

Роль арахидоновой кислоты в регуляции роста и развития ячменя (*Hordeum vulgare* L.)

© 2013. Л. П. Воронина¹, д.б.н., в.н.с.,

Н. Ф. Черкашина², к.б.н., в.н.с., И. И. Ильина¹, аспирант,

¹Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,

²Учебно-опытный проектно-экологический центр

Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова,

e-mail: Luydmila.Voronova@gmail.com

В полевом и вегетационных опытах изучено влияние арахидоновой кислоты на рост и развитие растений ячменя. Установлено более выраженное позитивное действие арахидоновой кислоты в более экстремальных условиях произрастания растений.

Arachidonic acid effect on barley plants growth and development was studied in pot and field experiments. It is stated that arachidonic acid has a more positive effect if the conditions of plant growth are more extreme.

Ключевые слова: арахидоновая кислота, ячмень, биомасса, урожай, пигменты, углеводы

Keywords: arachidonic acid, barley, biomass yield, pigments, carbohydrates

Введение

В современных условиях выращивания сельскохозяйственных культур высокая пестицидная нагрузка приводит к ухудшению экологической обстановки. В связи с этим актуальной задачей является переключение от применения химических соединений, являющихся точечными ингибиторами каких-либо конкретных процессов, к разработке и применению «физиологических» регуляторов и модуляторов сложных биохимических систем. Известно, что некоторые органические кислоты, например, салициловая или арахидоновая, являются физиологически активными веществами и их действие направлено на повышение устойчивости растений к биотическим стрессам. Известны и продолжают изучаться механизмы действия этих веществ, но их выраженное влияние на морфофизиологические процессы не установлено. Имеются противоречивые данные по действию арахидоновой кислоты (АК) на рост и развитие растений, продолжается изучение способов их применения в сельском хозяйстве.

У растений существуют механизмы индукции продолжительной устойчивости к поражению вредными организмами. В качестве индукторов могут выступать соединения, обнаруженные в самих фитопатогенных микроорганизмах, но отсутствующие в растениях. АК является одним из таких соединений, по-

этому на высшие растения она действует как мощный внешний раздражитель – в концентрациях выше 10^{-4} моль/л инициирует локальный некроз тканей. Однако в низких концентрациях (10^{-6} – 10^{-9} моль/л) она обеспечивает длительную системную устойчивость растения к патогенам. Молекулы АК и её метаболитов влияют на экспрессию генов, ответственных за иммунитет [1]. Обработка растений АК приводит к повышенной экспрессии стресс-чувствительных генов [2]. Предполагается, что окислительный взрыв является первичной реакцией при запуске защитных механизмов при заражении различных растений патогенами [3]. Окислительный взрыв и роль пероксида в накоплении капсидиола (фитоалексина) были исследованы в перце *Capsicum annuum* L. Сразу после воздействия АК на растения произошло образование активных форм кислорода. Экзогенная обработка пероксидом индуцировала аккумуляцию капсидиола, которая снижалась в присутствии АК. Для изучения окислительно-восстановительных реакций в ходе активации защитных механизмов растения исследовалось влияние АК на активность аскорбоксидазы, которая является ферментом для детоксикации пероксида. Показано, что при применении АК активность фермента снизилась [4]. Изучение биохимических основ механизма действия АК (в низких концентрациях) продолжается и некоторые эле-

менты этого механизма уже очевидны. В настоящее время АК активно используется как основная составляющая синтетических регуляторов роста растений. Л. Н. Гардеева исследовала возможность использования препарата «Иммуноцитифит» в качестве стимулятора роста при производстве солода для повышения прорастания ячменя [5]. Другие исследователи отмечают влияние этого препарата на урожай зерна ячменя [6]. Этот препарат создан на основе смеси полиненасыщенных жирных кислот с высоким содержанием арахидоновой кислоты. Такие препараты стимулируют процессы корнеобразования, процесс накопления сухого вещества происходит более активно, повышается озернённость колоса и масса зерна, активизируются процессы раневой репарации, химической, засухо- и морозоустойчивости растений. Спектр действия АК на молекулярном уровне объясняется тем, что данный элиситор и его метаболиты оказывают влияние на процессы экспрессии не только генов защиты, но и генов, осуществляющих контроль ростовых факторов дифференцировки и развития [1].

