

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач кафедри
фізіології, біохімії рослин та
біоенергетики

_____ Світлана ПРИЛУЦЬКА

«_____» _____ 2025 р.

БАКАЛАВРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему « Активність каталази та вміст фотосинтетичних пігментів у
півоніях»

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код і назва)

Гарант освітньої програми

Кандидат біологічних наук,
доцент кафедри екобіотехнології
та біорізноманіття

(підпис)

Олена КВАСКО

**Керівник бакалаврської кваліфікаційної
роботи**

Кандидат сільськогосподарських
наук, доцент кафедри фізіології,
біохімії рослин та біоенергетики

(підпис)

Анна ДАЩЕНКО

Виконала

(підпис)

Анастасія КОСМАН

**Національний університет біоресурсів
і природокористування України**

**Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології
Кафедра фізіології, біохімії рослин та біоенергетики
Освітній ступінь «Бакалавр»
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»**

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри фізіології, біохімії
рослин та біоенергетики
_____ Світлана ПРИЛУЦЬКА

“ ____ ” _____ 2025р.

**З А В Д А Н Н Я
ДО ВИКОНАННЯ БАКАЛАВРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ
СТУДЕНТУ**

Косман Анастасії Сергіївни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Активність каталази та вміст фотосинтетичних пігментів»
керівник роботи к.с.-г.н., доцент Дашенко Анна Валеріївна

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

2. Строк подання студентом роботи 20 травня 2025 року

3. Вихідні дані до роботи: сорти півоній: Sonoma YeDo, Mary Eddy Jones, Скарбниця, Edwin C. Bills, Judy Ann, Mrs. Wilder Buncroff, Lorelei, методики для визначення активності каталази та пігментів, список літератури, протокол для проведення ІФА.

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): огляд літератури, збір інформації та рослинного матеріалу на базі Національного ботанічного саду імені М.М. Гришка НАН України, підбір сортів, які мають контроль та хвору рослину, підготовка реактивів для проведення ІФА та для активності каталази, і фотосинтетичних пігментів, написання дипломної роботи.

5. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	к.с-г.н., доцент Дащенко А.В.		
2	к.с-г.н., доцент Дащенко А.В.		
3	к.с-г.н., доцент Дащенко А.В.		
Висновки	к.с-г.н., доцент Дащенко А.В.		

6. Дата видачі завдання 1 червня 2024 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів випускної бакалаврської роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Огляд літературних джерел, збір інформації згідно обраної теми;	01.06.2024- 20.07.2024	
2	Проведення досліджень	05.06.2024- 15.06.2024	
3	Оформлення основної частини роботи, матеріали та методи дослідження;	01.12.2024- 01.02.2025	
4	Опис результатів дослідження	10.03.2025- 30.03.2025	
5	Висновки та оформлення списку літератури	15.04.2025– 30.04.2025	

Студентка

(підпис)

Косман А.С.

(прізвище та ініціали)

Керівник роботи

(підпис)

Дащенко А.В.

(прізвище та ініціали)

РЕФЕРАТ

Робота містить 53 сторінок, що включає зміст, список скорочень, вступ, три розділи, висновки, список використаної літератури та додатки. Також вміщує 32 рисунки, 10 таблиць та 31 посилання. У бакалаврській роботі представлені методи ІФА, визначення активності каталази та вміст фотосинтетичних пігментів для контроль та хворих сортів півоній. Проведений огляд літератури, дослідницькі та розрахункові роботи. Всі результати були представлені у вигляді таблиць та діаграм.

Мета дослідження – дослідити віруси півоній за допомогою ІФА, визначити активність каталази та вміст фотосинтетичних пігментів у семи сортів півоній (Sonoma YeDo, Mary Eddy Jones, Скарбниця, Edwin C. Bills, Judy Anne, Mrs. Wilder Buncroff, Lorelei, Жемчужна розсип), які мають контроль та хвору рослину.

Завдання дослідження:

- Ознайомитися з оглядом літератури, провести ботаніко-біологічне дослідження квітниково-декоративних рослин в Національному ботанічному саду імені М.М. Гришка НАН України.
- Провести ІФА хворих сортів півоній для визначення вірусів.
- Дослідити активність каталази у хворих і контроль сортів півоній, та порівняти.
- Визначити вміст фотосинтетичних пігментів у сортах півоній. Зробити висновки щодо відмінності значень контроль і хворої рослини.

