

І. В. Жук*, Ю. В. Шиліна

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ, Україна

*Відповідальний автор: ivzhukvi@gmail.comВПЛИВ НИЗЬКИХ ДОЗ РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ
НА СТІЙКІСТЬ ПШЕНИЦІ ДО ФІТОПАТОГЕНІВ

Досліджено вплив гострого опромінення низькими дозами рентгенівської радіації (10 та 20 Гр) насіння пшениці озимої сортів Софія Київська та Щедрівка Київська на стійкість рослин до фітопатогенного навантаження. Ідентифіковано ураження насіння фітопатогенами *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp. і *Mucor* sp. Показано, що в обох сортів обидві дози пригнічували розвиток фітопатогенів, однак доза 20 Гр мала потужніший вплив на розвиток інфекції. Встановлено, що зміни в пулі пероксиду водню впродовж дослідного періоду також були чутливими до фітопатогенного навантаження та до сортоспецифічного адаптаційного потенціалу рослин. Продемонстровано, що зміни вмісту хлорофілів та каротиноїдів свідчать про функціональну збереженість листків після дії низьких доз рентгенівської радіації на зернівки пшениці та компенсацію шкодочинного впливу збудника фузаріозу на фотосинтетичний апарат рослин.

Ключові слова: пшениця, рентгенівське опромінення, фотосинтетичні пігменти, пероксид водню, *Fusarium*, *Mucor*, *Aspergillus*.

1. Вступ

Високоенергетичні випромінювання індують у рослин фізіолого-біохімічні зміни, які можуть бути використані в біотехнології, наприклад у мутаційній селекції для отримання нових сортів опроміненням насіння рентгенівськими або гамма-променями [1]. Рентгенівські промені взаємодіють з рослинними тканинами через поглинання та непружне розсіювання електронів, і тому вплив опромінення може призводити до іонізації біологічних молекул, унаслідок чого відбувається активація антиоксидантних ферментів та біосинтезу вторинних метаболітів, які беруть участь у захисних реакціях [2, 3].

Хоча вивчення дії рентгенівського випромінювання на рослини тривають ще з минулого століття, ефект низьких доз радіації досі залишається мало дослідженим. Попри позитивні результати, які демонструють, що передпосівна обробка насіння низькими дозами рентгенівської радіації здатна стимулювати ріст проростків [4], ефект низьких доз розглядають окремо від фітоімунітету та захисту від рослин патогенів. Повна елімінація фітопатогенів опроміненням низькими дозами неможлива через багатократно вищу радіостійкість мікроорганізмів порівняно з рослинами, однак неспецифічний фітоімунітет здатний реагувати на стресовий сигналінг, який запускається і при відповіді на іонізуючу радіацію [5, 6].

Тому метою нашої роботи було дослідити ефект низьких доз рентгенівської радіації на неспецифічний імунітет пшениці.

2. Матеріали та методи досліджень

Насіння пшениці озимої сортів Софія Київська та Щедрівка Київська (оригінатор Інститут фізіології рослин і генетики НАН України) опромінювали дозами 10 та 20 Гр при потужності дози 1,42 сГр/с за допомогою рентгенівської установки РУМ-17 (струм 10 мА, напруга 200 кВ, фільтр мідний товщиною 0,5 мм) Національного інституту раку. У подальшому опромінене і неопромінене насіння пророщували та підтримували ріст за умов водної культури при освітленості інтенсивністю 4,4 кЛк (14 год світла і 10 год темряви).

Упродовж дослідів проводили морфометричні вимірювання. Для визначення вмісту фотосинтетичних пігментів усереднену наважку з трьох листків гомогенізували у 96 % етанолі, після чого центрифугували впродовж 10 хв при 12000 g. Оптичну густину супернатанту вимірювали на спектрофотометрі Shimadzu UV-1280 (Японія) у кварцовій кюветі з довжиною оптичного шляху 10 мм при довжинах хвиль 470, 648,6 та 664,2 нм відносно етанолу. Вміст пігментів визначали та виражали в міліграмах на грам (мг/г) [7]. Для визначення вмісту H_2O_2 усереднену наважку з трьох листків гомогенізували у 50 мМ (50 ммоль/л) калій-фосфатному буфері (рН = 6,5). Гомогенат центрифугували протягом 10 хв при 12000 g. До отриманого супернатанту додавали 0,1 % розчин $Ti_2(SO_4)_3$ у 20 % H_2SO_4 , після чого суміш повторно центрифугували. Оптичну густину отриманого супернатанту вимірювали на спектрофотометрі за довжини хвилі

410 нм відносно буфера. Вміст H_2O_2 розраховували з урахуванням коефіцієнта екстинкції $0,28 \text{ мкмоль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ та виражали у мкмоль/г [8].

Ураження рослин фітопатогенами оцінювали візуально через облік інфікованих рослин та ідентифікацію збудників за морфологічними ознаками міцелію, виявленого під мікроскопом.

Індекс хвороби обчислювали за формулою (1) [9]

$$R = \Sigma(a \cdot b) \cdot 100 / N \cdot K, \quad (1)$$

де R – індекс хвороби, %; a – кількість рослин з ураженням; b – бал ураження; N – загальна кількість рослин; K – вищий бал ураження.

Бали ураження: $b = 1$ – незначне ураження (до 10 %); $b = 2$ – слабе ураження зернівки (до 20 %); $b = 3$ – середнє ураження зернівки (21–50 %), спороношення; $b = 4$ – сильне ураження зернівки (>50 %), зрілий міцелій, інтенсивне спороношення; $b = 5$ – дуже сильне ураження зернівки (100 %), інтенсивне спороно-

шення, поширення ураження на корінці та стебла проростків.

Повторність дослідів триразова. Результати оброблено статистично з використанням однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA).

