

ВПЛИВ ХІТОЗАНІВ НА ДИНАМІКУ ВМІСТУ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У ЛИСТКАХ ТОМАТІВ

В.А. БОГОСЛАВЕЦЬ

Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041
e-mail: bogoslavetsvita@gmail.com

Мета цієї роботи полягала у вивченні впливу хітозанів різної молекулярної маси на динаміку вмісту фенольних сполук у рослин томатів сорту 'Загадка'. В експерименті досліджували рослини томатів, які обробляли хітозаном з молекулярною масою 50-190 kDa і 310-375 kDa. За допомогою методу високоефективної тонкошарової хроматографії (HPTLC) виконали біохімічне профілювання екстрактів досліджуваних рослин. Виявлено відмінності у первинних реакціях рослин на хітозани різної молекулярної маси. Низькомолекулярний хітозан викликав суттєве збільшення вмісту фенолів і, відповідно, підвищував антиоксидантний потенціал тканин листків. Збільшення вмісту фенолів у відповідь на дію низькомолекулярного хітозану відбувається через активацію фенілпропаноїдного синтезу і збільшення загального антиоксидантного потенціалу, що свідчить про мобілізацію рослинного організму проти потенційного патогена. Так, через годину після обробки рослин розчином низькомолекулярного хітозану вміст рутину у листках становив 3,36 мг/г, а вже за 18 год – 5,56 мг/г. Вміст хлорогенової і кавової кислот у листках зростав за 12 год. За 18 год вміст хлорогеної кислоти становив 1,64 мг/г, а кавової кислоти – 0,18 мг/г. Це може бути пов'язано з поступовим розкладання хлорогенової кислоти на складові компоненти під впливом низькомолекулярного хітозану, яке супроводжується вивільненням кавової кислоти. Встановлено позитивну кореляцію між пулом хлорогенової і кавової кислот ($r = 0,995$; $p < 0,06$). Отже в залежності від молекулярної маси хітозан викликає у рослини томатів значні зміни у синтезі фенілпропаноїдів і біохімічну трансформацію складних і простих ефірів гідроксикоричних кислот.

Розчин високомолекулярного хітозану викликав у листках томатів зменшення кількості сполук з високим антиоксидантним потенціалом, що вказує на активацію іншої системи захисту рослин. Вміст рутину в листках за обробки високомолекулярним хітозаном через 18 годин становив 1,32 мг/г, що в чотири рази менше порівняно з обробкою рослин низькомолекулярним хітозаном. Водночас у відповідь на обробку високомолекулярним хітозаном в листках суттєво зростав вміст кавової кислоти. Зниження вмісту фенолів пов'язано з ізоляції тканин від потенційної загрози, яка спрямована на її нейтралізацію. Результатом такої реакції є окиснення фенольних сполук, додаткова лігніфікація і суберинізація клітинних стінок. Активація в рослинному організмі вже в перші години після обробки низькомолекулярним або високомолекулярним хітозаном різних реакцій індукованого імунітету вказує на існування системи диференціального розпізнавання рослинами складних біполімерів.

Ключові слова: хітозан, рутин, хлорогенова кислота, кавова кислота, томати

Вступ. На урожайність томатів суттєво впливають хвороби, які викликають патогенні бактерії і гриби (Kolomiets, Y.V. et al., 2017). Бактеріозни завдають особливо значних економічних збитків (Kolomiets, Y.V. et al., 2017; Adamuchio-Oliveira, L. G., 2020). Стійкість рослин до фітопатогенних бактерій ґрунтується на складних захисних фізіологічних реакціях (Develey-Rivière, M.-P., & Galiana, E., 2007). Механізми захисту рослин до фітопатогенів умовно поділяють на конститутивні та індуковані (Kannoja P. et al., 2017). До перших відносять генетично детерміновані ознаки, які наявні в рослинному організмі і постійно забезпечують його стійкість. До них відносяться анатомо-морфологічні і гістохімічні характеристики, тривалість проходження фаз онтогенезу, а також генетична детермінованість фізіолого-біохімічних процесів, які обумовлюють несприятливість Біологічні системи. Т. 15. Вип. 2. 2023

рослин до фітопатогенів (R. Dixon et al., 2002; Singh D. P., Singh A., 2005; Isah, T. 2019). Активні механізми стійкості обумовлені змінами в експресії патоген залежних білків (PR), задіяних в системі відповіді рослини на збудників хвороб (Hammond-Kosack K. E., 1996; Andersen E.J. et al., 2018; Dubin A., et al., 2020). Рівень стійкості рослин проти патогенів досягається активацією декількох захисних механізмів (Andersen E.J. et al., 2018).

