

19. Чумаков А.Е. Основные методы фитопатологических исследований. М.: ВАСХНИЛ, 1974. - 89 с.
20. Хокряков М.К. Методические указания по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов. - Л., 1974. - 64 с.
21. Кирай З.И. Методы фитопатологий. - М.: Колос, 1976. - 343 с.

УДК 577.127:547.973

**Нам С.В., Сатыбалдиева Д.Н., Мурсалиева В.К., Мамонов Л.К.**  
**БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОНДЕНСИРОВАННЫХ И ГИДРОЛИЗУЕМЫХ**  
**ФРАКЦИЙ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В СИСТЕМЕ БИОТЕСТОВ**  
*РГП «Институт биологии и биотехнологии растений» КН МОН РК,*  
*Г. Алматы, Казахстан*

Выявление биологических активностей веществ растений в модельных опытах является важным звеном изучения роли этих веществ в жизнедеятельности растений и необходимо для выявления возможностей их практического использования.

В наших исследованиях изучалось влияние дубильных веществ на укоренение черенков фасоли, на рост каллусных тканей и ризогенез каллусов однодольных и двудольных растений.

Объектами исследований служили дубильные вещества, выделенные из корней бадана толстолистного *Bergenia crassifolia* L. Fritsch и лабазника вязолистного *Filipendula ulmaria* (L) Maxim, по описанной ранее методике [1]. Целевыми объектами в биотестах являлись черенки фасоли (линия 48), каллусные ткани пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Отан и моркови (*Daucus carota* L.) сорта Нантская 4.

Методики получения и культивирования эксплантов, используемых в опытах и приготовление питательных сред проводили по стандартным методикам [2]. Для получения и культивирования незрелых зародышей пшеницы использовали среду Мурасиге и Скуга (МС) с внесением ауксина 2, 4- дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4Д) в концентрации 2 мг/л. Сегменты сердцевинной паренхимы моркови для получения каллусов и полученные каллусы культивировали на среде МС с дополнением 12 мг/л нафтилуксусной кислоты (НУК) и 1 мг/л бензиламинопурина (БАП).

Результаты экспериментов с каллусами оценивали по следующим показателям: процент корнеобразования, прирост каллусной ткани, который вычисляли по формуле:  $K_f = \frac{\text{конечный вес} - \text{начальный вес}}{\text{начальный вес}}$ .

Для изучения влияния дубильных веществ в питательную среду вносили водорастворимые и спиртовые экстракты дубильных веществ, выделенных из корней *B. crassifolia* и *F. ulmaria* в таких количествах, чтобы их конечные концентрации в питательной среде составили  $10^{-3}\%$  (10 мг/л),  $10^{-4}\%$  (1 мг/л),  $10^{-5}$  (0,1 мг/л). Контролем являлись среда МС без внесения гормонов (контроль 1) и среда МС с дополнением гормонов (контроль 2). Оценку накопления биомассы каллусов пшеницы проводили в фазу экспоненциального роста. Каждый вариант опыта и контроль проводились в десяти повторностях. Все результаты исследований обрабатывались стандартными биометрическими методами [3, 4].

В опытах по влиянию дубильных веществ установлено, сравнительно высокие концентрации дубильных веществ как гидролизуемых, так и конденсированных, выделенных из растений *B. crassifolia* в высоких концентрациях (100 мг/л) не отличались от водного контроля. Более низкие концентрации дубильных веществ из этого вида растений, а также из *F. ulmaria* отличались от водного контроля, причем некоторые из них с достаточным уровнем достоверности (таблица 1).

Сравнительное изучение биологической активности в тест-системе каллусной ткани пшеницы (рисунок 1) *in vitro* установило, что добавление как конденсированных, так и

гидролизующих дубильных веществ, выделенных из *B. crassifolia*, либо незначительно изменяло, а в некоторых концентрациях (0,1 и 10 мг/л гидролизующих) существенно ингибировало прирост массы каллуса.