3. Результати та їх обговорення

В обох досліджених сортах ідентифіковано *Fusarium* з темним міцелієм у вигляді рожево-сизуватого нальоту, дифузією рожевого пігменту в поживне середовище та макроконідіями завдовжки 20–70 мкм. У сорту Щедрівка Київська додатково виявлено *Mucor*, для якого характерний світлий міцелій з чорними спорангіями діаметром 100–200 мкм, а також *Aspergillus* із темним міцелієм і округлими конідіями. На 7-му добу ще не було знайдено у сорту Щедрівка Київська візуальних проявів розвитку фітопатогену *Fusarium*, однак уже зафіксовані ураження сумішшю фітопатогенів (*Aspergillus*+*Mucor*) (рис. 1, а, в).

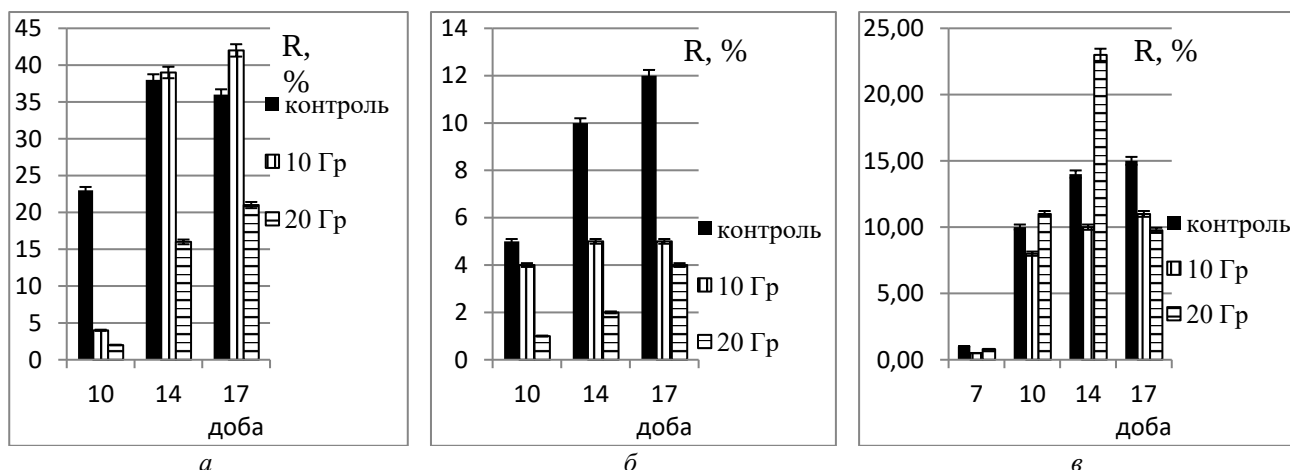


Рис. 1. Динаміка R *Fusarium* у сорту пшениці Софія Київська (а) та пшениці сорту Щедрівка Київська (б), суміші (*Aspergillus*+*Mucor*) фітопатогенів у Щедрівки Київської (в).

Показано, що в обох сортів обидві дози опромінення пригнічували розвиток фузаріозу (див. рис. 1, а, б). У сорту пшениці Софія Київська на 10-ту добу доза 10 Гр інгібувала індекс хвороби (збудник *Fusarium*) на 19 %, а доза 20 Гр – на 21 %, що становило відповідно зменшення індексу у 5,75 та 11,5 раза від рівня контрольного варіанта (див. рис. 1, а). На 14-ту добу достовірне пригнічення для цього ж фітопатогену спостерігали лише для варіанта з опроміненням дозою 20 Гр (індекс хвороби знизився на 22 %, до рівня, вдвічі меншого від контролю), однак на 17-ту добу доза 20 Гр все ще суттєво стримувала розвиток інфекції (% від контрольного рівня) (див. рис. 1, а).

Зафіксовано, що дія дози 10 Гр навіть мала стимулюючий ефект для розвитку фузаріозу на

17-ту добу (на 6 % від контролю), що пояснюється ослабленням з часом початкового впливу опромінення на антиоксидантні захисні системи фітоімунітету та виживання найбільш агресивних збудників, здатних подолати спротив. Таким чином, вища доза виявилася більш ефективною у пригніченні розвитку інфекції фузаріозу у сорту пшениці Софія Київська.

У сорту Щедрівка Київська обидві дози пригнічували розвиток захворювання фузаріозу впродовж всього дослідження, однак при цьому доза 20 Гр також мала потужніший вплив (див. рис. 1, б). Щодо суміші фітопатогенів, то на 17-ту добу продемонстровано достовірне зниження фітопатогенного навантаження для обох доз. Водночас упродовж дослідження для дози 20 Гр у певні часові проміжки спостерігалися тенденції

до посилення розвитку інфекції. Це може бути зумовлено дисбалансом фітопатогенної мікрофлори внаслідок опромінення, спричиненого різною чутливістю патогенів, зокрема, наявністю у деяких з них пігментів із захисною дією, а також подальшою зміною їхньої агресивності в умовах конкурентної боротьби за ресурси, вивільнені внаслідок пригнічення домінуючого фузаріозу (див. рис. 1, в).

Перехресна толерантність рослин розвивається завдяки взаємодії сигнальних механізмів за участю активних форм кисню (АФК), зокрема пероксиду водню (H_2O_2), що є побічним продуктом різних аеробних процесів. Окиснювальний вибух супроводжує R-ген-опосередковану стій-

кість та індукує гіперчутливу відповідь (HR), що за рахунок програмованої клітинної смерті у місцях інфекції обмежує поширення патогена, а навколишні клітини уникають клітинної смерті завдяки поширенню сигналів АФК [10].

