

УДК [632.4+58.036]:633.16+547.587.11

Л. М. АБРАМЧИК, Е. В. СЕРДЮЧЕНКО, Л. В. ПАШКЕВИЧ, В. Н. МАКАРОВ,
Л. А. ЗЕНЕВИЧ, Л. Ф. КАБАШНИКОВА

**ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ
СОСТОЯНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТАТУС
РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ ПАТОГЕНОМ
BIPOLARIS SOROKINIANA (SACC.) SHOEM И ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ**

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,
Минск, Беларусь, e-mail: kabashnikova@ibp.org.by

Установлено, что салициловая кислота положительно влияет на устойчивость зеленых проростков ячменя (*Hordeum vulgare* L.) при совместном воздействии на них патогенной инфекции *Bipolaris sorokiniana* и гипертермии. Это выражается в нормализации функционирования фотосинтетического аппарата, снижении процессов перекисного окисления липидов клеточных мембран, повышении пула H_2O_2 , участвующей в запуске защитных систем клетки, повышении активности НАДФН-оксидазы, осуществляющей генерацию активных форм кислорода при инфицировании растений патогенами и активации пероксидаз.

Ключевые слова: ячмень, патоген *Bipolaris sorokiniana*, гипертермия, салициловая кислота, хлорофилл, каротиноиды, перекисное окисление липидов, пероксид, пероксидаза, НАДФН-оксидаза.

L. M. ABRAMCHIK, T. V. SERDIUCHENKO, L. V. PASHKEVICH, V. N. MAKAROV,
L. A. ZENEVICH, L. F. KABASHNIKOVA

**INFLUENCE OF SALICYLIC ACID ON THE STRUCTURAL-FUNCTIONAL STATE
OF THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS AND THE OXIDIZING STATUS OF THE BARLEY PLANTS
UNDER *BIPOLARIS SOROKINIANA* (SACC.) SHOEM INFECTION AND INCREASED TEMPERATURE**

Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Belarus, e-mail: kabashnikova@ibp.org.by

It was found that salicylic acid has a positive effect on the stability of green barley seedlings (*Hordeum vulgare* L.) under the combined effect of pathogenic infection *Bipolaris sorokiniana* and hyperthermia. This results in normalization of functioning of the photosynthetic apparatus, reduction of peroxidation processes in cell membrane lipids, increasing of H_2O_2 pool, involved in triggering of the protective cell systems, increase of NADPH-oxidase activity, involved in the generation of active oxygen forms upon infection of the plants with pathogens and peroxidase activation.

Keywords: Barley, pathogen *Bipolaris sorokiniana*, hyperthermia, salicylic acid, chlorophyll, carotenoids, lipid peroxidation, peroxide, peroxidase, NADPH-oxidase.

Введение. Снижение урожайности высокопродуктивных сельскохозяйственных растений обусловлено прежде всего их недостаточной устойчивостью к многочисленным стрессовым воздействиям, как биотическим, так и абиотическим, которым растения подвергаются в течение их жизни. Решение проблемы защиты сельскохозяйственных растений от комплексного действия стрессовых факторов разной природы особенно актуально для Республики Беларусь с ее неустойчивым климатом. В связи с этим одна из первоочередных задач современной биологии – установить пути формирования устойчивости растений к фитопатогенам, так как болезни растений, в том числе зерновых культур, распространены широко и причиняют существенный ущерб сельскохозяйственному производству.

Наиболее распространенными и вредоносными заболеваниями злаковых культур являются гельминтоспориозы. Основным возбудителем этого заболевания выступает *B. sorokiniana* из класса

Deuteromycetes [1], вызывающий также темно-бурую пятнистость листьев зерновых культур, белоколосость, корневую гниль и черный зародыш семян. Гельминтоспориозами растения могут поражаться в период от всходов до созревания. Особенно агрессивен возбудитель в условиях высокой относительной влажности и повышенной температуры [2]. Вредоносный потенциал гриба снижает урожайность зерновых культур по всему миру [3]. Борьба с фитопатогенами, в первую очередь грибными, в настоящее время осуществляется преимущественно с использованием фунгицидов, но интенсивное применение пестицидов для подавления грибной инфекции приводит, с одной стороны, к химическому загрязнению экосистем, а с другой – к появлению высокорезистентных к пестицидам форм патогенов. Интерес к экологически чистым технологиям и биологически обоснованным методам борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур во всем мире растет с каждым годом. Биологически активные препараты имеют важное преимущество перед химическими биоцидными препаратами – они не токсичны, не вызывают привыкания у возбудителей болезней, не оказывают губительного влияния на экологическую систему и безопасны для человека [4]. В связи с этим остро встает проблема поиска средств повышения иммунитета сельскохозяйственных растений с использованием иммуномодуляторов природного происхождения. 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, является салициловая кислота (СК) – эндогенный регулятор роста и важный компонент сигнальных систем [5, 6]. Ее концентрация многократно повышается в тканях растений при инфицировании [7]. Установлено, что СК способна индуцировать устойчивость растений к разнообразным по своей природе возбудителям болезней, а также к повреждающим факторам абиотической природы, что предполагает ее важную роль в формировании ответных адаптационных реакций растительной клетки.