Целью нашей работы явилось исследование специфики действия арахидоновой кислоты на формирование растений ячменя в онтогенезе.

Объекты и методы исследования

Арахидоновая кислота (5, 8, 11, 14-эйкозотетраеновая кислота, $C_{10}H_{21}COOH$) – витамин F, ненасыщенная жирная кислота. АК является одним из важнейших представителей полиеновых жирных кислот, имеющих огромное значение для здоровья человека и животных.

Для выявления рабочих концентраций арахидоновой кислоты использован метод биотестирования. В качестве тест-систем в лабораторных экспериментах были использованы растения *Raphanus sativus* L. (редис) и *Vigna radiata* L. (маш). Биотестирование проводили следующим образом: АК в концентрациях 1, 10, 100 мкг/мл воздействовали на семена маша и редиса. Контролем служили семена, на которые воздействовали только водой. Показателем служила длина корня ювенильных растений. В качестве модификации метода мы использовали способы визуализации (с помощью технических приёмов фиксации изображения и затем, замер тест-показателя). Семена выращивали на чёрной ткани в прозрачных пластиковых

планшетах (4 шт.) и в чашках Петри (10 шт.). После окончания опыта планшеты сканировались, и далее длина самого длинного корня замерялась в программе Excel. Из чашек Петри растения доставали и производили замеры линейкой, тест-функцией, по которой рассчитывали процент стимуляции и/или ингибирования, являлась длина корня используемых тест-растений. Для автоматизированного определения длины корня метод требует дальнейшей доработки.

Вегетационные многолетние опыты проводили в вегетационном домике кафедры агрохимии факультета почвоведения МГУ с разными сортами ячменя. Исследуемой культурой в 2010 г. был ячмень яровой (*Hordeum vulgare* L.) сорта Раушан. Эксперимент проводился в вегетационных сосудах Вагнера вместимостью 2 кг. Почва – чернозём обыкновенный целинный. Агрохимическая характеристика следующая: рН – 6,4; гумус – 8,1%; подвижный фосфор – 50 мг/кг почвы и обменный калий – 98 мг/кг. В каждый сосуд были внесены минеральные удобрения из расчёта 100 мг/кг почвы азота, фосфора, калия. После прорастания семян ячменя в каждом сосуде оставляли по 6 растений. Варианты опыта включали: контроль и фолиарную (на лист) обработку растений в фазе начала кущения раствором арахидоновой кислоты (рабочая концентрация раствора 1 мкг/мл). Повторность вариантов – четырёхкратная. В ходе вегетации был выполнен промежуточный отбор флаговых листьев (средняя проба), в которых определяли пигменты. После уборки опыта проводили определение массы и числа растений, стеблей, зёрен, массы 1000 зёрен.

Полевые микроделяночные исследования проводились на территории учебно-опытного проектно-экологического центра МГУ «Чашниково», Московская область, Солнечногорский район, в 2010 г. Исследуемой культурой был ячмень сорта Раушан. Почва данной территории хорошо окультурена, дерново-подзолистая среднесуглинистая. Агрохимическая характеристика следующая: рН – 5,8; гумус – 3,5%; подвижный фосфор – 31 мг/кг почвы и обменный калий – 108 мг/кг. Посев культуры ячменя проведён 17 мая машинным методом. Глубина заделки семян 3–5 см. Перед посевом внесены комплексные минеральные удобрения в дозе N30P40K40. Микрополевой опыт выполнен на площади 0,20 га. Учётная площадь делянки 1,0 м², повторность – четырёхкратная. Варианты опыта идентичны вегетационному опыту.

Таблица 1

Метеорологические данные за вегетационный период (2010 г.)