Ураження рослин збудниками бактеріальних хвороб викликає в рослинному організмі каскад метаболічних змін: утворення активних форм кисню (АФК), активація гідролітичних ферментів (хітиназ, глюканаз) (Subin O.V., et al. 2020). У відповідь на дію патогенів у рослинних тканинах відкладаються біополімери суберин і лігнін, які зміцнюють стінки клітин і перешкоджають поширенню патогенних мікроорганізмів. Захист

рослинних клітин відбувається шляхом відкладання на клітинних стінках калози (1-3- β -глюкана). Також активується синтез вторинних метаболітів (ВМ) і фітоалексинів, які беруть участь у формуванні системної стійкості рослин (Ride, J. P., 1975; Li Y., et al. 2007; Ranathunge K. et al., 2008)

ВМ є одним з найважливіших неферментних комплексів у системі захисту рослин. Активність фенольного синтезу є одним з показників стресових реакцій рослин (Aktuganov, Gleb & Melent'ev, Alexander, 2017). Роль фенолів у формуванні їхньої стійкості обумовлена утворенням фізико-хімічних бар'єрів проти фітопатогенів. Вони також виконують роль сигнальних молекул, які беруть участь в індукції експресії відповідних генів (Jones, J. D. G., & Dangl, J. L., 2006; Develey-Rivière, M.-P., & Galiana, E., 2007; Isah T., 2019). Фенольні сполуки також впливають на фізіологічні процеси, які пов'язані з ростом і розвитком рослин, проростанням насіння, поділом клітин і синтезом пластидних пігментів (Tanase C., 2019). Завдяки своїм антиоксидантним властивостям фенольні сполуки здатні знешкоджувати вільні радикали АФК (Naikoo M. I., 2019). У рослин томатів одним з активних антиоксидантів є хлорогенова кислота (ХГК), яка є важливим внутрішньоклітинним протектором за умов біотичного або абіотичного стресу (Escamilla-Treviño L. L., 2013). За хімічною природою ХГК – складний ефір, що утворюється між кавовою та хінною кислотами (Niggeweg R., 2004). Кавова і ХГК кислоти в рослинних клітинах функціонують як антиоксиданти і відіграють важливу роль у формуванні стійкості до збудників грибних і бактеріальних хвороб (Miao M., & Xiang L., 2020). Іншим важливим антиоксидантом є рутин (кверцетин-3-рутинозид). За хімічною природою він належить до флавонолів і відіграє ключову роль у захисті рослин від ультрафіолетового випромінювання та патогенів (Escamilla-Treviño L. L. et al., 2013; Patel K., & Patel D. K., 2019).

Крім фенольних сполук, іншим важливим механізмом запуску індукованої стійкості є здатність рослин взаємодіяти зі специфічними молекулами (елісаторами), які у незначних концентраціях запускають захисні реакції (Nicole, M., et al., 1991; Thakur, M., & Sohal, B. S., 2013). Вони розпізнаються рослинними клітинами через взаємодію зі специфічними рецепторами на плазматичних мембранах рослин (Nicole, M., et al., 1991).

Одним з відомих полісахаридних елісаторів є олігосахаридні фрагменти клітинних стінок грибів, такі як олігомери хітину, хітозану та β -1,3-глюкану, а також олігогалактуроніди, які є

пектиновими фрагментами клітинної стінки рослин (Krylov, V. B., & Nifantiev, N. E., 2019). Біологічна активність хітозанів залежить від молекулярної маси та ступеня деацетилювання (Kim S., 2018). В основі механізму дії хітозану на бактерії виділяють два послідовні процеси: відокремлення клітинної стінки від мембрани і наступне її руйнування (Raafat, D., & Sahl, H.-G., 2009). Протекторний ефект хітозану полягає також у зниженні токсичності ендотоксинів грамнегативних бактерій через утворення із ними макромолекулярних комплексів (Raafat, D., & Sahl, H.-G., 2009). У рослин механізм захисної дії після їхньої обробки хітозаном виявляється в активації синтезу гідролаз (глюканаз, хітиназ та хітозаназ) (Davydova, Viktoria & Yermak, 2000). Під дією цих ферментів відбувається руйнування клітинних стінок бактерій та фітопатогенних грибів, що значно підвищує стійкість рослин проти збудників хвороб (Thakur M., Sohal B., 2013). Отже, вивчення механізмів дії хітозанів різної молекулярної маси на активацію синтезу вторинних метаболітів є перспективним напрямком досліджень у боротьбі з бактеріозами томатів.

Метою цього дослідження було вивчити вплив розчинів хітозанів різної молекулярної маси на синтез фенольних сполук у листках томатів.

Матеріали та методи дослідження. Сорт томата української селекції – Загадка. Ранньостиглий, детермінантний сорт.

В експерименті використовували хітозани, які виготовлені з мушлі ракоподібних з молекулярною масою 50-190 kDa і 310–375 kDa (Sigma-Aldrich). Стокові (1%) розчини хітозану з низькою (НМХ) і високою (ВМХ) молекулярними масами готували в 1,0 % оцтовій кислоті. Кислотність розчинів стандартизували 0,1 н розчином NaOH до значення pH 5,6. Рослини томатів, що були вирощені в умовах відкритого ґрунту обробляли 0,2 % розчинами хітозанів одноразово по поверхнях листків ($v = 10$ мл на рослину). Контрольні рослини обробляли 0,2% оцтовою кислотою. У кожному варіанті дослідження було задіяно по 10 рослин ($n = 30$). Відбір зразків листків ($n = 10$) виконували протягом доби за 1, 6 і 18 год після обробки рослин.

