

## АНОТАЦІЯ

**Шклярєвський М.А. Функціональна взаємодія фітогормонів і газотрансмітерів при адаптації рослин до абіотичних стресорів.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія». – Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва, Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ, 2021.

Останніми роками значна увага приділяється з'ясуванню функцій газотрансмітерів (сигнальних газоподібних молекул) у рослин. Основними газотрансмітерами вважаються оксид азоту (NO), сірководень (H<sub>2</sub>S) і монооксид вуглецю (CO). Особливо важливі вони для передачі в генетичний апарат клітини стресових сигналів. Проте роль функціональних зв'язків газотрансмітерів між собою та з іншими сигнальними посередниками і стресовими фітогормонами у регуляції адаптивних процесів у рослин дотепер малодосліджена.

Дисертаційна робота присвячена вивченню ефектів функціональної взаємодії ключових газотрансмітерів (NO, H<sub>2</sub>S, CO) між собою, з іншими сигнальними посередниками та окремими компонентами гормональної системи рослин у зв'язку з їх адаптацією до гіпертермії і сольового стресу. Основними завданнями роботи було дослідити вплив донора монооксиду вуглецю геміну на теплостійкість проростків пшениці та функціонування їх антиоксидантної системи і встановити участь активних форм кисню, іонів кальцію та оксиду азоту у реалізації стрес-протекторної дії CO; довести участь сірководню у реалізації стрес-протекторної дії саліцилової кислоти на проростки пшениці за умов гіпертермії; дослідити можливість модифікації впливу брасиностероїду

24-епібрасиноліду на стійкість проростків пшениці до гіпертермії дією донора оксиду азоту; з використанням мутантних ліній арабідопсису *coil* та *jin1* встановити роль компонентів жасмонатного сигналіngu в реалізації стрес-протекторних ефектів газотрансмітерів за дії на рослини арабідопсису сольового стресу.

У дослідженнях використовували рослини пшениці озимої м'якої (*Triticum aestivum* L.) сорту Досконала і арабідопсису (*Arabidopsis thaliana* L.) дикого типу (Col-0) та мутантних ліній *coil* і *jin1*, дефектних за жасмонатним сигналіngом.

Чотиридобові етіюльовані проростки пшениці використовували для дослідження впливу донорів газотрансмітерів та стресових фітогормонів на теплостійкість і функціонування стрес-протекторних систем. Як донор СО використовували гемін у кінцевих концентраціях діапазону 0,05-50 мкМ, донором сірководню слугував гідросульфід натрію – NaHS (0,025-1 мМ), а донором NO – нітропрурид натрію (НПН – 0,1-5 мМ). Вказані сполуки вносили у середовище інкубації проростків і витримували зразки на ньому протягом 24 год.

При дослідженні дії стресових фітогормонів 24-епібрасиноліду (24-ЕБЛ – 5-200 нМ) та саліцилової кислоти (СК – 0,1-50 мкМ) на теплостійкість проростків пшениці та їх біохімічні показники вказані фітогормони також вносили у середовище інкубації і витримували зразки 24 год.

Для оцінки участі сигнальних посередників у реалізації фізіологічних ефектів досліджуваних газотрансмітерів і фітогормонів використовували скавенджер СО гемоглобін (10 мкМ), скавенджери NO РТЮ (0,1 мМ) і метиленовий синій (10 мкМ), скавенджер пероксиду водню диметилтіосечовину (ДМТС, 150 мкМ), інгібітор пероксидази азид натрію (NaN<sub>3</sub>, 1 мМ), інгібітор НАДФН-оксидази імідазол (10 мкМ), хелатор кальцію ЕГТА (500 мкМ), інгібітор утворення інозитол-1,4,5-фосфату неоміцин (200 мкМ), інгібітор нітратредуктази вольфрамат натрію (2 мМ) та інгібітор NO-синтази і діаміноксидази аміногуанідин (1 мМ). Також в експериментах

використовували антагоністи  $H_2S$  (інгібітори L-цистеїндесульфгідрази) 0,3 мМ гідроксиламін і 0,3 мМ піруват калію.

Після обробки досліджуваними сполуками або їх комбінаціями проростки пшениці піддавали ушкоджувальному прогріву у водяному термостаті за температури  $45^{\circ}C$  протягом 10 хв. Через 3 доби після прогріву визначали їх виживаність.