Показатель/месяц	май	июнь	июль	август	сентябрь
Количество выпавших осадков, мм					
За месяц	71,1	61,5	27,5	67,5	83,0
Среднее многолетние	61,1	70,2	90,7	87,3	69,8
Температура, °С					
За месяц	17,0	18,8	26,5	22,5	11,8
Среднее многолетние	14,3	17,8	20,7	18,6	12,0

В фазу начала кущения растения были обработаны арахидоновой кислотой. Для приготовления рабочего раствора 1 мкг/мл использовали серию разведений. Опрыскивание проводили до полного смачивания, с учётом стандартного автоматизированного расхода – 150 мл/м².

В течение полевого опыта выполняли наблюдения и уход за посевами (обработка гербицидами и фунгицидами). Выполнен промежуточный отбор растительных образцов, через 7 дней после обработки, их фиксация. В зелёной массе определяли углеводы. Провели определение пигментов во флаговом листе и замеры площади флагового листа. Определены показатели структуры продуктивности и учёт урожая ячменя. В высушенных образцах растительного материала (солومه и зерне) определяли содержание общего азота, фосфора и калия [7].

Зафиксированы метеорологические данные, которые свидетельствуют, что в июле наблюдался дефицит влаги в сочетании с высокими суточными температурами и в целом вегетационный период оказался более жарким и засушливым (табл.1).

Для оценки достоверности результатов опыта и аналитических данных использовали методы математической статистики, расчёт наименьшей существенной разницы (НСР) с уровнем значимости 95%.

Результаты и обсуждение

Изучение влияния АК на развитие корневой системы ювенильных растений маша и редиса показало, что АК является физиологически активным веществом и оказывает стимулирующий либо ингибирующий эффект используемых тест-культур в зависимости от концентрации. При воздействии АК в концентрации 1 мкг/мл ($3,3 \cdot 10^{-6}$ моль/л) на растения маша и редиса значения длины корневой системы увеличились по сравнению с контролем на 56 и 16% соответственно. В концентрации 10 мкг/мл ($3,3 \cdot 10^{-5}$ моль/л) АК оказывает стимулирующий эффект на развитие растений маша (на 46%) и ингибирующий на развитие растений редиса (на 50%) (табл. 2). В концентрации 100 мкг/мл ($3,3 \cdot 10^{-4}$ моль/л) АК оказывает самый сильный ингибирующий эффект на развитие растений обеих культур. В результате исследования влияния АК на развитие корневой системы ювенильных растений маша и редиса выявлена рабочая концентрация 1 мкг/мл ($3,3 \cdot 10^{-6}$ моль/л). Тест-растения по-разному реагировали на внесение арахидоновой кислоты: на семенах маша наблюдалась достоверная как стимулирующая, так и ингибирующая реакция на его воздействие; на семенах редиса наблюдалось достоверное ингибирование роста корней.

Таблица 2

Влияние разных концентраций арахидоновой кислоты на длину корня тест-растений

Тест-культура	Концентрация, моль/л	Длина корня, см	НСР _{0,05}	% от контроля
Маш	контроль	3,25	1,43	
	$3,3 \cdot 10^{-6}$	5,07		156
	$3,3 \cdot 10^{-5}$	4,74		146
	$3,3 \cdot 10^{-4}$	1,62		50
Редис	контроль	1,89	0,80	
	$3,3 \cdot 10^{-6}$	2,19		116
	$3,3 \cdot 10^{-5}$	0,94		50
	$3,3 \cdot 10^{-4}$	0,08		4

Таблица 3

Влияние арахидоновой кислоты на площадь и содержание пигментов флагового листа

Показатель	Контрольный вариант	Вариант с применением арахидоновой кислоты	% от контроля
Вегетационный опыт			
Площадь флагового листа, см ²	9,60 ± 2,20	9,90 ± 2,20	103
Хлорофилл <i>a</i> , мг/г	2,11 ± 0,25	2,36 ± 0,20	112
Хлорофилл <i>b</i> , мг/г	0,71 ± 0,08	0,80 ± 0,08	113
Каротиноиды, мг/г	0,13 ± 0,02	0,14 ± 0,01	103
Полевой опыт			
Площадь флагового листа, см ²	11,4 ± 1,92	12,2 ± 1,85	107