Цель работы – изучение влияния салициловой кислоты на структурно-функциональное состояние фотосинтетического аппарата и окислительный статус растений ячменя в условиях инфицирования патогенным грибом *B. sorokiniana* и гипертермии.

Материалы и методы исследования. Зеленые проростки ячменя сорта Магутны выращивали в лабораторных условиях при 16-часовом фотопериоде и температуре 22/16 °С (день/ночь) на полихроматичном белом свете ($120 \text{ мкмоль квантов м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$), используя специальные сетки площадью 198 см^2 и слой фильтровальной бумаги, увлажненной водопроводной водой. Листья 4-дневных растений равномерно опрыскивали из пульверизатора водным раствором, содержащим СК (10^{-4} М), из расчета 5 мл раствора на сетку. Через 24 ч после этой процедуры листья проростков инокулировали спорами гриба *B. sorokiniana* путем их опрыскивания культуральной средой, содержащей 10^6 спор/мл. Для создания условий гипертермии часть растений, инокулированных спорами гриба *B. sorokiniana*, помещали на 3 ч в термостат при 40 °С. Анализировали материал через 1 и 3 сут после инокуляции. В качестве контрольного варианта использовали незараженные растения, выращенные в идентичных условиях.

Экстракцию фотосинтетических пигментов производили 80 %-ным ацетоном. Количество хлорофиллов (Хл) и каротиноидов в ацетоновых экстрактах определяли по спектрам поглощения, снятым на спектрофотометре Shimadzu UV-2401 PC. Расчет производили по формулам, предложенным в работе [8].

Содержание пероксида водорода (H_2O_2) в экстрактах листьев определяли с помощью флуоресцентного метода, в основе которого лежит реакция окисления скополетина в присутствии H_2O_2 , катализируемая пероксидазой хрена [9].

Общую пероксидазную активность измеряли спектрофотометрически по методу, предложенному в работе [10], используя бензидин и пероксид водорода.

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) тестировали по количеству малонового диальдегида (МДА), содержание которого определяли по цветной реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой, с последующим измерением оптической плотности на спектрофотометре Shimadzu UV-2401 PC при длине волны 532 нм [11]. Количество МДА рассчитывали, используя коэффициент молярной экстинкции $1,55 \cdot 10^5 \text{ М}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$.

Активность НАДФН-оксидазы определяли по окислению НАДФН [12]. Скорость окисления НАДФН регистрировали на спектрофотометре Shimadzu UV-2401 PC по уменьшению адсорбции при 340 нм в течение 5 мин и рассчитывали с учетом коэффициента молярной экстинкции $6,22 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ [12]. Содержание белка во фракциях измеряли по методу Лоури [13].

Активность фенилаланинаммиаклиазы (ФАЛ) определяли по образованию из L-фенилаланина коричневой кислоты. Навеску замороженного в жидком азоте материала (1 г) гомогенизировали на холоду в 0,1 М боратном буфере (10 мл), pH 8,8, содержащем 5 мМ ЭДТА и 3 мМ дитиотреитол с добавлением поливинилпирролидона (поликлар АТ, 25 % от веса сырой ткани). Гомогенат фильтровали и центрифугировали 20 мин при 25 000 g и 4 °C. Супернатант использовали для определения удельной активности фермента. Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре при длине волны 290 нм. Активность ФАЛ выражали в нмоль/мг белка/ч [14].

Флуоресцентные параметры фотосистемы 2 (ФС 2) измеряли на флуориметре Teaching-PAM (pulse amplitude modulation) (Walz, Германия). Перед измерением листья адаптировали к темноте в течение 15 мин. Включение модулированного с низкой частотой (32 Гц) слабого света (630 нм , $0,04 \text{ мкмоль квантов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) возбуждало фоновую флуоресценцию F_0 . Световой импульс ($\lambda = 663 \text{ нм}$) высокой интенсивности ($3300 \text{ мкмоль квантов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) увеличивал квантовый выход флуоресценции до максимального уровня F_m . Потенциальный квантовый выход фотохимических реакций ФС 2 рассчитывали по формуле $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ [15]. Статистическую обработку данных проводили по методике, предложенной в работе [16].

Результаты и их обсуждение. В зараженных спорами *B. sorokiniana* листьях проростков ячменя симптомы болезни темно-бурой пятнистости проявлялись уже на 2-е сутки в виде бурых пятен с желтым ободком, увеличивающихся при более продолжительном воздействии до крупных бурых некрозов. Обработка растений СК подавляла развитие болезни, о чем свидетельствовало появление на листьях только мелких бурых точек на 3-и сутки после инокуляции. В отсутствие инфекции СК не вызывала каких-либо визуальных изменений в морфологии листьев ячменя. Следовательно, СК индуцирует устойчивость растений ячменя к действию патогена *B. sorokiniana*.

Исследование действия экзогенной СК на ростовые характеристики проростков ячменя в условиях их поражения фитопатогенным грибом и гипертермии показало, что обработка СК приводит к ряду морфофизиологических изменений в опытных растениях. Из табл. 1 видно, что у проростков, зараженных фитопатогенным грибом, под влиянием экзогенной СК наблюдается тенденция к увеличению роста надземной и подземной части растений как по массе, так и по длине. В наибольшей степени этот эффект был выражен в надземных органах. При этом у здоровых растений такого эффекта СК не вызывала. В растениях, подвергавшихся действию биотического и абиотического факторов, СК способствовала поддержанию параметров морфоструктуры на уровне контроля.

