

Decrease of the photoluminescence intensity indicates the formation of nanorods biocomplex on the surface of zinc oxide on a "key-lock" principle

Determination of ochratoxin A by zinc oxide based immune biosensor has a sufficient reaction specificity, given the significant reduction in signal when measuring concentrations ranging from 0,01ng/ml to 5,0 ng/ml

Consequently, the proposed immune biosensor is not only highly sensitive and relatively easy to use, but also optimized for fast work and has the potential for the chips re-use, which significantly reduces the cost analysis.

Therefore, further study and improvement of the method for determining ochratoxin A and interpretation of the results for the detection of various types of mycotoxins will reduce the duration and cost of the analysis in real samples and improve sensor mobility for measurements in the field.

**Keywords:** mycotoxins, ochratoxin A, immobilization, zinc oxide, photoluminescence.

УДК 60:57.085.2:582.717.4

**Н.Г. Нестерова, канд. с.-г. наук, асистент<sup>1</sup>**

**О.Ю. Чорнобров, канд. с.-г. наук, наук. співробітник<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України

<sup>2</sup>ВП НУБіП України «Боярська лісова дослідна станція»

(Київ, Україна)

## **ОСОБЛИВОСТІ ВВЕДЕННЯ ЕКСПЛАНТАТІВ РОСЛИН *HYDRANGEA MACROPHYLLA* L. В УМОВИ *IN VITRO***

Гортензія великолиста (*Hydrangea macrophylla* L.) – цінний декоративний деревний вид, розміри суцвіть якого суттєво перевершують дикорослі форми рослин. Вона широко використовується для оформлення зелених зон міських парків, ботанічних садів, скверів, алей тощо.

Рослини *H. macrophylla* яскраво вирізняються з-поміж інших видів особливою пігментацією суцвіть, що залежить від механічного та мінерального складу ґрунту і його рН. Проте така ознака, як синя або слабо-фіолетова пігментація суцвіть, не закріплюється в поколінні, бо є виключно фенотипічною реакцією рослин на умови місцезростання, і це суттєво знижує можливості формування декоративних ансамблів з гортензії.

Установлено способи одержання асептичних життєздатних експлантатів рослин *H. macrophylla*, ізольованих із донорів у різних фенофазах, та досліджено їхню регенераційну здатність *in vitro*.

Показано, що ефективна стерилізація експлантатів рослин *H. macrophylla* досягалася лише шляхом їх ізоляції у фенофазі розгортання листків рослин-донорів із подальшим витримуванням у 0,1% розчині HgCl<sub>2</sub> упродовж 10 хв. Так, регенераційна здатність таких експлантатів достовірно вища, ніж у фенофазі цвітіння.

**Ключові слова:** *Hydrangea macrophylla* L., культура *in vitro*, експлантати, стерилізація, живильне середовище, мікроклональне розмноження

**Постановка проблеми.** Нині з-поміж красивоквітучих кущів на особливу увагу заслуговують представники родини гортензійевих (*Hydrangeaceae* Dumort.), зокрема гортензія великолиста (*Hydrangea macrophylla* L.) – цінний вид, розміри суцвіть якого суттєво перевершують дикорослі рослини. Рослини широко використовують для оформлення міських парків, скверів, алей тощо [1, с. 25-144]. Особливістю рослин *H. macrophylla* є пігментація суцвіть, яка залежить від механічного та мінерального складу ґрунту і його рН: на кислих ґрунтах пелюстки квітів набувають слабо-синього забарвлення, на нейтральних – молочного; а на лужних – інтенсивно рожевого або бузкового. Проте така ознака, як синя пігментація суцвіть, не закріплюється генетично і є виключно фенотипічною реакцією рослин на умови місцезростання [2, с. 70].

Нині розробка методів створення сортів-клонів *H. macrophylla*, у т. ч. генно-інженерних, із генетично закріпленою синьою пігментацією суцвіть, є надзвичайно актуальною. Для цього необхідно виконати цілу низку завдань, зокрема на першому етапі одержати достатню кількість асептичних регенераційноздатних мікропагонів у культурі *in vitro*. Хоча технологія мікроклонального розмноження для окремих генотипів красивоквітучих кущів розроблена достатньо детально [3, с. 25-29; 55-57], інформації зарубіжних авторів щодо проведення аналогічних досліджень із *H. macrophylla* – обмаль [4, с. 163-164; 5, с. 526; 6, с. 625; 7, с. 305-307], а вітчизняні публікації відсутні.

