

## II skyrius. AUGALŲ FIZIOLOGIJA IR BIOTECHNOLOGIJA

### Chapter 2. PLANT PHYSIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY

ISSN 1392-3196

Žemdirbystė-Agriculture, t. 96, Nr. 3 (2009), p. 76–82

UDK 634.11:577.17:581.14

#### Skirtingos vainiko formos obelių hormonų kaita

Vidmantas BENDOKAS, Vidmantas STANYS

Lietuvos sodininkystės ir daržininkystės institutas

Kauno g. 30, Babtai, Kauno r. sav.

El. paštas: v.bendokas@lsdi.lt

#### Santrauka

Augalų augimas ir vystymasis priklauso nuo daugelio veiksnių – biotinių, abiotinių, genotipo, įvairių endogeninių signalų. Vieni svarbiausių augalo signalinių junginių yra hormonai. Obelys pagal vainiko formą yra skirstomos į keturis ideotipus – koloninį, *spur*, standartinį ir svyrantįjį. Darbo tikslas – ištirti fitohormonų balansą vegetacijos metu skirtingos vainiko architektūros obelių lapuose. Augalų hormonai identifikuoti efektyviosios skysčių chromatografijos metodu, naudojant standartines medžiagas. Tiriant skirtingos vainiko architektūros obelių hormonų kiekio kitimą vegetacijos metu, nustatyta fitohormonų koncentracijų koreliacija. Gauta tiesioginė giberelo rūgšties (GR<sub>3</sub>) bei zeatino (koreliacijos koeficientas 0,67) koreliacija ir atvirkštinė GR<sub>3</sub> bei absciso rūgšties (koreliacijos koeficientas –0,66) priklausomybė.

Koloninės vainiko formos obelys išsiskiria dideliu kiekiu auksino (IAR), didesniu nei esant kitoms formoms IAR bei zeatino santykiu ir truputį mažesniu GR<sub>3</sub> bei IAR santykiu. Svyrančios formos obelys išsiskyrė maža absciso rūgšties (AR) koncentracija ir didesniu IAR bei AR ir GR<sub>3</sub> bei IAR santykiu nei kitų vainiko formų obelys.

Reikšminiai žodžiai: augalų hormonai, efektyvioji skysčių chromatografija, ideotipas, *Malus x domestica* Borkh.

#### Įvadas

Augaluose aptinkami junginiai – augalų hormonai, kurių paskirtis yra kontroliuoti daugelį augalo augimo ir vystymosi fiziologinių procesų. Fitohormonai reguliuoja ląstelių dalijimąsi, augimą ir diferenciaciją, lemia augalo morfologinius požymius /Opik, Rolfe, 2005/. Augalų hormonams priklauso auksinai, citokininai, giberelo rūgštys, absciso rūgštis, etilenas, brasinosteroidai ir jazmoninė rūgštis. Jie aptinkami labai mažais kiekiais ir reguliuoja augalų fiziologinius procesus /Gray, 2004/. Pirmasis identifikuotas augalo hormonas yra auksinas – indolil-3-acto rūgštis (IAR). IAR sintetinamas ūglių viršūnėse bei jaunuose lapuose /Ljung et al., 2001/ ir per parenchimą yra nugabenamas į kitus organus /Blakeslee et al., 2005/. Auksinai stimuliuoja ląstelių augimą ir dalijimąsi, slopina šoninių ūglių formavimąsi, lapų senėjimą, derėjimą ir kitus procesus /Davies, 2004/. Aukštesniuose augaluose labiausiai paplitę trys citokininai – izopentenil

