

## ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРАВАСТАТИНА ПРОТИВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ГЕЛЬМИНТОСПОРИОЗА НА ЯРОВОМ ЯЧМЕНЕ

М.И. КАРТАШОВ, Л.Л. ДОРОФЕЕВА, Л.А. ЩЕРБАКОВА, В.Г. ДЖАВАХИЯ

Использование веществ биологического происхождения для борьбы с фитопатогенными микроорганизмами более безопасно для природной среды, потребителей сельхозпродукции и персонала, чем применение химических пестицидов. С помощью лабораторных тестов ранее было показано, что правастатин — ингибитор биосинтеза стероидов, относящийся к классу статинов, способен препятствовать развитию возбудителя гельминтоспориоза злаковых (*Bipolaris sorokiniana*) на проростках ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.). В настоящей работе исследована способность правастатина защищать растения ячменя от этого фитопатогенного гриба в полевых условиях. Перед посадкой в почву семена ярового ячменя (сорт Зазерский 85), естественно инфицированные *B. sorokiniana* (развитие гельминтоспориозной корневой гнили на проростках ячменя при предпосевной фитоэкспертизе составляло 8,9 %, ее распространенность — 36,8 %), замачивали в растворах правастатина (0,05; 0,075 и 0,1 %) или в дистиллированной воде (контроль) в течение 1 сут. Установлено, что такая обработка семян 0,075 и 0,1 % растворами правастатина приводила к сокращению числа растений, пораженных возбудителем гельминтоспориоза, и снижала степень развития болезни. Максимальный защитный эффект достигался при применении правастатина в концентрации 0,1 %. Препарат во всех испытанных концентрациях не оказывал отрицательного действия на полевую всхожесть семян или плотность посева. Незначительный ретардантный эффект в фазу кущения отмечен на делянках, где выращивали растения, семена которых были обработаны 0,1 % раствором правастатина, однако впоследствии опытные растения достигали высоты контрольных. Кроме того, обработка семян 0,1 % раствором увеличивала число продуктивных стеблей в фазу молочно-восковой спелости.

**Ключевые слова:** яровой ячмень, гельминтоспориоз, правастатин.

Использование химических пестицидов позволяет эффективно бороться с фитопатогенными микроорганизмами и значительно снижает потери урожая. Однако, будучи ксенобиотиками, эти препараты могут загрязнять окружающую среду, сельскохозяйственную продукцию и представлять опасность для здоровья человека и животных. Применение веществ биологического происхождения более безопасно для природной среды, потребителей продуктов питания и персонала.

Ранее показано, что такие природные ингибиторы биосинтеза стероидов, как ловастатин и компактин, относящиеся к классу статинов, обладают фунгицидным действием (1-5) и могут быть использованы для защиты растений от фитопатогенов (6). Обнаружена фунгицидная активность препарата правастатина *in vitro* в отношении *Stagonospora nodorum*, *Bipolaris sorokiniana*, *Alternaria tenuissima* и *Colletotrichum atramentarium* (7). Кроме того, в лабораторных экспериментах нами продемонстрировано, что обработка семян ярового ячменя 0,1 % раствором правастатина перед их инокуляцией возбудителем гельминтоспориозной корневой гнили (*B. sorokiniana*) приводит к снижению числа пораженных проростков и ослабляет интенсивность проявления симптомов этого заболевания (8).

Целью настоящей работы стало изучение защитного действия правастатина против возбудителя гельминтоспориозной корневой гнили на яровом ячмене в полевых условиях.

**Методика.** Семена ярового ячменя *Hordeum vulgare* L. восприимчивого сорта Зазерский 85, естественно инфицированные *Bipolaris sorokiniana*, замачивали в растворах правастатина («Hisun Pharmaceuticals», Китай) с концентрацией 0,05; 0,075 и 0,1 % или в дистиллированной воде (контроль) в течение 1 сут из расчета 500 семян на 100 мл. Степень естествен-

ного инфицирования семян патогеном оценивали в лабораторных условиях с помощью рулонного теста (9).

Мелкоделяночный полевой эксперимент (10) проводили на опытном поле Всероссийского НИИ фитопатологии (Московская обл.) в 2009 году на естественном инфекционном фоне. Контрольные и обработанные семена высевали на делянки площадью 1 м<sup>2</sup> по 550 шт. на каждую. Повторность вариантов 3-кратная, размещение делянок рандомизированное.

