

С.Г. Спивак,
Е.Б. Яронская,
И.В. Вершиловская,
В.Ю. Давыдов,
И.В. Тростянко,
В.И. Долгопалец,
Н.Г. Аверина,
М.А. Кисель

ВЛИЯНИЕ ЛИПОФИЛЬНЫХ ЭФИРОВ 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ

Известно, что экзогенная 5-аминолевулиновая кислота (АЛК) в высоких концентрациях обладает свойствами фотодинамического гербицида [1, 2], а в низких (0,06-0,6 мМ) - проявляет свойства регулятора роста и развития растений и оказывает стимулирующее действие на рост и урожайность ряда сельскохозяйственных растений, таких как рис, фасоль, картофель и др. [3, 4].

Однако широкое применение АЛК как экологически безопасного регулятора роста и развития растений ограничивается ее высокой стоимостью. Экономическая целесообразность использования АЛК в сельском хозяйстве может быть достигнута за счет липофилизации молекулы, приводящей к увеличению эффективности проникновения препарата в клетки растений и, как следствие, к существенному снижению применяемых доз.

Целью данной работы явилось сравнительное изучение способности АЛК и ее липофильных производных — эфиров высших спиртов проникать в растительные клетки, оказывать росторегулирующее действие, а также влиять на содержание фотосинтетических пигментов и белков в растениях.

Методика исследований

В качестве липофильных производных АЛК использовали ее гексиловый (Г-АЛК) и октиловый (О-АЛК) эфиры. Объектом исследования служили растения ячменя (*Hordeum vulgare* L., сорт «Гонар») и 4-5-дневные этиолированные проростки гороха (*Pisum sativum*, сорт «Амброзия»). Растения ячменя выращивали в вегетационных сосудах в режиме

14 ч света/10 ч темноты при температуре $23 \pm 2^\circ\text{C}$. Перед высевом семена инкрустировали смесью, содержащей фунгицид «Байтан-универсал», пленкообразователь «Гисинар», АЛК или Г-АЛК. Сравнительное исследование способности АЛК и Г-АЛК проникать в клетки растений ячменя проводили на листьях 7-дневных растений, которые инкубировали в чашках Петри в темноте на 0,6 мМ растворах этих соединений с добавлением 50 мМ левулиновой кислоты (ЛК). Анализ содержания АЛК в листьях проводили согласно методу, описанному в работе [5]. Этиолированные проростки гороха инкубировали в растворах АЛК, Г-АЛК и О-АЛК в концентрациях от 0,003 до 3 мМ, после экстракции компоненты разделяли с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) и в зонах, совпадающих по хроматографической подвижности с аутентичными свидетелями, определяли содержание АЛК по методу [5]. Содержание фотосинтетических пигментов — хлорофилла (Хл) и каротинидов, в экстрактах из листьев определяли спектрофотометрически [6]. Содержание белка в гомогенатах анализировали согласно методу [7].

Результаты исследований

Эффективность действия АЛК и Г-АЛК на рост и развитие растений ячменя определяли, используя такие показатели, как всхожесть семян, относительная скорость прорастания семян, высота проростков, начало фазы кущения, кустистость, масса надземной части растения, продуктивная кустистость (табл.).

Влияние АЛК и Г-АЛК на морфометрические параметры, содержание фотосинтетических пигментов и белка в растениях ячменя

Параметры	Контроль	АЛК (мМ)				Г-АЛК (мМ)			
		0,012	0,12	0,6	1,2	0,012	0,12	0,6	1,2
Всхожесть семян, %	77	н.а.*	80	88	95	н.а.	90	95	94
Относительная скорость прорастания семян, %	36	80	83	100	н.а.	99	97	100	н.а.
Высота 5-дневных растений, %	100	124	120	144	н.а.	145	140	140	н.а.
Количество 18-дн. растений в фазе кущения, %	11	н.а.	11	10	11	н.а.	27	30	35
Общая кустистость, %	100	н.а.	104	133	133	н.а.	135	130	123
Надземная фитомасса 46-дн. растений, %	100	н.а.	112	124	107	н.а.	128	120	115
Продуктивная кустистость, %	100	н.а.	120	225	185	н.а.	210	216	150
Содержание Хл в листьях 46-дн. растений, %	100	н.а.	100	118	157	н.а.	135	128	143
Содержание каротиноидов в листьях 46-дн. растений, %	100	н.а.	100	108	138	н.а.	131	128	135
Содержание белка в листьях 8-дн. растений, %	100	н.а.	115	120	136	н.а.	125	120	140

Примечание. Приведены средние значения из трех экспериментов. Величины стандартных ошибок не превышают 10% от величин средних значений; * н.а. — не анализировали.