adeninas (iPa), zeatinas (Z) ir dihidrozeatinas (dZ) /Ongaro, 2007/. Citokininiai sintetiniai šaknyse ir ūgliuose. Jie tiesiogiai skatina ūglių tįsimą, lapų augimą, taip pat slopina apikalinį dominavimą ir skatina šoninių ūglių augimą /Davies, 2004/. Augaluose, grybuose ir bakterijose nustatytos 136 giberelo rūgštys (GR), tačiau iš jų tik kelios (GR<sub>1</sub>, GR<sub>3</sub>, GR<sub>4</sub> ir GR<sub>7</sub>) funkcionuoja kaip bioaktyvūs hormonai /Murase et al., 2008/. Giberelo rūgštys skatina augalo kamieno, šaknų bei vaisių augimą, sėklų dygimą, žydėjimą ir žiedyno formavimąsi. Giberelo rūgščių biosintezės sutrikimai inhibuoja augalų augimą, jie tampa nykštukiniai /Martin et al., 1997/. Abscizo rūgštis (AR) vaidina svarbų signalinį vaidmenį augale: ji reguliuoja sėklų dygimą ir tolesnį augimo procesą bei atsaką į aplinkos stresą – sausrą, šaltį, druskas ir pažeidimus /Christmann et al., 2006/. AR specifiskai indukuoja varstomųjų žiotelių ląstelių veiklą.

Augalo hormonų sistema yra labai sudėtinga. Jos atskirų komponentų raiška priklauso nuo biotinių ir abiotinių veiksnių, jie gali aktyvuoti, slopinti arba papildyti vienas kito poveikį. Plačiausiai tyrinėta modelinio augalo – baltažiedžio varenio (*Arabidopsis thaliana*) – hormonų sistema /Ljung et al., 2001; Lucas et al., 2008/. Sodo augalų tyrinėjimai dažniausiai apsiriboja etileno tyrimais dėl jo vaisių nokimą lemiančio poveikio. Svarbu tirti ir kitus hormonus, jų santykį sodo augaluose, lemiančius medžio, jo ūglių, lapų, žiedų bei vaisių augimą ir vystymąsi, nuo kurių priklauso jo vainiko forma /Ongaro, 2008/. Y. Lespinasse'as obelis suskirstė į keturis architektūrinius ideotipus – koloninį, *spur*, standartinį ir svyrantįjį /Lespinasse, 1992/.

Darbo tikslas – ištirti fitohormonų balansą vegetacijos metu skirtingos vainiko architektūros obelių (*Malus x domestica* Borkh.) lapuose.

### Sąlygos ir metodai

Tyrimai atlikti 2008–2009 m. Lietuvos sodininkystės ir daržininkystės institute. Tirtos skirtingos vainiko architektūros obelių veislės – koloninės obelys B-0968 ('Tuscan' hibridas iš Švedijos) ir LSDI sukurtas hibridas Co17-39-52; *spur* derėjimo tipo veislės 'Katja' bei 'Geven Smith Spur'; standartinio vainiko veislės 'Aldas', 'Orlovim' bei 'Rubin' ir svyrančiojo ideotipo veislės 'Podsniežnik B1260' bei 'Podsniežnik B1267'.

