

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

А. Н. БОЯРКИН

**НОВЫЙ МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АКТИВНОСТИ РОСТОВЫХ ВЕЩЕСТВ**

(Представлено академиком Н. А. Максимовым 19 II 1947)

Известно, что все существующие методы определения ростовой активности, вследствие значительных колебаний в чувствительности подопытных растений (колеоптилей, гипокотилей), дают лишь относительные значения (¹⁻⁵). Устранить эти колебания не удастся, так как вызывающие их причины неизвестны. Предложенный Овербеком (^{6,7}) способ выражения ростовой активности в эквивалентных концентрациях гетероауксина, хотя и обладает преимуществами, но, будучи основан на относительном методе и используя экстраполяцию по одной точке, дает удовлетворительные результаты только вблизи этой точки.

Выходом из этого затруднения может служить предлагаемый ниже способ биологического титрования.

В качестве индикатора активности берут колеоптили овса, прямой рост которых под влиянием ауксинов, сахаров и солей уже неоднократно исследовался различными авторами (⁹⁻²⁰). Отрезки колеоптилей в 1 см помещают по 10 штук в четыре стандартных раствора гетероауксина с концентрациями 10^{-8} , 10^{-7} и 10^{-6} и одновременно в испытуемый раствор. После 17—20 час. пребывания в этих растворах отрезки измеряют и определяют их прирост в каждом растворе.

На основании приростов в растворах гетероауксина строят кривую, на которой, путем интерполяции, находят концентрацию гетероауксина, соответствующую приросту в испытуемом растворе. По аналогии с рН найденную таким образом активность А удобно обозначать при помощи положительного логарифма эквивалентной концентрации β -индолилуксусной кислоты (в дальнейшем сокращенно обозначаемой ИУК). Так, например, рА 6,0 и рА 7,7 означают ростовые активности, соответствующие концентрациям ИУК 10^{-6} и $10^{-7,7}$.

Полученные таким путем значения устойчивы и, по крайней мере теоретически, не зависят от колебаний в чувствительности колеоптилей, условий их выращивания и обработки, а также от сорта овса. Техника основанного на этом принципе метода состоит в следующем.

Выращивание колеоптилей. Очищенные от чешуй зерна какого-либо чистосортного овса (нами брались сорта „Победа“ и „Диппе“) замачиваются в течение 2 час. в воде, после чего их раскладывают в чашки Петри на влажной фильтровальной бумаге зародышем вверх и выставляют на свет на 24—30 час. (желательно при 18—20°C). Равномерно наклюнувшиеся зерна рассаживают в несколь-

ко видоизмененный прибор Бухингера (рис. 1,а) и ставят в темный термостат при 22—27°C для выращивания.

Препарирование. Когда колеоптили достигают длины 16—24 мм, кюветы по одной вынимают из термостата и выносят на рассеянный дневной или электрический свет. Все колеоптили немедленно срезаются у основания ножницами. Далее из них отбирают лишь такие, которые соответствуют в пределах 2 мм преобладающей длине данной партии (т. е. берут 16—18 мм или 17—19 мм и т. д. до 22—24 мм). Отобранные колеоптили укладывают на особый самодельный станочек (рис. 1,б), на котором из них сразу по 11 штук вырезаются односантиметровые отрезки. При помощи стеклянной спицы из этих отрезков, не снимая их со станочка, выдвигают первичный лист так, чтобы он выступал со стороны базального конца отрезков на половину своей длины, после чего отрезки сбрасывают со станочка в чашку с дистиллированной водой.

Световая обработка. Отпрепарированные и плавающие в дистиллированной воде колеоптили выставляют на 3—4 часа на яркий дневной или электрический свет; для равномерного облучения их

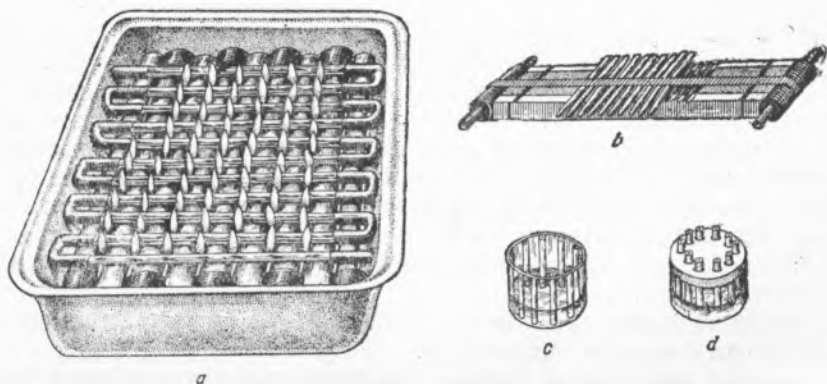


Рис. 1

перемешивают через каждые 20—30 мин. стеклянной палочкой. Основанием такой световой обработки нам послужила работа Овербека⁽²¹⁾, в которой установлено, что колеоптили, подвергавшиеся действию света в период между декапитированием и насадкой агарового блока с ауксином, становятся к последнему более чувствительными.

Установка колеоптилей в активные растворы. После облучения колеоптили переносят на более слабый дневной или электрический свет, вынимают из воды и обсушивают фильтровальной бумагой. Затем их берут по одному, выдергивают торчащий с базального их конца первичный лист, продувают для удаления попавшей внутрь их воды и ставят апикальным концом вниз в небольшие стеклянные чашечки (рис. 1,с), в которые предварительно наливают по 0,5 см³ (10 капель) активных растворов. В каждую чашечку ставится по 10 колеоптилей, которые удерживаются в вертикальном положении вследствие капиллярного прилипания к стенкам чашечек. Такой способ установки может быть заменен другим, если взять чашечки высотой 5—6 мм и накрыть их крышками (из пластмассы, воска, парафина) с 10 отверстиями, в которые и вставляются колеоптили (рис. 1,д). Заряженная таким образом батарея из чашечек помещается во влажную камеру, которую ставят на 17—20 час. в темный термостат при 22—27°C.