Т а б л и ц а 1. Влияние СК на параметры морфоструктуры зеленых проростков ячменя в условиях патогенной инфекции *B. sorokiniana* (*B. s.*) и гипертермии (ТШ)

Вариант	Длина проростка, см	Длина coleoptили, см	Длина корня, см	Масса проростка, г	Масса корня, г
Контроль	$8,54 \pm 0,58$	$2,39 \pm 0,12$	$14,27 \pm 2,36$	$0,075 \pm 0,011$	$0,132 \pm 0,02$
<i>B. s.</i>	$8,42 \pm 0,66$	$2,19 \pm 0,20$	$14,80 \pm 1,08$	$0,073 \pm 0,01$	$0,131 \pm 0,022$
СК	$8,80 \pm 0,74$	$2,40 \pm 0,20$	$15,19 \pm 1,35$	$0,078 \pm 0,009$	$0,138 \pm 0,015$
<i>B. s.</i> + СК	$10,28 \pm 0,90$	$2,27 \pm 0,21$	$15,93 \pm 1,37$	$0,095 \pm 0,013$	$0,155 \pm 0,023$
<i>B. s.</i> + СК+ ТШ	$8,51 \pm 0,72$	$2,43 \pm 0,15$	$14,54 \pm 1,22$	$0,075 \pm 0,012$	$0,133 \pm 0,014$

Важным индикатором фотосинтетической деятельности растений, характеризующим состояние аппарата фотосинтеза в неблагоприятных условиях, является содержание пластидных пигментов. Нами установлено, что после опрыскивания листьев ячменя СК содержание Хл *a* и *b* в здоровых проростках ячменя повысилось на 12 % по сравнению с таковым в необработанном контроле и на 9 % увеличилось накопление Хл в инфицированных проростках по сравнению с его содержанием в варианте без применения СК (табл. 2). В опыте с двумя стрессовыми воздействиями уровень хлорофилловых пигментов после обработки СК был повышен. Использо-

ние СК положительно отразилось на содержании каротиноидов в зеленых неинфицированных проростках ячменя и на растениях, обработанных спорами гриба. На соотношение Хл *a*/Хл *b* и величину соотношения Хл/каротиноиды обработка СК существенно не влияла.

Т а б л и ц а 2. Влияние СК на содержание фотосинтетических пигментов (мг/г сырой массы) в зеленых проростках ячменя в условиях гипертермии (ТШ) и патогенной инфекции *B. sorokiniana* (*B. s.*)

Вариант	Хл <i>a</i>	Хл <i>b</i>	Хл (<i>a</i> + <i>b</i>)	Каротиноиды	Хл <i>a</i> /Хл <i>b</i>	Хл/карот.
Контроль	0,867 ± 0,06	0,283 ± 0,02	1,15 ± 0,07	0,256 ± 0,015	3,07 ± 0,02	4,5 ± 0,02
<i>B. s.</i>	0,913 ± 0,02	0,295 ± 0,02	1,208 ± 0,03	0,29 ± 0,013	3,09 ± 0,04	4,16 ± 0,1
СК	0,971 ± 0,11	0,330 ± 0,03	1,301 ± 0,14	0,283 ± 0,029	2,95 ± 0,02	4,59 ± 0,06
<i>B. s.</i> + СК	0,961 ± 0,08	0,307 ± 0,02	1,268 ± 0,11	0,288 ± 0,025	3,13 ± 0,05	4,40 ± 0,07
<i>B. s.</i> + ТШ + СК	0,965 ± 0,13	0,309 ± 0,04	1,274 ± 0,16	0,278 ± 0,037	3,12 ± 0,02	4,58 ± 0,03

Таким образом, СК оказывает стимулирующий эффект на процессы накопления фотосинтетических пигментов в здоровых проростках ячменя и при грибном заражении.

С целью выяснения действия СК на функциональную активность фотосинтетического аппарата в инфицированных патогенным грибом *B. sorokiniana* зеленых проростках ячменя проведено исследование фотохимической активности ФС 2 хлоропластов методом РАМ-флуориметрии (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Влияние СК на показатели фотохимической активности хлоропластных мембран проростков ячменя в условиях патогенной инфекции *B. sorokiniana* (*B. s.*) и гипертермии (ТШ)

Вариант	F_0	F_m	F_v	F_v/F_m
Контроль	0,089	0,508	0,419	0,825
СК	0,096	0,509	0,413	0,811
<i>B. s.</i>	0,081	0,423	0,342	0,809
<i>B. s.</i> + СК	0,087	0,497	0,410	0,824
<i>B. s.</i> + СК + ТШ	0,092	0,503	0,411	0,817

Анализ полученных результатов показал, что заражение грибом *B. sorokiniana* оказывает негативное воздействие на уровень максимальной флуоресценции Хл *a* в зеленых проростках ячменя, что, однако, не отразилось на потенциальном квантовом выходе фотохимических реакций ФС 2. Защитное действие СК проявлялось в ослаблении ингибирующего эффекта патогена на фотохимическую активность ФС 2, выражающемся в повышении значений F_m почти до контрольного уровня. Оценка состояния фотосинтетического аппарата листьев ячменя в условиях совместного действия патогена и гипертермии по изменению соотношения F_v/F_m не выявила заметного влияния СК на уровень максимального эффективного квантового выхода фотохимических реакций ФС 2.

