

9. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiologia Plantarum*, 1962, V. 15. – P. 473-497.
10. Vu N.H., Anh P.H., Nhut, D.T. The role of sucrose and different cytokinins in the *in vitro* floral morphogenesis of rose (hybrid tea) cv. 'First Prize' // *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2006, V. 87. – P. 315-320.
11. Wang G. Y, Yuan, M. F., Hong, Y. 2002. *In vitro* flower induction in roses. In *Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 2002, V. 38. – P. 513-518.
12. Kumar A., Sood A., Plani U.T., Gupta A.K., Plani L.M.S. Micropropagation of *Rosa damascena* Mill. from mature bushes using thidiazuron // *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2001, V. 76. – P. 30-34.
13. Khosh-Khui M., Jabbarzadeh Z. Effects of several variables on *in vitro* culture of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.) // *Acta Horticulturae*, 2007, V. 751. – P. 389-393.
14. Douglas G.C., Rutledge C.B., Casey A.D., Richardson D.H.S. Micropropagation of floribunda ground cover and miniature roses // *Plant Tissue Culture*, 1989, V.19. – P. 55-64.
15. Ibrahim R., Debergh P.C. Factors controlling high efficiency of adventitious bud formation and plant regeneration from *in vitro* leaf explants of roses (*Rosa hybrida*) // *Scientia Horticulturae*, 2001, V. 88. – P. 41-57.

Тұжырым

Раушанның Аляска сорттын микроклондық көбейтудің қолайлы жағдайлары жасалды. Эксплант ретінде *in vitro* жағдайында өсірілген өркендердің апекстері қолданылды. Өркендерді мультипликациялауға 0,5 мг/л БАП қосылған МС коректік ортасы қолайлы болды. МС коректік ортасының ½ тұздары және 0,5 мг/л ИСК мен 1,0 мг/л ИМК қосылған коректік орта *in vitro* жағдайында тамырландыру үшін қолайлы болды.

Резюме

Подобраны оптимальные условия для микроклонального размножения бордюрной розы сорта Аляска. В качестве экспланта использовали апексы побегов выращенных в условиях *in vitro*. Оптимальной для мультипликации побегов явилась среда МС, дополненная 0,5 мг/л БАП. Среда, содержащая ½ солей МС с добавлением 0,5 мг/л ИУК и 1,0 мг/л ИМК, была оптимальной для укоренения *in vitro*.

Саматова И.С.

ҚОЖАҚАТ МИКРОӨСІМДІКТЕРІНДЕГІ *IN VITRO* ЖАҒДАЙЫНДА ҚАРҚЫНДЫ ӨСУ ЖӘНЕ ҚАРТАЮ ПРОЦЕСТЕРІНЕ ӘСЕР ЕТУШІ КЕЙБІР ФИЗИОЛОГИЯЛЫҚ КӨРСЕТКІШТЕРДІҢ ДИНАМИКАСЫ

(Санкт-Петербург мемлекеттік университеті, РФ Мемлекеттік ғылыми орталығы, РАШҒА Н.И. Вавилов атындағы Бүкілресейлік өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты, Санкт-Петербург, Ресей)

Бүгінгі таңдағы өзекті мәселелердің бірі мәдени өсімдіктер мен олардың табиғаттағы түрлерінің генетикалық алуантүрлілігін сақтау болып табылады. Генбанктерде дәстүрлі жолмен сақталушы вегетативті жолмен көбейетін өсімдіктердің далалық коллекциялары сыртқы ортаның қолайсыз жағдайларының, әртүрлі аурулар мен зиянкестердің әсерінен айтарлықтай шығынға ұшырайды. Сондықтан соңғы кездері бағалы коллекцияларды сақтап қалу мақсатында қазіргі заманның жаңа технологиялармен жабдықталған жасанды *in vitro* жағдайында өсіру кеңінен қолданылуда. Коллекцияларды бұндай жағдайда сақтаудың артықшылықтары оның ықшамдылығы мен тасымалдауға қолайлылығында, жылдың кез-келген мерзімінде көп мөлшерде және жылдам арада көбейту мүмкіндігінде, сондай-ақ өсімдіктерді инфекциялардан тазартып сауықтыру мүмкіндігінде [1]. Микроөсімдіктерді *in vitro* жағдайында ұзақ уақыт өсірудің эффективті және шығыны аз әдістерінің бірі температураны +4°C дейін төмендетіп, өсуін тежеу арқылы олардың коректік ортасын ауыстырмай, сақтау мерзімін ұзарту болып табылады.

