

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY OF PLANTS

УДК 581.1:577.175.1:633.491
doi: 10.21685/2307-9150-2024-4-8

Динамика содержания фитогормонов и интенсивности дыхания в материнском клубне в процессе вегетации растений картофеля

Т. И. Пузина¹, И. Ю. Макеева²

¹Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева, Орел, Россия

²Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

¹tipuzina@gmail.com, ²makeevainna@inbox.ru

Аннотация. *Актуальность и цели.* Содержание фитогормонов в клубнях картофеля в основном изучается в процессе их инициации и дальнейшего роста. Между тем представляет интерес исследование динамики содержания фитогормонов не только в молодых клубнях, но и в материнских (посадочных), так как известно, что они являются поставщиками не только питательных веществ, но и фитогормонов. Однако имеющиеся сведения касаются изучения содержания только одной или двух групп фитогормонов до инициации клубнеобразования. В последующий период вегетации растений их гормональный статус не исследован. Цель настоящей работы состояла в изучении четырех групп фитогормонов (гиббереллинов, ауксинов, цитокининов, абсцизовой кислоты) в материнском клубне, начиная от его посадки и заканчивая 25 сутками после фазы цветения. Одновременно исследовали интенсивность процесса дыхания данных клубней. *Материалы и методы.* Объектом исследования служили материнские клубни картофеля сорта Скороплодный. Растения выращивали в почвенной культуре в условиях вегетационного домика. Содержание ауксинов, цитокининов и абсцизовой кислоты определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Содержание гиббереллиновой кислоты определяли методом биотестирования с использованием проростков гороха сорта Шустрик. В качестве стандартных растворов использовали индолилуксусную кислоту, зеатин, гибберелловую кислоту, абсцизовую кислоту. Интенсивность дыхания определяли по количеству выделяющегося CO₂ в приборе для наблюдения газообмена методом титрования. Достоверность результатов оценивали с помощью критерия Стьюдента. *Результаты.* Исследование выявило снижение в материнском клубне гибберелловой кислоты на 30 % через 39 суток после посадки, а между 15 сутками после появления всходов до бутонизации – почти в два раза. После цветения содержание гиббереллиновой кислоты не обнаружено. Содержание индолилуксусной кислоты, в отличие от гибберелловой кислоты, в процессе вегетации растений уменьшалось постепенно. Через 25 суток после цветения оно снизилось на 38 %

от исходного. На фоне уменьшения ауксинов и гиббереллинов снизилась интенсивность дыхания материнского клубня. Цитокинины (зеатин) содержались в ничтожно малом количестве. Их уровень в процессе вегетации не изменился. Количество абсцизовой кислоты после цветения уменьшилось в два раза. *Выводы.* Делается вывод о разной степени мобилизации четырех групп фитогормонов из материнского клубня в процессе вегетации растений картофеля.

Ключевые слова: гибберелловая кислота, ИУК, зеатин, АБК, интенсивность дыхания, фазы вегетации, материнский клубень, картофель

Для цитирования: Пузина Т. И., Макеева И. Ю. Динамика содержания фитогормонов и интенсивности дыхания в материнском клубне в процессе вегетации растений картофеля // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2024. № 4. С. 73–80. doi: 10.21685/2307-9150-2024-4-8

Dynamics of phytohormone content and respiration intensity in the mother tuber during the vegetation of potato plants

