

УДК 581.1

АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ ФУНГИЦИДА СЕДАКСАНА ПРИ ДЕЙСТВИИ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ПРОРОСТКИ КУКУРУЗЫ

© 2019 г. М. А. Шкляревский¹, Н. В. Швиденко¹, А. А. Луговая¹,
Т. О. Ястреб¹, Ю. В. Карпец¹, Ю. Е. Колупаев^{1,2}

¹Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева
(Харьков, Украина)

²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина
(Харьков, Украина)

Исследовали влияние фунгицида седаксан (ингибитор сукцинатдегидрогеназы – смесь *транс*- и *цис*-изомеров *N*-[2-(1,1'-бициклопропил)-2-илфенил]-3-(дифторометил)-1-метил-1-*H*-пиразол-4-карбоксамид) на устойчивость проростков кукурузы (*Zea mays* L.) разных генотипов к осмотическому стрессу (прорастивание семян на 9% растворе ПЭГ 6000). Наиболее высокая чувствительность к недостатку влаги проявлялась у гибрида PR38N86, несколько меньшая – у гибрида Ротанго, наиболее устойчивым к обезвоживанию был гибрид Ариосо. Обработка семян седаксаном в концентрациях 0,1 и 1 мг/мл существенно смягчала негативное влияние осмотического стресса на накопление биомассы побегов и корней. Положительное влияние седаксана на неустойчивые гибриды было более заметным. Под влиянием осмотического стресса в проростках кукурузы всех трех генотипов происходило повышение содержания продукта пероксидного окисления липидов малонового диальдегида. Обработка семян седаксаном значительно уменьшала проявление окислительного стресса. В стрессовых условиях у гибридов Ариосо и PR38N86 отмечалось повышение активности супероксиддисмутазы, обработка семян седаксаном нивелировала этот эффект. Активность каталазы при осмотическом стрессе повышалась только у гибрида PR38N86, при этом воздействие седаксана не влияло на величины активности фермента. Под влиянием осмотического стресса в проростках накапливался пролин, в наибольшей степени у устойчивого гибрида Ариосо, у гибридов Ариосо и Ротанго отмечалось также некоторое увеличение содержания сахаров. Обработка семян фунгицидом седаксан не влияла на эти показатели. Сделано заключение, что седаксан оказывает на проростки кукурузы антиоксидантное действие, возможно, связанное с ингибированием сукцинатдегидрогеназы, которая считается одним из источников образования активных форм кислорода в митохондриях в условиях стресса.

Ключевые слова: *Zea mays*, осмотический стресс, устойчивость, окислительный стресс, антиоксидантная система, осмопротекторная система, седаксан

Засуха является одним из основных факторов среды, лимитирующих рост и продуктивность растений (Chaves, Oliveira, 2004). Ее воздействию на растения обычно сопутствует влияние высокой температуры, избыточной освещенности, засоления почвы и других неблагоприятных факторов (Wilkinson, Davies, 2010). В связи с этим считается, что значитель-

ный вклад в засухоустойчивость вносят неспецифические механизмы резистентности, среди которых особое значение имеет антиоксидантная система (Li, Liu, 2016), которая обезвреживает избыток активных форм кислорода (АФК). Как известно, их содержание в клетках увеличивается при действии стрессоров самой различной природы (Gill, Tuteja, 2010).

Процесс фотосинтеза считается одним из основных источников АФК у зеленых растений (Foyer, Shigeoka, 2011; Креславский и др., 2012). Однако засуха оказывает негативное влияние на самых ранних фазах развития рас-

Адрес для корреспонденции: Колупаев Юрий Евгеньевич, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, п/о Докучаевское-2, Харьков, 62483, Украина;
e-mail: plant_biology@ukr.net

тений, еще до их перехода к автотрофному питанию (Кравченко, 2010). В этиолированных органах растений значительный вклад в образование АФК вносят митохондрии (Rhoads et al., 2006). Получены данные, свидетельствующие о большом вкладе митохондрий в процессы окислительных повреждений растений в условиях засухи: в стрессовых условиях в листьях пшеницы содержание карбонилированных белков в митохондриях было на порядок выше, чем в хлоропластах (Bartoli et al., 2004).

Основными сайтами образования АФК в митохондриях считаются комплексы I и III (Cvetkovska, Vanlerberghe, 2013). Однако в последнее время получены сведения о значительном вкладе комплекса II (сукцинатдегидрогеназы, КФ 1.3.99.1) в образование АФК в митохондриях клеток животных и растений (Huang, Millar, 2013). У растений арабидопсиса точечная мутация по гену, кодирующему одну из субъединиц сукцинатдегидрогеназы, вызывала снижение активности фермента с одновременным уменьшением содержания АФК в клетках (Gleason et al., 2011; Huang, Millar, 2013).

