

УДК 581.132.1

О. А. Шевчук

Вінницький державний педагогічний університет імені Михайла Коцюбинського

21100 Вінниця, вул. Острозького, 32

ВПЛИВ ПАКЛОБУТРАЗОЛУ НА АКТИВНІСТЬ ГІБЕРЕЛІНІВ, ВМІСТ РІЗНИХ ФОРМ АБСЦИЗОВОЇ КИСЛОТИ ТА НАКОПИЧЕННЯ АЗОТУ В ОРГАНАХ РОСЛИН ЦУКРОВОГО БУРЯКА

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

Регуляція і координація основних функцій рослин (ріст, розвиток, фотосинтез, транспорт асимілятів, водообмін тощо) знаходиться під гормональним контролем [2, 10]. Дія регуляторів росту на комплекс фітогормонів виділяється специфічними особливостями, характерними для тої чи іншої групи фізіологічно активних сполук. Так, триазолпохідні препарати (паклобутразол, уніконазол, азовіт (тріадіферон), BAS 11 та інші) переривають ферментативний синтез гіберелінів на етапах утворення копалілпірофосфату і кауренової кислоти [13]. Етиленпродуценти на відміну від триазолпохідних препаратів інгібують утворення гормон-рецепторного комплексу [11].

Дані літератури про вплив різних за механізмом дії ретардантів на гормональний комплекс рослин досить суперечливі. Так, під впливом хлорхолінхлориду зменшувалася біологічна активність гіберелінів в проростках квасолі [14]; уніконазол пригнічував біосинтез гіберелової кислоти у проростків томатів [20]. Однак, було виявлено, що при обробці

ССС проростаючих бульб картоплі активність гіберелінів не зменшувалася, а збільшувалася, що пов'язано з переходом зв'язаних їх форм у вільні [8].

Роль абсцизової кислоти у регуляції ростових процесів рослин за дії ретардантів залишається остаточно не з'ясованою. Так, для ряду культур спостерігалось збільшення вмісту абсцизової кислоти під впливом різноманітних ретардантів [1]. Однак, під дією паклобутразолу вміст АБК зменшувався в проростках пшениці, листках сіянців яблуні при водному стресі [4]. Оскільки синтез гіберелінів і абсцизової кислоти являє собою єдиний шлях синтезу терпенів у рослині, метою нашої роботи було вивчення впливу препарату інгібіторного типу – паклобутразолу на активність гіберелінів та баланс вмісту вільних та зв'язаних форм АБК у рослин цукрового буряка.

Відомо, що ретарданти здатні регулювати ріст і різні фази онтогенезу рослин через біосинтез фітогормонів, а також проявляти фізіологічні ефекти, змінюючи основні сторони обміну речовин. Встановлено, що в період прояву рістгальмуючого ефекту ретардантів змінюється інтенсивність дихання [3], баланс фітогормонів [6], структура хлоропластів і мітохондрій, відбувається перерозподіл потоків асимілятів [3]. Безсумнівно, всі ці зміни повинні супроводжуватися і порушенням в білковому обміні різних тканин і органів рослин. В зв'язку з цим, нами проведено вивчення особливостей перерозподілу різних форм азоту в листках і коренеплодах цукрових буряків за дії паклобутразолу на кінець вегетації.

Матеріал і методика досліджень

Рослини цукрового буряка гібриду 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%-ого паклобутразолу – [(2RS,3RS)-1-(4-хлорфеніл)-4,4-диметил-2-(1,2,4-триазол-1-ил)-пентан-3-ол] виробництва

фірми “Imperial Chemical Industries PLC” (Великобританія), у період утворення 20-22 листків. Після виявлення чіткого рістгальмуючого 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-метилфенол протягом 24 год. Спиртовий екстракт випарювали до водної фракції, яку заморожували. Для виділення фітогормонів водну фракцію розморозували, підкислювали розчином 2н 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 ГПР 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 [17].

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

Сухий екстракт розчиняли у 96 % -му 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 (фірми “Sigma”, США), елюювали 80 %-м 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%-м метанолом, швидкість потоку – 2 мл/хв, довжина хвилі для АБК– 254 нм, колонка Servachrom Packing:Si 100:Polyol:RP 185 μm [7].

Вільні форми гіберелінів виділяли тричі із супернатанту екстракцією етилацетатом при рН 2,8. Зв'язані форми були екстраговані бутанолом. Активність гіберелінів (у еквіваленті до ГК₃) визначали методом біотесту за допомогою калібрувальної кривої, побудованої на основі активації росту гіпокотилів салату сорту Кучерявець одеський гібереловою кислотою ГК₃ (фірми “Sigma”, США) [7].

