

Окиснювальні та антиоксидантні процеси в рослинах пшениці за інфікування септоріозом

О. О. Молодченкова^{1*}, М. А. Литвиненко¹, Л. Т. Міщенко²,
О. В. Ришчакова¹, Л. Я. Безкровна¹, Я. С. Фанін¹, П. С. Тихонов¹

¹Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення, Овідіопольська дорога, 3, м. Одеса, 65036, Україна, *e-mail: olgamolod@ukr.net

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, 01601, Україна, e-mail: lmishchenko@ukr.net

Мета. На основі вивчення окиснювальних та антиокиснювальних процесів у рослинах пшениці (*Triticum aestivum* L.) у фазі колосіння за враження *Septoria tritici* Rob. виявити сортові особливості за зміною рівня пероксиду водню, інтенсивності перекисного окиснення ліпідів, активності антиоксидантних ензимів для розроблення біохімічних методів добору стійких проти хвороби сортів. **Методи.** Польовий, спектрофотометричні методи визначення біохімічних показників, порівняння, узагальнення. Статистичний аналіз результатів досліджень проводили за допомогою програми Libre Office Calc (GNU Lesser General Public Licensev3). **Результати.** Виявлені зміни вмісту пероксиду водню, малонового діальдегіду та активності супероксиддисмутази, каталази, пероксидази в рослинах пшениці у фазі колосіння за інфікування септоріозом. Установлено наявність особливостей зміни окиснювальних та антиокиснювальних процесів клітин рослин пшениці за інфікування збудниками септоріозу залежно від дослідженого сорту пшениці. Показано, що реакція рослин на враження збудниками септоріозу в стійкіших проти хвороби сортів пшениці характеризувалася підвищеними або незмінними відносно контролю вмістом малонового діальдегіду та активності пероксидази. **Висновки.** Отримані результати розширюють знання про механізми підтримання окиснювального гомеостазу в рослин пшениці за інфікування збудниками септоріозу та дають змогу виділити біохімічні реакції рослин культури у відповідь на інфекцію, які можуть бути використані надалі для розроблення біохімічних методів ідентифікації стійких проти хвороби сортів.

Ключові слова: пшениця; септоріоз; пероксид водню; перекисне окиснення ліпідів; антиоксидантні ензими; стійкість.

Вступ

Однією з поширених в Україні хвороб пшениці є септоріоз (*Septoria tritici* Rob.). Септоріоз призводить до зменшення асиміляційної поверхні, передчасного всихання листків і

рослин, зниження врожаю зерна і погіршення його посівних та технологічних якостей. Утрати врожаю можуть становити 40% [1]. Використання різних (агротехнічних, селекційних, біотехнологічних) способів підвищення стійкості рослин проти хвороб є вкрай важливим завданням. Одним з найбільш економічно вигідних та екологічно безпечних способів підвищення стійкості рослин є використання у виробництві стійких сортів. Незважаючи на складність розв'язання цього завдання, практично по кожній культурі є спектр генотипів, що відрізняються за рівнем стійкості проти тієї чи іншої хвороби [2]. Значну допомогу в процесі створення вихідного матеріалу для добору та створення перспективних генотипів за стійкістю проти хвороб може показати дослідження фізіолого-біохімічних механізмів її формування, виявлення біохімічних критеріїв, які можуть бути

Olga Molodchenkova
<https://orcid.org/0000-0003-2511-0866>

Mykola Lytvynenko
<https://orcid.org/0000-0003-2511-0866>

Lidiya Mishchenko
<https://orcid.org/0000-0002-8605-6587>

Olga Ryshchakova
<https://orcid.org/0000-0003-0621-6171>

Lidiya Bezкровna
<https://orcid.org/0000-0003-2227-1541>

Yaroslav Fanin
<https://orcid.org/0000-0003-3129-7583>

Pavlo Tikhonov
<https://orcid.org/0000-0001-8738-7946>

використані в процесі розроблення ефективних методів добору стійких генотипів у селекції. Виявивши біохімічні критерії, постійно зчеплені зі стійкістю проти хвороби, можна уникнути необхідності тестування значної кількості рослин традиційними методами – достатньо оцінити наявність маркера швидким біохімічним тестом, і зробити висновок щодо ступеня стійкості рослини.

Загальною реакцією відгуку живих організмів, зокрема й рослин, на дію несприятливих чинників навколишнього середовища є утворення та накопичення активних форм кисню (АФК). АФК, з одного боку, є високотоксичними сполуками, а з іншого – регуляторами метаболічних процесів та захисних реакцій у рослинній клітині [3, 4]. У ланцюзі вільнорадикального окиснення першими з'являються АФК – супероксидний аніон-радикал O_2^- і синглетна форма кисню 1O_2 , гідроксильний радикал OH , пероксид водню H_2O_2 [5]. Вони дають початок низці інших радикалів, ініціюють вільнорадикальне перекисне окиснення ліпідів. Одна з форм АФК, перекис водню (H_2O_2), є прямим антимікробним агентом та сигнальною молекулою [6, 7]. Shetty et al. [8] установлено, що через 15 діб після інфікування рослин пшениці *S. tritici* відбувалося значне накопичення H_2O_2 у несумісних взаємодіях рослини та патогена, що збігалось з припиненням розповсюдження збудника і, таким чином, указувало на роль H_2O_2 в активному захисті рослин пшениці. Mihailova et al. [9] вивчали деякі фізіологічні показники рослин пшениці на стадії проростання за інфікування збудниками септоріозу і виявили, що зміни вмісту кінцевого продукту перекисного окиснення ліпідів (малонового діальдегіду) та значення квантового виходу транспорту електронів PSII можна використовувати для скринінгу ступеня стійкості різних генотипів проти *S. tritici*.

