

5. Anzidei M., Bennici A., Schiff S. et al. Organogenesis and somatic embryogenesis in *Foeniculum vulgare*: histological observations of developing embryogenic callus // Plant Cell, Tissue Organ Culture. – 2000. – 61, N 1. – P. 69–79.
6. Figueiredo A.C., Pais M.S. *Achillea millefolium* (yarrow) cell suspension cultures: establishment and growth conditions // Biotechnology Lett. – 1991. – 13, N. 1. – P. 63–68.
7. Ghiorghita G., Maftai D.E., Nicuta D. Some aspects concerning the in vitro reaction of *Lavandula angustifolia* L. // Propag. Ornament. Plants. – 2009. – 9, N 1. – P. 47–49.
8. Iola-Boldura O.M., Radu F., Popescu S., Borozan A. Regeneration, micropropagation, callus cultures and somatic embryogenesis of common sage (*Salvia officinalis* L.) // Bull. UASVM Hort. – 2010. – 67, N 1. – P. 308–313.
9. Ishioka N., Tanimoto S. Plant regeneration from Bulgarian rose callus // Plant Cell, Tissue and Organ Cult. – 1990. – 22, N 3. – P. 197–199.
10. Meftahzade H., Lotfi M., Moradkhani H. Optimization of micropropagation and establishment of cell suspension culture in *Melissa officinalis* L. // African J. of Biotechnology. – 2010. – 9, N 28. – P. 4314 – 4321.
11. Murthy H.N., Hahn E.J., Paek K.Y. Recurrent somatic embryogenesis and plant regeneration in *Coriandrum sativum* L. // Sci. Hort. – 2008. – 118, N. 2. – P. 168–171.

YEGOROVA N.A., STAVTZEVA I.V., YAKIMOVA O.V., KAMENYOK L.I., KRIVCHATKO A.G.

Institute of Agriculture Crimea, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Ukraine, 95034, Simferopol, Kievskaya str., 150, e-mail: yegorova.na@mail.ru

ROLE OF SOME FACTORS IN THE PROCESS OF CALLUSOGENESIS INDUCTION *IN VITRO* IN ESSENTIAL OIL PLANTS

Aims. The influence of some factors on callus formation for main and perspective for growing in Ukraine species of essential oil plants was investigated. **Methods.** Cell, tissue and organ culture *in vitro*, statistics.

Results. The conditions for obtaining callus cultures using a wide range of explants, varieties and samples of essential oil plants – lavender (*Lavandula angustifolia*), sage (*Salvia sclarea*), coriander (*Coriandrum sativum*), fennel (*Foeniculum vulgare*), essential oil rose (*Rosa spp.*), yarrow (*Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *A. setacea*, *A. nobilis*), melissa (*Melissa officinalis*), tarragon (*Artemisia dracunculus*), monarda (*Monarda fistulosa*, *M. citriodora*, *M. didyma*, *M. x hybrida*) have been optimized. The peculiarities of the influence on the callusogenesis of some factors (genotype and donor plant origin, season, hormonal composition of nutrient medium, type of explant and its orientation to the surface of the medium) were revealed. In particular, for fennel variability in the callus formation frequency of plants within ‘Martsishor’ variety (from 0 to 100 %) were detected, for lavender it was shown an increased frequency of callusogenesis at 1.5–2.0 times when leaf placed adaxial side on agar compared with abaxial. **Conclusions.** The important role of some endogenous and exogenous factors in the induction of callus formation in lavender, sage, coriander, fennel, essential oil rose, yarrow, melissa, tarragon, monarda was shown.

Key words: essential oil plants, callusogenesis, explant, *in vitro*.

УДК 633.111.1; 632.4; 661.743.1

ЖУК І.В., ДМИТРИЄВ О.П.

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Україна, 03680, м. Київ, вул. Заболотного, 148, e-mail: iren_zhuk@mail.ru

УЧАСТЬ ЦАВЛЕВОЇ КИСЛОТИ В ІНДУКЦІЇ СИСТЕМНОЇ СТІЙКОСТІ ПШЕНИЦІ ДО ЗБУДНИКА СЕПТОРІОЗУ

Грибні захворювання пшениці призводять до значних втрат урожаю. До найбільш поширених грибних хвороб належить септоріоз. Втрати врожаю за помірного розвитку септоріозу становлять 10–15 %, а при епіфітотійному, яке трапляється раз в 2–3 роки – 30–50 % [1] Збудник цього захворювання гриб

Septoria tritici уражує листки пшениці, зменшуючи їх асиміляційну поверхню та здатність до фотосинтезу. Дефіцит фотоасимілятів у свою чергу викликає затримку розвитку колоса, зниження кількості та маси зерен у колосі. Підвищення імунітету рослин до патогенів здійснюється за допомогою

елісаторів, перелік яких постійно поповнюється новими речовинами [2].

