

УДК 581.132.1

ВПЛИВ ПАКЛОБУТРАЗОЛУ НА АКТИВНІСТЬ ГІБЕРЕЛІНІВ І ВМІСТ РІЗНИХ ФОРМ АБСЦИЗОВОЇ КИСЛОТИ У ЛИСТКАХ ЦУКРОВОГО БУРЯКА

© 2007 р. О. А. Шевчук, В. Г. Кур'ята

*Вінницький державний педагогічний університет ім. М. Коцюбинського
(Вінниця, Україна)*

Встановлено, що обробка рослин цукрового буряка гібрида Роберта 0,025%-м паклобутразолом у період утворення 20-22 листків призводила до зменшення активності вільних гіберелінів, збільшення вмісту вільної абсцизової кислоти (АБК) і зменшення зв'язаної форми АБК в листках.

Ключові слова: *Beta vulgaris L., ретарданти, гібереліни, абсцизова кислота*

Урожайність рослин цукрового буряка значною мірою залежить від швидкості утворення і функціональної активності листків першого-другого десятків. Разом з тим, рослини цієї культури мають високий потенціал листкоутворення. Підвищення індексів листової поверхні вище 3,5 не приносить користі, оскільки листки затіняють одне одного і виступають конкурентами коренеплоду за асиміляти. Досліджено, що видалення апексів і частини пізнього листя не впливає на продуктивність рослини [6]. У практичному плані механічне видалення листків більш високих порядків на виробничих плантаціях здійснювати недоцільно, тому нами були вивчені можливості регуляції росту листків рослин цукрового буряка за допомогою ретардантів у зв'язку з підвищенням продуктивності культури [5, 10]. Разом з тим, триазолпохідні препарати (паклобутразол, уніконазол, азавіт (тріадіферон), BAS 11 та інші) мають антигіберелінову дію та істотно впливають на гормональний статус рослин. Встановлено, що препарати цієї групи переривають ферментативний синтез гіберелінів на етапах утворення копаліпірофосфату і кауренової кислоти [11]. При цьому ретардантні ефекти дії триазолпохідних препаратів знімаються введенням екзогенної гіберелінової кислоти.

В окремих роботах відзначається, що триазолпохідні препарати впливають на вміст абсцизової кислоти (АБК) у рослинах, однак дані, отримані різними авторами, суперечливі. Так, за дії паклобутразолу у рослин малини відбувалося уповільнення інтенсивності росту пагона в довжину і товщину за рахунок зменшення активності гіберелінів і збільшення вмісту АБК. При цьому зменшення активності вільних гіберелінів під впливом різних за механізмом дії ретардантів не було пов'язане з переходом фітогормонів у кон'юговані форми [8]. При обробці одномісячних рослин ріпаку на стадії п'ятого листка BAS 11W в концентраціях 0,25-5 мг/рослину в плодах знижувався вміст АБК на 60% від контролю [12]. Оскільки гібереліни і АБК як терпени мають єдиний шлях синтезу у рослині, метою нашої роботи було вивчення впливу препарату інгібіторного типу – паклобутразолу на активність гіберелінів та баланс вмісту вільних і зв'язаних форм АБК у рослин цукрового буряка.

МЕТОДИКА

Рослини цукрового буряка гібрида Роберта вирощували у вегетаційних посудинах місткістю 32 кг ґрунту з додаванням поживної суміші ВНІС. Застосовували нижній полив, вологість ґрунту протягом вегетації підтримували на рівні 60% від повної вологоємності. Обробку рослин здійснювали водним розчином 0,025%-ного паклобутразолу – [(2RS,3RS)-1-(4-хлорфеніл)-4,4-диметил-2-(1,2,4-триазол-1-ил)-

Адреса для кореспонденції: Кур'ята Володимир Григорович, Вінницький державний педагогічний університет ім. М. Коцюбинського, вул. Острозького, 32, Вінниця, 21100, Україна;
e-mail: vspun@sovamua.com

ШЕВЧУК, КУР'ЯТА

пентан-3-ол] виробництва фірми “Imperial Chemical Industries PLC” (Великобританія), у період утворення 20-22 листків. Після виявлення чіткого рістінгібуючого ефекту (зменшення довжини листків дослідного варіанта на 20-25% порівняно з контролем) для визначення різних форм абсцизової кислоти та активності гіберелінів листки фіксували рідким азотом і зберігали до аналізу у холодильній камері при -25°C .