Учет полевой всхожести осуществляли в фазы 11-13 в соответствии с их описанием (11) по числу всходов на всей площади делянок, учет поражения гельминтоспориозной корневой гнилью — в период окончания кущения (фаза 29) и молочно-восковой спелости (фаза 83). В одном из средних рядков в каждой повторности с участка длиной 0,5 м выкапывали все растения, которые отмывали от почвы. По результатам фитопатологического анализа рассчитывали показатель распространенности (процент пораженных растений) и степень развития болезни. Интенсивность поражения корневой гнилью определяли по 4-балльной шкале ВИЗР (Всероссийский НИИ защиты растений, г. Санкт-Петербург).

Средний показатель степени развития болезни (R, %) рассчитывали по формуле:

$$R = \Sigma(n \times b) / 4N \times 100,$$

где  $n$  — число растений с одинаковым баллом поражения,  $b$  — балл по используемой шкале (от 0 до 4),  $N$  — число проанализированных растений, 4 — максимальный балл поражения.

В сомнительных случаях диагноз, установленный по симптомам, подтверждали микроскопированием (биологический универсальный микроскоп проходящего света Axio Imager A1, «Carl Zeiss AG», Германия) просматривая соскобы с инфицированной ткани сразу либо после инкубирования ее фрагментов в течение 3 сут во влажной камере при температуре 22/18 °С (день/ночь) на фильтровальной бумаге или на 1,5 % картофельно-глюкозном агаре.

Определяли плотность посева в конце кущения (фаза 29) по числу растений на 1 м<sup>2</sup> и в состоянии молочно-восковой спелости (фаза 83) — по числу продуктивных (колосоносных) стеблей на 1 м<sup>2</sup>, а также рассчитывали коэффициент кустистости. Кроме того, измеряли высоту растений и длину корней.

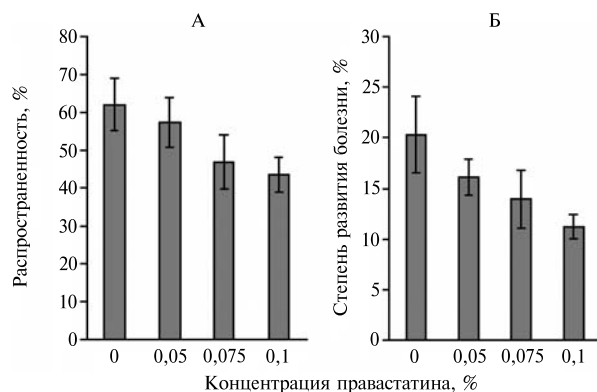
Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica v. 6.0 (StatSoft, Inc.). В таблицах и на диаграммах представлены значения среднего арифметического и стандартной ошибки. Уровень достоверности различий между контролем и результатами, полученными при обработках ( $p$ ), определяли, используя  $t$ -критерий Стьюдента для независимых переменных.

*Результаты.* Предпосевная фитозэкспертиза партии семян, отобранной для испытаний, показала, что степень их инфицирования *B. sorokiniana* была достаточной для проведения полевого эксперимента. Степень развития гельминтоспориозной корневой гнили на проростках ячменя составляла 8,9 %, распространенность — 36,8 %.

Из-за семенной инфекции и дополнительных источников заражения, которыми стали почва и растительные остатки, болезнь активно прогрессировала на вегетирующих контрольных растениях. Уже в фазу кущения степень ее развития достигала 22,0 %, а распространенность превышала 60,0 % и продолжала расти (рис. 1).

Обработка семян различными дозами правастатина приводила к снижению распространенности гельминтоспориозной корневой гнили и

ослаблению симптомов проявления болезни. Так, в конце фазы кушения распространенность гнили на растениях, выросших из обработанных 0,1 %



**Рис. 1.** Распространенность (А) и развитие гельминтоспориозной корневой гнили (возбудитель — *Bipolaris sorokiniana*) (Б) в конце фазы кушения (фаза 29) на растениях ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Зазерский 85 после предпосевной обработки семян правастатином в разных концентрациях (Московская обл., 2009 год).

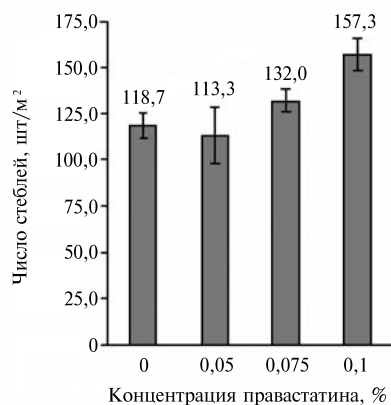
раствором правастатина семян, снижалась на 18,5 %, а степень развития болезни была почти в 2 раза ниже по сравнению с контролем (см. рис. 1).