Детоксикація зайвої кількості АФК й підтримання балансу між генерацією та утилізацією АФК вважається характерною рисою стійких проти стресів рослин [10, 11]. Показано, що в цих процесах бере участь низка антиоксидантних ензимів, зокрема супероксиддисмутаза, пероксидаза та каталаза [12–14]. Виявлено, що у стійких проти септоріозу сортів пшениці інфікування *S. tritici* супроводжувалося раннім і локалізованим некрозом, і швидким та інтенсивним підвищенням активності пероксидази і супероксиддисмутази. У сприйнятливих сортів симптоми некрозу, підвищення активності поліфенолоксидази, супероксиддисмутази і каталази з'являлися із запізненням [15].

Мета досліджень – на основі вивчення окиснювальних та антиокиснювальних процесів в рослинах пшениці (*T. aestivum*) у фазі колосіння за враження *S. tritici* виявити сортові особливості за зміною рівня пероксиду водню, інтенсивності перекисного окиснення ліпідів, активності антиоксидантних ензимів для розроблення біохімічних методів добору стійких проти хвороби сортів.

Матеріали та методика досліджень

Дослідження проводили протягом 2019–2020 рр. на дослідних полях Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннезнавства та сортовивчення (СГІ – НЦНС), розташованих у Південно-Західному степу України (м. Одеса). Матеріалом для досліджень слугували листки рослин пшениці м'якої озимої (*T. aestivum*) у фазі колосіння (ВВСН 51–59) сортів селекції СГІ – НЦНС, які були вражені *S. tritici*. Це сорти 'Мелодія' (стійкість проти септоріозу – 7 балів), 'Аксиома' (7 балів), 'Журавка' (6–7 балів), 'Нива' (5 балів). Фітопатологічну оцінку дорослих рослин проводили на природному фоні поширених хвороб (борошнеста роса, листкова та жовта іржа, септоріоз) на експериментальних ділянках розміром 10 м². Для визначення стійкості проти септоріозу додатково сіяли досліди на штучному фоні в інфекційному розсаднику відділу фітопатології та ентомології. Ступінь ураження рослин визначали в період максимального розвитку хвороби за 9-баловою інтегрованою шкалою РЕВ [16]. Для проведення біохімічних досліджень брали 10–20 рослин з ділянки.

Уміст пероксиду водню визначали феротіоціанатним методом [17]. Пероксид водню з розтертого на холоді рослинного матеріалу екстрагували 5%-ю трихлороцтовою кислотою. Проби центрифугували при 8000 g протягом 10 хв за температури не вище 4 °C та у супернатанті визначали концентрацію H_2O_2 з використанням солі Мора і тіоціанату амонію за світлопоглинанням забарвленого комплексу за 480 нм. Як стандарти використовували розчини пероксиду водню.

Уміст малонового діальдегіду (МДА) визначали за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК) і оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів [18]. Наважку тканин ($\approx 0,4$ г) листків пшениці гомогенізували в 0,1 М трис-НСl буфері, рН 7,6 з додаванням 0,35 М NaCl, кінцевий об'єм гомогенату – 15 мл. До гомогенату 124 додавали 5 мл 0,5%-го розчину ТБК у 20%-й ТХО. Суміш нагрівали на киплячій водяній бані протягом 30 хв і фільтрували. Оптичну густину

фільтрату визначали за довжини хвилі 532 нм відносно буферу з реагентом, але без рослинного матеріалу. Концентрацію ТБК-активних сполук розраховували за молярною екстинкцією МДА ($\epsilon = 1,56 \cdot 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$). Уміст ТБК-активних продуктів виражали в $\mu\text{M}/\text{мг}$ білка.

Активність пероксидази (КФ 1.11.1.7) визначали за методом Риджа та Осборна [19] з деякими модифікаціями. Наважку рослинного матеріалу гомогенізували в 0,06 МК, Na-фосфатному буфері Серенсена (рН 6,2). Гомогенат центрифугували за 7000 g протягом 15 хв. Надосадову рідину використовували для визначення активності ензиму, субстратами в реакційній суміші були гваякол і пероксид водню.

Активність каталази (КФ 1.11.1.6) визначали за модифікованою методикою визначення ензиму в еритроцитах крові [20]. Каталазу екстрагували з тканин рослин 0,2 М трис-НСІ буфером рН 7,0 за 4 °С протягом 60 хв при співвідношенні маса : об'єм 1 : 4. Гомогенат центрифугували (6000 g, 20 хв), використовуючи супернатант для визначення ферментативної активності. Як субстрат було використано 0,75% H_2O_2 . Активність каталази виражали в одиницях вимірювання оптичної густини при 410 нм на мг білка/хв.

Активність цитозольної супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1) визначали, використовуючи метод, в основі якого була здатність ензиму конкурувати з нітротетразолієм синім за супероксидні аніони, які утворюються внаслідок аеробної взаємодії НАДН і феназинметосульфату. Оптичну густину визначали за 540 нм [21].

Уміст білка в екстрактах визначали методом Лоурі [22].

Досліди проводилися у 3–5-кратній повторностях. Статистичний аналіз результатів досліджень проводили за допомогою програми Libre Office Calc (GNU Lesser General Public Licensev3).