Листки томатів висушували в сушильній шафі за температури 60°C. Екстракцію фенольних сполук проводили 80% метанолом у співвідношенні суха маса зразка до об'єму розчинника (v/v) – 1:10. Зразки екстрактів перед хроматографічним дослідженням зберігали в морозильній камері за -20°C.

Біохімічне профілювання отриманих екстрактів виконували методом вискоєфективної тонкошарової хроматографії (НPTLC) на

пластинах із силікагелем G60 (Merck, Німеччина) у системах розчинників: етилацетат–мурашина кислота–оцтова кислота–вода (v/v/v/v – 100:11:11:25).

На пластинку наносили по 5,0 мкл метанольних екстрактів, а також по 3,0 мкл стандартних розчинів (рутин, хлорогенова і кавова кислоти) у концентрації 1 мг/мл. Флавоноїди та хлорогенову кислоту на хроматографії виявляли 5 % спиртовим розчином хлориду алюмінію з наступним нагріванням пластинки (3 хв за 105 °C). Фенольні сполуки, які здатні до флуоресценції на хроматограмі визначали в УФ ($\lambda_{\text{max}} = 365 \text{ nm}$).

Коефіцієнт утримання (R_f) індивідуальних сполук (відношення відстані на хроматограмі, яку проходить окрема сполука до відстані, яку долає фронт рухомої фази) визначали фотоденситометрично за допомогою програмного забезпечення Sorbfil TLC ver. 2.3.0.2994.

Вміст хлорогенової, кавової кислот і рутину

визначали фотоденситометрично із застосуванням калібрувальних графіків, які побудували за використання стандартних розчинів досліджуваних сполук.

Вимірювання кількості поліфенольних сполук виконували у 3 повторях ($n=3$). Результати представлені на графіках і в таблиці як середнє значення і стандартна похибка ($\bar{x} \pm SE$). Достовірність різниці між концентраціями фенольних сполук ($p<0,05$) визначали методом дисперсійного аналізу (one-way ANOVA) за використання апостеріорного тесту Т'юкі у програмі XLSTAT (Addinsoft Inc., США, 2010).

Результати дослідження. Після обробки *Lycopersicon esculentum* L. хітозанами з різною молекулярною масою та ступенем деацетелювання загальний пул окремих фенольних сполук у листках дещо змінювався. З часом збільшувався вміст рутину, водночас на вміст хлорогенової кислоти молекулярна маса хітозану істотно не впливала (рис. 1).

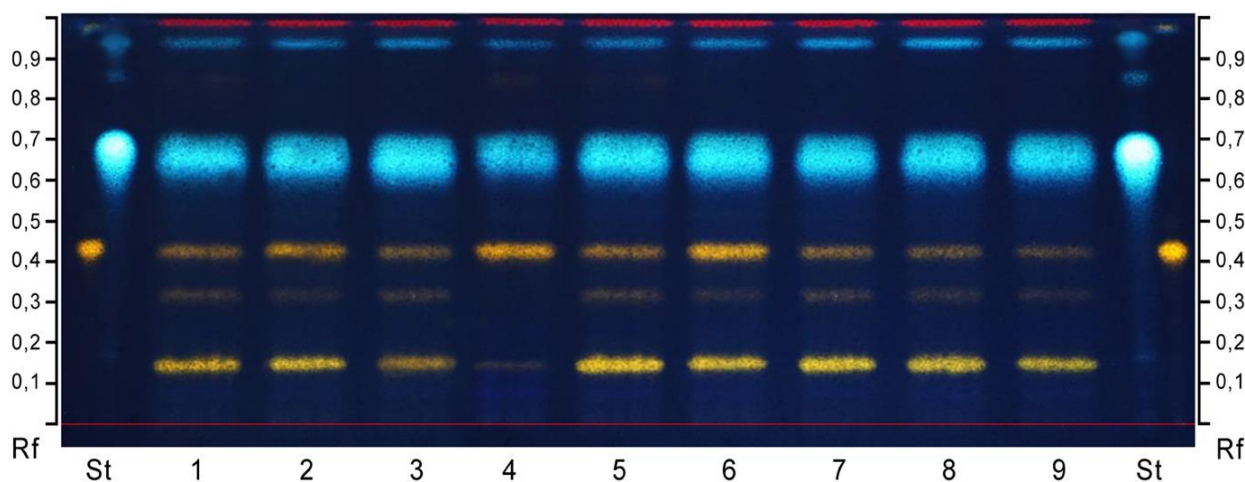


Рис. 1 Хроматограма екстрактів листків томатів сорту 'Загадка' за 1 год (1,4,7), 12 год (2,5,8) і 18 год (3,6,9); контроль (1-3), після обробки рослин НМХ (4-6) і ВМХ (7-9); стандарти: St – рутин ($R_f \sim 0,43$); хлорогенова кислота ($R_f \sim 0,68$); кавова кислота ($R_f \sim 0,93$)

За обробки рослин томатів розчином НМХ вміст рутину через 1 год становив 3,96 мг/г, на 12 год спостерігалось різке зниження, а вже через 18 год його вміст збільшився до 5,56 мг/г. Це може свідчити про те, свідчить про здатність низькомолекулярного хітозану стимулювати синтез рутину.

