

---

---

# ИЗУЧЕНИЕ И РЕАБИЛИТАЦИЯ ЭКОСИСТЕМ

---

## THE STUDY AND REHABILITATION OF ECOSYSTEMS

---

---

УДК 577:632.938

### НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ САЛИЦИЛАТОВ В АДАПТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЯХ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ

Л. В. ПАШКЕВИЧ<sup>1)</sup>, Л. Ф. КАБАШНИКОВА<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси,  
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

В исследовании научно обосновано применение экзогенного растительного метаболита – салициловой кислоты (СК) в качестве индуктора системной приобретенной устойчивости растений ярового ячменя. В условиях фитотронно-тепличного эксперимента выявлено положительное действие защитно-стимулирующего состава на основе салицилата на параметры роста и развития растений ярового ячменя, инфицированных грибом *Bipolaris sorokiniana*, и степень их пораженности темно-бурой пятнистостью. В полевых условиях показано стимулирующее влияние СК и фенолсалицилата на ростовые процессы, содержание фотосинтетических пигментов в листе, активность перекисного окисления липидов и пероксидазы в растительных клетках. Установлено повышение общей устойчивости растений ярового ячменя в посевах к неблагоприятным факторам внешней среды, включая фитопатогены, что в итоге обеспечило формирование урожая на уровне стандартного фунгицида Адексар с прибавкой в 4–5 ц/га по сравнению с необработанным контролем. На основе полученных результатов разработан иммуномодулирующий препарат «Иммунакт-СК», представляющий собой композицию СК и водорастворимого полимера ВРП-3. Применение препарата обеспечивает

---

#### Образец цитирования:

Пашкевич ЛВ, Кабашникова ЛФ. Научные основы использования салицилатов в адаптивных технологиях возделывания ярового ячменя. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология*. 2022;1:25–36.  
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2022-1-25-36>

#### For citation:

Pashkevich LV, Kabashnikova LF. Scientific basis of the use of salicylates in adaptive technologies of spring barley cultivation. *Journal of the Belarusian State University. Ecology*. 2022;1:25–36. Russian.  
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2022-1-25-36>

---

#### Авторы:

Любовь Валерьевна Пашкевич – научный сотрудник.  
Людмила Фёдоровна Кабашникова – доктор биологических наук, доцент; член-корреспондент НАН Беларуси; заведующий лабораторией.

#### Authors:

*Lyubov V. Pashkevich*, researcher.  
[Ljubi.k87@gmail.com](mailto:Ljubi.k87@gmail.com)  
*Liudmila F. Kabashnikova*, doctor of science (biology), docent; corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus; head of the laboratory.  
[kabashnikova@mail.ru](mailto:kabashnikova@mail.ru)

получение стабильных урожаев зерна ярового ячменя на уровне стандартных химических фунгицидов, что в перспективе позволит значительно сократить применение дорогостоящих химических препаратов для защиты растений и снизить химическую нагрузку на окружающую среду.

**Ключевые слова:** салициловая кислота; индукторы иммунитета; яровой ячмень; темно-бурая пятнистость; фотосинтетические пигменты; окислительный статус; устойчивость; урожайность.

## SCIENTIFIC BASIS OF THE USE OF SALICYLATES IN ADAPTIVE TECHNOLOGIES OF SPRING BARLEY CULTIVATION

L. V. PASHKEVICH<sup>a</sup>, L. F. KABASHNIKOVA<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Sciences of Belarus,  
27 Academičnaja Street, Minsk 220027, Belarus*

*Corresponding author: L. F. Kabashnikova (kabashnikova@mail.ru)*

The article scientifically substantiates the use of an exogenous plant metabolite, salicylic acid (SA), as an inducer of nonspecific acquired resistance in spring barley plants. Under a greenhouse experiment, a positive effect of a protective and stimulating composition based on salicylate on the parameters of growth and development of spring barley plants infected with the fungus *B. sorokiniana*, and the degree of their infection with a fungal disease – dark brown spotting, was revealed. Under field conditions, the stimulating effect of SA and phenyl salicylate on growth processes, the content of photosynthetic pigments in the leaf, the activity of lipid peroxidation and peroxidase in plant cells was shown. An increase in the overall resistance of spring barley plants in crops to unfavorable environmental factors, including phytopathogens, was established, which ultimately ensured the formation of a crop at the level of the standard fungicide Adexar with an increase of 4–5 centners for hectare compared to the untreated control. On the basis of the results obtained, the immunomodulatory drug “Immunakt-SA” was developed, which is a composition of SA and a water-soluble polymer VSP-3. The use of the drug ensures stable yields of barley grain at the level of standard chemical fungicides, which in the future will significantly reduce the use of expensive chemicals for plant protection and the chemical load on the environment.

**Keywords:** salicylic acid; immunity inducers; spring barley; dark brown spotting; photosynthetic pigments; oxidative status; stability; yield.

### Введение

В последнее время во всем мире уделяется большое внимание проблемам загрязнения окружающей среды и безопасности пищевых продуктов, возникающим в результате чрезмерного или ненадлежащего использования химических пестицидов [1]. Одновременно растет интерес к экологически безопасным агротехнологиям и биологически обоснованным методам борьбы с болезнями сельскохозяйственных культур. На сегодняшний день наиболее перспективным и быстро развивающимся направлением в защите растений от заболеваний является повышение их системной устойчивости с помощью определенных химических соединений биогенного происхождения [2]. Стратегии, повышающие собственный иммунитет растений и способствующие их здоровому росту и развитию, имеют большой потенциал для предотвращения заражения и болезней, обеспечивая при этом снижение объемов использования химических средств защиты в агропроизводстве [3].

Индукторы иммунитета представляют собой класс иммуоактивных соединений, которые могут вызывать системную приобретенную устойчивость у растений. В последнее десятилетие в ряде стран развернуты работы по созданию индукторов устойчивости растений на основе метаболитов иммунного ответа, элиситоров или авирулентных штаммов фитопатогенов [2; 3]. Биологически активные препараты имеют важное преимущество перед химическими фунгицидами: они не токсичны, не вызывают привыкания у возбудителей болезней, не оказывают губительного влияния на экологические системы и безопасны для человека и животных [3].

Известно, что растения, обработанные индуцирующими агентами, активируют множественные защитные ответы, которые выражаются в формировании химических и физических барьеров на пути проникновения и развития патогена. Обычно индукторы стимулируют возбуждающие сигналы, которые поступают в геном и активируют защитные гены растений, что приводит к включению каскада защитных реакций и, в конечном счете, к индуцированной системной устойчивости [3].

