

Л.М.Кавеленова, Н.В.Прохорова

Куйбышевский госуниверситет

ОБ ОЦЕНКЕ АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ ПУТЕМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ НА ПЛАСТИНКАХ

При изучении процессов химического взаимодействия растений - аллелопатии - широко применяются методы оценки аллелопатической активности различных веществ с помощью биотестов. В качестве "прибора", регистрирующего свойства среды, используются живые объекты - прорастающие семена, отрезки coleoptилей и корневых, стеблевые черенки и т.д. [1,2]. Модельные условия проведения опытов, когда среди множества факторов среды вычленяется лишь один, естественно, ограничивают возможности интерпретации полученных данных на протекающие в природе процессы. Тем не менее биотесты используются широко, поскольку они просты в исполнении, не требуют сложных приборов и оборудования, быстро позволяют получить большое количество данных, отличаются высокой воспроизводимостью результатов.

Использование метода биотестов в чашках Петри, когда об аллелопатической активности испытуемых сред судят по всхожести семян, средней длине корней проростков, является общепринятым [1]. Однако для него требуется достаточно много семян, растворов, чашек Петри.

Предлагаемый нами способ позволяет сократить расход семян, что особенно важно, если исследователь работает с редкими или ценными семенами, в том числе интродуцируемых растений. При этом в качестве единичного варианта опыта рассматривается отдельное семя, а не чашка Петри, как в вышеупомянутом способе. Количество анализируемого раствора может быть малым (несколько миллилитров), что очень важно

при оценке биологической активности элюатов пятен на хроматограммах.

Для проведения биотестов мы предлагаем использовать комплект пластинок для титрования из оргстекла, входящий в набор "Микротитратор" системы Такачи, тип ОХ-605 (производство ВНР). Пластины имеют размеры 128x92x10 мм, на них в 8 рядов располагаются лунки с округлым или коническим дном, по 12 лунок в ряду. Заливая в лунки испытуемый раствор и помещая в них семена, мы получаем возможность оценить всхожесть семян и первоначальный рост проростков под влиянием различных концентраций природных или синтетических веществ.

Располагая набором "Микротитратор", исследователь также может воспользоваться входящими в комплект капельной пипеткой и приспособлениями для разбавления (рис.1). Пипетка позволяет вносить в лунки необходимое число капель, объемом 0,025 мл каждая. Испытуемым раствором заполняется первый ряд лунок на пластинке. В остальные ряды вносится определенное число капель дистиллированной воды. Переноса смесители из лунок первого ряда в последующие ряды, осуществляют разбавление исходного раствора в зависимости от числа внесенных в лунки капель раствора или воды и объема головки смесителя (0,025 или 0,05 мл). Так, внося в лунки первого ряда по 2 капли исходного раствора, а во все следующие - по 1 капле воды и используя смеситель с объемом головки 0,025 мл, мы получаем следующие разбавления исходного раствора концентрации С: $1/2$ С; $1/4$ С; $1/8$ С; $1/16$ С; $1/32$ С; $1/64$ С. Последний ряд лунок будет заполнен водой и останется контрольным (рис.2).

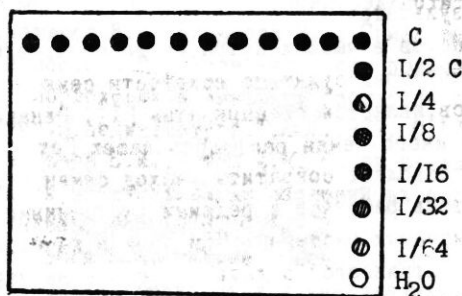
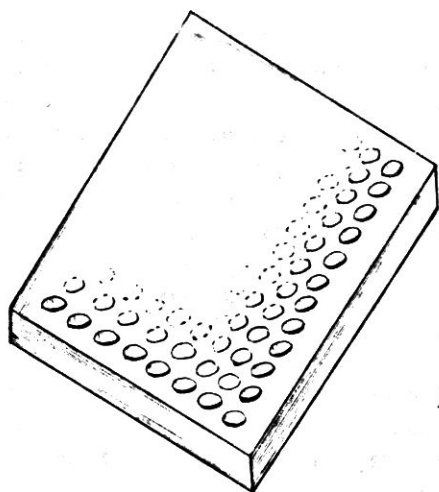


Рис. 2. Последовательность расположения растворов различных концентраций на пластинке.



A.



Б.



В.

Рис. I. Оборудование для выполнения биотеста: А - пластинка из оргстекла, Б - приспособление для разбавления растворов, В - капельная пипетка.

Партия семян с достаточно высокой всхожестью должна быть предварительно откалибрована. Для проведения испытаний биологической активности веществ на пластинках особенно пригодны мелкие и средних размеров семена (до 2 мм в диаметре), достаточно быстро прорастающие. Однако возможно модифицировать метод и для более крупных семян, используя, например, пластинки для иммунологических анализов. При отсутствии указанных выше приспособлений для разбавления заранее готовят набор растворов нужных концентраций.

Констатация факта прорастания производится по выходу кончика корня из семенной кожуры. Измерение роста корня мы предлагаем формализовать, сведя его к балльной оценке, тем более, что ограниченный объем лунки приводит к деформации, искривлению корня. Условно приняв корни наибольшей длины за 3 балла, наименьшие - за 0 (наклонувшиеся семена) и вводя промежуточные оценки, можно приступить к снятию результатов биотеста.