T.I. Puzina¹, I.Yu. Makeeva²

¹Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia

²South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

¹tipuzina@gmail.com, ²makeevainna@inbox.ru

Abstract. *Background.* The content of phytohormones in potato tubers is mainly studied during their initiation and further growth. Meanwhile, it is of interest to study the dynamics of phytohormones not only in young tubers, but also in maternal (planting) tubers, since they are known to supply not only nutrients, but also phytohormones. However, the available information concerns the study of the content of only one or two groups of phytohormones before the initiation of tuber formation. In the subsequent period of plant vegetation, their hormonal status has not been studied. The purpose of this work was to study four groups of phytohormones (gibberellins, auxins, cytokinins, abscisic acid) in the maternal tuber, starting from its planting and ending 25 days after the flowering phase. At the same time, the intensity of the respiration process of these tubers was studied. *Materials and methods.* The object of the study were maternal tubers of the Skoroplodny potato variety. The plants were grown in soil culture in a vegetation house. The content of auxins, cytokinins, and abscisic acid was determined by solid-phase enzyme immunoassay. The content of gibberellic acid was determined by biotesting using Shustrik pea sprouts. IAA, zeatin, GA, and ABA were used as standard solutions. The respiration rate was determined by the amount of CO₂ released in devices for monitoring gas exchange using the titration method. The reliability of the results was assessed using the Student's criterion. *Results.* The study revealed a 30 % decrease in gibberellic acid in the mother tuber 39 days after planting, and an almost twofold decrease between 15 days after emergence and budding. No GA content was detected after flowering. The content of IAA, unlike gibberellic acid, decreased gradually during plant vegetation. 25 days after flowering, it decreased by 38 % of the initial value. Against the background of a decrease in auxins and gibberellins, the intensity of respiration of the mother tuber decreased. Cytokinins (zeatin) were contained in an insignificant amount. Their level did not change during vegetation. The amount of ABA after flowering decreased by half. *Conclusions.* A conclusion is made about different degrees of mobilization of four groups of phytohormones from the mother tuber during the vegetation of potato plants.

Keywords: gibberellic acid, IAA, zeatin, ABA, respiration rate, vegetation phases, mother tuber, potato

For citation: Puzina T.I., Makeeva I.Yu. Dynamics of phytohormone content and respiration intensity in the mother tuber during the vegetation of potato plants. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki* = *University proceedings. Volga region. Natural sciences*. 2024;(4):73–80. (In Russ.). doi: 10.21685/2307-9150-2024-4-8

Введение

Содержание фитогормонов в клубнях картофеля в основном изучается в процессе их инициации и дальнейшего роста в разные фазы вегетации растений [1–3]. Между тем представляет интерес исследование динамики фитогормонов не только в молодых клубнях, но и в материнских (посадочных), так как известно, что они являются поставщиками как питательных веществ, так и фитогормонов [4, 5].

Имеющиеся в литературе сведения не многочисленны и касаются изучения содержания одной или двух групп фитогормонов в материнском клубне на 28–40 день прорастания клубней, т.е. только до инициации клубнеобразования [4, 6]. В последующий период вегетации их гормональный статус практически не изучался. В связи с этим цель настоящей работы состояла в изучении содержания четырех групп фитогормонов (гибберелловой кислоты (ГК), индолилуксусной кислоты (ИУК), зеатина, абсцизовой кислоты (АБК)) в материнском клубне, начиная от его посадки и заканчивая 25 сутками после фазы цветения. Одновременно исследовали интенсивность процесса дыхания данных клубней.

Материалы и методы

Объектом исследования служили материнские клубни картофеля сорта Скороплодный селекции ФИЦ КХ имени А. Г. Лорха (Коренево, Россия). Растения выращивали в почвенной культуре в условиях вегетационного домика на агробиостанции Орловского госуниверситета. В сосуде с 10 кг серой лесной среднесуглинистой почвы выращивали одно растение. В период закладки опыта в почву вносили оптимальное количество для картофеля азота, фосфора, калия, соответственно 2,3; 0,7; 3,1 г элемента на сосуд. Поддерживали влажность почвы 60 % от полной влагоемкости.

Фиксацию растительного материала для определения содержания фитогормонов проводили жидким азотом. Пробы высушивали лиофильно. Экстракцию фитогормонов проводили из одной навески 80 % этанолом. Содержание ИУК, зеатина, абсцизовой кислоты (АБК) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа [7]. После сорбирования белкового конъюгата гормона в лунки полистиролового планшета вносили сыворотку с антителами к соответствующему гормону, а затем раствор стандартного гормона или экспериментальных образцов. Количество антител, специфически связанных с белковым конъюгатом гормона, определяли с помощью антител барана против иммуноглобулинов кролика меченых пероксидазой. Для определения активности связавшейся пероксидазы использовали ортофенилендиамин. Интенсивность хромофорного ответа определяли на микрофотометре Dombiplate (Dia-M, Россия) при длине волны 492 нм. Для анализов использовали отечественные реактивы фирмы «Уралинвест» (Уфа). В качестве стандартных растворов фитогормонов были взяты ИУК, зеатин и АБК (Serva, Германия). Содержание гибберелловой кислоты определяли методом биологической пробы. В качестве биотеста использовали проростки гороха сорта Шустрик (ФГНБУ

ФНЦ ЗБК, Орел). Количество гибберелловой кислоты рассчитывали по калибровочной кривой, построенной для ГК (Phylaxia, Венгрия).