Известно, что одной из наиболее ранних реакций растительных клеток в ответ на различного рода стрессовые воздействия является образование активных форм кислорода (АФК), наиболее важной из которых является пероксид водорода – самая стабильная из АФК, которая играет ключевую роль как сигнальная молекула в координации других реакций формирования устойчивости в растительной клетке [17]. Установлено, что инокуляция зеленых проростков ячменя спорами гриба *B. sorokiniana* практически не влияла на уровень пероксида водорода. Обработка СК как контрольных, так и инфицированных проростков ячменя индуцировала образование H_2O_2 , повышая содержание этого вида АФК на 17 % по отношению к его уровню в необработанном контроле через 1 сут после воздействия. Повышенный уровень H_2O_2 сохранялся в этих вариантах опыта и в течение последующих 3 сут (рис. 1). Такой эффект может быть связан с ингибированием СК каталазы [18], приводящим к увеличению содержания H_2O_2 . Стимулирующее действие СК на процессы образования H_2O_2 проявлялось и при сочетанном действии теплового фактора и патогена. Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод о том, что обработка СК повышает содержание пероксида водорода в инфицированных тканях растений, что играет решающую роль в их своевременной защите от патогена, так как принято считать, что усиление

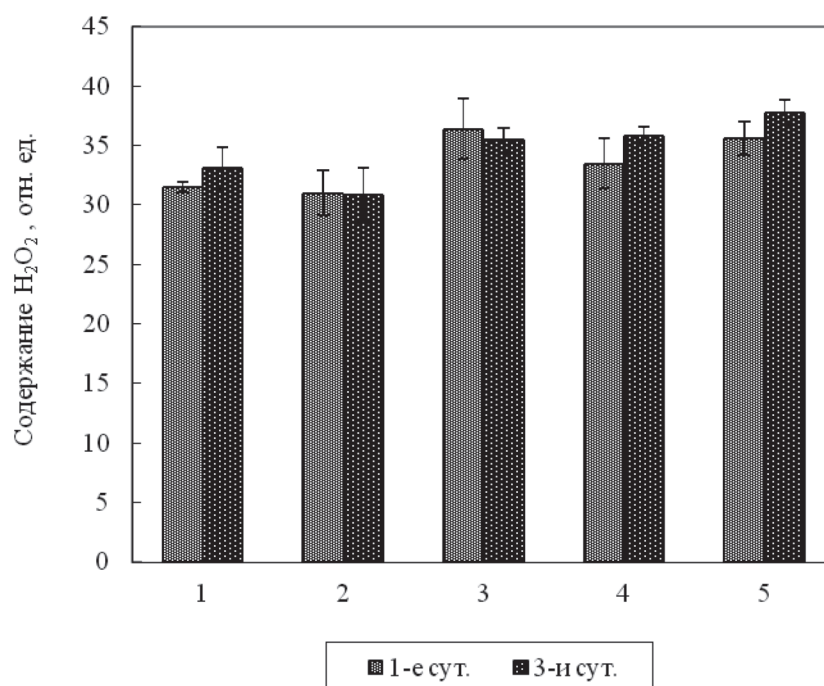


Рис. 1. Влияние СК на содержание пероксида водорода (H_2O_2) в зеленых проростках ячменя разного возраста в условиях гипертермии и заражения патогенным грибом *B. sorokiniana* (1 – контроль; 2 – *B. sorokiniana*; 3 – СК; 4 – *B. sorokiniana* + ТШ; 5 – *B. sorokiniana* + ТШ + СК)

накопления АФК является необходимым звеном в реализации защитного действия СК не только при биотических, но и при абиотических стрессах [19].

Повышенное образование растениями АФК, как правило, приводит к активации пероксидного окисления мембранных липидов, что может вызывать разнообразные структурно-функциональные нарушения в клетке, в то время как процессы ПОЛ могут инициировать включение защитных механизмов [20]. Из рис. 2 видно, что СК тормозит развитие окислительных процессов в инфицированных зеленых проростках ячменя. Так, если спустя 1 сут после действия СК (рис. 2, вариант 4) уровень ПОЛ практически не отличался от значений контрольного варианта, то через 3 сут наблюдался ярко выраженный защитный эффект СК, выражающийся в значительном снижении конечных продуктов ПОЛ в инфицированных растениях по отношению к контролю. При этом необходимо отметить, что защитное действие СК проявлялось и на зеленых проростках, развивающихся в условиях совместного действия патогена и гипертермии (рис. 2).

