

«»

УДК:632.939

ВЛИЯНИЕ ИСКУССТВЕННОГО ЗАРАЖЕНИЯ ФУЗАРИОЗОМ В СОЧЕТАНИИ С ОБРАБОТКОЙ РЕГУЛЯТОРАМИ РОСТА РАСТЕНИЙ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ОВСА

О.Б. Поливанова¹, С.К. Темирбекова^{2*}, К.Н. Тюрин¹, Е.А. Калашникова¹, Ю.В. Афанасьева³, А.Д. Кабашов⁴, А.С. Колупаева⁴, И.И. Сардарова²

¹РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия; ²ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, Московская область, Россия; ³ФГБНУ Федеральный научный селекционно-технологический центр садоводства и питомниководства, Москва, Россия;

⁴ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Немчиновка», Московская область, Россия

*Эл. почта: sul20@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 24.10.2022; принята к печати 02.12.2022

Регуляторы роста растений могут стимулировать антиоксидантную защиту при стрессах, в том числе при воздействии патогенов. На рынке появляется множество регуляторов роста природного происхождения, но научные данные об их эффективности отсутствуют. В этой работе рассмотрено влияние распространенных в России препаратов Крезацин и Циркон на антиоксидантную систему проростков овса, полученных от растений после искусственного заражения *Fusarium culmorum*. У растений после обработки Крезацином увеличились уровни неферментативных антиоксидантов, таких как фенольные соединения и флавоноиды, а также пролина и низкомолекулярных сахаридов. При обработке препаратом Циркон наблюдалось уменьшение уровней пролина, сахаров и суммарной антиоксидантной активности, а по содержанию фенолов и флавоноидов существенных различий не было. Обработка Крезацином приводила к снижению активности пероксидазы, а активности каталазы и аскорбатпероксидазы не отличалась от контроля. Таким образом, Крезацин влияет преимущественно на неферментативные системы антиоксидантной защиты, в целом увеличивает продуктивность растений овса и более эффективен по сравнению с препаратом Циркон, который заметной эффективности не продемонстрировал.

Ключевые слова: овес, регуляторы роста, антиоксидантная система, *Fusarium culmorum*.

THE EFFECTS OF ARTIFICIAL INFECTING WITH FUZARIUM SPP. COMBINED WITH TREATMENT WITH PLANT GROWTH ENHANCERS ON THE ANTIOXIDANT DEFENSES AND PRODUCTIVITY OF OAT

O.B. Polivanova¹, S.K. Temirbekova^{2*}, K.N. Tiurin¹, Ye.A. Kalashnikova¹, Yu.V. Afansyeva³, A.D. Kabashov⁴, A.S. Kolupayeva⁴, I.I. Sardarova²

¹K.A. Timiriazev Moscow Agricultural Academy, Moscow, Russia; ²All-Russian Research Institute of Phytopathology, Moscow Region, Russia; ³Federal Research Center of Breeding Technologies, Gardening, and Nursery Management, Moscow, Russia;

⁴Nemchinovka Federal Research Center, Moscow Region, Russia

Email: sul20@yandex.ru

Plant growth enhancers may stimulate antioxidant defenses upon stresses including infections. Numerous growth enhancers of natural origins are commercially available; however scientific evidence of their effectiveness is lacking. We examined the effects of the preparation Krezacin and Zirkon, which are widely used in Russia, on the antioxidant system of oat seedlings obtained from oat plants after artificial infecting them with *Fusarium culmorum*. Krezacin-treated plants had increased levels of nonenzymatic antioxidants, such as phenols and flavonoids, and of proline and low molecular saccharides. Zirkon, on the contrary, decreased the levels of proline, saccharides and total antioxidant activity, there being no differences from the effects of Krezacin as to phenols and flavonoids levels. Treatment with Krezacin reduced peroxidase activity, the activities of catalase and ascorbate peroxidase being not significantly different from the control values. Thus, Krezacin influenced predominantly the nonenzymatic antioxidant defences and, on the whole, enhances oat productivity and is more effective than Zirkon, which was not noticeably active.

Keywords: oat, plant growth enhancers, antioxidant system, *Fusarium culmorum*.

1. Введение

Генерация активных форм кислорода (АФК) является обычным явлением, связанным с нормальным клеточным метаболизмом растений. К АФК относят как молекулы, не являющиеся к свободным радикалам, такие как пероксид водорода (H₂O₂) и синглетный кислород (O₂), так и свободные радикалы – супероксид-анион и гидроксильный радикал [1]. АФК также выполняют сигнальные функции в организме растений. Однако химические особенности делают АФК потенциально вредными для клеточных компонентов. Избыточное образование АФК может привести к инактивации белков, разрушению мембран и повреждению ДНК. Растения, как и другие аэробные организмы, используют эффективные механизмы удаления АФК, которые включают ферментные и неферментативные химические антиоксидантные системы. Ферменты, такие как супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза играют важную роль в поддержании окислительно-восстановительного баланса и защитной реакции у растений, подвергающихся абиотическим и биотическим стрессам [2-5]. Основные неферментативные растительные антиоксиданты – аскорбиновая кислота, токоферол, каротиноиды и многообразные фенольные соединения [48].

