

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 547.92:577.11:632.9

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-3-304-311>

Поступило в редакцию 06.02.2019

Received 06.02.2019

Н. Е. Манжелесова<sup>1</sup>, Р. П. Литвиновская<sup>2</sup>, С. Н. Полянская<sup>1</sup>,  
Л. А. Корытько<sup>1</sup>, О. П. Савочка<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси,  
Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

## ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ САЛИЦИЛАТОВ БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА РАСТЕНИЯ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ, ПОДВЕРГНУТЫЕ БИОТИЧЕСКОМУ СТРЕССУ

(Представлено академиком В. А. Хрипачом)

**Аннотация.** В лабораторных опытах выявлено, что салицилаты 24-эпибрассинолида, 24-эпикастастерона и впервые синтезированный салицилат 6-дезоксо-24-эпикастастерона улучшают посевные качества семян ярового ячменя и действуют как индукторы иммунитета растений в условиях биотического стресса. В мелкоделяночных опытах показано, что обработка растений салицилатами брассиностероидов в фазу выхода в трубку оказывает стимулирующее действие на формирование защитных физиолого-биохимических реакций растений. Наиболее активное защитное действие проявил салицилат 24-эпибрассинолида.

**Ключевые слова:** салицилаты брассиностероидов, регуляция роста и развития, биотический стресс, индукция иммунитета, яровой ячмень

**Для цитирования:** Защитное действие салицилатов брассиностероидов на растения ярового ячменя, подвергнутые биотическому стрессу / Н. Е. Манжелесова [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2019. – Т. 63, № 3. – С. 304–311. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-3-304-311>

Neli E. Manzhalesava<sup>2</sup>, Raisa P. Litvinovskaya<sup>1</sup>, Svetlana N. Poljanskaja<sup>2</sup>, Larisa A. Karytsko<sup>2</sup>, Aleh P. Savachka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus,  
Minsk, Republic of Belarus

## PROTECTIVE EFFECT OF BRASINOSTEROID SALICILATES ON SPRING BARLEY PLANTS EXPOSED TO BIOTIC STRESS

(Communicated by Academician Vladimir A. Khrpach)

**Abstract.** In laboratory experiments, salicylates 24-epibrassinolide, 24-epicastasterone and the first synthesized 6-deoxo-24-epicastasterone salicylate act as inducers of plant immunity under biotic stress on the model phytopathosystem of barley-phytopathogenic fungus *Helminthosporium teres* Sacc. In small-scale field experiments, it was shown that the treatment of plants with brassinosteroid salicylates has a stimulating effect on the formation of protective physiological and biochemical reactions of plants. The most active protective effect exhibited salicylate 24-epibrassinolide.

**Keywords:** brassinosteroid salicylates, growth and development regulation, biotic stress, induce of immunity, spring barley

**For citation:** Manzhalesava N. E., Litvinovskaya R. P., Poljanskaja S. N., Karytsko L. A., Savachka A. P. Protective effect of brassinosteroid salicylates on spring barley plants exposed to biotic stress. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2019, vol. 63, no. 3, pp. 304–311 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-3-304-311>

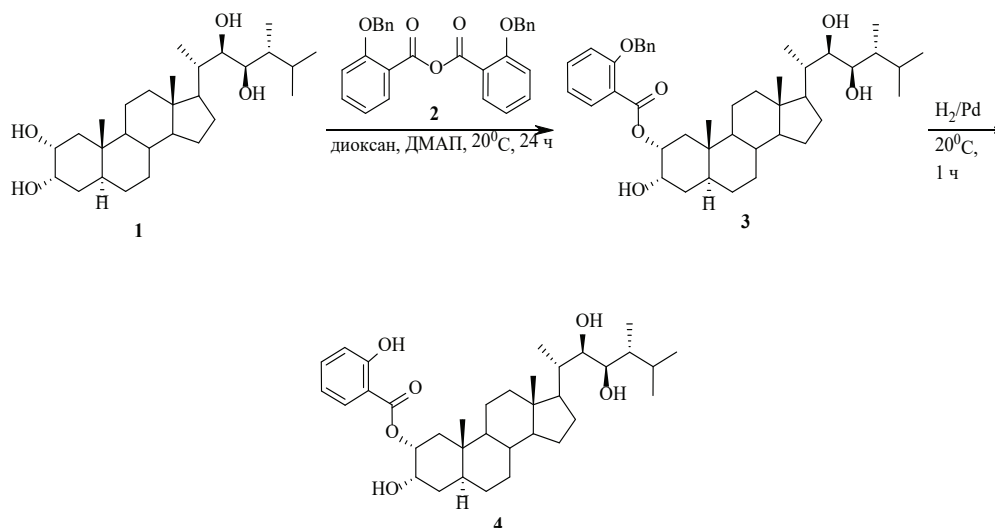
**Введение.** В условиях адаптивного земледелия получение высоких урожаев и экологически чистой сельхозпродукции при условии обеспечения безопасности окружающей среды ставит задачу максимальной экологизации средств защиты растений. Вместо синтетических препаратов фунгицидного действия все чаще предлагаются физиологически активные природные соединения и их производные с регуляторной активностью, способные, в частности, влиять на взаимоотношения патогенов с растениями в нужном направлении. В этом плане актуальным является использование фитогормональных стероидов – брассиностероидов, стимуляторов урожайности