Нами в якості елісатора для індукції неспецифічної стійкості рослин пшениці до септоріозу була використана щавлева кислота. Відомо, що ця кислота здатна індукувати програмовану загибель рослинних клітин шляхом посилення утворення активних форм кисню (АФК), що є однією з відповідей рослин на біотичний стрес [3–5]. Нами показано, що щавлева кислота індукувала підвищення активності фенольних пероксидаз, які беруть участь у формуванні клітинних стінок, утилізації пероксиду водню, що обумовлює індукцію неспецифічної стійкості рослин озимої м'якої пшениці до збудника септоріозу [2].

Метою роботи було вивчення дії щавлевої кислоти на первинні реакції відповіді рослинних клітин на проникнення патогена.

Матеріали і методи

Об'єктом досліджень були сорти озимої м'якої пшениці *Triticum aestivum* L. – Поліська 90 та Столична, які вирощували в умовах дрібноділянкових польових дослідів на сірому лісовому ґрунті в Київській області з використанням типової для зони агротехніки. Обробка рослин водним розчином щавлевої кислоти 0,1 мМ проводилась у фазі виходу в трубку з одночасною інокуляцією збудником септоріозу *Septoria tritici*. Саме ця фаза є найбільш чутливою до дії елісаторів, регуляторів росту і септоріозу. В попередніх дослідженнях нами встановлено, що саме ця концентрація розчину щавлевої кислоти є найбільш ефективною. В якості маркера індукованої стійкості спектрофотометрично визначали активність фенольних пероксидаз (КФ 1.11.1.7) в листках за методом Сіверс [6], аскорбатпероксидази (АПО) по Накано і Асада [7], каталази по Люку [8]. Відбір зразків проводили через добу після зараження і в подальшому протягом періоду колосіння-цвітіння та дозрівання зерна. Оцінку ураження та ступеню розвитку захворювання проводили у фазу молочно-воскової стиглості зерна з використанням 9-бальної шкали Саарі та Прескотта [1]. У цей же період визначали морфометричні параметри – висоту рослин, довжину колоса та прапорцевого листка. Після

дозрівання зерна проводили аналіз структури врожаю. Повторність досліду триразова. Результати обробляли статистично з використанням ANOVA.

Результати та обговорення

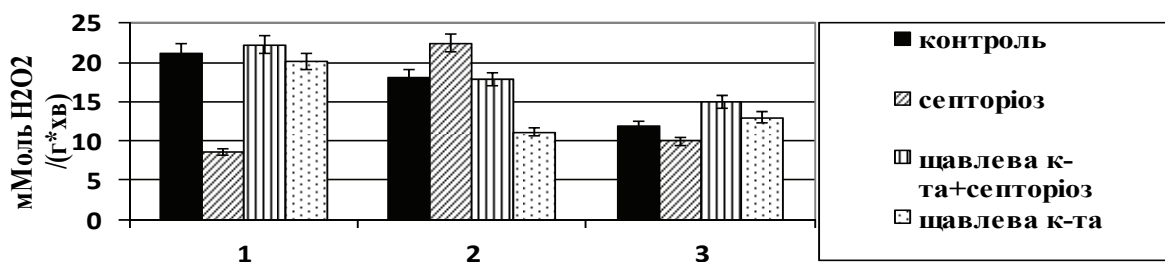
Однією з первинних реакцій відповіді рослинної клітини на патоген є зміни активності пероксидаз. Одним з утилізаторів пероксиду водню у рослинних клітинах є АПО. Нами показано, що після обробки рослин пшениці щавлевою кислотою у фазі виходу в трубку активність АПО зростала на 50 % в листках чутливого до септоріозу сорту Поліська 90, оброблених щавлевою кислотою та інфікованих збудником септоріозу, порівняно з необробленими та інфікованими рослинами цього сорту (рис. 1, А).

Показано, що у сорту Столична дія щавлевої кислоти у фазі виходу в трубку та колосіння-цвітіння у заражених септоріозом рослин зменшувала активність АПО, порівняно з варіантом, де рослини були заражені септоріозом. В фазі молочної стиглості зерна активність АПО в усіх варіантах досліду була близькою, що обумовлено старінням листового апарату (рис. 2, Б).

