

УДК 633.63:631.52:57.081

ГОНТАРЕНКО С. М., ГЕРАСИМЕНКО Г. М.

Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України, Україна, 03141, м. Київ, вул. Клінічна, 25
e-mail: sgontarenko44@gmail.com, тел. 0442775000

МЕТОД СТЕРИЛІЗАЦІЇ АГАРУ ТА ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ РОЗМНОЖЕННЯ ТА КУЛЬТИВУВАННЯ *IN VITRO* РІЗНИХ ВИДІВ РОСЛИННОГО МАТЕРІАЛУ

Прискорення селекційного процесу та швидке отримання цінного високопродуктивного рослинного матеріалу потребує подальшої розробки та вдосконалення методів біотехнології, зокрема приготування живильних середовищ, як головного фактора, що обумовлює успіх мікроклонального розмноження та культивування рослинних тканин *in vitro*.

При приготуванні живильних середовищ для біотехнологічних досліджень їх стерилізацію проводять в автоклавах (вертикальних або горизонтальних) за допомогою пару, який подається в автоклав за надлишкового тиску. Але цей метод не забезпечує максимального збереження біологічної цінності цукрів, вітамінів, регуляторів росту, амінокислот тому, що їх стерилізацію проводять в автоклавах під тиском за допомогою пару, температура якого значно вища за 100°C (130–140°C).

Мета досліджень - розробка методу стерилізації агару та живильних середовищ для розмноження та культивування *in vitro* різних видів рослинного матеріалу з використанням мікрохвильові печі, де стерилізація відбувається завдяки дії мікрохвильового випромінювання, яке нагріває рідину тільки до 100°C.

Досліди проводили в ІБКіЦБ впродовж 2014–2018 років. В дослідженнях використовували автоклав, мікрохвильову піч, агар, модифіковані живильні середовища, які використовували в дослідженнях різним рослинним матеріалом: мікророслинами, пиляками, калусами, ембріонами цукрових буряків, міскантусів, павловнії та інших біоенергетичних культур. Термічну обробку агару та живильних середовищ проводили в автоклаві та в мікрохвильовій печі. В автоклаві агар стерилізували під тиском 1 атм протягом 40 хвилин, живильні середовища – 1,3 атм також протягом 40 хвилин. В мікрохвильовій печі колби з накривками витримували піс-

ля закипання середовища (появи перших бульбочок) протягом наступних періодів: 1-5 хвилин при постійному режимі потужності та 1 хвилина + 2 хвилини; 30 секунд + 30 секунд + 30 секунд; 30 секунд + 1 хвилина + 30 секунд; 30 секунд + 2 хвилини + 30 секунд; 1 хвилина + 1 хвилина + 1 хвилина з рівнем потужності від 500 до 900 Вт при пульсуючому режимі. В дослідженнях аналізували стан живильних середовищ після стерилізації – стерильність, інфікування, щільність.

Результати досліджень свідчать, що найкращими були варіанти стерилізації агару та живильних середовищ 2–3 хвилини при 750–900 Вт, або у пульсуючому режимі: 1) 30 секунд при 750–900 Вт + 1–2 хвилини при 500 Вт + 30 секунд при 750–900 Вт, 2) 30 секунд + 30 секунд + 30 секунд при 900 Вт. Пульсуючий режим стерилізації був застосований для запобігання їх википання та підвищення щільності живильного середовища внаслідок випаровування рідини.

За цим методом було виготовлено більш 40 варіантів живильних середовищ для біотехнологічних досліджень з цукровими буряками, міскантусом, павловнією та ін.

Метод стерилізації живильних середовищ з використанням НВЧ надає значні переваги при проведенні біотехнологічних робіт, особливо при розмноженні, пасивуванні рослинного матеріалу *in vitro*, коли є необхідність приготувати малі партії живильних середовищ різних за складом компонентів в короткі строки. Метод дозволяє отримати стерильні живильні середовища без застосування автоклаву в значно коротші строки, що забезпечує економічність процесу, зокрема енергетичну та максимальне збереження біологічної цінності органічних та мінеральних речовин.

Ключові слова: агар, живильні середовища, мікрохвильові печі, стерилізація, *in vitro*.