нового поколения со стабильными биорегуляторными свойствами, экологически безопасных в применении, с широким спектром физиологической активности. На клеточном уровне это проявляется в стимуляции биосинтеза белка и нуклеиновых кислот, а также в изменении белкового спектра и аминокислотного состава синтезируемых белков, в способности изменять химический состав и свойства мембран, что приводит к стимуляции роста, улучшению фертильности, сокращению периода вегетативного роста, увеличению размера и числа плодов, улучшению пищевой ценности и качества плодов, повышению урожайности [1; 2]. В то же время brassinosterоиды обладают антистрессовыми, адаптогенными свойствами, повышающими устойчивость растений ко многим видам стресса [3; 4]. Ранее мы показали, что интересными с этой точки зрения являются конъюгаты brassinosterоидов (24-эпибрассинолида и 24-эпикастастерона) с салициловой кислотой [5]. Синтезированные соединения повышали выживание проростков проса при действии теплового и солевого стресса и уменьшали накопление в них продуктов перекисдного окисления липидов. При этом действие полученных конъюгатов заметно превосходило эффекты соответствующих brassinosterоидов, салициловой кислоты и смеси этих фитогормонов.

Цель исследования – изучение защитного действия салицилатов brassinosterоидов группы 24-эпибрассинолида на растения ячменя, включая растения, подвергнутые биотическому стрессу.

**Материалы и методы исследования.** УФ-спектры сняты на приборе Specord UV VIS в метиловом спирте. ИК спектры получены на приборе Spectrum 100 (PerkinElmer) в KBr или пленке. Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  записаны на приборе Bruker Avance DRX-500 (рабочая частота 500 МГц для  $^1\text{H}$  и 125 МГц для  $^{13}\text{C}$ ) с использованием остаточного пика растворителя в качестве внутреннего стандарта ( $\delta_{\text{H}}$  7,26 м. д. и  $\delta_{\text{C}}$  77,16 м. д. для  $\text{CDCl}_3$ ). Масс-спектры получены на масс-спектрометре LCQ Fleet (Thermo Electron Corporation) при регистрации положительных ионов в режиме химической ионизации при атмосферном давлении (APCI). Масс-спектры высокого разрешения получены на приборе Thermo Fisher Scientific LTQ Orbitrap Velos электроспреей ионизацией. Протекание реакций контролировали методом ТСХ на пластинках Kieselgel 60 F<sub>254</sub> с визуализацией путем обработки анисовым проявителем с последующим нагреванием или под УФ-лампой. Хроматографическое разделение реакционных смесей осуществляли на силикагеле 40/60 (Kieselgel 60, Merck).

Скринингу в лабораторных условиях подвергнуты салицилаты 24-эпикастастерона (ЭК) и 24-эпибрассинолида (ЭБ), полученные нами ранее [5], а также салицилат 6-дезоксо-24-эпикастастерона (ДОКС) **4**, синтез которого осуществлен для данного исследования из 6-дезоксо-24-эпикастастерона **1** [6]. Схема синтеза включала взаимодействие 6-дезоксо-24-эпикастастерона **1** с ангидридом 2-О-бензилсалициловой кислоты **2** [7], полученным *in situ* из кислоты, с последующим гидрогенолизом соединения **3** на палладиевом катализаторе для удаления бензильной защиты.



**(22R,23R)-2 $\alpha$ -(2'-Бензилоксибензоилокси)-3 $\alpha$ ,22,23-тригидрокси-5 $\alpha$ -эргостан 3.** Ангидрид 2-(бензилокси)бензойной кислоты, полученный из 100 мг (0,44 ммоль) кислоты и 45 мг (0,22 ммоль) дициклогексилкарбодиимида, в 2 мл безводного диоксана добавляли к смеси 2,4 мг (0,02 ммоль) диметиламинопиридина и 100 мг (0,22 ммоль) 6-дезоксо-24-эпикастастерона **1**. Полученный раствор перемешивали при 20 °С в течение 24 ч. Растворитель удаляли в вакууме, остаток хроматографировали на силикагеле (элюент петролейный эфир–EtOAc, 10 : 1). Получили 71 мг (49 %) соединения **3** в виде белого аморфного порошка. Т. пл. 90–92 °С (гексан). УФ спектр (MeOH,  $\lambda_{\max}$ , нм) ( $\epsilon$ ): 211 (14961), 234 (пл.), 291 (1957). ИК спектр (KBr,  $\nu$ , см<sup>-1</sup>): 3447, 2931, 2868, 1709, 1451, 1302, 1249. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , м. д., J/Гц): 0,68 (3H, с, H-18), 0,83–0,86 (6H, м, H-26, H-27), 0,87 (3H, с, H-19), 0,91 (3H, д, J = 7,0, H-28), 0,96 (3H, д, J = 6,0, H-21), 3,41 (1H, м, H-23), 3,71 (1H, м, H-22), 4,05 (1H, м, H-3), 5,16 (2H, с, OCH<sub>2</sub>Ph), 5,18 (1H, м, H-2), 6,98–7,02 (2H, м, H-3', 5'), 7,31–7,45 (6H, м, H-4', OCH<sub>2</sub>Ph), 7,79 (1H, дд, J = 8,0, 2,0, H-6'). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , м. д.): 166,21(с), 157,88 (с), 136,28 (с), 133,58 (д), 131,95 (д), 128,85 (2д), 128,39 (д), 127,62 (2д), 121,18 (с), 120,86 (д), 113,67 (д), 76,49 (д), 73,85 (д), 73,03 (д), 71,02 (т), 67,42 (д), 56,39 (д), 54,21 (д), 52,90 (д), 42,59 (с), 41,48 (д), 40,31 (д), 40,03 (т), 38,16 (д), 37,21 (с), 37,14 (т), 34,97 (д), 33,75 (т), 31,86 (т), 28,07 (т), 27,66 (т), 27,11 (д), 24,24 (т), 22,30 (к), 21,08 (т), 17,47 (к), 12,58 (к), 12,44 (к), 12,05 (к), 11,01 (к). Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ , %): 661 [M+H]<sup>+</sup> (37), 415 [M–ArCOOH–H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup> (75), 397 [M–ArCOOH–2H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup> (100), 271 (28). Найдено:  $m/z$  660,4390 [M]<sup>+</sup>. C<sub>42</sub>H<sub>60</sub>O<sub>6</sub>. Вычислено: M 660,4390.