Результати досліджень

Відомо, що рецепція рослинними клітинами біополімерів елісаторів патогена індукує в інфікованих тканинах господаря генерацію H_2O_2 [23]. Першою ланкою в патоген-індукованому окиснювальному спалаху є активація пов'язаної з клітинною мембраною НАДФН-оксидази та генерація супероксидного радикалу, який за участю супероксиддисмутази перетворюється у H_2O_2 [24]. Виявлено, що високий рівень генерації H_2O_2 , який спостерігається у стійких рослинах, сприяє гальмуванню активного росту й розвитку

патогенів, а низький, навпаки, ініціює їхнє зростання [25].

У результаті проведених досліджень показано, що за враження септоріозом у листках рослин пшениці всіх досліджених сортів, спостерігалось достовірне зростання рівня пероксиду водню (рис. 1). Найбільш значне зростання рівня H_2O_2 було виявлено в сорту 'Мелодія'. Аналогічна реакція за зміною вмісту H_2O_2 спостерігалась у рослинах пшениці за інфікування вірусом смугастої мозаїки пшениці (ВСМП) [13] та збудниками фузаріозу [26].

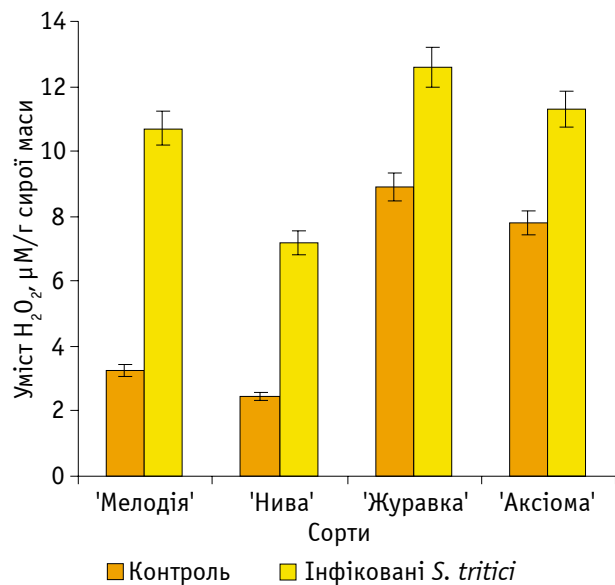


Рис. 1. Уміст пероксиду водню в рослинах пшениці, уражених *S. tritici*, у фазі колосіння

АФК ініціюють вільнорадикальне перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ). Продукти ПОЛ можуть бути одночасно «індикаторами» та первинними «медіаторами» стресу як особливого стану клітини, який може призвести до підвищення її стійкості до біо- та абіотичних стресових чинників [27]. Одним з основних кінцевих продуктів ПОЛ є МДА – високоактивна гідрофільна сполука, що має невелику молекулярну масу, яка в нормі присутня в тканинах у низьких концентраціях. Проведені нами дослідження показали, що зростання рівня МДА в інфікованих рослинах була відзначена у сортів 'Мелодія' та 'Аксиома', які були визначені як стійкі проти хвороб. В уражених септоріозом рослинах сорту 'Нива' рівень МДА достовірно знижувався відносно здорових рослин, а в рослин сорту 'Журавка' вміст МДА майже не відрізнявся від контролю (рис. 2). Можна припустити, що зміни вмісту малонового діальдегіду можна використовувати для характеристики ступеня стійкості проти *S. tritici* у

різних генотипів пшениці. Аналогічні висновки були отримані у дослідженнях [9].

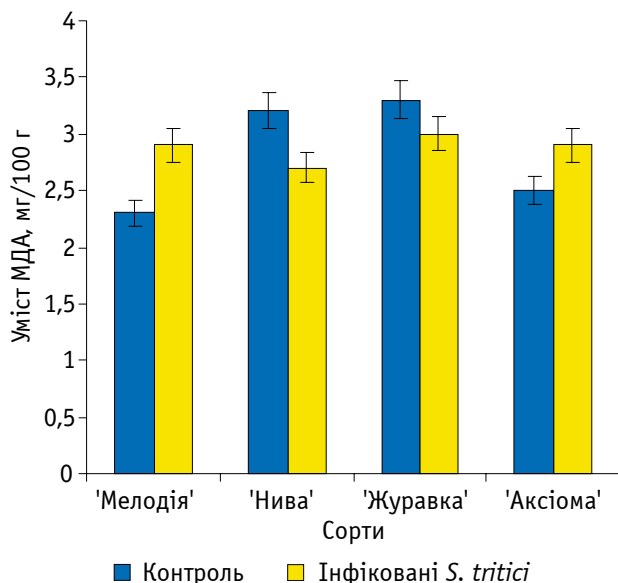


Рис. 2. Уміст малонового діальдегіду в рослинах пшениці, уражених *S. tritici*, у фазі колосіння

Визначення активності супероксиддисмутази – ключового ензиму антиоксидантної системи клітини, який каталізує перетворення супероксиду на пероксид водню і молекулярний кисень, дало змогу виявити його активацію у всіх досліджених сортів за враження септоріозом, крім сорту 'Журавка', у якого зміна активності ензиму була незначною (рис. 3). Отримані нами результати підтверджують літературні дані [15, 28], і показують, що супероксиддисмутаза відіграє вирішальну роль у зниженні окиснювального стресу в рослинах за враження патогеном.