Під час інкубації проростків пшениці на розчинах досліджуваних сполук, а в окремих експериментах і після стресового впливу високої температури визначали біохімічні показники: вміст у коренях проростків пероксиду водню, оксиду азоту, сірководню, малонового діальдегіду (МДА), активність ферментів – супероксиддисмутази (СОД), каталази, внутрішньоклітинної та позаклітинної пероксидази, нітратредуктази.

При дослідженні ролі компонентів жасмонатного сигналіngu у реалізації стрес-протекторних ефектів газотрансмітерів ( $H_2S$ , NO, CO) за дії сольового стресу використовували 4-тижневі рослини арабідопсису дикого типу (Col-0) та лінії, дефектні за жасмонатним сигналіngом – *coil* (мутант за геном, що кодує білок COI1, який бере участь у видаленні білків-репресорів транскрипційних факторів жасмонатного сигналіngu) і *jin1* (мутант за геном JIN1, що кодує білок транскрипційний фактор JIN1/MYC2, необхідний для трансдукції сигналу жасмонової кислоти). Досліджувані сполуки – донор сірководню NaHS (50 мкМ), донор NO НПН (500 мкМ) та донор CO гемін (2 мкМ) – вносили у поживне середовище відповідних варіантів та інкубували на ньому рослини протягом 24 годин. Після цього рослини переносили на поживне середовище без донорів газотрансмітерів, але з додаванням 150 або 175 мМ NaCl. Після 24-годинної інкубації рослин в присутності хлориду натрію середовище змінювали на звичайне.

У зрілих розеткових листках арабідопсису під час експерименту визначали цілісність мембран (за виходом електролітів), водний дефіцит, вміст МДА, вміст хлорофілів і каротиноїдів, кількість осмолітів – проліну і цукрів, активність антиоксидантних ферментів – СОД, каталази і гваяколпероксидази.

При дослідженні впливу екзогенного монооксиду вуглецю на теплостійкість встановлено, що обробка проростків пшениці донором СО геміном індукувала розвиток їх теплостійкості. Однією з причин стрес-протекторної дії донора СО на проростки пшениці, ймовірно, є активація ферментативної антиоксидантної системи. Встановлено, що донор СО підвищував активність СОД, каталази та гваяколпероксидази у коренях проростків пшениці.

Ймовірними посередниками у реалізації стрес-протекторного впливу донора СО на проростки пшениці є іони кальцію, АФК і NO. Ефекти індукування обробкою геміном теплостійкості проростків та підвищення в них активності антиоксидантних ферментів усувалися антагоністами кальцію (ЕГТА і неоміцином) та скавенджером пероксиду водню ДМТС. Також спричинюване донором СО підвищення виживаності проростків після теплового стресу усувалося скавенджером NO РТЮ.

Посилення утворення пероксиду водню в коренях проростків пшениці за дії геміну мало транзиторний характер. Його максимум спостерігався після попереднього підвищення активності позаклітинної пероксидази. Зростання вмісту  $H_2O_2$ , спричинюване донором СО, усувалося інгібітором пероксидази азидом натрію. Підвищення активності пероксидази і вмісту пероксиду водню, індуковане дією геміну, не проявлялося у присутності антагоністів кальцію (ЕГТА і неоміцину) і NO (РТЮ і вольфрамату натрію). Це вказує на роль кальцію і оксиду азоту в посиленні утворення пероксиду водню пероксидазою за дії донора СО на клітини коренів проростків пшениці.

Вміст NO за обробки коренів проростків пшениці геміном також транзиторно зростав. Цей ефект усувався інгібітором нітратредуктази вольфраматом натрію, що свідчить про роль нітратредуктази як основного ферментативного джерела NO, яке активується за дії геміну на клітини коренів проростків пшениці. Водночас процес утворення NO, активований донором СО, виявився залежним від кальцієвого гомеостазу, оскільки усувався дією антагоністів кальцію ЕГТА і неоміцину. З іншого боку, індуковане донором

монооксиду вуглецю підвищення активності нітратредуктази і зростання вмісту NO в коренях проростків пшениці не усувалося антиоксидантом ДМТС. Це свідчить про те, що у сигнальному ланцюгу, активованому монооксидом вуглецю, NO розташований вище від пероксиду водню.