**(22R,23R)-2 $\alpha$ -(2'-Гидроксибензоилокси)-3 $\alpha$ ,22,23-тригидрокси-5 $\alpha$ -эргостан 4 (салицилат 6-дезоксо-24-эпикастастерона).** К раствору соединения **3** (71 мг, 0,11 ммоль) в метаноле (2 мл) прибавляли 5 %-ный палладий на угле в качестве катализатора (24 мг) и перемешивали в токе водорода в течение 1 ч. Катализатор отфильтровывали через слой силикагеля, растворитель упаривали в вакууме. Получили 59 мг (95 %) монопроизводного **4** в виде белого аморфного порошка. Т. пл. 113–115 °С (гексан). УФ спектр (MeOH,  $\lambda_{\max}$ , нм) ( $\epsilon$ ): 214 (7143), 239 (6604), 306 (3432). ИК спектр (KBr,  $\nu$ , см<sup>-1</sup>): 3438, 2931, 2871, 1673, 1302. Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , м. д., J/Гц): 0,68 (с, 3H, H-18), 0,84 (д, J = 7,0 Гц, 3H, H-26), 0,86 (д, J = 7,0 Гц, 3H, H-27), 0,91 (д, J = 7,0 Гц, 3H, H-28), 0,92 (с, 3H, H-19), 0,95 (д, J = 6,0 Гц, 3H, H-21), 3,40 (м, 1H, H-23), 3,71 (м, 1H, H-22), 4,20 (м, 1H, H-3), 5,22 (м, 1H, H-2), 6,88 (м, 1H, H-5'), 6,98 (д, J = 8,0 Гц, 1H, H-3'), 7,46 (м, 1H, H-4'), 7,84 (д, J = 8,0 Гц, 1H, H-6'). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (125 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 169,39 (с), 161,85 (с), 135,99 (д), 129,92 (д), 119,33 (д), 117,83 (д), 112,64 (с), 76,48 (д), 74,48 (д), 72,98 (д), 67,64 (д), 56,33 (д), 54,23 (д), 52,88 (д), 42,58 (с), 41,51 (д), 40,33 (д), 39,94 (т), 38,26 (д), 37,39 (с), 37,24 (т), 34,98 (д), 34,32 (т), 31,84 (т), 28,06 (т), 27,63 (т), 27,11 (д), 24,23 (т), 22,27 (к), 21,14 (т), 17,44 (к), 12,57 (к), 12,51 (к), 12,04 (к), 10,98 (к). Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ , %): 571 [M+H]<sup>+</sup> (35), 415 [M–ArCOOH–H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup> (83), 397 [M–ArCOOH–2H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup> (100), 271 (16). Найдено:  $m/z$  570,3920 [M]<sup>+</sup>. C<sub>35</sub>H<sub>54</sub>O<sub>6</sub>. Вычислено: M 570,3920.

**Исследование физиологического влияния конъюгатов брассиностероидов с салициловой кислотой на растения ярового ячменя.** Объектами исследования служили растения ярового ячменя, выращенные в лабораторных и полевых условиях. Определение индуцирующей устойчивость растений к болезням активности фитогормональных стероидов проводили также в лабораторных условиях на модельной фитопатосистеме ячмень–фитопатогенный гриб *Helminthosporium teres* Sacc., возбудитель сетчатой пятнистости растений ячменя. Использовали споры ленинградской популяция гриба, культивированного в лаборатории физиологии патогенеза и болезнеустойчивости растений Института экспериментальной ботаники НАН Беларуси. Ячмень выращивали до возраста двух листьев. Первые листья разрезали на отрезки длиной по 4 см и раскладывали в кюветы на фильтровальную бумагу, смоченную 0,004 %-ным раствором бензимидазола. На каждый отрезок наносили 40 мкл исследуемых веществ и равномерно распределяли их шпателем по поверхности, а через сутки в центр отрезка помещали каплю суспензии спор гриба с инфекционной нагрузкой 4–6 тыс/мл. Контролем служили отрезки листьев, обработанные водой и спорами гриба. Реакцию растений на заражение учитывали на 5-е сутки после инокуляции по 5-балльной шкале: 0 – отсутствие симптомов болезни, 1 – точечный некроз без хлороза; 2 – некроз с хлорозом или без него, ограниченный диаметром инфекционной капли; 3 – некроз с хлорозом, распространяющийся по отрезку листа; 4 – окаймленный некроз, занимающий всю поверхность отрезка листа [8].