Ще одним із антиоксидантних ензимів є каталаза. Роль цього ензиму полягає в захисті клітин від перекису водню, що утворився під час метаболізму, та в забезпеченні рослин киснем. Більша частина каталази локалізована в пероксисомах та цитоплазмі [29].

Вивчення активності каталази дало змогу встановити, що в листках-рослин сортів 'Мелодія' та 'Нива' відбувалося зниження активності каталази, а у сортів 'Аксиома' та 'Журавка' – активація цього ензиму за інфікування цим патогеном (рис. 4). Різноманітні зміни активності каталази за дії патогена, мабуть, пов'язані з відмінностями у швидкості процесів утворення активних форм кисню і функціонуванні антиоксидантних систем у рослинній клітині за інфікування рослин збудниками септоріозу в різних сортів пшениці. Підвищений рівень активності каталази в рослин сортів 'Аксиома' та 'Журавка' може бути обумовлений не тільки чинника-

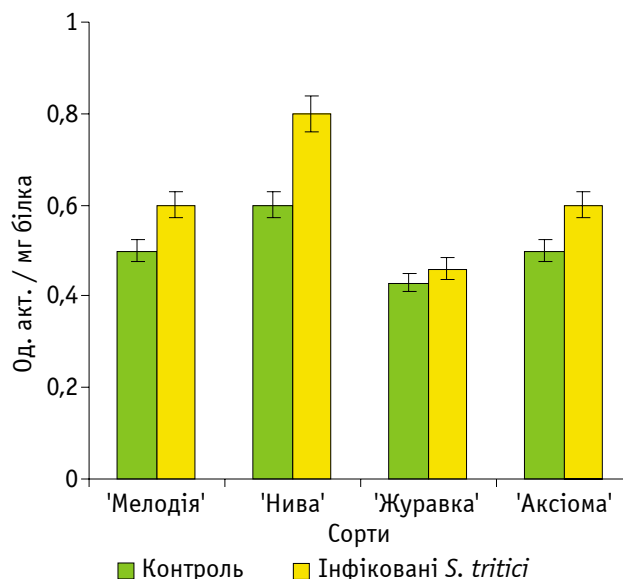


Рис. 3. Активність супероксиддисмутази в рослинах пшениці, уражених *S. tritici*, у фазі колосіння

ми рослини, але й гриба, що забезпечує оптимальний рівень H_2O_2 для росту й розвитку фітопатогена в рослинних тканинах [30, 31].

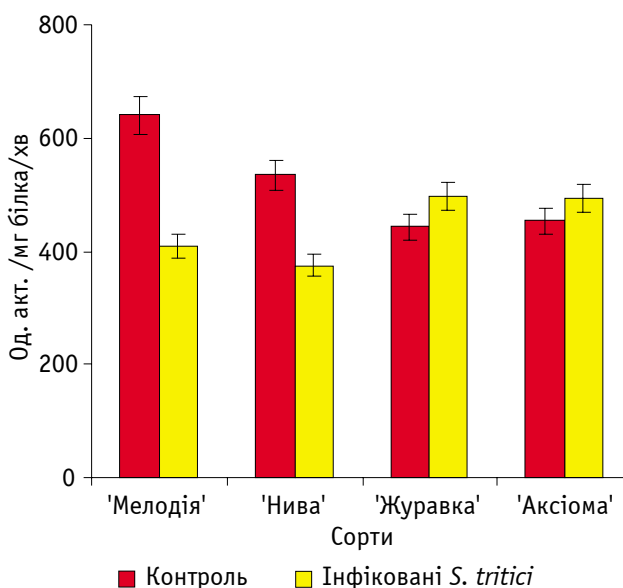


Рис. 4. Активність каталази в рослинах пшениці, уражених *S. tritici*, у фазі колосіння

Важливим ензимом, що бере участь у регуляції вмісту H_2O_2 є пероксидаза. Ендогенна пероксидаза рослин з використанням H_2O_2 здатна окиснювати фенольні сполуки, що пов'язано зі зміцненням клітинних стінок унаслідок лігніфікації [32].

Нашими дослідженнями встановлено, що за інфікування септоріозом активність пероксидази підвищувалася проти контролю в листках рослин сорту 'Аксиома' та знижувалася у сортів 'Нива' та 'Журавка'. В інфікованих септоріозом рослинах сорту 'Мелодія'

активність пероксидази практично не змінювалася порівняно зі здоровими рослинами (рис. 5). Активація пероксидази у більш резистентного до ВСМП сорту була відмічена нами за вивчення впливу ВСМП на рослини [13]. Виявлений характер зміни активності пероксидази за інфікування рослин збудниками септоріозу та ВСМП свідчать про роль цього ензиму у формуванні захисних механізмів пшениці проти фітопатогенів різної етіології.