Подібність динаміки вмісту хлорогенової і кавової кислот у листках томатів сорту 'Загадка' після обробки рослин НМХ вказує на взаємопов'язаність цих процесів. Визначений коефіцієнт кореляції ($r = -0,978$; $p < 0,13$) за діапазоном часу і недостатністю пар порівняння лише наближено підтверджує припущення щодо

Fig. 1 Chromatogram of extracts of tomato leaves of the 'Zagadka' variety for 1 hour (1, 4, 7), 12 hours (2, 5, 8) and 18 hours (3, 6, 9); control (1-3), after treatment of NMH (4-6) and VMH (7-9) plants; standards: St – rutin ($R_f \sim 0.43$); chlorogenic acid ($R_f \sim 0.68$); caffeic acid ($R_f \sim 0.93$)

поступового розкладання ХГК на складові компоненти у клітинах рослин, яке супроводжується вивільненням кавової кислоти. Утім, цей процес є цілком фізіологічним, оскільки ХГК є складним ефіром кавової кислоти. Важливим також є факт різниці відповідної реакції рослин томатів на ВМХ. Експериментально встановлено позитивну кореляцію між пулом ХГК і кавової кислоти ($r = 0,995$; $p < 0,06$). Отже, характер впливу хітозана на синтез фенілпропаноїдів і фізіологічну трансформацію складних і простих ефірів гідроксикоричних кислот у листках томатів залежить від його молекулярної маси.

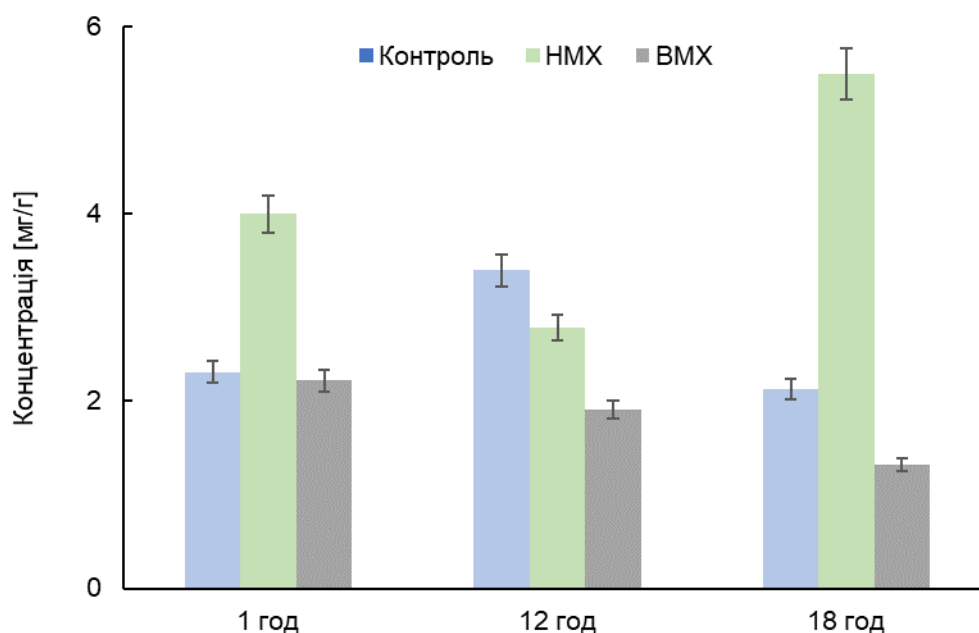


Рис. 2 Динаміка вмісту рутину в листках томатів сорту 'Загадка' після обробки рослин розчинами хітозанів: HMX – низькомолекулярний хітозан, BMX – високомолекулярний хітозан; * – різниця достовірна за $p < 0,05$

Fig. 2 Dynamics of rutin content in leaves of tomatoes of the 'Zagadka' variety after treatment of plants with chitosan solutions: NMH - low molecular weight chitosan, VMH - high molecular weight chitosan; * – the difference is significant at $p < 0.05$