Об'єкти дослідження: сорти півоній: Sonoma YeDo, Mary Eddy Jones, Скарбниця, Edwin C. Bills, Judy Anne, Mrs. Wilder Bancroff, Lorelei, Жемчужна розсип.

Предмет дослідження: одержання результатів ІФА за допомогою тест-систем щодо вірусів півоній, визначення активності каталази і фотосинтетичних пігментів в хворих та контроль сортах півоній.

Результати досліджень:

- за допомогою ІФА було виявлено віруси GLRaV-7, GLRaV-1 у сортах Mrs. Wider Bancroft та Жемчужна розсип. Також було виявлено, що сорт Sonoma YeDo на лежить до іто-гібридів та ніколи не хворіє;
- активність каталази у хворих сортах була менша, ніж в контроль. Це свідчить про те, що рослина не може видалити пероксид водню, тобто мала здатність до антиоксидантного захисту;
- вміст фотосинтетичних пігментів хлорофіл а і b у хворих рослинах менший, ніж у контроль, тому у них порушений синтез хлорофілів і структура хлоропласта. Каротиноїди у сортах Mary Eddy Jones та Judy Anne підвищені, це для компенсаторної реакції на стрес. В інших сортах каротиноїд низький, в рослинах спостерігається порушення метаболізму.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	10
1.1. Ботанічна та біологічна характеристика роду <i>Paeonia L</i>	10
1.1.1. Історія та поширення інтродукції видів роду <i>Paeonia L</i>	10
1.1.2. Морфологічні та біологічні особливості роду <i>Paeonia L</i>	11
1.1.3. Сорти півоній роду <i>Paeonia L</i>	13
1.1.4. Умови вирощування та запилення квітів роду <i>Paeonia L</i>	16
1.2. Вірусні захворювання півоній роду <i>Paeonia L</i>	18
1.3. Грибкові захворювання півоній роду <i>Paeonia L</i>	22
1.4. Фармакологічні властивості півоній роду <i>Paeonia L</i>	23
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	27
2.1. Об'єкти дослідження	27
2.1.1. Використані сорти	27
2.1.2. Морфологічні зміни уражених півоній	28
2.2. «Подвійний сендвіч» ІФА.....	29
2.2.1. Буферні розчини для ІФА в модифікації подвійного сендвічу (<i>DAS-ELISA</i>)	29
2.2.2. Проведення ІФА.....	31
2.3. Визначення каталазної активності спектрофотометричним методом	32
2.4. Визначення вмісту фотосинтетичних пігментів.....	36
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	40
3.1. Результати ІФА	40
3.2. Активність каталази результати	41
3.3. Вміст фотосинтетичних пігментів	42
ВИСНОВКИ.....	45
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	47
ДОДАТКИ.....	50

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

PRV – вірус кільцевої плямистості півоній

TRV – вірус брязкальця тютюну

TSWV – вірус бронзовість томату

AMV – вірус мозаїки люцерни

CMV – вірус огіркової мозаїки

PBST – фосфатно-сольовий буферний розчин із додаванням із додаванням детергенту Tween 20

GEB – буферний розчин гуанідин та етилендіамінтетраоцтова кислота

ECI – буфер для ізоляції клітин екстракції

PNP – буфер пуринової нуклеозидфосфорилази

CCB – буфер для збору клітин

ІФА (ELISA) – імуноферментний аналіз

DAS-ELISA – метод подвійного сендвіч ELISA

GLRaV-7 – вірус згортання листя виноградної лози 7 серотипу

GLRaV-1 - вірус згортання листя виноградної лози 1 серотипу

ВСТУП

Півонія (Paeonia L.) – трав'яниста рослина, яка є однією з найлегших у вирощуванні. Мають велику м'ясисту кореневу систему, кілька стебел заввишки до 1 м. Листя має зелене забарвлення, але згодом темно-бузковим. Квітка у півоній є простою, махровою і напівмахровою, а її колір має безліч окрасів.

Протягом весни та літа ця група півоній утворює щорічний паросток стебла, щоб потім відмерти до пізньої осені та лишитися в стані спокою протягом зимового періоду [1].