Индукция систем защиты от АФК может быть вызвана гиперпродукцией производных АФК, что обычно происходит при различных биотических и абиотических стрессах. Производство АФК является частью реакции растений на атаку патогенов. Роль АФК при проникновении патогена в клетку связана с тем, что они могут непосредственно укреплять клетку хозяина за счет поперечного связывания гликопротеинов в мембране [6]. АФК являются важными сигналами, опосредующими активацию защитных генов [49].

В ответ на атаку патогенов и избыточное производство АФК наблюдается увеличение биосинтеза фенольных соединений и других неферментативных антиоксидантов в организме растения [7, 9]. Синтез специфических фенольных соединений может быть вызван контактом возбудителя с хозяином. Например, когда *Fusarium* поражает корни ячменя, происходит секреция синтезированной de novo коричной кислоты [10]. Антиоксидантные фенолы, присутствующие в зернах злаков, модулируют выработку микотоксинов *F. graminearum*; некоторые соединения увеличивают выработку токсинов, а некоторые снижают ее, что свидетельствует о структурно-зависимых сигналах [11]. Таким образом, фенольные

соединения активно вовлечены во взаимодействия растений и грибных патогенов как сигнальные молекулы. Несмотря на то, что фенольные соединения в большей степени связаны с реакцией растения на бактериальные инфекции и насекомых, они также обладают антифунгальной активностью. Коричная, бензойная, салициловая кислоты, тимол и дигидроксibenзальдегиды в концентрации 5 мМ ингибировали рост некоторых видов *Candida* и больше, чем на 90 %. Эффективными были комбинации фенолов и противогрибковых средств [12].

В ходе стресса растения также вырабатывают различные осмопротекторы. Среди них агрегация пролина при осмотическом стрессе наблюдается у различных видов высших растений. Кроме того, пролин участвует в стабилизации мембран и белков, задействован в удалении свободных радикалов и способен усиливать активность различных ферментов [13, 14].

Растворимые сахара играют ключевую роль в развитии и обмене веществ растений, поэтому их содержание значительно изменяться при заражении и взаимодействии растения с патогенами. Растворимые сахара в клетках растения-хозяина прежде всего являются источником углерода для патогена [15, 16]. Было показано, что сахароза индуцирует защитные механизмы в инфицированных клетках. Гексоза посредством передачи сигнала гексокиназой увеличивает продукцию пероксидаз и белков, непосредственно связанных с патогенозом [17, 18]. Растворимые сахара, как соединения с более высоким осмотическим потенциалом, ограничивают распространение инфекции внутри организма растения. Более того, они изолируют здоровые клетки от инфицированных и защищают их от потери воды [19].

Овес (*Avena sativa* L.) широко культивируется во всем мире, особенно в северной Европе, как зерновая и кормовая культура [20], но крайне подвержен грибным инфекциям. Среди них – фузариозная гниль, широко поражающая злаки в северных странах. Чаще всего фузариозная гниль ассоциирована с такими патогенами, как *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. poae* [21]. Поражение фузариозной гнилью злаков, в частности овса, вызывает существенные экономические потери, а также приводит к заболеваниям людей и животных [22]. В связи с этим, необходимы безопасные и эффективные подходы к контролю распространения фузариозной гнили и борьбы с ней.

Регуляторы роста растений являются важными компонентами сельскохозяйственного производства, так как обладают огромным потенциалом для повышения продуктивности растений. Они просты в применении, зачастую имеют низкую стоимость и подходят для многих сельскохозяйственных культур, так как их действие не является видоспецифичным [23]. Многие из имеющихся в настоящее время в продаже стимуляторов роста получены из натуральных источников (например, экстракт бурых водорослей, гуминовые вещества или белковые гидролизаты), что позволяет рассматривать их как безопасные для окружающей среды. Коммерчески доступный регулятор роста Циркон представляет собой смесь гидроксикоричных кислот. Согласно заявлению производителя, данный регулятор роста увеличивает всхожесть семян, ускоряет цветение, рост и развитие растений и способствует увеличению урожайности на 35-50 %. Доступны данные о стимулирующем действии коричных кислот на рост и развитие растений. Так обработка корней арабидопсидиса-коричной кислотой в низких концентрациях стимулировала рост и деление клеток [23]. Также установлено, что феруловая и кофейная кислоты обладают стимулирующими свойствами за счет ауксиноподобного действия [24].

Tris(2-hydroxyethyl)ammonium 2-methylphe- похуасетат (cresacin, trescresan) был синтезирован в 90-х годах 20 века в Фаворском институте химии (Иркутск). Согласно заявлению производителя, данное вещество является доступным и эффективным, низкотоксичным и экологически безопасным стимулятором роста и продуктивности сельскохозяйственных растений [25].

Обработка регуляторами роста может оказывать влияние на взаимодействия растения и патогена с вовлечением механизмов окислительного стресса. Целью данного исследования было изучение влияния обработки регуляторами роста крезацин и циркон на концентрацию неферментативных антиоксидантов и ферментов антиоксидантной защиты в проростках овса после искусственного заражения *F. culmorum*.