В усилении генерации АФК, вызываемом *B. sorokiniana*, может принимать участие НАДФН-оксидаза, которая относится к кальцийзависимым ферментам [21] и является исключительно важным звеном метаболизма в защите от инфекций, а также в модуляции обменных процессов. Влияние экстремальных факторов на функциональную активность НАДФН-оксидазы зависит от их природы и может усиливаться или ослабляться при их совместном действии на растительный организм. Нами показано, что в ответ на инокуляцию листьев возбудителем темно-бурой пятнистости *B. sorokiniana* происходит повышение активности НАДФН-оксидазы (рис. 3). СК оказывала эффективное индуцирующее действие на активность НАДФН-оксидазы как в здоровых растениях, так и при инфицировании. При этом установлено, что 3-дневная инокуляция проростков ячменя фитопатогеном на фоне обработки растений СК приводит к всплеску активности фермента по сравнению с контролем на 75 % против 15 % без использования СК (рис. 3). Данная тенденция увеличения активности НАДФН-оксидазы на фоне обработки растений СК сохранялась и при сочетании грибного заражения с ТШ. Не исключено, что влияние СК на активность или синтез НАДФН-оксидазы опосредовано изменением концентрации ионов кальция в цитозоле, являющегося регулятором активности этого фермента [22]. Однако до сих пор не ясно, какой из вызываемых СК эффектов – увеличение содержания цитозольного кальция или количества АФК – является первичным. Предположительно, СК посредством ионов кальция вызывает ак-

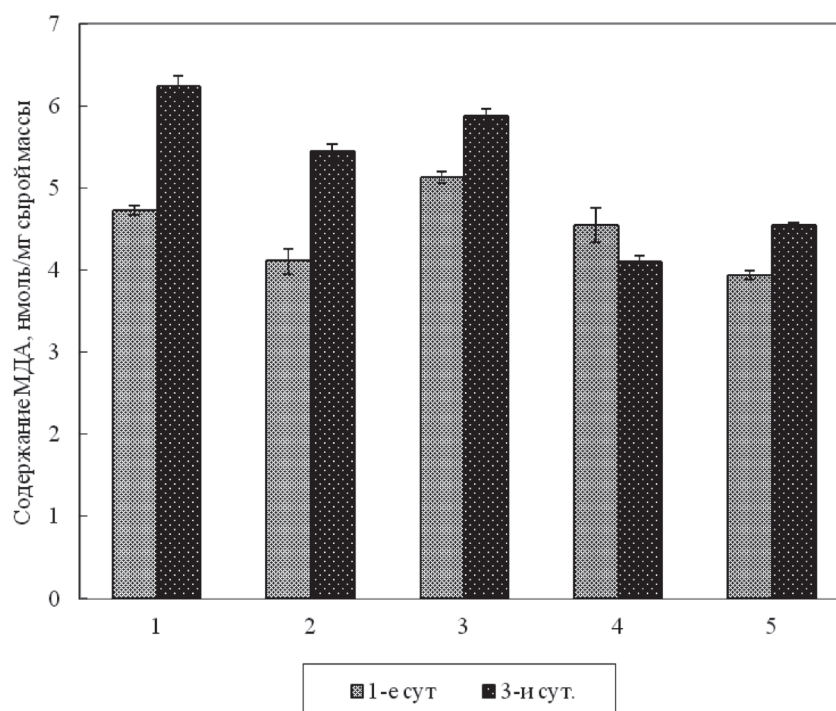


Рис. 2. Влияние СК на активность ПОЛ в зеленых проростках ячменя разного возраста в условиях гипертермии и заражения патогенным грибом *B. sorokiniana* (1 – контроль; 2 – *B. sorokiniana*; 3 – СК; 4 – *B. sorokiniana* + ТШ; 5 – *B. sorokiniana* + ТШ + СК)

тивацию НАДФН-оксидазы, которая преобразует кальциевый сигнал в окислительный, в свою очередь также активирующий НАДФН-оксидазу.

В растениях, как и в других живых организмах, поддержание концентрации образовавшихся в клетке АФК на достаточно низком уровне осуществляется антиоксидантной системой, от состояния которой во многом зависит устойчивость растений к стрессовым воздействиям. В реализации адаптационного потенциала растений особая роль отводится пероксидазам – полифункциональной ферментной системе, которая способна реагировать на широкий спектр факторов, приводящих к нарушению гомеостаза в обмене веществ у растений.

Согласно полученным данным, инокуляция проростков спорами гриба на 1-е и 3-и сутки после воздействия вызывала увеличение общей пероксидазной активности в 1,6 и 2,2 раза соответственно по отношению к контролю (рис. 4). Обработка проростков ячменя экзогенной СК

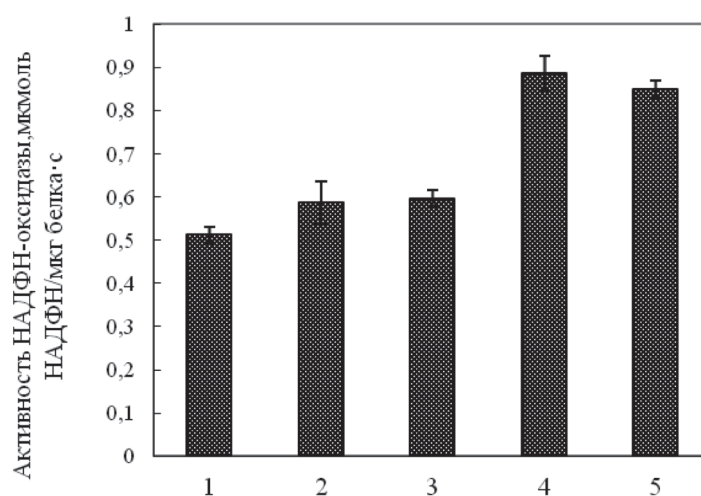


Рис. 3. Влияние СК на активность НАДФН-оксидазы в 8-дневных проростках ячменя в условиях гипертермии и заражения патогенным грибом *B. sorokiniana* (1 – контроль; 2 – *B. sorokiniana*; 3 – СК; 4 – *B. sorokiniana* + ТШ; 5 – *B. sorokiniana* + ТШ + СК)