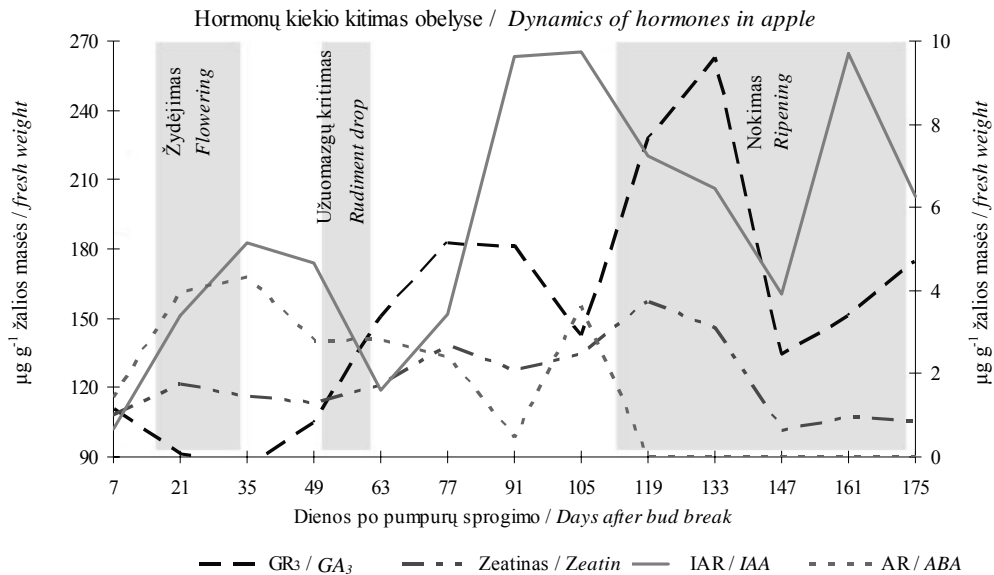
Hormonų analizei lapai imti kas 14 dienų, po pumpurų sprogoimo praėjus 7 dienoms. Tirti jauni lapai (4–5 lapas nuo ūglio viršūnės) iš vidinės vainiko dalies (1,2 m aukštyje iš pietų pusės). Nuskinti lapai iš karto užšaldyti. Ekstrakcija vykdyta pagal modifikuotą Y. Wango ir kt. metodiką /Wang et al., 2003/.

Augalų hormonai nustatyti efektyviosios skysčių chromatografijos metodu. Fitohormonų analizei naudotas chromatografas „Agilent 1200“ („Agilent Technologies Inc.“, Vokietija) su diodų matricos detektoriumi. Zeatinas (Z), giberelo rūgštis 3 (GR<sub>3</sub>) ir indolil-3-acto rūgštis (IAR) nustatyta esant 254 nm, o abscizo rūgštis (AR) – esant 280 nm bangos ilgiui. Judrioji fazė A – 50 % metanolis („Sigma-Aldrich“, Vokietija), B – 50 % metanolis + 1,2 % acto rūgštis („Sigma-Aldrich“, Vokietija). Skirstymas atliktas kolonėle „Eclipse XDB C18“ (4,6 x 150 mm) („Agilent Technologies Inc.“, Vokietija), taikant gradientinį režimą: 0 min 50 % B, 3 min 50 % B, 7 min 60 % B, 8 min 50 % B, 10 min 50 % B. Hormonams kokybiškai ir kiekybiškai įvertinti naudoti standartai IAR, Z, GR<sub>3</sub> („Duchefa“, Olandija), AR („Alfa Aesar GMBH“, Vokietija).

Augalų hormonų kaupimosi dinamikos duomenys įvertinti dispersinės analizės metodu, naudojant *Anova* /Tarakanovas, Raudonius, 2003/ ir *Microsoft Excel* programų paketus.

## Rezultatai ir jų aptarimas

Nustatyta, kad įvairiais vegetacijos tarpsniais obelų lapuose yra nevienodas fitohormonų kiekis. Obelų žydėjimo pradžioje daugelio tirtų augalo hormonų lygis pakilo, tačiau giberelo rūgšties (GR<sub>3</sub>) kiekis sumažėjo (pav.). Manoma, kad giberelo rūgšties klasės hormonai indukuoja žydėjimą ir žiedyno formavimosi procesus /Halliday, Fankhauser, 2003/, kuriems prasidėjus GR<sub>3</sub> kiekis galėjo sumažėti.