Вміст загального, білкового та небілкового азоту визначали за методом Кельдаля [9].

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

Результати досліджень та їх обговорення

Проведені нами дослідження впливу 0,025%-ого паклобутразолу на активність гіберелінів у листках рослин цукрового буряка свідчать, що ретардант суттєво зменшував активність вільних форм гіберелінів у порівнянні з контролем (табл. 1). Аналогічні результати отримані і в роботах інших авторів. Зокрема, при обробці молодих рослин пшениці сорту Карола 2-¹⁴C- мевалонатом спостерігалось зменшення вмісту мітки у вільних формах ГК₁ і ГК₃ під впливом ДХІБ і ССС, причому ДХІБ у два рази знижував утворення ГК₃, а хлорхолінхлорид – ГК₁ [12].

Встановлено, що зв'язані гібереліни можуть проявляти значну функціональну активність [14]. Наші дослідження свідчать, що під впливом 0,025%-ого паклобутразолу у листках цукрового буряка вміст зв'язаних форм гіберелінів різко зростає (табл. 1, див. мал.). На нашу думку, це свідчить про те, що зменшення активності гіберелінів під впливом паклобутразолу

**Вплив паклобутразолу на активність ГПР і вміст різних форм АБК в
листочках рослин цукрового буряка гібриду Роберта**

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

Примітка: Рослини обробляли 0,025%-им паклобутразолом у період утворення 20-22 листків; * - різниця із контролем вірогідна для P=0,05

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 (див. мал.). Аналогічні результати спостерігалися і у співвідношенні індивідуальних гіберелінів під впливом паклобутразолу у рослин ріпаку [19].

Відомо, що дія абсцизової кислоти може проявлятися як у стимуляції, так і у гальмуванні ростових процесів [17]. Дані про вплив ретардантів різної хімічної природи на вміст АБК в літературі відсутні. В зв'язку з цим, доцільне вивчення впливу ретарданту на вміст різних форм АБК при одночасному вивченні активності гіберелінів, оскільки синтез гіберелінів