В цілому ймовірний розвиток сигнальних подій у клітинах проростків пшениці у присутності донора CO геміну можна представити так: вплив CO → підвищення  $[Ca^{2+}]_{цит}$  → активація НР → підвищення вмісту NO → активація позаклітинної пероксидази → підвищення вмісту  $H_2O_2$  → активація антиоксидантної та інших протекторних систем → розвиток теплостійкості.

Одним із завдань роботи було дослідження можливої ролі газотрансмітера сірководню як посередника в реалізації протекторного впливу саліцилової кислоти (СК) на проростки пшениці за умов теплового стресу. Встановлено, що обробка проростків СК або NaHS викликала підвищення їх стійкості до ушкоджуючого прогріву. При цьому, під впливом СК відбувалося транзиторне збільшення вмісту сірководню у коренях з максимальним ефектом через 2-3 години після початку обробки. Обробка коренів СК викликала підвищення в них активності СОД, каталази і гваяколпероксидази. Інгібітори синтезу сірководню гідроксиламін та піруват калію частково усували викликані СК ефекти підвищення активності антиоксидантних ферментів і розвитку теплостійкості проростків. У той же час комбінована обробка СК і NaHS сприяла додатковому збільшенню активності антиоксидантних ферментів і підвищенню виживаності проростків пшениці після прогріву.

Для дослідження можливості посилення стрес-протекторної дії 24-ЕБЛ на проростки пшениці за умов гіпертермії оцінювали вплив комбінованої обробки проростків 24-ЕБЛ і донора NO нітропрусиду натрію (НПН) в різних концентраціях. Комбінована обробка 24-ЕБЛ і НПН в оптимальних концентраціях викликала більш істотну захисну дію у порівнянні з обробкою кожною сполукою окремо. У той же час спільна дія високих концентрацій знижувала теплостійкість проростків. Під впливом 24-ЕБЛ і НПН у концентраціях, що чинили захисний вплив, а також їх комбінацій,

підвищувалася активність СОД у коренях. Після прогріву найвищі значення активності СОД зберігалися у варіанті з комбінованою обробкою проростків пшениці 24-ЕБЛ і НПН у низьких концентраціях.

Отже, стрес-протекторна дія фітогормонів СК і БС може бути підсилена їх застосуванням у поєднанні з донорами газотрансмітерів – сірководню і оксиду азоту, відповідно. При цьому донори газотрансмітерів у низьких концентраціях разом з фітогормонами посилювали вплив останніх на одну з ключових захисних систем клітин – антиоксидантну. Це робить перспективною для практичного застосування обробку рослин комбінацією стресових фітогормонів і донорів газотрансмітерів.

Для з'ясування участі ключових білкових компонентів жасмонатного сигналіngu (рецептора жасмонату COI1 і транскрипційного фактора JIN1/MYC2) у реалізації стрес-протекторних ефектів газотрансмітерів порівнювали реакції на сольовий стрес рослин арабідопсису дикого типу (Col-0) і дефектних за жасмонатним сигналіngом мутантів *coil* і *jin1* при їх обробці донорами газотрансмітерів – НПН (NO), NaHS (H<sub>2</sub>S) і геміном (CO).

Донори NO і H<sub>2</sub>S чинили схожий позитивний вплив на солестійкість рослин дикого типу, що виявлялося у зниженні під їх впливом водного дефіциту листків, зменшенні окиснювальних пошкоджень, стабілізації проникності мембран і вмісту хлорофілу за дії 175 мМ NaCl. Також під впливом обробки NaHS і НПН при засоленні у рослин Col-0 підвищувалася активність супероксиддисмутази і каталази, але зменшувалося стрес-індуковане накопичення проліну. Попередня обробка мутантів *coil* і *jin1* донорами NO і H<sub>2</sub>S не запобігала спричинюваному дією NaCl посиленню пероксидного окиснення ліпідів, не сприяла зменшенню проникності мембран і збереженню пулу хлорофілів в стресових умовах. Також в обох мутантів, оброблених NaHS або НПН, не відзначалося підвищення активності СОД і каталази за дії солі. Обробка донорами NO і H<sub>2</sub>S не чинила впливу на величину водного дефіциту і вміст проліну в листках мутанта *jin1*, хоча дещо зменшувала прояв даних показників у мутанта *coil*.