Приемы, способствующие уменьшению содержания АФК в клетках и снижающие вероятность окислительных повреждений биомолекул и клеточных структур, обычно повышают устойчивость растений ко многим стрессорам, в том числе к засухе (Habibi et al., 2012; Saruhan et al., 2012; Bartoli et al., 2013; Ma et al., 2014). Такой эффект могут вызывать не только стрессовые фитогормоны (салициловая и жасмоновая кислоты, брассиностероиды и пр.) (Молодченкова, 2008; Saruhan et al., 2012; Колупаев, Вайнер, 2014; Колупаев и др., 2016), синтетические регуляторы роста (Чмелева и др., 2014), но и некоторые препараты защиты растений, оказывающие влияние не только на паразитарные организмы, но и на функционирование самого растительного организма (Jeschke, 2016). Так, установлено, что фунгицидные препараты, являющиеся ингибиторами сукцинатдегидрогеназы (Jeschke, 2016), повышают устойчивость молодых растений кукурузы к низким температурам, ячменя и рапса – к засухе (Ebbinghaus et al., 2010). Ранее было показано, что обработка семян пшеницы седаксаном, представляющим собой смесь *транс*- и *цис*-изомеров *N*-[2-(1,1'-бициклопропил)-2-илфенил]-3-(дифторометил)-1-метил-1-*H*-пиразол-4-карбоксамид (Zeun et al., 2013), ингибировала активность сукцинатдегидрогеназы и уменьшала содержание пероксида водорода в клетках корней (Колупаев и др., 2017). В усло-

виях осмотического стресса в проростках, выращенных из семян, обработанных седаксаном, содержание продукта пероксидного окисления липидов (ПОЛ) малонового диальдегида (МДА) было значительно ниже, чем в необработанных (Колупаев и др., 2017). Однако подобные эффекты седаксана изучены пока недостаточно. В частности, не известно, оказывает ли он в условиях засухи (осмотического стресса) влияние на функционирование защитных систем растений (осмопротекторной, антиоксидантной) или его действие направлено в основном на предотвращение генерации АФК. Открытым остается вопрос о возможных видовых и сортовых особенностях стресс-протекторного влияния седаксана на растения.

Кукуруза относится к растениям с C_4 -типом фотосинтеза, однако является требовательной к водному режиму, в частности, в ювенильный период (Кравченко, 2010). В связи с этим актуален поиск приемов, повышающих устойчивость растений кукурузы к водному дефициту на стадии прорастания семян.

Целью работы было изучение влияния седаксана на ростовые показатели проростков гибридов кукурузы с различной засухоустойчивостью, их резистентность к окислительным повреждениям и функционирование осмопротекторной и антиоксидантной систем при действии осмотического стресса.

МЕТОДИКА

В работе использовали гибриды кукурузы (*Zea mays* L.) Syngenta (Ариоссо и Ротанго) и Pioneer (PR38N86). Семена поверхностно обеззараживали погружением на 30 мин в 6% раствор пероксида водорода. После этого их тщательно промывали дистиллированной водой. Образцы опытных вариантов в течение 30 мин замачивали в растворах седаксана (Syngenta, Швейцария) диапазона концентраций от 0,01 до 5 мг/мл. Контроль – замачивание в дистиллированной воде. По окончании экспозиции в растворах семена просушивали и использовали для эксперимента.

Часть семян проращивали в термостате при температуре $26,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ на дистиллированной воде (контроль), другую часть на 9% растворе ПЭГ 6000. Концентрацию ПЭГ 6000, ингибирующую рост проростков на 40-65%, установили на основании предварительных опытов. Через 4 сут определяли массу побегов и корней и проводили анализы проростков.

Для определения содержания продуктов ПОЛ, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кис-

АНТИОКСИДАНТНОЕ ЭФФЕКТЫ ФУНГИЦИДА СЕДАКСАНА

лотой (преимущественно МДА), растительный материал гомогенизировали в реакционной среде, содержащей 0,25% 2-тиобарбитуровую кислоту в 10% ТХУ, гомогенат помещали в кипящую водяную баню на 30 мин. Затем пробы резко охлаждали и центрифугировали 15 мин при 10000 g. Оптическую плотность супернатанта определяли при длинах волн 532 нм (максимум поглощения МДА) и 600 нм (для поправки на неспецифическое поглощение) (Фазлиева и др., 2012). Содержание МДА выражали в мкмоль/г сухой массы.

Содержание пролина определяли с использованием нингидринового реактива и выражали в мкмоль/г сухой массы (Bates et al., 1973). Суммарное содержание сахаров в проростках анализировали методом Морриса-Роэ с использованием антронового реактива с модификациями, описанными нами ранее (Колупаев и др., 2015). Их количество выражали в мг/г сухой массы.

Активность антиоксидантных ферментов – цитозольной супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.15.1.1) и каталазы (КФ 1.11.1.6) – определяли по методикам, описанным в предыдущей работе (Колупаев и др., 2015). Навески побегов гомогенизировали на холоде в 0,15 М К₂Na-фосфатном буфере (рН 7,6) с добавлением ЭДТА (0,1 мМ) и дитиотрейтола (1 мМ). Для анализа использовали супернатант после центрифугирования гомогената при 8000 g в течение 15 мин при температуре не выше 4°C. Активность СОД определяли при рН реакционной смеси 7,6 с использованием метода, основанного на способности фермента конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные анионы, которые образуются вследствие аэробного взаимодействия НАДН и феназинметосульфата. Активность каталазы определяли по количеству пероксида водорода, разложившегося за единицу времени. Активность ферментов относили к грамму сухой массы.

При определении массы побегов и корней в каждом варианте оценивали не менее 30 проростков. Биологическая повторность биохимических анализов 4-кратная. В таблицах приведены средние величины и их стандартные ошибки. Кроме случаев, оговоренных специально, обсуждаются различия, достоверные при $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проращивании на 9% растворе ПЭГ 6000 масса побегов у гибридов Ариоссо, Ротанго и PR38N86 снижалась по сравнению с контролем приблизительно на 57, 66 и 71%, соот-

ветственно (табл. 1). Масса корней в стрессовых условиях у гибрида Ариоссо уменьшалась на 39%, у Ротанго и PR38N86 – на 60 и 65%, соответственно. Таким образом, наибольшую чувствительность к осмотическому стрессу проявлял гибрид PR38N86, несколько меньшую гибрид Ротанго. Наиболее устойчивыми в данных экспериментальных условиях были проростки гибрида Ариоссо.