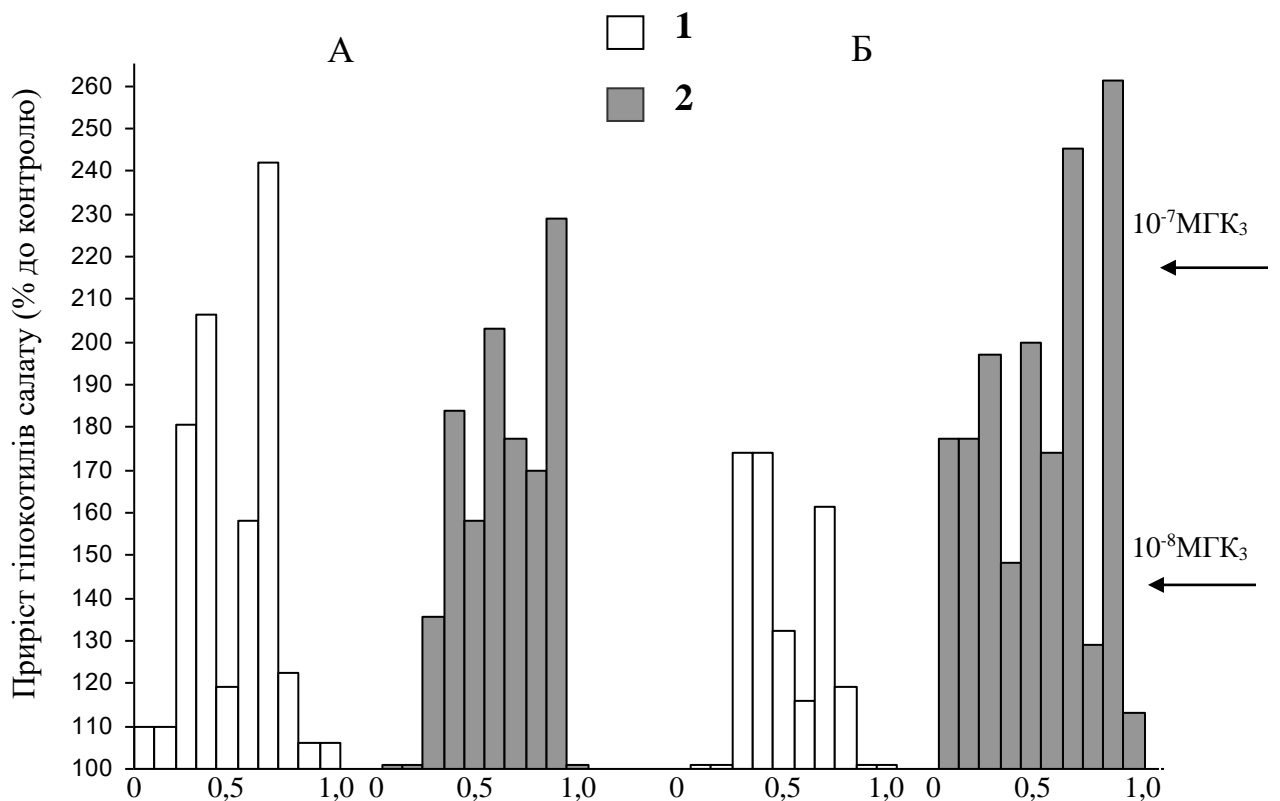


Рис. Вплив паклобутразолу на активність вільних і зв'язаних ГПР у листках рослин цукрового буряка гібриду Роберта; А – контроль, Б – 0,025%-ий паклобутразол; 1 – вільні форми ГПР, 2 – зв'язані форми ГПР.

і абсцизової кислоти являє собою єдиний шлях синтезу терпенів у рослині. Отримані нами результати свідчать про збільшення вмісту вільної форми АБК у листках цукрового буряка під впливом паклобутразолу, а вміст зв'язаної форми АБК зменшувався (табл. 1). Можливо, це пов'язано з тим, що в синтезі терпенів в рослині існує метаболічна вилка, на кінцях якої в залежності від фізіологічних умов утворюються гормони з різними знаками дії – абсцизова кислота і гібереліни. Оскільки ретарданти не блокують утворення фарнезилпірофосфату – попередника АБК, а проявляють свою дію на більш пізніх етапах біосинтезу дитерпенів (гіберелінів), відбувається зміщення синтезу у бік сексвитерпенів (АБК) незалежно від каротиноїдного або некаротиноїдного шляхів синтезу гормонів [16]. Виявлено, що блокування синтезу герангеранілпірофосфату не може призвести до

гальмування синтезу обох класів сполук, оскільки утворення АБК відбувається на більш ранньому етапі через фарнезилпірофосфат [15].

В зв'язку з важливим значенням азоту в ростових процесах рослин увага багатьох дослідників була повернута до особливостей впливу ретардантів на азотний обмін. Обмін сполук азоту при обробці рослин ретардантами достатньо вивчений на ягідних [6], злакових [5], бобових і ряді інших сільськогосподарських культур [18]. Разом з тим, в літературі відсутні відомості про вплив різних за характером дії ретардантів на азотний обмін цукрового буряка.

Отримані нами результати свідчать, що застосування паклобутразолу призводило до перерозподілу форм азоту в рослинах. В кінці вегетації в листках рослин, оброблених ретардантом, зменшувався вміст білкового і зростає вміст небілкового азоту, а в коренеплодах відбувалися протилежні зміни – збільшувався вміст білкового і зменшувався вміст небілкового азоту у порівнянні з контролем, при цьому цьому коренеплоди характеризувалися зниженням вмісту загального азоту (табл. 2). Відомо, що зменшення вмісту азоту є показником більш повного дозрівання коренеплодів. Отже, застосування паклобутразолу створює передумови для кращого дозрівання коренеплодів цукрового буряка.

Висновки

Таким чином, обробка рослин цукрового буряка 0,025%-им паклобутразолом у період утворення 20-22 листків призводить до суттєвих змін у гормональному комплексі рослини. Відбувається зменшення активності вільних гіберелінів при одночасному зростанні активності зв'язаних форм гормону у порівнянні з контролем. Обробка ретардантом призводила також до збільшення вмісту вільної АБК і зменшення зв'язаної форми АБК в листках. Знижувався вміст загального азоту в коренеплодах на кінець вегетації, що свідчить про більш повне їх дозрівання.

**Вплив паклобутразолу на вміст різних форм азоту органами
рослин цукрового буряка гібриду Роберта**

Показники	Варіанти дослідів	
	Контроль	0,025%-ий паклобутразол
Вміст загального азоту в листочках, % на суху речовину	2,49±0,016	2,50±0,004
Вміст білкового азоту в листочках, % на суху речовину	2,19±0,018	*2,06±0,020
Вміст небілкового азоту в листках, % на суху речовину	0,31±0,016	*0,44±0,004
Вміст загального азоту в коренеплодах, % на суху речовину	0,77±0,003	*0,73±0,003
Вміст білкового азоту в коренеплодах, % на суху речовину	0,36±0,003	0,38±0,008
Вміст небілкового азоту в коренеплодах, % на суху речовину	0,41±0,004	*0,35±0,012

Примітка: Рослини обробляли 0,025%-им паклобутразолом у період утворення 20-22 листків; * - різниця із контролем вірогідна для P=0,05