Қазіргі күнде *in vitro* коллекцияларында сақталушы үлгілер далалық коллекциялар үлгілерінің 10%-нан көп емес. Бұның себебі *in vitro* жағдайында сақтау әдістері тек шамалы ғана үлгілер үшін анықталған, микроөсімдіктердің ол жағдайларда тіршілікке қабілеттілігі бойынша мониторинг әдістері жоқтың қасы [1]. Мысалы, Бүкілресейлік өсімдік шаруашылығы институтының жидекті және жемісті дақылдар коллекциясы өткен ғасырдың 20 жылдарынан бастап әлемнің әралуан елдерінен ғылыми экспедициялар нәтижесінде жиналған 24000 үлгіден тұрады. Соның ішінде *in vitro* жағдайында тек таңқурай, кожақат, бүлдірген, ырғай, қарақат, шиі өсімдіктерінің 300-ге жуық үлгілері ғана сақталуда [1,2].

Алайда *in vitro* жағдайында төменгі температурада сақтау жағдайлары өсімдікке стрестік фактор ретінде әсер етуі мүмкін. Осыған орай төменгі температурада *in vitro* сақтау жағдайларына төзімді генотиптерді айқындаудың және зерттеудің, сондай-ақ төзімділіктің механизмдерін ашудың және төзімділікпен тікелей байланысты физиологиялық-биохимиялық белгілерді анықтаудың өзектілігі ерекше болып табылады.

In vitro жағдайында сақтау өсімдіктерге стрестік әсер етуі мүмкін болғандықтан, төменгі температурада ұзақ мерзімді сақтау кезінде өсімдік организмінде стрессорларға қарсы жауап реакцияларының жүйесі іске қосылуы мүмкін деп жобаланады. Әдетте көптеген әртүрлі стрестік жағдайлар организмде тотығу стресін де қатар туғызады. Өсімдіктерде көптеген стрестік факторларға жауап ретінде оттегінің белсенді түрлерінің (ОБТ) түзілуі мүмкін, ол өз кезегінде «тотығушылық жарылысына» әкеп соғады [3]. Клеткалардың тотығу-

тотықсыздану реакциялар жүйесінің маңызды элементтерінің бірі аскорбин қышқылы болып табылады [4]. Аскорбин қышқылы сондай-ақ антиоксидант ретінде оттегінің белсенді түрлерінің бірі – сутегі асқын тотығын ыдыратуда маңызды роль атқарады. Тотығу стресіне қайтарылатын жауап реакцияларында тотықтырғыш ретінде сутегі асқын тотығын қолдана отырып, әртүрлі субстраттардың тотығу реакцияларын катализдейтін фермент – пероксидазалардың маңызы зор [5,6].

Сондай-ақ көптеген зерттеулерде пролиннің осмореттегіштік ролі көрсетілген, оның мөлшері өсімдікке қоршаған ортаның қолайсыз факторлары әсер еткенде ондаған және жүздеген есеге дейін көтеріледі [7,8]. Стрестік жағдайларда өсімдіктің әртүрлі органдарында бос пролиннің мөлшерінің қарқынды өсуі көптеген ғалымдардың бұл көрсеткішті өсімдіктердің қорғаныш реакцияларының биохимиялық маркері ретінде қолдануға деген қызығушылығын тудырғанымен, қазіргі күнге дейін өсімдіктерді төменгі температурада *in vitro* жағдайында сақтау процесінде оның мөлшерінің өзгеруі зерттелмеген.

Зерттеудің мақсаты қожақат өсімдігінің әртүрлі сорттарының *in vitro* жағдайында микрокөбеюге және ұзақ мерзімдік сақталуға қабілеттілігін зерттеу, сондай-ақ ол өсімдіктердің морфофизиологиялық, биохимиялық көрсеткіштерінің динамикасын анықтау болып табылды.

Зерзаты мен әдістері

Зерзаты ретінде *in vitro* коллекциясына енгізілген қожақаттың (*Rubus eubatus*) 5 сортының үлгілері қолданылды: Whitford Thornless (И-576516), Merton Thornless (И-581143), Silvan (И-576510), Bodega Bay (И-576483), Агавам.

Коллекциядағы қожақат өсімдігін микроклондық көбейту оларды залалсыздандырылған жағдайда қаламшелеу арқылы жүргізілді. Оларды одан әрі өсіру ұзақ күндік фотопериодта (16 сағ жарық, 8 сағ қараңғы, жарықтандыру қарқындалығы 2000 лк) және жарықта 20–23°C, қараңғыда 16–18°C температурада жүзеге асырылды.