Обработка семян седаксаном в концентрации 0,01 мг/мл смягчала вызываемое осмотическим стрессом ингибирование роста побегов кукурузы всех трех гибридов, уменьшение ингибирования роста корней зафиксировано у гибридов Ариоссо и PR38N86 (табл. 1). Более высокие концентрации препарата (0,1 и 1 мг/мл) оказывали заметное положительное влияние на рост побегов и корней всех трех гибридов, но более ярко эффект проявлялся на чувствительных к осмотическому стрессу гибридах Ротанго и PR38N86. В дальнейших экспериментах использовали концентрацию седаксана 0,1 мг/мл.

Под влиянием осмотического стресса происходило существенное повышение содержания продукта ПОЛ МДА в побегах у всех трех исследуемых гибридов кукурузы (табл. 2), что свидетельствует о развитии окислительного стресса. У проростков из семян, обработанных седаксаном, в условиях действия агента осмотического стресса накопление МДА было значительно меньшим, что свидетельствует об антиоксидантном действии фунгицида.

В дальнейших экспериментах выясняли, связаны ли защитные эффекты седаксана на проростки кукурузы с изменениями функционирования их антиоксидантной и осмопротекторной систем.

В условиях осмотического стресса у проростков гибридов Ариоссо и PR38N86 отмечалось повышение активности СОД, у гибрида Ротанго она не изменялась (табл. 2). В проростках, выращенных из семян, обработанных седаксаном, при осмотическом стрессе активность фермента была ниже, чем у необработанных. Базовый уровень активности каталазы был более высоким у устойчивого гибрида Ариоссо, а наименьшие величины отмечались у генотипа PR38N86 (табл. 2). В ответ на стрессовое воздействие активность этого фермента повышалась только у проростков гибрида PR38N86. Обработка семян седаксаном не влияла на активность каталазы у исследуемых гибридов кукурузы.

Таблица 1. Ростовые показатели 4-суточных проростков кукурузы при действии осмотического стресса и седаксана

Вариант	Масса побега		Масса корня	
	мг	% к контролю	мг	% к контролю
Арисосо				
Контроль	114,0 ± 2,8	-	86,5 ± 2,5	-
ПЭГ 6000 (9%)	49,6 ± 1,2	43,5	52,7 ± 2,1	60,9
ПЭГ 6000 (9%) + седаксан (0,01 мг/мл)	62,0 ± 2,0	54,4	57,0 ± 1,5	65,9
ПЭГ 6000 (9%) + седаксан (0,1 мг/мл)	61,0 ± 1,8	53,5	72,2 ± 2,4	83,5
ПЭГ 6000 (9%) + седаксан (1 мг/мл)	62,5 ± 2,5	54,9	68,8 ± 2,2	79,5
ПЭГ 6000 (9%) + седаксан (5 мг/мл)	60,3 ± 1,9	52,9	72,1 ± 1,7	83,2
Ротанго				
Контроль	89,9 ± 1,9	-	77,1 ± 2,3	-
ПЭГ 6000 (9%)	31,9 ± 1,7	35,5	30,9 ± 1,7	40,1
ПЭГ 6000 (9%) + седаксан (0,01 мг/мл)	43,1 ± 1,9	47,9	32,8 ± 1,4	42,5
ПЭГ 6000 (9%) + седаксан (0,1 мг/мл)	45,2 ± 2,0	50,2	39,9 ± 1,8	51,8
ПЭГ 6000 (9%) + седаксан (1 мг/мл)	47,0 ± 1,5	52,2	38,0 ± 1,6	49,3
ПЭГ 6000 (9%) + седаксан (5 мг/мл)	38,8 ± 2,2	43,2	31,1 ± 2,1	40,3
PR38N86				
Контроль	125,0 ± 2,6	-	83,0 ± 1,8	-
ПЭГ 6000 (9%)	36,0 ± 1,4	28,8	28,6 ± 2,2	34,5
ПЭГ 6000 (9%) + седаксан (0,01 мг/мл)	56,2 ± 1,8	44,8	50,2 ± 2,6	60,5
ПЭГ 6000 (9%) + седаксан (0,1 мг/мл)	61,2 ± 2,2	49,0	50,4 ± 2,8	60,7
ПЭГ 6000 (9%) + седаксан (1 мг/мл)	56,0 ± 2,0	44,8	51,5 ± 2,5	62,0
ПЭГ 6000 (9%) + седаксан (5 мг/мл)	49,2 ± 1,9	39,3	49,2 ± 1,8	59,3

Таблица 2. Содержание МДА, пролина, сахаров и активность антиоксидантных ферментов в побегах 4-суточных проростков кукурузы при действии осмотического стресса и седаксана

