

ЖУК І.В.¹, ДМИТРИЄВ О.П.¹, ЛІСОВА Г.М.², КУЧЕРОВА Л.О.²

¹ Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України,
Україна, 03680, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 148, e-mail: ivzhukvi@gmail.com

² Інститут захисту рослин НААН України,
Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 33, e-mail: mail_gl@ukr.net
ivzhukvi@gmail.com, (097) 671-86-19

УЧАСТЬ ФЕРУЛОВОЇ КИСЛОТИ В ІНДУКУВАННІ СТІЙКОСТІ РОСЛИН ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ПРОТИ ЗБУДНИКА СЕПТОРІОЗУ

Останнім часом успішно розвивається новий екологічно безпечний напрям у захисті рослин, що базується на індукуванні їх стійкості за тим механізмом, який здійснюється у природі [1]. За допомогою індукування стійкості у рослин передбачається замінити або, принаймні, послабити шкідливість пестицидів, якими зараз у великих кількостях обробляються сільськогосподарські угіддя.

Відомо, що руйнування клітинної стінки рослини внаслідок проникнення патогену запускає каскад захисних реакцій, у тому числі окиснювальний вибух та активацію синтезу лігніну. Ферулова кислота належить до числа оксикоричних кислот, котрі слугують сайтами ініціації синтезу лігніну та можуть інгібувати руйнування рослинних полісахаридів ферментами фітопатогенних грибів. Лігніфікація клітинної стінки у місцях проникнення патогену підвищує її механічну міцність шляхом утворення поперечних зв'язків полісахаридів за участі оксикоричних кислот [2].

У ході полімеризації оксикоричних спиртів низькомолекулярні фенольні попередники лігніну та вільні радикали можуть інактивувати ферменти та токсини фітопатогенних грибів. У багатьох випадках показано взаємозв'язок між рівнем лігніфікації та стійкістю рослин до хвороб. У відповідь на біотичний стрес у стійких рослин лігнін відкладається швидше, ніж у сприйнятливих. Зокрема, в захисних реакціях пшениці бере участь лігнін сирингільного типу [2]. Використання специфічних інгібіторів лігніфікації викликало пригнічення реакції надчутливості, перетворюючи стійкі рослини пшениці у сприйнятливі [2].

Збудник септоріозу листків – гриб *Septoria tritici* Rob. et Desm. – завдає шкоди на всіх фазах вегетації. Вражає листки шляхом зменшення їх асиміляційної поверхні, порушує розвиток колоса та зернівок. Недобір врожаю за

епіфітотій септоріозу пшениці може сягати 40 % [3].

Мета роботи – дослідити здатність ферулової кислоти як біотичного елісатора індукувати стійкість рослин пшениці *Triticum aestivum* L. до збудника септоріозу.

Матеріали і методи

Об'єкт досліджень – сорт озимої м'якої пшениці *Triticum aestivum* L. – Поліська 90. Оригіна́тор сорту – ННЦ «Інститут землеробства НААН України». У польових дослідках рослини пшениці обприскували 0,1 мМ водним розчином ферулової кислоти у фазі виходу в трубку. На третю добу після обробки проводили інокуляцію спорами збудника септоріозу *Septoria tritici* Rob. et Desm. (10^6 спор/мл) з використанням прилипача Твин-80. У якості маркера індукованої стійкості визначали в прапорцевих листках активність аскорбатпероксидази (АПО) (КФ 1.11.1.11) [4], каталази (КАТ) за Еісінгом і Еркхардом [5], цитоплазматичної пероксидази (КФ 1.11.1.7) за методом Сіверса [6] та вміст пероксиду водню за реакцією з сульфатом титану [7]. Відбір зразків проводили через добу після зараження та в подальшому протягом періоду колосіння–цвітіння та дозрівання зерна. Оцінку ступеня розвитку хвороби проводили у фазу молочно–воскової стиглості за шкалою Саарі та Прескотта [3]. У цей же період визначали морфометричні параметри – висоту рослин та довжину прапорцевого листка. Повторність дослідів трикратна. Результати обробляли статистично з використанням програмного пакету Microsoft Excel.