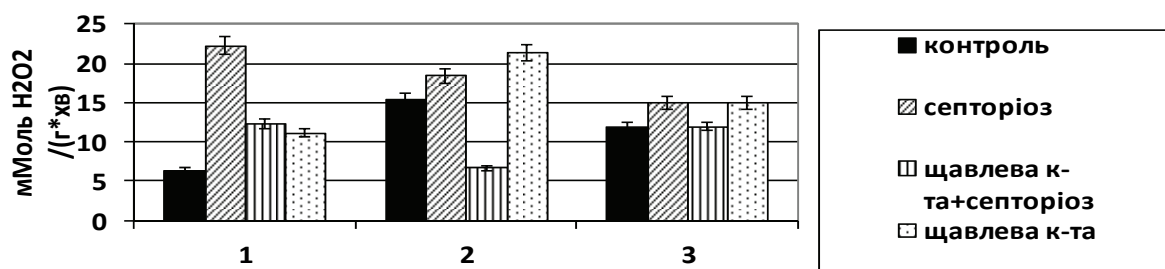
Вивчена нами активність фенольних пероксидаз, що беруть участь в процесах лігніфікації клітинних стінок зростала в період колосіння-цвітіння і обумовлювалась посиленням розвитку гриба і активації захисту клітин рослин від проникнення патогену. Реакція сортів на патоген та дію щавлевої кислоти була близькою, що вказує на незначні відмінності в їх природному фітоімунитеті (рис. 2, А, Б).

У обох сортів озимої пшениці встановлено підтримання активності пероксидаз на високому рівні у заражених септоріозом та оброблених щавлевою кислотою рослин до фази молочної стиглості зерна (рис. 2, А, Б).

Одночасно нами була досліджена активність каталази, яка функціонує в пероксисомах і утилізує пул пероксиду водню, утворений внаслідок процесів катаболізму. Обробка щавлевою кислотою зменшувала активність каталази у сорту Поліська 90, що свідчить про затримку розвитку захворювання. (рис. 3, А).

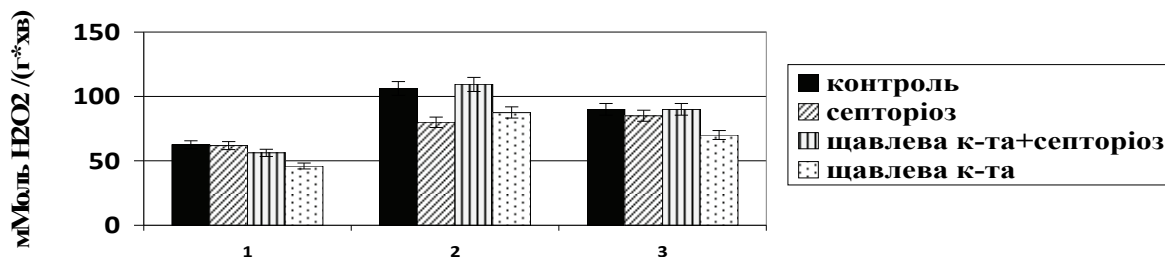


А

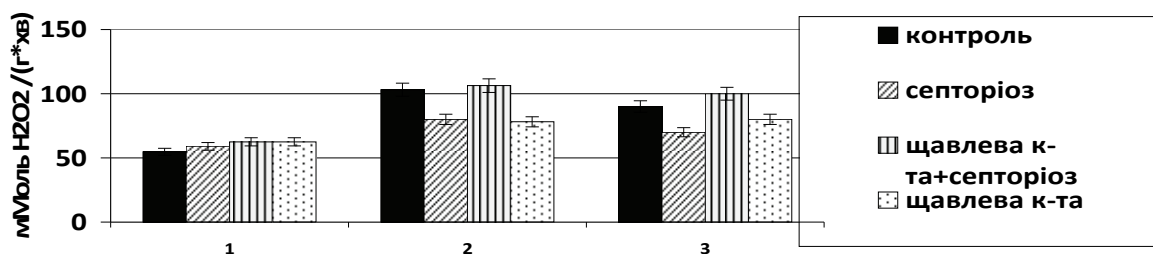


Б

Рис. 1. Вплив обробки щавлевою кислотою за умов ураження збудником септоріозу на активність аскорбатпероксидази у листках озимої пшениці сорту Поліська 90 (А) та Столична (Б): 1 – фаза виходу в трубку, 2 – фаза колосіння-цвітіння, 3 – молочної стиглості зерна