Полевые мелкоделяночные опыты закладывали на экспериментальной базе научно-практического центра по земледелию НАН Беларуси (г. Жодино), используя принятую методику закладки и технологию выращивания ярового ячменя. Обработку посевов салицилатами брассиностероидов проводили путем опрыскивания по вегетирующей массе. Содержание фотосинтетических пигментов изучали по методу, описанному В. Д. Гавриленко и соавт. [9]. Изменение проницаемости мембран анализировали по выходу водорастворимых веществ из листьев растений [10]. Контрольные и опытные образцы помещали в дистиллированную воду (соотношение воды и навески 50 : 1), инкубировали в ней 2–4 ч, затем образцы удаляли и проводили измерения с помощью кондуктометра, при этом учитывались показания чистой воды. Интенсивность перекисного окисления липидов мембран оценивали по способности 2-тиобарбитуровой кислоты (ТБК) связываться с липидными перекисями по методике, описанной в [11].

Семенную инфекцию определяли по утвержденному методу<sup>1</sup>. Эксперименты повторяли независимо трижды при 3–4-кратной повторности в каждой серии. В биохимических анализах повторность включала усредненную пробу из 8–10 растений. На рисунках и в таблицах представлены средние арифметические и их среднеквадратические ошибки ( $M \pm m$ ).

**Результаты и их обсуждение.** В лабораторных опытах изучалось фитозащитное действие салицилатов брассиностероидов. В контрольном варианте степень развития болезни оценивалась в 4 балла, в вариантах с использованием салицилатов 24-эпибрассинолида и 24-эпикастастерона в самых малых концентрациях  $10^{-8}$  М и  $10^{-9}$  М – в 1 балл (практически полное ингибирование инфекции), а салицилата 6-дезоксо-24-эпикастастерона – в 2 балла (табл. 1, рис. 1). В то же время более высокие дозы соединений ( $10^{-6}$  М и  $10^{-7}$  М) были неактивны в отношении фитопатогенного гриба.

Т а б л и ц а 1. Влияние модифицированных фитогормональных стероидов на проявление симптомов сетчатого гельминтоспориоза ячменя (5-е сутки после заражения)

Table 1. Influence of modified phytohormonal steroids on symptom expression of barley net blotch *in vitro* experiments on the barley leaf cuts (5<sup>th</sup> day after infection)

Вариант Variant	Характеристика поражения Lesion characteristic
Контроль (вода)	Окаймленный некроз, распространяющийся по отрезку листа – 3 балла
Салицилат ЭК, $10^{-6}$ М	Окаймленный некроз, занимающий всю поверхность отрезка листа – 4 балла
Салицилат ЭК, $10^{-7}$ М	Окаймленный некроз, распространяющийся по отрезку листа – 3 балла
Салицилат ЭК, $10^{-8}$ М	Некроз с хлорозом, ограниченный диаметром инфекционной капли – 2 балла
Салицилат ЭК, $10^{-9}$ М	Точечный некроз без хлороза – 1 балл
Салицилат ЭБ, $10^{-6}$ М	Окаймленный некроз, занимающий всю поверхность отрезка листа – 4 балла
Салицилат ЭБ, $10^{-7}$ М	Окаймленный некроз, распространяющийся по отрезку листа – 3 балла
Салицилат ЭБ, $10^{-8}$ М	Точечный некроз без хлороза – 1 балл
Салицилат ЭБ, $10^{-9}$ М	Точечный некроз без хлороза – 1 балл
Салицилат ДОЭК, $10^{-6}$ М	Окаймленный некроз, распространяющийся по отрезку листа – 3 балла
Салицилат ДОЭК, $10^{-7}$ М	Окаймленный некроз, распространяющийся по отрезку листа – 3 балла
Салицилат ДОЭК, $10^{-8}$ М	Некроз с хлорозом, ограниченный диаметром инфекционной капли – 2 балла
Салицилат ДОЭК, $10^{-9}$ М	Некроз с хлорозом, ограниченный диаметром инфекционной капли – 2 балла

Полученные данные могут свидетельствовать о том, что салицилаты брассиностероидов действуют не как фунгициды, а как индукторы иммунитета растений, т. е. не по принципу биоцидности (гибели патогена), а через стимуляцию синтеза в растениях веществ, повышающих устойчивость растения [12].