2. Материалы и методы

Исследования проводились в полевых условиях в 2019-2020 гг. на опытном поле ВНИИФ. Объектами исследования были сорта овса Буланый (Московский НИИСХ «Немчиновка») и Голозерный №7 (МОВИР). Почвы опытного участка дерново-подзолистые, тяжелосуглинистые. Хорошо выражен подзолистый горизонт. Подстилаящая порода – моренный суглинок, эрозийные процессы слабые. Содержание гумуса 2,5-3,2 % (по Тюрину), подвижного P₂O₅ (по Кирсанову) – 12-18 мг на 100 г почвы, обменного K₂O (по Маслову) – 15-23 мг на 100 г почвы, pH солевой вытяжки – 5,6-7,0. Климат умеренно влажный, умеренно континентальный. Среднемесячное количество осадков за вегетационный период составляет 264 мм. Гидротермический коэффициент равен 1,3-1,1. Полевые опыты заложены в 3-х кратной повторности. Агротехника общепринятая. Внутреннюю заселенность зерна *Fusarium culmorum* определяли по Семенов А.Я. и др. (1980).

Для заражения был использован штамм *Fusarium culmorum* (W.G.Sm) Sacc. M-2-3, выделенный из ячменя в 2005 г. в Московской области сотрудниками лаборатории микологии ВНИИ фитопатологии. Чистая культура фитопатогенных грибов длительно хранилась в холодильнике при температуре +4°C. Обработку суспензией гриба и регуляторами роста производили в фазу цветения, колошения, а также в фазу колошения и цветения в сухую безветренную погоду. Концентрация Крезацина в опыте составила 30 мг/л, а Циркона – 10 мг/л. Контрольные образцы были обработаны суспензией гриба без регуляторов роста. Концентрации были выбраны в соответствии с рекомендациями производителя. После обработки оценивались масса 1000 семян и урожай (г/м³). Также была произведена визуальная оценка зерна на инфицированность грибами рода *Fusarium spp.*

Семена от обработанных в поле растений проращивали на чашках Петри в течение 7 дней. Растительный материал лиофильно высушивали при –80°C и давлении 7 м Торр в течении 24 часов, измельчали в ступке и экстрагировали 80% спиртом при соотношении растительный материал:экстрагент 1:100. Полученные вытяжки лиофильно высушивали и использовали для анализа, экстрагируя биологически активные вещества (БАВ), содержащиеся в полученном лиофилизате, подходящим для анализа растовителем.

Содержание свободного пролина определяли с использованием кислого нингидринового реактива, приготовленного без нагревания (1,25 г нингидрата + 30 мл ледяной уксусной кислоты + 20 мл 6 М H₃PO₄). Навеску 200 мг заливали 5 мл дистиллированной воды и выдерживали в течение 10 минут при 100°C. Затем в чистую пробирку заливали 2 мл ледяной уксусной кислоты, 2 мл нингидринового реактива и добавляли 2 мл приготовленного экстракта. Пробу инкубировали в течение 20 мин при 100°C, после чего быстро охлаждали до комнатной температуры. После охлаждения измеряли оптическую плотность продуктов реакции при длине волны 520 нм на спектрофотометре. Содержания пролина определяли по калибровочной кривой, построенной с чистым пролином («Sigma») [26].

Для определения содержания низкомолекулярных фруктоз в 99,5 мкл спиртового экстракта вносили 0,5 мкл 25% NaOH, через 10 минут центрифугировали при 3000 об/мин 3 минуты. 50 мкл супрнатанта смешивали с 1 мл резорцинового реактива (2 мг/мл резорцина в смеси 96% спирта и конц. HCl в соотношении 1:1), выдерживали 30 минут при температуре 80°C, затем доводили водой до 10 мл. Оптическую плотность измеряли при 480 нм на спектрофотометре. Фенольные соединений определяли по [27], флавоноиды – по [28]. Антиоксидантную активность спиртовых экстрактов измеряли по Oyaizu [29].

Для оценки активностей каталазы (САТ), аскорбатпероксидазы (АРХ) и пероксидазы (РОХ) навески гипокотелей с первым настоящим листом (150-200 мг) гомогенизировали отдельно в 2 мл 50 мМ K₂Na-фосфатного буфера (pH 7,8) и в 2 мл 0,2 М Na-ацетатного буфера (pH 5,0). Полученные гомогенаты центрифугировали при 12000 g с охлаждением 5 минут, супернатанты хранили до анализа при 4°C. Активность каталазы определяли

по [49], аскорбатпероксидазы – по [31], пероксидазы – по [32]. Содержание белка определяли по окраске Brilliant Blue G250 [30]. Ферментативные активности рассчитывали на 1 г белка.

Результаты выражали как среднее значение ± доверительный интервал в трех повторностях. Для определения значимости различий ($P < 0,05$) использовали дисперсионный анализ, который выполняли с помощью MS Excel и Statistica.

3. Результаты и обсуждения

3.1 Оценка урожайности и массы 1000 семян после искусственного заражения *Fusarium* и обработки регуляторами роста

Fusarium spp. являются распространёнными патогенами зерновых, вызывающих широкий спектр заболеваний на всех стадиях развития растения, среди которых преобладает фузариозная гниль [33]. В Северной Европе наиболее распространёнными видами *Fusarium* являются *F. avenaceum*, *F. tricinatum*, *F. poae*, *F. culmorum* and *F. graminearum* [34].