Обробка рослин арабідопсису 2 мкМ геміном пом'якшувала ефект сольового стресу у генотипу дикого типу, але не у *coil* і *jin1*. Також під впливом донора СО відзначалася стабілізація вмісту фотосинтетичних пігментів в умовах сольового стресу у рослин Col-0, але не мутантів за жасмонатним сигналінгом. У рослин арабідопсису дикого типу, оброблених геміном, у відповідь на дію хлориду натрію накопичувалася більша кількість проліну і цукрів порівняно з рослинами генотипів *coil* і *jin1*. Обробка геміном стабілізувала активність каталази і підвищувала активність гваяколпероксидази в стресових умовах у рослин дикого типу.

Отримані результати вказують на залучення компонентів жасмонатного сигналінгу (білків COI1 і JIN1/MYC2) в реалізацію стрес-протекторної дії сірководню, оксиду азоту та монооксиду вуглецю на рослини арабідопсису при сольовому стресі. Водночас механізми їх участі у процесах сигналінгу газотрансмітерів потребують спеціальних досліджень.

Дисертаційне дослідження істотно доповнює фундаментальні знання про механізми функціональної взаємодії між сигнальними посередниками-газотрансмітерами (СО, NO, H<sub>2</sub>S) та окремими стресовими фітогормонами (жасмоновою і саліциловою кислотами та брасиностероїдами). Отримані результати можуть стати теоретичним підґрунтям для розробки нових методів підвищення стійкості рослин пшениці до несприятливих чинників навколишнього середовища, зокрема, високих температур і засолення.

**Ключові слова:** газотрансмітери, монооксид вуглецю, оксид азоту, сірководень, активні форми кисню, кальцій, фітогормони, антиоксидантна система, теплостійкість, солестійкість, *Triticum aestivum*, *Arabidopsis thaliana*

## SUMMARY

**Shkliarevskyi M.A. Functional interaction of phytohormones and gasotransmitters during adaptation of plants to abiotic stressors. – Qualifying scientific work as manuscript.**

Thesis for PhD in Biology for specialty 091 «Biology». – Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University, M.G. Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2021.

In recent years, much attention has been paid to elucidating the functions of gasotransmitters (signal gaseous molecules) in plants. The main gasotransmitters are nitric oxide (NO), hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S), and carbon monoxide (CO). They are especially important for the transmission of stress signals to a cell's genetic apparatus. However, the role of functional connections of gasotransmitters with each other and with other signaling mediators and stress phytohormones in regulating adaptive processes in plants has been poorly understood.

PhD thesis is devoted to the study of the effects of functional interaction of key gas transmitters (NO, H<sub>2</sub>S, CO) with each other, with other signaling mediators and individual components of the hormonal system of plants in connection with their adaptation to hyperthermia and salt stress. The main objectives of the work were to study the effect of carbon monoxide donor hemin on the heat resistance of wheat seedlings and the functioning of their antioxidant system and to establish the participation of reactive oxygen species, calcium ions, and nitric oxide in implementing stress-protective action of CO; to prove the participation of hydrogen sulfide in implementing the stress-protective effect of salicylic acid on wheat seedlings under conditions of hyperthermia; to study the possibility of modifying the effect of brassinosteroid 24-epibrasinolide on the resistance of wheat seedlings to hyperthermia by the action of nitric oxide donor; using the mutant lines of *Arabidopsis coi1* and *jin1*, to establish the role of jasmonate signaling components in implementing stress-protective effects of gasotransmitters under the action of salt stress on *Arabidopsis* plants.

The studies used wheat plants (*Triticum aestivum* L.) of the Doskonala variety, and wild-type *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* L.) (Col-0), and mutant lines *coi1* and *jin1*, defective in jasmonate signaling.



Four-day etiolated wheat seedlings were used to study the effect of donors of gasotransmitters and stress phytohormones on heat resistance and the functioning of stress-protective systems. Hemin was used as a CO donor in final concentrations in the range of 0,05-50  $\mu\text{M}$ , sodium hydrosulfide - NaHS (0,025-1 mM) served as a hydrogen sulfide donor, and sodium nitroprusside (SNP – 0,1-5 mM) served as a NO donor. These compounds were added to the incubation medium of seedlings, and the incubation term was 24 hours.

