

**ВПЛИВ ЗАЛІЗА НА ГІПЕРГІДРАТАЦІЮ *IN VITRO* РЕГЕНЕРАНТІВ
ЯГІДНИХ КУЛЬТУР****В.В. Мацкевич, Л.М. Філіпова***Білоцерківський національний аграрний університет, Україна
e-mail: vitroplant@i.ua*

Обов'язковим компонентом штучних живильних середовищ для рослин *in vitro* є залізо (Fe). Даний мікроелемент бере участь у окисно-відновних реакціях, які відбуваються у хлоропластах, мітохондріях і пероксисомах, входить до складу сполук – попередників хлорофілу тощо. Нами проведено дослідження на трьох ягідних культурах (ожині, смородині червоній та малині) щодо впливу різних форм та концентрацій заліза на гіпергідратацію регенерантів *in vitro*, оскільки діагностування вітрифікації й швидке усунення помилок або коригування технологічного процесу для усунення цієї проблеми є надзвичайно важливим із комерційного погляду.

Асептичну культуру трьох сортів ожини (Reuben, Triple crown, Loch Tay), трьох сортів малини (Glen Ample, Octavia, Sugana) та смородини червоної сорту Jonkheer Van Tets отримали із введенням у середовище за прописом Мурасіге і Скуга із біоцидом PPM 2 мл/л та додаванням у середовища для ожини 0,2 мг/л БАП та для малини і смородини червоної – 1 мг/л БАП. У дослідях порівнювали ефективність застосування різних концентрацій суміші $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ + хелатного агента Na_2EDTA і застосування добрива *Ferrilene 4.8 Orto* – Orto із вмістом Fe у формі Orto – Orto 4,8% та загальним вмістом заліза 6%. Оптимальна форма заліза і його концентрація визначалась за біометричними параметрами рослин та ознаками відсутності значної кількості гіпергідратованих культур (при надлишку заліза) або хлорозу (нестача заліза).

За результатами наших досліджень з ожиною, використання середовища з кількістю сірчаноокислого заліза та хелатного агента, що відповідає пропису середовища Мурасіге і Скуга (варіант 100% кількості заліза), не виявило надлишкового його вмісту. Близькі дані отримані також у варіанті з концентрацією заліза, збільшеною на 25%. Лише в сорту Loch Tay виявлено 2% вітрифікованих рослин.

Збільшення концентрації заліза до 150% від базового пропису спричинило підвищення частки рослин з гіпергідратованими тканинами до 39% у сорту Loch Tay і 4% – у сорту Reuben. Специфічність реакції на такий вміст заліза мав сорт Triple crown, у якого не виявлено вітрифікованих рослин *in vitro*. Із збільшенням концентрації заліза в живильному середовищі в окремих варіантах – з 200% вмістом у сорту Loch Tay та 250% у сортів Reuben і Loch Tay – усі рослини були вітрифіковані. Отримані дані свідчать про значний позитивний вплив усіх варіантів концентрацій добрива *Ferrilene 4.8 Orto* – Orto на утворення мікропагонів у конгломераті та низький ступінь вітрифікації рослинних тканин порівняно з використанням сірчаноокислого заліза.

За вирощування *in vitro* малини результати досліджень значно відрізнялися. Збільшення кількості заліза у формі $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ та хелатного компонента вдвічі зумовило утворення лише незначної кількості вітрифікованих рослин. Лише у варіанті з 250% кількістю заліза значно проявилися біологічні особливості сортів стосовно їх гіпергідратації. Наприклад, різниця між сортами Glen Ample і Sugana сягала майже трьох разів.

При посадці живців смородини червоної на середовище із завищеним вмістом заліза регенеранти були інтенсивного зеленого кольору, окремі з них мали дещо збільшену кущистість і гіпергідратовані тканини. За висотою пагона майже не поступалися контрольним. В наступних пасажах утворювалися вкорочені рослини з формуванням у базальній частині пагона калюсного напливу. До надлишку заліза регенеранти смородини червоної були більш сприйнятливими порівняно з регенерантами малини, а ожина займала проміжне положення.

