

С.Н. РАССОХА

Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришко НАН Украины
Украина, 01014 г. Киев, ул. Тимирязевская, 1

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЭМИСТИМА С МЕТОДОМ БИОТЕСТОВ

Результаты экспериментов на чувствительность тест-культур к биостимулятору эмистиму С показали, что все растения четко реагировали на стимуляцию эмистимом С. Действие этой активности проявлялось в виде волнообразной кривой доза-эффект

Надежды ученых широко использовать в практике сельского хозяйства фитогормоны — ауксины, цитокинины, гиббереллины и другие препараты из-за их дороговизны и недостаточной эффективности не увенчались успехом. В дальнейшем создание аналогов фитогормонов синтетического происхождения, биотехнологических продуктов культивирования грибов-эндифитов и бактерий, позволило разработать технологии их применения как при непосредственной обработке семян, так и при опрыскивании растений [1, 4, 5, 6]. В Украине значительный объем работ по созданию новых, экологически безопасных, высокоэффективных регуляторов роста растений выполнен в Институте биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины [8].

Наш интерес вызвал регулятор роста растений эмистим С, который получают

культивированием микоризных грибов корневой системы женьшеня. В процессе культивации культуры гриба *Cylindrocarpon magnusianum* в искусственной питательной среде в стерильных условиях в течение 30 дней образуются продукты метаболизма их жизнедеятельности, являющиеся составляющими компонентами препарата: фитогормоны ауксиновой, цитокининовой и гиббереллиновой природы, жирные кислоты с различной степенью ненасыщенности, аминокислоты, микроэлементы, полисахара и т.д. Водно-спиртовой экстракт продуктов метаболизма — препарат эмистим С — был использован нами для проведения исследований.

Целью работы было показать регуляторные свойства стимулятора роста растений эмистима С в широком диапазоне концентраций при воздействии на культурные растения — кукурузу, пшеницу, их сортовую чувствительность.

© С.Н. РАССОХА, 2003

Методика

Как известно, большинство методов биотестирования основывается на повышенной чувствительности целого растения или его отдельных участков к фитогормону. Чувствительность, специфичность — основные качества биотестов [3, 10]. Л. Михальски показал, что специфическое свойство гиббереллинов проявлять свое действие только на целом растении исчезает, если в качестве биотеста использовать лишь часть растения. Эта закономерность была прослежена на целых растениях риса, кукурузы, гороха, огурцов, салата. Чувствительность биотестов варьирует по отношению к разным гиббереллинам, что является еще одной особенностью гиббереллиновых биотестов. Кроме того, биотесты должны соответствовать таким требованиям: стандартность исходного материала, простота подготовки теста к анализу, активная реакция на вводимые извне регуляторы роста растений. В недавнем прошлом биотесты были единственным средством обнаружить фитогормоны. Сейчас существует много современных качественных и количественных методик их обнаружения: иммуно-ферментный анализ, масс-спектральный анализ, газожидкостная хроматография и т.д. Однако благодаря высокой чувствительности биотесты не утратили своей актуальности и в наши дни.

В качестве тест-объектов были взяты проростки семян таких сортов культурных растений: Пионер 346 линии кукурузы, мягкой озимой пшеницы Киянка 89, линии 102 а, пшеницы Мироновская 808. Сорты получены из Опытного сельскохозяйственного производства Института физиологии растений и генетики НАН Украины.