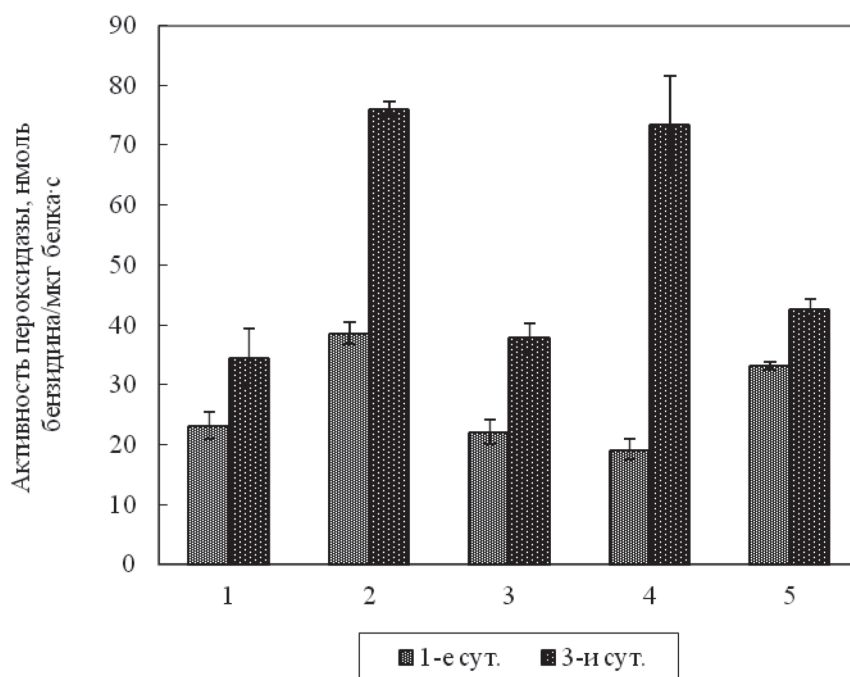


Рис. 4. Влияние СК на общую пероксидазную активность в проростках ячменя разного возраста в условиях гипертермии и заражения патогенным грибом *B. sorokiniana* (1 – контроль; 2 – *B. sorokiniana*; 3 – СК; 4 – *B. sorokiniana* + ТШ; 5 – *B. sorokiniana* + ТШ + СК)

не сказывалась на активности пероксидазы незараженных растений в течение всего периода роста, но оказывала существенное влияние на активность фермента в инфицированных растениях. Так, если в предобработанных СК здоровых растений активность фермента была сопоставима со значениями контрольного варианта (рис. 4), то в обработанных СК листьях через 3 сут после инокуляции *B. sorokiniana* активность этого фермента превышала аналогичный показатель контрольных растений более чем в 2 раза, однако не превышала значений при инфицировании. В обработанных СК растениях ячменя в условиях совместного действия абиотического и биотического факторов отмечено повышение активности фермента в течение 1-х суток и резкое падение на 3-и сутки по сравнению с его активностью у необработанных СК растений, однако несколько превышающей значения контрольного варианта.

Решающая роль в адаптации растений к воздействию неблагоприятных факторов среды принадлежит защитным биохимическим системам, индуцируемым под влиянием этих факторов. Одной из важных защитных реакций растений на действие биогенных и абиогенных стрессоров является активация фенольного метаболизма и, в частности, синтеза фермента, катализирующего первую и скорость-лимитирующую реакцию фенилпропаноидного пути (дезаминирование фенилаланина) – ФАЛ. Показано, что под действием СК происходит усиление активности гидролитических и протеолитических ферментов, участвующих в защитных реакциях растений [23]. Однако в литературе практически отсутствуют данные относительно изменения активности ФАЛ в растениях при действии СК. Исходя из этого, было исследовано воздействие патогенной инфекции *B. sorokiniana* и СК на активность ФАЛ в зеленых проростках ячменя (рис. 5).

Исследование активности ФАЛ – ключевого фермента биосинтеза фенольных соединений в обработанных СК зеленых проростках ячменя после воздействия на них патогенной инфекции как отдельно, так и в сочетании с гипертермией показало, что активность ФАЛ была ниже контрольного уровня в инфицированных растениях и не зависела от действия СК (рис. 5). По-видимому, обработка экзогенной СК создает ее избыток в растении, что может неблагоприятно сказываться на ростовых процессах растений. При этом, вероятно, активируются регуляторные механизмы, приводящие к торможению биосинтеза эндогенной СК (путем ингибирования ФАЛ через снижение ее активности), участвующей в образовании ее предшественника.