Исходя из результатов лабораторных опытов, для выяснения особенностей действия веществ на растения ярового ячменя в полевых мелкоделяночных опытах изучали салицилаты брассиностероидов в концентрациях  $10^{-6}$  М и  $10^{-8}$  М (наименее и наиболее активные концентрации при ингибировании инфекции в лабораторных условиях). Опрыскивание растений проводили в фазу выхода в трубку. Учет развития грибных болезней на культурных злаках по морфологическим

<sup>1</sup> Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями: ГОСТ 12044–93. – Введ. 01.01.1995. – М., 2004. – 42 с.

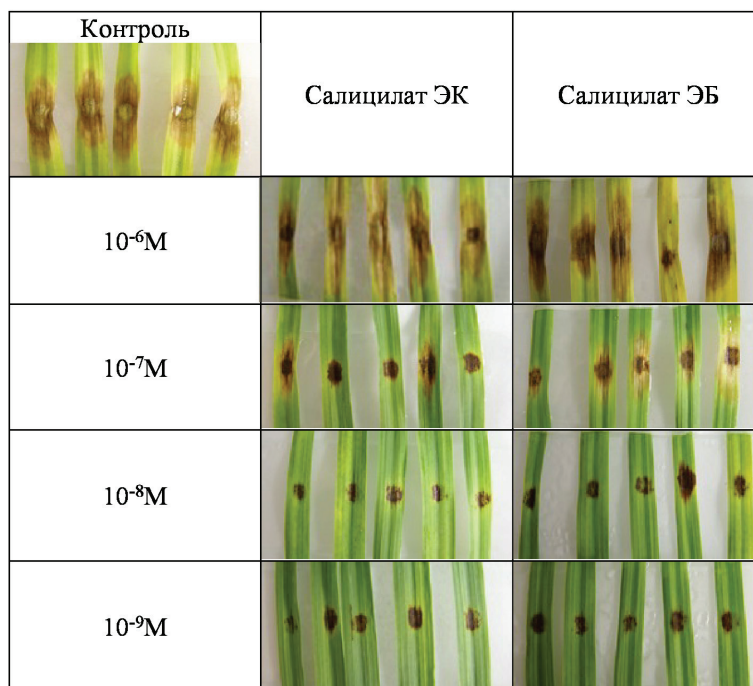


Рис. 1. Влияние конъюгированных брассиностероидных гормонов на развитие гриба *H. teres* на отрезках листьев ячменя  
 Fig. 1. Influence of conjugate brassinosteroid hormones on fungus *H. teres* development on barley leaf cuts

признакам не всегда дает дифференцированное и достаточно выраженное значение (что мы и наблюдали в настоящих опытах). Это может быть связано, прежде всего, с полным отсутствием внешних признаков поражения болезнью в годы, когда проходят испытания. Поэтому мы обратились к исследованию биохимических признаков инфекции, которые могут свидетельствовать о поражении растений болезнью. Накопление пигментов в инфицированных растениях является, в частности, косвенным показателем адаптации растений, свидетельствуя о стимулировании обмена веществ в неблагоприятную для жизнедеятельности возбудителей сторону [13]. Увеличение выхода таких веществ из листьев говорит об интенсификации обмена веществ (здоровые растения) или сильном повреждении тканей (инфицированные растения). Снижение выхода водорастворимых веществ из листьев в пораженных растениях показывает, что защитное действие соединений успешно реализуется. В полевом мелкоделяночном опыте выявлено, что в агроценозе ярового ячменя применение салицилатов брассиностероидов оказывало стимулирующее действие на формирование защитных физиолого-биохимических реакций растения, несколько различаясь по вариантам. Содержание пигментов при применении всех соединений возрастало сразу после обработки, сохранялось высоким в фазе созревания и снижалось к концу вегетации в фазе молочной спелости только при применении салицилата 24-эпикастастерона в изученных дозах (10<sup>-6</sup> М и 10<sup>-8</sup> М), а 6-дезоксо-24-эпикастастерона – только в малой дозе (10<sup>-8</sup> М).

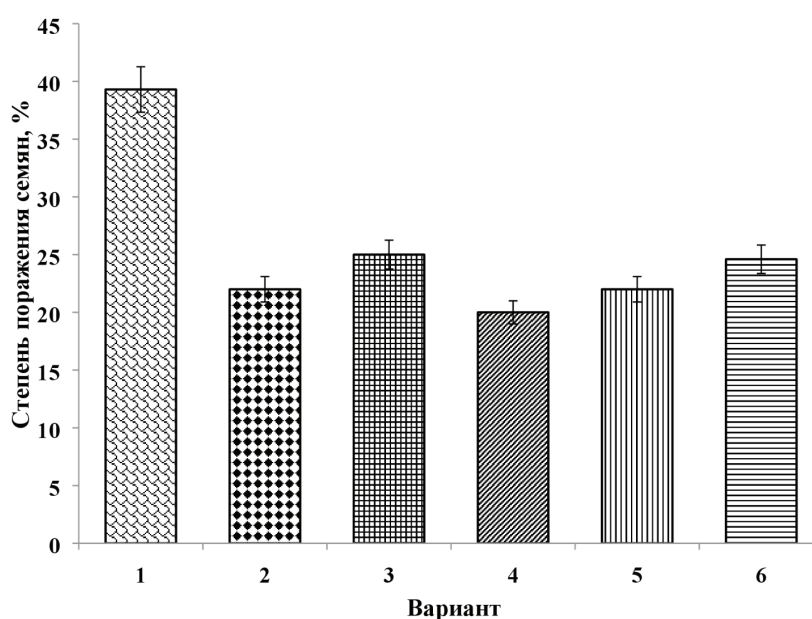
Накопление продуктов перекисного окисления (ТБК-продукты) в тканях растения свидетельствует о развивающемся патологическом процессе [14]. Ингибирование образования ТБК-продуктов, наоборот, говорит о реализации адаптационно-защитного потенциала растения. Изучение уровня малонового диальдегида (МДА) в листьях практически во всех вариантах с использованием салицилатов БС показало, что он ниже контрольных показателей вплоть до фазы молочной спелости, кроме варианта с использованием салицилата 6-дезоксо-24-эпибрассинолида в малой дозе (табл. 2, рис. 2).