Предварительно откалиброванные по одному размеру и массе семена кукуру-

зы и пшеницы замачивали для набухания в воде в объемном отношении 1:1 на 8–10 часов. Затем воду сливали, семена промывали и ставили в термостат при температуре 24° С на влажных фильтрах. Чтобы получить максимально синхронизированные клетки зародышевой меристемы корня, семена проращивали в этих условиях 13–20 часов [9]. Позже в чашках Петри семена (по 10 штук) подвергали обработке эмицином С в концентрациях от 10^{-4} до 10^{-9} ppm в течение трех часов при температуре 24° С. Затем образцы промывали водой и снова помещали в термостат при этой же температуре, но уже не в чашках Петри, а в стеклянных стаканчиках объемом 100 мл, куда погружались предварительно закрученные между двумя слоями фильтровальной бумаги проростки семян кукурузы и пшеницы (по отдельности), по 10 семян на стаканчик, в двукратных повторностях. Образцы выдерживали в термостате 5–6 дней, после чего измеряли длину и массу корней и стеблей каждого проростка, вычисляли активность биостимулятора в процентах, определяя отношение длины и массы к контролю, отдельно для корней и стеблей для разных концентраций эмицима С и разных сортов растений. Полученные результаты отображены в виде графиков (рис. 1–5).*

Результаты и обсуждение

Из представленных рисунков, отражающих действие эмицима С на опытные тест-культуры в спектре концентраций, видно, что закономерности доза-эф-

* Так как стандартные отклонения всех средних величин массы и длины корней и стеблей кукурузы и пшеницы составляют от 0,01 до 0,09, то процентное значение их в эффекте стимуляции несущественно. Им можно пренебречь. Поэтому стандартные отклонения процента стимуляции не указаны на рисунках.

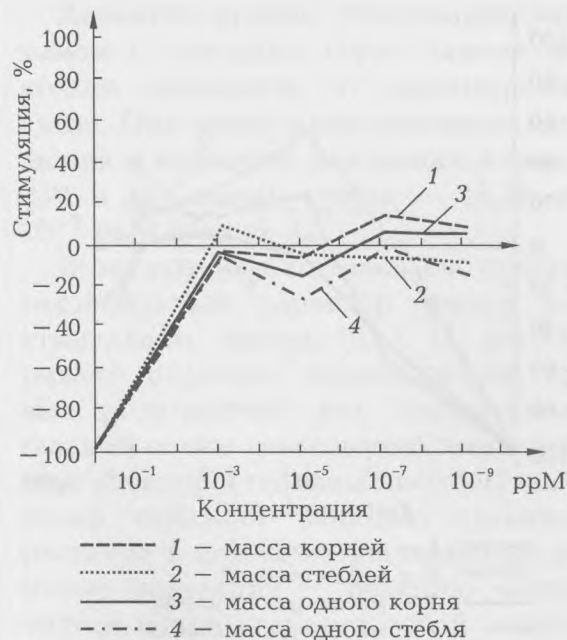
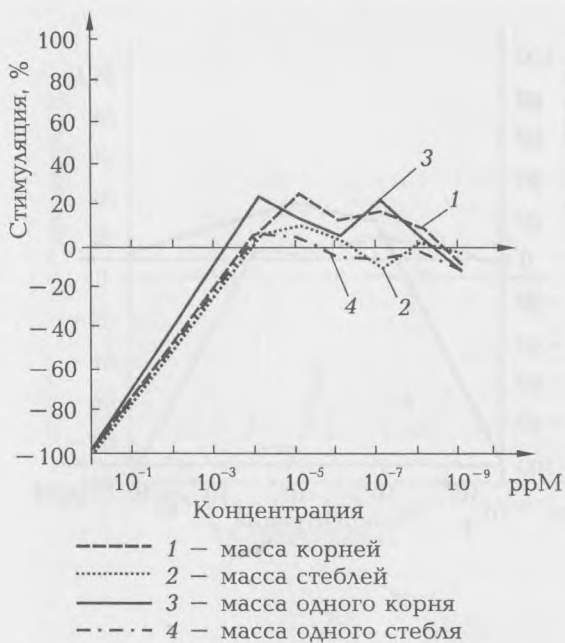


Рис. 1. Влияние элистима С разных концентраций на массу проростков кукурузы сорта Пионер 346

Рис. 2. Влияние элистима С разных концентраций на массу проростков кукурузы сорта Пионер 346

фект проявляются в виде волнообразной кривой, которая для каждого случая разведения характеризовалась своими максимумами и минимумами (стимулирующий эффект проявлялся неоднократно).