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. 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.
2. Иванова А.Б., Анцигина Л.Я., Ярин А.Ю. Современные аспекты изучения фитогормонов // Цитология. – 1999. – 41, №10. – С. 835-847.
 3. Кірізій Д.А. Фотосинтез і розпад асимілятів при донорно-акцепторних відносин у рослин з недетермінальним типом росту: Автореф. дис. ... д-ра біол. наук: 03.00.12 / Інститут фізіології рослин і генетики НАН України. – К., 2002. – 35 с.
 4. Косаківська І.В. Фітогормональна регуляція процесів адаптації рослин до стресів // Український ботанічний журнал. – 1997. – Т. 54, №4. – С. 330-333.
 5. Курчий Б.А. Применение ретардантов на посевах озимой ржи в зоне Полесья Украины // Физиология и биохимия культ. растений. – 1989. – Т. 21, №5. – С. 465-469.
 6. Кур'ята В.Г. Фізіолого-біохімічні механізми дії ретардантів і етиленпродуцентів на рослини ягідних культур: Дис. док. біол. наук: 03.00.12. – К., 1999. – 318 с.
 7. Методические рекомендации по определению фитогормонов. – Киев: Наук. думка, 1988. – 78 с.
 8. Прусакова Л.Д., Чижова С.И. Синтетические регуляторы онтогенеза растений // Итоги науки и техники. Физиология растений, Т. 7. – М.: Изд-во АН СССР, 1990. – С. 84-124.
 9. Разумов В.А. Массовый анализ кормов. – М.: Колос, 1982. – 176 с.
 10. Ситник К.М., Мусатенко Л.І., Мартин Г.І., Генералова В.М., Васюк В.А., Веденічева Н.П. Вплив водного дефіциту на ріст і фітогормональний комплекс первинного листка *Phaseolus vulgaris* L. у фазу поділу клітин // Український ботанічний журнал. – 2003. – Т. 60, №4. – С. 366-373.
 11. Скоробогатова И.В. Изменение активности эндогенных фитогормонов в онтогенезе растений ячменя // Гормональная регуляция ростовых

- процессов. – М.: МОПИ, 1985. – С. 16-21.
- 12.Эрдели Г.С., Хожайнова Г.Н., Шиллинг Г. Изобутираты – новый класс ретардантов. – Воронеж: Изд-во Воронеж. унив-та., 1992. – 157 с.
 - 13.Aach H., Bode H., Robinson D., Graede J. ent-Kaurene synthase is located in proplastids of meridtematic shoot tissues // *Planta*. – 1997. – Vol. 202, №3 – P. 211-219.
 - 14.Aach H., Bode H., Robinson D., Graede J. ent-Kaurene synthase is located in proplastids of meridtematic shoot tissues // *Planta*. – 1997. – Vol. 202, №3 – P. 211-219.
 - 15.Nawata E., Inden H., Asahira T. Effects of CCC on the occurrence of tomato puffi fruits and endogenous cytokinin activities. // *Sci. Hort. (Neth.)* . – 1985. – Vol. 26, №2. – P. 119-127.
 - 16.Rademacher W. Growth Retardants: Effects on Gibberellin Biosynthesis and Other Metabolic Pathways // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 2000. - Vol. 51. – P. 501-531.
 - 17.Ryynanen L. Effect of abscisic acid, cold hardening, and photoperiod on recovery of cryopreserved in vitro shoot tips of silver birch // *Cryobiology*. – 1998. – Vol. 36, № 1. – P. 32-39.
 - 18.Sharma R., Kwon E.O. Effect of growth regulators on nobulation and some biochemical parameters in soybean // *Plant Physion. Biochem.* – 1987. – Vol. 14, №2. – P. 146-152.
 - 19.Tisio R., Goleniowski M. Neuvelles preuves de la nature gibberellinique du “factor racinaire” qui retarde la Tubérisation de germts de Pomme de terre cultives in Vitro // *C.r. Asad. Sci.* – 1985. – Vol. 3, № 13. – P. 499-502.
 - 20.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. – Vol. 138, № 6. –P. 763-776.

**INFLUENCE OF PACLOBUTRAZOL ON GIBBERELLINS
ACTIVITY, CONTENTS OF DIFFERENT FORMS OF ABSCISIC ACID
AND ACCUMULATION OF NITROGEN IN THE ORGANS OF SUGAR
BEET PLANTS**

O.A. Shevchuk

M. Kotsyubynsky Vinnitsia State Pedagogical University

It was stated that treatment of the Roberta variety sugar beet plants with 0,025% of paclobutrazol within the period of the 20th-22nd 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. The contents of geneval nitrogen in the sugar beetroots decreased at the end of vegetation which evidence of their better ripening.

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