У наших попередніх публікаціях зазначено деякі способи стерилізації експлантатів досліджуваної культури *H. macrophylla* [8, с. 67].

**Мета дослідження** – відпрацювання методики введення експлантатів рослин *H. macrophylla* в культуру *in vitro* для масового мікроклонального розмноження.

**Матеріали і методи дослідження.** Для досліджень використовували частини пагонів, які відбирали з п'ятирічних рослин *H. macrophylla* (форма суцвіття – махрова біла) у колекційних насадженнях Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України (рис. 1 А). Експлантатами I були фрагменти мікропагонів завдовжки 0,8–1,3 см, ізольовані з рослин-донорів у фенофазі розгортання листків; експлантатами II – мікропагони, відібрані у фенофазі цвітіння. Стерилізацію рослинного матеріалу проводили розчинами: 70 % етиловим спиртом (до 1 хв), 2,5 % NaClO (5-20 хв), 1 % AgNO<sub>3</sub> (5-20 хв), 0,1 % HgCl<sub>2</sub> (5-15 хв). Відстерилізовані частини пагонів в асептичних умовах нарізали на фрагменти завдовжки

0,5–1,0 см. Уведення експлантатів у культуру *in vitro* проводили на безгормональному живильному середовищі за прописом Мурасіге і Скуга (МС) [9, с. 112-113]. Показник кислотності середовища (рН) доводили до рівня 5,8–5,9. Рослинний матеріал культивували за загальноприйнятою методикою [10, с. 198-202; 11, с. 400-402; 12, с. 501]. Статистичне опрацювання експериментальних даних виконували з використанням пакета аналізу *MS Excel*. У таблиці наведено середні арифметичні значення та їх стандартні похибки.