Мета дослідження – дослідити віруси півоній, визначити активність каталази та вміст фотосинтетичних пігментів у семи сортів півоній (Sonoma YeDo, Mary Eddy Jones, Скарбниця, Edwin C. Bills, Judy Anne, Mrs. Wilder Buncroff, Lorelei, Жемчужна розсип), які мають контроль та хвору рослину.

Завдання дослідження:

- Ознайомитися з оглядом літератури, провести ботаніко-біологічне дослідження квітничково-декоративних рослин в Національному ботанічному саду імені М.М. Гришка НАН України.
- Провести ІФА хворих сортів півоній для визначення вірусів.
- Дослідити активність каталази у хворих і здорових сортів півоній, та порівняти.
- Визначити вміст фотосинтетичних пігментів у сортах півоній. Зробити висновки щодо відмінності значень контроль і хворої рослини.

Об'єкти дослідження: сорти півоній: Sonoma YeDo, Mary Eddy Jones, Скарбниця, Edwin C. Bills, Judy Anne, Mrs. Wilder Buncroff, Lorelei, Жемчужна розсип.

Предмет дослідження: одержання результатів ІФА за допомогою тест-систем щодо вірусів півоній, визначення активності каталази і фотосинтетичних пігментів в хворих та контроль сортах півоній.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Ботанічна та біологічна характеристика роду *Paeonia L.*

1.1.1. Історія та поширення інтродукції видів роду *Paeonia L.*

З давня цінувалася висока декоративність видів роду *Paeonia*. Адже ця рослина є невід'ємною частиною китайської культури та медицини. З XII століття *Paeonia* культивують як декоративну так і лікарську рослину по всій Європі. На даний час виведено 10000 сортів трав'янистих півоній [2].

У XVI ст. особливу увагу селекції півоній набула в Японії. В країні з'являються нові сорти, виведена перша «Японська» група. Хоч найперші сорти і були виведені в Китаї, але саме Японії цінувалася сортами цих квітів, адже японців вважали цю справу богоугодною.

З початку XIX ст. починається бурхлива та цікава історія селекції півоній. Селекція півоній набула розповсюдження серед французів, англійців, а після Першої світової війни перемістилася й до США.

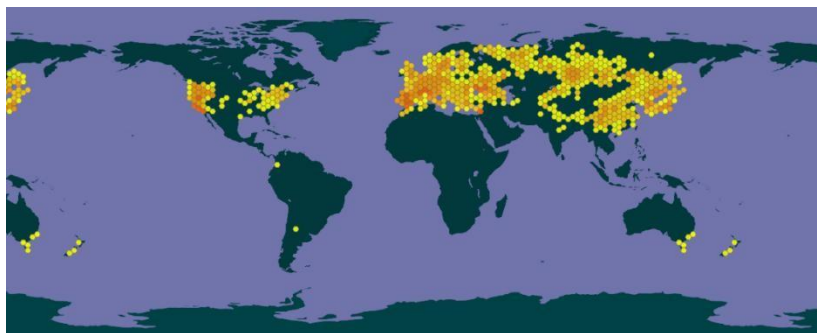


Рис. 1.1. Поширення півоній роду *Paeonia L.* [3]

В Україні селекцію півоній розпочали у 1950 році і була вона пов'язана з академіком Миколою Миколайовичем Гришком і всі колекції, які були інтродуковані з різних куточків світу, представлені в колекції Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України. А на сьогодні в нашій країні велику селекційну роботу проводить селекціонер Василь Федорович Горобець.

Він поповнює асортимент квітниково-декоративних культур різними сортами півоній, пристосовує їх до різних кліматичних умов [4].



Рис. 1.2. Сорт Перлинний розсип. Горобець 1994 р. України

У світові галузі зросла велика потреба у збільшенні сортів півоній, тому було використано основні методи селекції які включали схрещування та відбір. Для того, щоб в садівництві вирощували не лише декоративні сорти, а й лікарські та харчові. Однак селекція зіштовхується з деякими труднощами такі як, генетичні характеристики рослин, не достатньо знання про обіг ресурсів плазми, слабка сумісність та висока хромосомна гетерозиготність. Але відбір залишається одним з найважливіших методів, хоч і молекулярна селекція є ефективнішою для подолання недоліків традиційної та для цієї рослини є дуже важко диференціювати та утворювати калюс [5].