Интересно, что выход водорастворимых веществ сразу после обработки снижился довольно сильно, а к концу вегетации практически во всех вариантах возрастал, особенно значительно в варианте с применением салицилата 24-эпибрассинолида в дозе 10<sup>-6</sup> М. Вероятно, происходило это за счет сохраняющегося под воздействием этого соединения активного обмена веществ. Во всех остальных вариантах процессы были менее выражены. Полученные результаты подтверж-

Т а б л и ц а 2. Содержание ТБК-продуктов в листьях ярового ячменя под влиянием салицилатов brassinosterоидов

Table 2. The lipid peroxidation products content in spring barley leaves under the influence of brassinosteroid salicylates

Вариант Variant	Колошение Earing		Начало созревания Start of ripening		Молочная спелость Milky ripeness	
	МДА, мкМ/г сырой массы	% к контролю	МДА, мкМ/г сырой массы	% к контролю	МДА, мкМ/г сырой массы	% к контролю
Контроль	16,6 ± 0,17	100	36,6 ± 0,25	100	32,99 ± 0,04	100
Салицилат ЭБ (10 <sup>-6</sup> М)	16,6 ± 0,15	100	28,7 ± 0,16	78	32,62 ± 0,07	99
Салицилат ЭБ (10 <sup>-8</sup> М)	15,1 ± 0,16	91	32,2 ± 0,17	88	38,45 ± 0,06	117
Салицилат ЭК (10 <sup>-6</sup> М)	16,5 ± 0,18	99	27,6 ± 0,15	75	31,81 ± 0,03	96
Салицилат ЭК (10 <sup>-8</sup> М)	16,4 ± 0,16	99	28,9 ± 0,18	79	31,83 ± 0,05	96
Салицилат ДОЭК (10 <sup>-6</sup> М)	12,0 ± 0,17	72	24,9 ± 0,09	68	25,23 ± 0,05	76
Салицилат ДОЭК (10 <sup>-8</sup> М)	20,2 ± 0,18	121	40,7 ± 0,09	111	38,49 ± 0,06	117

Рис. 2. Влияние brassinosterоидных соединений на степень поражения семян ярового ячменя фитопатогенными грибами в первом поколении потомства: 1 – контроль; 2 – ЭБ, 10<sup>-6</sup>М; 3 – ЭБ + салициловая кислота, 10<sup>-6</sup>М; 4 – салицилат ЭБ, 10<sup>-6</sup>М; 5 – салицилат 6-дезоксо-ЭК, 10<sup>-6</sup>М; 6 – салицилат ЭК, 10<sup>-6</sup>МFig. 2. Influence of brassinosteroid compounds on degree of damage of spring barley seeds by pathogenic fungi in first descendent generation: 1 – control; 2 – EB, 10<sup>-6</sup>M; 3 – EB + salicylic acid, 10<sup>-6</sup>M; 4 – EB salicylate, 10<sup>-6</sup>M; 5 – 6-deoxo-EC salicylate, 10<sup>-6</sup>M; 6 – EC salicylate, 10<sup>-6</sup>M

дают данные о том, что применение салицилатов brassinosterоидов зависит как от дозы, способа и сроков обработки, так и от чувствительности испытуемого объекта, его готовности воспринимать экзогенное действие. По результатам физиолого-биохимических исследований лучшие результаты показало применение салицилата 24-эпибрасинолида в концентрации 10<sup>-6</sup> М. Содержание пигментов во флаговом листе было выше контрольного почти на 40 %, выход водорастворимых веществ увеличивался вдвое при неизменном содержании продуктов перекисного окисления липидов. Стимулирующее действие на формирование адаптационных физиолого-биохимических реакций растений оказал также салицилат 6-дезоксо-24-эпикастастерона в концентрации 10<sup>-6</sup> М.

Кажущееся противоречие в эффективных концентрациях изученных соединений в лабораторных и полевых опытах можно, вероятно, объяснить тем, что лабораторные опыты проводились на отсеченных листьях в течение 5 суток, при этом все вещество попадает в ткань растения до заражения грибом. В полевых условиях растения опрыскивались в процессе вегетации, и ве-

щество, распределяясь по всему растению, попадало в ткани листьев в меньшем количестве, при этом определялись параметры, характеризующие защитные свойства растения, которое не подвергнуто инфекции. Кроме того, физиолого-биохимические показатели определялись в течение всей вегетации растений, вплоть до созревания. Возможно, малые концентрации конъюгатов фитогормональных стероидов в полевых условиях оказались недостаточными для эффективного воздействия в течение длительного периода.