Салициловая кислота (СК) является одним из веществ, которые в последние годы привлекают пристальное внимание исследователей в связи с их способностью индуцировать системную приобретенную

устойчивость растений к разнообразным возбудителям болезней [4]. СК – это природное химическое вещество фенольной природы, содержащееся в растениях. Название происходит от латинского слова «salix» («ива»), из коры которой она была впервые выделена. СК является наиболее изученным индуктором, который используется для повышения устойчивости растений к фитопатогенам. Она играет важнейшую роль в регуляции физиологических и биохимических процессов на протяжении всей жизни растения: участвует в регуляции роста и развития, фотосинтеза, транспирации, поглощения и переноса ионов, а также в эндогенной передаче сигналов, индуцируя продукцию белков, связанных с патогенезом и опосредуя защиту растений при патогенезе [5]. В 1979 г. Р. Вайт [6] отметил, что при формировании неспецифического адаптационного синдрома в клетках растения многократно увеличивается содержание СК, а обработка растений этим веществом активирует экспрессию защитных PR-генов (pathogenesis related gene) как минимум 9 классов и индуцирует развитие системной приобретенной устойчивости (SAR) [6; 7]. С помощью трансгенных (салицилат-дефицитных) растений табака было показано, что обработка таких растений СК или ее структурными аналогами (метил-2,6-дихлоризоникотиновой кислотой и бензотиодиазолом) приводит к запуску устойчивости, сравнимой с уровнем контрольных растений [8]. Таким образом, ключевая роль СК как индуктора устойчивости растений в настоящее время не вызывает сомнений [9]. Важным достоинством применения как СК, так и других индукторов устойчивости является многофакторность их действия, обусловленная широким спектром активности в отношении различных растений и патогенов, других стресс-факторов среды, а также низкой стоимостью [10].

Темно-бурая пятнистость ячменя, вызываемая гемибитрофным грибом *Bipolaris sorokiniana* из класса Deuteromycetes, распространена повсеместно и является наиболее вредоносной инфекцией для этой культуры [11]. Ежегодное поражение посевов возбудителем темно-бурой пятнистости приводит к регулярному снижению урожая зерна [12]. Основной задачей для решения проблемы повышения устойчивости растений, является выяснение молекулярных, эпидемиологических и экологических механизмов, лежащих в основе взаимодействия растений и патогенов и разработка на их основе эффективных и долгосрочных программ предотвращения и сокращения наиболее опасных заболеваний культурных растений.

При этом, несмотря на постоянно возрастающий интерес к природным веществам, повышающим устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды, в Беларуси практически не разрабатываются иммуномодулирующие препараты, предназначенные для повышения болезнеустойчивости сельскохозяйственных культур, что делает актуальным исследование эффективности применения таких препаратов в сельскохозяйственной практике.

Цель данной работы – исследование механизмов действия экзогенного салицилата и его производного – фенолсалицилата (ФСК) на растения ярового ячменя при инфицировании грибом *Bipolaris sorokiniana* в контролируемых условиях фитотрона и в посевах, научное обоснование использования эффективных защитных препаратов нового поколения, предохраняющих растения от комплекса неблагоприятных факторов внешней среды, включая патогены.

## Материалы и методы исследования

Вегетационный опыт проводился в фитотронно-тепличном комплексе (ФТК) РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию». В процессе проведения опыта в ФТК автоматически поддерживались следующие параметры искусственного климата: фотопериод – 16/8 ч (день/ночь); температура днем 22–25 °С, ночью 18 °С; освещенность на уровне верхушек растений 17–20 тыс. люкс, относительная влажность воздуха 60–70 %. В вегетационные сосуды емкостью 10 л высевали по 20 семян ярового ячменя сорта Магутны в четырехкратной повторности. В 16-дневном возрасте проростки опрыскивали раствором СК ( $10^{-4}$  М). Инфицирование растений в 20-дневном возрасте проводили путем нанесения на поверхность листьев суспензии вирулентных спор *Bipolaris sorokiniana*. Заражение проводили в фазу кущения споровой суспензией возбудителя с концентрацией  $10^6$  спор/мл. Расход суспензии 50 мл/сосуд. С целью создания условий влажной камеры после опрыскивания споровой суспензией каждый сосуд помещали в полиэтиленовый пакет емкостью 30 л в течение 24 ч. Учеты поражения проводили в фазы «выхода в трубку» (ВВСН 30–32) и «молочно-восковой спелости» (ВВСН 73). В качестве контроля использовали неинфицированные растения, выращенные в условиях, исключавших заражение.

Полевые исследования проводились на экспериментальной базе РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» в 2013–2015 гг. по методике Доспехова [13]. Были изучены 3 варианта обработок вегетирующих растений в четырехкратной повторности. Общая площадь опытного участка составляла 96 м<sup>2</sup>, учетная площадь делянки – 8 м<sup>2</sup>. Технология возделывания ярового ячменя соответствовала принятым отраслевым регламентам. Обработку растений ярового ячменя по вегетации проводили в фазе выхода в трубку (ВВСН 37). Защитно-стимулирующий состав (ЗСС) представлял собой композицию СК

или ФСК с водорастворимым полимером (ВРП-3). В рабочий раствор вносили ЗСС из расчета 2,0 л/га, доза внесения рабочего раствора составляла 200 л/га. Анализ структурно-функционального состояния растений ячменя осуществлялся в фазах колошения (ВВСН 51) и молочно-восковой спелости (ВВСН 73).

Эффективность обработки растений ярового ячменя салицилатами оценивалась по показателям морфоструктуры растений, содержанию фотосинтетических пигментов, параметрам окислительного статуса и урожайности ярового ячменя.

Параметры морфоструктуры растений ячменя (высота и масса растения, количество и масса стеблей, масса листьев, количество и масса колосьев) оценивали согласно методике Зеленского [14].

Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по количеству малонового диальдегида (МДА), которое определяли по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) с последующим измерением оптической плотности раствора при  $\lambda=532$  нм на спектрофотометре *Shimadzu UV-2401PC* (Shimadzu, Япония) [15]. Для этого 300 мг растительного материала растирали до гомогената при температуре жидкого азота в 10 мл фосфатного буфера 0,005 М (рН 7,2–7,4). Затем к 3 мл гомогената добавляли 3 мл 0,5 % ТБК в 20 % трихлоруксусной кислоте, выдерживали 20 мин на кипящей водяной бане и центрифугировали в течение 10 мин при 5000–7000 оборотах/мин. Количество МДА определяли на спектрофотометре *Shimadzu-UV 2401 PC* (Япония) при длине волны  $\lambda=532$  нм с поправкой на неспецифическое поглощение при 600 нм, используя молярный коэффициент  $1,55 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

Функциональную активность пероксидазы измеряли спектрофотометрически по кинетике реакции окисления бензида пероксидазой в присутствии пероксида водорода [16]. Навеску листьев (50 мг) растирали в 10 мл 0,2 М ацетатного буфера (рН 5,4) и затем фильтровали. Полученный фильтрат центрифугировали 10 мин при 7000 об/мин. К 5 мл супернатанта добавляли 5 мл ацетатного буфера и 5 мл 0,05 М бензида. Оставшийся супернатант (по 1 мл) использовали для определения количества белка. Реакцию инициировали добавлением 50 мкл 1 % водного раствора пероксида водорода. В контрольную кювету наливали 2 мл раствора, содержащего супернатант, ацетатный буфер и бензидин, и 50 мкл воды, в опытную – 2 мл того же раствора и 50 мкл 1 % пероксида водорода. Измерение кинетики реакции окисления проводили на спектрофотометре *Shimadzu-UV 2401 PC* (Shimadzu, Япония) ежесекундно при  $\lambda=605$  нм в течение 300 с.