1.1.2. Морфологічні та біологічні особливості роду *Paeonia* L.

Головною особливістю будь-якого виду роду *Paeonia* L. є її життєві форми та будова родової, вегетативної систем. Цей рід представляє собою багаторічні великі рослини інколи чагарникові.

Півонії мають розгалужене кореневище з базальними потовщенням, яке може бути довгастим, конусоподібним чи веретеноподібним. Пагони бувають поодиноким або згрупованими, на початку м'ясистими, жовтого або червоного кольору. Стебла у півоній є декількох видів: прості, жолобчасті, розгалужені, циліндричні. Інколи висота пагона може досягати до 2 м. у висоту, але більшість мають 20-25 см.



Рис 1.3. Висота пагона сорту Victory, яка становить більше 20 см

Листя у *Peonia L.* дво-, трилопатеве або перисторозділене на великі широкі чи вузькі листочки. Варіюються від лінійно-ланцетних до ниткоподібних, що мають гладенькі, зубчасті, розсічені або лопатеві края. Тканина самого листка тонка, але при дозрівання плода твердішає і стає шкіряною. Біля основи черешки листка плоскі та зазвичай бувають циліндричними.



Рис. 1.4. Листя сорту Ave Maria, плоскі та шкіряністі

Великі, актиноморфні, поодинокі квіти. Оцвітина, тобто квіткова оболонка у них подвійна. Чашолистки різної форми, розміру кожен з яких має промаксимальну та дистальну частину. Дистальна частина з'єднується з листковою пластинкою, а промаксимальна з черешком стеблового листка.

Пелюстки однакові за розміром та формою. Вони мають форму обернено яйцеподібну або майже круглу. Колір пелюсток має безліч окрасів : жовті, білі, рожеві, фіолетові, червоні і т.д. Інколи поєднується декілька кольорів. Тичинки вільні з довгими нитками і утворюють стамінодальний диск [6].



Рис. 1.5. Квітка велика, поодинокі сорту Florence Bond.

1.1.3. Сорти півоній роду *Paeonia L.*

Дослідженими сортами півоній були: Sonoma YeDo, Mary Eddy Jones, Скарбниця, Edwin C. Bills, Judy Anne, Mrs. Wilder Buncroff, Lorelei.

Mary Eddy Jones – сорт півоній виведений в 1961 році у США, Міссурі. Відноситься до групи лактіфлора. Квітка велика світло-рожева, розмір досягає десяти дюймів, також на пелюстках можуть бути червоні окантовки. Два ряди захисних пелюсток чашоподібні та великі. Відсутні плодолистки і тичинки. Листя темно-зелене, стебло жорстке [7].



Рис. 1.6. Сорт Mary Eddy Jones

Edwin C. Bills – у 1959 році в США, Іллінойс був виведений сорт, який відноситься до групи лактіфлори. Квітка махрова та велика, забарвлення темніше за червоне. Має міцні стебла, через що і є хорошим сортом для розведення. Листя темні навіть сірувато-зелені. Сам кущ багатостеблений, в середньому висота 80 см. Квітне в середині сезону [8].



Рис. 1.7. Сорт Edwin C. Bills

Judy Anne – американський сорт, який був виведений у 1964 році. Цей сорт є фаворитом багатьох колекціонерів через те, що має велику, важку, рожеву, діаметром 25 см. Темно-зелене листя, міцне стебло. Кущ досягає до 80 см [9].



Рис. 1.8. Сорт Judy Anne

Lorelei – трав'янистий гібрид, виведений у 1996 році в США. Це гібрид між півонією молочно-квітковою і півонією лікарською. Квітка має оранжево-рожевий колір, середнього розміру, махрова або напівмахрова. Міцне стебло,

листя з прожилками, середньо-зелене. Кущ середнього розміру. Сорт хвалиться раннім цвітінням і на одному місці можуть квітнути до 10 років [10].



Рис. 1.9. Сорт Lorelei

Mrs. Wilder Buncroff – квітка японського типу виведена в 1935 році в Нью-Йорку. Пелюстки широкі, темно-рожеві, стамінодії окантовані і має золоті кінці. Пелюстки утворюють напівкулясту форму, адже перекривають одна одну. Стебла жорсткі, швидко розростаються і розмножуються. Півонія має насичений аромат [11].