In the effect's study of stress phytohormones 24-epibrasinolide (24-EBL – 5-200 nM) and salicylic acid (SC – 0,1-50  $\mu\text{M}$ ) on the heat resistance of wheat seedlings and their biochemical parameters, these phytohormones were also added to the incubation medium and kept samples for 24h.

To assess the participation of signaling mediators in implementing physiological effects of the studied gasotransmitters and phytohormones used scavenger CO hemoglobin (10  $\mu\text{M}$ ), NO scavengers PTIO (0,1  $\mu\text{M}$ ) and methylene blue (10  $\mu\text{M}$ ), scavenger of hydrogen peroxide dimethylthiourea (DMTU, 150  $\mu\text{M}$ ), peroxidase inhibitor sodium azide ( $\text{NaN}_3$ , 1 mM), NADPH oxidase inhibitor imidazole (10  $\mu\text{M}$ ), calcium chelator EGTA (500  $\mu\text{M}$ ), an inhibitor of inositol-1,4,5-phosphate production neomycin (200  $\mu\text{M}$ ), nitrate reductase inhibitor sodium tungstate (2 mM), NO-synthase and diamine oxidase inhibitor aminoguanidine (1 mM).  $\text{H}_2\text{S}$  antagonists (L-cysteine disulfide inhibitors) 0,3 mM hydroxylamine and 0,3 mM potassium pyruvate were also used in the experiments.

After treatment with the studied compounds or their combinations, wheat seedlings were subjected to damaging heating in a water thermostat at a temperature of 45°C for 10 minutes. Their survival was determined 3 days after heating.

During incubation of wheat seedlings in solutions of studied compounds, and in some experiments after stress exposure to high temperatures, determined biochemical parameters: the content in seedlings' roots of hydrogen peroxide, nitric oxide, hydrogen sulfide, malonic dialdehyde (MDA), enzymes activity – superoxide dismutase, catalase, intracellular and extracellular peroxidase, nitrate reductase.

In the study of the role of jasmonate signaling components in implementing stress-protective effects of gasotransmitters (H<sub>2</sub>S, NO, CO) under the action of salt stress used 4-week-old wild-type plants of arabidopsis (Col-0) and lines defective in jasmonate signaling – *coi1* (mutant by gene, encoding the protein COI1, which is involved in the removal of repressor proteins of jasmonate signaling transcription factors) and *jin1* (mutant in the gene JIN1, encoding the protein transcription factor JIN1/MYC2, required for transduction of jasmonic acid signal). Studied compounds – hydrogen sulfide donor NaHS (50 μM), NO donor SNP (500 μM), and CO donor hemin (2 μM) - were introduced into the nutrient medium of the respective variants and the plants were incubated on it for 24 hours. After that, the plants were transferred to a nutrient medium without gasotransmitters donors, but with the addition of 150 or 175 mm NaCl. After 24 hours of incubation of plants in the presence of sodium chloride, the medium was changed to normal.

During the experiment in mature rosette leaves of arabidopsis determined the integrity of membranes (electrolyte yield), water deficiency, MDA content, chlorophylls and carotenoids content, amount of osmolites – proline and sugars, the activity of antioxidant enzymes – SOD, catalase, and guaiacol peroxidase.

In the study of the effect of exogenous carbon monoxide on heat resistance, it was found that treatment of wheat seedlings with CO donor hemin induced the development of their heat resistance. One reason for the stress-protective effect of the CO donor on wheat seedlings is probably the activation of the enzymatic antioxidant system. It was found that the CO donor increased the activity of SOD, catalase, and guaiacol peroxidase in the roots of wheat seedlings.

Probable mediators in implementing the stress-protective effect of the CO donor on wheat seedlings are calcium ions, ROS, and NO. The effects of inducing heat resistance of seedlings by hemin treatment and increasing the activity of antioxidant enzymes in them were eliminated by calcium antagonists (EGTA and neomycin) and hydrogen peroxide scavenger DMTU. The CO donor-induced increase in seedlings' survival after heat stress was also eliminated by the NO scavenger PTIO.