Установлено, что инкрустирование семян АЛК и Г-АЛК приводит к повышению показателя всхожести семян по сравнению с контролем, при этом идентичный эффект достигается при меньших концентрациях Г-АЛК. Инкрустирование семян АЛК и Г-АЛК также приводит к увеличению относительной скорости их прорастания. Так, через 4 дня после посева семян в почву только 36% семян контрольного варианта давали всходы, в случае применения АЛК количество взошедших семян достигало 100% при ее концентрации 0,6 мМ, тогда как при обработке семян Г-АЛК 100%-ное появление всходов наблюдалось уже при 0,012 мМ.

Аналогичный эффект Г-АЛК на высоту проростков обнаружен в начальный период их развития на 5-7-й день после высадки семян в почву. С возрастом стимулирующий эффект испытуемых соединений на высоту проростков несколько снижался, составляя в среднем 20% у 10-дневных растений во всех опытных вариантах. Предпосевная обработка семян АЛК и Г-АЛК приводила к ускорению фазы кущения. На 16-й день развития проростков в вариантах с Г-АЛК количество растений, в которых начался процесс кущения, в 2-3 раза превышало их число в контроле и в ва-

риантах с АЛК. Отчетливый эффект ускорения фазы кущения проявлялся в 17- и 18-дневных опытных растениях, обработанных 1,2 мМ АЛК, а также Г-АЛК во всем диапазоне концентраций, включая минимальную — 0,12 мМ. Рост числа побегов кущения в расчете на одно растение наблюдался при использовании меньших концентраций Г-АЛК по сравнению с АЛК. Отмечено увеличение массы надземной части растений на 24% в экспериментах с использованием 0,6 мМ АЛК по сравнению с контролем, тогда как максимальный стимулирующий эффект Г-АЛК на этот показатель составлял 28% и наблюдался при концентрации 0,12 мМ. Число продуктивных побегов возрастало при применении АЛК и Г-АЛК, при этом максимальное увеличение их количества достигалось при концентрации, в 5 раз меньшей, в случае инкрустации семян липофильным производным АЛК.

Наиболее отчетливая разница в содержании Хл между контрольным и опытным вариантами наблюдалась в растениях 46-дневного возраста. Содержание Хл было выше в среднем на 18 и 57% в растениях, обработанных 0,6 и 1,2 мМ АЛК, и на 35, 40 и 49% при использовании 0,12; 0,6 и 1,2 мМ Г-АЛК по сравнению с контролем соответ-

венно. Обработка семян АЛК и Г-АЛК приводила также к увеличению количества каротиноидов. Максимальное содержание этих пигментов зарегистрировано в листьях 46-дневных растений в опытах с 1,2 мМ АЛК. При использовании для инкрустации семян Г-АЛК увеличение содержания каротиноидов достигалось уже при самой низкой концентрации - 0,12 мМ.

Содержание белка в листьях 6-дневных проростков ячменя, обработанных 0,12; 0,6 мМ и 1,2 мМ АЛК увеличивалось, соответственно, на 8, 25 и 35% по сравнению с контрольными растениями. В ходе дальнейшего развития растений разница между этим показателем в опытных и контрольных проростках уменьшалась. При обработке семян Г-АЛК значительное повышение содержания белка в листьях наблюдалось при более низких, чем в случае АЛК, концентрациях действующего вещества.

Таким образом, сравнительное исследование влияния АЛК и Г-АЛК на растения ячменя показало, что Г-АЛК стимулирует рост и развитие растений, а также повышает в них содержание фотосинтетических пигментов и белка, при использовании в значительно более низких концентрациях, чем АЛК.

Мы предположили, что большая эффективность липофильного Г-АЛК в отличие от гидрофильной АЛК обусловлена его способностью проникновения в клетки растений за счет неконтролируемой пассивной диффузии.

С целью проверки этого предположения было определено количество АЛК в листьях ячменя, инкубированных

на растворах АЛК и Г-АЛК в присутствии ЛК, ингибирующей превращение АЛК в порфирины. На протяжении всего времени инкубации более высокое содержание внутриклеточной АЛК обнаруживалось в листьях, обработанных Г-АЛК, чем в варианте с использованием АЛК (рис. а).