В некоторых случаях (рис. 3, 5) кривая доза-эффект имеет один максимум, что согласуется с правилом Арндта-Шульца [2, 7]. Этот интервал соответствует максимуму кривой Арндта-Шульца, так называемому "порогу насыщения", середина интервала волнообразной кривой обозначается как фаза (интервал) насыщения. Минимум между двумя максимумами в большинстве случаев соответствует снижению стимулирующего эффекта, более разреженному "плато" (неэффективная зона) или минимуму в зоне ингибирования. Конечный (прилетальный) интервал волнообразной кривой характеризуется преимущественно

как ингибирование. На рис. 4 видна такая зона ингибирования, или затухания стимуляции, после того, как концентрация элистима С достигает 10^{-9} ppM.

Волнообразная кривая доза-эффект для средней массы одного проростка кукурузы сорта Пионер 346 характеризовалась двумя максимумами насыщения – 25,6% и 21,6% при концентрациях элистима С 10^{-4} и 10^{-7} соответственно. Стебли стимулировались хуже: один максимум насыщения при 10^{-4} составлял 7,6% (рис. 1).

На рис. 2 для того же сорта кукурузы данные немного ниже и максимум стимуляции для средней массы одного корня составлял 9,6% при концентрации 10^{-9} ppM.

Намного выше, чем у кукурузы, стимуляция у пшеницы сорта Киянка. Стебли пшеницы стимулировались лучше, чем

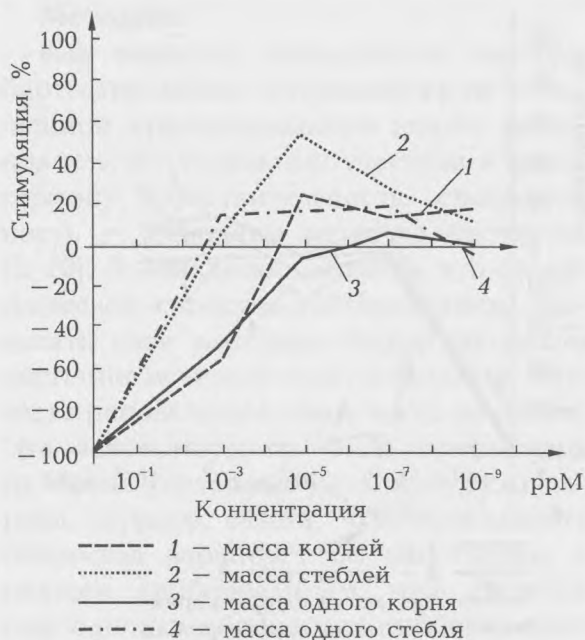


Рис. 3. Влияние эместима С разных концентраций на массу проростков пшеницы сорта Киянка