Фітогормони із рослинних субстратів тричі екстрагували 80% етиловим спиртом з антиоксидантом 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенолом протягом 24 год. Спиртовий екстракт випарювали до водної фракції, яку заморожували. Для виділення фітогормонів водну фракцію розморозували, підкислювали розчином 2 н соляної кислоти до рН 2,8-3,0 і центрифугували 20 хвилин за температури 0°C зі швидкістю 15000 об/хв. Для подальших досліджень АБК та гіберелінів використовували надосадову рідину.

Вільні форми АБК тричі екстрагували очищеним діетиловим ефіром (співвідношення 1:1). Виділення зв'язаних форм АБК проводили за допомогою кислотно-лужної переекстракції [14].

До водного залишку додавали 0,1 н NaOH у 30%-ному етанолі, гідроліз проводили протягом 3 год. Після охолодження реакційну суміш підкислювали до рН 3,0 розчином 2 н соляної кислоти і тричі екстрагували діетиловим ефіром. Об'єднані ефірні фракції вільних і зв'язаних форм АБК очищали за допомогою 0,5 М розчину дигідрофосфату калію. Потім рН розчину доводили до 3,0 і тричі екстрагували гормони діетиловим ефіром. Об'єднані ефірні екстракти випарювали при $+40^{\circ}\text{C}$.

Сухий екстракт розчиняли у 96%-ному

етанолі і наносили на пластинки TLC Silicagel 60 F 254 (“Aldrich”, США). Тонкошарову хроматографію проводили у системі розчинників етилацетат – хлороформ - льодяна оцтова кислота (70:30:5 за об'ємом). Зони хроматограм, які відповідали R_f стандарту АБК (“Sigma”, США), елюювали 80%-ним етанолом та випарювали досуха під вакуумом.

Ідентифікували та кількісно визначали фітогормони методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) на хроматографі фірми Beckman Gold System (USA). Умови хроматографії: ізократична елюція 20%-ним метанолом, швидкість потоку – 2 мл/хв, довжина хвилі для АБК– 254 нм, колонка Servachrom Packing:Si 100:Polyol:RP 185 μm [9].

Вільні форми гіберелінів виділяли тричі із супернатанту екстракцією етилацетатом при рН 2,8. Зв'язані форми були екстраговані бутанолом. Активність гіберелінів (в еквіваленті до ГК₃) визначали методом біотесту за допомогою калібрувальної кривої, побудованої на основі активації росту гіпокотилів салату сорту Кучерявець одеський гібереловою кислотою ГК₃ (“Sigma”, США) [9].

Одержані матеріали оброблені статистично. В таблиці і на діаграмі представлені середньоарифметичні значення та їх стандартні похибки.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