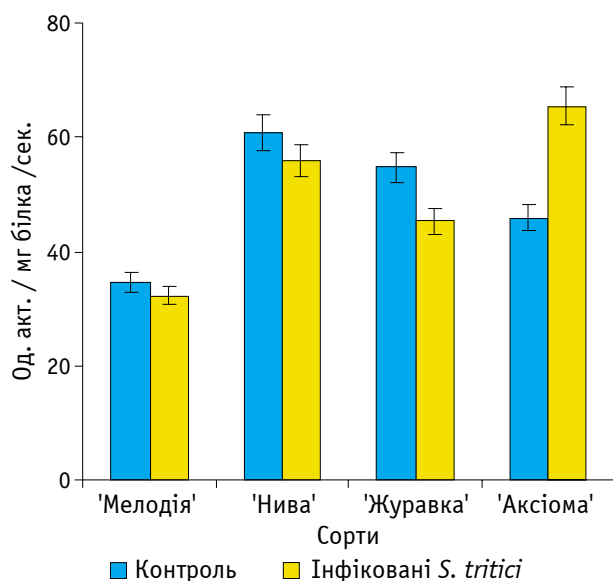


Рис. 5. Активність пероксидази в рослинах пшениці, уражених *S. tritici*, у фазі колосіння

Отже, можна припустити, що важливу роль у взаємовідносинах рослин пшениці та *S. tritici* відіграють окиснювальні процеси, зокрема накопичення H_2O_2 та МДА. Значне підвищення вмісту H_2O_2 та МДА за інфікування септоріозом може індукувати в рослинах каскад захисних реакцій, а їх низька концентрація сприяти розвитку патогена [8, 9]. Водночас тривале накопичення H_2O_2 та МДА токсичне як для патогена, так і для рослини. Для регулювання інтенсивності окиснювальних процесів рослини та гриби використовують механізми детоксикації, пов'язані з індукцією ензимів антиоксидантної системи, як-от супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза. Нашими дослідженнями виявлено, що супероксиддисмутаза в рослинах пшениці відзначається високою чутливістю до збудників септоріозу, що виражається в підвищеній активності цього ензиму в усіх досліджених сортах, незалежно від рівня стійкості проти патогена. Характер активності пероксидази в інфікованих збудниками септоріозу рослинах пшениці свідчать про роль пероксидази у формуванні стійкості проти патогена. Дослідження ак-

тивності каталази, яка може бути рослинного та грибного походження, указують на роль цього ензиму в регулюванні накопичення H_2O_2 в інфікованих рослинах.

Висновки

Проведені дослідження показали, що враження рослин пшениці *S. tritici* викликає такі зміни окиснювальних та антиоксидантних процесів рослинної клітини, як накопичення пероксиду водню, зміни в інтенсифікації процесів перекисного окиснення ліпідів, активності деяких антиоксидантних ензимів (супероксиддисмутази, каталази, пероксидази). Отримані результати свідчать про наявність особливостей зміни окиснювальних та антиокиснювальних процесів клітин рослин пшениці за інфікування збудниками септоріозу залежно від дослідженого сорту пшениці. Показано, що реакція рослин на враження збудниками септоріозу в стійкіших проти хвороб сортів пшениці ('Мелодія', 'Аксиома') характеризувалася підвищеними або незмінними відносно контролю вмістом малонового діальдегіду та активності пероксидази. Подальші дослідження в цьому напрямі можуть привести до розуміння механізмів підтримання окиснювального гомеостазу в рослин за інфікування септоріозом. Це дасть змогу виявити біохімічні реакції рослин пшениці у відповідь на інфекцію, які можуть бути використані надалі для ідентифікації стійких проти хвороби сортів.

Використана література

1. Леонов О. Ю., Петренко В. П., Лучна І. С. та ін. Хвороби пшениці, поширені в Україні: шкідливість, генетичний контроль та результативність селекції на стійкість. *Селекція і насінництво*. 2016. Вип. 109. С. 53–92. doi: 10.30835/2413-7510.2016.74196
2. Литвиненко М. А. 100 років розвитку селекційних програм пшениці м'якої озимої. *Plant Varieties Studying and Protection*. 2016. № 2. С. 75–82. doi: 10.21498/2518-1017.2(31).2016.70324
3. Dumanović J., Nepovimova E., Natić M. et al. The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: a concise overview. *Frontiers in Plant Science*. 2021. Vol. 11. Article 552969. doi: 10.3389/fpls.2020.552969
4. Huang H., Ullah F., Zhou D. X. et al. Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Frontiers in Plant Science*. 2019. Vol. 10. Article 800. doi: 10.3389/fpls.2019.00800
5. Zhang Z., Chen Y., Li B. et al. Reactive oxygen species: A generalist in regulating development and pathogenicity of phytopathogenic fungi. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2020. Vol. 18. P. 3344–3349. doi: 10.1016/j.csbj.2020.10.024
6. Smirnov N., Arnaud D. Hydrogen peroxide metabolism and functions in plants. *New Phytologist*. 2019. Vol. 221, Iss. 3. P. 1197–1214. doi: 10.1111/nph.15488
7. Hong J. K., Kang S. R., Kim Y. H. et al. Hydrogen peroxide- and nitric oxide-mediated disease control of bacterial wilt in tomato plants. *The Plant Pathology Journal*. 2013. Vol. 29, Iss. 4. P. 386–396. doi: 10.5423/PPJ.OA.04.2013.0043