Ұзақ мерзімдік сақтау үшін биіктігі 35–60 мм, 8–15 жапырағы және жақсы жетілген тамыры бар микроөсімдіктер таңдап алынып, көшіріп отырғызбай сақтау жағдайларына (+5°C, жарық қарқындылығы 500–700 лк және қысқа күндік фотопериод – 8 сағат жарық/16 сағат қараңғы) көшірілді. Қожақат микроөсімдіктерінің *in vitro* жағдайында (+5°C температурада) сақтау процесі кезінде морфологиялық параметрлерінің өзгеруі әр 4 ай сайын келесі көрсеткіштер бойынша анықталды: өсімдік биіктігі, тамырларының саны, жасыл және сары жапырақтар саны. Бақылау ретінде бірқалыпты +20°C температурада өсірілген тамырланған микроөсімдіктер қолданылды.

Биохимиялық көрсеткіштердің динамикасын анықтау үшін бақылау өсімдіктері мен +5°C температурада сақталушы өсімдіктердің көрсеткіштері әр 4, 8 және 12 айларда анықталып өзара салыстырылды. Келесі биохимиялық көрсеткіштер: аскорбин қышқылының, бос пролиннің, сутегі асқын тотығының мөлшерлері, сондай-ақ еріген және иондық байланысқан пероксидазалардың активтілігі анықталды.

Тотықсызданған аскорбин қышқылының мөлшері Roe мен Kuether әдісі бойынша анықталды [9]. Бұл әдіс тотыққан аскорбин қышқылының 2,4-динитрофенилгидразинмен әрекеттесуіне негізделген. Тотықсызданған аскорбин қышқылының концентрациясы екі пробаның экстинкция айырмасы бойынша ($\pm 2,6$ -дихлорфенолиндофенол) оның концентрациясы 5–20 мг/л диапазон аралығындағы ерітінділері үшін құрылған калибрлік қисықты қолдана отырып анықталды.

Бос пролиннің мөлшерін анықтау үшін Бэйтс әдістемесі қолданылды [10]. Әдіс бос пролиннің нингидринді реактивпен әрекеттесіп, ашық қызғылт түс түзуіне негізделген. Бос пролиннің мөлшері концентрациясы 50–150 мкг/мл диапазондағы пролин ерітінділерін қолдана отырып тұрғызылған калибровкалық қисықтың көмегімен анықталды.

Сутегінің асқын тотығының мөлшері FOX әдісі бойынша анықталды [11,12]. Бұл әдіс Fe²⁺-дің Fe³⁺-ге сутегінің асқын тотығымен тотығуы кезінде сұйылтылған күкірт қышқылы ерітіндісіндегі ксилен оранж түсінің өзгеруіне негізделген. Fe³⁺-мен ксилен оранж байланысады да, толқын сіңіру максимумы 560 нм комплекс түзеді. Пробадағы H₂O₂ концентрациясы хлор қышқылындағы оның концентрациялары әртүрлі (10–40 мкМ) ерітінділерін қолдана отырып түзілген калибровкалық қисық бойынша есептелді.

Еріген және жасуша қабықшаларымен байланысқан пероксидазалардың активтілігі гваяколдың тотығу жылдамдығы бойынша стандартты әдістемеге сәйкес [13] анықталды. Пероксидазалардың активтілігі 2 мл пробадан, рН 5 100 мМ ацетатты буферден, 20 мМ гваяколдан, 4 мМ сутегі асқын тотығынан тұратын көлемі 3 мл реакциялық қоспада анықталды. Реакция бөлме температурасында жүргізілді. Пероксидазалардың активтілігі реакциялық қисықтың сызықтық бөлімінде (реакцияның 2-минутында) реакция өнімі тетрагваяколдың ($\varepsilon_{470\text{nm}}=0.0266\text{мкМ}^{-1}\text{см}^{-1}$) түзілу жылдамдығы бойынша әрбір 0,5 мин сайын түсінің қарқындылығын СФ-46 көмегімен өлшеу арқылы анықталды.

Нәтижелерді статистикалық өңдеу ортақ қабылданған әдістермен жүргізілді [14]. Зерттелуші сорттардың микрокөбею коэффициенттері (МКК) 5 жеке тәжірибелер нәтижелері бойынша есептелді. Әр тәжірибеде әрбір сорттан 40–60 микроөсімдік қолданылды.

Морфометриялық өлшемдер жүргізу үшін 3 рет әртүрлі мезгілде қайталанып өсірілген әр сорттан 40–50 өсімдіктер алынды. Биохимиялық талдау барлық сорттар үшін 4 рет қайталанды. Алынған нәтижелер өсімдіктің тірі салмағының 1 бірлігіне шағылды. Суреттерде әр сорт бойынша ортақ көрсеткіштер мен олардың стандартты қателіктері берілген. Кестелерде әр сорт көрсеткіштерінің ортақ арифметикалық мәндері мен олардың стандартты қателіктері көрсетілген.