Различие в содержании АЛК в растительных тканях, обработанных АЛК и ее липофильными эфирами, практически не зависит от вида растений. Так, при 3 ч инкубации проростков гороха в 3 мМ растворах АЛК, Г-АЛК, О-АЛК в отсутствие ЛК, АЛК в растительной ткани определяется, соответственно, в соотношении 1:7:17, что свидетельствует о большей проникающей способности эфиров, зависящей от их гидрофобности и используемой концентрации (рис. б). Анализ экстрактов из проростков гороха методом ТСХ показал, что значительная часть липофильных эфиров остается в исходном состоянии (рис. в). На основании этих данных можно предположить, что липофильные эфиры АЛК гидролизуются в растении до свободной аминокислоты достаточно медленно, что, вероятно, обеспечивает поддержание определенного уровня АЛК в течение длительного времени и, вследствие этого, более высокую эффективность действия этих соединений как регуляторов роста и развития растений. Не исключено, что ростостимулирующий эффект липофильных эфиров АЛК обусловлен их участием в сигнальных каскадах еще до стадии гидролиза внутриклеточными эстеразами.

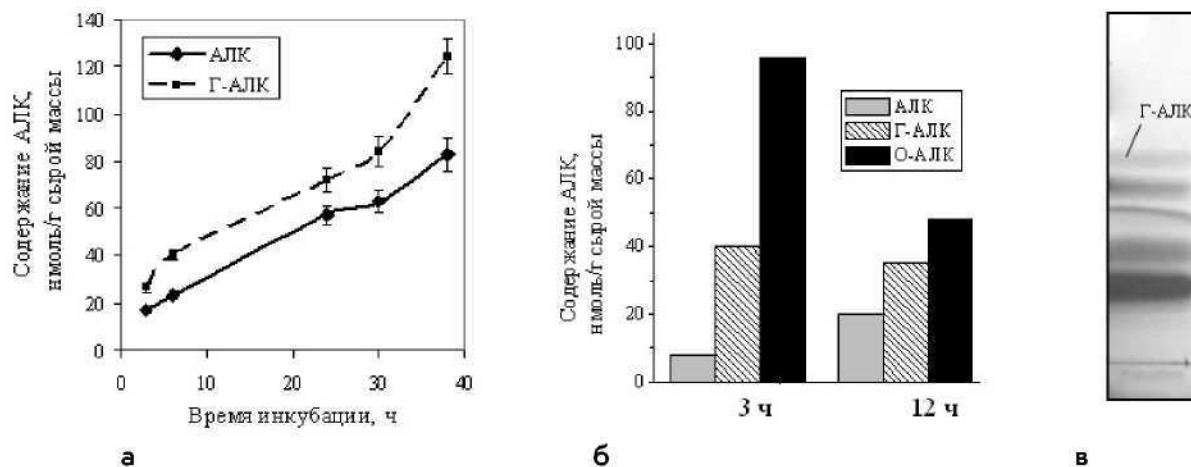


Рис. Содержание внутриклеточной АЛК

Выводы

1. Показано, что липофилизация молекулы АЛК способствует ее проникновению в клетки растений, что позволяет повысить эффективность препаратов на ее основе за счет снижения их действующих концентраций.

2. Установлено, что Г-АЛК стимулирует рост и развитие растений ячменя при использовании в концентрациях в пять раз более низких, чем АЛК.

Библиографический список

1. Аверина Н.Г., Яронская Е.Б. // Физиол. раст. 1988. Т. 35. Вып. 5. С. 916-920.

2. Аверина Н.Г., Шалыго Н.В., Яронская Е.Б., Рассадина В.В. // Физиол. раст. 1988. Т. 35. Вып. 4. С. 679-686.

3. Rebeiz С.А. // Enzyme Microb. Technol. 1984. Vol. 6. P. 390-401.

4. Hotta Y., Tanaka T., Takaoka H., Takeuchi Y., Konnai M. // Plant Growth Regulation. 1997. Vol. 22: P. 109-114.

5. Mauzerall D., Granick S. // J. Biol. Chem. 1956. Vol. 219. P. 435-446.

6. Vernon L. P. // Anal. Chem. 1960. Vol. 32. P. 1144-1150.

7. Bradford M. M. // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248-254.