Таблица 4

Изменения по продукционным характеристикам ячменя при использовании арахидоновой кислоты

Показатель	Контрольный вариант	Вариант с применением арахидоновой кислоты	НСР _{0,05}	% от контроля
Вегетационный опыт				
Общая масса, г/сосуд	13,5	15,2	1,1	113
Продуктивная кустистость, шт.	1,06	1,0	0,3	100
Общая кустистость, шт.	1,8	2,0	0,8	113
Масса 1 растения, г	2,3	2,5	0,2	113
Масса соломы, г/сосуд	7,6	9,1	1,4	120
Число зёрен, шт.	112	105	11,6	94
Масса зерна, г/сосуд	5,0	4,5	0,6	91
Масса 1000 зёрен, г	44,9	42,8	2,8	95
Полевой опыт				
Продуктивная кустистость, шт.	0,9	1,1	0,2	126
Общая кустистость, шт.	1,5	1,8	0,3	123
Число зёрен, шт./25 растений	2103	1811	300	86
Масса зерна, г/25 растений	84,0	89,5	4,2	106
Масса соломы, г	242,6	340,5	94	140
Масса 1000 зёрен, г	39,9	49,4	6,4	124
Масса 1 растения, г	2,4	3,3	0,7	138

Известно, что в ходе онтогенеза, а также под действием неблагоприятных факторов происходят изменения по содержанию и соотношению пигментов зелёного листа. В связи с этим в ходе развития растений в вегетационном и полевом опытах изучено их содержание во флаговом листе, который, как свидетельствует ряд авторов, наиболее тесно связан с характеристикой урожая [8, 9]. В таблице 3 приведены результаты по изучению действия АК на пигментный состав флагового листа. Применение АК привело к повышению содержания хлорофилла *a* и *b* (на 12–13%), содержание каротиноидов значимо не изменилось (3%). Изменений по данной характеристи-

ке в полевом опыте не установлено (табл. 3). Необходимо подчеркнуть, что тенденция по изменению содержания пигментов в вегетационном опыте прослеживалась через 25 суток после фолитарной обработки растений АК. Изменений по данной характеристике в полевом опыте через 30 дней не установлено.

Физиологически активные вещества влияют на биометрические и продуктивные показатели развития растений. В вегетационном опыте наблюдались лишь некоторые тенденции действия АК (табл. 4). Продуктивная кустистость растений не изменилась по сравнению с контрольными результатами. Увеличилась масса 1 растения за счёт массы соломы.

Общее число и масса зерна уменьшились, но масса 1000 зёрен не изменилась. Кустистость – очень важный агрономический признак, так как в результате процесса формирования на растении дополнительных побегов происходит компенсация урожая при биотических и абиотических стрессах. В полевом опыте на дерново-подзолистой почве обработка АК привела к повышению общей (23%) и продуктивной кустистости (26%) (табл. 4). Отмечено достоверное увеличение общей биомассы за счёт увеличения массы соломы, было отмечено уменьшение общего числа зёрен (14%). При этом масса зерна не изменилась за счёт увеличения массы 1000 зёрен (24%).

В вегетационном опыте не произошло и существенных изменений по качественной характеристике зерна (N, P, K). По содержанию общего азота в зерне проявилась лишь тенденция к снижению при обработке АК. Содержание фосфора снизилось в вариантах с использованием АК. Содержание калия достоверно не изменилось (рис.).

Изучение содержания макроэлементов в урожае зерна полевого опыта свидетельствовало о воздействии исследуемого фактора, и получены следующие результаты: обработка

АК привела к достоверному уменьшению содержания азота в зерне (на 17%), содержание фосфора увеличилось в 2 раза, повысилось содержание калия (рис.).