Определение содержания пероксида водорода в экстрактах листьев проводили с помощью флуоресцентного метода, в основе которого лежит реакция окисления скополетина в присутствии  $\text{H}_2\text{O}_2$ , катализируемая пероксидазой хрена [17]. Навески листьев по 0,3 г растирали в фарфоровой ступке в жидком азоте до порошка. Затем приливали 1 мл 0,2н  $\text{HClO}_4$  и растирали до гомогената. Гомогенат переносили в центрифужные пробирки, смывая ступку еще 1 мл 0,2н  $\text{HClO}_4$ . Гомогенат центрифугировали в течение 5 мин при 13000 g на центрифуге К-24 (Германия). Для нейтрализации рН к 500 мкл супернатанта добавляли 37–38 мкл 4М КОН (конечное значение рН составляло 7,5–8,0) и центрифугировали 5 мин при 13000 g на центрифуге для эпидорфов *Bekman culter Microfuge 16*. Для определения количества пероксида водорода к 930 мкл 0,1М Трис-НСI буфера рН 7,0, последовательно добавляли 10 мкл раствора пероксидазы хрена (200 ед. на 1 мл) и 10 мкл 0,1 мМ раствора скополетина. Реакцию запускали добавлением 50 мкл супернатанта. Контролем служила проба, состоящая из 950 мкл 0,1М Трис-НСI буфера и 50 мкл супернатанта. Вторым контролем служила проба, состоящая из 980 мкл 0,1М Трис-НСI буфера, 10 мкл раствора пероксидазы хрена (2500 ед. на 1 мл) и 10 мкл 0,1 мМ раствора скополетина. Определение содержания  $\text{H}_2\text{O}_2$  проводили, регистрируя флуоресценцию скополетина ( $\lambda_{\text{воз}}=370$  нм,  $\lambda_{\text{рег}}=464$  нм) на спектрофлуориметре *Solar CM 2206* (Беларусь). Содержание пероксида водорода рассчитывали в относительных единицах по снижению интенсивности флуоресценции скополетина.

Содержание фотосинтетических пигментов определяли в ацетоновых экстрактах на спектрофотометре *Shimadzu UV-2401PC* (Shimadzu, Япония). Для экстракции пигментов использовали высечки размером 1 см из верхней трети листа. Экстракцию хлорофиллов (Хл) и каротиноидов производили 99,5%-ным ацетоном [18] в 3-кратной повторности. Содержание пигментов рассчитывали по формулам:

$$C_a = 9,784 \times E662 - 0,99 \times E644,$$

$$C_b = 21,426 \times E644 - 4,65 \times E662,$$

$$C_{\text{car}} = 4,695 \times E440,5 - 0,268 \times (C_a + C_b),$$

где  $C_a$  – концентрация Хл а, мкг/мл;

$C_b$  – концентрация Хл b, мкг/мл;

$C_{\text{car}}$  – концентрация каротиноидов, мкг/мл;

E – экстинция при соответствующей длине волны.

Содержание фотосинтетических пигментов рассчитывали в мг на г сырой массы листьев.



Статистическая обработка экспериментальных данных проводилась с помощью программ *Excel 2013*, ANOVA. Все эксперименты проводили в 3 биологических и в 3 аналитических повторностях. Оценивали среднюю стандартную ошибку среднего. Статистический анализ проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента. Различия считали статистически достоверными при уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

В условиях фитотрона установлено, что обработка растений ячменя СК в концентрации  $10^{-4}$  М в фазу кущения способствовала повышению их устойчивости к заражению грибом *B. sorokiniana*. Процент пораженности листовой поверхности в фазу молочно-восковой спелости в варианте с обработкой СК не превысил 20 %, в то время как в контроле составил 40–50 % и более.

Анализ структурно-функционального состояния растений после инфицирования фитопатогенным грибом *B. sorokiniana* показал, что инокуляция спорами патогена приводит к ингибированию ростовых процессов: снижению сырой биомассы (на 38 % в фазе выхода в трубку и на 63 % – в фазе колошения), а также высоты растений в фазе колошения на 24 % по сравнению с контролем (табл. 1, 2).

Таблица 1

Влияние СК на сырую биомассу растений ячменя в условиях инфицирования патогенным грибом *Bipolaris sorokiniana*

Table 1

The effect of SA on the wet weight of barley plants under conditions of infection with the pathogenic fungus *Bipolaris sorokiniana*

Вариант	Масса растения, г	
	выход в трубку (17 дней после инфицирования)	колошение (35 дней после инфицирования)
Контроль	1,91 ± 0,30	6,92 ± 1,27
Салициловая кислота (СК)	1,72 ± 0,31	7,81 ± 1,56
<i>B. sorokiniana</i> ( <i>B. S.</i> )	1,19 ± 0,22*	2,55 ± 0,79*
СК+ <i>B. S.</i>	1,52 ± 0,32	4,98 ± 0,81

\*Различия по сравнению с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$ .

Таблица 2

Влияние СК на высоту растений ячменя в условиях инфицирования патогенным грибом *Bipolaris sorokiniana*

Table 2

The effect of SA on the height of barley plants under conditions of infection with the pathogenic fungus *Bipolaris sorokiniana*

Вариант	Высота растения, см	
	выход в трубку (17 дней после инфицирования)	колошение (35 дней после инфицирования)
Контроль	42,56 ± 2,01	89,7 ± 4,24
Салициловая кислота (СК)	39,9 ± 3,67	86,6 ± 8,18
<i>B. sorokiniana</i> ( <i>B. S.</i> )	39,3 ± 2,91	68,2 ± 8,52*
СК+ <i>B. S.</i>	43,2 ± 4,05	77,2 ± 4,37

\*Различия по сравнению с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$ .

Обработка растений ячменя СК предотвращала ингибирующее действие патогена на массу и высоту растений ячменя (см. табл. 1, 2). Под влиянием СК снижение массы инфицированного растения составило 20 % в фазе выхода в трубку в сравнении с контролем, что оказалось на 18 % меньше, чем без применения фитогормона. Ростовые показатели инфицированных растений под влиянием СК достигли контрольных значений.