Встановлено, що на 10-ту добу дослід у листках пшениці Софія Київська в контролі і у вирощеній з насіння, опроміненого дозою 10 Гр, був приблизно на тому самому рівні, однак при дозі 20 Гр був значно вищим (рис. 2, а). На 14-добу навпаки, концентрації H_2O_2 у варіантах, опромінені в обох застосованих дозах, збіглися, суттєво перевищуючи при цьому рівень контролю, і ця динаміка продовжилася до 17-ї доби (див. рис. 2, а).

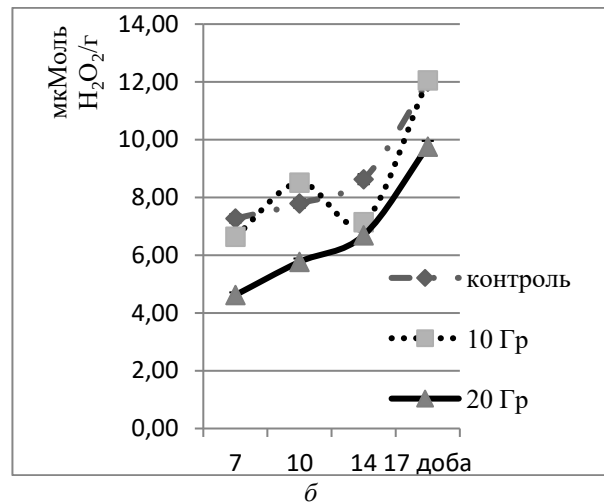
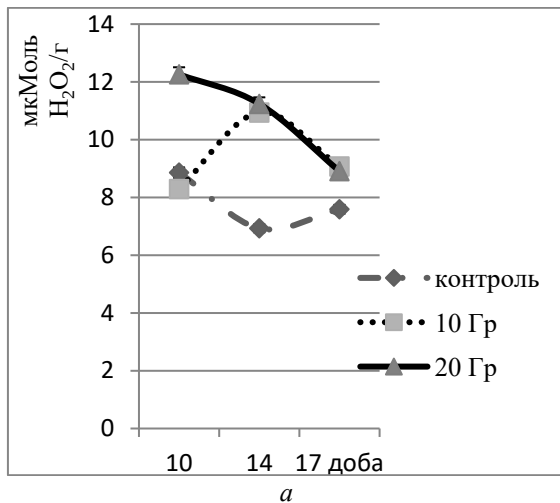


Рис. 2. Вміст ендogenous пероксиду водню в листках пшениці сорту Софія Київська (а) та Щедрівка Київська (б).

Після розпізнавання патогена базові захисні реакції рослини-хазяїна призводять до активації утворення ферментативних і неферментативних антиоксидантів, зміцнення клітинної стінки, пов'язаного з фенілпропановим метаболізмом, та відкладання калози. Пероксидаза і каталаза утилізують H_2O_2 , тоді як супероксиддисмутаза є «пасткою» для O_2^- і перетворює цю молекулу на H_2O_2 у живих клітинах [10–13]. Для гемібіотрофного *F. graminearum* окиснювальний вибух спричиняє зменшення прогресування в тканинах пшениці та до підвищення стійкості рослин на ранніх етапах після інокуляції, коли патоген перебуває у біотрофній фазі [14–17]. Таким чином, зміни в пулі пероксиду водню впродовж дослідного періоду є чутливими до фітопатогенного навантаження, а також залежать від адаптаційного потенціалу рослин, який визначається генетичними та епігенетичними факторами.

Одним з основних місць утворення АФК є хлоропласт, що функціонує як ключовий сенсор змін навколишнього середовища та здатний сприймати стресові сигнали за піко- або наносе-

кунди. Сприйняття цих сигналів пов'язане з дисипацією надлишкової енергії збудження у вигляді тепла та флуоресценції, утворенням синглетного кисню, передаванням поглинутої енергії, перенесенням електронів у фотосистемі II (PSII), редокс-реакціями у фотосистемах, зокрема розділенням електричних зарядів, змінами рН-градієнта через тилакоїдні мембрани та активацією ксантофілового циклу в процесі нефотохімічного гасіння. За допомогою ретроградного сигналізу хлоропласт передає цю інформацію до інших клітинних компартментів, регулюючи експресію ядерних генів за участю Ca^{2+} та АФК [10]. Далі – у проміжку від мікросекунд до секунд – АФК впливають на біосинтез біологічно активних сполук та фітогормонів, рівень цукрів, іонні сигнальні шляхи, редокс-стан пулів пластохінону і глутатіон/аскорбат, що опосередковують аклімацию рослин до стресових умов [2, 10, 13].

Відомо, що рентгенівські промені спричиняють редокс-модифікації редокс-активних кофакторів білків, зокрема *in vitro* пошкоджують PSII,

відновлюючи центри марганцю до $Mn(II)_{5-8}$ і руйнуючи ді- μ -оксо-зв'язки марганцю [2]. Однак вміст хлорофілу *a* та хлорофілу *b* у сорту Софія Київська в перші 10 діб у листках не був нижчим за рівень контролю у варіантах з опроміненням, що свідчить про збереженість і нормальний розвиток фотосинтетичного апарату рослин (рис. 3). Морфометричні вимірювання також підтвер-

джують нормальний ріст та розвиток рослин з опромінених зернівок в обох сортів для обох доз. Тільки на 14-ту добу різко знижується вміст хлорофілу *a* у варіанті з опроміненням дозою 10 Гр, у той час як зростає рівень хлорофілу *b*, що компенсує в сумі вміст хлорофілів у листках рослин сорту Софія Київська (див. рис. 3).