Результати та обговорення

Показано, що обробка феруловою кислотою рослин озимої пшениці сорту Поліська 90 стимулювала зростання вмісту ендogenousного пероксиду водню. Найвищий його рівень відзна-

чено в інфікованих рослин у фазі молочної стиглості зерна, що пов'язано, ймовірно, з впливом збудника та некрозом клітин тканин (рис. 1 А). У попередньо оброблених феруловою кислотою та інфікованих спорами гриба рослин також зареєстровано високий рівень H_2O_2 , однак дещо нижчий, ніж у необроблених рослин.

Відомо, що накопичення пероксиду водню в клітинах змінює баланс між протеїніназами та факторами регуляції транскрипції, що забезпечує трансдукцію стресового сигналу в геном [8]. Пероксидази беруть участь у синтезі лігніну, а H_2O_2 необхідний для окиснення оксикоричних спиртів. Таким чином, зростання пулу H_2O_2 в оброблених феруловою кислотою листках озимої пшениці зумовлено, можливо, індуцією синтезу лігніну.

Універсальною відповіддю на H_2O_2 є зростання активності антиоксидантних ферментів. Серед них АПО є високоафінним до аскорбату утилізатором пероксиду водню [9, 10]. Виявилося, що в уражених збудником септоріозу рослинах озимої пшениці рівень активності АПО в прапорцевих листках був низьким (рис. 1 Б). Попередня обробка розчином ферулової кислоти інфікованих рослин індукувала значне зростання у них ферментативної активності. Підвищення активності АПО в оброблених феруловою кислотою інфікованих рослин могло бути зумовлено її впливом на транскрипційні факто-

ри, задіяні у біосинтезі цього ферменту або стимуляцією утворення його нових форм.

Встановлено, що активність каталази різко зростала в уражених септоріозом рослин пшениці сорту Поліська 90, однак обробка феруловою кислотою наближала її показники до контрольного рівня (рис. 2 А). Очевидно, це пов'язано з рівнем процесів катаболізму, у яких задіяна каталаза, і в цьому випадку є свідченням впливу ферулової кислоти на механізм затримки деградаційних процесів у листках пшениці за прояву некрозів.

Пероксидази відновлюють H_2O_2 до води і послідовно окиснюють вторинні відновники, зокрема такі, як глутатіон або аскорбат [11]. В інфікованих рослин відзначена висока активність пероксидази, проте попередня обробка рослин феруловою кислотою значно знижувала активність цього ферменту – навіть до рівня нижчого від контрольного (рис. 2 Б).

Активність пероксидази – субстратіндуцибельного ферменту, що утилізує пероксид водню та бере участь у процесах лігніфікації клітинних стінок, – забезпечує антиоксидантний захист тих органел, де відсутня АПО [12]. Одержані дані свідчать, що ферулова кислота, задіяна в біосинтезі лігніну, очевидно, опосередковано впливає на активність пероксидази за цих умов.