Известно, что активность фотосинтетического аппарата (ФСА) играет важнейшую роль в защите растений от действия стрессоров. В наших экспериментах наблюдалось негативное действие патогенного гриба на процессы биосинтеза фотосинтетических пигментов в онтогенезе растений, о чем свидетельствует снижение содержания хлорофилловых пигментов и каротиноидов в конце вегетации (табл. 3, 4). Обработка салицилатом предотвращала вызванное патогенной инфекцией снижение содержания фотосинтетических пигментов, повышая их количество в тканях листа на 6–27 % в зависимости от стадии развития растений.

Таблица 3

Влияние СК на содержание хлорофилловых пигментов в растениях ячменя, инфицированных патогенным грибом *Bipolaris sorokiniana*

Table 3

The effect of SA on the content of chlorophyll pigments in the barley plants infected with the pathogenic fungus *Bipolaris sorokiniana*

Вариант	Содержание хлорофилловых пигментов, мг/г сырой массы и в сравнении с контролем				
	выход в трубку ВВСН 37	начало колошения ВВСН 51	конец цветения ВВСН 69	начало молочной спелости ВВСН 71	молочная спелость ВВСН 74
К	1,378 ± 0,009	1,721 ± 0,009	1,15 ± 0,028	1,13 ± 0,056	3,27 ± 0,099
СК	1,463 ± 0,039 (1,06)	1,559 ± 0,012 (0,91)	1,194 ± 0,087 (1,04)	1,313 ± 0,41 (1,16)	3,089 ± 0,136 (0,94)
<i>B. S.</i>	1,324 ± 0,007 (0,96)	1,664 ± 0,016 (0,97)	1,282 ± 0,088 (1,11)	1,256 ± 0,074 (1,11)	2,693 ± 0,878 (0,82)*
<i>B. S.</i> + СК	1,527 ± 0,004 (1,11)	1,867 ± 0,006 (1,08)	1,223 ± 0,079 (1,06)	1,393 ± 0,025 (1,23)*	4,100 ± 0,661 (1,25)*

К – контроль, СК – салициловая кислота, *B. S.* – *Bipolaris sorokiniana*.

Примечание. \*Различия по сравнению с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$ .

Таблица 4

Влияние экзогенной СК на содержание каротиноидов в растениях ячменя, инфицированных *Bipolaris sorokiniana*

Table 4

Effect of exogenous SA on the content of carotenoids in barley plants infected with *Bipolaris sorokiniana*

Вариант	Содержание каротиноидов, мг/г сырой массы и в сравнении с контролем				
	выход в трубку ВВСН 37	начало колошения ВВСН 51	конец цветения ВВСН 69	начало молочной спелости ВВСН 71	молочная спелость ВВСН 74
К	0,301 ± 0,003	0,373 ± 0,006	0,256 ± 0,006	0,246 ± 0,001	0,672 ± 0,004
К + СК	0,325 ± 0,001 (1,07)*	0,331 ± 0,001 (0,89)*	0,261 ± 0,002 (1,02)	0,289 ± 0,003 (1,17)*	0,637 ± 0,004 (0,95)
<i>B. S.</i>	0,305 ± 0,002 (1,01)	0,350 ± 0,008 (0,94)*	0,291 ± 0,001 (1,14)*	0,282 ± 0,009 (1,15)*	0,546 ± 0,017 (0,81)*
<i>B. S.</i> + СК	0,350 ± 0,008 (1,16)*	0,399 ± 0,003 (1,07)*	0,268 ± 0,006 (1,05)	0,312 ± 0,008 (1,27)*	0,837 ± 0,015 (1,25)*

К – контроль, СК – салициловая кислота, *B. S.* – *Bipolaris sorokiniana*.

Примечание. \*Различия по сравнению с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$ .

Таблица 5

Влияние экзогенной СК на содержание пероксида водорода в растениях ячменя, инфицированных *Bipolaris sorokiniana*

Table 5

Effect of exogenous SA on the content of hydrogen peroxide in barley plants infected with *Bipolaris sorokiniana*

Вариант	Содержание H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , отн.ед.	
	выход в трубку (17 дней после инфицирования)	колошение (35 дней после инфицирования)
Контроль	2,59 ± 0,23	4,02 ± 0,07
СК	3,58 ± 0,08*	4,02 ± 0,12
<i>B. sorokiniana</i> ( <i>B. S.</i> )	3,77 ± 0,18*	3,24 ± 0,16*
СК + <i>B. S.</i>	3,63 ± 0,19*	3,54 ± 0,23

\*Различия по сравнению с контролем достоверны при  $p < 0,05$ .

Положительное действие экзогенного салицилата в условиях патогенного инфицирования растений ячменя на самых поздних этапах онтогенеза проявилось в повышении до контрольного значения массы колоса, сниженной на 20 % в результате поражения грибным патогеном, а также увеличением выхода соломы на 36 % относительно контроля (рис. 1).

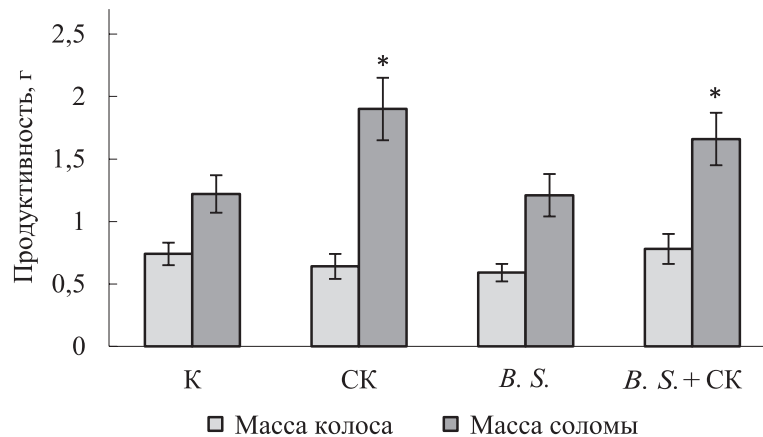


Рис. 1. Влияние СК и инфицирования патогенным грибом *Bipolaris sorokiniana* на продуктивность растений ячменя: К – контроль, СК – салициловая кислота, B. S. – *Bipolaris sorokiniana*, B. S. + СК – *Bipolaris sorokiniana* и салициловая кислота. \*Различия достоверны по отношению к контролю при  $p \leq 0,05$

Fig. 1. The effect of SA and infection with the pathogenic fungus *Bipolaris sorokiniana* on the productivity of barley plants: К – control, СК – salicylic acid; B. S. – *Bipolaris sorokiniana*, B. S. + СК – *Bipolaris sorokiniana* and salicylic acid. \*Differences are significant in relation to control at  $p \leq 0.05$

Таким образом, полученные результаты указывают на праймирующее действие экзогенной СК ( $10^{-4}$  М) на защитную систему растений ячменя, что проявляется в снижении степени поражения листьев инфекцией *Bipolaris sorokiniana*, улучшении морфометрических и фотосинтетических показателей на фоне заражения, генерации сигнальной молекулы – пероксида водорода, а также в увеличении продуктивности растений ячменя.