Вариант	Содержание МДА (мкмоль/г)	Активность СОД, усл. ед./г•мин	Активность каталазы (ммоль H ₂ O ₂ /г•мин)	Содержание пролина (мкмоль/г)	Содержание сахаров (мг/г)
Арисосо					
Контроль	19,0 ± 0,32	130 ± 2	21,8 ± 0,52	12,5 ± 0,55	148 ± 2
ПЭГ 6000 (9%)	30,1 ± 0,62	148 ± 4	18,9 ± 0,61	26,8 ± 0,82	164 ± 4
ПЭГ 6000 (9%) + седаксан (0,1 мг/мл)	24,4 ± 0,78	102 ± 5	18,6 ± 0,52	24,6 ± 0,76	168 ± 4
Ротанго					
Контроль	23,6 ± 0,28	149 ± 3	17,2 ± 0,34	13,3 ± 0,63	117 ± 3
ПЭГ 6000 (9%)	30,9 ± 0,37	144 ± 4	17,5 ± 0,28	18,3 ± 0,69	138 ± 4
ПЭГ 6000 (9%) + седаксан (0,1 мг/мл)	25,5 ± 0,22	122 ± 4	17,6 ± 0,36	20,9 ± 0,57	128 ± 3
PR38N86					
Контроль	22,1 ± 0,31	113 ± 3	14,3 ± 0,23	9,0 ± 0,25	148 ± 2
ПЭГ 6000 (9%)	32,9 ± 0,43	131 ± 4	16,3 ± 0,26	17,7 ± 0,42	131 ± 3
ПЭГ 6000 (9%) + седаксан (0,1 мг/мл)	27,2 ± 0,28	104 ± 6	16,2 ± 0,32	16,6 ± 0,34	128 ± 6

Под влиянием осмотического стресса происходило повышение содержания пролина в проростках кукурузы всех трех гибридов, однако у устойчивого гибрида Ариосо оно было значительно большим (табл. 2). Обработка седаксаном достоверно не влияла на содержание пролина в проростках, подвергнутых действию ПЭГ 6000.

Осмотический стресс вызывал небольшое, но достоверное повышение содержания сахаров в побегах проростков гибрида Ариосо и Ротанго, а у наименее устойчивого гибрида PR38N86 этот показатель, наоборот, снижался (табл. 2). Седаксан не оказывал влияния на содержание сахаров в проростках при действии агента осмотического стресса.

АНТИОКСИДАНТНОЕ ЭФФЕКТЫ ФУНГИЦИДА СЕДАКСАНА

Таким образом, обнаружены различия в функционировании протекторных систем проростков гибридов кукурузы с различной устойчивостью к осмотическому стрессу. Для устойчивого гибрида Ариоссо характерно существенное повышение содержания пролина, сахаров и активности СОД в ответ на обработку ПЭГ. У гибридов с меньшей устойчивостью в стрессовых условиях отмечалось менее заметное повышение содержания пролина и сахаров либо даже снижение количества растворимых углеводов (у гибрида PR38N86). В то же время у этого наименее устойчивого гибрида отмечалось повышение активности каталазы при осмотическом стрессе (табл. 2). Также отмечалось некоторое повышение активности СОД при осмотическом стрессе у устойчивого гибрида Ариоссо и неустойчивого PR38N86.

Полученные результаты в определенной степени согласуются с данными литературы о связи между отдельными показателями функционирования антиоксидантной и осмопротекторной систем и засухоустойчивостью растений различных генотипов. Так, в работе Anjum и соавт. (2017) показано, что у засухоустойчивого гибрида кукурузы активность СОД и содержание пролина в листьях были выше, чем у неустойчивого. В этой же работе сообщается о положительной связи активности различных пероксидаз и содержания аскорбиновой кислоты с засухоустойчивостью генотипов кукурузы. Засухоустойчивые сорта риса также отличались большими содержанием пролина и активностью СОД по сравнению с неустойчивыми (Samota et al., 2017). В то же время в условиях почвенной засухи у растений ячменя наиболее существенное повышение содержания пролина происходило у неустойчивого сорта (Карпец и др., 2016а). Однако у устойчивого сорта отмечалось более высокое содержание сахаров. По-видимому, вклад различных компонентов протекторных систем в интегральную устойчивость сильно зависит от видовых особенностей растений, а также фазы онтогенеза растений и экспериментальных условий (силы и продолжительности стрессового воздействия). Кроме того, между отдельными компонентами антиоксидантной системы возможно сложное функциональное взаимодействие (Колупаев, Кокорев, 2019).

Обработка проростков фунгицидом седаксаном смягчала ростингибирующее действие осмотического стресса на проростки кукурузы (табл. 1) и уменьшала проявление эффекта вторичного окислительного стресса,

определяемое по содержанию МДА (табл. 2). При этом уровень активности СОД у всех гибридов в варианте с обработкой седаксаном был ниже, чем в ее отсутствие. На другие показатели функционирования антиоксидантной системы обработка фунгицидом практически не влияла. Эти результаты позволяют полагать, что антиоксидантное действие седаксана связано с предотвращением вызываемого стрессом усиления генерации АФК, а не с индуцированием антиоксидантной системы. Наиболее вероятным механизмом такого эффекта седаксана может быть ингибирование сукцинатдегидрогеназы, которая в настоящее время рассматривается в качестве одного из источников образования АФК в митохондриях. Как отмечалось, в нашей предыдущей работе, выполненной на проростках пшеницы, показано снижение активности этого фермента под влиянием седаксана и повышение их устойчивости к осмотическому и вторичному окислительному стрессу (Колупаев и др., 2017). Вероятно, что ослабление под влиянием седаксана генерации АФК в стрессовых условиях способствует повышению устойчивости растений. Вполне естественно, что для более определенного заключения о механизмах стресс-протекторного действия седаксана на проростки кукурузы необходимы специальные исследования генерации АФК в митохондриях и других клеточных компартментах.