В фазу молочно-восковой спелости правастатин ограничивал распространение *B. sorokiniana* уже в концентрации 0,05 %, в то время как интенсивность поражения растений патогеном на этой стадии достоверно снижалась только при обработке семян более высокими концентрациями препарата (табл.).

**Развитие гельминтоспориозной корневой гнили (возбудитель — *Bipolaris sorokiniana*) на яровом ячмене (*Hordeum vulgare* L.) сорта Зазерский 85 в фазу молочно-восковой спелости при предпосевной обработке семян раствором правастатина в разных концентрациях (Московская обл., 2009 год)**

Вариант	Концентрация правастатина, %	Распространенность корневой гнили, %	Степень развития болезни, %
Контроль	0	73,7±5,1 <sup>a</sup>	21,0±2,2 <sup>a</sup>
Опыт	0,05	58,5±1,6 <sup>b</sup>	16,7±1,2 <sup>a</sup>
	0,075	53,4±0,5 <sup>b</sup>	14,2±0,4 <sup>b</sup>
	0,1	48,1±4,0 <sup>c</sup>	14,8±0,3 <sup>b</sup>

Примечание. Различия между значениями, отмеченными неодинаковыми латинскими буквами (а, b, c), достоверны при  $p \leq 0,04$  для распространенности болезни и при  $p = 0,05$  — для степени ее развития.



**Рис. 2.** Число колосоносных стеблей у растений ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Зазерский 85 после предпосевной обработки семян раствором правастатина в разных концентрациях (Московская обл., 2009 год).

Ранее было обнаружено, что правастатин в использованных концентрациях не оказывает отрицательного действия на проростки сорта Зазерский 85 (8). Оценка габитуса опытных растений в полевых испытаниях подтвердила, что этот статин не обладает фитотоксичностью в отношении ярового ячменя. Обработка семян различными дозами правастатина не снижала плотность посева и полевую всхожесть культуры. Замачивание семян в 0,1 % растворе препарата на 32,5 % увеличивало число продуктивных стеблей у растений в фазу молочно-восковой спелости по сравнению с контролем (рис. 2). Контакт семян с правастатином в течение 1 сут не задерживал появление всходов и не оказывал существенного влияния на длину корней, высоту надземной

части растений и кустистость.

Незначительный ретардантный эффект был отмечен на делянках,

где растения выращивали из семян, которые обрабатывали 0,1 % раствором правастатина (рис. 3), однако впоследствии этот эффект нивелировался и опытные растения достигали высоты контрольных.

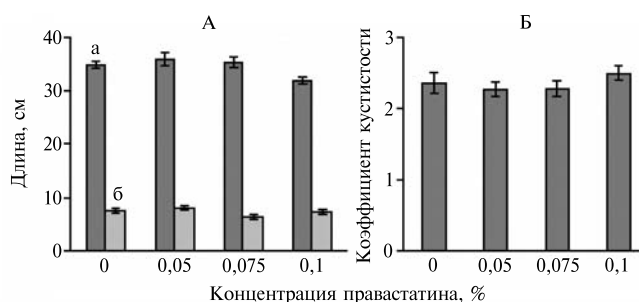


Рис. 3. Длина надземной и подземной части (А) и кустистость (Б) у растений ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Зазерский 85 в конце фазы кущения (фаза 29) после предпосевной обработки семян раствором правастатина в разных концентрациях: а — стебли; б — корни (Московская обл., 2009 год).

Эффект на вегетирующих растениях наблюдался после предпосевной обработки семян 0,1 % раствором правастатина. За исключением некоторого угнетения роста на ранних стадиях вегетации, не было отмечено нежелательного влияния препарата в этой концентрации на развитие ярового ячменя. Как полевая всхожесть обработанных семян, так и основные физиологические параметры выращенных из них растений были сравнимы с контрольными показателями. Установлено, что обработка семян 0,1 % раствором правастатина приводила к увеличению числа продуктивных стеблей. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования статинов для защиты ярового ячменя от возбудителя гельминтоспориоза.