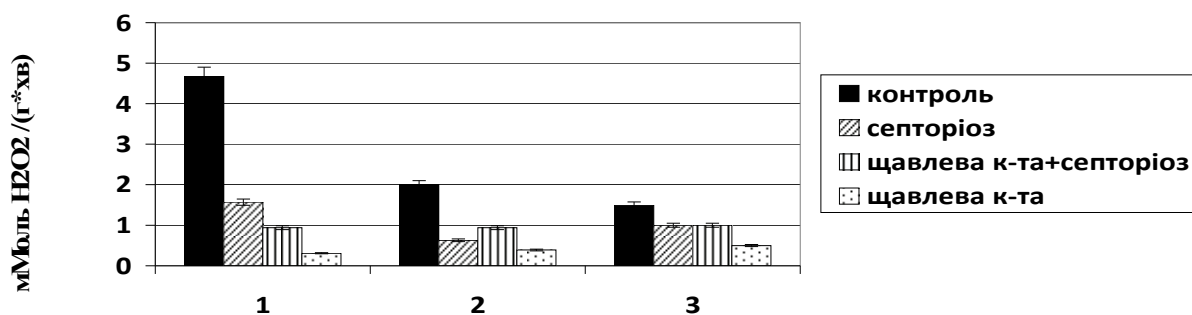


А

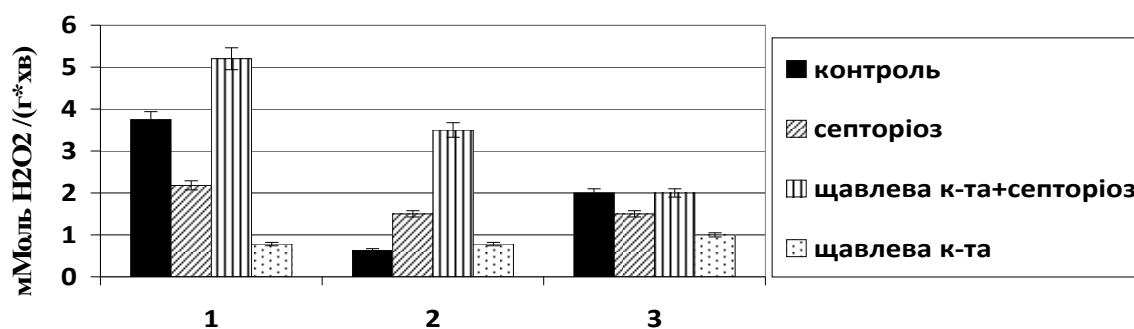


Б

Рис. 2. Вплив обробки щавлевою кислотою за умов ураження збудником септоріозу на активність фенольних пероксидаз у листках озимої пшениці сорту Поліська 90 (А) та Столична (Б): 1 – фаза виходу в трубку, 2 – фаза колосіння-цвітіння, 3 – молочної стиглості зерна



А



Б

Рис. 3. Вплив обробки щавлевою кислотою за умов ураження збудником септоріозу на активність каталази в листках озимої пшениці сорту Поліська 90 та Столична (Б): 1 – фаза виходу в трубку, 2 – фаза колосіння-цвітіння, 3 – молочної стиглості зерна

У сорту Столична обробка щавлевою кислотою заражених септоріозом рослин підвищувала активність каталази на 30 % порівняно з контролем і бівдвічі порівняно з зараженням септоріозом у фазі виходу в трубку, що може бути обумовлено реакцією запрограмованої загибелі у відповідь на проникнення гриба і спробу його розповсюдження по рослині. У фазах колосіння-цвітіння та молочної стиглості зерна активність каталази зменшувалась, що вказує на підвищення стійкості сорту до розвитку грибного захворювання.

Аналіз структури врожаю показав, що у оброблених щавлевою кислотою зменшувалось ступеня ураження рослин у обох сортів озимої пшениці, що сприяло росту стебла та прапорцевого листка, підвищувало кількість зерен в колосі (табл.).

Внаслідок ураження септоріозом формувались невиворнені зернівки, що знижувало продуктивність рослин та якість отриманого зерна. Однак дія щавлевої кислоти зменшувала кількість неповноцінних зерен.