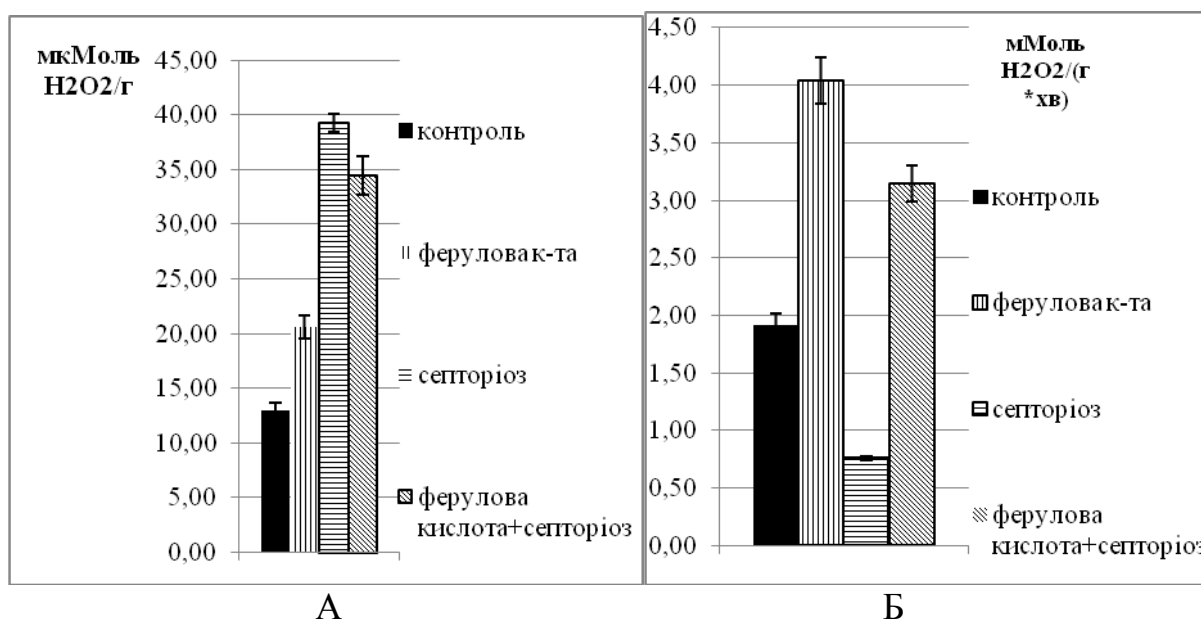


Рис. 1. Вміст ендогенного пероксиду водню (А) та активність аскорбатпероксидази (Б) у прапорцевих листках озимої пшениці сорту Поліська 90, оброблених феруловою кислотою та інфікованих збудником септоріозу.

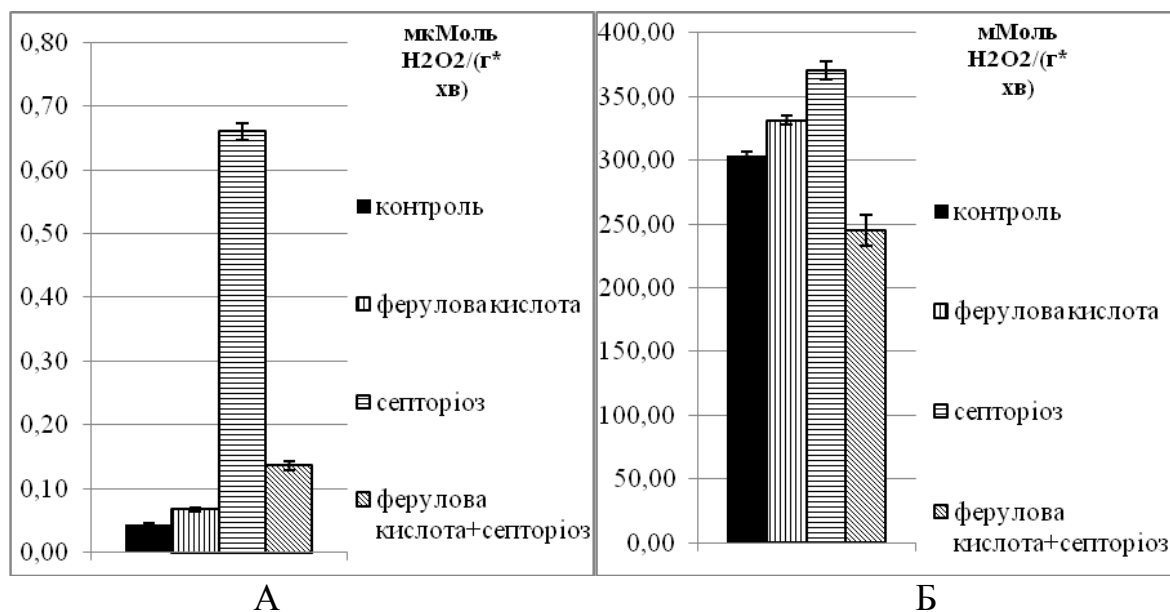


Рис. 2. Активність каталази (А) та пероксидази (Б) у прапорцевих листках озимої пшениці сорту Поліська 90, оброблених феруловою кислотою та інфікованих збудником септоріозу.

