

УДК 581.524.1:581.142+581.524.2

**ПОДГОТОВКА ФИТОМАССЫ *ACER NEGUNDO* И *ROBINIA PSEUDOACACIA*
К БИОТЕСТИРОВАНИЮ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЕЕ АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ**

Яхновец Максим Николаевич, старший преподаватель

Полесский государственный университет,

**Мержвинский Леонард Михайлович, к.б.н., доцент кафедры,
ведущий научный сотрудник научно-исследовательского сектора,
Витебский государственный университет имени П.М. Машерова**

**PREPARATION OF ACER NEGUNDO AND ROBINIA PSEUDOACACIA PHYTOMASS
FOR ITS ALLELOPATHIC ACTIVITY BIOTESTING**

**Yakhnovets Maksim, Senior Lecturer, Department of Aquaculture and Ecological Design,
Polesky State University, jahnovets.m@polessu.by**

**Merzhvinski Leonard, Ph.D. (Biol.), Associate Professor of the Department of Fundamental and
Applied Biology, Leading Researcher of research sector
Vitebsk State University named after P.M. Masherov, leonardm@tut.by**

*В работе описана методика подготовки фитомассы *Acer negundo* и *Robinia pseudoacacia* для исследования аллелопатической активности данной фитомассы с помощью метода биотестирования в лабораторной культуре.*

Ключевые слова: *Acer negundo*, *Robinia pseudoacacia*, аллелопатическая активность, биотестирование, фитомасса, тест-объекты.

*The paper describes a method for preparing the phytomass of *Acer negundo* and *Robinia pseudoacacia* to study the allelopathic activity of this phytomass based on the laboratory culture biotesting.*

Keywords: *Acer negundo*, *Robinia pseudoacacia*, allelopathic activity, biotesting, phytomass, test objects.

Необходимость установления аллелопатического эффекта клена ясенелистного (*Acer negundo* L.) и робинии лжеакалии (*Robinia pseudoacacia* L.) на другие растения обусловлена наличием гло-

бальной экологической проблемы инвазионных видов растений, характерной также и для территории Беларуси. Данные виды относятся к древесным интродуцентам и имеют высокую скорость накопления биомассы. При вырубке этих деревьев возникает вопрос об утилизации их фитомассы. Но простая утилизация не является эффективной, поэтому существует необходимость проверить возможность использования фитомассы в качестве мульчи, компоста либо удобрений. В связи с этим нужно установить, насколько безопасной она является для растений, на которые оказывает воздействие.

Для оценки аллелопатической активности был выбран метод биотестирования вытяжек из растений *in vitro* [1, с. 41] с модификациями. Метод биопроб является главным, а порой и единственным в аллелопатии. Данный метод характеризуется простотой, высокой продуктивностью и хорошим воспроизведением результатов. Физико-химические и химические методы могут дать достаточно объективную и точную оценку. Но аллелопатически активные вещества практически всегда представляют собой сложную смесь различных веществ, которые физиологически взаимодействуют между собой. Поэтому, даже зная точно химический состав такого раствора, не всегда можно предусмотреть его биологическое действие. Но необходимо помнить также о том, что биотестирование недостаточно воспроизводит истинные отношения, которые наблюдаются в условиях природных фитоценозов. Нередко обнаруженный в биотесте ингибитор в природе оказывается стимулятором, а очень активные в биотесте вещества в природе быстро рассеиваются или разрушаются и бездействуют. Этот недостаток обусловлен тем, что в лабораторных условиях невозможно учесть влияние некоторых факторов. Поэтому нельзя придавать абсолютное значение данным биотестов и переносить их без проверки на соотношения, которые существуют в ценозах [2, с. 44].

В качестве тест-объектов в наших исследованиях были выбраны кресс-салат обыкновенный (*Lepidium sativum* L.), редис (*Raphanus sativus* L.) сорта «Дуо» и морковь посевная (*Daucus carota* L.). Первые два вида классически используются как тест-объекты [1, с. 41, 303, 305; 2, с. 45, 49] и относятся к семейству *Brassicaceae*. Морковь была выбрана как культура, близкая к кресс-салату и редису по условиям выращивания согласно ГОСТ 12038-84 [3], но при этом относящаяся к другому семейству – *Apiaceae*.