Заключение. В ходе изучения действия экзогенной СК на рост и развитие инфицированных *B. sorokiniana* зеленых проростков ячменя получены данные о ростстимулирующем влиянии СК

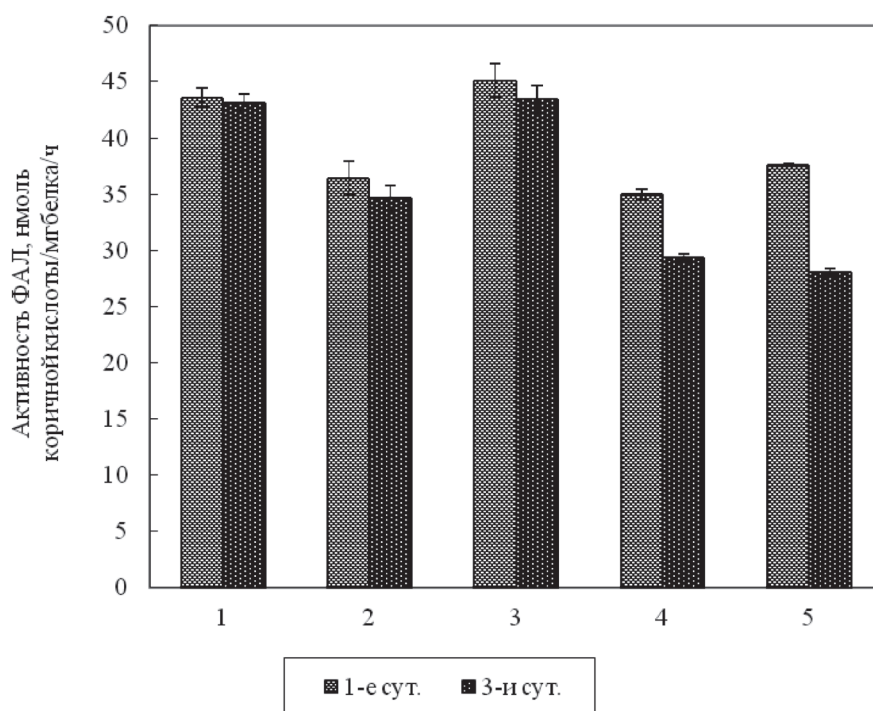


Рис. 5. Влияние СК на активность ФАЛ в проростках ячменя в условиях гипертермии и заражения патогенным грибом *B. Sorokiniana* (1 – контроль; 2 – *B. sorokiniana*; 3 – СК; 4 – *B. sorokiniana* + ТШ; 5 – *B. sorokiniana* + ТШ + СК)

как на надземную, так и на подземную части проростков ячменя, инфицированных патогенным грибом в условиях оптимальной температуры и гипертермии. Предобработка растений ячменя СК оказывает защитный эффект на пигментный аппарат инфицированных растений, предотвращая снижение содержания фотосинтетических пигментов, вызванное патогенной инфекцией, путем увеличения их количества в тканях листа. Анализ действия патогенной инфекции на функциональную активность фотосинтетического аппарата проростков ячменя выявил нарушение эффективности протекания фотохимических реакций в реакционных центрах ФС 2, обусловленное снижением максимальной и вариабельной флуоресценции Хл. Положительное действие СК в условиях биотического стресса, вызываемого патогеном *B. sorokiniana*, проявлялось в нормализации функционирования фотосинтетического аппарата. Об этом свидетельствуют данные РАМ-флуориметрии, из которых видно, что предобработка проростков ячменя СК способствовала повышению уровня максимальной флуоресценции в инфицированных проростках ячменя почти до значений контрольного варианта. СК способствует также восстановлению нарушенной патогеном функциональной активности ФС 2 хлоропластных мембран в условиях совместного действия биотического и абиотического факторов. Данный результат указывает на защитную роль СК в поддержании стабильности фотосинтетических мембран, что обеспечивает нормальное протекание фотохимических реакций ФС 2 в инфицированных проростках ячменя.

Исследование действия СК на окислительный статус растений ячменя в условиях биотического стресса выявило увеличение общей активности клеточных пероксидаз, играющих важную роль в защите от окислительного стресса. Существенное повышение активности этой полифункциональной ферментной системы, осуществляющей детоксикацию АФК, судя по всему, способствовало тому, что в условиях патогенной инфекции содержание пероксида водорода и продуктов пероксидного окисления липидов клеточных мембран растений не превышало контрольный уровень. Можно предположить, что именно пероксидаза определяет степень устойчивости растений к фитопатогену в данных условиях.

Предобработка растений ячменя СК, инфицированных затем фитопатогенным грибом как на фоне ТШ, так и без него приводила к существенному росту (на 73 и 66 % соответственно) активности НАДФН-оксидазы, ключевого фермента НАДФН-оксидазной сигнальной системы в развитии окислительного стресса. Однако такой резкий всплеск активности фермента не приводил

к усилению процессов ПОЛ, что, по-видимому, можно объяснить увеличением активности пероксидазы, подавляющей генерацию пероксида водорода.

Таким образом, установлено, что салициловая кислота положительно влияет на устойчивость зеленых проростков ячменя (*Hordeum vulgare* L.) при совместном воздействии на них патогенной инфекции *Bipolaris sorokiniana* и гипертермии. Это выражается в нормализации функционирования фотосинтетического аппарата, снижении процессов пероксидного окисления липидов клеточных мембран, повышении пула H₂O₂, участвующей в запуске защитных систем клетки, и усилении активности пероксидаз.