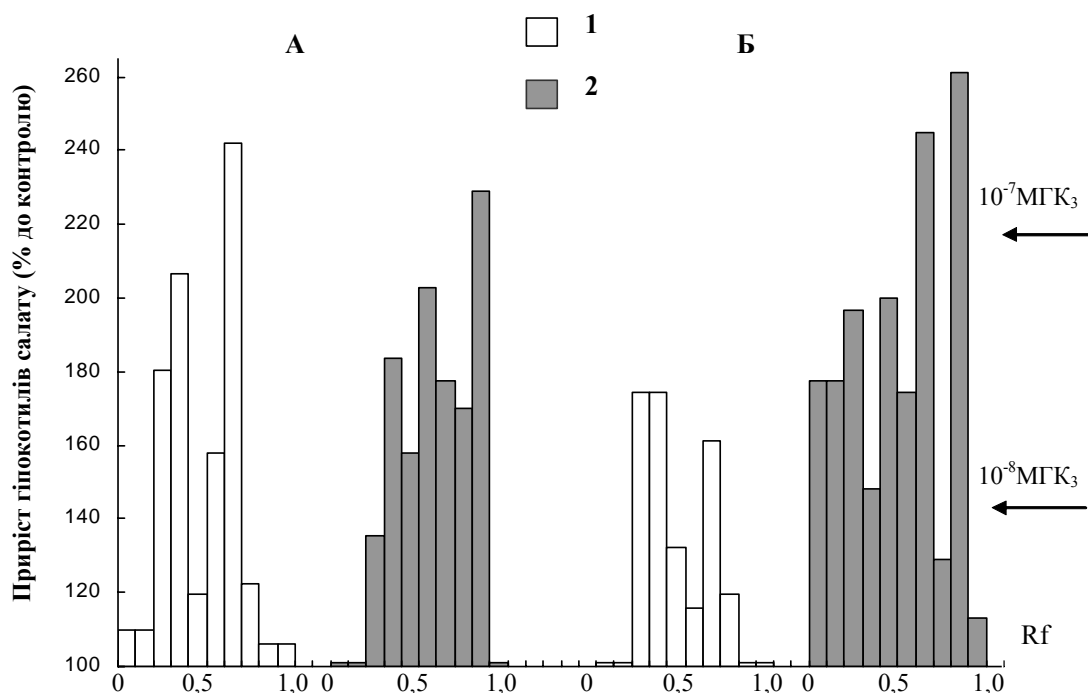
Проведені нами дослідження впливу 0,025%-ного паклобутразолу на активність гіберелінів у листках рослин цукрового буряка свідчать, що ретардант істотно зменшував активність вільних форм гіберелінів порівняно з контролем (таблиця). Аналогічні результати отримані і в роботах інших авторів. Так, під

Вплив паклобутразолу на активність гіберелінів і вміст різних форм АБК в листках рослин цукрового буряка гібрида Роберта

Показники	Контроль	0,025%-ний паклобутразол
Активність вільних гіберелінів, нг-екв. ГК ₃ /г сирової речовини	117,4±10,05	*32,9±0,40
Активність зв'язаних гіберелінів, нг-екв. ГК ₃ /г сирової речовини	127,8±9,35	*281,7±13,22
Вільна АБК, нг/г сирової речовини	88,6±2,57	*104,7±1,43
Зв'язана АБК, нг/г сирової речовини	132,6±10,05	*72,4±2,54

* - різниця між контролем і дослідом вірогідна для $P \leq 0,05$

ВПЛИВ ПАКЛОБУТРАЗОЛУ



Вплив паклобутразолу на активність вільних (1) і зв'язаних (2) гіберелінів у листках рослин цукрового буряка гібрида Роберта: А – контроль, Б – 0,025%-ий паклобутразол.

впливом уніконазолу спостерігалось зменшення активності вільних гіберелінів у проростках томатів [16].

Відомо, що зв'язані гібереліни можуть виявляти значну функціональну активність. За обробки рослин малини паклобутразолом чіткої залежності між дією цього ретарданту і вмістом кон'югованих форм гіберелінів у листках не спостерігалось. Так, при зменшенні площі листової поверхні паклобутразол викликав збільшення вмісту зв'язаних форм гормону [8].

Наші дослідження свідчать, що під впливом 0,025%-ного паклобутразолу у листках цукрового буряка вміст зв'язаних форм гіберелінів різко зростає (таблиця, рисунок). На нашу думку, це свідчить про те, що зменшення активності гіберелінів під впливом паклобутразолу досягається не лише інгібуванням його біосинтезу, але й переходом вільних гіберелінів в кон'юговані форми.