В условиях полевого опыта обработка растений ячменя в фазе выхода в трубку ЗСС на основе салицилата или его производного ФСК оказывала выраженный ростостимулирующий эффект (рис. 2). Растения, обработанные ЗСС, отличались большей массой как побегов (на 28–37 %), так и листьев (на 21–27 %), а также высокой степенью кустистости в фазе колошения в сравнении с контрольными образцами.

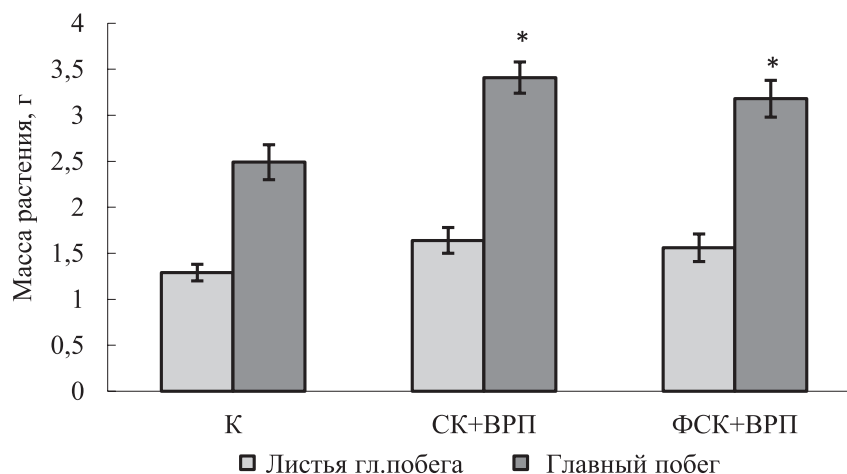


Рис. 2. Влияние салицилатов на массу растений ячменя (стадия колошения): К – контроль, СК – салициловая кислота, ФСК – фенолсалициловая кислота, ВРП – водорастворимый полимер. \*Различия достоверны по отношению к контролю при  $p \leq 0,05$

Fig. 2. The effect of salicylates on the mass of barley plants (earing stage): К – control, СК – salicylic acid; ФСК – phenylsalicylic acid; ВРП – water solvent polymer. \*Differences are significant in relation to control at  $p \leq 0.05$

В фазе молочно-восковой спелости содержание Хл (a + b) во подфлаговых листьях ячменя в результате применения ЗСС на основе СК повысилось на 66 %, а после применения ФСК – на 18 % относительно

контроля (рис. 3). Содержание каротиноидов в этой фазе также возрастало у СК- и ФСК-обработанных растений ячменя (на 67 и 21 % соответственно).

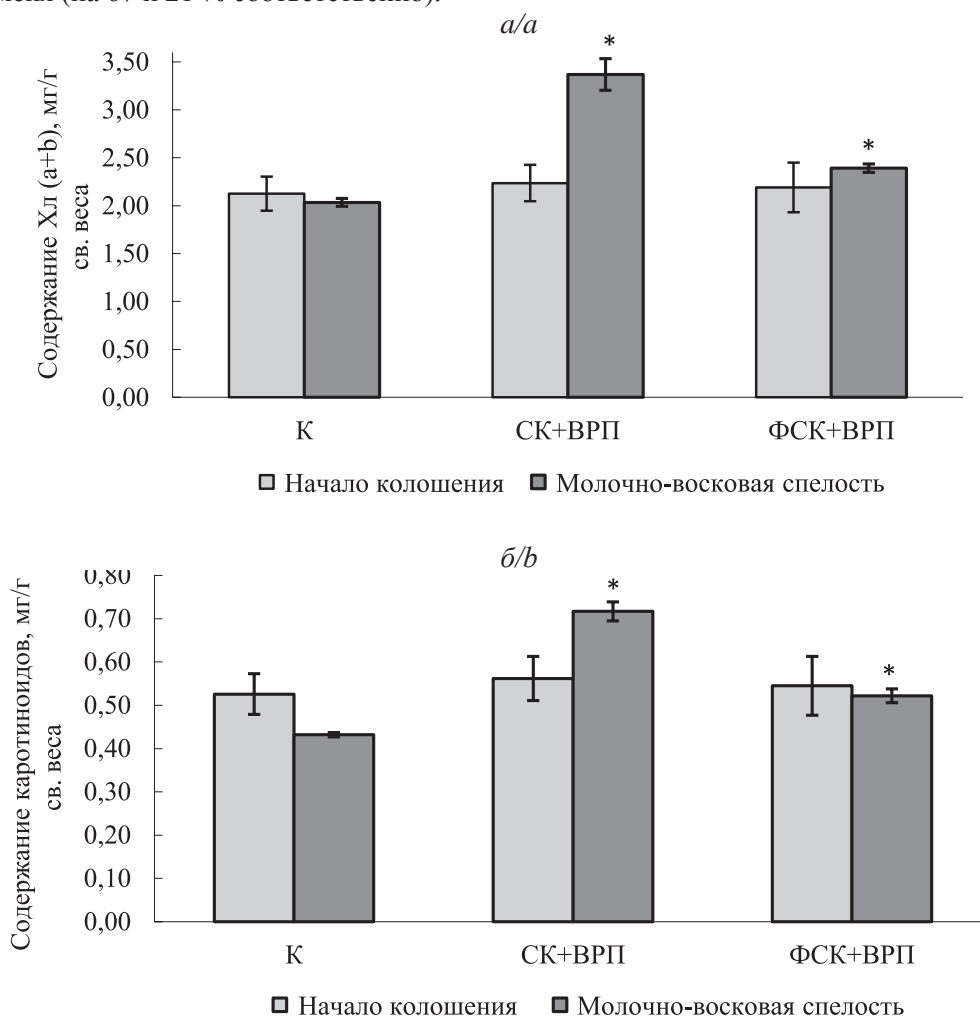


Рис. 3. Влияние салицилатов на содержание Хл (a+b) (a) и каротиноидов (б) в листьях ячменя в пересчете на единицу сырой массы на стадиях колошения и молочной спелости:

К – контроль, СК – салициловая кислота, ФСК – фенолсалициловая кислота, ВРП – водорастворимый полимер.

\*Различия достоверны по отношению к контролю при  $p \leq 0,05$

Fig. 3. The effect of salicylates on the content of Chl (a+b) (a) and carotenoids (b) in barley leaves per unit of raw mass at the stages of earing and milk ripeness: K – control, СК – salicylic acid; ФСК – phenylsalicylic acid; ВРП – water solvent polymer.