8. Shetty N. P., Kristensen B. K., Newman M. A. et al. Association of hydrogen peroxide with restriction of *Septoria tritici* in resistant wheat. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 2003. Vol. 62, Iss. 6. P. 333–346. doi: 10.1016/S0885-5765(03)00079-1
9. Mihailova G., Stoyanova Z., Rodeva R. et al. Physiological changes in winter wheat genotypes in response to the *Zymoseptoria tritici* infection. *Photosynthetica*. 2019. Vol. 57, Iss. 2. P. 428–437. doi: 10.32615/ps.2019.054
10. Koch K. G., Chapman K., Louis J. et al. Plant tolerance: a unique approach to control Hemipteran pests. *Frontiers in Plant Science*. 2016. Vol. 7. Article 1363. doi: 10.3389/fpls.2016.01363
11. Nadarajah K. K. ROS homeostasis in abiotic stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21, Iss. 15. Article 5208. doi: 10.3390/ijms21155208
12. López-Cruz J., Óscar C. S., Emma F. C. et al. Absence of Cu–Zn superoxide dismutase BCSOD1 reduces *Botrytis cinerea* virulence in Arabidopsis and tomato plants, revealing interplay among reactive oxygen species, callose and signalling pathways. *Molecular Plant Pathology*. 2017. Vol. 18, Iss. 1. P. 16–31. doi: 10.1111/mpp.12370
13. Mishchenko L., Nazarov T., Dunich A. et al. Impact of wheat streak mosaic virus on peroxisome proliferation, redox reactions, and resistance responses in wheat. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22, Iss. 19. Article 10218. doi: 10.3390/ijms221910218
14. Das K., Roychoudhury A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS–scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*. 2014. Vol. 2. Article 53. doi: 10.3389/fenvs.2014.00053
15. Diani Z., Ouarraqi E. M., Aissam S. et al. Induction of early oxidative events in soft wheat leaves inoculated with *Septoria tritici* and their relationship to resistance of Moroccan cultivars. *International Journal of Agriculture and Biology*. 2009. Vol. 11, No. 4. P. 351–359.
16. Бабаянц О. В., Бабаянц Л. Т. Основы селекции и методологии оценок устойчивости пшеницы к возбудителям болезней. Одесса : ВМВ, 2014. 401 с.
17. Sagisaka S. The occurrence of peroxide in a perennial plant *Populus gelrica*. *Plant Physiology*. 1976. Vol. 57, Iss. 2. P. 308–309. doi: 10.1104/pp.57.2.308
18. Мерзляк М. Н., Погосян С. И., Юферова С. Г. и др. Использование 2-тиобарбитуровой кислоты при исследовании перекисления липидов в тканях растений. *Биологические науки*. 1978. № 9. С. 86–94
19. Ridge I., Osborne D. J. Hydroxyproline and peroxidases in cell wall of *Pisum sativum*: regulation by ethylene. *Journal of Experimental Botany*. 1970. Vol. 21, Iss. 4. P. 843–856. doi: 10.1093/jxb/21.4.843
20. Королюк М. А., Торев В. М., Майорова И. Г. Определение активности каталазы. *Лабораторное дело*. 1988. № 1. С. 16–18.
21. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах. *Лабораторное дело*. 1985. № 11. С. 678–681.
22. Lowry O. H., Rosebrough N. I., Farr A. L. et al. Protein measurement with Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 1951. Vol. 193, Iss. 1. P. 265–275. doi: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6
23. Thakur M., Sohal B. S. Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen Infection: a review. *International Scholarly Research Notices*. 2013. Vol. 2013. Article 762412. doi: 10.1155/2013/762412
24. Orozco-Cárdenas M. L., Narváez-Vásquez J., Ryan C. A. Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate. *The Plant Cell*. 2001. Vol. 13, Iss. 1. P. 179–192. doi: 10.2307/3871162
25. Poudel A., Navathe S., Chand R. et al. Hydrogen peroxide prompted lignification affects pathogenicity of hemi-biotrophic pathogen *Bipolaris sorokiniana* to wheat. *The Plant Pathology Journal*. 2019. Vol. 35, Iss. 4. P. 287–300. doi: 10.5423/PPJ.OA.09.2018.0180
26. Молодченкова О. О. Влияние салициловой кислоты и *Fusarium graminearum* на активность каталазы, содержание H₂O₂ и эндогенной салициловой кислоты в проростках пшеницы. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2005. Т. 37, № 1. С. 37–43.
27. El-Beltagi H. S., Mohamed H. I. Reactive oxygen species, lipid peroxidation and antioxidative defense mechanism. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2013. Vol. 41, Iss. 1. P. 44–57. doi: 10.15835/nbha4118929
28. Yang F., Melo-Braga M. N., Larsen M. R. et al. Battle through signaling between wheat and the fungal pathogen *Septoria tritici* revealed by proteomics and phosphoproteomics. *Molecular & Cellular Proteomics*. 2013. Vol. 12, Iss. 9. P. 2497–2508. doi: 10.1074/mcp.M113.027532
29. Sofo A., Scopa A., Nuzzaci M., Vittori A. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015. Vol. 16, Iss. 6. P. 13561–13578. doi: 10.3390/ijms160613561
30. Goodwin P. H., Li J., Jin S. A catalase gene of *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae* is highly expressed during the necrotrophic phase of infection of round-leaved mallow *Malva pusilla*. *FEMS Microbiology Letters*. 2001. Vol. 202, Iss. 1. P. 103–107. doi: 10.1111/j.1574-6968.2001.tb10787.x
31. Mhamdi A., Queval G., Chaouch S. et al. Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models. *Journal of Experimental Botany*. 2010. Vol. 61, Iss. 15. P. 4197–4220. doi: 10.1093/jxb/erq282
32. Almagro L., Gómez Ros L. V., Belchi-Navarro S. et al. Class III peroxidases in plant defence reactions. *Journal of Experimental Botany*. 2009. Vol. 60, Iss. 2. P. 377–390. doi: 10.1093/jxb/ern277