ГНУ Всероссийский НИИ фитопатологии РАСХН,  
143050 Россия, Московская обл., Одинцовский р-н, п/о Большие Вяземы,  
e-mail: kartashov\_m@yahoo.com, dorofeeva.ll@gmail.com, larisa@vniif.ru,  
dzhavakhiya@yahoo.com

Поступила в редакцию  
25 марта 2013 года

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2014, № 3, pp. 108-112

## STUDYING THE ABILITY OF PRAVASTATIN TO PROTECT SPRING BARLEY PLANTS FROM THE HELMINTHOSPORIUM ROOT-ROT

M.I. Kartashov, L.L. Dorofeeva, L.A. Shcherbakova, V.G. Dzhavakhiya

All-Russian Research Institute of Phytopathology, Russian Academy of Agricultural Sciences, p/o Bolshie Vyazemy, Odintsovo Region, Moscow Province, 143050 Russia, e-mail vitaly@vniif.ru, kartashov\_m@yahoo.com, dorofeeva.ll@gmail.com, larisa@vniif.ru, dzhavakhiya@yahoo.com

Received March 25, 2013

doi: 10.15389/agrobiol.2014.3.108eng

### Abstract

Use of natural compounds against phytopathogenic microorganisms instead of chemicals is regarded as the safer approach to protect environment, consumers and the staff. Previously in the laboratory tests, the Pravastatin, an inhibitor of sterol biosynthesis, was shown to prevent development of helminthosporium root rot, caused by *Bipolaris sorokiniana*, in spring barley seedlings. Further to this, we studied the protective effect of Pravastatin against *B. sorokiniana* in test field (Moscow Province). Before sowing, the spring barley (variety Zazerskii 85) seeds, naturally infected with *B. sorokiniana*, were treated with Pravastatin (0.05, 0.075 и 0.1 % for 24 hours). The pre-sowing examination of untreated naturally infected seeds showed the plant damage by helminthosporium root rot at 8.9 % and the disease severity at 36.8 %. Small-plot field trials showed that treatments of spring barley seeds with soaking in 0.075 or 0.1 % Pravastatin solutions for 24 hours before their sowing decreased the number of plans damaged by *B. sorokiniana*, as well as reduced the disease severity. The maximal protective effect was produced by Pravastatin at the concentration of 0.1 %. It

was also found that seed treatments with Pravastatin at all tested concentrations did not influence negatively on the seed germinating capacity or density of planting at the tillering stage (phase 29). In addition, seed soaking in a 0.1 % Pravastatin solution resulted in increase of productive stem number at the stage of milky-wax ripeness (phase 83).

Keywords: spring barley, helminthosporium root rot, Pravastatin.

## REFERENCES

1. Dzhavakhiya V.V., Petelina G.G. *Agro XXI*, 2008, 4-6: 33-34.
2. Ukraintseva S.N., Pridannikov M.V., Dzhavakhiya V.G. *Zashchita i karantin rastenii*, 2008, 2: 64.
3. Galgoczy L., Nyilasi I., Papp T., Vágvölgyi C. *World Journal of Clinical Infection Diseases*, 2011, 1(1): 4-10.
4. Qiao J., Kontoyiannis D.P., Wan Z., Li R., Liu W. Antifungal activity of statins against *Aspergillus* species. *Medical Mycology*, 2007, 45(7): 589-593.
5. Cabral M.E., Figueroa L.I.C., Farina J. Synergistic antifungal activity of statin-azole associations as witnessed by *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida utilis* bioassays and ergosterol quantification. *Revista Iberoamericana de Micología*, 2013, 30(1): 31-38.
6. Pridannikov M.V., Petelina G.G., Pal'chuk M.V., Voinova T.M., Dzhavakhiya V.G. *Materialu Vserossiiskogo soveshchaniya «Sovremennye sistemy zashchity rastenii ot boleznei i perspektivy ispol'zovaniya dostizhenii biotekhnologii i gennoi inzhenerii»* [Proc. All-Russian Workshop «Modern Systems of Plant Protection from Diseases, and the Perspectives of Biotechnology and Genetic Engineering». Issue 1]. Golitsyno, 2003, vypusk 1: 179.
7. Kartashov M.I., Dzhavakhiya V.G. *Vestnik zashchity rastenii*, 2010, 3: 39-43.
8. Kartashov M.I., Shcherbakova L.A., Dorofeeva L.L., Dzhavakhiya V.G. *Zashchita i karantin*, 2011, 4: 34-35.
9. *GOST 12044-93. Metod analiza razvitiya boleznei na prorostkakh zernovykh kul'tur v rulonakh fil'troval'noi bumagi. Semena sel'skokhozyaistvennykh kul'tur. Metody opredeleniya zarazhennosti boleznyami* [State Standards: GOST 12044-93]. Moscow, 2011.
10. Dospikhov B.A. *Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoi obrabotki rezul'tatov issledovaniia)* [Methods of field trials]. Moscow, 1985.
11. Zadoks J.C., Schein R.D. *Epidemiology and plant disease management*. NY, 1979.