Нәтижелер және оларды талдау

Қожақат өсімдігін микроклондық көбейту ерекшеліктерін талдау нәтижелері оның әртүрлі сорттарының микрокөбеюге қабілеттілігі әртүрлі екендігін көрсетті (1-кесте).

Кесте 1 - Қожақат микроөсімдіктерінің *in vitro* жағдайында көбею эффективтілігі

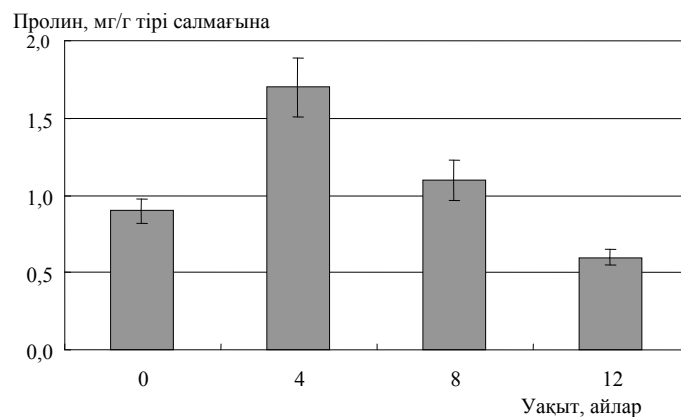
Сорттың атауы	Отырғызылған микрокалемшелердің саны	6 аптадан соң өсіп шыққан микроөркендердің саны	Микрокөбею коэффициенті (МКК)
Whitford Thornless	198	429	2,2 ± 0,2
Merton Thornless	192	381	2,0 ± 0,2
Silvan	348	1183	3,4 ± 0,2
Bodega Bay	215	499	2,3 ± 0,2
Агава	266	440	1,7 ± 0,1
Қожақаттың барлық сорттары бойынша ортақ МКК			2,8 ± 0,2
ЕАМА _{0,05} * (қожақат сорттарының МКК арасында)			0,6
* ЕАМА _{0,05} – P = 0,05 кезіндегі ең аз мөлшерлі айырмашылық			

Жұмыста өсімдіктерді *in vitro* өсірудің оптималды жағдайларын анықтау мақсатында қожақаттың бірнеше сорттарының микроөсімдіктерінің әртүрлі температурада (+5 °C және +20 °C) дамуы зерттелді. Жұмыс барысында өсімдіктердің өсуі (өсімдік биіктігінің, жасыл және сары жапырақтар мен тамырлар санының өзгеруі) және сол жағдайларда тіршілікке қабілеттілігі қарастырылды. Алғашқы 8 айдың ішінде микроөсімдіктердің өсу қарқындылығы +20 °C температурада жоғарырақ болды.

In vitro жағдайында +20 °C және +5 °C температураларда сақталушы қожақат микроөсімдіктерінің санын есептеу нәтижелері +20 °C температурада 8 айдан бастап кейбір сорт өсімдіктерінің тіршілігін жоя бастайтындығын көрсетті, 12 айдан кейін бұл жағдайларда тірі қалған өсімдіктердің саны бастапқы өсімдіктердің тек 67% ғана құрады. Қожақат өсімдіктерін +5 °C температурада сақтаған кезде 12 айдан кейін олардың 98% тірі қалды. Оларды одан әрі +5 °C температурада 20 ай бойы өсіру кезінде бастапқы өсімдіктердің 33% сақталды.

Сонымен, қожақат микроөсімдіктерінің тірі қалу қабілеттілігі оларды +5 °C температурада ұзақ мерзімді көшіріп отырғызбай сақтау кезінде +20 °C температураға қарағанда жоғары болады. Сондықтан жұмыстың келесі кезеңінде +5 °C температурада сақталушы қожақат микроөсімдіктерінің сақтаудың қолайсыз жағдайларына жауап реакциясына қатысуы мүмкін кейбір биохимиялық көрсеткіштері анықталды.

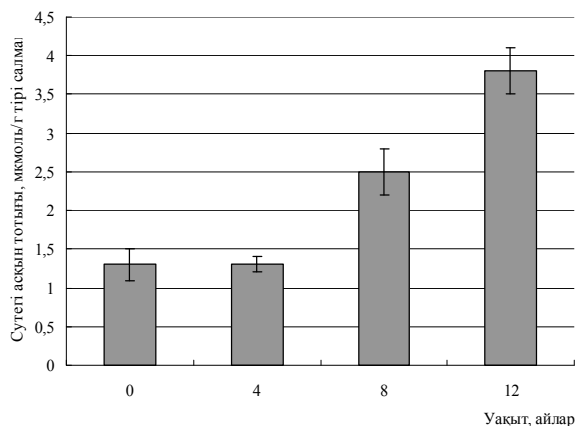
Ұзақ мерзімдік сақтау жағдайлары өсімдіктерге стрестік фактор ретінде әсер ету мүмкіндігін анықтау үшін қожақат өсімдіктерін +5 °C температурада сақтау кезінде олардағы бос пролиннің мөлшері анықталды. Төменгі температурада сақтаудың алғашқы кезеңдерінде пролиннің мөлшері 0,9-дан 1,7 мг/г дейін көтеріліп, 4 айдан кейін 0,6 мг/г дейін қайта азаятындығы анықталды (1-сурет).