References

1. Leonov, O. Yu., Petrenkova, V. P., Luchnaya, I. S., Suvorova, K. Yu., & Chugayev, S. V. (2016). Wheat diseases common in Ukraine: harmfulness, genetic control and effectiveness of breeding for resistance. *Plant Breeding and Seed Production*, 109, 53–92. doi: 10.30835/2413-7510.2016.74196 [In Ukrainian]
2. Lytvynenko, M. A. (2016). 100-year history of the development of winter wheat breeding programs. *Plant Varieties Studying and Protection*, 2, 75–82. doi: 10.21498/2518-1017.2(31).2016.70324 [In Ukrainian]
3. Dumanović, J., Nepovimova, E., Natić, M., Kuča, K., & Jačević, V. (2021). The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: a concise overview. *Frontiers in Plant Science*, 11, Article 552969. doi: 10.3389/fpls.2020.552969
4. Huang, H., Ullah, F., Zhou, D. X., Yi, M., & Zhao, Y. (2019). Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Frontiers in Plant Science*, 10, Article 800. doi: 10.3389/fpls.2019.00800
5. Zhang, Z., Chen, Y., Li, B., Chen, T., & Tian, S. (2020). Reactive oxygen species: A generalist in regulating development and pathogenicity of phytopathogenic fungi. *Computational and Structural Biotechnology*, 18, 3344–3349. doi: 10.1016/j.csbj.2020.10.024
6. Smirnof, N., & Arnaud, D. (2019). Hydrogen peroxide metabolism and functions in plants. *New Phytologist*, 221(3), 1197–1214. doi: 10.1111/nph.15488
7. Hong, J. K., Kang, S. R., Kim, Y. H., Yoon, D. J., Kim, D. H., Kim, H. J., ... Kim, Y. S. (2013). Hydrogen peroxide- and nitric oxide-mediated disease control of bacterial wilt in tomato plants. *The Plant Pathology Journal*, 29(4), 386–396. doi: 10.5423/PPJ.OA.04.2013.0043

8. Shetty, N. P., Kristensen, B. K., Newman, M.-A., Møller, K., Gregersen, P. L., & Jørgensen, H. J. L. (2003). Association of hydrogen peroxide with restriction of *Septoria tritici* in resistant wheat. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 62(6), 333–346. doi: 10.1016/S0885-5765(03)00079-1
9. Mihailova, G., Stoyanova, Z., Rodeva, R., Bankina, B., Bimšteine, G., & Georgieva, K. (2019). Physiological changes in winter wheat genotypes in response to the *Zymoseptoria tritici* infection. *Photosynthetica*, 57(2), 428–437. doi: 10.32615/ps.2019.054
10. Koch, K. G., Chapman, K., Louis, J., Heng-Moss, T., & Sarath, G. (2016). Physiological changes in winter wheat genotypes in response to the *Zymoseptoria tritici* infection. *Photosynthetica*, 7, Article 1363. doi: 10.3389/fpls.2016.01363
11. Nadarajah, K. K. (2020). ROS homeostasis in abiotic stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), Article 5208. doi: 10.3390/ijms21155208
12. López-Cruz, J., Óscar, C.-S., Emma, F.-C., Pilar, G.-A., & Carmen, G.-B. (2016). Absence of Cu–Zn superoxide dismutase BCSOD1 reduces *Botrytis cinerea* virulence in Arabidopsis and tomato plants, revealing interplay among reactive oxygen species, callose and signalling pathways. *Molecular Plant Pathology*, 18(1), 16–31. doi: 10.1111/mpp.12370
13. Mishchenko, L., Nazarov, T., Dunich, A., Mishchenko, I., Ryshchakova, O., Motsnyi, I., Dashchenko, A., Bezukrovna, L., Fanin, Y., Molodchenkova, O., & Smertenko, A. (2021). Impact of wheat streak mosaic virus on peroxisome proliferation, redox reactions, and resistance responses in wheat. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), Article 10218. doi: 10.3390/ijms221910218
14. Das, K., & Roychoudhury, A. (2014). Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2, Article 53. doi: 10.3389/fenvs.2014.00053
15. Diani, Z., Ouarragi, E. M., Aissam, S., Hsissou, D., & Modafar, C. E. (2009). Induction of early oxidative events in soft wheat leaves inoculated with *Septoria tritici* and their relationship to resistance of Moroccan cultivars. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11(4), 351–359.
16. Babaiants, O. V., & Babaiants, L. T. (2014). *Osnovy seleksii i metodologii otsenok ustoychivosti pshenitsy k vzbuditelnyam bolezney* [Bases of breeding and methodology of assessments of wheat resistance to pathogens]. Odesa: VMV. [In Russian]
17. Sagisaka, S. (1976). The Occurrence of Peroxide in a Perennial Plant, *Populus gelrica*. *Plant Physiology*, 57(2), 308–309. doi: 10.1104/pp.57.2.308
18. Merzlyak, M. N., Pogosyan, S. I., Yuferova, S. G., & Shevyreva, V. A. (1978). Using of 2-thiobarbituric acid in the study of lipid peroxidation in plant tissues. *Biological Sciences*, 9, 86–94. [In Russian]
19. Ridge, I., & Osborne, D. J. (1970). Hydroxyproline and peroxidases in cell wall of *Pisum sativum*: regulation by ethylene. *Journal of Experimental Botany*, 21(4), 843–856. doi: 10.1093/jxb/21.4.843
20. Korolyuk, M. A., Torev, V. M., & Mayorova, I. G. (1988). Determination of catalase activity. *Laboratory Work*, 1, 16–18. [In Russian]
21. Chevari, S., Chaba, I., & Szekely, J. (1985). The role of superoxide dismutase in oxidative cell processes and a method for its determination in biological materials. *Laboratory Work*, 11, 678–681. [In Russian]
22. Lowry, O. H., Rosebrough, N. I., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275. doi: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6
23. Thakur, M., & Sohal, B. S. (2013). Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen Infection: a review. *International Scholarly Research Notices*, 2013, Article 762412. doi: 10.1155/2013/762412
24. Orozco-Cárdenas, M. L., Narváez-Vásquez, J., & Ryan, C. A. (2001). Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate. *The Plant Cell*, 13(1), 179–192. doi: 10.2307/3871162
25. Poudel, A., Navathe, S., Chand, R., Mishra, V. K., Singh, P. K., & Joshi, A. K. (2019). Hydrogen peroxide prompted lignifications affects pathogenicity of hemi- biotrophic pathogen *Bipolaris sorokiniana* to wheat. *The Plant Pathology Journal*, 35(4), 287–300. doi: 10.5423/PPJ.OA.09.2018.0180
26. Molodchenkova, O. O. (2005). Influence of salicylic acid and *Fusarium graminearum* on catalase activity, content of H₂O₂ and endogenous salicylic acid in wheat seedlings. *Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants*, 37(1), 37–43. [In Ukrainian]
27. El-Beltagi, H. S., & Mohamed, H. I. (2013). Reactive oxygen species, lipid peroxidation and antioxidative defense mechanism. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(1), 44–57. doi: 10.15835/nbha4118929
28. Yang, F., Melo-Braga, M. N., Larsen, M. R., Jørgensen, H. J. L., & Palmisano, G. (2013). Battle through signaling between wheat and the fungal pathogen *Septoria tritici* revealed by proteomics and phosphoproteomics. *Molecular & Cellular Proteomics*, 12(9), 2497–2508. doi: 10.1074/mcp.M113.027532
29. Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M., & Vitti, A. (2015). Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(6), 13561–13578. doi: 10.3390/ijms160613561
30. Goodwin, P. H., Li, J., & Jin, S. (2001). A catalase gene of *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae* is highly expressed during the necrotrophic phase of infection of round-leaved mallow *Malva pusilla*. *FEMS Microbiology Letters*, 202(1), 103–107. doi: 10.1111/j.1574-6968.2001.tb10787.x
31. Mhamdi, A., Queval, G., Chaouch, S., Vanderauwera, S., Van Breusegem, F., & Noctor, G. (2010). Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models. *Journal of Experimental Botany*, 61(15), 4197–4220. doi: 10.1093/jxb/erq282
32. Almagro, L., Gómez Ros, L. V., Belchi-Navarro, S., Bru, R., Ros Barceló, A., & Pedreño, M. A. (2008). Class III peroxidases in plant defence reactions. *Journal of Experimental Botany*, 60(2), 377–390. doi: 10.1093/jxb/ern277