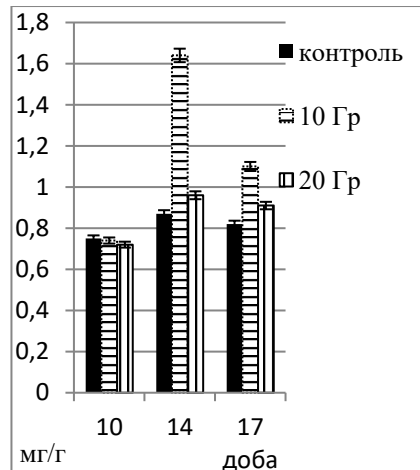
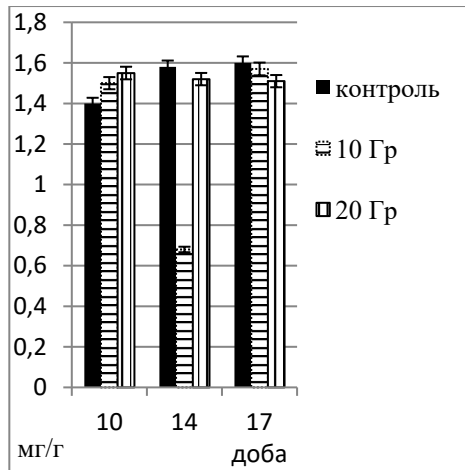


Рис. 3. Вміст хлорофілу *a* (а) та *b* (б) у листках пшениці сорту Софія Київська.

Ефективна доза рентгенівського випромінювання для контролю рослинних хвороб зазвичай є нижчою за ефективну дозу гамма-випромінювання за рахунок вищої щільності перенесення енергії і перебуває в межах 0,1–10 кГр, однак оптимальна доза може істотно варіювати залежно від конкретного фітопатогена та рослинного матеріалу, який підлягає обробці [11]. Рентгенівська фазово-контрастна томографія саме завдяки високій роздільній здатності та тривимірному характеру отримуваних даних є ключовим методом візуалізації, здатним формувати еталонні геометричні моделі біологічних органів і тканин, наприклад для відстеження морфологічних змін упродовж розвитку зернівки [12].

Каротиноїди – ефективні антиоксиданти, критично важливі для регуляції АФК та їх похідних, виконують допоміжні функції зі збирання світла та мають фотозахисні властивості, зокрема здатність гасити триплетний хлорофіл і синглетний кисень (1O_2) через ксантофіловий цикл. Каротиноїди можуть окиснюватися спонтанно АФК або ферментами родини Carotenoid Cleavage Dioxygenase (CCD) з утворенням апокаротиноїдів, які є стабільними маркерами окисного стресу у рослин [13]. Неферментативне окиснення каротиноїдів генерує апокаротиноїди, включаючи β -СС та попередники абсцизової кислоти (ABA), які виконують сигнальні функції в розвитку рослин та взаємодіях з довкіллям [13].

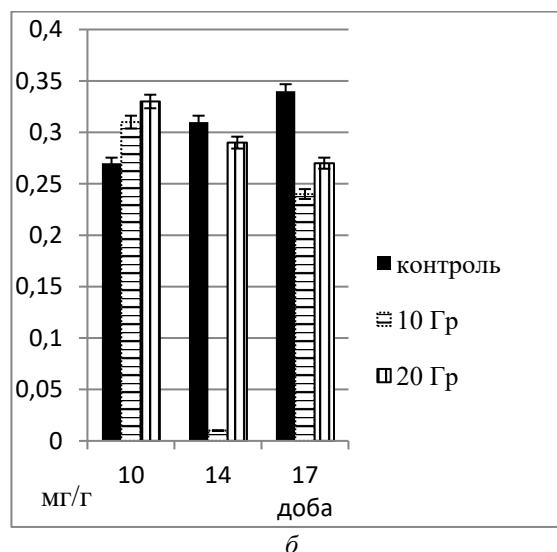
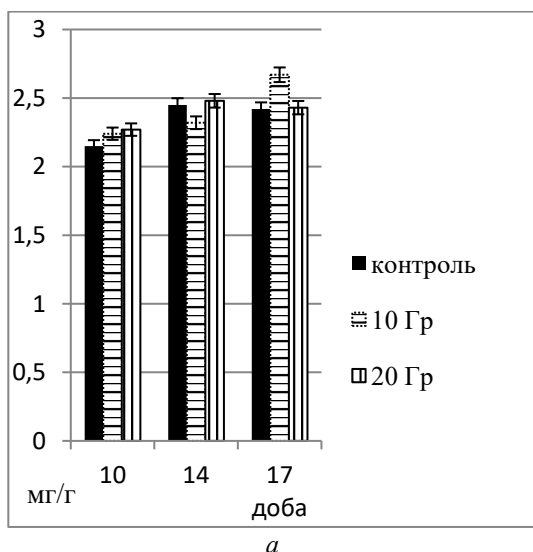


Рис. 4. Вміст суми хлорофілів (а) та каротиноїдів (б) у листках пшениці сорту Софія Київська.

У зерні пшениці може бути присутній широкий спектр каротиноїдів, зокрема лютеїн, β -каротин, β -криптоксантин, зеаксантин, антераксанти, тараксанти (лютеїн-5,6-епоксид), три-тиоксанти і флавоксанти. Вміст каротиноїдів і забарвлення зерна зумовлюються насамперед внутрішніми генотиповими характеристиками і меншою мірою умовами середовища. Зміни під час розвитку таких грибних інфекцій як *Fusarium* впливають не лише на місце, де локалізована інфекція, проте можуть також зачіпати інші частини зараженої рослини, наприклад, листки [14].

Показано, що вміст каротиноїдів різко знижувався у сорту пшениці Софія Київська на 14-ту

добу у варіанті з опроміненням дозою 10 Гр (рис. 4, б).

Однак у сорту пшениці Щедрівка Київська виявлено, що вміст хлорофілів у листках був більш стабільним, ніж у сорту Софія Київська, найбільш значні відмінності між варіантами спостерігали на 7-му добу для хлорофілу *a*, а для хлорофілу *b* – до 14-ї доби відзначено коливання (рис. 5).

