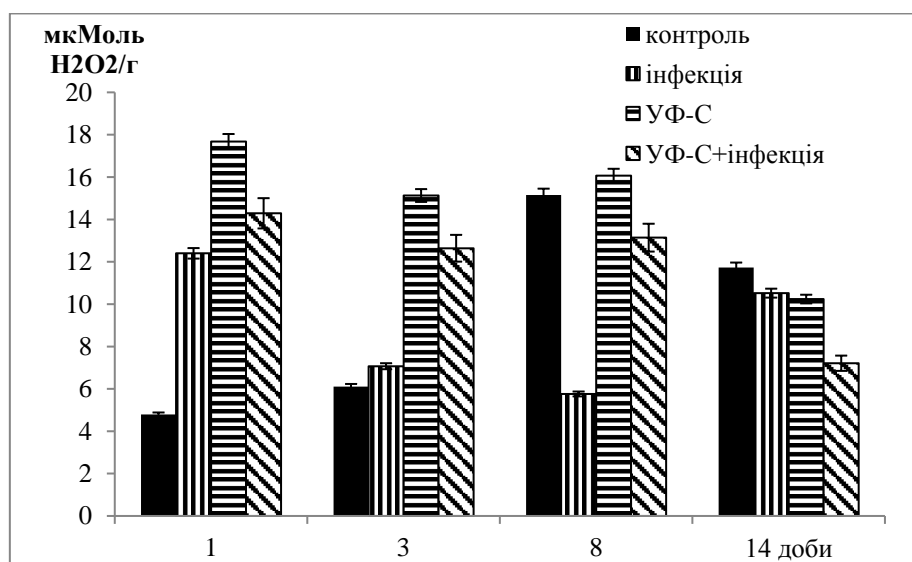


Рис. 2. Вплив інфікування *Mucor* sp. та опромінення УФ-С на вміст пероксиду водню в листках пшениці сорту Подолянка.

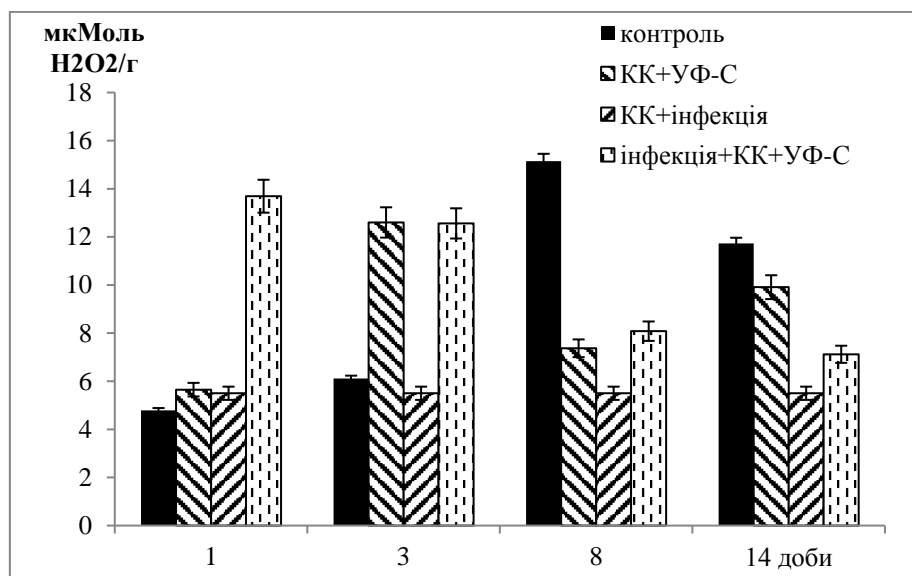


Рис. 3. Вплив коєвої кислоти (КК), інфікування *Mucor* sp. та опромінення УФ-С на вміст пероксиду водню в листках пшениці сорту Подолянка.

Висновки

Встановлено, що поєднання попередньої обробки коєвою кислотою з опроміненням рослин пшениці УФ-С зберігало ріст і розвиток рослин, пришвидшувало їх відновлення і знижувало ураження фітопатогеном *Mucor* sp. Перспективи

застосування УФ-С для захисту рослин від фітопатогенів значно розширюються при поєднанні зі неспецифічною метаболічною стимуляцією фітоімунітету, а подальші дослідження метаболізму рослин підвищуватимуть ефективність і мінімізуватимуть ризики.