Список использованной литературы

1. *Bipolaris sorokiniana*, a cereal pathogen of global concern: cytological and molecular approaches towards better control / J. Kumar [et al.] // Mol. Plant Pathol. – 2002. – Vol. 3, iss. 4. – P. 185–195.
2. Duveiller, E. Pathogenicity of *Bipolaris sorokiniana* isolates from wheat roots, leaves and grains in Mexico / E. Duveiller, G. Altamirano // Plant Pathol. – 2000. – Vol. 49, iss. 2. – P. 235–242.
3. Яруллина, Л. Г. Клеточные механизмы формирования устойчивости растений к грибным патогенам / Л. Г. Яруллина, Р. И. Ибрагимов. – Уфа: Гилем, 2006. – 228 с.
4. Горовой, Л. Ф. Системная индуцированная устойчивость растений и препарат нового поколения биофунгицид «Микосан» / Л. Ф. Горовой // Посібник укр. хлібороба. – 2012. – № 1. – С. 178–186.
5. Содержание салициловой кислоты в листьях проростков озимой пшеницы различной устойчивости к фитопатогенам / Л. А. Крючкова [и др.] // Физиол. и биохим. культур. раст. – 2006. – Т. 38, № 1. – С. 45–52.
6. Alvarez, M. A. Salicylic acid in machinery of hypersensitive cell death and disease resistance / M. A. Alvarez // Plant Mol. Biol. – 2000. – Vol. 44, iss. 3. – P. 429–442.
7. Salicylic acid mediated by the oxidative burst is a key molecule in local and systemic responses of cotton challenged by an avirulent race of *Xanthomonas campestris* pv *malvacearum* / C. Martinez [et al.] // Plant Physiol. – 2000. – Vol. 122, N 3. – P. 757–766.
8. Шлык, А. А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев. / А. А. Шлык // Биохимические методы в физиологии растений. – М.: Наука, 1971. – С. 154–170.
9. A highly sensitive fluorescent micro-assay of H₂O₂ release from activated human leukocytes using a dehydroxyphenoxazine derivative / J. G. Mohanty [et al.] // J. Immunol. Meth. – 1997. – Vol. 202, N 2. – P. 133–141.
10. Гавриленко, В. Ф. Большой практикум по физиологии растений / В. Ф. Гавриленко, М. Е. Ладыгина, Л. М. Хандобина. – М.: Высш. школа, 1975. – 392 с.
11. Продукты перекисного окисления липидов как возможные посредники между воздействием повышенной температуры и развитием стресс-реакции у растений / Л. Н. Курганова [и др.] // Физиол. раст. – 1999. – Т. 46, № 2. – С. 218–222.
12. Pinton, R. Zinc deficiency enhanced NAD(P)H-dependent superoxide radical production in plasma membrane vesicles isolated from roots of bean plants / R. Pinton, I. Cakmak, H. Marschner // J. Exp. Bot. – 1994. – Vol. 45, N 1. – P. 45–50.
13. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry [et al.] // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, N 2. – P. 265–275.
14. Первичный и вторичный метаболизм озимой пшеницы при холодовом закаливании и действии антиоксидантов / Н. А. Олениченко [и др.] // Прикл. биохим. и микробиол. – 2008. – Т. 44, № 5. – С. 523–529.
15. Корнеев, Д. Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла / Д. Ю. Корнеев. – Киев: Альтерпресс, 2002. – 188 с.
16. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. – Минск: Высш. школа, 1973. – 2-е изд. – 328 с.
17. Тарчевский, И. А. Сигнальные системы клеток растений / И. А. Тарчевский. – М.: Наука, 2002. – 294 с.
18. Chen, Z. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid / Z. Chen, H. Silva, D. F. Klessing // Science. – 1993. – Vol. 262, N 12. – P. 1883–1886.
19. Колупаев, Ю. Е. Активные формы кислорода как посредники в индуцировании теплоустойчивости проростков пшеницы салициловой кислотой / Ю. Е. Колупаев, Ю. В. Карпец // Физиол. и биохим. культур. раст. – 2007. – Т. 39, № 3. – С. 242–248.
20. Барабой, В. А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов / В. А. Барабой // Успехи совр. биол. – 1991. – Т. 111, вып. 6. – С. 923–932.
21. Sagi, M. Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases / M. Sagi, R. Fluhr // Plant Physiol. – 2006. – Vol. 141, N 2. – P. 336–340.
22. Wang, L. Salicylic acid-induced heat or cold tolerance in relation to Ca²⁺ homeostasis and antioxidant systems in young grape plants / L.-J. Wang, S.-L. Li // Plant Sci. – 2006. – Vol. 170, iss. 4. – P. 685–694.
23. Salicylic acid mediated by the oxidative burst is a key molecule in local and systemic responses of cotton challenged by an avirulent race of *Xanthomonas campestris* pv *malvacearum* / C. Martinez [et al.] // Plant Physiol. – 2000. – Vol. 122, N 3. – P. 757–766.

Поступила в редакцию 24.12.2016