Increased formation of hydrogen peroxide in roots of wheat seedlings under the action of hemin was transient. Its maximum was observed after a previous increase in extracellular peroxidase activity. The increase in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> caused by the CO donor was eliminated by the peroxidase inhibitor sodium azide. The increase in peroxidase activity and hydrogen peroxide content induced by the action of hemin was not manifested in the presence of antagonists of calcium (EGTA and neomycin) and NO (PTIO and sodium tungstate). This shows the role of calcium and nitric oxide in enhancing the formation of hydrogen peroxide by peroxidase under the action of the CO donor on wheat seedlings root cells.

The NO content during treatment of wheat seedling roots with hemin also increased transiently. This effect was eliminated by nitrate reductase inhibitor sodium tungstate that shows the role of nitrate reductase as the main enzymatic source of NO, which is activated by the action of hemin on root cells of wheat seedlings. At the same time, the process of NO formation activated by the CO donor turned out to be dependent on calcium homeostasis, as it was eliminated by the action of calcium antagonists EGTA and neomycin. On the other hand, the carbon monoxide donor-induced increase in nitrate reductase activity and increase in NO content in wheat seedling roots was not eliminated by the antioxidant DMTU. This shows that in the signal chain activated by carbon monoxide, NO is located above hydrogen peroxide.

In general, the probable development of signaling events in wheat seedling cells in the presence of a CO donor hemin can be represented as follows: CO effect → increase in [Ca<sup>2+</sup>]<sub>c</sub> → NR activation → increase in NO content → activation of extracellular peroxidase → increase in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content → activation of anti-oxidative and other protective systems → development of heat resistance.

One of the tasks of the work was to study the possible role of the hydrogen sulfide gasotransmitter as a mediator in implementing the protective effect of salicylic acid (SA) on wheat seedlings under heat stress. It was found that the treatment of seedlings with SA or NaHS caused an increase in their resistance to damaging heating. At the same time, under the influence of SA, there was a transient increase in the hydrogen sulfide content in roots with the maximum effect in 2-3

hours after the start of treatment. Treatment of roots with SA caused an increase in the activity of SOD, catalase, and guaiacol peroxidase. Hydrogen sulfide synthesis inhibitors hydroxylamine and potassium pyruvate partially eliminated the SA-induced effects of increasing the activity of antioxidant enzymes and the development of heat resistance of seedlings. At the same time, the combined treatment with SA and NaHS contributed to an additional increase in the activity of antioxidant enzymes and increase the survival of wheat seedlings after heating.

To study the possibility of enhancing the stress-protective effect of 24-EBL on wheat seedlings under conditions of hyperthermia, the effect of combined treatment of seedlings with 24-EBL and NO donor sodium nitroprusside (SNP) in different concentrations was evaluated. The combined treatment of 24-EBL and SNP in optimal concentrations caused a more significant protective effect compared to the treatment of each compound separately. At the same time, the combined effect of high concentrations reduced the heat resistance of seedlings. Under the influence of 24-EBL and SNP in concentrations that had a protective effect, as well as their combinations, the activity of SOD in roots increased. After heating, the highest values of SOD activity were maintained in the variant with the combined treatment of wheat seedlings with 24-EBL and SNP in low concentrations.

Therefore, the stress-protective effect of phytohormones SA and BS can be enhanced by their use in combination with donors of gasotransmitters - hydrogen sulfide and nitric oxide, respectively. At the same time, donors of gasotransmitters in low concentrations together with phytohormones increased the influence of the latter on one of the key protective systems of cells - antioxidant. This makes the treatment of plants with a combination of stress phytohormones and gasotransmitter donors promising for practical use.

In order to study the participation of key protein components of jasmonate signaling (COI1 jasmonate receptor and JIN1/MYC2 transcription factor) in implementing stress-protective effects of gasotransmitters, reactions to salt stress of wild-type *Arabidopsis* plants (Col-0), *coil* and *jin1* mutants under the treatment with

donors of gasotransmitters - SNP (NO), NaHS (H<sub>2</sub>S) and hemin (CO), were compared.