Отже, доведено вплив форми заліза і його кількості у штучних живильних середовищах на вирощування ожини, малини і смородини. За часткою вітрифікованих рослин значну перевагу мало використання добрива *Ferrilene 4.8 Orto* – Orto порівняно з сірчаноокислим залізом + хелатним агентом.

УДК 633.11:631.523.085:581

БІОХІМІЧНА ОЦІНКА СОМАКЛОНАЛЬНИХ ВАРІАНТІВ ТРИТИКАЛЕ ОЗИМОГО З ПІДВИЩЕНОЮ СОЛЕСТІЙКІСТЮ

С.В. Пикало, С.І. Волощук

Миронівський інститут пшениці імені В.М. Ремесла НААН, Україна

e-mail: mwheats@ukr.net

Засолення є одним з важливих абіотичних чинників в обмеженні продуктивності рослин. Засоленими вважається 7–10% зрошуваних сільськогосподарських угідь в Україні. Хоча мінерали є необхідними для рослин, але надмірна їх кількість у ґрунті шкідлива для них. Рослини, що піддаються впливу засолення, страждають від надлишку іонів або дефіциту води і окислювального стресу, пов'язаного з утворенням активних форм кисню (АФК). Це спричиняє пошкодження ліпідів, білків і нуклеїнових кислот. Окислювальний стрес в умовах засолення вважають одним з основних уражуючих факторів у клітинах рослин. Ряд робіт присвячено вивченню реакції на сольовий стрес і толерантності на рівні рослин, а також у культурі тканин.

Відомо також, що у відповідь на стресор у тканинах рослини утворюються супероксиданіон ($O_2^{\cdot-}$), пероксид водню (H_2O_2) і гідроксильний радикал (OH^{\cdot}), з яких лише H_2O_2 відносно стабільний у розчині. У культурі клітин різних рослин спостерігали двофазне збільшення вмісту АФК у відповідь на стресовий чинник – через 1 і 4–5 год. після обробки. Перший пік вважають неспецифічним збільшенням вмісту АФК, а другий – специфічним.

Мета роботи – дослідити активність антиокислювальних ферментів після циклу прямої клітинної селекції у толерантних і нестійких соматоклональних ліній.

Використовували сорти тритикале озимого Обрій миронівський (відносно толерантний) та АДМ 4 (сприйнятливий). Калюсні культури отримували з двотижневих незрілих зародків розміром 1,0–1,7 мм на автоклавованому середовищі Мурашіга і Скуга (МС). Після 4 тижнів інкубації проводили субкультивування калюсів на свіже середовище, а ще через 4 тижні – на середовище з додаванням різних концентрацій NaCl (50, 100, і 150 мМ). Після цього калюси субкультивували на середовищі МС без NaCl протягом чотирьох тижнів. Для перевірки стабільності ознаки солестійкості калюсні лінії, які нормально росли на середовищі без NaCl, знову переносили на середовище МС з 150 мМ NaCl і пасажували протягом 4 тижнів. Калюсні лінії, що вижили і показали нормальний ріст на даному етапі, вважали NaCl-толерантними. Їх пересаджували на свіже середовище і додатково вирощували протягом чотирьох тижнів та використовували для біохімічних досліджень. Визначали сиру масу калюса, вміст білка, малонового діальдегіду та аскорбінової кислоти, а також активність таких ферментів, як супероксиддисмутаза (СОД), аскорбатпероксидаза (АПО) і каталаза (КАТ), за допомогою яких рослини захищають клітини і субклітинні системи від згубного впливу АФК. Вміст білка визначали методом Лоурі, перекисне окислення ліпідів – за вмістом малонового діальдегіду, використовуючи 0,5% розчин тіобарбітурової кислоти в 20% трихлороцтовій кислоті (спектрофотометрично при 532 нм з корекцією неспецифічного поглинання при 600 нм). Вміст аскорбату визначали з використанням реактиву Фоліна за поглинанням продукту при 730 нм, використовуючи за стандарт аскорбінову кислоту. Активність СОД визначали по інгібуванню автоокислення пірогалолу методом Маркланда спектрофотометрично при 429 нм і виражали її в од./мг білка (за одиницю приймається 50%