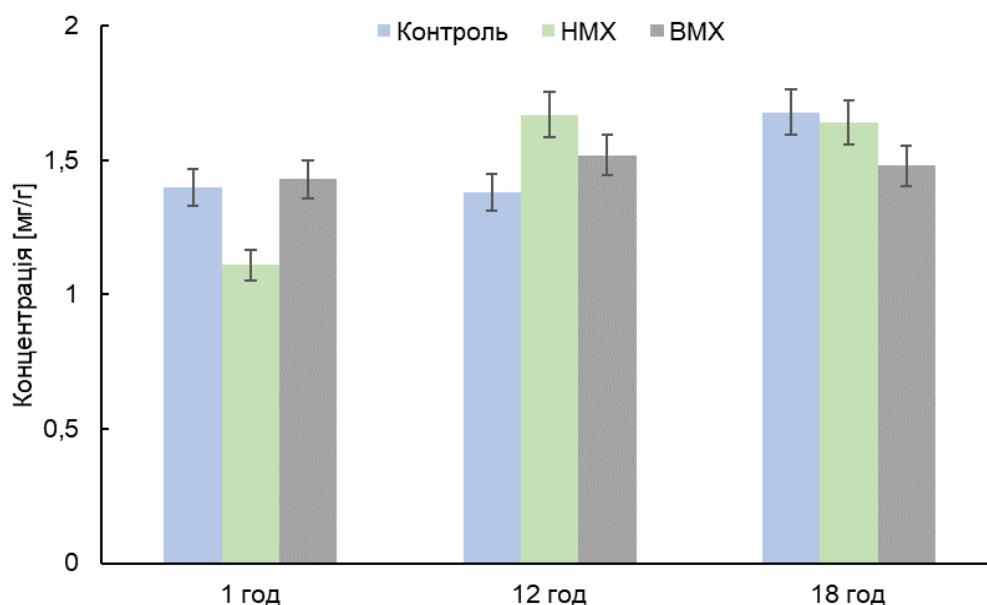


Рис. 3 Динаміка вмісту хлорогенової кислоти в листках томатів сорту 'Загадка' після обробки рослин розчинами хітозанів: HMX – низькомолекулярний хітозан, BMX – високомолекулярний хітозан; * – різниця достовірна за $p < 0,05$

Fig. 3 Dynamics of the content of chlorogenic acid in the leaves of tomatoes of the 'Zagadka' variety after treatment of plants with chitosan solutions: HMX - low molecular weight chitosan, BMX - high molecular weight chitosan; * – the difference is significant at $p < 0.05$

Після обробки низькомолекулярним хітозаном загальна кількість фенолів у листках томатів зростала в 1,3 рази. Відповідно, окисно-відновлювальний потенціал листків після обробки хітозаном також підвищувався. Ці дані узгоджуються з даними Subin et al., 2020, які досліджували елісаторну активність різних

фракцій хітозану в залежності від їх молекулярної маси.

Фенольні сполуки накопичуються у відповідь рослинного організму на різноманітні стресори і функціонують як компоненти антиоксидантної системи. Фенольні сполуки, такі як хлорогенова і каваова кислоти здатні пригнічувати ріст патогенів

(Jones, J. D. G., & Dangel, J. L., 2006). Хлорогенова кислота відіграє важливу роль у диханні рослин. Вона є неспецифічним регулятором ростових процесів, виконує захисні функції, відіграє важливу роль у забезпеченні захисних реакцій рослин і виявляє антифунгальну активність через пригнічення проростання спор та гіф грибів *in vitro* (Miao, M., & Xiang, L., 2020). Хлорогенова кислоти здатна уповільнювати прояв симптомів борошнистої роси у троянд, яку викликає біотрофний збудник *Podosphaera pannosa* (Shetty R., at al., 2011). Хітозани забезпечували стійкість рослин до збудника бактеріальної плямистості томатів *Xanthomonas gardneri* до 56% за умов обробки низькомолекулярним хітозаном (3 мг/мл) за 3 дні до інокуляції. Отже, хітозан має здатність контролювати бактеріальні хвороби томатів через індукцію захисних механізмів рослин. Окрім того, низькомолекулярні фракції хітозану більш ефективно пригнічували реплікацію вірусу мозаїки квасолі порівняно з високомолекулярними (Thakur M., Sohal B., 2013). Здатність хітозану індукувати резистентність рослин до фітопатогенів пов'язують з активацією синтезу специфічних молекул, які

пов'язані з патогенезом, а саме PR-білків, фенольних сполук, а також структурних біополімерів, таких як лігнін і калоза (Bhaskara Reddy M.V., at al., 1999; Zhang D.L., Quantick P.C. 1997).

Показано, що хітозан виконує роль індуктора захисних реакцій рослин (Coqueiro, D. S. O., at al., 2011), які пов'язані з фенілпропановим синтезом (Subin O.V., at al., 2020). Аналіз вмісту загальних фенольних сполук і флавоноїдів в цьому дослідженні також показала достовірне збільшення поліфенолів майже одразу після обробки рослин.

Залежність біологічної активності хітозану від його молекулярної маси узгоджується з висновками Бадаві та Рабеа (Badawy M.E., Rabea E.I., 2008), які показали, що середньомолекулярний хітозан призводить до збільшення вмісту білків і фенольних сполук, а також сприяє пригніченню розвитку сірої плісняви *B. cinerea* на плодах томатів і фруктів. Водночас, хітозан з низькою молекулярною масою виявився ефективнішим щодо зменшення псування цитрусових, яке викликається *Penicillium digitatum* (Chien P, Sheu F, Lin H., 2007).