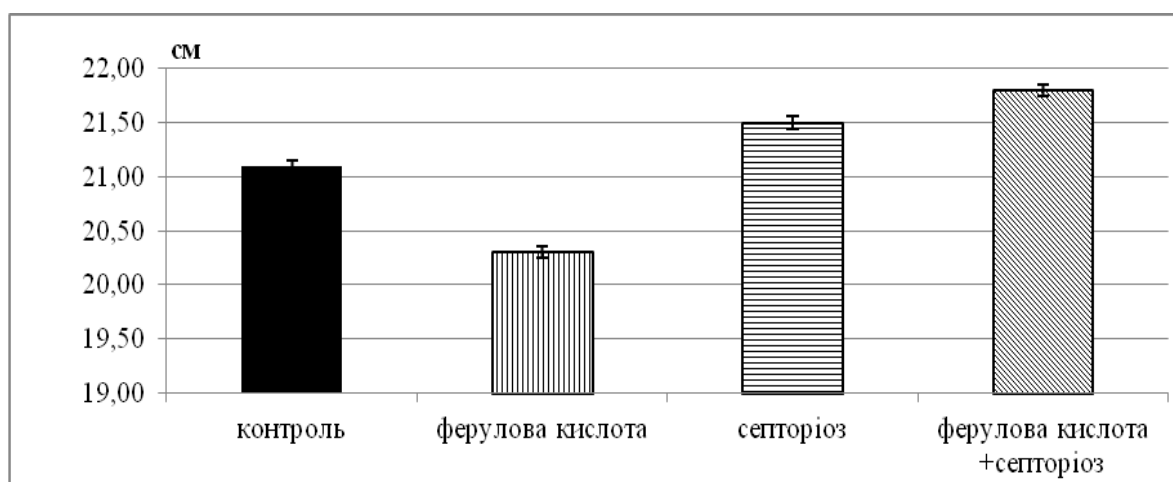


Рис. 3. Довжина прапорцевих листків озимої пшениці сорту Поліська 90, оброблених феруловою кислотою та інфікованих збудником септоріозу.

Встановлено, що обробка феруловою кислотою стимулювала ріст стебла у висоту, хоча в інфікованих рослин це виявилось недостатнім для компенсації негативного впливу збудника септоріозу. Однак довжина прапорцевих листків, які забезпечують фотоасимілятами колос у період його формування, в оброблених феруловою кислотою та інфікованих рослин виявилася більшою, ніж у необроблених (рис. 3).

Зменшення довжини прапорцевих листків в оброблених феруловою кислотою рослин пшениці озимої сорту Поліська є наслідком того, що ця оксикорична кислота ініціює синтез лігніну, що у свою чергу зупиняє ріст клітин

листка розтягненням. Видовження інфікованих збудником септоріозу листків пшениці озимої зумовлено, ймовірно, впливом патогену на баланс фітогормонів та можливим порушенням процесів лігніфікації клітинної стінки.

За шкалою Саарі-Прескотта відзначено зниження ступеня ураження листків рослин, оброблених попередньо феруловою кислотою, на 1–2 бали порівняно з необробленими. Показано, що зростання врожаю зумовлено формуванням більшої кількості зернівок та підвищенням їх маси, порівняно з варіантами, необробленими еліситором.

Одержані дані свідчать, що попередня обробка розчином ферулової кислоти індукувала в

інфікованих збудником септоріозу рослин озимої пшениці зростання пулу ендogenous пероксидази водню. Підвищення активності аскорбатпероксидази є, ймовірно, свідченням того, що вона, на відміну від каталази та пероксидази, виступала головним утилізатором H_2O_2 . Можливо, ферулова кислота виступала в ролі ініціатора додаткового синтезу лігніну, що зумовило її захисну дію проти інфекції. Високий рівень аскорбатпероксидази та зниження рівня каталази водночас зі зменшенням площі листя, ураженого *S. tritici*, очевидно, вказують на інгібування катаболічних процесів та пролонгацію функціонування листя як джерела фотоасимілятів.