При биологическом анализе семян растений, выращенных в полевых условиях, выявлено, что эти семена в значительной степени были инфицированы *Penicillium* и другими сапротрофами. Анализ семян обработанных растений показал улучшение их фитосанитарного состояния в первом поколении потомства. Установлено, что накопление патогенов в семенах снижается на 10–12 % (рис. 2). В большей степени пораженность семян уменьшалась в вариантах с применением 24-эпибрассинолида и его конъюгата с салициловой кислотой. Таким образом показано последствие конъюгатов брассиностероидов с салициловой кислотой на качество семян обработанных растений.

**Заключение.** Определение антибиотической активности стероидных гормонов растений и их конъюгатов с салициловой кислотой в лабораторных условиях на модельной фитопатосистеме фитопатогенного гриба *Helminthosporium teres* Sacc. (возбудитель сетчатой пятнистости ячменя) показало, что салицилаты 24-эпибрассинолида, 24-эпикастестерона и впервые синтезированный салицилат 6-дезоксо-24-эпикастестерона улучшают посевные качества семян ярового ячменя и действуют как индукторы иммунитета растений под действием биотического стресса. Изученные конъюгаты в концентрациях  $10^{-8}$  М и  $10^{-9}$  М практически полностью ингибировали развитие инфекции.

В мелкоделяночных опытах показано, что применение салицилатов путем опрыскивания растений в фазу выхода в трубку оказывает стимулирующее действие на формирование защитных физиолого-биохимических реакций растений. Наиболее активное защитное действие при этом отмечено для салицилата 24-эпибрассинолида. Анализ семенной инфекции показал, что пораженность патогенами семян обработанных растений уменьшалась. В большей степени эффект наблюдался в вариантах с применением 24-эпибрассинолида и его салицилата.

#### Список использованных источников

1. Khripach, V. Twenty Years of Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones Warrant Better Crops for the XXI Century / V. A. Khripach, V. Zhabinskii, A. de Groot // *Ann. Bot.* – 2000. – Vol. 86, N 3. – P. 441–447. <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1227>
2. Bajguz, A. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses / A. Bajguz, S. Hayat // *Plant Physiol. Biochem.* – 2009. – Vol. 47, N 1. – P. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.10.002>
3. Divi, U. K. Brassinosteroid-mediated stress tolerance in Arabidopsis shows interactions with abscisic acid, ethylene and salicylic acid pathways / U. K. Divi, T. Rahman, P. Krishna // *BMC Plant Biology.* – 2010. – Vol. 10, N 1. – P. 151–164. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-151>
4. 24-Epibrassinolide; an active brassinolide and its role in salt stress tolerance in plants: A review / M. Tanveer [et al.] // *Plant Physiol. Biochem.* – 2018. – Vol. 130. – P. 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.06.035>
5. Синтез и стресс-протекторное действие на растения конъюгатов брассиностероидов с салициловой кислотой / Р. П. Литвиновская [и др.] // *Химия природн. соед.* – 2016. – № 3. – С. 394–398.
6. Индолил-3-ацетоксипроизводные брассиностероидов: синтез и рострегулирующая активность / Р. П. Литвиновская [и др.] // *Химия природн. соед.* – 2013. – Т. 49, № 3. – С. 408–414.
7. CAN-Mediated Oxidations for the Synthesis of Xanthenes and Related Products / M. M. Johnson [et al.] // *J. Org. Chem.* – 2010. – Vol. 75, N 24. – P. 8701–8704. <https://doi.org/10.1021/jo101873v>
8. Коновалова, Г. С. Сравнительная характеристика популяций возбудителя ринхоспориоза ячменя из России и Узбекистана / Г. С. Коновалова // *Фитосанитарное оздоровление экосистем: материалы второго Всероссийского съезда по защите растений: в 2 т.* – СПб., 2005. – Т. 1. – С. 484–486.
9. Гавриленко, В. Ф. Большой практикум по физиологии растений / В. Ф. Гавриленко, М. Е. Ладыгина, Л. М. Хандобина. – М., 1975. – С. 283–285.
10. Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды / под ред. Т. В. Олейникова [и др.] – Л., 1976. – С. 33–43.
11. Copper-induced Damage to the Permeability Barrier in Roots of *Silene cucubalus* / C. H. R. de Vos [et al.] // *J. Plant Physiol.* – 1989. – Vol. 135, N 2. – P. 164–169. [https://doi.org/10.1016/s0176-1617\(89\)80171-3](https://doi.org/10.1016/s0176-1617(89)80171-3)
12. Тютюрев, С. Л. Научные основы индуцированной болезнестойкости растений / С. Л. Тютюрев. – СПб., 2002. – 328 с.

13. Воронков, Л. А. Фотосинтетический аппарат растений при патогенезе / Л. А. Воронков, И. А. Перова // Сельскохозяйственная биология. – 1978. – Т. 13. – С. 683–693.
14. Недведь, Е. Л. Состояние антиоксидантных систем при патогенезе злаковых культур. – Минск, 2010. – 21 с.