**Paveikslas.** Hormonų kiekio dinamika obelų lapuose vegetacijos metu

**Figure.** Dynamics of hormone accumulation in apple leaves during vegetation

Žydėjimo metu nustatytas didžiausias per visą vegetacijos laikotarpį abscizo rūgšties kiekis. Dažinio dygmio (*Carthamus tinctorius* L.) žydėjimo iniciacijos metu abscizo rūgšties kiekis padidėjo, o giberelo rūgšties (GR<sub>3</sub>) koncentracija sumažėjo /Baydar, Ülger, 1998/. Tai rodo, kad žydėjimo metu ir žolinių, ir sumedėjusių augalų fitohormonų balansas yra panašus. Užuomazgų kritimo metu sumažėjo auksino ir padidėjo giberelo rūgšties (GR<sub>3</sub>) kiekis. Didžiausia auksino, zeatino ir giberelo rūgšties (GR<sub>3</sub>) koncentracija obelyse užfiksuota prieš pat nokimą ir nokimo metu, abscizo rūgšties derėjimo metu neaptikta. Vegetacijos pabaigoje auksino ir giberelo rūgšties (GR<sub>3</sub>) kiekis buvo padidėjęs.

Įvairios vainiko formos obelys pasižymėjo nevienoda tų pačių augalo hormonų koncentracija. Didžiausia auksino koncentracija (7,1 µg g<sup>-1</sup> žalios masės) nustatyta koloninės vainiko formos obelyse (1 lentelė). Aukštas IAR lygis skatina apikalinį dominavimą, inhibuoja šakojimąsi, todėl koloninės formos augaluose jo randama daugiau nei kitų vainiko formų obelyse. Panašūs ir kitų mokslininkų tyrimų duomenys /Davies, 2004,

Watanabe et al., 2008/. Zeatino ir giberelo rūgšties (GR<sub>3</sub>) koncentracija visų formų obelų lapuose buvo panaši.

**1 lentelė.** Vidutinis augalų hormonų kiekis skirtingos vainiko architektūros obelų lapuose

**Table 1.** Average quantity of plant hormone in leaves of apple trees with different canopy architecture

Vainiko architektūra <i>Canopy</i>	IAR / IAA μg g <sup>-1</sup>	Zeatinas <i>Zeatin</i> μg g <sup>-1</sup>	GR <sub>3</sub> / GA <sub>3</sub> μg g <sup>-1</sup>	AR / ABA μg g <sup>-1</sup>
Standartinė / <i>Standard</i>	3,90	1,78	160,27	2,37
Koloninė / <i>Columnar</i>	7,10	1,70	145,81	1,77
Svyrančioji / <i>Weeping</i>	4,97	1,76	154,90	0,87
<i>Spur</i> tipo / <i>Spur</i>	4,37	1,84	142,69	2,40
R <sub>05</sub> / LSD <sub>05</sub>	2,790	0,379	19,745	1,792

Maža abscizo rūgšties koncentracija išsiskyrė svyrančios vainiko formos obelys. Jose nustatytas du kartus mažesnis AR kiekis nei koloninės ir tris kartus – nei standartinės bei *spur* tipo vainiko formų obelyse. Tai gali būti susieta su AR, kaip atsako į aplinkos stresą, funkcijomis, nes tirtų svyrančios vainiko formos obelų 'Podsniežnik B1260' ir 'Podsniežnik B1267' kilmės vieta yra Sibiras. Tai lemia keletas veiksnių. Gali būti, kad šalies agroklimate sąlygomis šių veislių augalai patiria mažesnę stresą ir AR sintezė vyksta labai menkai.

**2 lentelė.** Augalų hormonų koreliacija obelų lapuose ( $p < 0,05$ )

**Table 2.** The correlation between plant hormone in apple leaves ( $p < 0.05$ )

Augalo hormonas <i>Plant hormone</i>	IAR IAA	Zeatinas <i>Zeatin</i>	GR <sub>3</sub> GA <sub>3</sub>	AR ABA
IAR / IAA	1,00	0,29	0,37	-0,26
Zeatinas / <i>Zeatin</i>	0,29	1,00	0,67	0,00
GR <sub>3</sub> / GA <sub>3</sub>	0,37	0,67	1,00	-0,66
AR / ABA	-0,26	0,00	-0,66	1,00