\*Differences are significant in relation to control at  $p \leq 0,05$

Реализация эффектов СК в значительной степени связана с активацией окислительных процессов в растительных клетках, что может быть обусловлено регулированием про/антиоксидантного равновесия. Было выявлено, что обработка ЗСС на основе СК вызывала увеличение активности перекисного окисления мембранных липидов в клетках мезофилла ячменя от 40 % на стадии колошения до 60 % в фазу молочно-восковой спелости по сравнению с необработанным контролем на соответствующих стадиях развития (рис. 4).

Такое увеличение интенсивности окислительных процессов под влиянием обработки салицилатами, приводящее к своевременной активации токсичных продуктов ПОЛ, по-видимому, способствует угнетению развития патогена и снижению зараженности растений в условиях комплексного действия факторов внешней среды.

Одним из наиболее важных антиоксидантных ферментов, участвующих в реализации неспецифического иммунитета, является пероксидаза, активность и спектр изоформ которой меняются под действием биологических и небиологических агентов. Нами было обнаружено возрастание активности внутриклеточной пероксидазы на 21 % под влиянием обработки СК в фазе колошения и на 60 % в фазу молочно-восковой спелости (рис. 5). Обработка растений ФСК не оказывала достоверного влияния на уровень активности фермента на протяжении всего периода наблюдений. Повышение активности пероксидазы [19] связывают с развитием защитных реакций в растениях и формированием системной приобретенной устойчивости. Таким образом, полученные результаты косвенно



указывают на формирование неспецифического иммунитета в растениях ячменя под влиянием изученных салицилатов.

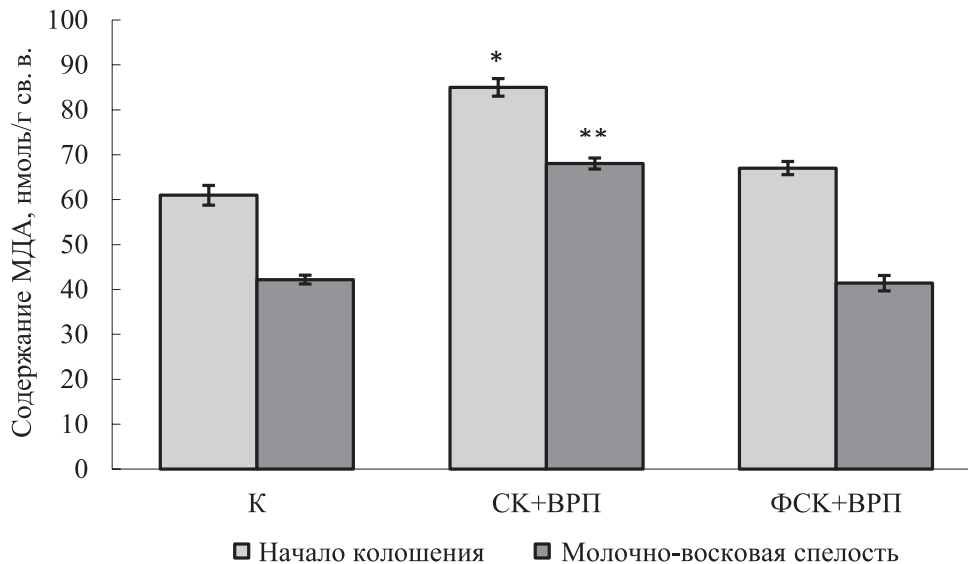


Рис. 4. Влияние салицилатов на активность процессов ПОЛ в растениях ячменя: К – контроль, СК – салициловая кислота, ФСК – фенолсалициловая кислота, ВРП – водорастворимый полимер. \*Различия достоверны по отношению к контролю при  $p \leq 0,05$

Fig. 4. The effect of salicylates on the activity of POL processes in barley plants: К – control, СК – salicylic acid; ФСК – phenylsalicylic acid; ВРП – water solvent polymer. \*Differences are significant in relation to control at  $p \leq 0.05$

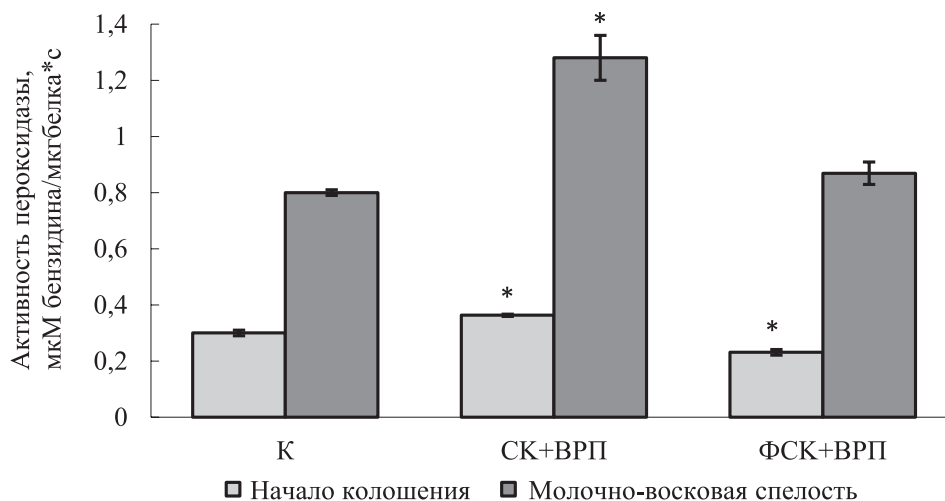


Рис. 5. Влияние салицилатов на активность пероксидазы в растениях ячменя: К – контроль, СК – салициловая кислота, ФСК – фенолсалициловая кислота, ВРП – водорастворимый полимер. \*Различия достоверны по отношению к контролю при  $p \leq 0,05$

Fig. 5. The effect of salicylates on peroxidase activity in barley plants: К – control, СК – salicylic acid; ФСК – phenylsalicylic acid; ВРП – water solvent polymer. \*Differences are significant in relation to control at  $p \leq 0.05$

Оценка поражения растений болезнями, проведенная согласно методике [20] в посевах ячменя на стадии молочно-восковой спелости, свидетельствует о положительном влиянии салицилатов на устойчивость растений к фитопатогенам (табл. 6). После применения ЗСС процент поражения листовой поверхности ячменя болезнями снижился (см. табл. 6) и, как следствие, к моменту созревания наблюдалось увеличение количества растений в расчете на 1 м<sup>2</sup> площади посева, что свидетельствует о повышении их устойчивости к болезням под влиянием СК и ФСК.