Интенсивность дыхания определяли в апикальной $\frac{1}{4}$ части посадочного клубня по количеству выделяющегося CO_2 в приборе для наблюдения газообмена (Физприбор, Россия) методом титрования.

На рисунках представлены средние арифметические и их стандартные ошибки из пяти биологических и пяти аналитических повторностей. Достоверность результатов оценивается с помощью критерия Стьюдента, считая достоверными различия при уровне доверительной вероятности выше 0,95.

Результаты и обсуждение

Полученные экспериментальные данные показывают уменьшение содержания гибберелловой кислоты в материнском клубне в процессе вегетации растения картофеля (рис. 1, *a*). Через 15 суток после появления всходов (39 суток от начала посадки клубней) ее количество снизилось на 30 %. В этот период начинается образование столонов.

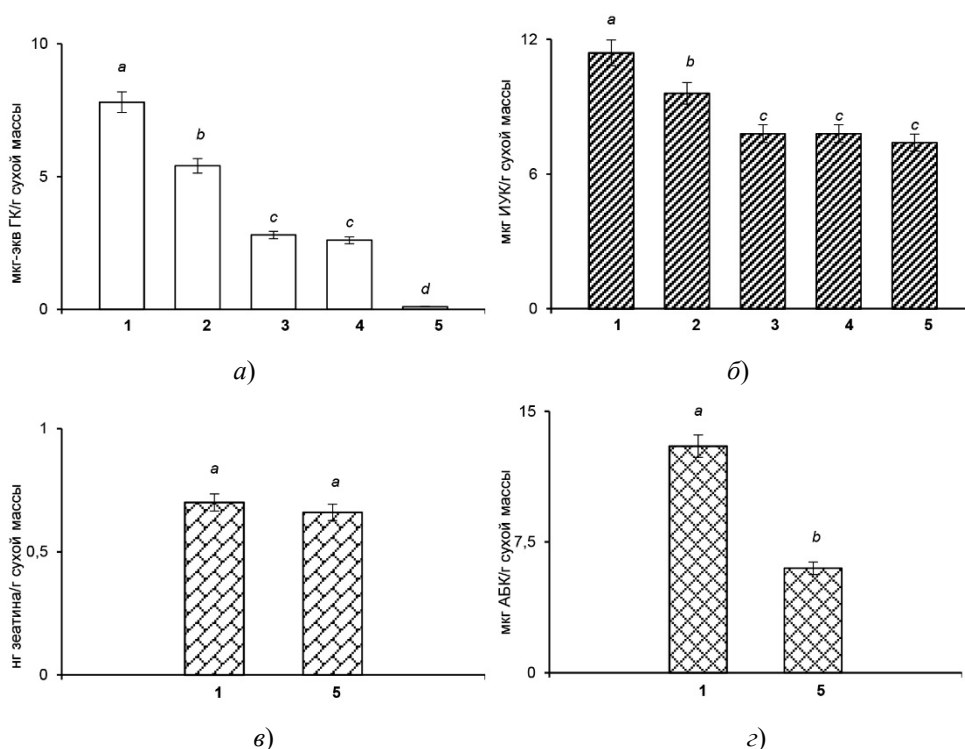


Рис. 1. Содержание фитогормонов в материнском клубне в процессе вегетации растений картофеля:

1 – посадочные клубни; 2 – через 15 суток после появления всходов;
3 – фаза бутонизации; 4 – фаза цветения; 5 – 25 суток после цветения;
a – гибберелловая кислота; *б* – ИУК; *в* – зеатин; *з* – АБК.

Одинаковыми латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми статистически не значимы ($p \leq 0,05$)

По данным Чайлахяна [1], образование и рост столонов регулируется гиббереллинами. Полученные авторами ранее данные также свидетельствуют

о наибольшем содержании гиббереллинов в столонах на данном этапе их онтогенеза [8]. К фазе бутонизации, когда заканчивается рост столона и происходит инициация клубнеобразования, содержание гибберелловой кислоты в материнском клубне резко снижается (почти в два раза), а после цветения уже не обнаруживается. Несколько иные данные получены Ботини и Тизио [4]. В их опытах активность гиббереллинов материнских клубней резко уменьшалась уже на 28 день прорастания. Полученные результаты могут свидетельствовать о мобилизации гиббереллинов из материнского клубня для образования и роста столонов.