### References

1. Khripach V., Zhabinskii V., de Groot A. Twenty Years of Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones Warrant Better Crops for the XXI Century. *Annals of Botany*, 2000, vol. 86, no. 3, pp. 441–447. <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1227>
2. Bajguz A., Hayat S. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2009, vol. 47, no. 1, pp. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.10.002>
3. Divi U. K., Rahman T., Krishna P. Brassinosteroid-mediated stress tolerance in Arabidopsis shows interactions with abscisic acid, ethylene and salicylic acid pathways. *BMC Plant Biology*, 2010, vol. 10, no. 1, pp. 151–164. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-151>
4. Tanveer M., Shahzad B., Sharma A., Biju S., Bhardwaj R. 24-Epibrassinolide; an active brassinolide and its role in salt stress tolerance in plants: A review. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, vol. 130, pp. 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.06.035>
5. Litvinovskaya R. P., Vayner A. A., Zhylitskaya H. A., Kolupaev Y. E., Savachka A. P., Khripach V. A. Synthesis and stress-protective action on plants of brassinosteroid conjugates with salicylic acid. *Chemistry of Natural Compounds*, 2016, vol. 52, no. 3, pp. 452–457. <https://doi.org/10.1007/s10600-016-1671-y>
6. Litvinovskaya R. P., Minin P. S., Raiman M. E., Zhilitskaya G. A., Kurtikova A. L., Kozharnovich K. G., Derevyanchuk M. V., Kravets V. S., Khripach V. A. Indolyl-3-acetoxy derivatives of brassinosteroids: synthesis and growth-regulating activity. *Chemistry of Natural Compounds*, 2013, vol. 49, no. 3, pp. 478–485. <https://doi.org/10.1007/s10600-013-0643-8>
7. Johnson M. M., Naidoo J. M., Fernandes M. A., Mmutlane E. M., van Otterlo W. A. L., de Koning C. B. CAN-Mediated Oxidations for the Synthesis of Xanthenes and Related Products. *Journal of Organic Chemistry*, 2010, vol. 75, no. 24, pp. 8701–8704. <https://doi.org/10.1021/jo101873v>
8. Konovalova G. S. Comparative characteristics of populations of the causative agent of barley rhynchosporiosis from Russia and Uzbekistan. *Fitosanitarnoe ozdorozhenie ekosistem: materialy vtorogo Vserossiiskogo s'ezda po zashchite rastenii: v 2 t. [Phytosanitary improvement of ecosystems: materials of the second All-Russian Congress on Plant Protection: in 2 vol.]*. St. Petersburg, 2005, vol. 1, pp. 484–486 (in Russian).
9. Gavrilenko V. F., Ladygina M. E., Handobina L. M. *Great workshop on plant physiology*. Moscow, 1975, pp. 283–285 (in Russian).
10. Oleinikova T. V., Udovenko G. V., Barashkova E. A., Vinogradova V. V., Volkova A. M., Kozhushko N. N., Sinel'nikova V. N. (eds). Methods for assessing plant resistance to adverse environmental conditions. Leningrad, 1976, pp. 33–43 (in Russian).
11. de Vos C. H. R., Schat H., Vooijs R., Ernst W. H. O. Copper-induced Damage to the Permeability Barrier in Roots of *Silene cucubalus*. *Journal of Plant Physiology*, 1989, vol. 135, no. 2, pp. 164–169. [https://doi.org/10.1016/s0176-1617\(89\)80171-3](https://doi.org/10.1016/s0176-1617(89)80171-3)
12. Tjuterev S. L. *Scientific foundations of induced disease resistance of plants*. St. Petersburg, 2002. 328 p. (in Russian).
13. Voronkov L. A., Perova I. A. Plant photosynthetic apparatus during pathogenesis. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya = Agricultural Biology*, 1978, vol. 13, pp. 683–693 (in Russian).
14. Nedved E. L. *The state of antioxidant systems in the pathogenesis of cereal crops*. Minsk, 2010. 21 p. (in Russian).

### Информация об авторах

*Манжелесова Нелли Евгеньевна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: patphysio@mail.ru.

*Литвиновская Раиса Павловна* – д-р хим. наук, гл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: litvin@iboch.by.

*Полянская Светлана Николаевна* – канд. биол. наук, науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: snpoljan@mail.ru.

*Корытько Лариса Александровна* – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: patphysio@mail.ru.

*Савочка Олег Петрович* – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: oleg.brsv@iboch.by.

### Information about the authors

*Manzhalesava Neli Yevgenievna* – Ph. D. (Biology), Leading researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patphysio@mail.ru.

*Litvinovskaya Raisa Pavlovna* – D. Sc. (Chemistry), Chief researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: litvin@iboch.by.

*Poljanskaja Svetlana Nikolaevna* – Ph. D. (Biology). Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: snpoljan@mail.ru.

*Karytsko Larisa Aleksandrovna* – Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patphysio@mail.ru.

*Savachka Aleh Petrovich* – Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: oleg.brsv@iboch.by.