Повышение устойчивости растений ячменя в период вегетации отразилось на урожайности изученной культуры (табл. 7). Зерновая продуктивность ячменя повысилась к уровню контроля в посевах, где были использованы СК и ФСК на 4,3 и 5,2 ц/га соответственно.

Таблица 6

Оценка устойчивости растений ярового ячменя к поражению болезнями в фазе молочно-восковой спелости

Table 6

Estimation of the resistance of spring barley plants to disease damage in the phase of milk-wax ripeness

Вариант	Количество растений, шт./м <sup>2</sup>	Шкала устойчивости растений к поражению болезнями на стадии молочно-восковой спелости, баллы / % поражения листа
К	217 ± 5	5 /11–25 %
Адексар	231 ± 4	7 до 10 %
СК + ВРП	235 ± 3*	7 до 10 %
ФСК + ВРП	244 ± 7*	7 до 10 %

СК – салициловая кислота, ФСК – фенилсалициловая кислота, ВРП – водорастворимый полимер.  
Примечание. \*Различия по сравнению с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$ .

Таблица 7

Влияние салицилатов на основе салицилатов на показатели структуры урожая ярового ячменя после уборки

Table 7

The effect of salicylates- on the crop's structure of the spring barley plants after harvesting

Вариант	Количество продуктивных стеблей, шт./м <sup>2</sup>	Масса зерен в колосе, г	Урожайность, ц/га
Контроль	450,0	0,73	32,9
Адексар	462,0	0,80	37,0*
СК + ВРП	446,0	0,83*	37,2*
ФСК + ВРП	488,0*	0,78	38,1*
НСР <sub>05</sub>	18,6	0,09	2,9

СК – салициловая кислота, ФСК – фенилсалициловая кислота, ВРП – водорастворимый полимер.  
Примечание. \*Различия по сравнению с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$ .

Для выяснения характера действия СК и ее производного ФСК, а также продолжительности их действия в полевых условиях была проведена повторная обработка растений ячменя в фазу начала колошения. По большинству исследуемых параметров получены сходные результаты с однократной обработкой растений. Исходя из полученных данных, можно сделать заключение о том, что СК и ФСК индуцируют системную устойчивость растений, которая пролонгируется на весь период вегетации, что исключает необходимость повторной обработки посевов.

Полученные результаты расширяют фундаментальные знания о механизмах иммунитета растений и создают теоретическую основу для разработки препаратов нового поколения, индуцирующих устойчивость растений к инфекционным грибным болезням. На основании проведенных исследований, в целях повышения устойчивости ярового ячменя к ряду фитопатогенных заболеваний, были разработаны рецептура, технология и методические указания по применению препарата «Имуносал-В» («Имунакт-СК»), содержащего СК и ВРП-3, который рекомендован для обработки вегетирующих растений ярового ячменя. Использование данного препарата позволяет снизить применение экологически опасных химических фунгицидов при возделывании ярового ячменя, исключив их внесение на стадии колошения.

### Заключение

Установлено, что обработка растений ячменя салицилатом ( $10^{-4}$  М) по вегетации в условиях фитотрона способствует повышению их устойчивости к заражению грибом *B. sorokiniana*, снижая процент поражения листовой поверхности до 20 % относительно контрольного уровня (40–50 %). Экзогенный салицилат нивелировал ингибирующее действие патогена на массу и высоту растений ячменя, способствовал повышению содержания фотосинтетических пигментов в листовых тканях на 6–27 % в зависимости от стадии развития, что способствовало увеличению до контрольных значений массы колоса, сниженной на 20 % в инфицированных растениях, и выхода соломы на 36 % к контролю. В полевых условиях использование ЗСС на основе СК или ее производного ФСК в посевах ярового ячменя в фазе выхода в трубку оказывает ростостимулирующий эффект, способствует увеличению содержания фотосинтетических пигментов

в листьях в фазу молочно-восковой спелости и пероксидазной активности в фазах колошения и молочно-восковой спелости, что обеспечивает формирование высокопродуктивного и устойчивого фитоценоза и прибавку урожая зерна (4–5 ц/га) на уровне стандартного химического фунгицида.

Полученные результаты расширяют фундаментальные знания о механизмах иммунитета растений и создают теоретическую основу для использования салицилатов для разработки препаратов нового поколения, индуцирующих устойчивость растений ячменя к инфекционным грибным болезням.

### Библиографические ссылки

1. Dai WB. Research on prevention and control of chinese agricultural ecological environment pollution to ensure food safety. *Advanced Materials Research-Switz*. 2013;616–618:2247–2250. DOI:10.4028/www.scientific.net/AMR.616-618.2247.
2. Jones AME, Monaghan J, Ntoukakis V. Editorial: Mechanisms regulating immunity in plants. *Front. Plant Science*. 2013;4:64. DOI:10.3389/fpls.2013.00064.
3. Dewen Q, Yijie D, Yi Z. Plant Immunity Inducer Development and Application. *MPMI*. 2017;30(5):355–360. DOI: 10.1094/MPMI-11-16-0231-CR.
4. Kumar D. Salicylic acid signaling in disease resistance. *Plant Science*. 2014;228:127–134. DOI: 10.1016/j.plantsci.2014.04.014.
5. Dempsey DMA, Klessig DF. How does the multifaceted plant hormone salicylic acid combat disease in plants and are similar mechanisms utilized in humans? *BMC Biology*. 2017;15:23. DOI: 10.1186/s12915-017-0364-8.
6. White RF. Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. *Virology*. 1979;99:410–412. DOI: 10.1016/0042-6822(79)90019-9.
7. Sudisha J, Sharathchandra RG., Amruthesh KN. Pathogenesis Related Proteins in Plant Defense Response. In: Merillon JM, Ramawat KG, editors. *Plant Defence*. 2012:379–403. DOI:10.1007/978-94-007-1933-0\_17.
8. Asai T, Stone JM. Fumosis B1 induced cell death in Arabidopsis protoplasts requires jasmonate-, ethylene-, and salicylate-dependent signaling pathways. *Plant Cell*. 2000;12(10):1823–1836. DOI: 10.1105/tpc.12.10.1823.
9. Ádám AL, Nagy ZÁ, Kátay G. Systemic Immunity in Plants: Biochemical Signals and the Challenge for Practical Application. *EC Agriculture*. 2019;5(2):57–60. DOI: 10.3390/ijms19041146.
10. Wani AB, Chadar H, Wani AH. Salicylic acid to decrease plant stress. *Environmental Chemistry Letters*. 2017;15:101–123. DOI: 10.1007/s10311-016-0584-0.
11. Jain N. Screening of barley germplasm for leaf blight (*Bipolaris sorokiniana*) resistance. *Indian Journal of Agricultural Research*. 2014;48(1):67–71. DOI: 10.5958/j.0976-058X.48.1.012.
12. Kumar J, Schäfer P, Hükelhoven R. *Bipolaris sorokiniana*, a cereal pathogen of global concern: cytological and molecular approaches towards better control. *Molecular Plant Pathology*. 2002;3(4):185–195. DOI: 10.1046/j.1364-3703.2002.00120.x.
13. Доспехов БА. *Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований)*. Москва: Агропромиздат; 1985.
14. Зеленский МИ, Быков ОД. *Терминология количественных характеристик при изучении роста, продуктивности и фотосинтеза сельскохозяйственных растений*. Ленинград: [б. и.]; 1982.
15. Мерзляк МН. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки. *Итоги науки и техники. Серия Физиология растений*. 1989;6:111–123.
16. Гавриленко ВФ, Ладыгина МЕ, Хандобина ЛМ. *Большой практикум по физиологии растений*. Москва: Высшая школа; 1975. 392 с.
17. Mohanty JG, Jaffe JS, Schulman ES. A highly sensitive fluorescent micro-assay of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> release from activated human leukocytes using a dehydroxyphenoxazine derivative. *Journal Immunology Methods*. 1997;202(2):133–141. DOI: 10.1016/S0022-1759(96)00244-x.
18. Шлык АА. Определение хлорофилла и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев. В: *Биохимические методы в физиологии растений*. Москва: Наука; 1971.
19. Zhou Zh, Guan H, Liu C. Identification of genomic regions affecting grain peroxidase activity in bread wheat using genome-wide association study. *BMC Plant Biology*. 2021;21:523. DOI: 10.1186/s12870-021-03299-6.
20. Привалов ФИ, Кадыров МА, Матыс ИС. *Унифицированный классификатор ячменя *Hordeum L. spp.** Минск: [б. и.]; 2012. 46 с.