Измерения. По истечении указанного времени батарея вынимается из термостата; колеоптили из каждой чашечки (все 10 или по 5 штук) нанизываются до контакта друг с другом на тонкий

прямой стеклянный прутик, и суммарная длина их измеряется при помощи циркуля или масштабной линейки с оценкой десятых долей миллиметра на глаз.

Определение активности. Дальнейший ход определения удобнее показать на конкретном примере. В табл. 1 приводятся данные одного типичного опыта, в котором в качестве испытуемого раствора был взят раствор гетероауксина с концентрацией $10^{-7,7}$ (рА 7,7).

В пятом столбце таблицы приводится средняя ошибка m , для определения которой при разработке метода, кроме суммарного измерения колеоптилей в каждой чашечке, они измерялись по отдельности.

По кривой прирост — логарифм концентрации (рис. 2) находим активность испытуемого раствора в эквивалентной концентрации ИУК. В приведенном примере активность испытуемого раствора получилась рА 7,65 с ошибкой рА 0,05, так как в качестве испытуемого раствора был взят раствор ИУК $10^{-7,7}$.

Чашечка I с водой ставилась для проверки достоверности разницы в приросте колеоптилей в воде и в самой низкой концентрации ИУК 10^{-8} . В нашем примере, как и вообще при описываемом методе, эта разница (6,5%) больше чем в 3 раза превышает среднюю ошибку (1,4%) и потому вполне достоверна.

Вследствие малой прочности растворов гетероауксина вместо него для приготовления стандартных растворов выгоднее применять 2-4-дихлорфеноксиуксусную кислоту в концентрациях $10^{-7,5}$, 10^{-7} и 10^{-6} .

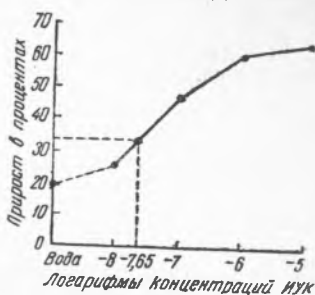


Рис. 2

Таблица 1

ЛММ чашечек	Растворы, помещенные в чашечки	Суммарная длина 10 колеоптилей в каждой чашечке по окончании опыта, мм	Прирост в %	Средняя ошибка (m) в %
I	Дистиллированная вода	118,9	18,9	$\pm 1,1$
II	ИУК 10^{-8}	125,4	25,4	$\pm 1,3$
III	ИУК 10^{-7}	147,2	47,2	$\pm 2,8$
IV	ИУК 10^{-6}	160,5	60,5	$\pm 2,6$
V	ИУК 10^{-5}	164,5	64,3	$\pm 2,4$
VI	Испытуемый раствор (ИУК $10^{-7,7}$) .	133,4	33,4	$\pm 1,5$

она дает хорошо сохраняющиеся растворы и более крутую кривую зависимости прироста от концентрации.

Описанная методика может быть также использована для относительных определений ростовой активности, что будет описано нами в другой работе.

Настоящая работа выполнена в лаборатории роста и водного режима Института физиологии растений им. К. А. Тимирязева АН СССР под руководством академика Н. А. Максимова, которому автор приносит глубочайшую признательность за постановку интересной темы. Автор выражает также благодарность П. И. Блузманас и Е. Н. Беляевой-Михалевой за помощь, оказанную ими при проведении работы.

Поступило
19 II 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ F. W. Went and K. V. Thimann, *Phytohormones*, 1937. ² F. Kögl, A. I. Haagen-Smit u. C. I. Hulssen, *Z. physiol. Chem.*, **17**, 241 (1936). ³ I. Juel, *Planta*, **25**, 307 (1936). ⁴ R. H. Goodwin, *Am. J. Bot.*, **26**, 74 (1939). ⁵ W. P. Judkins, *Ibid.*, **33**, 181 (1946). ⁶ I. Overbeek, *Bot. Gaz.*, **100**, 133 (1938). ⁷ I. Overbeek, *Plant Physiol.*, **15**, 291 (1940). ⁸ G. S. Avery, T. Berger and B. Shalucha, *Am. J. Bot.*, **23**, 596 (1941). ⁹ П. Бойсен-Иенсен, *Ростовые гормоны растений*, 1938. ¹⁰ Н. Г. Холодный, *Фитогормоны*, 1939. ¹¹ Н. А. Максимов, *Успехи совр. биол.*, **22**, 161 (1946). ¹² G. S. Avery and C. D. Larus, *Bot. Gaz.*, **100**, 186 (1938). ¹³ J. Bonner, *J. Gen. Physiol.*, **17**, 63 (1933). ¹⁴ J. Bonner, *Protoplasma*, **21**, 406, (1934). ¹⁵ L. Iost u. Reiss, *Z. Bot.*, **30**, 335 (1936). ¹⁶ R. Pohl, *Planta*, **25**, 720 (1936). ¹⁷ S. Kaiser and H. G. Albaum, *Am. J. Bot.*, **26**, 749 (1939). ¹⁸ B. A. Scheer, *Ibid.*, **24**, 559 (1937). ¹⁹ C. L. Schneider, *Ibid.*, **25**, 258 (1938). ²⁰ K. V. Thimann and C. L. Schneider, *Ibid.*, **25**, 270 (1938). ²¹ I. Overbeek, *J. Gen. Physiol.*, **20**, 283 (1936).