Изменение содержания ауксинов в материнском клубне в процессе вегетации отличалось от гиббереллинов (рис. 1,б). На 39 день после посадки оно уменьшилось только на 19 %, а в фазу бутонизации, по сравнению с предыдущей, на 18 %. В дальнейшем содержание ИУК не изменялось. По-видимому, ауксины практически не мобилизуются из материнских клубней. В то же время в исследованиях [9] отмечено отсутствие ауксиновой активности уже на 30 день прорастания. Возможно, это связано с использованием метода биотестирования, который не всегда позволяет определить малые количества фитогормона. Другие сведения о содержании ауксинов в материнском клубне в процессе вегетации растений в литературе не найдены. Надо отметить, что ауксины необходимы для роста формирующихся молодых клубней. Это было показано как в исследованиях авторов [10], так и в работе Аксеновой с соавторами [3]. Одновременно авторами ранее выявлено изменение градиента ИУК в стебле картофеля после фазы бутонизации с базипетального на акропетальный, а именно накопление данного фитогормона в базальной части стебля [11]. Это может служить доказательством поступления ИУК в формирующиеся клубни из надземных органов.

Содержание цитокининов (зеатина) и абсцизовой кислоты определяли в посадочных клубнях и через 25 суток после цветения (рис. 1,в,г). Следует отметить ничтожно малое количество зеатина в материнском клубне (нг/г сухой массы), тогда как другие группы фитогормонов содержатся в микрограммах. В процессе вегетации растений содержание зеатина было практически неизменным, что может свидетельствовать об отсутствии участия цитокининов материнского клубня в регуляции процессов, происходящих как в надземных органах, так и в формирующихся клубнях. По-видимому, цитокинины поступают в основном из корневой системы – места их основного биосинтеза. В отличие от цитокининов количество абсцизовой кислоты после фазы цветения уменьшилось в два раза. Возможно, снижение уровня АБК в материнских клубнях в данный период вегетации растений связано с поступлением ее в молодые клубни. Имеются сведения [12], что АБК способствует биосинтезу крахмала в процессе роста клубней. Следует отметить, что в литературе отсутствуют сведения о содержании цитокининов и АБК в материнских клубнях картофеля. Лишь в одной работе [6] методом биотестирования показано незначительное изменение активности данных групп фитогормонов на 40 день прорастания клубней.

Вызывало интерес изучение интенсивности процесса дыхания материнских клубней в период окончания роста столонов и начала формирования молодых клубней на фоне той гормональной ситуации, которая складывается на данном этапе, так как известно, что дыхание во многом регулируется фитогормонами. Полученные результаты (рис. 2) свидетельствуют о снижении

процесса дыхания к фазе бутонизации на 40 %. По-видимому, это связано с некоторым уменьшением ауксинов и существенным гиббереллинов в данный период вегетации. В ранних работах авторами также выявлена меньшая интенсивность дыхания и сопряженность окисления и фосфорилирования в изолированных митохондриях апикальных глазков клубней картофеля с меньшей активностью ауксинов и гиббереллинов [13].

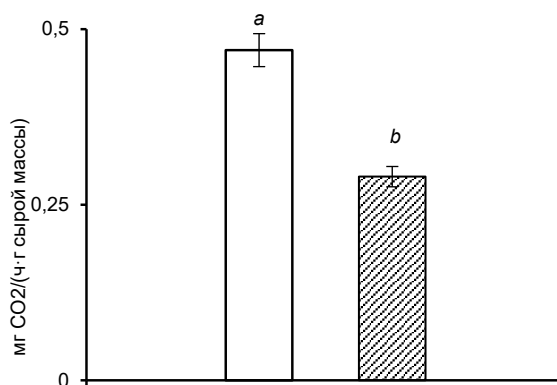


Рис. 2. Интенсивность дыхания материнских клубней. Одинаковыми латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми статистически не значимы ($p \leq 0,05$): □ – 15 суток после появления всходов; ▨ – фаза бутонизации

Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о специфическом изменении содержания четырех групп фитогормонов в материнском клубне в процессе вегетации растений картофеля. Установлено существенное снижение содержания гибберелловой кислоты к фазе бутонизации и отсутствие данного гормона после цветения. Содержание индолилуксусной кислоты постепенно уменьшалось к фазе бутонизации, а в последующем оставалось на одном уровне. Отмечено чрезвычайно малое содержание цитокининазеатина, которое не изменялось в процессе вегетации растений. Уровень абсцизовой кислоты уменьшился после цветения в два раза. Полученные результаты свидетельствуют о разной степени мобилизации изученных групп фитогормонов из материнского клубня по мере вегетации растений картофеля. Одновременно показано снижение интенсивности дыхания к фазе бутонизации на фоне значительного уменьшения гибберелловой кислоты и понижения уровня ИУК.

Список литературы

1. Чайлахян М. Х. Механизмы клубнеобразования у растений картофеля // Регуляция роста и развития картофеля / под ред. М. Х. Чайлахяна, А. Т. Мокроносова. М. : Наука, 1990. С. 48–62.
2. Ewing E. E., Struik P. C. Tuber formation in potato: induction, initiation and growth // Horticultural Reviews. 1992. Vol. 14. P. 89–198. doi: org/10.1002/9780470650923.ch.3
3. Aksenova N. P., Sergeeva L. I., Kolachevskaya O. O., Romanov G. A. Hormonal regulation in tuber formation in potato // Bulbous Plants. Biotechnology. NewYork ; London : CRCPress, 2014. P. 3–36. doi: 10.1201/8166136-3

4. Bottini A., Tizio R. Hormonal contribution of the mother tuber to growth, stolonization and tuberization of the potato plant (*Soanumtuberosum* L.) // *Fyton*. 1981. Vol. 41, № 1/2. P. 27–32.
5. Борзенкова Р. А., Боровкова М. П., Крылова Т. Н. Влияние материнского клубня на формирование гормонального статуса, рост и клубнеобразование у растений картофеля при засухе. Екатеринбург : Урал. ун-т, 1997. 48 с.
6. Цовян Ж. В., Петросян М. Т. Гормональные вещества материнского клубня картофеля и его роль в процессе клубнеобразования // *Регуляция роста и развития картофеля* / под ред. М. Х. Чайлахяна, А. Т. Мокроносова. М. : Наука, 1990. С. 78–82.
7. Веселов С. Ю. Использование антител для количественного определения, очистки и локализации регуляторов роста растений. Уфа : БГУ, 1998. 138 с.
8. Пузина Т. И. Гормональный статус столонов и клубней картофеля разной величины // *Регуляторы роста и развития растений : материалы второй конференции*. М. : МСХА имени К. А. Тимирязева, 1993. С. 80.
9. Цовян Ж. В., Мартиросян Г. С. Ауксиновая активность клубней картофеля и ее перераспределение в связи с прорастанием // *Вопросы биологии*. Ереван : ЕГУ, 1981. С. 115–121.
10. Пузина Т. И., Кириллова И. Г., Якушкина Н. И. Динамика индолилуксусной кислоты в органах картофеля на разных этапах онтогенеза и ее роль в регуляции роста клубня // *Известия АН. Серия биологическая*. 2000. № 2. С. 170–177.
11. Пузина Т. И., Кириллова И. Г. Градиенты содержания свободных фитогормонов в стебле картофеля в связи с клубнеобразованием // *Физиология растений*. 1996. Т. 43, № 6. С. 915–919.
12. Борзенкова Р. А., Боровкова М. П. Динамика распределения фитогормонов по различным зонам клубней картофеля в связи с ростом и запасанием крахмала // *Физиология растений*. 2003. Т. 50, № 1. С. 129–133.
13. Якушкина Н. И., Пузина Т. И. Изменение гормонального и энергетического обмена на первых этапах прорастания глазков картофеля // *Биологические науки*. 1977. № 2. С. 94–98.