References

- Janni M., Maestri E., Gulli M., Marmiroli M., Marmiroli N. Plant responses to climate change, how global warming may impact on food security: a critical review. *Front. Plant Sci.* 2024. Vol. 14. 1297569. doi: 10.3389/fpls.2023.1297569.
- Förderer A., Li E., Lawson A. W. et al. A wheat resistosome defines common principles of immune receptor channels. *Nature.* 2022. Vol. 610. P. 532–539 doi: 10.1038/s41586-022-05231-w.
- Dodds P. N., Chen J., Outram M. A. Pathogen perception and signaling in plant immunity. *Plant Cell.* 2024. doi: 10.1093/plcell/koae020.
- Ding L. N., Li Y. T., Wu Y. Z., Li T., Geng R., Cao J., Zhang W., Tan X. L. Plant disease resistance-related signaling pathways: recent progress and future prospects. *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol. 23 (24). 16200. doi: 10.3390/ijms232416200.
- Zhuk I. V., Dmitriev A. P., Lisova G. M., Kucherova L. 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]
- Zhuk I. V., Dmitriev A. P., Shylyna 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]
- Zhuk I. V., Shylyna 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: 10.7124/FEEO.v30.1464. [in Ukrainian]
- 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. 154171. doi: 10.1016/j.jplph.2024.154171.
- Vanhaelewyn L., Van Der Straeten D., De Coninck B., Vandenbussche F. Ultraviolet radiation from a plant perspective: the plant-microorganism context. *Front Plant Sci.* 2020. Vol 15, 11. 597642. doi: 10.3389/fpls.2020.597642.
- De Caldas Felipe M. T., do Nascimento Barbosa R., Pereira Bezerra J. D., de Souza-Motta C. M. Production of kojic acid by *Aspergillus* species: Trends and applications. *Fungal Biology Reviews.* 2023. Vol. 45. doi: 10.1016/j.fbr.2023.100313.
- Macedo W. R., Silva G. H., Santos M. F. C., Oliveira A. P. S., Souza D. S. Physiologic and metabolic effects of exogenous kojic acid and tyrosol, chemicals produced by endophytic fungus, on wheat seeds germination. *Natural Product Research.* 2018. Vol. 32 (22). P. 2692–2696. doi: 10.1080/14786419.2017.1374261.
- Hassan M., Shahzadi S., Kloczkowski A. Tyrosinase inhibitors naturally present in plants and synthetic modifications of these natural products as anti-melanogenic agents: a Review. *Molecules.* 2023. Vol. 28. P. 378. doi: 10.3390/molecules28010378.
- 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.

14. Zhu A., Liu M., Tian Z. et al. Chemical-tag-based semi-annotated metabolomics facilitates gene identification and specialized metabolic pathway elucidation in wheat. *Plant Cell*. 2024. Vol. 26, 36 (3). P. 540–558. doi: 10.1093/plcell/koad286.
15. Dixon R. A., Dickinson A. J. A century of studying plant secondary metabolism – From “what?” to “where, how, and why?” *Plant Physiol*. 2024. Vol. 195 (1). P. 48–66. doi: 10.1093/plphys/kiad596.

ZHUK I. V., SHYLINA Ju. V., KOVBASENKO R. V.

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

THE INDUCTION OF NON-SPECIFIC IMMUNITY OF WHEAT BY UV-C TREATMENT AND KOJIC ACID AS A BIOTIC ELICITOR

Aim. Plant protection needs a holistic approach and climate changes escalate the problems of important agricultures growing. The aim of our research was to induce the non-specific tolerance of wheat *Triticum aestivum* to pathogens by UV-C irradiation and kojic acid as a biotic elicitor. **Methods.** Seeds and plants of winter wheat cv Podolyanka were irradiated by Philips TUV 30 W lamp. The contamination was evaluated and phytopathogen identified. The plants of wheat cv Podolyanka were sprayed by 0.1 mM kojic acid water solution at the second leaf stage. During the experiments the endogenous hydrogen peroxide content and morphometric parameters of leaves and roots were measured. **Results.** It is demonstrated that the effectiveness of UV-C irradiation was more significant with lower doses, the optimal is between small doses with the stimulation influence and higher ones. It is shown that the hydrogen peroxide content in infected winter wheat leaves *Triticum aestivum* cv Podolyanka after this combination was high during the first days of experimental period and later stabilized. **Conclusions.** It is detected that combination of UV-C irradiation with kojic acid treatment maintained the plant growth and the development, accelerate their repair and decreased the damage made by phytopathogen *Mucor* sp.

Keywords: *Triticum aestivum*, *Mucor* sp, UV C irradiation, kojic acid, hydrogen peroxide.