Известно, что все типы выделений наиболее активны в листьях, менее в стеблях, еще менее в корнях [1, с. 57]. Исходя из этого, для исследования была выбрана листовая фитомасса. Она должна в наибольшей степени показывать аллелопатическое действие *A. negundo* и *R. pseudoacacia* на другие растения. Заготовку листовой фитомассы *A. negundo* и *R. pseudoacacia* производили с живых растений в синантропных сообществах сельского поселения в условиях Белорусского Полесья (д. Терень Пинского района Брестской области). Заготовка фитомассы велась в течение 2-х вегетационных сезонов:

1) собранная летом – в начале осени 2021 г. Фитомассу подготавливали следующим образом: способ 1 – после сбора сушили на солнце; способ 2 – после сбора сушили на солнце, затем выдерживали в течение 4 суток под воздействием дождя (за этот период выпало около 22,5 мм осадков), после чего сушили в помещении при комнатной температуре. До экстрагирования готовая фитомасса хранилась также в помещении при комнатной температуре. Фитомасса, подготовленная способами 1 и 2, измельчалась осенью 2021 г., эксперименты проводились в период январь – март 2022 г.; способ 3 – после сбора сушили на солнце, затем отправили на хранение в сухое проветриваемое помещение, температурный режим которого соответствовал условиям окружающей среды, с осени 2021 г. по лето 2022 г. (в итоге получилась некомпостированная листовая фитомасса); способ 4 – после сбора сушили на солнце, после чего отправили в природную среду для вымывания действующих веществ с осени 2021 г. по лето 2022 г. (в итоге получился компост). Фитомасса, подготовленная способами 3 и 4, измельчалась летом 2022 года, эксперименты проводились в период январь – май 2023 г.

2) собранная летом 2022 г. Фитомассу подготавливали следующим образом: способ 5 – после сбора сушили на солнце; способ 6 – после сбора сушили в тени. Фитомасса, подготовленная способами 5 и 6, измельчалась летом 2022 года, эксперименты проводились в период октябрь 2022 г. – январь 2023 г.

Лабораторные эксперименты проводились на базе отраслевой лаборатории ДНК и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве Полесского государственного университета. Для

приготовления вытяжки фитомассу измельчали до порошкообразного состояния в электрической кофемолке, размер частиц составил в основном 0,05–0,5 мм. (рис. 1).



Рисунок 1. – Измельченная фитомасса

Предварительно взвесив на аналитических весах (рис. 2), порошок суспендировали в дистиллированной воде (рис. 3) в четырех вариантах концентрации: 5, 10, 50 и 100 г/л и выдерживали в течение суток в термостате при температуре +25°C. Под «концентрацией вытяжки» далее условно понимается сухая масса порошка, помещаемого в воду перед экстракцией. После периода инкубации суспензию интенсивно встряхивали и фильтровали через марлю.



Рисунок 2. – Взвешивание фитомассы на аналитических весах



Рисунок 3. – Суспендирование порошка в дистиллированной воде

В чашки Петри с внутренним диаметром 90 мм помещался диск фильтровальной бумаги, на котором равномерно размещались семена тест-культур – по 10 шт. каждой культуры в одну чашку, в трехкратной повторности как для вариантов опыта, так и для контролей. Диски увлажнялись 5 мл экстракта из порошка *A. negundo* и *R. pseudoacacia*, а в контрольные чашки добавляли по 5 мл дистиллированной воды (рис. 4).