Висновки

Дослідження активності АПО, фенольних пероксидаз і каталази прапорцевих листків озимої пшениці сортів, Поліська 90 та Столична в умовах зараження септоріозом і обробки щавлевою кислотою в якості елісатора показали, що дія щавлевої кислоти підвищувала неспецифічну стійкість рослин до патогена. Аналіз структури врожаю підтвердив позитивний ефект щавлевої кислоти на реалізацію потенційної продуктивності рослин озимої пшениці в умовах зараження септоріозом.

Таблиця. Вплив щавлевої кислоти на морфометричні параметри рослин озимої пшениці сорту Столична за умов ураження септоріозом

Сорт, варіант	Висота рослин, см	Довжина прапорцевого листка	Довжина колоса, см	Кількість колосків в колосі	Кількість зерен в колосі, шт
Поліська 90, контроль	86,3 ± 2,0	19,4 ± 0,4	8,7 ± 0,3	16 ± 2	45 ± 2
Поліська 90, септоріоз	74,0 ± 2,0	16,0 ± 0,3	9,0 ± 0,3	15 ± 2	40 ± 2
Поліська 90, щавлева к-та	83,0 ± 2,0	18,7 ± 0,4	9,5 ± 0,3	18 ± 2	56 ± 3
Поліська 90, щавлева к-та+септоріоз	80,7 ± 2,0	19,8 ± 0,4	9,5 ± 0,3	17 ± 2	51 ± 2
Столична, контроль	82,5 ± 2,0	17,4 ± 0,4	9,0 ± 0,4	16 ± 2	48 ± 2
Столична, септоріоз	78,0 ± 2,0	15,3 ± 0,3	8,3 ± 0,3	15 ± 2	42 ± 3
Столична, щавлева к-та	85,1 ± 2,0	17,3 ± 0,4	9,0 ± 0,4	17 ± 2	50 ± 3
Столична, щавлева к-та+септоріоз	87,5 ± 3,0	18,1 ± 0,4	9,0 ± 0,4	17 ± 2	48 ± 2

Література

1. Бабаянц Л.Т., Мештерхази А., Вехтер Ф. и др. Методы селекции и оценки устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах-членах. – Прага: СЭВ. – 1988. – 321 с.
2. Жук І.В. Дмитрієв О.П. Індукція захисних реакцій пшениці, інфікованої збудником септоріозу // Фактори експериментальної еволюції організмів. – К.: Логос, 2013. – 12. – С. 219–223.
3. Van Breusegem F., Vranova E., Dat J.F., Inze D. The role of active oxygen species in plant signal transduction // Plant Science. – 2001. – 161. – P. 405–414.
4. Kamilova F, Kravchenko L.V, Shaposhnikov A.I, Makarova N., Lugtenberg B. Effects of the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and of the biocontrol bacterium *Pseudomonas fluorescens* WCS365 on the composition of organic acids and sugars in tomato root exudate // Mol. Plant. Microbe Interact. – 2006. – 19, N 10. – P. 1121–1126.
5. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. TRENDS in Plant Science. – 2002. – 7, N 9. – P. 405–410.
6. Seevers P.M., Daly J.M., Catedral F.F. The role of peroxidase isozymes in resistance to wheat stem rust disease // Plant Physiol. – 1971. – 48, N 3. – P. 353–360.
7. Nakano Y., Asada K. Hydrogen Peroxide Is Scavenged by Ascorbate-Specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts // Plant Cell Physiol. – 1981. – 22. – P. 867–880.
8. Luck H. Catalase. In HU Bergmeyer, Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press. – New York, 1965. – P. 885–894.

ZHUK I.V., DMITRIEV A.P.

*Institute of Cell Biology and Genetic Engineering,
Ukraine, 03680, Kyiv, Acad. Zabolotnoho str., 148, e-mail: iren_zhuk@mail.ru*