В целом, полученные результаты указывают на проявление седаксаном, помимо фунгицидного, и стресс-протекторных эффектов на растения разных видов. Примечательно, что положительное влияние препарата более заметно на генотипы, обладающие меньшей устойчивостью к осмотическому стрессу (табл. 1). Такая же закономерность показана ранее в экспериментах с растениями пшеницы разных генотипов в условиях почвенной засухи (Карпец и др., 2016б).

ЛИТЕРАТУРА

- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Григоренко Д.А., Фирсова Е.Н. 2016а. Реакция растений ячменя различных генотипов на почвенную засуху и действие донора оксида азота. Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. 2 (38) : 94-105.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Луговая А.А., Заярная Е.Ю. 2016б. Влияние фунгицида седаксан на устойчивость растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.) различных экотипов к почвенной засухе. Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. 3 (39) : 39-47.

- Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А. 2014. Механизмы стресспротекторного влияния брассиностероидов на растения. *Агрехимия*. 7 : 69-84.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Ястреб Т.О., Луговая А.А. 2016. Сигнальные посредники в реализации физиологических эффектов стрессовых фитогормонов. *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*. 1 (37) : 42-62.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Ястреб Т.О., Фирсова Е.Н. 2017. Защитное действие ингибиторов сукцинатдегидрогеназы на проростки пшеницы при осмотическом стрессе. *Прикл. биохимия и микробиология*. 53 (3) : 316-322.
- Колупаев Ю.Е., Кокорев А.И. 2019. Антиоксидантная система и устойчивость растений к недостатку влаги. *Физиология растений и генетика*. 51 (1) : 28-54.
- Колупаев Ю.Е., Рябчун Н.И., Вайнер А.А., Ястреб Т.О., Обозный А.И. 2015. Активность антиоксидантных ферментов и содержание осмолитов в проростках озимых злаков при закаливании и криострессе. *Физиология растений*. 62 (4) : 533-541.
- Кравченко Р.В. 2010. Агробиологическое обоснование получения стабильных урожаев зерна кукурузы в условиях степной зоны Центрального Предкавказья. *Ставрополь* : 208 с.
- Креславский В.Д., Лось Д.А., Аллахвердиев С.И., Кузнецов Вл.В. 2012. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений. *Физиология растений*. 59 (2) : 163-178.
- Молодченкова О.О. 2008. Влияние салициловой кислоты на ответные реакции проростков кукурузы при абиотических стрессах. *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*. 3 (15) : 24-32.
- Фазлиева Э.Р., Киселева И.С., Жуйкова Т.В. 2012. Антиоксидантная активность листьев *Melilotus albus* и *Trifolium medium* из техногенно нарушенных местообитаний Среднего Урала при действии меди. *Физиология растений*. 59 : 369-375.
- Чмелева С.И., Кучер Е.Н., Дашкевич Ю.О., Ситник М.И. 2014. Влияние препарата циркон на рост и развитие растений кукурузы на начальных этапах онтогенеза в условиях почвенной засухи. *Ученые записки Таврического нац. ун-та им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия»*. 27 (66) : 223-231.
- Anjum S.A., Ashraf U., Tanveer M., Khan I., Hussain S., Shahzad B., Zohaib A., Abbas F., Saleem M.F., Ali I., Wang L.C. 2017. Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. *Front. Plant Sci.* 6 : 69. Doi: 10.3389/fpls.2017.00069
- Bartoli C.G., Gomez F., Martinez D.E., Guiamet J.J. 2004. Mitochondria are the main target for oxidative damage in leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Exp. Bot.* 55 : 1663-1669. Doi: org/10.1093/jxb/erh199
- Bartoli C.G., Casalongue B., Simontacchia M., Marquez-Garcia B., Foyer C.H. 2013. Interactions between hormone and redox signalling pathways in the control of growth and cross tolerance to stress. *Environ. Exp. Bot.* 94 : 73-88. Doi: org/10.1016/j.envexpbot.2012.05.003
- Bates L.S., Walden R.P., Tear G.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*. 39 : 205-210.
- Chaves M.M., Oliveira M.M. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: Prospects for water saving agriculture. *J. Exp. Bot.* 55 : 2365-2384. Doi: org/10.1093/jxb/erh269
- Cvetkovska M., Vanlerberghe G.C. 2013. Alternative oxidase impacts the plant response to biotic stress by influencing the mitochondrial generation of reactive oxygen species. *Plant Cell Environ.* 36 : 721-732. Doi: 10.1111/pce.12009
- Ebbinghaus D., Häuser-Hahn I., Dittgen J. 2010. Use of succinate dehydrogenase inhibitors for increasing the resistance of plants or parts of plants to abiotic stress. *Pat. US 20100324101 A1* <https://www.google.com/patents/US20100324101>
- Foyer C.H., Shigeoka S. 2011. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. *Plant Physiol.* 155 : 93-100. Doi: org/10.1104/pp.110.166181
- Gill S.S., Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48 : 909-930. Doi: 10.1016/j.plaphy.2010.08.016
- Gleason C., Huang S., Thatcher L., Foley R.C., Anderson C.R., Carroll A.J., Millar A.H., Singh K.B. 2011. Mitochondrial complex II has a key role in mitochondrial-derived reactive oxygen species influence on plant stress gene regulation and defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 108 : 10768-10773. Doi: org/10.1073/pnas.1016060108
- Habibi G. 2012. Exogenous salicylic acid alleviates oxidative damage of barley plants under drought stress. *Acta Biol. Szeged.* 56 : 57-63.
- Huang S., Millar A.H. 2013. Succinate dehydrogenase: the complex roles of a simple enzyme. *Curr. Opin. Plant Biol.* 16 (3) : 344-349. Doi: 10.1016/j.pbi.2013.02.007
- Jeschke P. 2016. Progress of modern agricultural chemistry and future prospects. *Pest. Manag. Sci.* 72 : 433-455. Doi: 10.1002/ps.4190
- Li X., Liu F. 2016. Drought stress memory and drought stress tolerance in plants: biochemical and molecular basis. In: Hossain M., Wani S., Bhattacharjee S., Burritt D., Tran, L.S. (eds), *Drought Stress Tolerance in Plants*, Vol. 1. (pp. 17-44), Springer, Cham. doi: org/10.1007/978-3-319-28899-4_2