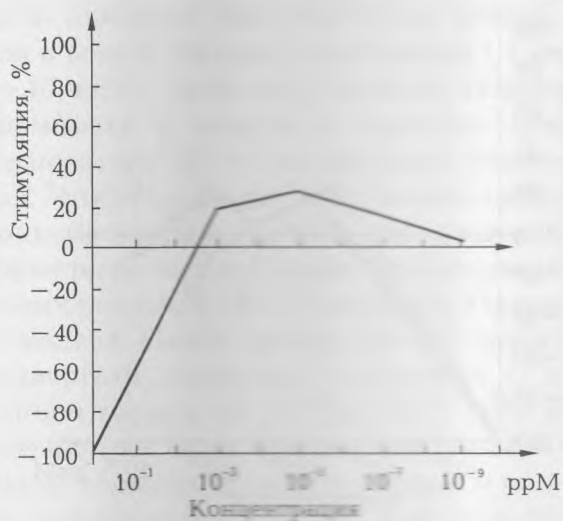


Рис. 4. Влияние эместима С на длину проростков пшеницы сорта Киянка

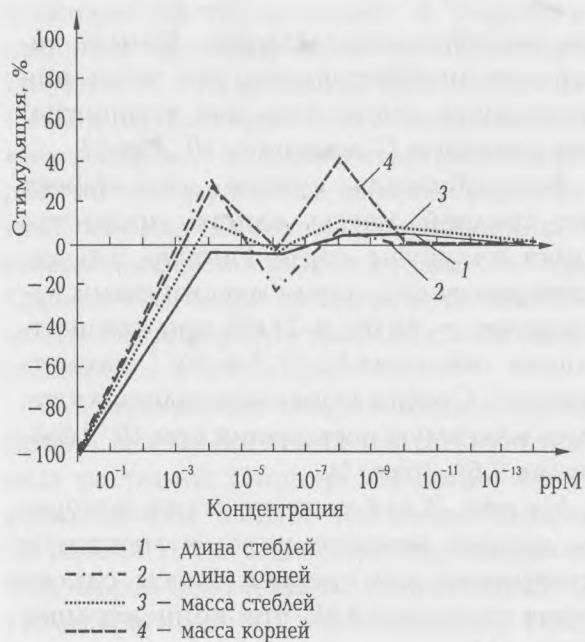


Рис. 5. Влияние эместима С на массу и длину проростков пшеницы сорта Мироновская 808

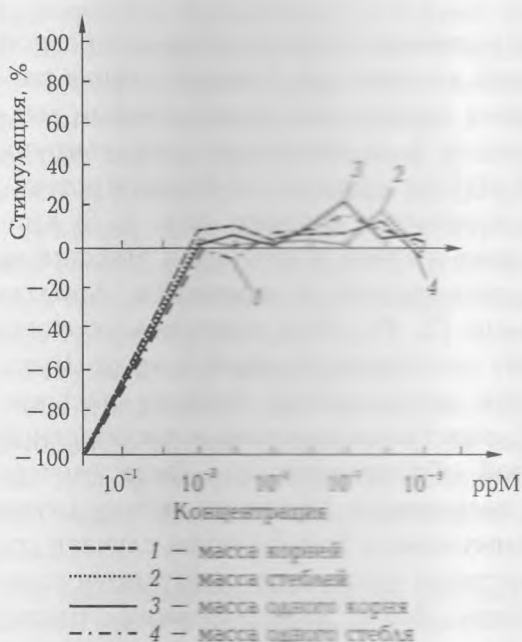


Рис. 6. Влияние эместима С на массу проростков пшеницы сорта Киянка

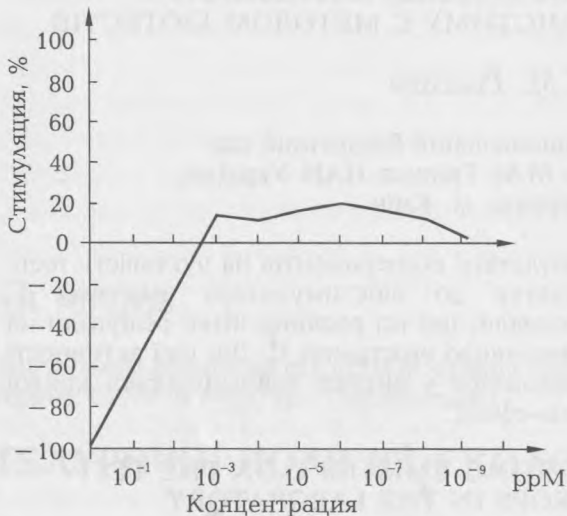


Рис. 7. Влияние эμισтима С на длину проростков пшеницы сорта Киянка

корни. Из рис. 3 видно, что главная волна доза-эффект, отражающая реакцию клеток проростков пшеницы на насыщение эμισтимом С, составляет в среднем 55% при разведении 10^{-5} ppM, кривая имеет один максимум, затухание — после разведения 10^{-9} . Кривая показателя общей длины растения пшеницы (рис. 4) имела два максимума — 20% и 28,8% при 10^{-3} и 10^{-5} ppM соответственно.