Обработка растений одновременно и препаратом, и суспензией гриба улучшило структуру урожая у всех культур в сравнении с контролем. Наибольший эффект увеличения массы 1000 зерен и урожая зерна был получен в варианте, где обработка препаратом Крезацин и суспензией гриба проводилась в фазу цветения культуры (табл. 1). Возможно, присутствие патогена стимулирует репродуктивные особенности растения, а регулятор роста усиливает биохимические процессы в растениях и способствует преодолению инфекционного стресса.

Табл. 1.

Масса 1000 зёрен и урожайность овса плёнчатого сорта Буланый и голозерного овса Линия №7 после искусственного заражения *Fusarium* и обработки регуляторами роста, среднее за 2019-2020 гг., ОПИ Раменки

Вариант опыта	Буланый, плечатый овес		Линия №7, голозерный овес	
	Масса 1000 зёрен, г	Урожай, г/м ²	Масса 1000 зёрен, г	Урожай, г/м ²
Контроль	40,7	350	21,1	110
Крезацин	42,1	450	20,7	135
Циркон	40,0	440	19,8	115
<i>Fusarium</i> spp. (патоген)	38,9	350	17,3	85
Патоген+Крезацин, фаза колошения	39,2	320	20,8	140
Патоген+Крезацин, фаза колошения и цветения	38,0	280	21,9	120
Патоген+Крезацин, фаза цветения	43,9	520	24,1	210
Патоген+Циркон, фаза колошения	38,7	370	23,4	130
Патоген+Циркон, фаза колошения и цветения	37,0	300	21,5	100
Патоген+Циркон, фаза цветения	43,8	500	22,4	170
НСР ₀₅	Масса 1000 семян 0,8			
	Урожай 20			

Табл. 2.

Внутренняя заселенность зерна грибом *F. culmorum* после уборки урожая, % (среднее за 2019-2020 гг.)

Вариант опыта	Название сорта	
	Буланый (плечатый)	Голозерный №7
	Заселенность зерна <i>F. culmorum</i>	
Контроль	88,0	95,0
Крезацин	65,0	77,0
Циркон	77,0	85,0
Фузариум	90,0	97,0
	Фаза цветения	
Циркон+фузариум	45,0	55,0
Крезацин+фузариум	30,0	41,0
	Фаза колошения и цветения	
Циркон+фузариум	63,0	79,0
Крезацин+фузариум	51,0	69,0
	Фаза колошения	
Циркон+фузариум	63,79	79,0
Крезацин+фузариум	51,69	69,0

По визуальной оценке, инфицированность зерна грибами рода *Fusarium*, в контрольном варианте составила до 20%. Результаты исследований наличия внутренней инфекции в зернах показали, что применение препаратов приводило к снижению доли зараженных зерен в сравнении с контролем (табл. 2). Применение препарата Крезацин способствует большей устойчивости растений к болезни по сравнению с применением Циркона.

Показано, что обработка посевов овса сортов Буланый и голозерный №7 препаратами Крезацин и Циркон способствуют адаптации растений к действию патогена, что приводит к снижению инфицированности зерна и способствует получению урожая с хорошим качеством зерна. Наиболее эффективным является обработка растений в фазу цветения препаратом Крезацин, что подтверждается с ранее полученными данными [35].

Другие результаты, полученные при искусственном заражении в полевых условиях, демонстрируют, что самые высокие показатели заражения зерна, а также самый низкий процент всхожести наблюдались при инокуляции овса сорта Монтон во время цветения. Было показано, что гриб проникал в первую очередь через верхушку цветка в полость цветка, где инфекция могла развиваться через внутренние поверхности цветковых чешуек и зерновок [36]. При этом оценка урожайности и массы 1000 семян не производилась.

Инфекция грибами рода *Fusarium* влияет и на биохимические показатели, связанные с качеством зёрен. Так, инокуляция *Fusarium* spp. вызывала значимое снижение содержания крахмала, олеиновой, линолевой и α-линоленовой кислот в зерне овса при сравнении с контролем. При этом содержание β-D-глюкозана, общих пищевых волокон, общих липидов, пальмитиновой, стеариновой и цис-вакциновой кислот не отличалось от контроля [37].

3.2 Определение содержания пролина

На воздействие патогена растительная клетка быстро реагирует, экспрессируя гены, кодирующие белки, связанные с клеточной стенкой. В ответ на проникновение инфекции происходит быстрое укрепление клеточной стенки за счет перевода в нерастворимую форму и окислительного сшивания экстензинов – белков, богатых пролином [38]. Накопление свободного пролина в листьях растений является неспецифической реакцией растений на стресс (вода, температура, высокая концентрация солей в почве, загрязнение воздуха) и на заражение грибными возбудителями [26].

Результаты определения содержания свободного пролина в проростках овса, полученных из семян растений после обработки регуляторами роста, представлены на рис. 1.

Увеличение содержания пролина, отмеченное у семян, полученных от растений, обработанных Крезацином, составило 0,16 мкг/мг. У проростков, полученных после обработки исходных растений Цирконом, содержание свободного пролина составило 0,08 мкг/мг, что сопоставимо с контролем.