В экстремальных условиях полевого опыта, в отличие от вегетационного, где растения находились в контролируемых условиях, эффект действия АК проявился сильнее, и особенно это проявилось на изменении ряда показателей в растительных образцах, отобранных в ходе вегетации через 7 дней после обработки. В полевом опыте отмечено значительное увеличение содержания моносахаридов (почти в 2 раза). В вегетационном опыте подобных изменений не установлено (табл. 5).

Выводы

При воздействии разных концентраций арахидоновой кислоты на семена тест-растений (редис, маш) установлено изменение длины и морфологии корневой системы. Эффективно действующая концентрация составляет – $3,3 \cdot 10^{-6}$ моль/л.

Экзогенное применение арахидоновой кислоты на чернозёме обыкновенном при благоприятных условиях отразилось на измене-

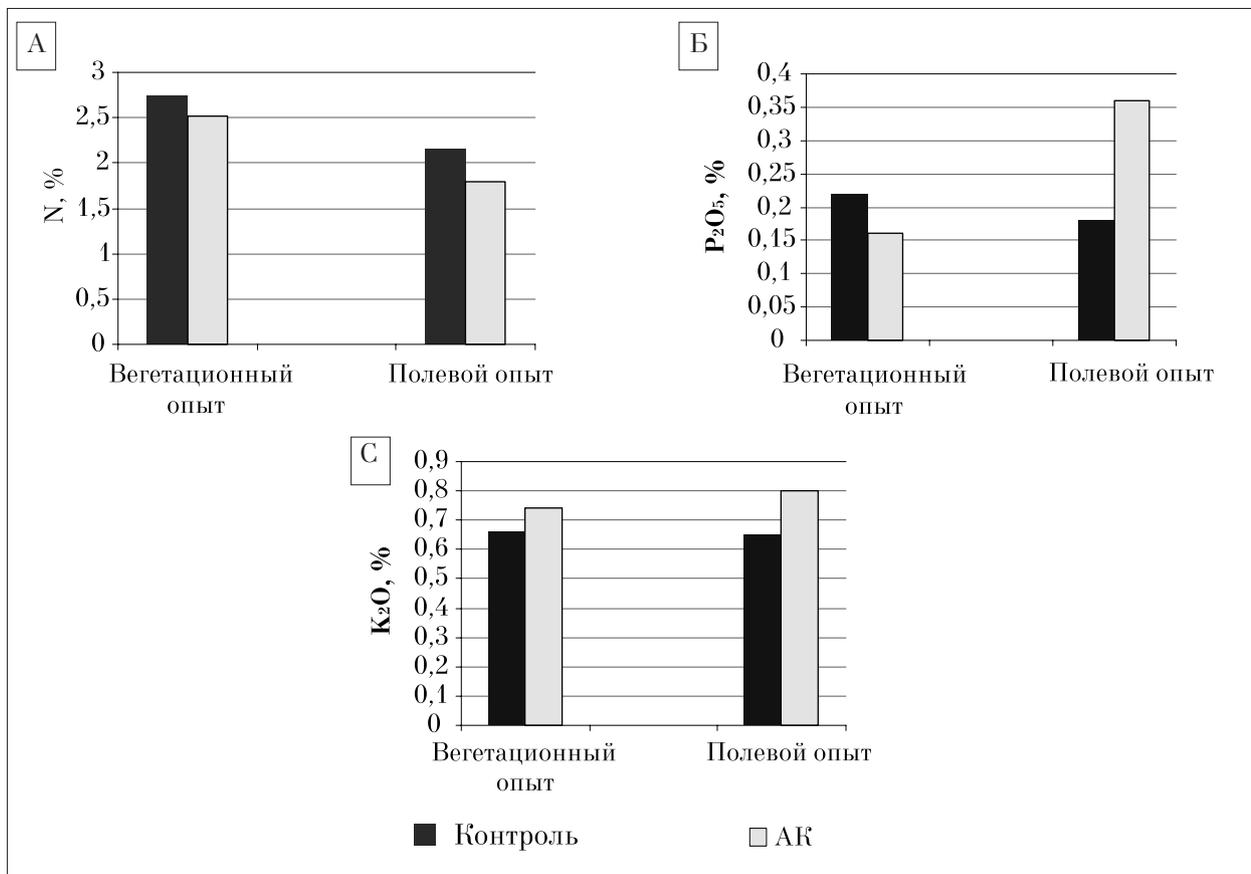


Рис. Сопоставление результатов экзогенного воздействия АК в вегетационном и полевом опытах на процентное содержание азота (А), фосфора (Б) и калия (С) в зерне ячменя

Таблица 5

Влияние арахидоновой кислоты на содержание общего азота и углеводов в зелёной массе ячменя в фазе начала кущения

Показатель	Контрольный вариант	Вариант с применением арахидоновой кислоты	НСР _{0,05}	% от контроля
Полевой опыт				
Общий азот, %	4,30	3,94	1,20	92
Моносахариды, %	2,80	6,73	1,60	238
Дисахариды, %	1,30	1,40	0,21	101
Сумма сахаров, %	4,17	8,08	1,70	194
Вегетационный опыт				
Общий азот, %	1,11	1,20	0,80	108
Моносахариды, %	2,66	3,02	1,00	114
Дисахариды, %	1,36	1,58	0,34	116
Сумма сахаров, %	4,02	4,60	1,01	114

нии следующих показателей: увеличении общей биомассы и массы соломы, снижении количества зёрен и массы зерна с растения.

Действие арахидоновой кислоты по-разному проявилось в зависимости от условий произрастания ячменя. При более выраженном стрессе влияние арахидоновой кислоты значительнее, что подтверждает защитное действие данного соединения.

