

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФИТОГОРМОНОВ В ЛУКОВИЧНЫХ РАСТЕНИЯХ

Каленчук Татьяна Владимировна, ассистент

Полесский государственный университет

Володько Иван Казимирович, к.б.н.,

зам. директора по научной работе

Центральный ботанический сад НАН Беларуси

Хрипач Владимир Александрович, д.х.н., академик,

зав. лаб. химии стероидов

Институт биоорганической химии НАН Беларуси

Брассиностероды представляют собой класс растительных гормонов необходимых для роста, развития и адаптации растений в окружающей среде [1, с.45]. Они присутствуют во всех растительных объектах и обладают ростомодулирующим и адаптогенным действием. Содержание брассиностероидов в растениях составляет менее $10^{-5}\%$ и в сопоставимых концентрациях они проявляют свое биологическое действие [2, с.78; 3, с.48]. Установлено, что при обработке различных цветочно–декоративных культур в концентрациях 0,00025% (эпибрассинолид) и 0,000375% (гомобрассинолид) на литр водного раствора наблюдается заметный ростостимулирующий и адаптогенный эффект, приводящий к увеличению сроков цветения, повышению качества продукции и устойчивости растений к неблагоприятным условиям и болезням. Известно также, что некоторые синтетические аналоги брассиностероидов проявляют заметную биологическую актив-

ность, сопоставимую с природными brassinosterоидами [4, с.26]. Эти факторы обуславливают научный и практический интерес к синтезу и исследованию производных brassinosterоидов, а также к разработке удобных, высокочувствительных и быстрых методов их анализа.

Полевой эксперимент проводился на опытном участке ЦБС НАН Беларуси, лабораторный – в ИБОХ НАН Беларуси в лаборатории химии стероидов. Исследовали влияние 24–эпибрассинолида и 28–гомобрассинолида на рост и развитие 9 сортов гиацинта гибридного (5 садовых групп) и 10 сортов тюльпанов 2–х садовых классов.

Опыт был поставлен в 5 вариантах. Схема постановки опыта: обработка 2–х кратная с интервалом 2 недели в стадии отрастания и начала бутонизации данных сортов. Вариант 1 – контроль (дистиллированная вода), вариант 2 – раствор ЭБ 10^{-7} , вариант 3 – раствор ЭБ 10^{-9} , вариант 4 – раствор ГБ 10^{-7} , вариант 5 – раствор ГБ 10^{-9} . В каждом варианте обрабатывали по 10 растений в 4–х кратных повторностях. Растения обрабатывались методом опрыскивания, до стекания первой капли с листа, по методике С.П. Потапова. Для обработки использовался разбрызгиватель ручной V= 1000 мл.

Растительный материал собирали в стадии массового цветения каждого сорта для конкретной культуры. Для выделения фракций содержащей brassinosterоиды из вегетативной (лист, луковица) и генеративной (цветок) части пробы собирали в полевых условиях по схеме опыта. Каждую навеску гомогенизировали с добавлением дистиллированной воды. Затем фильтровали через фильтр под насосом. Сухой остаток высушивали и взвешивали, а водную часть экстрагировали этилацетатом для отделения фракции содержащей brassinosterоиды, повторно отфильтровывали через силикогель и упаривали на ротационном испарителе. Пробы смывали с ротационных колб спиртом и переносили в пенициллиновые флаконы. Повторно упаривали и добавляли в каждый образец фосфатный буфер (рН 7,4).

Калибровочные пробы готовили методом серийных разведений исходного спиртового раствора с известной концентрацией brassinosterоида на рабочем буферном растворе (0.02 М фосфатный буфер, рН 7.2, 1% БСА, 1% NaCl и 0.02% Tween 20) с добавлением 0.01% тимеросала в качестве консерванта. Концентрация стероида в калибровочных пробах составляла 0, 1, 3, 10, 30 и 100 нмоль/л. Подготовленные к работе калибровочные пробы, расфасованные в стеклянные флаконы и закупоренные резиновыми пробками, стабильны при 4–8°C как минимум, в течение 4–х месяцев.

В лунки планшета вносили по 50 мкл калибровочных проб. Планшеты инкубировали в течение 2–х часов при 37°C в термостатах.

Созданные на базе лаборатории химии стероидов тест–системы ИФА–БС и ИФА–ГБС использовали для анализа содержания индивидуальных стероидных гормонов в растениях.

Проведенные исследования позволили количественно определить наличие brassinosterоидов в растительном материале изучаемых культур и выявить закономерности изменения уровня гормона в зависимости от ти-

па органа растения (вегетативные и генеративные) и сортовой принадлежности луковичных растений (тюльпаны и гиацинты).

Список использованных источников

1. Khripach, V. A. Brassinosteroids. A new class of plant hormones / V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii, A. de Groot. – San Diego : Academic Press, 1999. – 456 p.
2. Synthesis and study of novel of brassinosteroid derivatives / R.P. Litvinovskaya, M.E. Raiman, T.V. Kalenchuk, V.A. Khripach. / 2 International Symposium “Plantgrowth substances: intracellular hormonal signaling and applying in agriculture”, Kyiv, 8–12 October 2007. / National Academy of sciences of Ukraine, Institute of Bioorg. Chem. And Petroleum Chem. – Kyiv, 2007. – P. 78.
3. Синтез и иммунохимическое определение 28–гомобрассиностероидов / В. А. Хрипач [и др.] // Вести НАН. – 2008. – № 3. – С. 48–58.
4. Каленчук, Т.В. Влияние эпибрассинолида и гомобрассинолида на культуру тюльпанов / Каленчук Т.В., Чернецкая А.Г., Бученков И.Э. // Вести БГПУ, серия 3 «Физика. Математика. Информатика. Биология. География» – №3 (77). – 2013. – С. 24–29.