Доступны данные, показывающие, что при заражении грибными патогенами наблюдается увеличение содержания свободного пролина и других свободных аминокислот у злаков. Накопление свободных аминокислот увеличивалось на 30-50 % при сравнении с контролем при обработке пшеницы спорами *F. culmorum*. Обработка биостимуляторами также способствовала увеличению концентрации пролина и других аминокислот, но в меньшей степени (3-33 %) [39].

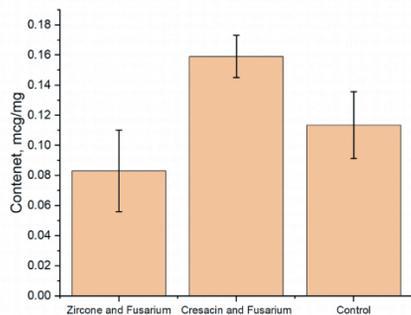


Рис. 1. Содержание пролина в проростках овса после обработки регуляторами роста и искусственного заражения *Fusarium*.

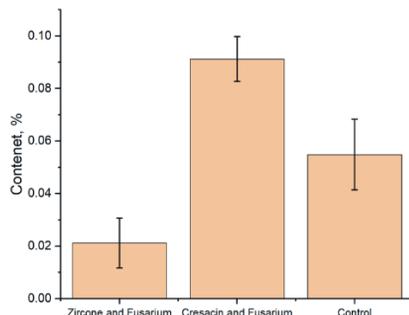


Рис. 2. Содержание низкомолекулярных фруктоз в проростках овса после обработки регуляторами роста и искусственного заражения *Fusarium*.

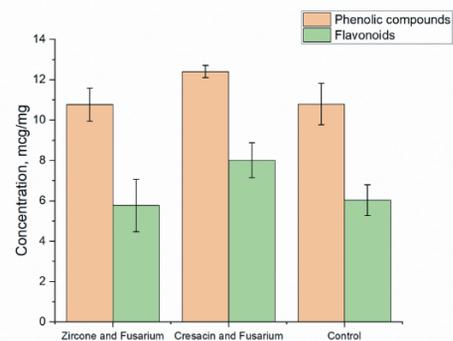


Рис. 4. Содержание фенолов и флавоноидов в проростках овса после обработки регуляторами роста и искусственного заражения *Fusarium*.

3.3 Определение содержания низкомолекулярных фруктоз

Растворимые сахара, такие как дисахариды, олигосахариды семейства раффиноз и фруктаны, наряду с ассоциированными с ними метаболическими ферментами, тесно связаны со стресс-индуцированным усилением продукции АФК в растениях, в том числе и в ответ на воздействие патогенов [40]. Результаты определения содержания низкомолекулярных фруктоз представлены на рис. 2. Статически значимые отличия от контроля обнаружены в обоих вариантах обработки растений. В проростках, полученных от растений, обработанных Крезацином совместно с *Fusarium*, было отмечено увеличение относительно контроля на 66,3%, а в растениях от проростков, обработанных цирконом совместно с *Fusarium* – уменьшение на 61,6%.

Некоторые исследования показывают, что сахара задействованы в инициации защитных реакций в ответ на воздействие абиотических и биотических факторов [41]. Сахара являются источником энергии для защитных реакций против патогенов, обеспечивают углеродный скелет для синтеза вторичных метаболитов (флавоноиды, стильбены и лигнины) [42] и играют роль сигнальных молекул (сахароза, глюкоза, фруктоза и трегалоза), индуцирующих в клетках растений-хозяев экспрессию защитных генов [43]. Высокий уровень сахаров в тканях растений усиливает иммунный ответ растений против грибковых патогенов. Сахара, вероятно, функционируют как праймирующие молекулы иммунитета, запускаемого патоген-ассоциированным молекулярным паттерном (pathogen-associated molecular pattern - PAMP), иммунитета, запускаемого эффектором (effector-triggered immunity ETI) у растений [44, 45].

Увеличение концентрации сахаров в ответ на заражение *Fusarium* в сочетании с обработкой регулятором роста Крезацин может указывать на стимулирующий эффект этого препарата, в том числе на усиление иммунного ответа, обусловленного сахарами.

3.4 Определение содержания фенольных соединений и флавоноидов

Фенольные соединения активно исследуются с точки зрения их вовлеченности в защитные механизмы растений от патогенов, включая бактерии, грибы и вирусы, а также от основных абиотических стрессов, таких как засуха, засоление и ультрафиолетовое излучение. Фенольное соединение обладает противомикробными и антиоксидантными свойствами, что помогает растению избегать инфекций, а также защищает основные ткани от токсического действия активных форм кислорода. В ответ на стресс окружающей среды можно наблюдать быструю активацию генов фенилпропановидного пути и накопление фенолов [46].

На рис. 4 представлены данные по количественному содержанию фенольных соединений и флавоноидов в проростках овса после обработки регуляторами роста Крезацин и Циркон в сочетании с искусственным заражением *Fusarium*. Увеличение содержание фенольных соединений и флавоноидов при сравнении с контролем отмечено у образцов, обработанных Крезацином. У образцов, обработанных цирконом, существенные отличия от контроля не выявлены.