АНТИОКСИДАНТНОЕ ЭФФЕКТЫ ФУНГИЦИДА СЕДАКСАНА

- Ma D., Sun D., Wang C., Li Y., Guo T. 2014. Expression of flavonoid biosynthesis genes and accumulation of flavonoid in wheat leaves in response to drought stress. *Plant Physiol. Biochem.* 80 : 60-66. Doi: 10.1016/j.plaphy.2014.03.024
- Rhoads D.M., Umbach A.L., Subbaiah C.C., Siedow J.N. 2006. Mitochondrial reactive oxygen species. Contribution to oxidative stress and interorganellar signaling. *Plant Physiol.* 141 : 357-366. Doi: org/10.1104/pp.106.079129
- Samota M.K., Sasi M., Singh A. 2017. Impact of seed priming on proline content and antioxidant enzymes to mitigate drought stress in rice genotype. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 6 (5) : 2459-2466. Doi: org/10.20546/ijcmas.2017.605.275
- Saruhan N., Saglam A., Kadioglu A. 2012. Salicylic acid pretreatment induces drought tolerance and delays leaf rolling by inducing antioxidant systems in maize genotypes. *Acta Physiol. Plant.* 34 : 97-106. Doi: org/10.1007/s11738-011-0808-7
- Wilkinson S., Davies W. 2010. Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community. *Plant, Cell Environ.* 33 : 510-525. Doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02052.x
- Zeun R., Scalliet G., Oostendorp M. 2013. Biological activity of sedaxane – a novel broad-spectrum fungicide for seed treatment. *Pest. Manag. Sci.* 69 : 527–534. Doi: 10.1002/ps.3405
- REFERENCES**
- Karpets Yu.V., Kolupaev Yu.E., Grigorenko D.O., Firsova K.M. 2016. Response of barley plants of various genotypes to soil drought and influence of nitric oxide donor. *Bull. Kharkiv Natl. Agrar. Univ. Ser. Biology. (Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol.).* 2 (38) : 94-105.
- Karpets Yu.V., Kolupaev Yu.E., Yastreb T.O., Lugovaya G.A., Zayarnaya E.Yu. 2016. *Bull. Kharkiv Natl. Agrar. Univ. Ser. Biology. (Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol.).* 3 (39) : 39-47.
- Kolupaev Yu.E., Vayner A.A. 2014. Mechanisms of the stress-protective effect of brassinosteroids on plants. *Agrokhimiya.* 7 : 69-84.
- Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V., Yastreb T.O., Lugovaya A.A. 2016. Signal mediators in realization of physiological effects of stress phytohormones. *Bull. Kharkiv Natl. Agrar. Univ. Ser. Biology. (Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol.).* 1 (37) : 42-62.
- Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V., Yastreb T.O., Firsova E.N. 2017. Protective effect of inhibitors of succinate dehydrogenase on wheat seedlings during osmotic stress. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 53 (3) : 353-358. Doi: 10.1134/S0003683817030097
- Kolupaev Yu.E., Kokorev A.I. 2019. Antioxidant system and plant resistance to water deficit. *Fiziol. rast. genet.* 2019. 51 (1) : 28-54. Doi: <https://doi.org/10.15407/frg2019.01.028>
- Kolupaev Yu.E., Ryabchun N.I., Vayner A.A., Yastreb T.O., Oboznyi A.I. 2015. Antioxidant enzyme activity and osmolyte content in winter cereal seedlings under hardening and cryostress. *Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii).* 62 (4) : 499-506. Doi: org/10.1134/S1021443715030115
- Kravchenko R.V. Agrobiologicheskoe obosnovaniye polucheniya stabilnykh urozhaev zerna kukuruzy v usloviyakh stepnoi zony Tsentralnogo Predkavkaziya (Agrobiological rationale for obtaining stable yields of corn grain in the conditions of the steppe zone of the Central Ciscaucasia). Stavropol : 208 p.
- Kreslavski V.D., Allakhverdiev S.I., Los D.A., Kuznetsov V.V. 2012. Signaling role of reactive oxygen species in plants under stress. *Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii).* 59 (2) : 141-154. Doi: org/10.1134/S1021443712020057
- Molodchenkova O.O. 2008. Influence of salicylic acid on the return reactions of seedlings of corn at the abiotic stresses. *Bull. Kharkiv Natl. Agrar. Univ. Ser. Biology. (Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol.).* 3 (15) : 24-32.
- Fazlieva, E.R., Kiseleva, I.S., Zhuikova, T.V. 2012. Antioxidant activity in the leaves of *Melilotus albus* and *Trifolium medium* from manmade disturbed habitats in the Middle Urals under the influence of copper. *Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii).* 59 : 333-338. Doi: org/10.1134/S1021443712030065
- Chmeleva S.I., Kucher E.N., Dashkevich Y.O., Sitnik M.I. 2014. The influence of drug zircon on the growth and development of corn plants at the early stages of ontogeny in conditions of drought. *Uchenye zapiski Tavricheskogo nats. un-ta im. V.I. Vernadskogo. Ser. "Biologiya, khimiya".* 27 (66) : 223-231.
- Anjum S.A., Ashraf U., Tanveer M., Khan I., Hussain S., Shahzad B., Zohaib A., Abbas F., Saleem M.F., Ali I., Wang L.C. 2017. Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. *Front. Plant Sci.* 6 : 69. Doi: 10.3389/fpls.2017.00069
- Bartoli C.G., Gomez F., Martinez D.E., Guiamet J.J. 2004. Mitochondria are the main target for oxidative damage in leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Exp. Bot.* 55 : 1663-1669. Doi: org/10.1093/jxb/erh199
- Bartoli C.G., Casalongueb C.A., Simontacchia M., Marquez-Garcia B., Foyer C.H. 2013. Interactions between hormone and redox signalling pathways in the control of growth and cross tolerance to stress. *Environ. Exp. Bot.* 94 : 73-88. Doi: org/10.1016/j.envexpbot.2012.05.003
- Bates L.S., Walden R.P., Tear G.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil.* 39 : 205-210.