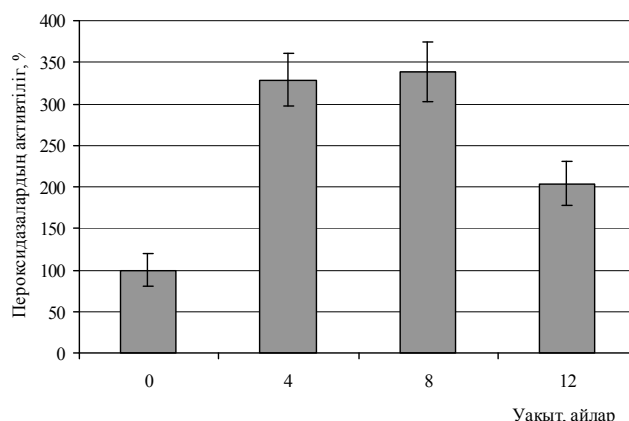
Сурет 1 - Қожақат микроөсімдіктерін +5 °C температурада *in vitro* сақтау кезіндегі ондағы бос пролин мөлшерінің динамикасы

Тәжірибе кезінде бос пролин мөлшерінің жоғарылауы қожақат өсімдіктерінің төмен температу стресіне қайтарғын жауап реакциясының нәтижесі болуы мүмкін. 4 айдан кейін оның мөлшерінің азаюы қожақат микроөсімдіктерінің оларға ұзақ уақыт бойы төменгі температура әсер етуінің нәтижесінде сол стрестік жағдайға бейімделуіне байланысты болуы ықтимал. Төменгі температурада *in vitro* сақтау жағдайлары қожақат өсімдіктерінің метаболизміндегі сутегі асқын тотығы мен аскорбин қышқылы деңгейінің және пероксидазалардың активтілігінің өзгеруіне әсер ететіндігі анықталды. Жұмыстың нәтижелері төменгі температурада сақтаудың алғашқы 4 айы ішінде сутегі асқын тотығының мөлшері өзгермей, 1,2–1,3 мкмоль/г құрайтындығын көрсетті (2, а-сурет). Төменгі температурада одан әрі сақтау кезінде қожақат өсімдіктеріндегі оның мөлшері 3,1 мкмоль/г дейін көтерілді (12 айдан кейін). Сутегі асқын тотығының деңгейі мен

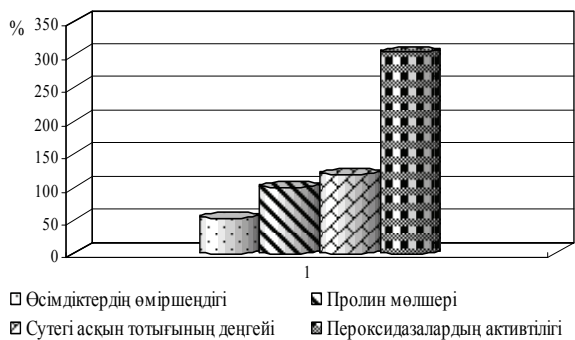
микроөсімдіктердің *in vitro* сақтау жағдайларындағы тіршілікке қабілеттілігі арасында кері пропорционалды байланыс бар екендігі анықталды (3-сурет). Мысалы, Merton Thornless сортының өсімдіктері *in vitro* сақтау жағдайларына басқаларға қарағанда төзімдірек болып шықты, Whitford Thornless сорты өсімдіктерінің бұл жағдайлардағы тіршілікке қабілеттілігі зерттелуші сорттардың ішінде ең төмен екендігі байқалды.