3.5 Определение антиоксидантной активности

Результаты определения антиоксидантной активности представлены на рис. 4.

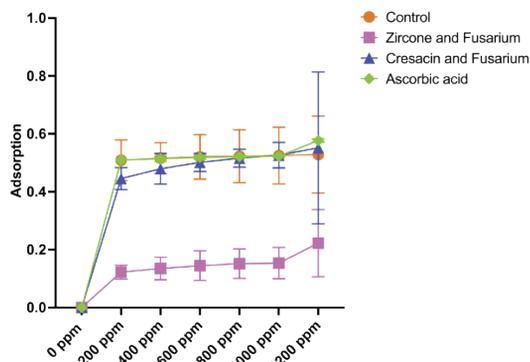


Рис. 4. Результаты определения суммарного содержания антиоксидантов в проростках овса при различных вариантах обработки.

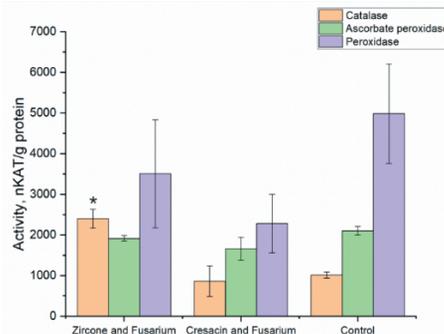


Рис. 5. Активность ферментов в проростках овса после обработки регуляторами роста и искусственного заражения *Fusarium*.

Наименьшая антиоксидантная активность была у экстрактов проростков растений, обработанных Цирконом и *Fusarium*. Содержание антиоксидантов в пересчете на аскорбиновую кислоту уменьшилось относительно контроля в среднем 50,6%.

Форма кривой не меняется в зависимости от концентрации БАВ, что говорит о достоверности результатов, так как коэффициент внутренней корреляции в среднем равен 0,99. Наиболее статистически различимые результаты получены при концентрации экстракта 600 ppm и 800 ppm. В образцах, полученных от растений после обработки Крезацином, существенные отличия от контроля не выявлены.

3.6 Определение активности ферментов антиоксидантной защиты

Взаимодействие патогенов с растительной клеткой вызывает генерацию АФК и активацию ферментативных систем антиоксидантной защиты. Отмечено, что при взаимодействии с патогенами у растений увеличивается активность САТ, АРС, АРХ и других ферментов [47]. На рис. 5 показаны результаты определения активности ключевых ферментов антиоксидантной защиты в проростках овса в ответ на искусственное заражение *Fusarium* в сочетании с обработкой регуляторами роста Крезацин и Циркон.

Наблюдалось увеличение активности каталазы в проростках растений, обработанных Цирконом. В проростках растений, обработанных Крезацином, существенных отличий от контроля не было.

В активности аскорбатпероксидазы существенных различий между вариантами выявлено не было. У проростков после обработки Крезацином наблюдалось снижение активности пероксидазы по сравнению с контролем.

4. Заключение

Регуляторы роста растений, полученные из натуральных источников, имеют преимущество перед искусственно синтезированными с точки зрения безопасности для окружающей среды. Применение этих препаратов может быть перспективно не только для увеличения продуктивности сельскохозяйственных культур, но и для стимуляции механизмов устойчивости против патогенов. На территории России широко применяются регуляторы роста Крезацин и Циркон. Однако данные, подтверждающие их эффективность недостаточны. В данной работе рассматривается влияние Крезацина и Циркона в сочетании с искусственным заражением *F. culmorum* на системы антиоксидантной защиты проростков овса, полученных от обработанных растений. Визуальная оценка на инфицированность грибами рода *Fusarium* показала, что растения, обработанные Крезацином, менее подвержены инфекции. Урожайность и масса 1000 семян при такой обработке были выше, чем в контроле варианта и при обработке Цирконом. Количественный анализ неферментативных антиоксидантов у проростков, полученных от семян обработанных растений, показал, что при обработке Крезацином содержание пролина и низкомолекулярных фруктоз выше. Известна роль данных веществ в системе защиты растений против патогенов. Вероятно, применение Крезацина усиливает защитную реакцию растений овса в ответ на воздействие патогена. Обработка Цирконом, напротив, была связана со снижением концентрации пролина и низкомолекулярных фруктоз в проростках овса. Содержание фенольных соединений и флавоноидов также было выше в проростках после обработки Крезацином. У проростков после обработки Цирконом в содержании фенольных соединений и флавоноидов существенные различия выявлены не были, однако наблюдалось значительное снижение суммарной антиоксидантной активности. Таким образом, обработка Крезацином стимулирует накопление неферментативных антиоксидантов у проростков растений, инокулированных *F. culmorum*. У таких растений также снижена активность пероксидазы. При этом активность каталазы и аскорбатпероксидазы оставалась на одном уровне с контролем. Исходя из этого, можно предположить, что Крезацин оказывает влияния преимущественно на систему неферментативной антиоксидантной защиты, существенно не затрагивая активность проанализированных ферментов.

Новые коммерчески доступные регуляторы роста оказывают различное влияние на биохимические показатели и продуктивность сельскохозяйственных растений и требуют изучения в сочетании с различными абиотическими и биотическими факторами. Это позволит оценить их эффективность и целесообразность применения более полно.