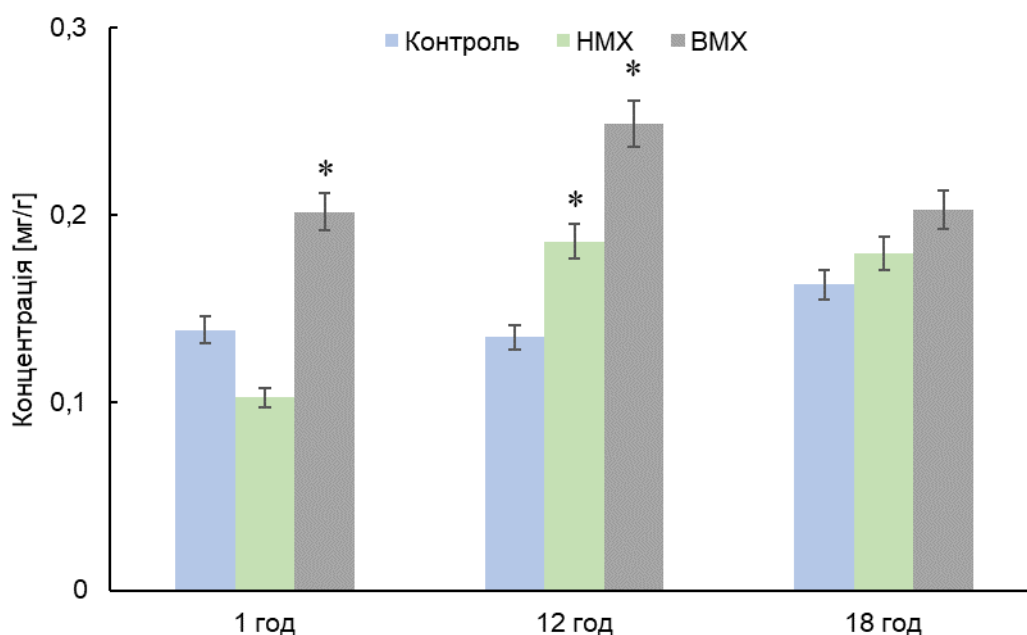


Рис. 4 Динаміка вмісту кавової кислоти в листках томатів сорту Загадка після обробки рослин розчинами хітозанів: HMX – низькомолекулярний хітозан, BMX – високомолекулярний хітозан; * – різниця достовірна за $p < 0,05$

Fig. 4 Dynamics of the content of caffeic acid in leaves of Zagadka tomatoes after treatment of plants with chitosan solutions: HMX – low molecular weight chitosan, BMX – high molecular weight chitosan; * – the difference is significant at $p < 0.05$

Висновки та перспективи подальших досліджень. Динаміка вмісту хлорогенової та кавової кислот у відповідь на обробку рослин HMX характеризувалась достовірним короточасним збільшенням їх кількості протягом 12 год із подальшим зменшенням, що є

фізіологічною реакцією рослин на зовнішній стимул з вираженим максимумом. Обробка рослин BMX, не викликала достовірного підвищення кількості хлорогенової кислоти, водночас динаміка вмісту кавової кислоти була подібною на обробку рослин HMX. Вмісту рутину

на відмінну від хлорогенової кислоти характеризувався достовірним зменшенням кількості флавоноїда на 12 год із значним підвищенням протягом наступних 6 год.

Для з'ясування різниці у реакції рослин на НМХ та ВМХ у подальших дослідженнях потрібно з'ясувати здатність НМХ проникати у внутрішні тканини листків з подальшим перенесенням по апопласту до клітинних стінок губчастої і стовпчастої паренхіми.

Список літератури / References:

- Adamuchio-Oliveira L. G., Mazaro S. M., Mógór G., et al. Chitosan associated with chelated copper applied on tomatoes: enzymatic and anatomical changes related to plant defense responses. *Scientia Horticulturae*. 2020; 271: 109431. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109431>.
- Aktuganov G., Melent'ev A. Specific features of chitosan depolymerization by chitinases, chitosanases, and nonspecific enzymes in the production of bioactive chitoooligosaccharides (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2017; 53: 611-627. <https://doi.org/10.1134/S0003683817060023>.
- Andersen E.J., Ali S., Byamukama E., Yen Y., Nepal M.P. Disease Resistance Mechanisms in Plants. *Genes (Basel)*. 2018; 9 (7): 339. <https://doi.org/10.3390/genes9070339>.
- Badawy M. E. I., Rabea E. I. Potential of the biopolymer chitosan with different molecular weights to control postharvest gray mold of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 2009; 51(1): 110-117. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008>.
- Bhaskara Reddy M. V., Arul J., Angers P., Couture, L. Chitosan Treatment of Wheat Seeds Induces Resistance to *Fusarium graminearum* and Improves Seed Quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999; 47(3): 1208-1216. <https://doi.org/10.1021/jf981225k>.
- Chien P.J., Sheu F., Lin H.R. Coating citrus (Murcott tangor) fruit with low molecular weight chitosan increases postharvest quality and shelf life. *Food Chemistry*. 2007; 100(3): 1160-1164. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10>.
- Coqueiro D. S. O., Maraschin M., Piero R. M. D. Chitosan Reduces Bacterial Spot Severity and Acts in Phenylpropanoid Metabolism in Tomato Plants. *Journal of Phytopathology*. 2011; 159(7-8): 488-494. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2011.01791.x>.
- Davydova V., Yermak I., Gorbach V.I., Krasikova I.N., Solov'eva T. Interaction of Bacterial Endotoxins with Chitosan. Effect of Endotoxin Structure, Chitosan Molecular Mass, and Ionic Strength of the Solution on the Formation of the Complex. *Biochemistry. Biokhimiia*. 2000; 65: 1082-90.
- Develey-Rivière M.-P., Galiana E. Resistance to pathogens and host developmental stage: a multifaceted relationship within the plant kingdom. *New Phytologist*. 2007; 175(3): 405-416. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02130.x>.
- Dubin A., Likhanov A., Klyachenko O., Subin A., Kluvadenko A. Effect of chitosan formulations of different biological origin on tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) PR-genes expression. *J Microbiol Biotech Food Sci*. 2020; 9(6): 1141-1144. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.9.6.1047-1052>.
- Dutta P.K., Dutta J., Tripathi V.S. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *Journal of Scientific and Industrial Research*. 2004; 63: 20-31.
- Escamilla-Treviño L. L., Shen H., et al. Early lignin pathway enzymes and routes to chlorogenic acid in switchgrass (*Panicum virgatum* L.). *Plant Molecular Biology*. 2013; 84(4-5): 565-576. <https://doi.org/10.1007/s11103-013-0152-y>.
- Grennan A.K. Plant response to bacterial pathogens. Overlap between innate and gene-for-gene defense response. *Plant Physiol. Nov.* 2006; 142(3): 809-11. <https://doi.org/10.1104/pp.106.900207>.
- Hammond-Kosack K. E. Resistance Gene-Dependent Plant Defense Responses. *The Plant Cell Online*. 1996; 8(10): 1773-1791. <https://doi.org/10.1105/tpc.8.10.1773>.
- Hassan O., Chang T. Chitosan for Eco-friendly Control of Plant Disease. *Plant Pathol.* 2017; 11(2): 53-70.
- Isah T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological Research*. 2019; 52(1). <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>.
- Jones J. D. G., Dangl J. L. The plant immune system. *Nature*. 2006; 444(7117): 323-329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>.
- Kannoja P., Sharma P. K., Kashyap K. A., et al. Microbe-Mediated Biotic Stress Management in Plants Plant-Microbe. *Interactions in Agro-Ecological*. 2017; 26: 627-648. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6593-4_26.
- Kim S. Competitive Biological Activities of Chitosan and Its Derivatives: Antimicrobial, Antioxidant, Anticancer, and Anti-Inflammatory Activities. *International Journal of Polymer Science*. 2018: 1-13. <https://doi.org/10.1155/2018/1708172>.
- Kolomiiets Y.V., Grygoryuk I.P., Butsenko L.M. Bacterial diseases of tomato plants. Monograph. Kyiv: CP Kompyrnt, 2018, 348 p.
- Krylov V. B., Nifantiev N. E. Synthetic Oligosaccharides Mimicking Fungal Cell Wall Polysaccharides. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2019; https://doi.org/10.1007/82_2019_187.
- Li Y., Beisson F., Koo A. J. K., et al. Identification of acyltransferases required for cutin biosynthesis and production of cutin with suberin-like monomers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007; 104 (46): 18339-18344. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706984104>.
- Miao M., Xiang L. Pharmacological action and potential targets of chlorogenic acid. *Advances in Pharmacology*. 2020; <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2019.12.002>.
- Naikoo M. I., Dar M. I., Raghib F., et al. Role and Regulation of Plants Phenolics in Abiotic Stress Tolerance. *Plant Signaling Molecules*. 2019; 157-168. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816451-8.00009-5>.
- Nicole M., Toppan A., Geiger J. P., et al. Defense responses of *Hevea brasiliensis* to elicitors from root rot fungi. *Canadian Journal of Botany*. 1991; 69(8): 1819-1824. <https://doi.org/10.1139/b91-231>.
- Niggeweg R., Michael A. J., Martin C. Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid. *Nature Biotechnology*. 2004; 22(6): 746-754. <https://doi.org/10.1038/nbt966>.