Показано, що у сорту пшениці Щедрівка Київська вміст каротиноїдів у листках перевищував рівень контролю після опромінення дозою 10 Гр на 7-му, 10-ту та 14-ту доби, а після впливу дози 20 Гр – лише на 7-му та 17-ту доби (рис. 6).

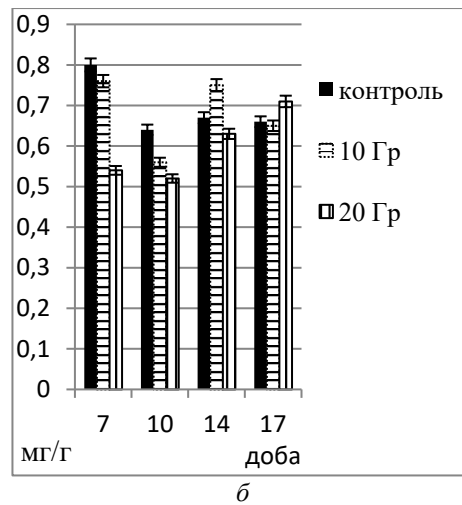
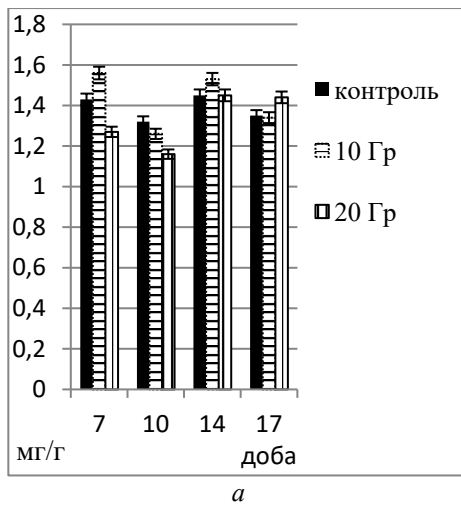


Рис. 5. Вміст хлорофілу *a* (а) та *b* (б) у листках пшениці сорту Щедрівка Київська.

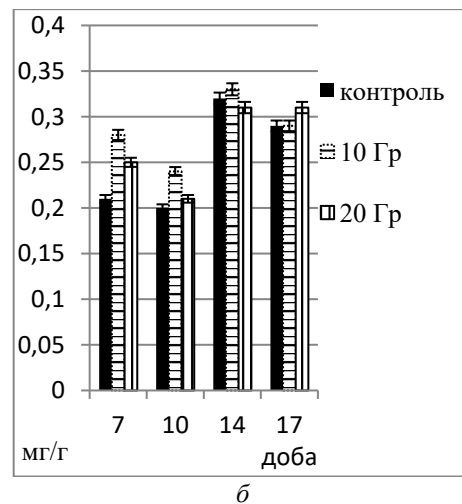
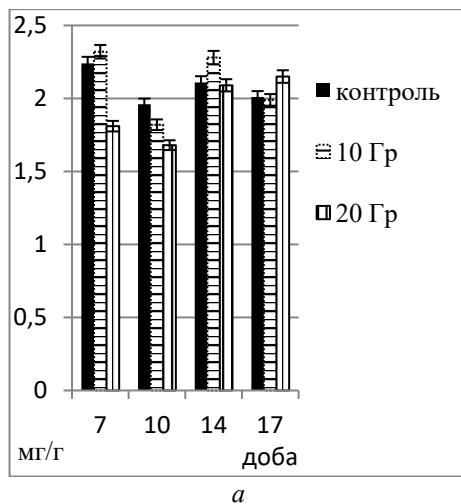


Рис. 6. Вміст суми хлорофілів *a* та *b* (а) та каротиноїдів (б) у листках пшениці Щедрівка Київська.

Згідно з даними літератури, у патосистемі «пшениця - *F. graminearum*» протеомне дослідження виявило глибоку перебудову функцій хлоропластів у відповідь на фузаріоз у проміжку між 48 і 72 год після інокуляції. Було валідовано три ефектори (Fg03600, FgTPP1 і FgCWM1), які, взаємодіючи з білками, асоційованими з хлоропластами та мітохондріями, перехоплюють контроль над імунітетом рослини. У генотипах пше-

ниці з вищим рівнем стійкості до *Fusarium* окремі метаболіти, що беруть участь у захисних процесах, представлені в різних пропорціях, і всі вони роблять внесок у кінцевий рівень стійкості. Проводиться селекція гексаплоїдних сортів пшениці з підвищеним вмістом каротиноїдів у зерні, зокрема лютеїну [17].

Атака патогенів може спричиняти значні зміни у вторинних метаболічних процесах, пов'яза-

них із захисними реакціями рослин, але водночас може порушувати первинний метаболізм, такий як фотосинтез, розподіл асимілятів та регуляція [18]. Тому розрізняють типи стійкості пшениці до інфекції *Fusarium* залежно від проявів – стійкість до первинного зараження, поширення симптомів, накопичення токсинів зараження зернівки та толерантність урожайності [19–23].

Під час взаємодії «рослина–патоген» зростає потреба в асимілятах, утворення АФК є особливо інтенсивним і відбувається переважно внаслідок фотосинтетичних реакцій [24, 25]. Фотосинтез тісно взаємопов'язаний з імунною відповіддю рослин на види *Fusarium*, зміни транскриптомів листків і колосків та зміни фотохімії PSII, спричинені різними видами *Fusarium* [19, 24]. Найбільш небезпечними та поширеними в Україні видами є *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *F. langsethiae*, *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. oxysporum*, серед яких найшкідливішими в Україні є гриби *F. graminearum* та *F. avenaceum* [18]. Більш значне зниження інтенсивності чистого фотосинтезу та продигової провідності прапорцевих листків спостерігали у стійкого сорту порівняно з чутливою сестринською лінією пшениці, тоді як для компонентів урожайності виявлено протилежну тенденцію [19].