- Chaves M.M., Oliveira M.M. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: Prospects for water saving agriculture. *J. Exp. Bot.* 55 : 2365-2384. Doi: org/10.1093/jxb/erh269
- Cvetkovska M., Vanlerberghe G.C. 2013. Alternative oxidase impacts the plant response to biotic stress by influencing the mitochondrial generation of reactive oxygen species. *Plant Cell Environ.* 36 : 721-732. Doi: 10.1111/pce.12009
- Ebbinghaus D., Häuser-Hahn I., Dittgen J. 2010. Use of succinate dehydrogenase inhibitors for increasing the resistance of plants or parts of plants to abiotic stress. Pat. US 20100324101 A1 <https://www.google.com/patents/US20100324101>
- Foyer C.H., Shigeoka S. 2011. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. *Plant Physiol.* 155 : 93-100. Doi: org/10.1104/pp.110.166181
- Gill S.S., Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48 : 909-930. Doi: 10.1016/j.plaphy.2010.08.016
- Gleason C., Huang S., Thatcher L., Foley R.C., Anderson C.R., Carroll A.J., Millar A.H., Singh K.B. 2011. Mitochondrial complex II has a key role in mitochondrial-derived reactive oxygen species influence on plant stress gene regulation and defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 108 : 10768-10773. Doi: org/10.1073/pnas.1016060108
- Habibi G. 2012. Exogenous salicylic acid alleviates oxidative damage of barley plants under drought stress. *Acta Biol. Szeged.* 56 : 57-63.
- Huang S., Millar A.H. 2013. Succinate dehydrogenase: the complex roles of a simple enzyme. *Curr. Opin. Plant Biol.* 16 (3) : 344-349. Doi: 10.1016/j.pbi.2013.02.007
- Jeschke P. 2016. Progress of modern agricultural chemistry and future prospects. *Pest. Manag. Sci.* 72 : 433-455. Doi: 10.1002/ps.4190
- Li X., Liu F. 2016. Drought stress memory and drought stress tolerance in plants: biochemical and molecular basis. In: Hossain M., Wani S., Bhattacharjee S., Burritt, D., Tran, L.S. (eds), *Drought Stress Tolerance in Plants*, Vol. 1. (pp. 17-44), Springer, Cham. doi: org/10.1007/978-3-319-28899-4_2
- Ma D., Sun D., Wang C., Li Y., Guo T. 2014. Expression of flavonoid biosynthesis genes and accumulation of flavonoid in wheat leaves in response to drought stress. *Plant Physiol. Biochem.* 80 : 60-66. Doi: 10.1016/j.plaphy.2014.03.024
- Rhoads D.M., Umbach A.L., Subbaiah C.C., Siedow J.N. 2006. Mitochondrial reactive oxygen species. Contribution to oxidative stress and interorganellar signaling. *Plant Physiol.* 141 : 357-366. Doi: org/10.1104/pp.106.079129
- Samota M.K., Sasi M., Singh A. 2017. Impact of seed priming on proline content and antioxidant enzymes to mitigate drought stress in rice genotype. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 6 (5) : 2459-2466. Doi: org/10.20546/ijcmas.2017.605.275
- Saruhan N., Saglam A., Kadioglu A. 2012. Salicylic acid pretreatment induces drought tolerance and delays leaf rolling by inducing antioxidant systems in maize genotypes. *Acta Physiol. Plant.* 34 : 97-106. Doi: org/10.1007/s11738-011-0808-7
- Wilkinson S., Davies W. 2010. Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community. *Plant, Cell Environ.* 33 : 510-525. Doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02052.x
- Zeun R., Scalliet G., Oostendorp M. 2013. Biological activity of sedaxane – a novel broad-spectrum fungicide for seed treatment. *Pest. Manag. Sci.* 69 : 527-534. Doi: 10.1002/ps.3405

Поступила в редакцию
12.02.2019 г.