Tiriant skirtingos vainiko architektūros obelų hormonų kiekio kitimą vegetacijos metu, nustatyta hormonų koncentracijų koreliacija. Gauta tiesioginė giberelo rūgšties (GR<sub>3</sub>) bei zeatino (koreliacijos koeficientas 0,67) koreliacija ir atvirkštinė giberelo rūgšties (GR<sub>3</sub>) bei abscizo rūgšties (koreliacijos koeficientas -0,66) priklausomybė. Kitų mokslininkų tyrimų duomenimis, egzistuoja auksino kiekio ir GR<sub>1</sub> bei GR<sub>20</sub> baltažiedžiame vairyje ir žirnyje priklausomybė, nes auksinas yra giberelo rūgščių GR<sub>1</sub> bei GR<sub>20</sub> sintezę kontroliuojančių genų reguliatorius /Frigerio et al., 2006; Ozga et al., 2009/. Apie auksino indukuojantį poveikį GR<sub>3</sub> sintezei duomenų neaptikta. Panaši tendencija pastebėta ir šių tyrimų metu. Giberelo rūgštis bei citokininai tiesiogiai skatina ūglių tįsimą ir kitus su augimu susijusius procesus /Davies, 2004/. Tyrimo metu tarp šių hormonų nustatyta stipri teigiama priklausomybė. Tai rodo, kad šios medžiagos veikia kartu, ir gali būti, kad jų poveikis yra sinergetinis. Pastebėta stipri neigiama GR<sub>3</sub> ir AR

priklausomybė – tai gali būti augalo atsakas į aplinkos stresą. Padidėjus abscizo rūgšties kiekiui, augalo augimas lėtinamas inhibuojant už augimą atsakingos giberelo rūgšties (GR<sub>3</sub>) sintezę, taip taupant energiją ir maisto medžiagas aplinkos veiksnio poveikiui sumažinti. Abscizo rūgšties ir kito už augimą atsakingo hormono zeatino kiekis augale nepriklausė vienas nuo kito (koreliacijos koeficientas 0). Galima teigti, kad didesnė abscizo rūgšties koncentracija slopina tik giberelo rūgšties (GR<sub>3</sub>) sintezę.

Augalo vystymosi procesus lemia ne tik hormonų kiekis, bet ir jų santykis. Tyrimo metu dideliu (4,18) auksino ir zeatino santykiu išsiskyrė koloninės formos obelys. Šio ideotipo obelyse nustatytas beveik dvigubai didesnis IAR ir Z santykis nei standartinės formos obelyse (3 lentelė).

**3 lentelė.** Augalų hormonų santykis skirtingos vainiko architektūros obelių lapuose

**Table 3.** Ratio of plant hormone in leaves of apple trees with different canopy architecture

Vainiko architektūra <i>Canopy</i>	IAR:Z <i>IAA:Z</i>	IAR:AR <i>IAA:ABA</i>	AR:Z <i>AR:Z</i>	GR <sub>3</sub> :AR <i>GA<sub>3</sub>:ABA</i>	GR <sub>3</sub> :IAR <i>GA<sub>3</sub>:IAA</i>	GR <sub>3</sub> :Z <i>GA<sub>3</sub>:Z</i>
Standartinė / <i>Standard</i>	2,19	1,65	1,33	67,74	41,14	90,02
Koloninė / <i>Columnar</i>	4,18	4,00	1,04	82,17	20,54	85,83
Svyrančioji / <i>Weeping</i>	2,82	5,69	0,49	177,47	31,17	87,82
<i>Spur</i> tipo / <i>Spur</i>	2,37	1,82	1,30	59,51	32,68	77,41