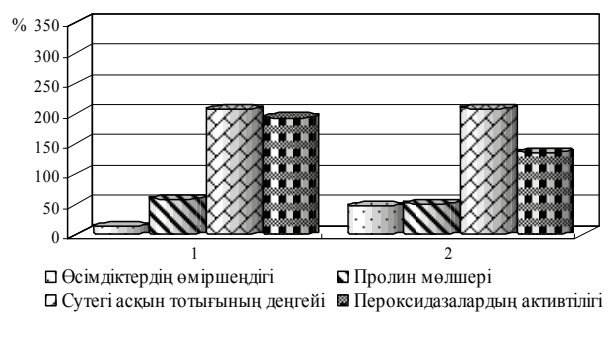
Сурет 2а - Қожақат микроөсімдіктерін +5°C температурада сақтау кезіндегі сутегі асқын тотығы мөлшерінің динамикасы



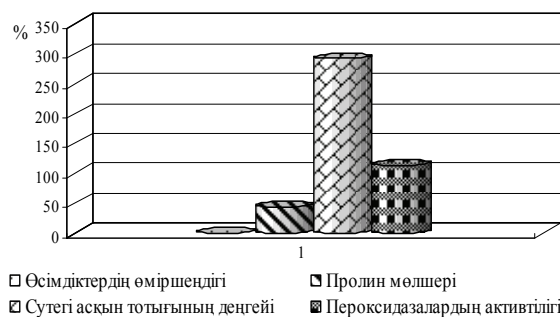
Сурет 2ә - Пероксидазалар активтілігінің (еріген және иондық байланысқан пероксидазалардың жалпы активтілігінің) динамикасы



Сорт: Merton Thornless



Сорттар: 1–Bodega Bay, 2–Агавам



Сорт: Whitford Thornless

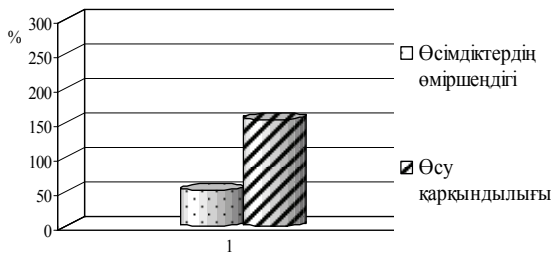
Сурет 3 - Қожақаттың төменгі температурада сақтау жағдайларына төзімді (а), төзімділігі орташа (ә) және төзімділігі төмен (б) сорттары микроөсімдіктерінің өміршеңдігі мен бос пролиннің, сутегі асқын тотығының мөлшері және пероксидазалар активтілігі динамикасының арасындағы байланыс; 100% ретінде әрбір көрсеткіштің бастапқы абсолютті мәндері алынды

In vitro сақтау жағдайларының стрестік әсеріне өсімдіктердің адаптивті жауабында пероксидазалардың атқыратын ролін анықтау мақсатында 12 ай бойы төмен температурада сақталған қожақат жапырақтарындағы олардың активтілігі (еріген және иондық байланысқан пероксидазалардың ортақ активтілігі) анықталды. Сақтаудың алғашқы этаптарында (4–8 айларда) пероксидазалардың активтілігі орта есеппен 10–20-дан 50 мкмоль/мин-г дейін өсті (2, ә-сурет), бұл қожақат жапырақтарындағы сутегі асқын тотығының төмен деңгейде сақталып тұруына септігін тигізуі ықтимал.

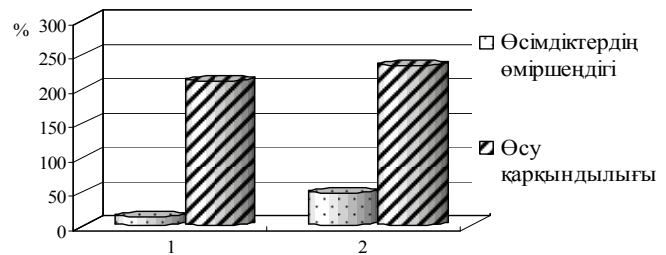
Сақтау мерзімі ұзарған сайын пероксидазалардың активтілігі (30–35 мкмоль/мин-г дейін) төмендеп, сутегі асқын тотығының мөлшері біртіндеп жоғарылады. Сақтаудың алғашқы кезеңдерінде пероксидазалардың активтілігінің жоғарылауы сутегі асқын тотығының деңгейінің тұрақты сақталып тұруына себеп болуы мүмкін.

Пероксидазалардың активтілігінің неғұрлым қарқынды жоғарылауы зерттелуші қожақат сорттарының ішінде Merton Thornless сорттында байқалды (12 ай бойы сақтау кезінде).

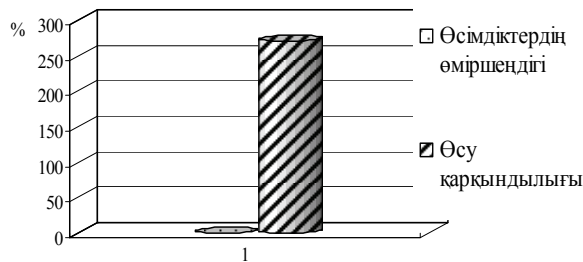
Зерттелуші сорттардың төменгі температурада сақтау кезіндегі өсу қарқындылығы мен пероксидазалардың активтілігі арасында кері пропорционалды байланыс байқалды (3, 4-суреттер).