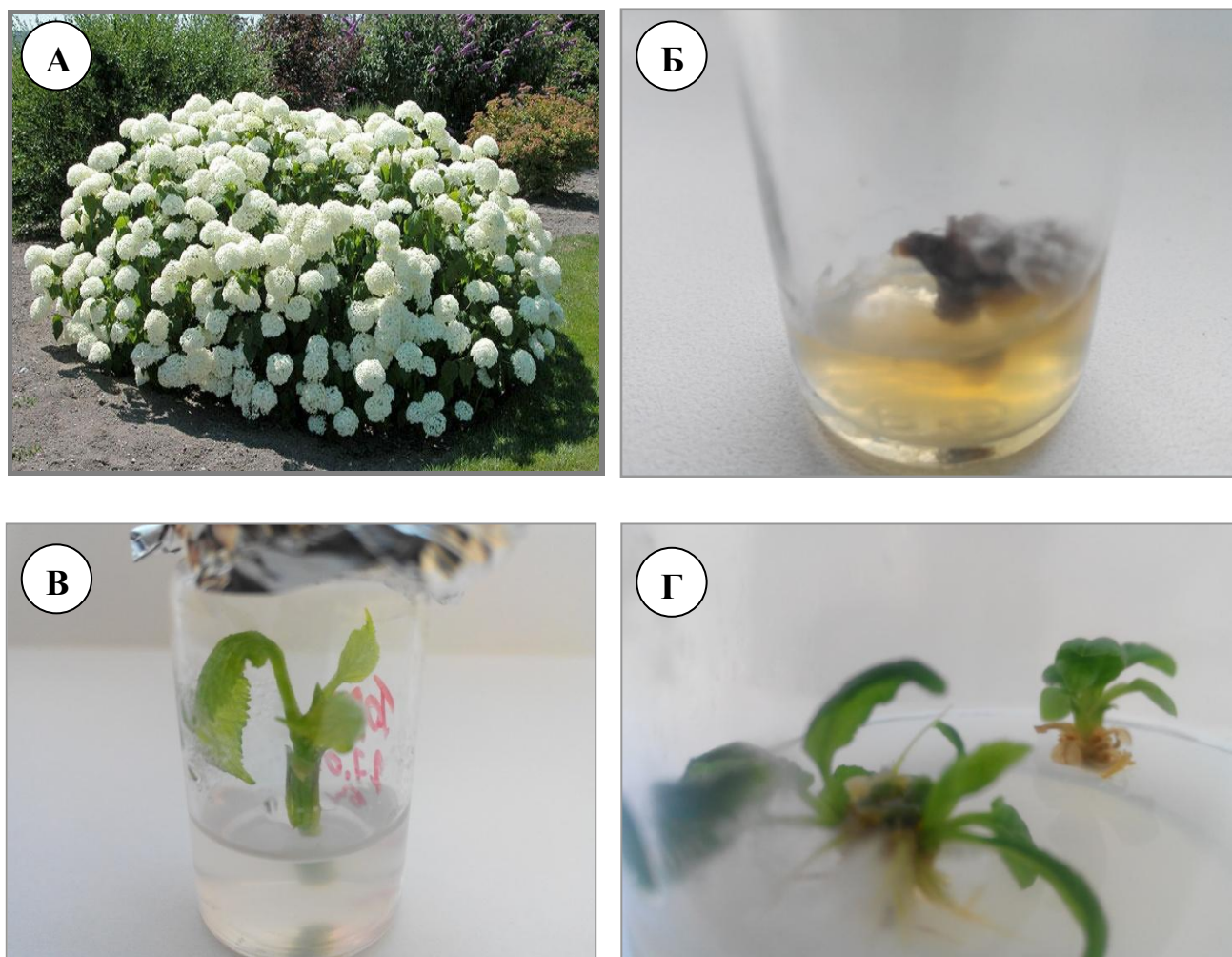
**Результати дослідження.** Нині розроблено значну кількість способів стерилізації експлантатів рослин, однак її методологію підбирають експериментально під кожний об'єкт залежно від чутливості тканин [10, с. 212; 11, с. 126-127]. Тому для досягнення поставленого завдання використовували широкий спектр стерилізуючих речовин із різною експозицією. Варіанти стерилізації експлантатів, ізольованих із рослин-донорів *H. macrophylla* в різних фенофазах, та отримані результати зазначено нижче в таблиці.

#### Ефективність стерилізації експлантатів рослин *H. macrophylla in vitro*

Варіант	Режим стерилізації експлантатів	Ефективність стерилізації рослин, %	
		експлантати I	експлантати II
1	2,5 % NaClO протягом 5 хв	54±5	–
2	2,5 % NaClO упродовж 10 хв	25±3	23±3
3	2,5 % NaClO упродовж 20 хв	15±4	30±6
4	1 % AgNO <sub>3</sub> протягом 5 хв	43±5	–
5	1 % AgNO <sub>3</sub> упродовж 10 хв	20±4	15±5
6	1 % AgNO <sub>3</sub> упродовж 20 хв	10±3	25±3
7	1 % AgNO <sub>3</sub> з наступним витримуванням у 2,5 % NaClO упродовж 5 хв	–	83±9
8	0,1 % HgCl <sub>2</sub> упродовж 5 хв	45±4	–
9	0,1 % HgCl <sub>2</sub> протягом 10 хв	91±8	47±3
10	0,1 % HgCl <sub>2</sub> протягом 15 хв	25±4	63±9

Значний відсоток ефективності стерилізації (понад 90 %) експлантатів I отримали за використання 0,1 % розчину HgCl<sub>2</sub> упродовж 10 хв (рис. 1 В). Зменшення тривалості їх витримання в 0,1 % розчині HgCl<sub>2</sub> від 10 до 5 хв призводило до зниження величини

досліджуваного показника (відмінність статистично значуща за  $\alpha = 0,05$ ) до  $45 \pm 4$  %. У разі використання таких розчинів, як 2,5 % NaClO чи 1 % AgNO<sub>3</sub> упродовж 5 хв, кількість асептичних життєздатних експлантатів I становила  $54 \pm 5$  % і  $43 \pm 5$  % відповідно. Для таких фрагментів мікропагонів недоцільно використовувати 0,1 % HgCl<sub>2</sub> упродовж 15 хв або 2,5 % NaClO чи 1 % AgNO<sub>3</sub> понад 10 хв, оскільки за таких умов ефективність стерилізації була невисокою (15 – 30 %) (рис. 1 Б).