Интересны с точки зрения закона доза-эффект стимуляции данные для пшеницы сорта Мироновская 808 (рис. 5). Имеется два максимума: при 10^{-4} и 10^{-8} ppM для массы корней и стеблей, причем для корней этот максимум насыщения почти в три раза выше, чем по длине стеблей и составляет 32% при концентрации эμισтима С 10^{-4} . Затухание стимуляции происходит после значения 10^{-9} во всех вариантах массы стеблей и корней и их длины.

Характер кривой стимуляции эμισтимом С пшеницы сорта Киянка несколько отличается от рассмотренной выше. Она имеет один максимум насыщения в пересчете для одного корня — 23% и для одного стебля — 18,3% при 10^{-7} ppM (рис. 6, 7).

В заключение хотелось бы отметить нестабильный характер такого рода стимуляции. Авторы [2, 7, 11] рассматривают подобные волнообразные кривые доза-эффект как составляющие главной волны (максимума), моделируемой от второстепенных волн. Главная волна отражает реакцию организма растения в целом, второстепенные волновые модуляции — реакцию частных систем и представляют собой внешнее проявление дифференцированности, дискретности реагирующей системы на условия внешней среды.

1. Гельцер Ф.Ю., Кузнецова Г.В. Получение чистых культур эндофитов из растений // Микология и фитопатология. — 1977. — № 3. — С. 182–188.
2. Иванова И.А. Типы кривых Доза-эффект и их значение для стимуляции растений. — София, 1966. — С. 103–113.
3. Кефели В.М., Прусакова Л.Д. Химические регуляторы роста. — М.: Знание, 1935. — 64 с.
4. Муромцев Г.С., Данилина К.Э. Состояние исследований по регуляторам роста растений в России // Физиология растений. — 1994. — 41. — С. 779–783.
5. Нижник Г.П., Григорюк И.П., Мицько В.М., Войцешина Н.І. Пул амінокислот у бульбах сортів картоплі за різного водозабезпечення й обробки полістимуліном К, полістимуліном А-6 та емістимом С // Физиология и биохимия культурных растений. — 2001. — 33, № 2. — С. 147–153.
6. Ниловская Н.Т., Месяц А.А. Применение регуляторов роста на томате в условиях

заниженого ґрунта // Тезиси докладов 2-й конференції "Регулятори росту і розвитку рослин". – М., 1993. – С. 108.

7. Попов В.М. Клетьчната стимуляція і нейното приложение в растениеводство и медицината. – Софія, 1957. – 347 с.

8. Тимчасове положення про державні випробування та реєстрацію феромонів та регуляторів росту рослин і добрив в Україні (частини 1, 2, 3). Авторська заявка № 1 КТ, пріоритет від 10.01.94 р. / С.П. Пономаренко – Київ, 1993 р.

9. Троян В.М. Клітинний цикл рослин та його регуляція. – К.: Наук. думка, 1998. – 171 с.

10. Michalski L. Przegląd i krytyczna ocena metodu nilogicznych stosowanych do oznaczania gibberellinu // Konferencje ve Starem Smokovei, 1967. – Abstracts, 20.

11. Schatz A.E.B., Schalsha V. Schatz. Soil organic matter as a natural chelating material P. 2. The occurrence and importance and paradoxical concentration effects in biological systems, Compost. // Science. – 1964. – V. 5, 1. – P. 123–125.

ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ЕМІСТИМУ С МЕТОДОМ БІОТЕСТІВ

С.М. Рассоха

Національний ботанічний сад
ім. М.М. Гришка НАН України,
Україна, м. Київ

Результати експериментів на чутливість тест-культур до біостимулятора емістиму С показали, що всі рослини чітко реагували на стимуляцію емістимом С. Дія цієї активності виявлялася у вигляді хвильоподібної кривої доза-ефект.

TESTING EMISTIM C ON THE TEST-CROPS IN THE LABORATORY CONDITIONS

S.N. Rassokha

M.M. Grishko National Botanical Gardens,
National Academy of Sciences of Ukraine,
Ukraine, Kyiv

The results of test-cultures sensitivity to biostimulator show an effect of Emistim C on all test plants. The reaction was revealed in wavy curve of doza-effect.