Аналіз гістограм активності вільних і зв'язаних гіберелінів свідчить також про перерозподіл активності різних фракцій (за значенням Rf) за дії ретарданту (рисунок).

Відомо, що абсцизова кислота контролює процеси росту і розвитку, поділу клітин, водний обмін, експресію генів у період формування насіння [10]. Виявлено, що дія АБК може

виявлятися як у стимуляції, так і у гальмуванні ростових процесів [13].

Роль абсцизової кислоти у регуляції ростових процесів рослин за дії ретардантів з'ясована не достатньо. Так, у ряду культур спостерігалось збільшення вмісту абсцизової кислоти під впливом різноманітних ретардантів [2]. Однак, під дією паклобутразолу вміст АБК зменшувався в проростках пшениці, листках сіянців яблуні за водного стресу [7].

У листках малини відзначалось суттєве підвищення вмісту АБК за рахунок вільної форми під впливом паклобутразолу, який блокує синтез гіберелінів [8].

Разом з тим, дані про вплив ретардантів різної хімічної природи на вміст АБК в літературі відсутні. У зв'язку з цим, доцільне вивчення впливу ретарданту на вміст різних форм АБК при одночасній оцінці активності гіберелінів, оскільки гібереліни і абсцизова кислота мають єдиний шлях синтезу. Отримані нами результати свідчать про збільшення вмісту вільної форми АБК у листках цукрового буряка під впливом паклобутразолу, а вміст зв'язаної форми АБК зменшувався (таблиця). Можливо, це пов'язано з тим, що в синтезі терпенів в рослині існує метаболічна вилка, на кінцях якої, залежно від фізіологічних умов, утворюються

гормони з різними знаками дії – абсцизова кислота і гібереліни [4]. Оскільки ретарданти не блокують утворення фарнезилпірофосфату – попередника АБК, а виявляють свою дію на більш пізніх етапах біосинтезу дитерпенів (гіберелінів), відбувається зміщення синтезу у бік сесквітерпенів (АБК) незалежно від каротиноїдного або некаротиноїдного шляхів синтезу гормонів. Виявлено, що блокування синтезу геранілгеранілпірофосфату не може призвести до гальмування синтезу обох класів сполук, оскільки утворення АБК відбувається на більш ранньому етапі через фарнезилпірофосфат [13].