NO, and H<sub>2</sub>S donors had a similar positive effect on the salt resistance of wild-type plants, which was manifested in the reduction under their influence of water deficiency of leaves, reduction of oxidative damage, stabilization of membrane permeability, and chlorophyll content during the influence of 175 mM NaCl. Also under the influence of NaHS and SNP treatment during salinization in Col-0 plants, the activity of superoxide dismutase and catalase increased, but the stress-induced accumulation of proline decreased. Pre-treatment of *coil* and *jin1* mutants with NO and H<sub>2</sub>S donors did not prevent NaCl-induced enhancement of lipid peroxidation, did not reduce membrane permeability, and preserve the chlorophyll pool under stress. Also in both mutants treated with NaHS or SNP, there was no increase in the activity of SOD and catalase under the action of salt. Treatment with NO and H<sub>2</sub>S donors did not affect the amount of water deficiency and the content of proline in leaves of *jin1* mutant, although it somewhat reduced the manifestation of these indicators in *coil* mutant.

The treatment of Arabidopsis plants with 2 μM hemin reduced the effect of salt stress in wild-type genotype, but not in *coil* and *jin1*. Also under the influence of the CO donor, there was a stabilization of the content of photosynthetic pigments under salt stress in Col-0 plants, but not in mutants by jasmonate signaling. Hemin-treated wild-type Arabidopsis plants accumulated more proline and sugars in response to sodium chloride than *coil* and *jin1* genotype plants. Hemin treatment stabilized catalase activity and increased guaiacol peroxidase activity under stress conditions in wild-type plants.

The obtained results indicate the involvement of jasmonate signaling components (COI1 and JIN1/MYC2 proteins) in implementing the stress-protective effect of hydrogen sulfide, nitric oxide, and carbon monoxide on Arabidopsis plants under salt stress. At the same time, the mechanisms of their participation in the signaling processes of gasotransmitters require special studies.

The dissertation research significantly complements the fundamental knowledge about the mechanisms of functional interaction between signaling mediators-gasotransmitters (CO, NO, H<sub>2</sub>S) and separate stress phytohormones (jasmonic and salicylic acids and brassinosteroids). The obtained results can become a theoretical basis for the development of new methods to increase the resistance of wheat plants to adverse environmental factors, in particular, high temperatures and salinity.

**Keywords:** gasotransmitters, carbon monoxide, nitric oxide, hydrogen sulfide, reactive oxygen species, calcium, phytohormones, antioxidant system, heat resistance, salt resistance, *Triticum aestivum*, *Arabidopsis thaliana*

## ПЕРЕЛІК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

### Статті у наукових виданнях, що індексовані

#### у наукометричній базі даних Scopus:

1. **Shkliarevskiy, M. A.**, Karpets, Yu. V., Kolupaev, Yu. E., Lugovaya, A. A., & Dmitriev, A. P. (2020). Calcium-Dependent Changes in Cellular Redox Homeostasis and Heat Resistance of Wheat Plantlets under Influence of Hemin (Carbon Monoxide Donor). *Cytology and Genetics*, 54(6), 522–530. (Особистий внесок дисертанта: проведенні експериментів, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці тексту статті)

2. Karpets, Yu. V., **Shkliarevskiy, M. A.**, Khripach, V. A., & Kolupaev, Yu. E. (2021). State of enzymatic antioxidative system and heat resistance of wheat plantlets treated by combination of 24-epibrassinolide and NO donor. *Cereal Research Communications*, 49, 207–216. DOI: 10.1007/s42976-020-00090-5 (Особистий внесок дисертанта: участь у проведенні експериментів, обробці результатів, підготовці тексту статті)

3. Yastreba, T. O., Kolupaev, Yu. E., **Shkliarevskiy, M. A.**, Dyachenko, A. I., & Dmitriev, A. P. (2020). Involvement of Jasmonate Signaling Components in Salt Stress-Induced Stomatal Closure in *Arabidopsis thaliana*. *Cytology and Genetics*,

54(4), 318–323. (Особистий внесок дисертанта: участь у проведенні експериментів, обробка результатів)

### Статті у наукових фахових виданнях України:

1. **Шкляревський, М.А.**, Карпець, Ю.В., Лугова, Г.А., & Горелова, О.І. (2019). Комбінована дія нітропрусиду натрію та 24-епібрасинолідів на редокс-гомеостаз і теплостійкість проростків пшениці. *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*, 2(47), 71–81. (Особистий внесок дисертанта: участь у проведенні експериментів, обробці та інтерпретації результатів, підготовці тексту статті)