Из приведенного рисунка видно, что экстракты дубильных веществ, выделенные из корней *F. ulmaria* показали более высокую активность в тест-системе каллусной ткани пшеницы. Во всех вариантах с внесением гидролизующих дубильных веществ прирост каллуса достоверно превышал отрицательный контроль.

Таблица 1 – Влияние дубильных веществ на корнеобразование черенков фасоли

Концентрация, мг/л	<i>B. crassifolia</i> , корни		<i>F. ulmaria</i> , корни	
	гидролизующие	конденсированные	гидролизующие	конденсированные
100	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	77,73±6,4 <sup>b</sup>	66,67±19,2 <sup>a</sup>
30	77,73±6,4 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>	55,53±17,0 <sup>*ab</sup>	83,30±9,6 <sup>b</sup>
10	88,90±6,4 <sup>ab</sup>	77,73±6,4 <sup>b</sup>	77,73±6,4 <sup>b</sup>	88,87±6,4 <sup>b</sup>
3	-	-	36,10±11,9 <sup>*a</sup>	38,97±3,0 <sup>**a</sup>
Контроль 1 - вода	91,67±4,6 <sup>*</sup>			
Контроль 2 – вода +ИМК,30 мг/л	66,67±11,1			

Примечания: \* - достоверные отличия от контроля 1; \*\* - достоверные отличия от контроля 1 и контроля 2; a, b – достоверные отличия между вариантами опыта

Иная закономерность отмечалась при внесении конденсированных дубильных веществ этого растения. Более высокие концентрации стимулировали незначительное повышение прироста. Снижение концентрации ингибировало накопление биомассы каллуса.

Изучение влияния дубильных веществ на процессы морфогенеза и, в частности, ризогенеза показало, что только в одном случае гидролизующие дубильные вещества *B. crassifolia* в концентрации 10 мг/л в незначительной степени повышает ризогенез. Во всех же других случаях изученные концентрации фракций дубильных веществ двух изучаемых видов растений либо достоверно не изменяли корнеобразующую способность каллусов, либо значительно её снижали, вплоть до полного ингибирования.

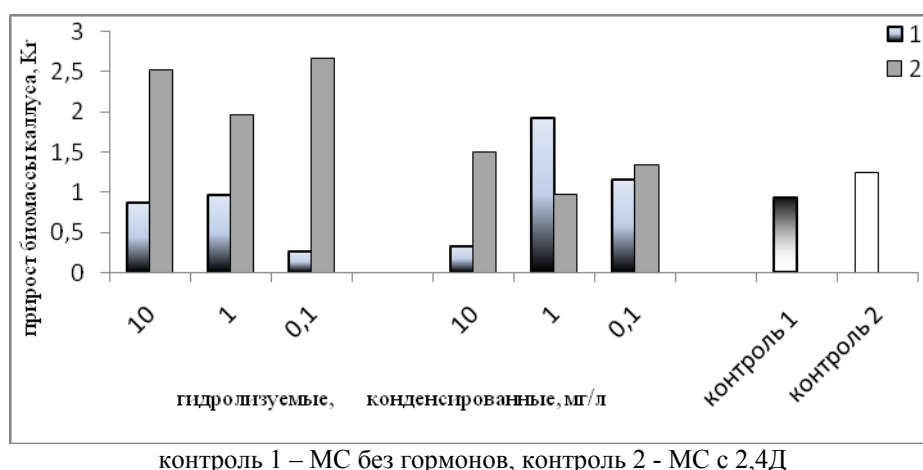


Рисунок 1 – Влияние гидролизующих и конденсированных дубильных веществ из корней *B. crassifolia* (1), *F. ulmaria* (2) на накопление биомассы каллусной ткани пшеницы

Исследование биологической активности изучаемых конденсированных и гидролизующих дубильных веществ, в тест-системе *in vitro* каллусной ткани моркови показало, что добавление этих веществ, выделенных из *B. crassifolia* стимулировало незначительное накопление биомассы каллуса (рисунок 2).