Финансирование: Это исследование не получало внешнего финансирования.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

1. Das K, Roychoudhury A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Front Environ Sci.* 2014;2:53.
2. ang T, Poovaiah BW. Hydrogen peroxide homeostasis: Activation of plant catalase by calcium/calmodulin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99: 4097-102.
3. Madadkhah E, Lotfi M, Nabipour A, Rahmanpour S, Banihashemi Z, Shoorooei M. Enzymatic activities in roots of melon genotypes infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1. *Sci Hortic.* 2012;135:171-6.
4. Wang W, Xia MX, Chen J, Yuan R, Deng FN, Shen F. Gene expression characteristics and regulation mechanisms of superoxide dismutase and its physiological roles in plants under stress. *Biochemistry.* 2016;81:465-80.
5. Gechev TS, Hille J. Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death. *J Cell Biol.* 2005;168:17-20.
6. Torres MA, Jones JD, Dangl JL. Reactive oxygen species signaling in response to pathogens. *Plant Physiol.* 2006;141(2):373-8.
7. Hammerschmidt R. Induced disease resistance: how do induced plants stop pathogens? *Physiol Mol Plant Pathol.* 1999;55:77-84.
8. Stout MJ, Thaler JS, Thomma BPHJ. Plant-mediated interactions between pathogenic microorganisms and herbivorous arthropods. *Annu Rev Entomol.* 2006;51:663-89.
9. Lehmann S, Serrano M, L'Haridon F, Tjamos SE, Metraux J-P. Reactive oxygen species and plant resistance to fungal pathogens. *Phytochemistry.* 2015;112:54-62.
10. Lanoue A, Burlat V, Henkes GJ, Koch I, Schurr U, Rose US. De novo biosynthesis of defense root exudates in response to *Fusarium* attack in barley. *New Phytol.* 2010;185:577-588.
11. Pons N, Pinson-Gadais L, Boutigny AL, Barreau C, Richard-Forget F. Cinnamic-derived acids significantly affect *Fusarium graminearum* growth and in vitro synthesis of type B trichothecenes. *Phytopathology.* 2011;101:929-34.
12. Shalaby S, Horwitz BA. Plant phenolic compounds and oxidative stress: integrated signals in fungal-plant interactions. *Curr Genet.* 2014;61(3): 347-57.
13. Aggarwal M, Sharma S, Kaur N, Pathania D, Bhandhari K, Kaushal N, Kaur R, Singh K, Srivastava A, Nayyar H. Exogenous proline application reduces phytotoxic effects of selenium by minimising oxidative stress and improves growth in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Biol Trace Elem Res.* 2011;140:354-67.
14. Ben Ahmed C, Ben Rouina B, Sensoy S, Boukhriss M, Ben Abdullah F. Exogenous proline effects on photosynthetic performance and antioxidant defense system of young olive tree. *J Agric Food Chem.* 2010;58:4216-222.
15. Herbers K, Takahata Y, Melzer M, Mock H-P, Hajirezaei M, Sonnewald U. Regulation of carbohydrate partitioning during the interaction of potato virus Y with tobacco. *Mol Plant Pathol.* 2000;1:51-9.
16. Pocięcha E, Plazek A, Janowiak F, Dubert F, Kolasinska I, Irla M. Factors contributing to enhanced pink snow mould resistance of winter rye (*Secale cereale* L.) – Pivotal role of crowns. *Physiol Mol Plant Pathol.* 2013;81:54-63.
17. Streuter N, Moerschbacher B, Fischer Y, Noll U, Reisener H. Fructose-2,6-bisphosphate in wheat leaves infected with stem rust. *J Plant Physiol.* 1989;134:254-7.
18. Gaudet DA, Laroche A, Yoshida M. Low temperature-wheat-fungal interactions: A carbohydrate connection. *Physiol Plant.* 1999;106:437-44.
19. Eveland A, Jackson DP. Sugars, signalling, and plant development. *J Exp Bot.* 2012;63:3367-77.
20. Marshall A, Cowan S, Edwards S, Griffiths I, Howarth C, Langdon T, White E. Crops that feed the world 9. Oats – A cereal crop for human and livestock feed with industrial applications. *Food Sec.* 2013;5:13-33.
21. Parry DW, Jenkinson P, McLeod L. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals – A review. *Plant Pathol.* 1995, 44, 207–238.