2. **Шкляревський, М. А.**, Тарабан, Д. А., Павлов, Ю. П., & Карпець, Ю. В. (2019). Індукування неспецифічної стійкості сіянців сосни звичайної дією 24-епібрасинолідів. *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*, 3(48), 75–86. (Особистий внесок дисертанта: проведення експериментів, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці тексту статті)

3. **Шкляревський, М. А.**, Колупаєв, Ю. Є., Карпець, Ю. В., Швиденко, М. В., & Дмитрієв, О. П. (2020). Вплив донора монооксиду вуглецю (CO) на теплостійкість проростків пшениці та генерацію ними активних форм кисню. *Доповіді Національної академії наук України*, 8, 73–80. (Особистий внесок дисертанта: проведення експериментів, обробка результатів, участь в їх інтерпретації та підготовці тексту статті)

4. Ястреб, Т. О., **Шкляревський, М. А.**, Колупаєв, Ю. Є., Карпець, Ю. В., & Дяченко, А. І. (2021). *Arabidopsis thaliana* у водній культурі як модельний об'єкт для досліджень фізіологічних ефектів сигнальних посередників і стресових фітогормонів. *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*, 1(52), 89–97. (Особистий внесок дисертанта: участь у проведенні експериментів, обробці та інтерпретації результатів)

5. Колупаєв, Ю.Е., Бесчасный, С.П., **Шкляревский, М.А.**, & Карпец, Ю.В. (2020). Монооксид углерода (CO) у растений: участие в клеточном сигналинге и адаптивных реакциях. *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*, 2(50), 35–53. (Особистий внесок дисертанта: аналіз і узагальнення даних літератури, участь у підготовці тексту статті)

### Матеріали конференцій:

1. **Shkliarevskiy, M. A.**, Karpets, Yu. V., Kolupaev, Yu. E., Lugova, G. A., & Bessonova, V. P. (2020). Nitric oxide as mediator in induction of heat resistance of wheat seedlings by donor of carbon monoxide hemine. *Сучасні проблеми генетики, біотехнології і біохімії сільськогосподарських рослин. Тези доповідей Міжнародної наукової конференції (Одеса, Україна, 21 жовтня 2020 р.)* (С. 136–137). Одеса: СГІ–НЦНС.

2. **Shkliarevskiy, M. A.**, Kolupaev, Yu. E., Yastreb, T. O., Karpets, Yu. V., & Dmitriev, A. P. (2021). Participation of the jasmonate signaling transcription factor JIN1/MYC2 in implementing protective effects of NO, H<sub>2</sub>S, and CO on Arabidopsis plants under salt stress. *Plants stress and adaptation. Proceedings of the International scientific conference (Kharkiv, Ukraine, February 25-26, 2021)* (pp. 24–25). Kharkiv: KhNAU.

3. **Шкляревский, М. А.**, Карпец, Ю. В., Швиденко, Н. В., & Колупаев, Ю. Е. (2020). Сероводород как возможный посредник индуцирования теплоустойчивости проростков пшеницы экзогенной салициловой кислотой. *Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем. Тезисы докладов Международной научной конференции (Минск, Беларусь, 17–19 июня 2020 г.)* (С. 100). Минск: БГУ.

4. Kolupaev, Yu. E., Karpets, Yu. E., **Shkliarevskiy, M. A.**, & Svidenko, M. V. (2019). Nitric oxide, synthesized by nitrate reductase, as participant of transduction of hydrogen sulphide signal at induction of heat resistance of wheat plantlets. *Proceedings of 6th Ukrainian Congress for Cell Biology with international representation (Yaremche, Ukraine, June 18-21, 2019)* (P. 126). Lviv: IFNMU.

5. Kolupaev, Yu. E., Karpets, Yu. V., **Shkliarevskiy, M. A.**, Yemets, A. I., & Blume, Ya. B. (2021). Gasotransmitters and plant adaptation to hyperthermia. *Plants stress and adaptation. Proceedings of the International scientific conference (Kharkiv, Ukraine, February 25-26, 2021)* (pp. 14–15). Kharkiv: KhNAU.