Tokia tendencija pastebėta ir kitų rūšių koloninio augimo tipo augaluose. *Prunus persica* koloninės formos vaismedžiuose nustatytas du kartus didesnis auksino ir zeatino santykis nei standartinės vainiko formos augaluose /Tworkoski et al., 2006/. Šie duomenys rodo, jog koloninę vainiko formą lemia būtent aukštas auksino lygis ir didelis auksino bei citokinino santykis. T. Tworkoskis ir bendraautoriai (2006) nustatė, kad genėjimas neveikia auksino bei citokinino koncentracijos ir santykio, todėl galima manyti, kad koloninę vainiko formą lemia genotipas ir ją galima identifikuoti juveniliniu sėjinukų auginimo tarpsniu įvertinus augalo auksino bei citokinino santykį lapuose. Svyrančiojo ir *spur* ideotipų obelių IAR bei Z santykis nesiskyrė nuo standartinės vainiko formos vaismedžių.

Didesnis auksino bei abscizo rūgšties santykis identifikuotas svyrančiosios ir koloninės nei standartinės ir *spur* vainiko formų obelyse (3 lentelė). Palyginus GR<sub>3</sub> ir IAR balansą nustatyta, kad koloninės formos obelyse šių hormonų santykis yra du kartus mažesnis nei standartinės formos obelyse. Šiuos skirtumus lemia aukštas koloninės formos obelių IAR lygis, nes giberelo rūgšties (GR<sub>3</sub>) kiekis visų vainiko tipų vaismedžiuose yra panašus.

Obels vainiko formą lemia daugelis veiksnių, iš kurių galima išskirti augalo hormonus. Nedidelis augalo hormonų kiekio arba santykio skirtumas lemia augalo augimą ir vystymąsi, todėl tiriant augalų architektūrą jam skirtinas didelis dėmesys.

## Išvados

1. Obelių vainiko architektūra yra susijusi su fitohormonų kiekiu ir jų santykiu augaluose.
2. Koloninės vainiko formos obelys išsiskiria dideliu auksino kiekiu, didesniu nei esant kitoms formoms IAR bei zeatino ir truputį mažesniu GR<sub>3</sub> bei IAR santykiu. Svyrančios formos obelys išsiskyrė maža abscizo rūgšties koncentracija ir didesniu IAR bei AR ir GR<sub>3</sub> bei IAR santykiu nei kitų vainiko formų obelys.

Gauta 2009 06 17

Pasirašyta spaudai 2009 07 21

## LITERATŪRA

1. Baydar H., Ülger S. Correlations between changes in the amount of endogenous phytohormones and flowering in the safflower (*Carthamus tinctorius* L.) // Turkish Journal of Biology. – 1998, vol. 22, p. 421–425
2. Blakeslee J. J., Peer W. A., Murphy A. S. Auxin transport // Current Opinion in Plant Biology. – 2005, vol. 8, p. 494–500
3. Christmann A., Moes D., Himmelbach A. et al. Integration of abscisic acid signalling into plant responses // Plant Biology. – 2006, vol. 8, No. 3, p. 314–325
4. Davies J. P. The plant hormones: their nature, occurrence, and functions // Plant hormones biosynthesis, signal transduction, action. – New York, USA, 2004, p. 1–15
5. Frigerio M., Alabadi D., Perez-Gomez J. et al. Transcriptional regulation of gibberellin metabolism genes by auxin signaling in *Arabidopsis* // Plant Physiology. – 2006, vol. 142, p. 553–563
6. Gray W. M. Hormonal regulation of plant growth and development // Plant Biology. – 2004, vol. 2, No. 9, p. 1270–1274
7. Halliday K. J., Fankhauser C. Phytochrome-hormonal signalling networks // New Phytologist. – 2003, vol. 157, p. 449–463
8. Lespinasse Y. Breeding apple tree: aims and methods // Proceedings of Joint Conference. – France, 1992, p. 103–110
9. Ljung K., Bhalerao R. P., Sandberg G. Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth // The Plant Journal. – 2001, vol. 28, p. 465–474
10. Lucas M., Godin C., Allemand C. J. et al. Auxin fluxes in the root apex co-regulate gravitropism and lateral root initiation // Journal of Experimental Botany. – 2008, vol. 59, No. 1, p. 55–66
11. MacMillan J. Occurrence of gibberellins in vascular plants, fungi, and bacteria // Journal of Plant Growth Regulation. – 2002, vol. 20, p. 387–442
12. Martin D. N., Proebsting W. M., Hedden P. Mendel's dwarfing gene: cDNAs from the Le alleles and function of the expressed proteins // Proceedings of National Academy of Science USA. – 1997, vol. 94, p. 8907–8911
13. Murase K., Hirano Y., Sun T. et al. Gibberellin-induced DELLA recognition by the gibberellin receptor GID1 // Nature. – 2008, vol. 456, p. 459–463
14. Ongaro V., Leyser O. Hormonal control of shoot branching // Journal of Experimental Botany. – 2007, vol. 59, No. 1, p. 67–74
15. Opik H., Rolfe S. Plant growth hormones // The Physiology of Flowering Plants. – Cambridge, 2005, p. 177–204