27. Patel K., Patel D. K. The Beneficial Role of Rutin, A Naturally Occurring Flavonoid in Health Promotion and Disease Prevention: A Systematic Review and Update. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases*. 2019; 457–479. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813820-5.00026-x>
28. Raafat D., Sahl H.-G. Chitosan and its antimicrobial potential - a critical literature survey. *Microbial Biotechnology*. 2009; 2(2): 186–201. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2008.00080.x>
29. Ranathunge K., Thomas R. H., Fang X., et al. Soybean Root Suberin and Partial Resistance to Root Rot Caused by *Phytophthora sojae*. *Phytopathology*. 2008; 98(11): 1179–1189. <https://doi.org/10.1094/phyto-98-11-1179>
30. Ride J. P. Lignification in wounded wheat leaves in response to fungi and its possible role in resistance. *Physiological Plant Pathology*. 1975; 5(2): 125–134.
31. Shetty R., Frette X., Jensen B., et al. Silicon-Induced Changes in Antifungal Phenolic Acids, Flavonoids, and Key Phenylpropanoid Pathway Genes during the Interaction between Miniature Roses and the Biotrophic Pathogen *Podosphaera pannosa*. *Plant Physiology*. 2011; 157 (4): 2194–2205. <https://doi.org/10.1104/pp.111.185215>
32. Singh D. P., Singh A. Disease and insect resistance in plants. Enfield. Science Publishers Inc. 2005.
33. Subin O.V., Likhanov A.F., Sereda O.V., et al. Dynamics of phenolic compounds in leaves *Fragaria ananassa* Duch. after treatment with different forms of chitosan. *BioTechnologia*. 2020; 101(3): 227–237. <https://doi.org/10.5114/bta.2020.97881>
34. Tanase C., Bujor O.-C., Popa V.I. Phenolic Natural Compounds and Their Influence on Physiological Processes in Plants. In *Polyphenols in Plants*, 2nd ed.; Watson, R.R., Ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA. 2019. 45–58.
35. Thakur M., Sohal B. Role of Elicitors in Inducing Resistance in Plants against Pathogen Infection: A Review. *ISRN Biochemistry*. 2013; 1–10.
36. Thakur M., Sohal B. S. Role of Elicitors in Inducing Resistance in Plants against Pathogen Infection: A Review. *ISRN Biochemistry*. 2013; 1–10. <https://doi.org/10.1155/2013/762412>
37. Dixon R. et al. The phenylpropanoid pathway and plant defence - a genomics perspective. *Molecular Plant Pathology*. 2002; 3 (5): 371–390.
38. Xing K., Zhu X., Peng X., Qin S. Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: a review. *Agronomy for Sustainable Development*. 2014; 35(2): 569–588. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0252-3>
39. Zhang D.L., Quantick P.C. Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. *Postharvest Biol Technol*. 1997; 12: 195–202.
40. Borodai V.V., Subin O.V., Likhanov A.F. Study of the antimicrobial effect of chitosan and biologically active compositions based on it. *Biological Systems: Theory & Innovation*. 2020, Vol. 11(4), 18–25. <http://dx.doi.org/10.31548/biologiya2020.04.002>
41. Tkalenko G. M. (2012) Protection of tomatoes from diseases in closed soil. *Agrobusiness today*. No. 23. P. 27–31.

THE INFLUENCE OF CHITOSANES ON THE DYNAMICS OF THE CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS IN TOMATO LEAVES

V. A. Bohoslavets

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
St. Herojiv Oborony, 15, Kyiv, 03041
e-mail: bogoslavetsvita@gmail.com*

The aim of this work was to study the influence of chitosans of different molecular weight on the dynamics of the content of phenolic compounds in tomato plants of the 'Zagadka' variety. In the experiment, tomato plants treated with chitosan with a molecular weight of 50–190 kDa and 310–375 kDa were studied. Using the method of high-performance thin-layer chromatography (HPTLC), biochemical profiling of the extracts of the studied method was performed. Differences in the primary reactions of plants to chitosans of different molecular weights were revealed. Low molecular chitosan caused a significant increase in the content of phenols and, accordingly, increased the antioxidant potential of leaf tissues. The increase in the content of phenols in response to the action of low-molecular-weight chitosan occurs due to the activation of phenylpropanoid synthesis and an increase in the total antioxidant potential, which indicates the mobilization of the plant organism against a potential pathogen. Thus, an hour after the treatment of plants with a solution of low molecular weight chitosan, the content of rutin in the leaves was 3.36 mg/g, and after 18 hours - 5.56 mg/g. The content of chlorogenic and caffeic acids in the leaves increased in 12 hours. In 18 hours, the content of chlorogenic acid was 1.64 mg/g, and caffeic acid was 0.18 mg/g. This may be due to the gradual decomposition of chlorogenic acid into its constituent components under the influence of low molecular weight chitosan, which is accompanied by the release of caffeic acid. A positive correlation was established between the pool of chlorogenic and caffeic acid ($r = 0.995$; $p < 0.06$). Therefore, depending on the molecular weight, chitosan causes significant changes in the synthesis of phenylpropanoids and biochemical transformation of complex and simple esters of hydroxycinnamic acids in tomato plants.

The high-molecular chitosan solution caused a decrease in the number of compounds with high antioxidant potential in tomato leaves, which indicates the activation of another plant defense system. The content of rutin in leaves treated with high-molecular-weight chitosan after 18 hours was 1.32 mg/g, which is four times less compared to the treatment of plants with

low-molecular-weight chitosan. At the same time, in response to treatment with high molecular weight chitosan, the content of caffeic acid in the leaves increased significantly. The decrease in the content of phenols is associated with the isolation of tissues from a potential threat, which is aimed at its neutralization. The result of such a reaction is the oxidation of phenolic compounds, additional lignification and suberization of cell walls. The activation of various induced immunity reactions in the plant organism already in the first hours after eating low-molecular or high-molecular chitosan indicates the existence of a system of differential recognition of complex bipolymers by plants.

Keywords: chitosan, rutin, chlorogenic acid, caffeic acid, tomatoes

Отримано редколегією 18.11.2023 р.