**Рис. 1. Послідовність одержання регенераційно-здатних мікропагонів рослин *H. macrophylla* у культурі *in vitro*: а) рослини-донори з колекції Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НААН України; б) інфіковані експлантати, 5-та доба культивування; в) асептичні життєздатні експлантати, 13-та доба культивування; г) регенераційноздатні мікропагони на МС з додаванням  $0,25 \text{ мг л}^{-1}$  кінетину**

Високий досліджуваний показник стерилізації експлантатів II (понад 80 %) одержали за використання такої послідовності: ізоляція у фенофазі цвітіння рослин-донорів, витримання у 2,5 % NaClO з

наступним перенесенням у 1 %  $\text{AgNO}_3$  на 5 хв. Під час застосування зазначених варіантів знезараження експлантатів II 9 і 10 кількість асептичних життєздатних експлантатів становила  $47 \pm 3$  % і  $63 \pm 9$  % відповідно. Установлено, що використання режимів стерилізації експлантатів II 2, 5 і 6 є недоцільним, оскільки в цих процедурах зафіксовано надзвичайно малу її ефективність.

Установлено, що фенофаза рослини-донора *H. macrophylla* впливає на інтенсивність регенерації рослинного матеріалу *in vitro*. Так, активацію наявних меристем експлантатів I фіксували значно раніше, ніж експлантатів II: на 3–4 добу та 15–20 добу культивування відповідно. Відсоток регенераційноздатних експлантатів, ізольованих із рослин-донорів у фенофазі розгортання листків у 3,2 рази вищий, ніж аналогічний показник у фенофазі цвітіння (відмінність статистично значуща за  $\alpha = 0,05$ ). Експлантати I на 8–10 добу культивування на безгормональному живильному середовищі МС регенерували мікропагони завдовжки 0,5–1,0 см (рис. 1 Г). Середня довжина мікропагона з експлантату I виявилась у 4,5 рази більшою, ніж з експлантату II (відмінність статистично значуща за  $\alpha = 0,05$ ).

Отже, відпрацьовано способи стерилізації експлантатів рослин *H. macrophylla*, ізольованих із донорів у різних фенофазах, і досліджено їхню регенераційну здатність на живильному середовищі МС. Отримані мікропагони *H. macrophylla* доцільно використовувати для дослідження впливу регуляторів росту на регенераційну здатність тканин *in vitro* з метою масового мікроклонального розмноження.

**Висновки.** Таким чином, установлено, що ефективна стерилізація (понад 80 %) експлантатів рослин *H. macrophylla* досягалася шляхом їх ізоляції у фенофазі розгортання листків рослин-донорів із наступним витримуванням у 0,1 % розчині  $\text{HgCl}_2$  упродовж 10 хв. Показано, що експлантати, ізольовані у фенофазі цвітіння, доцільно стерилізувати ступінчастим способом: 1 %  $\text{AgNO}_3$  з наступним перенесенням у 2,5 %  $\text{NaClO}$  упродовж 5 хв.

Визначено, що регенераційна здатність експлантатів, ізольованих із рослин-донорів у фенофазі розгортання листків, достовірно вища, ніж у фенофазі цвітіння.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Колесников А.И. Декоративная дендрология / А.И. Колесников. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: Лесн. пром-сть, 1974. – 704 с.
2. Hill L. *Hydrangea* / L. Hill, N. Hill // Country Journal, 1995. – V. 7 (8) – P. 70–71.

3. Кушнір Г.П. Мікроклональне розмноження рослин: теорія і практика: [монографія] / Г.П. Кушнір, В.В. Сарнацька. – К.: Наук. думка, 2005. – 269 с.

4. Dahab Abou T.A.M. *In vitro* propagation of *Hydrangea macrophylla* Thunb / T.A.M. Dahab Abou // Arab J. Biotech., 2007. – V. 10. – №1. – 161–178.

5. Douglas A.B. *In vitro* propagation of Florists *Hydrangea* / A.B. Douglas, G.R. Seckinger, P.A. Hammer // HortScience, 1986. – V. 21. – №3. – P. 525–526.