В качестве иллюстрации приведем некоторые результаты, полученные нами при оценке биологической активности природных аллелопатически активных веществ в водных вытяжках из листового опада дуба и березы, и химически чистого соединения - 3,5-диоксибензойной кислоты - по отношению к семенам щирцы запрокинутой и сурепицы озимой сорта Горлица. Для удобства построения графических зависимостей по оси абсцисс отложены значения концентрации аллелопатически активных веществ, выраженные через отрицательный двоичный логарифм разбавления (рис.3).

Анализируя зависимость всхожести и роста корней проростков от величины аллелопатически активного фона, мы установили, что реакция на вытяжки из дубового и березового опада, а также на раствор 3,5-диоксибензойной кислоты являлась видоспецифичной, при этом более показательна оценка роста корня проростка. Вытяжка из опада дуба наиболее сильно угнетала как прорастание, так и рост корней проростков. 3,5-диоксибензойная кислота практически не влияла на всхожесть и слабо угнетала рост корней щирцы, слабее, чем природные среды, влияла на всхожесть сурепицы. В целом единообразный ход кривых зависимостей "доза-эффект" отражает общие закономерности развития ответных реакций на воздействие аллелопатического фактора, когда малые его дозы не угнетают либо слабо стимулируют процессы жизнедеятельности, а средние и большие - угнетают их протекание.

Проведение биотеста на пластинках дает вполне удовлетворительные результаты как для характеристики аллелопатической активности

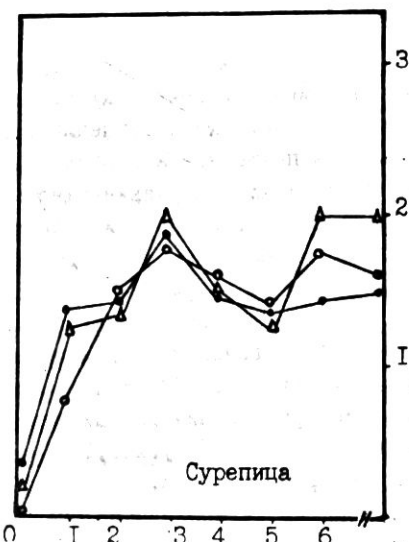
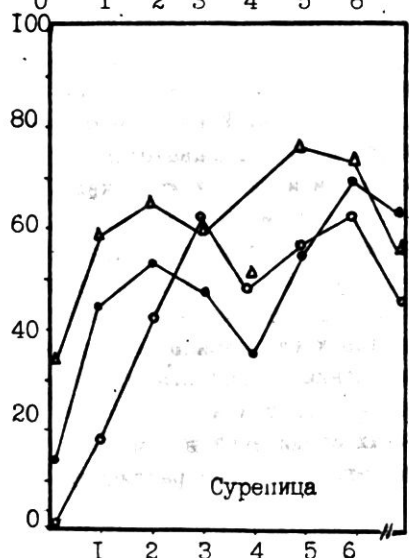
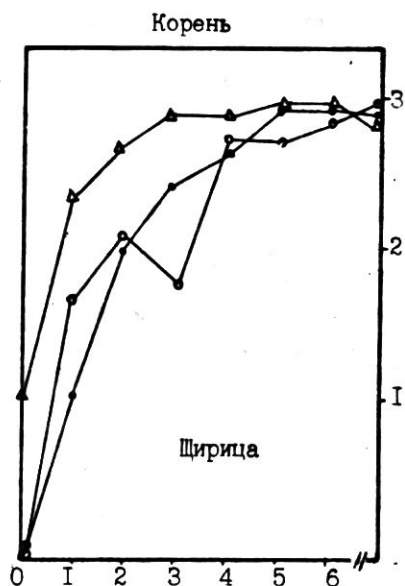
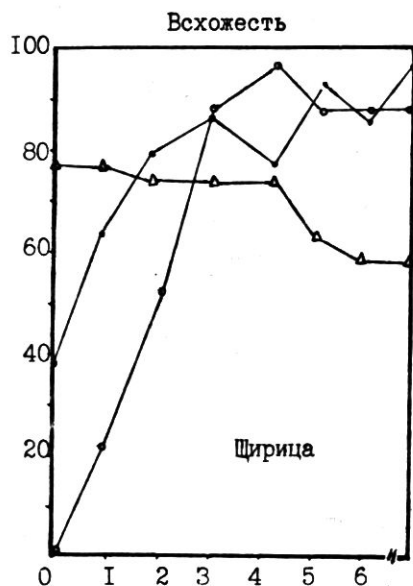


Рис.3. Влияние вытяжек из листового опада дуба и березы, растворов 3,5-диоксибензойной кислоты на всхожесть семян и рост корней проростков щирицы и сурепицы: ○ - дубовый опад, ● - березовый опад, △ - раствор 3,5-диоксибензойной кислоты.

среды, так и для изучения свойств самого тест-объекта.

Очевидно, аналогично можно проверить воздействие любого фактора химической природы (солей, тяжелых металлов, гербицидов) на интересующие исследователя объекты для первоначального определения их чувствительности и выявления каких-либо особенностей протекания ответных реакций.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Экспериментальная аллелопатия/Гродзинский А.М., Головкин Э.А., Горобец С.А. и др. Киев: Наукова думка, 1987. - 263 с.
2. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений//Киев: Наукова думка, 1973. С.387-400.