а) Сорт: Merton Thornless



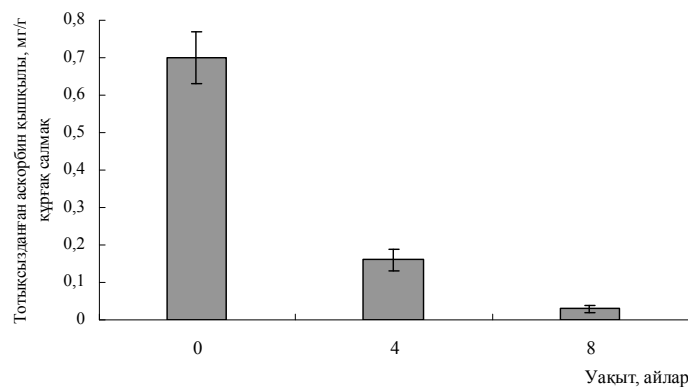
ә) Сорттар: 1–Bodega Bay, 2–Агавам



б) Сорт: Whitford Thornless

Сурет 4 - Қожақаттың төменгі температурада сақтау жағдайларына төзімді (а), төзімділігі орташа (ә) және төзімділігі төмен (б) сорттары микроөсімдіктерінің өміршеңдігі мен өсуі арасындағы байланыс; 100% ретінде әрбір көрсеткіштің бастапқы абсолютті мәндері алынды

Мысалы, Whitford Thornless сортының өсімдіктерінде пероксидазалардың активтілігінің жоғарылауы сақтаудың барлық кезеңдерінде зерттелуші басқа сорттарға қарағанда баяулау болды және олардың өсуі қарқынды жүрді. Merton Thornless сортында, керісінше, пероксидазалардың активтілігі қарқынды түрде жоғарылап, өсімдіктердің өсуі баяу жүрді. Merton Thornless сортының өсімдіктері басқа зерттелуші сорттарға қарағанда *in vitro* төмен температурада сақтау жағдайларында өміршеңдігінің жоғары болуымен ерекшеленді және осы сорт өсімдіктерінде сутегі асқын тотығы мөлшерінің артуы баяу жүрді. Және керісінше Whitford Thornless сортының өсімдіктерінде пероксидазалардың активтілігінің артуы басқа сорттарға қарағанда баяуырақ жүрді де, сутегі асқын тотығының мөлшері жылдам артты және *in vitro* жағдайында өміршеңдігі төмен болды. Бұл фактілер өсімдіктердің *in vitro* сақтаудың стрестік факторларына бейімделу процесінде және сутегі асқын тотығын жою кезінде пероксидазалар ролінің маңыздылығын көрсетеді.



Сурет 5 - Қожақат микроөсімдіктерін +5 °С температурада сақтау кезіндегі ондағы тотықсызданған аскорбин қышқылының мөлшерінің динамикасы

Төмен температура жағдайында қожақат микроөсімдіктерінің өсуі сақтаудың алғашқы кезеңдерінен бастап баяу жүрді, алайда +20 °С температурада өсірілген бақылау вариантының өсімдіктерінің өсуі сақтаудың алғашқы кезінде қарқынды жүрді. Қожақат өсімдіктерінің төменгі температурада өсуінің тежелу себебі пероксидазалардың жоғары активтілігімен қатар, сутегі асқын тотығының төмен деңгейі де болуы мүмкін.

Өсімдіктердің әртүрлі стрестік факторларға жауап реакцияларының тағы бір маңызды компоненттерінің бірі аскорбин қышқылы болып табылады. Зерттеу нәтижелері қожақат жапырақтарындағы аскорбин қышқылының мөлшері сақтау мерзіміндегі 8 айдың соңына қарай тірі салмақтың 0,7 мг/г-нан 0,03 мг/г дейін өте күрт төмендейтіндігін көрсетті (5-сурет).

Төменгі температурада сақтау кезінде қожақат өсімдіктерінің жапырақтарында аскорбин қышқылының деңгейінің күрт төмендеуі пероксидазалар активтілігінің жоғарылауымен байланысты болуы мүмкін. Қожақат жапырақтарындағы тотықсызданған аскорбин қышқылының мөлшерінің төмендеуінің тағы бір себебі оның дегидроаскорбин қышқылына тотығуы болуы мүмкін [15].