Рис. 1.10. Сорт Mrs. Wilder Buncroff

Sonoma YeDo – міжсекційний сорт, створений в Каліфорнії. У 2006 році вперше розмножився під назвою «Жовтий двійник». Повна квітка, жовтого кольору. Плодолистиків від 4 до 6, світло-зеленого кольору. Тичинок декілька, без пилка. Листя типу Іто. Кущ середнього зросту, розлогий і не потребує

механічної опори. Без аромату. Також немає вірусів, адже належить до іто-гібридів [12].



Рис. 1.11. Сорт Sonoma YeDo

Скарбниця – внутрішньовидовий гібрид, сорт виведений колекціонером Василем Федоровичем Горобцем у Національному ботанічному саду імені М.М. Гришка НАН України в 1994 році. Квітка трояндоподібна, рожево-бузкового кольору. Густа, махрова, а діаметр може сягати 18 см. Висота зросту в середньому 80-110 см. Пагін міцний, лиски середньозелені. Аромат легкий [13].



Рис. 1.12. Сорт Скарбниця

1.1.4. Умови вирощування та запилення квітів роду *Paeonia L.*

Усі сорти досліджених півоній належать до середньо- та високозрілих з різними термінами квітання. Адже період коли квітнуть півонії в середньому становить 10-14 днів. Так як півонії світлолюбиві рослини їх потрібно

висаджувати на сонці, тому від цього і залежить розмір власне квітки, також місце не повинне містити протяги і сильні вітри. Рости півонії можуть на будь-яких ґрунтах, окрім заболочених і надто сирих [14].

Сезон квітіння весна – літо при гарному освітленні або можна півтінь. Полюбляють глинистий, крейдяний і суглинистий ґрунт, добре зволожений. Час коли пагін досягає максимальної висоти 5-7 років.

Розмноження півоній має декілька моментів. Якщо це деревоподібні півонії їх щеплюють на трав'янисті підщепи. Трав'янисті півонії легше розмножуються для цього потрібно восени викопати квітку, видалити ґрунт з кореневої системи або змити його. Так можна побачити, де розташовані вічка і краще розділити куш на частини. В кожній частині не повинно бути менше 3-5 бруньок і частина кореневої системи. Занадто глибоко садити півонії не можна, адже вона буде повільно квітнути. Потрібно на глибині 2,5-5 см вічками догори. Ретельно потрібно полити водою. Але, якщо це деревоподібні півонії їх навпаки потрібно садити глибше, щоб місце прищеплення було ближче до ґрунту і дало корені [15].

Також важливо пам'ятати, що коли півонії закінчили квітнути і згодом розпочнуться заморозки, то наземну частину куща потрібно зрізати до рівня ґрунту. А місце, де восени були посаджені півонії потрібно покрити торф'яною мульчою шаром 5-7 см, що рослина, яка була пересаджена комфортно почувалася взимку. На весні цей шар можна прибрати [16].

Для запилення квітів роду *Paeonia L.* потрібно з батьківської рослини видалити усі пиляки і пелюстки за 1-2 дня до розкриття. Такий метод дає запобігання самозапилення. Якщо пиляки потрапили між плодолистки їх потрібно видалити пінцетом.

Зібраний пилок переносять з контейнера пензелем на приймочку, яка має рожеве або червоне забарвлення. Якщо в цей момент приймочка не досить липка, то пилок достатньо добре може прилипнути. Кожна квітка містить 3-5 приймочок, які слід добре покрити пилом і запобігти його нагрівання. Після запилення квітки її потрібно «упакувати» за допомогою паперового пакету або

вощеного. Цей «мішечок» зберігає пилок сухим і не дає йому перегрітися. Також захищає від комах, які можуть видалити пилок і від зараження.



Рис. 1.5. Упакування квіток в «мішечки» після запилення

Запліднення відбувається протягом 24 годин, тому «мішечки» не потрібно залишати більше двох днів. Адже через довготривалу герметизацію підвищується ймовірність гниття стебла [17].