16. Ozga J. A., Reinecke D. M., Ayele B. T. et al. Developmental and hormonal regulation of gibberellin biosynthesis and catabolism in pea fruit // *Plant Physiology*. – 2009, vol. 150, p. 448–462

17. Tarakanovas P., Raudonius S. Agronominių tyrimų duomenų statistinė analizė taikant kompiuterines programas *Anova, Stat, Split-Plot* iš paketo *Selekcija ir Iristat*. Akademija, Kėdainių r., 2003. – 57 p.

18. Tworkoski T., Miller S., Scorza R. Relationship of pruning and growth morphology with hormone ratios in shoots of pillar and standard peach trees // *Journal of Plant Growth Regulation*. – 2006, vol. 25, p. 145–155

19. Wang Y., Mopper S., Hasenstein K. H. Effects of salinity on endogenous ABA, IAA, JA and SA in *Iris hexagona* // *Journal of Chemical Ecology*. – 2003, vol. 27, p. 327–342

20. Watanabe M., Bessho H., Suzuki A. et al. Seasonal changes of IAA and cytokinin in shoots of columnar type apple trees // *Acta Horticulturae*. – 2008, vol. 774, p. 75–80

ISSN 1392-3196

Zemdirbyste-Agriculture, vol. 96, No. 3 (2009), p. 76–82

UDK 634.11:577.17:581.14

## **Variation of hormones in apple trees with different canopy architecture**

V. Bendokas, V. Stanys  
Lithuanian Institute of Horticulture

### **Summary**

Growth and development of plant depend on many factors – biotic, abiotic, genotype, various endogenous signals. Plant hormones are the main signalling compounds in the plants. Phytohormones are organic compounds, which determine physiological processes: mainly growth, differentiation and development. Canopy architecture of plants depends on phytohormones also. Four ideotypes of apple were distinguished according to growth habits – columnar, spur, standard and weeping. Our goal was to evaluate the balance of phytohormones in apple trees with different canopy architecture during vegetative growth. Plant hormones were identified using HPLC and phytohormone standards. Correlation between phytohormone level was established in apple trees with different canopy architecture. Positive correlation between GA<sub>3</sub> and zeatin (correlation coefficient 0.67) and negative dependence between GA<sub>3</sub> and abscisic acid was established (correlation coefficient –0.66).

Columnar apple trees were distinguished by high auxin content, higher auxin/cytokinin ratio and lower GA<sub>3</sub>/IAA ratio than trees with other canopy architecture. Weeping form apple trees had low abscisic acid amount and were distinguished with higher IAA/ABA and GA<sub>3</sub>/IAA ratios than trees with other canopy architecture.

Key words: plant hormones, HPLC, ideotype, *Malus x domestica* Borkh.