22. Havrlentová M, Šliková S, Gregusová V, Kováčsová B, Lančaričová A, Nemeček P, Hendrichová J, Hozlár P. The Influence of artificial Fusarium infection on oat grain quality. *Microorganisms*;2021;9:2108. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102108>
23. Steenackers W, El Houari I, Baekelandt A, Witvrouw K, Dhondt S, Leroux O, et al. cis-Cinnamic acid is a natural plant growth-promoting compound. *J Exp Bot.* 2019. doi:10.1093/jxb/erz392
24. Kefeli VI, MK Utjcek.. Phenolic substances and their possible role in plant growth regulation. In: Proc. 9th Int Conf Plant Growth Substances Berlin-Heidelberg; 1976 P. 181-9.
25. Boronkov MG, Gorbalskii VA, D'akov VM. [Crezacin - a new biostimulator of microbiological synthesis]. *Dokl Akad Nauk.* 1999; 369(6):831-2. (In Russ.)
26. Šrobárová A, Pavlová A. Toxicity of secondary metabolites of the fungus *F. culmorum* in relation to resistance of winter wheat cultivars. *Cereal Res Commun.* 2001;29:101-8.
27. Ainsworth EA, Gillespie KM. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nat Protoc* 2007;2(4): 875-7.
28. Horszward A, Andlauer W. Characterisation of bioactive compounds in berry juices by traditional photometric and modern microplate methods. *J Berry Res.* 2011;1:189-199.
29. Oyaizu M. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucoamine. *Jpn J Nutr.* 1986;4:307-15.
30. Kruger NJ. The Bradford method for protein quantitation. In: *The Protein Protocols Handbook*; 2009. P. 17-24.
31. Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 1981;22: 867-80.
32. Попов Т, Нейковская Л. Метод определения пероксидазной активности крови. *Гигиена и санитария.* 1971;10:89-91. [Popov T, Neykovskaya L. Method for determining blood peroxidase activity. *Gigiyena i Sanitariya.* 1971;10:89-91. (in Russ.)].
33. Gilbert J, Tekauz A, Woods SM. Effect of storage on viability of fusarium head blight-affected spring wheat seed. *Plant Disease.* 1997;81:159-62.
34. Yli-Mattila T. Ecology and evolution of toxigenic *Fusarium* species in cereals in northern Europe and Asia. *J Plant Pathol.* 2010;92:7-18.
35. Сардарова ИИ, Калашникова ЕА, Темирбекова СК, Киракосян РН, Глинушкин АП. Влияние регуляторов роста на фитопатогенные грибы рода *Fusarium*. *Аграрная наука.* 2017;2:107-9. [Sardarova II, Kalashnikova YeA, Temirbekova SK, Kirakosian RN, Glinushkin AP. The effect of growth regulators on phytopathogenic fungi of the *Fusarium* genus. *Agrarnaya Nauka.* 2017;2:107-9. (In Russ.)].
36. Tekle S, Dill-Macky R, Skinnes H, Tronsmo AM, Bjørnstad A. Infection process of *Fusarium graminearum* in oats (*Avena sativa* L.). *Eur J Plant Pathol.* 2011;132(3) 431-42.
37. Simon M, Hilker M. Herbivores and pathogens on willow: do they affect each other? *Agric Forest Entomol.* 2003;5:275-84.
38. Rashid A. Defense responses of plant cell wall non-catalytic proteins against pathogens. *Physiol Mol Plant Pathol.* 2016;94:38-6.
39. Iwaniuk P, Lozowicka B, Kaczynski P, Konecki R. Multifactorial wheat response under *Fusarium culmorum*, herbicidal, fungicidal and biostimulator treatments on the biochemical and mycotoxins status of wheat. *J Saudi Soc Agric Sci.* 2021. doi:10.1016/j.jssas.2021.05.01
40. Keunen E, Peshev D, Vangronsveld J, Van den Ende W, Cuypers A. (). Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. *Plant Cell Environ.* 2013;36(7):1242-55.
41. Chen L-Q, Hou B-H, Lalonde S, Takanaga H, Hartung ML, Qu X-Q, Guo W-J, Kim J-G, Underwood W, Chaudhuri B. et al. Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens. *Nature.* 2010;468:527-32.
42. Jeandet P, Vannozzi A, Sobarzo-Sanchez E, Uddin MS, Bru R, Martinez-Marquez A, Clément C, Cordelier S, Manayi A, Nabavi SF. et al. Phytostilbenes as agrochemicals: biosynthesis, bioactivity, metabolic engineering and biotechnology. *Nat Prod Rep.* 2021;28:1282-329.
43. Morkunas I, Narozna D, Nowak W, Samardakiewicz W, Remlein-Starosta D. Cross-talk interactions of sucrose and *Fusarium oxysporum* in the phenyl propanoid pathway and the accumulation and localization of flavonoids in embryo axes of yellow lupine. *J Plant Physiol.* 2011;168:424-33.
44. Morkunas I, Ratajczak L. The role of sugar signaling in plant defense responses against fungal pathogens. *Acta Physiol Plant.* 2014;36:1607-19.
45. Bolouri Moghaddam MR, Van den Ende W. Sugars and plant innate immunity. *J Exp Bot.* 2012;63:3989-98.
46. Kumar S, Abedin MM, Singh AK, Das S. Role of phenolic compounds in plant-defensive mechanisms. In: Lone R, Shuab R, Kamili A. (eds). *Plant Phenolics in Sustainable Agriculture.* Singapore: Springer; 2020. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4890-1_22
47. García-Limones C, Hervás A, Navas-Cortés JA, Jiménez-Díaz RM, Tena M. Induction of an antioxidant enzyme system and other oxidative stress markers associated with compatible and incompatible interactions between chickpea (*Cicer arietinum* L.) and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Physiol Mol Plant Pathol.* 2002;61(6):325-37.
48. Dumanović J, Nepovimova E, Natić M, Kuča K. The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: A concise overview *Front Plant Sci.* 2021.
49. Goth L, A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta.* 1991;196:143-52.