В полевом опыте на дерново-подзолистой почве использование арахидоновой кислоты в фазу кущения привело к увеличению зелёной массы, продуктивной кустистости и массы соломы. Индукция вегетативных процессов повлияла на формирование репродуктивных органов ячменя, что выразилось в изменении структуры урожая зерна.

Литература

1. Озерецковская О. Л., Васюкова Н. И., Чаленко Г. И. Процесс раневой репарации и индуцированная устойчивость клубней картофеля // Прикладная биохимия и микробиология. 2009. Т. 45. № 2. С. 220–224.
 2. Savchenko T., Walley J. W., Chehab E. W., Xiao Y., Kaspi R., Pye M. F., Mohamed M. E., Lazarus C. M., Bos-

tock R. M., Dehesh K. Arachidonic acid: an evolutionarily conserved signaling molecule modulates plant stress signaling networks // Plant Cell. 2010. V. 22. № 10. P. 3193–3205.

3. Yoshioka H., Sugie K., Park H. J., Maeda H., Tsuda N., Kawakita K., Doke N. Induction of plant gp91 phox homolog by fungal cell wall, arachidonic acid, and salicylic acid in potato // Mol. Plant Microbe Interact. 2001. V. 14. № 6. P. 725–736.

4. Aracelia A. C., Eldaa C. M., Edmundob L. G., Ernesto G. P. Pepper fruit treatment with arachidonic acid induce the reactive oxygen species production // Physiological and Molecular Plant Pathology. 2007. V. 70. P. 69–76.

5. Гардеева Л. Н. «Иммуноцитотифит» как регулятор роста при проращивании ячменя // Пищевая и перерабатывающая промышленность. 2002. 603 с.

6. Помелов А. В., Дудин Г. П., Мохнаткин В. Г. Защитное и мутагенное действие фиторегуляторов на ячмене // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 1. С. 92–96.

7. Практикум по агрохимии / Под ред. В. Г. Минеева. М.: Изд-во МГУ, 2001. 689 с.

8. Курсанов А. Л. Взаимосвязь физиологических процессов в растении. М. 1960. 164 с.

9. Тищенко В. Н., Чекалин Н. М. Генетические основы адаптивной селекции озимой пшеницы в зоне лесостепи. Полтава. 2005. 250 с.