Сортоспецифічні зміни фотосинтетичної ефективності прапорцевих листків переважно спостерігали лише на ранніх стадіях розвитку, тоді як інші зміни у функціонуванні фотосинтетичного апарату колосків були виявлені й після появи симптомів. Зміни фотохімії PSII та електронного транспорту у фузаріоз-інокульованих рослин порівняно з контрольними рослинами різнилися між шістьма сортами озимої пшениці, а також залежали від загального перебігу хвороби та сортової стійкості рослин [15].

Ймовірно, відмінності у вмісті фотосинтетичних пігментів у нашому дослідженні цілком зумовлені саме сортоспецифічними реакціями на збудник фузаріозу, який домінував у фітопатогенному навантаженні (див. рис. 1, 3–6).

Розвиток та інтенсивність фузаріозу, що входить до десятки найвпливовіших фітопатогенів у світі, можуть визначатися різними факторами, пов'язаними зі сприйнятливістю господаря та агресивністю патогена, проте найважливішими є погодні умови під час цвітіння. Селекція сортів пшениці, стійких до цього збудника є складним завданням, оскільки більшість джерел стійкості корелюють з несприятливими агрономічними ознаками.

Вміст каротиноїдів зростає у колосках сприйнятливих сортів за умов ураження фузаріозом колоса і знижувався в колосках стійких та помір-

но стійких сортів під впливом збудника інфекції. Каротиноїди беруть участь у біосинтезі абсцизової кислоти (АВА), рівень якої значно зростає у колосках сприйнятливих сортів після інокуляції. Низькі дози опромінення можуть позитивно впливати на ріст і продуктивність рослин. За умов низькодозового впливу рентгенівське випромінювання стимулює рослини до синтезу сполук, що усувають надлишок АФК.

Зараження насіння фузаріозними грибами призводить до зниження енергії проростання і схожості. Деякі види грибів продукують мікотоксини, такі як дезоксиніваленон (ДОН), Т-2 і НТ-2 токсини, зеараленон, ніваленон тощо. Забруднення зерна мікотоксинами унеможливає його використання в харчових і кормових цілях [18].

Джерелами інфекції є ґрунт (хламідоспори, грибниця), післяжнивні рештки та уражене насіння (грибниця). Грибниця *F. graminearum* та *F. culmorum* уражуючи колосся, часто проникає в зерно. При слабкому ураженні зерна вона розміщується в перикарпії чи в оболонці, а при більш сильному проникає в алейроновий шар, де розкладає білок з виділенням токсичних речовин. Сапрофітні фузаріуми можуть розвиватися на вологому зерні під час зимового зберігання, склеюючи зерно масивною грибницею [18].

Ураження зерна пшениці мікофлорою відбувається у різний час: у період вегетації, при зборі врожаю, особливо в умовах підвищеної вологості, під час обмолоту, в період зберігання насіння з підвищеною вологістю. Мікофлора, що є на зерні, може бути сапрофітною (мукор, аспергілі тощо) і патогенною (фузаріоз). Фузаріоз колосу, що спричиняється грибом *F. graminearum*, проявляється у фазу колосіння й розвивається до збирання врожаю. Хвороба розповсюджена всюди, особливої шкоди завдає в роки з вологою погодою та помірними температурами після фази колосіння. Особливо небезпечною є глибинна інфекція, за якої збудник досягає зародка насіння в разі ураження колосся на ранніх фазах розвитку – у період від цвітіння до молочної стиглості зерна. У такому разі грибниця повністю пронизує зерно, унаслідок чого насіння втрачає схожість [16–20]. Однак за пізніх строків зараження уражені зернівки, як правило, зовні не відрізняються від здорових, але несуть приховану форму інфекції. Таке зерно залишається джерелом інфекції для здорового насіння в період зберігання. Ураження колоса спричиняє недобір врожаю 45–73 %, погіршуються посівні якості насіння, пустоколосість уражених колосків зростає до 60 %. В ураженому зерні погіршується щільність клейковини, зменшується кількість

білка, через що під час розмелу погіршується якість борошна, випечений хліб втрачає об'єм та пористість, набуває тріщин, а м'якуш стає коричневим. *F. sporotrichiella* та *F. graminearum* виділяють сильні мікотоксини і можуть викликати отруєння людей та тварин. Гібридні комбінації мають суттєву диференціацію за рівнем розвитку ознак продуктивності та гомеостатичності (на трьох фонах збудника *F. graminearum*) [19]. Серед грибів, виділених із зерна пшениці в зоні Полісся, домінували представники родів *Mucor* (92,5 %), *Aspergillus* (83,0 %) та *Fusarium* (60,4 %). Серед представників роду *Fusarium* були ідентифіковані *Fusarium* spp. (17,0 %), *F. oxysporum*, *F. moniliforme* та *F. semitectum* (по 5,7 %), а також *F. culmorum* (3,8 %) від загальної кількості досліджених зразків. Серед представників роду *Aspergillus* рідше виявляли *A. niger* (17,0 %), *A. candidus* (9,4 %) та *A. terreus* (1,9 %) [20]. Однак за підвищення вологості зерна до 15–19 % починають інтенсивно розвиватися плісєневі гриби, що спричиняють його псування під час зберігання, зокрема представники роду *Aspergillus*. Це призводить до істотного зростання дихальної активності. У результаті може відбуватися підвищення температури і в окремих випадках – самозгрівання зернової маси, зумовлене послідовною колонізацією різними грибами, що зрештою сприяє розвитку термофільних грибів та актиноміцетів. Мікофлора зерна пшениці під час зберігання переважно представлена повсюдно поширеними родами плісєневих грибів, зокрема й виявленими нами *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, що зумовлено їхньою здатністю рости на різноманітних субстратах, а також широким діапазоном температур і вологості. Найчастіше у збереженому зерні пшениці серед грибів роду *Aspergillus* виявляли *A. niger* і *A. fumigatus*; також часто траплялися *F. moniliformis* [21, 25].