6. Preece E.P. The influence of Thidiazuron on *in vitro* shoot proliferation of Oak leaf *Hydrangea* (*Hydrangea quercifolia* Bartr.) / E.P. Preece, D.I. Ledbetter // Acta Hort., 2003. – V. 2. – P. 625.

7. Sebastian T.K. *In vitro* propagation of *Hydrangea quercifolia* Bartr/ T.K. Sebastian, C.W. Heurser // Scientia Hort., 1987. – V. 31. – P. 303–309.

8. Нестерова Н.Г. Регенераційна здатність експлантатів рослин *Hydrangea macrophylla* L. в умовах *in vitro* / Н.Г. Нестерова, О.Ю. Чернобров // Біотехнологія: звершення та надії: IV всеукр. наук.-практ. конф. студ., асп. та мол. вчених, 21-22 трав. 2015 р.: тези доповідей. – К., 2015. – С. 66–67.

9. Murashige T. A revised medium for rapid, growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Scoog // Physiol. plantarum, 1962. – V.15. – №3. – P. 473.

10. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений: учеб. пособие / Р.Г. Бутенко. – М.: Наука, 1964. – 272 с.

11. Калинин Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф.Л. Калинин, В.В. Сарнацкая, В.Е. Полищук. – К.: Наук. думка, 1980. – 488 с.

12. Мельничук М.Д. Біотехнологія рослин: підруч. [для студ. агробіол. та біол. спец., наук., викл., асп.] / М.Д. Мельничук, Т.В. Новак, В.А. Кунах. – К.: Поліграфконсалтинг, 2003. – 520 с.

*Стаття надійшла до редакції  
19.12.2016*

**Н.Г. Нестерова**, канд. с.-х. наук, асистент<sup>1</sup>

**О.Ю. Чернобров**, канд. с.-х. наук, науч. сотрудник<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев

<sup>2</sup>ОП НУБиП Украины «Боярская лесная опытная станция», Боярка  
Киев, Украина

### **Особенности введения эксплантатов растений *Hydrangea macrophylla* L. в условия *in vitro***

Гортензия крупнолистная (*Hydrangea macrophylla* L.) – ценный декоративный древесный вид, размеры соцветий которого существенно превосходят

дикорастущие формы растений. Она широко используется для оформления зеленых зон городских парков, ботанических садов, скверов, аллей и т. д.

Растения *H. macrophylla* ярко выделяются среди других видов из-за особой пигментации соцветий, которая зависит от механического и минерального состава почвы и её pH. Однако такой признак, как синяя или слабо-фиолетовая пигментация соцветий, не закрепляется в поколении и является только фенотипической реакцией растения на условия произрастания, и это существенно снижает возможности формирования декоративных ансамблей с использованием гортензий.

Установлены способы получения асептических жизнеспособных эксплантатов растений *H. macrophylla*, изолированных из доноров в разных фенофазах, и исследована их регенерационная способность *in vitro*.

Показано, что эффективная стерилизация эксплантатов растений *H. macrophylla* достигалась лишь путем их изоляции в фенофазе разворачивания листьев растений-доноров с последующим выдерживанием в 0,1% растворе HgCl<sub>2</sub> в течение 10 мин. Так, регенерационная способность таких эксплантатов достоверно выше, чем в фенофазе цветения.

**Ключевые слова:** *Hydrangea macrophylla* L., культура *in vitro*, эксплантаты, стерилизация, питательная среда, микрклональное размножение

**N.G. Nesterova, candidate of agriculture sciences<sup>1</sup>**

**O.Yu. Chornobrov, candidate of agriculture sciences, research worker<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kiev

<sup>2</sup>Separated subdivision of NULES of Ukraine “Boyarka Forestry Research Station”,

Boyarka

Kiev, Ukraine

### **Features of introduction of explants of *Hydrangea macrophylla* L. in conditions of *in vitro***

Today from among of nicely-flowering shrubs, special attention should be on representatives of family *Hydrangea* (*Hydrangea macrophylla* L.) in particular hydrangea bigleaf – is valuable species, size inflorescence is significantly superior to wild plants. Plants are widely used for decoration of urban parks, alleys, etc.