Таким чином, обробка рослин цукрового буряка 0,025%-ним паклобутразолом у період утворення 20-22 листків призводить до істотних змін у гормональному комплексі рослини. Відбувається зменшення активності вільних гіберелінів за одночасного зростання активності зв'язаних форм гормону. Обробка ретардантом призводила також до збільшення вмісту вільної АБК і зменшення кількості зв'язаної форми АБК в листках.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Вайшла О.Б.* Гормональная регуляция продуктивного процесса хлорофильных мутантов 2004 и 2014 гороха и гетерозисного гибрида ТХМ-2004 // Физиология и биохимия культ. растений. – 2003. – Т. 35, №4. – С. 358-366.
2. *Волкова Р.И., Алексеева Т.Ф., Дроздов С.И.* Влияние ретардантов на начальную низкотемпературную адаптацию огурца // Физиология растений. – 1996. – Т. 43, №4. – С. 581-586.
3. *Иванова А.Б., Анцигина Л.Я., Ярин А.Ю.* Современные аспекты изучения фитогормонов // Цитология. – 1999. – Т. 41, №10. – С. 835-847.
4. *Кефели В.И., Коф Э.М., Власов П.В., Кислин Е.Н.* Природный ингибитор роста – абсцизовая кислота. – М.: Наука, 1989. – 184 с.
5. *Кірізії Д.А., Гуляєв Б.І., Кур'ята В.Г., Шевчук О.А.* Спосіб підвищення маси та цукристості коренеплодів цукрових буряків. Патент №41162 А, 2001.
6. *Киризий Д.А., Гуляев Б.И.* Оценка потенциальных возможностей фотосинтетического аппарата сахарной свеклы при искусственной дефолиации // Физиология и биохимия культ. растений. – 1994 - Т. 27, № 4.- С. 368-373.
7. *Косаківська І.В.* Роль білків та фітогормонів у загальній стратегії адаптації рослин до стресів // Там же. – 2003. – Т. 35, №6. – С. 517-527.
8. *Кур'ята В.Г.* Фізіолого-біохімічні механізми дії ретардантів і етиленпродуцентів на рослини ягідних культур: Дис ... докт. біол. наук. – К., 1999. – 318 с.
9. *Методические рекомендации по определению фитогормонов.* – Киев: Наук. думка, 1988. – 78 с.
10. *Шевчук О.А.* Дія ретардантів на морфогенез, газообмін і продуктивність цукрових буряків: Дис ... канд. біол. наук. – К., 2005. – 156 с.
11. *Aach H., Bode H., Robinson D., Graede J.* Ent-Kaurene synthase is located in proplastids of meridtematic shoot tissues // Planta. – 1997. – V. 202, №3 – P. 211-219.
12. *Grossmann K., Kwiatkowski J., Hauser C., Siefert F.* Influence of the triazole growth retardant BAS 111.W on phytohormone levels in senescing intact pods of oilseed rape // Plant Growth Regul. – 1994. – V. 14, №2. – P. 115-118.
13. *Rademacher W.* Growth Retardants: Effects on Gibberellin Biosynthesis and Other Metabolic Pathways // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 2000. – V. 51. – P. 501-531.
14. *Ryynanen L.* Effect of abscisic acid, cold hardening, and photoperiod on recovery of cryopreserved in vitro shoot tips of silver birch // Cryobiology. – 1998. – V. 36, № 1. – P. 32-39.
15. *Sembdner G., Schneidder G., Schreiber K.* Methoden zur Pflanzenhor-monanalyse. - Jena: Fischer Verlag, 1988. – 296 p.
16. *Yamaji H., Katsura N., Nishijima T., Koshioka M.* Effects of soil-applied uniconazole and prohexadione calcium on the growth and endogenous gibberellin content of Lycopersicon esculentum Mill. seedlings // Plant Physiol. – 1991. – V. 138, № 6. – P. 763-776.

*Надійшла до редакції
04.11.2006 р.*

ВПЛИВ ПАКЛОБУТРАЗОЛУ

INFLUENCE OF PACLOBUTRAZOL ON GIBBERELLINS ACTIVITY AND CONTENTS OF DIFFERENT FORMS OF ABSCISIC ACID IN THE SUGAR BEET LEAVES

O. A. Shevchuk, V. G. Kuryata

*M. Kotsyubynsky Vinnitsia State Pedagogical University
(Vinnitsa, Ukraine)*

It was stated that treatment of the Roberta variety sugar beet plants with 0,025% of paclobutrazol within the period of the 20-22 leaves shaping caused lessening of the free gibberellins activity, increase of the free AA content and decrease of the bound forms of AA in leaves.

Key words: *Beta vulgaris L., retardants, gibberellins, abscisic acid*

ВЛИЯНИЕ ПАКЛОБУТРАЗОЛА НА АКТИВНОСТЬ ГИББЕРЕЛЛИНОВ И СОДЕРЖАНИЯ РАЗНЫХ ФОРМ АБЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ В ЛИСТЯХ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

О. А. Шевчук, В. Г. Курьята

*Винницкий государственный педагогический университет им. М. Коцюбинского
(Винница, Украина)*

Установлено, что обработка растений сахарной свеклы гибрида Роберта 0,025%-ным паклобутразолом в период образования 20-22 листьев вызывала уменьшение активности свободных гиббереллинов, увеличение содержания свободной АБК и уменьшение связанной формы АБК в листьях.

Ключевые слова: *Beta vulgaris L., ретарданты, гиббереллины, абсцизовая кислота*