References

1. Chaylakhyan M.Kh. Mechanisms of tuber formation in potato plants. *Regulyatsiya rosta i razvitiya kartofelya* = Regulation of growth and development of potatoes. Moscow: Nauka, 1990:48–62. (In Russ.)
2. Ewing E.E., Struik P.C. Tuber formation in potato: induction, initiation and growth. *Horticultural Reviews*. 1992;14:89–198. doi: org/10.1002/9780470650923.ch.3
3. Aksenova N.P., Sergeeva L.I., Kolachevskaya O.O., Romanov G.A. Hormonal regulation in tuber formation in potato. *Bulbous Plants. Biotechnology*. NewYork; London: CRCPress, 2014:3–36. doi: 10.1201/8166136-3
4. Bottini A., Tizio R. Hormonal contribution of the mother tuber to growth, stolonization and tuberization of the potato plant (*Soanumtuberosum* L.). *Fyton*. 1981;41(1/2):27–32.
5. Borzenkova R.A., Borovkova M.P., Krylova T.N. *Vliyanie materinskogo klubnya na formirovanie gormonal'nogo statusa, rost i klubneobrazovanie u rasteniy kartofelya pri zasukhe* = The influence of the mother tuber on the formation of hormonal status, growth and tuber formation in potato plants under drought. Ekaterinburg: Ural. un-t, 1997:48. (In Russ.)
6. Tsovyay Zh.V., Petrosyan M.T. Hormonal substances of the mother potato tuber and its role in the process of tuber formation. *Regulyatsiya rosta i razvitiya kartofelya* = Regulation of growth and development of potatoes. Moscow: Nauka, 1990:78–82. (In Russ.)
7. Veselov S.Yu. *Ispol'zovanie antitel dlya kolichestvennogo opredeleniya, ochistki i lokalizatsii regul'nyatorov rosta rasteniy* = Using antibodies for quantification, purification and localization of plant growth regulators. Ufa: BGU, 1998:138. (In Russ.)

8. Puzina T.I. Hormonal status of stolons and potato tubers of different sizes. *Regulyatory rosta i razvitiya rasteniy: materialy vtoroy konferentsii* = Plant growth and development regulators: proceedings of the second conference. Moscow: MSKhA imeni K.A. Timiryazeva, 1993:80. (In Russ.)
9. Tsovyan Zh.V., Martirosyan G.S. Auxin activity of potato tubers and its redistribution in connection with germination. *Voprosy biologii* = Biology questions. Erevan: EGU, 1981:115–121. (In Russ.)
10. Puzina T.I., Kirillova I.G., Yakushkina N.I. Dynamics of indoleacetic acid in potato organs at different stages of ontogenesis and its role in regulating tuber growth. *Izvestiya AN. Seriya biologicheskaya* = Proceedings of the Academy of Sciences. Biological series. 2000;(2):170–177. (In Russ.)
11. Puzina T.I., Kirillova I.G. Gradients of free phytohormones content in potato stems in relation to tuber formation. *Fiziologiya rasteniy* = Plant physiology. 1996;43(6):915–919. (In Russ.)
12. Borzenkova R.A., Borovkova M.P. Dynamics of distribution of phytohormones in different zones of potato tubers in connection with growth and starch storage. *Fiziologiya rasteniy* = Plant physiology. 2003;50(1):129–133. (In Russ.)
13. Yakushkina N.I., Puzina T.I. Changes in hormonal and energy metabolism in the early stages of potato eye germination. *Biologicheskie nauki* = Biological sciences. 1977;(2):94–98. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

Тамара Ивановна Пузина

доктор биологических наук, профессор,
профессор кафедры ботаники,
физиологии и биохимии растений,
Орловский государственный
университет имени И. С. Тургенева
(Россия, г. Орел, ул. Комсомольская, 95)
E-mail: tipuzina@gmail.com

Tamara I. Puzina

Doctor of biological sciences, professor,
professor of the sub-department of botany,
physiology and biochemistry of plants,
Orel State University
named after I.S. Turgenev
(95 Komsomolskaya street, Orel, Russia)

Инна Юрьевна Макеева

кандидат биологических наук, доцент,
доцент кафедры биохимии
имени Р. И. Лифшица,
Южно-Уральский государственный
медицинский университет
(Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64)
E-mail: makeevainna@inbox.ru

Inna Yu. Makeeva

Candidate of biological sciences,
associate professor, associate professor
of the sub-department of biochemistry
named after R.I. Lifshitz,
South Ural State Medical University
(64 Vorovskogo street, Chelyabinsk,
Russia)

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов /

The authors declare no conflicts of interests.

Поступила в редакцию / Received 24.11.2024

Поступила после рецензирования и доработки / Revised 16.12.2024

Принята к публикации / Accepted 25.12.2024