Numerous sorts and forms of hydrangeas are concentrated mainly in the collections of botanical gardens, arboretums and also on selective areas. Varietal plantings are presented of sorts, that are easy reproductive, but are not highly decorative and resistant to stressful environmental factors. First of all, due to the lack of cost-effective and universal for all varieties of hydrangeas technology of mass reproduction. Due to the complexity of traditional reproduction varieties of hydrangeas, they have are practically absent culture in kennels than not only restricted their massive spread, but there is a real danger of losing of sorts and the impoverishment of gene pool. Reproduction of hydrangeas taps are unproductive and by cuttings and seeds – very time-consuming because of small size of seeds. However, hydrangeas woody sorts are not freezeproof, so young cuttings need to quality cover to prevent winterkilling of plants. Vegetative reproduction is easier and more widespread, but often there is an appearance of bacterial and viral diseases, which greatly limits using of this method. So, actual is application technology of culture *in vitro* for mass reproduction of *H. macrophylla*, which would create cost-effective technology for rapid playback of planting material and maintain the purity of generations.

It was established ways to obtain viable aseptic explants of *H. macrophylla*, isolated from donors in different phenophases and investigated their regenerative ability *in vitro*. It was shown that the effective sterilization of explants of *H. macrophylla* was reached only through their isolation in phenophase of deployment plant-leave donors with further aging in 0.1% HgCl<sub>2</sub> solution for 10 minutes. Reducing the length of their holding at 0.1% HgCl<sub>2</sub> solution from 10 to 5 minutes resulted reducing the value of investigated variant to 45 ± 4%. With using 2,5% NaClO or 1% AgNO<sub>3</sub> for 5 minutes, the number of viable aseptic explants I was 54±5% and 43±5% respectively. The high investigated rate of sterilization of explants II (80%) obtained by using the following sequence: isolation of plant donors in phenophase of flowering, than holding at 2,5% NaClO with further transferring to 1% AgNO<sub>3</sub> for 5 minutes. It was found that phenophase of plant-donors of *H. macrophylla* influences on the intensity of regeneration of plant material *in vitro*. Thus, the activation of existing meristem of explants I was fixed much earlier than explants II: 3-4 days and 15-20 days of cultivation, respectively. Explants I on 8-10 day cultivation on hormoneless nutrient medium (MS) regenerated micro shoots about 0.5-1.0 cm in length. The average length of micro shoot explants I turned in 4.5 times greater than explants II.

Thus, it was found that effective sterilization (80%) of explants of *H. macrophylla* achieved by their isolation in phenophase of deployment plant-leave donors, with further holding at 0.1% HgCl<sub>2</sub> solution for 10 minutes. It was shown that explants, isolated in the phenophase of flowering, advisable to sterilize by step method: 1% AgNO<sub>3</sub> with further transferring to 2,5% NaClO for 5 minutes. Determined that the regenerative ability of explants isolated from plant-leave donors in phenophase of deployment of leaves was significantly higher than in phenophase of flowering.

**Keywords:** Hydrangea macrophylla L., culture in vitro, explants, sterilization, nutrient medium, micropropagation

УДК 634.1.076: 634.11:664.292

Д.О. Кисельов, канд. с-г. наук

Н.Р. Демчишак

Група компаній "ТВ Fruit"

(Городок, Львівська обл.)

## ДИНАМІКА НАКОПИЧЕННЯ СУХИХ РЕЧОВИН ТА ПЕКТИНІВ У ЯБЛУЧНІЙ СИРОВИНІ В УМОВАХ ЗАХІДНОЇ УКРАЇНИ

Основа ведення сучасного виробництва продуктів переробки плодової продукції – зменшення кількості відходів виробництва й отримання нових якісних продуктів. У статті наведено результати досліджень динаміки накопичення сухих речовин та пектинів у яблучній сировині, яку використовують для отримання концентрованих соків на переробному заводі «Яблуневий Дар». Основною метою досліджень було виявлення оптимальних строків переробки сировини для отримання яблучного соку з високим умістом сухих речовин та вичавок із нерозчинною фракцією пектинів.