Під час гідротермічної обробки перед помелом (коли зерно зволожують і витримують протягом 14 год за температури 30 °C) створюються сприятливі умови для розвитку мікроорганізмів, які можуть потрапити до споживача. *Fusarium* і *Aspergillus* своєю здатністю продукувати мікотоксини та рости за широкого спектра умов довкілля становлять серйозну загрозу для здоров'я людини [26]. *Fusarium* spp. зазвичай контамінують зернові культури в польових умовах, тоді як *Aspergillus* spp. частіше розвиваються під час зберігання. Найчастіше ізолювали відомі допосівні та післязбиральні контамінанти, а також мікотоксин-продукуючі роди грибів: *Aspergillus* spp. (82 %) та *Fusarium* spp. (76 %). За зміни умов зберігання борошна і підвищення вологості понад 12 % такі мікроорганізми здатні

активно розвиватися [22, 23]. Показано ефективність рентгенівського опромінення у контролі антракнозу та чорної плямистості груші й суниці, а також в інактивації грибів роду *Aspergillus* у суцвіттях канабісу [21–22].

Зернові культури забезпечують значну частку калорійних потреб людства, і 20 % щорічних світових втрат урожаю та якості зерна пшениці зумовлені різними ушкодженнями рослин, спричиненими грибними патогенами [26].

Для зменшення поверхневої мікрофлори необхідний метод дезінфекції зерна, який не впливає на його функціональні властивості. Використання інших видів опромінення, наприклад гамма-опромінення, технологічно подібне до рентгенівського, однак потребує вищих доз для ефективного впливу. Попри зменшення мікробного навантаження на поверхні зерна після обробки H_2O_2 -УФ-озоном цей метод не призвів до зниження мікробної кількості в зерні після пророщування, що свідчить про обмежену глибину проникнення та неповну відтворюваність позитивних ефектів у польових умовах. Газофазні гідроксильні радикали утворювалися внаслідок УФ-С-індукованого розкладання пероксиду водню та/або озону в майже безводному процесі [24, 25]. Хоча озонна обробка підвищувала мікологічну безпеку борошна, у технології підготовки зерна до помелу (гідротермічна підготовка) застосування озонованої води для передпемельного зволоження зерна знижувало загальну кількість колоній плісєневих грибів у борошні [21, 24–27]. Подібно до гамма-випромінювання, рентгенівське опромінення є екологічно безпечним, неінвазивним нетермічним методом контролю хвороб, який не залишає хімічних залишків чи теплового пошкодження у рослинах або ґрунті та позбавлене недоліків УФ-С.

Отже, згідно з отриманими результатами використання низьких доз рентгенівського опромінення є перспективним для контролю й стимуляції неспецифічного імунітету пшениці проти збудників грибних захворювань.

4. Висновки

Патогени *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp. і *Mucor* sp., розвиток яких виявлено після опромінення у пшениці, є одними з найпоширеніших в Україні. Очевидно, збудник фузаріозу інфікував у польових умовах на пізніх етапах формування зернівок, а аспергіл та мукор приєдналися під час зберігання зерна. Низькі дози рентгенівської радіації (10 та 20 Гр) у пшениці озимої сортів Софія Київська та Щедрівка Київська знижували індекс хвороби для цих інфекцій, що свідчить про пригнічення розвитку фітопатогенів. Доза

20 Гр виявилася більш ефективною для стримування грибних інфекцій в обох сортів. Зміни вмісту пероксиду водню впродовж дослідного періоду свідчили про сортоспецифічні особливості адаптації рослин до домінуючого збудника фузаріозу, подібно до змін у вмісті каротиноїдів. Використані дози рентгенівського опромінення

не чинили шкідливого впливу на фотосинтетичний апарат і розвиток рослин, сприяли збереженню їхньої функціональної активності за умов фітопатогенного навантаження, що свідчить про перспективність застосування цього методу для практичного захисту рослин та підтверджує переваги рентгенівського опромінення.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ / REFERENCES