UDC 577.1

Molodchenkova, O. O.^{1*}, Lytvynenko, M. A.¹, Mishchenko, L. T.², Ryshchakova, O. V.¹, Bezkravna, L. Ya.¹, Fanin, Ya. S.¹, & Tikhonov, P. S.¹ (2022). Oxidizing and antioxidant processes in wheat plants infected by *Septoria tritici* Rob. *Plant Varieties Studying and Protection*, 18(2), 90–97. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.18.2.2022.265176>

¹Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation, 3 Ovidiopska doroha, Odesa, 65036, Ukraine, *e-mail: olgamolod@ukr.net

²Taras Shevchenko National University of Kyiv, Educational and Scientific Centre “Institute of Biology and Medicine”, 64/13 Volodymyrska St., Kyiv, 01601, Ukraine, e-mail: lmishchenko@ukr.net

Purpose. Based on the study of oxidative and antioxidant processes in wheat plants (*Triticum aestivum* L.) in the earing phase at the infection by *Septoria tritici* Rob., identify the varietal features of changes in the level of hydrogen peroxide, the intensity of lipid peroxidation and the activity of antioxidant enzymes for development of biochemical methods for selection of disease-resistant plants. **Methods.** Field, spectrophotometric methods of biochemical characteristic determination, comparison, generalization. Statistical analysis of research results was carried out using the program Libre Office Calc (GNU Lesser General Public Licensev3). **Results.** Changes in the content of hydrogen peroxide, malondialdehyde and the activity of catalase, superoxide dismutase, peroxidase in wheat plants infected by *S. tritici* at the earing phase were determined. The presence

of varietal features of changes in the oxidative and antioxidant processes of wheat plant cells upon *S. tritici* infection were detected. It was shown that plant response to *S. tritici* damage in more disease-resistant wheat varieties were characterized by increased or unchanged relative to the control the content of malondialdehyde and peroxidase activity. **Conclusions.** The obtained results will expand the knowledge about the mechanisms of maintaining ROS homeostasis in wheat plants infected by *S. tritici* and allow to identify biochemical reactions of wheat plants in response to infection, which can be used in the future for the development of biochemical methods for identification of disease-resistant varieties.

Keywords: wheat; *Septoria tritici* Rob.; ROS homeostasis; resistance; antioxidant enzymes.

Надійшла / Received 01.07.2022

Погоджено до друку / Accepted 21.07.2022