### References

1. Dai WB. Research on prevention and control of chinese agricultural ecological environment pollution to ensure food safety. *Advanced Materials Research-Switz*. 2013;616–618:2247–2250. DOI:10.4028/www.scientific.net/AMR.616-618.2247.
2. Jones AME, Monaghan J, Ntoukakis V. Editorial: Mechanisms regulating immunity in plants. *Front. Plant Science*. 2013;4:64. DOI:10.3389/fpls.2013.00064.
3. Dewen Q, Yijie D, Yi Z. Plant Immunity Inducer Development and Application. *MPMI*. 2017;30(5):355–360. DOI: 10.1094/MPMI-11-16-0231-CR.
4. Kumar D. Salicylic acid signaling in disease resistance. *Plant Science*. 2014;228:127–134. DOI: 10.1016/j.plantsci.2014.04.014.
5. Dempsey DMA, Klessig DF. How does the multifaceted plant hormone salicylic acid combat disease in plants and are similar mechanisms utilized in humans? *BMC Biology*. 2017;15:23. DOI: 10.1186/s12915-017-0364-8.
6. White RF. Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. *Virology*. 1979;99:410–412. DOI: 10.1016/0042-6822(79)90019-9.
7. Sudisha J, Sharathchandra RG., Amruthesh KN. Pathogenesis Related Proteins in Plant Defense Response. In: Merillon JM, Ramawat KG, editors. *Plant Defence*. 2012:379–403. DOI:10.1007/978-94-007-1933-0\_17.
8. Asai T, Stone JM. Fumosis B1 induced cell death in Arabidopsis protoplasts requires jasmonate-, ethylene-, and salicylate-dependent signaling pathways. *Plant Cell*. 2000;12(10):1823–1836. DOI: 10.1105/tpc.12.10.1823.
9. Ádám AL, Nagy ZÁ, Kátay G. Systemic Immunity in Plants: Biochemical Signals and the Challenge for Practical Application. *EC Agriculture*. 2019;5(2):57–60. DOI: 10.3390/ijms19041146.

10. Wani AB, Chadar H, Wani AH. Salicylic acid to decrease plant stress. *Environmental Chemistry Letters*. 2017;15:101-123. DOI: 10.1007/s10311-016-0584-0.
11. Jain N. Screening of barley germplasm for leaf blight (*Bipolaris sorokiniana*) resistance. *Indian Journal of Agricultural Research*. 2014;48(1):67–71. DOI: 10.5958/j.0976-058X.48.1.012.
12. Kumar J, Schäfer P, Hüchelhoven R. *Bipolaris sorokiniana*, a cereal pathogen of global concern: cytological and molecular approaches towards better control. *Molecular Plant Pathology*. 2002;3(4):185–195. DOI: 10.1046/j.1364-3703.2002.00120.x.
13. Dospikhov BA. *Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezul'tatov issledovaniy)* [Methodology of field experience (with the basics of statistical processing of research results)]. Moscow: Agropromizdat; 1985. Russian.
14. Zelensky MI, Bykov OD. *Terminologiya kolichestvennykh kharakteristik pri izuchenii rosta, produktivnosti i fotosinteza sel'skokhozyaystvennykh rasteniy: Metodicheskiye ukazaniya* [Terminology of quantitative characteristics in the study of growth, productivity and photosynthesis of agricultural plants: Methodological guidelines]. Leningrad: [publisher unknown]; 1982. Russian.
15. Merzlyak MN. *Aktivirovannyi kislorod i okislitel'nyye protsessy v membranakh rastitel'noy kletki* [Activated oxygen and oxidative processes in plant cell membranes]. *Itogi nauki i tekhniki. Seriya Fiziologiya rastenii* [Results of science and technology. Plant physiology series]. 1989;6:111–123. Russian.
16. Gavrilenko VF, Ladygina ME, Khandobina LM. *Bol'shoy praktikum po fiziologii rasteniy* [Large workshop on plant physiology]. Moscow: Vysshaya shkola; 1975. 392 p. Russian.
17. Mohanty JG, Jaffe JS, Schulman ES. A highly sensitive fluorescent micro-assay of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> release from activated human leukocytes using a dehydroxyphenoxazine derivative. *Journal Immunology Methods*. 1997;202(2):133–141. DOI: 10.1016/s0022-1759(96)00244-x.
18. Shlyk AA. Determination of chlorophyll and carotenoids in extracts of green leaves]. In: *Biokhimicheskiye metody v fiziologii rasteniy* [Biochemical methods in plant physiology]. Moscow: Nauka; 1971. Russian.
19. Zhou Zh, Guan H, Liu C. Identification of genomic regions affecting grain peroxidase activity in bread wheat using genome-wide association study. *BMC Plant Biology*. 2021;21:523. DOI: 10.1186/s12870-021-03299-6.
20. Privalov FI, Kadyrov MA, Matys IS. *Unifitsirovannyi klassifikator yachmenya Hordeum L. spp.* [Unified classifier of barley *Hordeum L. spp.*]. Minsk: [publisher unknown]; 2012. 46 p. Russian.

Статья поступила в редколлегию 22.02.2022.  
Received by editorial board 22.02.2022.