1. M. Hassine et al. Screening of the effect of mutation breeding on biotic stress tolerance and quality traits of durum wheat. *Gesunde Pflanzen* 75 (2023) 837.
2. J. Wang et al. Ionizing radiation: Effective physical agents for economic crop seed priming and the underlying physiological mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.* 23 (2022) 15212.
3. D. Kiani et al. Application of gamma irradiation on morphological, biochemical, and molecular aspects of wheat (*Triticum aestivum* L.) under different seed moisture contents. *Sci. Rep.* 12 (2022) 11082.
4. В.В. Жук, О.М. Міхеев, Л.Г. Овсяннікова. Вплив опромінення насіння гороху рентгенівською радіацією на витривалість рослин до дії УФ-С. *Ядерна фізика та енергетика* 26 (2025) 256. / V.V. Zhuk, O.M. Mikheev, L.G. Ovsyannikova. Effect of X-ray irradiation of pea seeds on plant resistance to UV-C. *Nucl. Phys. At. Energy* 26 (2025) 256. (Ukr)
5. H. Kashtoh, M.F. Rabbee, K.-H. Baek. New insights into plant signaling mechanisms in biotic and abiotic stress. *Plants* 14(13) (2025) 1953.
6. S. Mishra et al. Complexity of responses to ionizing radiation in plants, and the impact on interacting biotic factors. *Sci. Total. Environ.* 924 (2024) 17156.
7. H.K. Lichtenthaler. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 148 (1987) 350.
8. L.-M. Chen, C.-H. Kao. Effect of excess copper on rice leaves: evidence for involvement of lipid peroxidation. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 40 (1999) 283.
9. Ю.В. Шиліна, О.С. Моложава, М.І. Гуша. Методичні рекомендації до практичних занять з навчального курсу «Фітоімунологія». Під ред. О.П. Дмитрієва (Київ: Кондор, 2019) 40 с. / Yu.V. Shylina, O.S. Molozhava, M.I. Hushcha. Methodological Guidelines for Practical Classes in the Course "Phytoimmunology". O.P. Dmytriiev (Ed.) (Kyiv: Kondor, 2019) 40 p. (Ukr)
10. M. Kamran, P. Burdiak, S. Karpiński. Crosstalk between abiotic and biotic stresses responses and the role of chloroplast retrograde signaling in the cross-tolerance phenomena in plants. *Cells* 14(3) (2025) 176.
11. N.A. Zulkifli et al. Advances in irradiation technology for plant resistance: A review. *Agric. Rev.* 45(1) (2024) 25.
12. D. Legland et al. Synchrotron based X-ray microtomography reveals cellular morphological features of developing wheat grain. *Appl. Sci.* 12(7) (2022) 3454.
13. S. Cheng et al. Plant chloroplast stress response: insights from mass spectrometry metabolites analysis. *Front. Plant Sci.* 16 (2025) 1549156.
14. Z. Katanić et al. Photosynthetic efficiency in flag leaves and ears of winter wheat during fusarium head blight infection. *Agronomy* 11(12) (2021) 2415.
15. K. Sunic et al. Fusarium head blight infection induced responses of six winter wheat varieties in ascorbate-glutathione pathway, photosynthetic efficiency and stress hormones. *Plants* 12 (2023) 3720.
16. F. Rocher et al. Unravelling ecophysiological and molecular adjustments in the photosynthesis-respiration balance during *Fusarium graminearum* infection in wheat spikes. *Physiol. Plant.* 177(2) (2025) e70150.
17. J. Chrpová et al. Potential role and involvement of antioxidants and other secondary metabolites of wheat in the infection process and resistance to *Fusarium* spp. *Agronomy* 11 (2021) 2235.
18. К.О. Карпенко, Т.О. Рожкова, В.А. Власенко. Чорний зародок та фузаріоз насіння пшениці озимої (аналітичний огляд). *Миронівський вісник* 1 (2015) 170. / K.O. Karpenko, T.O. Rozhkova, V.A. Vlasenko. Black point and fusarium of winter wheat seeds (literature review). *Myronivskyi Visnyk* 1 (2015) 170. (Ukr)
19. Т.О. Рожкова. Шкідливість *Fusarium* sp. з мікобіоти насіння пшениці озимої. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Агрономія і біологія* 47(1) (2022) 119. / T.O. Rozhkova. Harmfulness of *Fusarium* sp. from mycobiota of winter wheat seeds. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. The series: Agronomy and Biology* 47(1) (2022) 119. (Ukr)
20. D.M. Ostrovskiy, V.M. Zotsenko, V.A. Gryshko. Microscopic fungi of wheat grain in the Polissya zone. *Ukr. J. Vet. Agric. Sci.* 6(2) (2023) 19.
21. M. Shiju. A review on the effect of fungi on the wheat grain under post harvest storage ecology. *Food Environ. Saf. J.* 9(2) (2010) 87.
22. C. Deligeorgakis et al. Fungal and toxin contaminants in cereal grains and flours: Systematic review and meta-analysis. *Foods* 12 (2023) 4328.
23. Y. Li et al. Effect of UV-C irradiation treatment on mycotoxins production in *Fusarium* species inoculated wheat seeds during wheat germination. *Food Chem.* 467 (2025) 142369.
24. R. Abdi et al. Surface disinfection of wheat kernels using gas phase hydroxyl-radical processes: Effect on germination characteristics, microbial load, and

- functional properties. *J. Food Sci.* 89(2) (2024) 1154.
25. Á. Iglesias-Ganado et al. Improvement of wheat and barley cultivation through seed priming with UV, ozone, and nutrimpriming (Fe, Zn, and B). *Appl. Sci.* 15 (2025) 9988.
26. S. Paulikienė, R. Žvirdauskienė. Evaluation of hydrothermal treatment of winter wheat grain with ozonated water. *Plants* 12 (2023) 3267.
27. M.J. Hong et al. Biological effect of gamma rays according to exposure time on germination and plant growth in wheat. *Appl. Sci.* 12 (2022) 3208.

I. Zhuk*, J. Shylina

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

*Corresponding author: ivzhukvi@gmail.com

THE EFFECT OF LOW DOSES OF X-RAY IRRADIATION ON WHEAT RESISTANCE TO PHYTOPATHOGENS

The effect of low-dose X-ray irradiation (10 and 20 Gy) of winter wheat seeds of the cultivars Sofiia Kyivska and Shchedrivka Kyivska on plant resistance to phytopathogenic pressure was investigated. Seed infestation by the phytopathogens *Fusarium* sp., *Aspergillus*, and *Mucor* was identified. It is shown that in both cultivars, both irradiation doses suppressed the development of phytopathogens; however, the 20 Gy dose had a more pronounced effect on infection development. Changes in the hydrogen peroxide content during the experimental period were also sensitive to phytopathogenic pressure and to the cultivar-specific adaptive potential of the plants. Changes in the contents of chlorophylls and carotenoids indicate the functional integrity of leaves following exposure of wheat grains to low doses of X-ray radiation and the compensation of the detrimental effects of the *Fusarium* pathogen on the photosynthetic apparatus of plants.

Keywords: wheat, X-rays, photosynthetic pigments, hydrogen peroxide, *Fusarium*, *Mucor*, *Aspergillus*.

Надійшла / Received 27.12.2025