Әдебиеттер

1. Гавриленко Т. А., Дунаева С. Е., Трускинов Э. В., Антонова О. Ю., Пендинен Г.И., Лупышева Ю. В., Роговая В. В., Швачко Н. А. Стратегия долгосрочного хранения генофонда вегетативно размножаемых сельскохозяйственных растений в контролируемых условиях среды // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2007. Т. 164. С. 273–285.
2. Дунаева С. Е., Гавриленко Т. А. Коллекции плодовых и ягодных культур *in vitro*: стратегия создания и хранение // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2007. Т. 161. С. 10–19.
3. Foyer C. H., Noctor G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context // *Plant, Cell and Environment*. – 2005. – V. 28. – P. 1056–1071.
4. Pignocchi C., Foyer C. H. Apoplastic ascorbate metabolism and its role in the regulation of cell signaling // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2003. – V. 6. – P. 379–389.
5. Fujiyama K., Intapruk C., Shinmyo A. Gene structures of peroxidases isoenzymes in horseradish and *Arabidopsis thaliana* and their expression // *Biochem. Soc. Transact.* – 1995. – V. 23. – P. 245–246.
6. Шарова Е. И. Клеточная стенка растений. – СПб.: Изд-во С.-Петербургского университета, 2004. – 156 с.
7. Göring H. Proline accumulation under conditions of stress and deficiency of mineral nutrients // *Miner. Nutr. Plants Proc. 1st Int. Symp. Plant Nutr., Varna, 1979, Sofia, 1979.* – V. 1. – P. 103–117.
8. Rui H. T., Heinke F., Goring H. Zur Prolineakkumulation bei stress und Nahrstoffmangel // *Wiss. S. Pad. Hochsch. "Liselotte-Herrman" Gustrow. Math.-naturwiss. Fak.* – 1980. – V. 18, N 1. – P. 162–166.
9. Roe J. H., Khuether C. A. Methods *biochem. Anal.* // *J. Biol. Chem.* 1948. Vol. 174. P. 201.
10. Bates S. L., Wilderen R. P., Teany I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // *Plant and Soil*. 1973. Vol. 39. P. 205–207.
11. Jiang Z. Y., Woollard A. C. S., Wolff S. P. Hydrogen peroxide production during experimental protein glycation // *FEBS*. 1990. Vol. 268, N1. P. 69–71. Jiang Z. Y., Woollard A. C. S., Wolff S. P. Hydrogen peroxide production during experimental protein glycation // *FEBS*. 1990. Vol. 268, N1. P. 69–71.
12. Gay C., Gebicki J. M. A critical evaluation of the effect of sorbitol on the ferric-xyleneol orange hydroperoxide assay // *Anal. Biochem.* 2000. Vol. 284. P. 217–220.
13. Lin C. C., Kao C. H. NaCl induced changes in ionically bound peroxidase activity in roots of rice seedlings // *Plant and Soil*. 1999. Vol. 216. P. 147–153.
14. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. – Минск: Выс.шк., 1987. – 327с.
15. Chen Z., Yong T. E., Ling J., Chang S-C., Galie D. R. Increasing vitamin C content of plants through enhanced ascorbate recycling // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2003. – V. 100. P. 3525–3530.

Резюме

Проанализирован ряд биохимических показателей микрорастений ежевики, хранящихся при +5 °С. Проводился сравнительный анализ биохимических и морфометрических показателей микрорастений ежевики, хранящихся при +5 °С. Установлено, что в процессе длительного хранения ежевики при +5 °С в *in vitro* условиях происходит резкое снижение содержания аскорбиновой кислоты в листьях (в 25 раз в течение 8 месяцев хранения). Содержание свободного пролина в начале хранения повышается, а затем снижается. Уровень H₂O₂ в листьях ежевики, хранящихся длительное время при низкой температуре, не меняется в течение первых 4 месяцев, затем возрастает. Активность пероксидаз повышается через 4–8 месяцев хранения и снижается к 12 месяцу хранения. Делается вывод о том, что наиболее вероятной причиной старения и гибели микрорастений в условиях длительного хранения *in vitro* является повышение уровня пероксида водорода.

Summary

Some biochemical parameters of blackberry microplants stored under long-term *in vitro* preservation at +5 °C have been analysed. It is established, that during the long-term *in vitro* preservation in conditions at +5 °C the content of an ascorbic acid in leaves of a blackberry is sharply reduced (in 25 times within 8 months of preservation). The content of free proline increases in the beginning of preservation, and then is reduced. Level of H₂O₂ in leaves of the blackberry, stored long time at low temperature, does not vary within the first 4 months and then increases. Peroxidase activity increases in 4–8 months of preservation and is decreased by 12 month of preservation. It is concluded that the most probable reason of ageing and destruction of microplants in conditions of long-term *in vitro* preservation is increase of a H₂O₂ level.