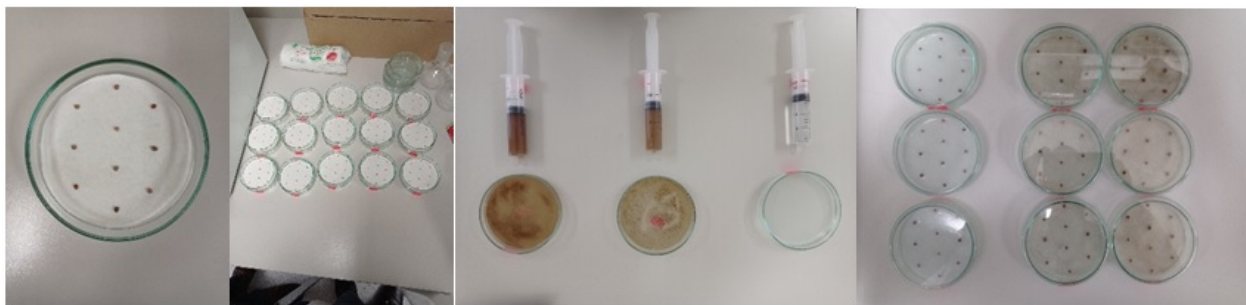


Рисунок 4. – Высев семян в чашки Петри

Чашки инкубировали в термостате при температуре $+25^{\circ}\text{C}$ (рис. 5). Общее количество высевных семян с учетом всех концентраций, тест-объектов, видов и типов фитомассы – 6480 шт. (1080 семян на каждый из способов подготовки, 270 на каждый вариант концентрации, 90 на один вариант опыта с контролем для одной культуры).



Рисунок 5. – Инкубирование в термостате

Тестирование по определению всхожести семян проводилось согласно ГОСТ [3, с. 25, 29, 34]. При этом учитывался процент проросших семян, длина главного корня и гипокотилия у тест-объектов. Подсчет количества проростков и их измерения для кресс-салата производили через 5 суток после начала инкубации, редиса – через 6, моркови – через 10 (рис. 6). Количество проросших семян тест-объектов выражали в процентах к соответствующему количеству проростков в контроле, которое принимали за 100%.

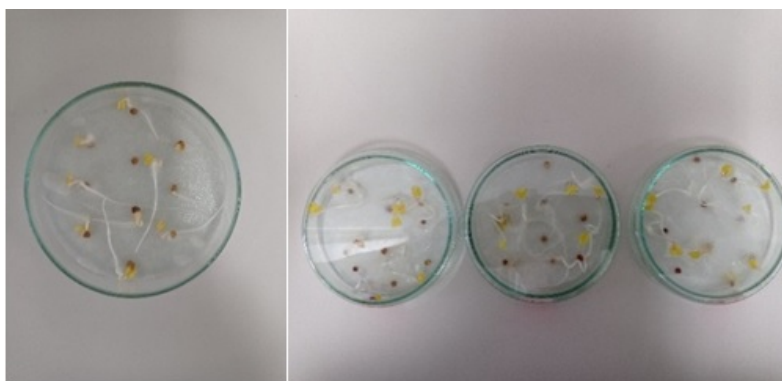


Рисунок 6. – Проросшие семена тест-объектов

Для статистической обработки результатов биотестирования применялся t-критерий Стьюдента при сравнении средних величин. Рассчитывался с помощью онлайн-калькулятора. Критические значения t-критерия Стьюдента определяли для уровня значимости $p < 0,05$. Для каждого среднего

арифметического значения была определена относительная погрешность (5%), которая была рассчитана в Microsoft Excel с помощью функции Предел погрешностей и показана в виде отрезков на столбчатых диаграммах.

Результаты биотестирования, полученные с помощью данной методики, опубликованы в работах [4, 5].

Список использованных источников

1. Гродзинский, А. М. Аллелопатия растений и почвоутомление: Избранные труды / А. М. Гродзинский. – Киев: Наукова думка, 1994. – 432 с.
2. Гродзінський, А. М. Основи хімічної взаємодії рослин / А. М. Гродзінський. – Київ: Наукова думка, 1973. – 207 с.
3. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – Взамен ГОСТ 12038-66 ; введ. 1986-07-01. – Москва: Стандартиформ, 2011. – С. 36–64.
4. Яхновец, М. Н. Оценка биологической активности экстрактов из листьев *Acer negundo* и *Robinia pseudoacacia* на проростках тест-культур / М. Н. Яхновец, Е.О. Юрченко // Журнал Белорусского государственного университета. Экология. – 2023. – № 1. – С. 20–31.
5. Яхновец, М. Н. Оценка биологической активности экстрактов из компостированных листьев *Acer negundo* и *Robinia pseudoacacia* на проростках тест-культур / М. Н. Яхновец, Е.О. Юрченко // Журнал Белорусского государственного университета. Экология. – 2023. – № 3. – С. 4–15.