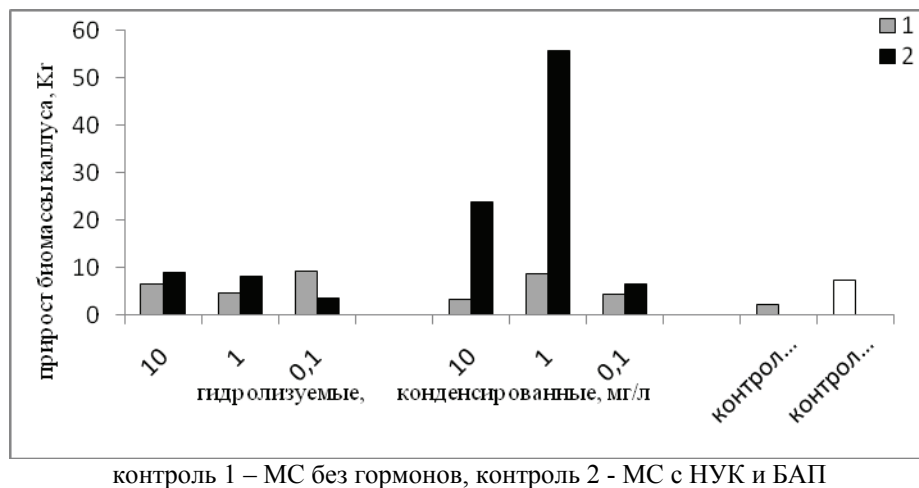


Рисунок 2 – Влияние гидролизуемых и конденсированных дубильных веществ *B. crassifolia* (1) и *F. ulmaria* (2) на накопление биомассы каллусной ткани моркови

В результате проведенных исследований выявлено:

1. В системах исследованных биотестов гидролизуемые и конденсированные фракции дубильных веществ, а также эти фракции, выделенные из разных видов, существенно различаются по биологическим активностям.

2. Прирост биомассы каллусов однодольных и двудольных растений неодинаково реагируют на фракции дубильных веществ, выделенных из разных растений. В частности, исключительно высокий прирост биомассы (в 8 раз) каллусов моркови наблюдался в присутствии конденсированных дубильных веществ, выделенных из *F. Ulmaria*, в концентрациях 10 мг/л и 1 мг/л. При этом, эта же фракция в той же концентрации очень незначительно влияет на прирост биомассы пшеницы.

3. Выявлено влияние дубильных веществ на укоренение черенков фасоли и ризогенез в каллусных культурах. Возможно, судя по дозозависимым ответным реакциям, оно заключается во взаимодействии с фитогормонами.

#### Литература

1. Васильев Ю.И., Завадский В.А., Пономарев Б.Н. Получение дубильных веществ из растительного сырья. В кн.: Физиолого-биохимические и генетико-селекционные исследования растений в Казахстане. - Алматы, 2010. – С. 112-121.
2. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В, Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. – Киев: Наукова думка, 1980. – 487 с.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М., 1990. – 352 с.
4. Введение в фитохимические исследования и выявление биологической активности веществ растений под ред. Л.К. Мамонова, Р.А. Музыкакиной – Алматы, 1982. – 216 с.

#### Түйін

*Bergenia crassifolia* L. Fritsch және *Filipendula ulmaria* (L) Maxim. өсімдіктерінің тамырынан бөлініп алынған конденсацияланатын және гидролизденетін илік заттардың биологиялық белсенділіктерінің жоғары деңгейі биотест жүйесінде анықталды.

#### Summary

High level of some biological activities of condensed and hydrolysable tannins from roots of *Bergenia crassifolia* L. Fritsch and *Filipendula ulmaria* (L) Maxim were shown in bioassays system.