Література

1. Дмитрієв О.П., Ковбасенко р.В., Лапа С.В. Сигнальні системи рослин та формування стійкості рослин проти біотичного стресу. – К.: Фенікс, 2015. – 192 с.
2. Weng J.-K., Chapple C. The origin and evolution of lignin biosynthesis // *New Phytologist*. – 2010. – V. 187. – P. 273–285.
3. Бабаянц О.В., Бабаянц Л.Т. Основы селекции и методологии оценки устойчивости пшеницы к возбудителям болезней. – Одесса: ВМВ, 2014. – 401 с.
4. Nakano Y., Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts // *Plant Cell Physiol*. – 1981. – V. 22 – P. 867–880.
5. Luck H. Catalase. In HU Bergmeyer, *Methods of Enzymatic Analysis* // Academic Press. – New York, 1965. – P. 885–894.
6. Seevers P. M., Daly J.M., Catedral F.F. The role of peroxidase isozymes in resistance to wheat stem rust disease // *Plant Physiol*. – 1971. – V.48, N 3 – P. 353–360.
7. Chen L.-M., Kao C.-H. Effect of excess copper on rice leaves: evidence for involvement of lipid peroxidation // *Bot. Bull. Acad. Sin.* – 1999. – V. 40. – P. 283–287.
8. Van Breusegem F., Vranova E., Dat J.F., Inze D. The role of active oxygen species in plant signal transduction // *Plant Science*. – 2001. – V. 161. – P. 405–414.
9. Chen Z., Gallie D.R. The ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomatal movement // *Plant Cell*. – 2004. – V. 16. – P. 1143–1162.
10. Foyer C.H., Noctor G. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub // *Plant Physiol*. – 2011. – V. 155. – P. 2–18.
11. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *TRENDS in Plant Science*. – 2002. – V. 7, N 9. – P. 405–410.
12. Soltis N.E., Kliebenstein D.J. Natural variation of plant metabolism: genetic mechanisms, interpretive caveats, and evolutionary and mechanistic insights // *Plant Physiology*. – 2015. – V. 169. – P. 1456–1460.

ZHUK I.V.¹, DMITRIEV A.P.¹, LYSOVA G.M.², KUCHEROVA L.O.²

¹ Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, Natl. Acad. Sci. Ukraine, Ukraine, 03680, Kyiv, Acad. Zabolotnogo str., 148, e-mail: ivzhukvi@gmail.com

² Institute of Plant Protection of Natl. Acad. Agrar. Sci. Ukraine, Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylykivska str., 33, e-mail: mail_gl@ukr.net

PARTICIPATION OF FERULIC ACID IN ELICITATION OF WINTER WHEAT PLANTS RESISTANCE AGAINST *SEPTORIA TRITICI* INFECTION

Aim. The usage of biotic elicitors for elicitation of defense responses may induce plant disease resistance and prevent increased environmental pollution by pesticides. The aim of research was to analyze in field trials participation of ferulic acid in elicitation of winter wheat resistance against *Septoria tritici* blotch agent. **Methods.** Content of endogenous H_2O_2 , peroxidase, catalase and ascorbatperoxidase activities were measured in elicitor-treated and inoculated by *S. tritici* blotch winter wheat plants (cv. Poliska 90) during different ontogenesis phases. The extent of disease development, morphometric parameters and yield structure were analyzed. **Results.** The data obtained suggest that ferulic acid induced defense responses in winter wheat against *S. tritici* blotch agent. Initiation of defense responses in elicitor-treated plants occurred shortly. Hydrogen peroxide content was enhanced in elicitor-treated plants. **Conclusions.** Ferulic acid could be used as biotic elicitor. It increased the wheat grain quantity. Elicitation of biochemical nature of induced defense responses revealed increased peroxidase activities for lignin biosynthesis and mechanical strengthening of the plant cell walls.

Keywords: winter wheat, biotic elicitors, induced resistance, ferulic acid, *Triticum aestivum* L., *Septoria tritici*.