ANTIOXIDATIVE EFFECTS OF FUNGICIDE SEDAXANE ON CORN PLANTLETS AT OSMOTIC STRESS

M. A. Shklyarevskiy¹, N. V. Shvidenko¹, A. A. Lugova¹,
T. O. Yastreb¹, Yu. V. Karpets¹, Yu. E. Kolupaev^{1,2}

¹*Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University
(Kharkiv, Ukraine)*

²*Karazin Kharkiv National University
(Kharkiv, Ukraine)*

The influence of fungicide sedaxane (succinate dehydrogenase inhibitor – mixture of the *trans*- and *cis*-isomers of *N*-[2-(1, 1'-bicyclopropyl)-2-ylphenyl]-3-(difluoromethyl)-1-methyl-1*H*-pyrazole-4-carboxamide) on resistance of corn (*Zea mays* L.) plantlets of different genotypes to the osmotic stress (germination of seeds on 9% solution of PEG 6000) have been investigated. The highest sensitivity to the moisture lack was shown for hybrid PR 38M86, a little smaller – for hybrid Rotango, hybrid Ariosso was most resistant against dehydration. Treatment of seeds with sedaxane in concen-

АНТИОКСИДАНТНОЕ ЭФФЕКТЫ ФУНГИЦИДА СЕДАКСАНА

tration of 0,1 and 1 mg/ml significantly softened the negative impact of osmotic stress on the accumulation of biomass of propagules and roots. Positive influence of sedaxane on non-resistant hybrids was more noticeable. Under the influence of osmotic stress the increase in content of product of lipid peroxidation malonic dialdehyde was in plantlets of corn of all three genotypes. Treatment with sedaxane considerably reduced the manifestation of the oxidative stress. In stress conditions in hybrids Ariosso and PR 38M86 the increase in activity of superoxide dismutase was registered, treatment of seeds with sedaxane levelled this effect. The catalase activity under the osmotic stress increased only in hybrid PR 38M86, at the same time the action of sedaxane did not influence the enzyme activity. Under the influence of osmotic stress the proline accumulated in plantlets, most higher in resistant hybrid Ariosso. In hybrids Ariosso and Rotango also some increase of content of carbohydrates was noted. Treatment of seeds with fungicide sedaxane did not influence these indicators. The conclusion is made that sedaxane has antioxidative effect on corn plantlets, that is possible bound to the inhibition of succinate dehydrogenase, which is considered one of sources of formation of reactive oxygen species in mitochondria in the stress conditions.

Key words: *Zea mays*, osmotic stress, resistance, oxidative stress, antioxidative system, osmoprotective system, sedaxane

АНТИОКСИДАНТНІ ЕФЕКТИ ФУНГІЦИДУ СЕДАКСАНУ ЗА ДІЇ ОСМОТИЧНОГО СТРЕСУ НА ПРОРОСТКИ КУКУРУДЗИ

М. А. Шклярєвський¹, М. В. Швиденко¹, Г. А. Лугова¹,
Т. О. Ястреб¹, Ю. В. Карпець¹, Ю. Є. Колупаєв^{1,2}

¹*Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
(Харків, Україна)*

E-mail: plant_biology@ukr.net

²*Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна
(Харків, Україна)*

Досліджували вплив фунгіциду седаксан (інгібітор сукцинатдегідрогенази – суміш *транс*- і *цис*-ізомерів N-[2-(1,1'-біциклопропіл)-2-ілфеніл]-3-(дифторометил)-1-метил-1-Н-піразол-4-карбоксаміду) на стійкість проростків кукурудзи (*Zea mays* L.) різних генотипів до осмотичного стресу (пророщування насіння на 9% розчині ПЕГ 6000). Найвища чутливість до нестачі вологи виявлялася у гібрида PR38N86, дещо менша – у гібрида Ротанго, найбільшу стійкість до зневоднення виявляв гібрид Аріосо. Обробка насіння седаксаном в концентраціях 0,1 і 1 мг/мл істотно пом'якшувала негативний вплив осмотичного стресу на накопичення біомаси пагонів і коренів. Позитивний вплив седаксану на нестійкі гібриди був помітнішим. Під впливом осмотичного стресу в проростках кукурудзи всіх трьох генотипів підвищувався вміст продукту пероксидного окиснення ліпідів малонового діальдегіду. Обробка седаксаном значно зменшувала прояв окиснювального стресу. У стресових умовах у гібридів Аріосо і PR38N86 відзначалося підвищення активності супероксиддисмутази, обробка насіння седаксаном нівелювала цей ефект. Активність каталази за осмотичного стресу підвищувалася тільки у гібрида PR38N86, при цьому седаксан не впливав на величини активності ферменту. Під впливом осмотичного стресу в проростках накопичувався пролін, найбільшою мірою у стійкого гібрида Аріосо, у гібридів Аріосо і Ротанго відначалося також деяке збільшення вмісту цукрів. Обробка насіння фунгіцидом седаксан не впливала на ці показники. Зроблено висновок, що седаксан чинить на проростки кукурудзи антиоксидантну дію, можливо, пов'язану з пригніченням сукцинатдегідрогенази, яка вважається одним із джерел утворення активних форм кисню в мітохондріях в умовах стресу.

Ключові слова: *Zea mays*, осмотичний стрес, стійкість, окиснювальний стрес, антиоксидантна система, осмопротекторна система, седаксан