THE EFFECT OF OXALIC ACID ON OF WHEAT DEFENSE RESPONSES AGAINST *SEPTORIA TRITICI* AGENT

Aims. The usage of biological elicitors for plant defense responses against plant pathogenic fungi may initiate tolerance of plants and prevent environmental pollution. The aim of research was to investigate the effect and oxalic acid in induction of wheat defense responses against *Septoria tritici* agent during ontogenesis. **Methods.** The phenol peroxidases, catalase and ascorbateperoxidase were measured in leaves of winter wheat plants varieties Poliska 90 and Stolychna upon treatment of oxalic acid and leaf blotch infection during ontogenesis. The morphometric parameters, degree of plant lesion and yield structure were

analyzed. **Results.** Results obtained suggest that biotic elicitor – oxalic acid induces two wheat cultivars (Stolychna and Poliska 90) defense responses against leaf blotch agent *Septoria tritici*. Initiation of defense responses in elicitor-treated plants occurs in a short period of time. The effect of oxalic acid treatment increased the activity of APO, phenol peroxidases and decreased the catalase activity. The effect of oxalic acid also increased the grain quantity in ear and plant height. **Conclusions.** Biochemical nature of defense responses elicitation revealed an increase activity of cytoplasmic peroxidase (CP) which induces lignin synthesis for mechanical strengthening of the cell wall. It is also shown that changes in activity of ascorbateperoxidase (APO) reflect the functioning of the photosynthetic metabolism in leaves cells mesophyllous.

Key words: wheat, *Septoria tritici*, oxalic acid, plant defense responses, antioxidant enzymes.

УДК 633.112.1;602.6:58

ЗАМБРІБОРЩ І.С., ДОБРОВА Г.О., ШЕСТОПАЛ О.Л., ПАЛАМАРЧУК А.І.

Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннізнавства та сортовивчення, Україна, 65036, м. Одеса, Обідіопольська дорога, 3, e-mail: izambriborsh@gmail.com

ВПЛИВ ІНДУКЦІЙНОГО ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА НА ФОРМУВАННЯ НОВОУТВОРЕНЬ У КУЛЬТУРІ ПИЛЯКІВ *IN VITRO* ПШЕНИЦІ ТВЕРДОЇ

Тверда пшениця *Triticum durum* має велике значення в сільськогосподарській промисловості як сировина для виробництва макаронних та кондитерських виробів. Основним завданням селекції тетраплоїдної пшениці на сьогодні є створення холодостійких і посухостійких сортів з стабільним високим врожаєм якісного зерна. Отримання подвоєних гаплоїдів – це один з найпоширеніших біотехнологічних прийомів, який дозволяє істотно скоротити селекційний процес. Одним з основних методів отримання гаплоїдних рослин є культура пиляків *in vitro*, першим етапом якого є індукція новоутворень [1].

Мета даної роботи – дослідження впливу живильних середовищ на показник індукції новоутворень та розробка оптимальних умов для індукції новоутворень в культурі пиляків *in vitro* сортів і гібридів пшениці твердої Одеського регіону.

Матеріали і методи

До роботи були залучені 13 гібридів другого покоління пшениці твердої яро-озимої та 5 сортів пшениці твердої ярої.

Рослини вирощували на дослідних польових ділянках СГІ-НЦНС. Добір пагонів з колоссям зрізали з донорних рослин, коли вакуолізовані мікроспори пиляків знаходились у середньо-пізній одноядерній фазі розвитку. Попередню обробку зрізаних пагонів проводили у водному розчині АБК (0,5 мг/л) протягом 3-5 діб при +2 – +4 °С у темряві [2]. Колосся поверхнево стерилізували насиченим розчином

гіпохлориту кальцію за прийнятою методикою [3]. Пиляки експлантували на дев'ять варіантів агаризованих поживних середовищ для індукції новоутворень: 190-2 [4], ВAD-1 [5], С17 [6] та М42 [7] та їх модифікації. Модифікацію середовищ проводили за вмістом і складом амінокислот, органічних кислот та вітамінів [8].

Результати і обговорення

Для біотехнологів, що займаються методом культури пиляків *in vitro*, пшениця твердої є досить складним об'єктом дослідження. Насамперед, це пов'язано із низьким рівнем індукції новоутворень на першому етапі технологічного процесу отримання подвоєних гаплоїдів.

За результатами наших попередніх досліджень відмічено низький або нульовий рівень індукції новоутворень з пиляків сортів та гібридів пшениці твердої регіону Півдня України за використання стандартних для культивування пиляків *Triticum durum* живильних середовищ [9]. Тому наше дослідження було спрямоване на модифікацію складу живильних середовищ з метою підвищення досліджуваного показника. За складом і концентрацією гормонів (2,4-Д в концентрації 2 мг/л та кінетин в концентрації 0,5 мг/л [10]) та джерел вуглецю (сахароза в концентрації 60 г/л та глюкоза в концентрації 17,5 г/л [11]) всі експериментальні середовища були ідентичними. Модифікували лише вміст вітамінів, органічних та амінокислот.

Середовище 190-2 використовують як