1.2. Вірусні захворювання півоній роду *Paeonia L.*

Історично вірусні захворювання півоній мають назву « кільцевої плямистості півоній» або «мозаїки півонії». Симптоми цього захворювання включає зміну кольору листя і цвітіння. Також рослина уражена вірусом може мати затримку росту.

Найбільш поширеними вірусами півоній є ті, що мають одноланцюгові РНК-геноми, вони включають: *Virgaviridae*, *Secoviridae*, *Bromoviridae*, *Betaflexiviridae*. На даний момент ДНК-віруси, які вражають півонії не зафіксовані.

Одним з найбільш вивченим вірусом півоній є вірус брязкальця тютюну (TRV) або його ще називають вірусом кільцевої плямистості півоній (PRV). Симптомами цього вірусу була кільцева плямистість на листка. TRV – паличкоподібний вірус, має РНК-геном позитивного сенсу. Рід цього вірусу *Tobravirus*, родина *Virgaviride*. Кільце плямистість на листках інколи розвиває

некротичні плями, а не лише смуги темного і світлого кольору. Також може бути жовта мозаїка.



Рис. 1.6. Вірус кільцевої плямистості півоній

TSWV, РНК-геном негативного сенсу. Має широкий спектр хазяїнів (більше тисячі рослин).

Вірус мозаїки люцерни (AMV) – РНК-геном з позитивним сенсом. Був ідентифікований як збудник мозаїчних та лінійчистих захворювань.

Вірус огіркової мозаїки (CMV) – РНК-геном з позитивним сенсом. Збудник хвороб попелиця. Цей вірус ефективно передається і має широкий спектр хазяїнів.

Також у півоній є наявні віруси згортання листя виноградної лози, вірус пожовтіння півоній, а також некротичного затримку росту [18].



Рис. 1.7. Вірус згортання листя виноградної лози

Вірусні хвороби півоній: симптоми, генетичний склад та географічне поширення [19]

Захворювання /симптом	Вірус	Геном	Сім'я	Країна
Приховані інфекції або ледь помітний хлороз листя	вірус борозенчастості стебла яблуні (ASGV)	+оцРНК	Бетафлексивіриди	Китай
Затримка росту, вузлуваті нерівності	вірус плямистості листя цитрусових (CLBV)	+оцРНК	Бетафлексивіриди	США
Хлороз листя	вірус цитрі, пов'язаний з пожовтінням півоній (PYaCV)	+оцРНК	Бетафлексивіриди	Китай
Заїдання коренів, затримка росту	вірус легкої плямистості амазонської лілії (ALiMMV)	+оцРНК	Бромовіриди	США
Жовта мозаїка та лінійні візерунки	вірус мозаїки люцерни (AMV)	+оцРНК	Бромовіриди	Італія, США

Системні мозаїчні симптоми	вірус мозаїки огірка (ВМО)	+оцРНК	Бромовіриди	Франція
Скручування та деформація листя, карликовість, мозаїка	вірус лінійного візерунка виноградної лози (GLPV)	+оцРНК	Бромовіриди	Китай
Карликовість, скручування листя та деформація	вірус згортання листя виноградної лози-3 (GLRaV-3)	+оцРНК	Клостеровіриди	Україна
Затримка росту, зменшення цвітіння, кореневі галли	вірус, асоційований з тирличом кобусьо (GKaV)	+оцРНК	Флавівіриди	США
Хлороз, затримка росту, кучерявість розеткового листя, плямистість листя, епінастія та некроз кінчиків	вірус некротичної затримки росту цикасів (CNSV)	+оцРНК	Сековіриди	США, Корея, Японія, Китай, Нова Зеландія
Плямистість листя, хлороз, затримка росту	вірус плямистості	+оцРНК	Сековіриди	США, Китай

	ліхніса (LycMoV)			
Хлоротичні кільця та плямистість	вірус кільцевої плямистості малини (RRSV)	+оцРНК	Сековіриди	Фінляндія
Карликові жовті плямисті листя	вірус латентної кільцевої плямистості суниці (SLRSV)	+оцРНК	Сековіриди	Фінляндія
хлороз, затримка росту, дрібніше та деформоване листя та квіти	вірус плямистого в'янення томатів (TSWV)	-оцРНК	Тосповіриди	США

1.3. Грибкові захворювання півоній роду *Paeonia L.*

Найчастіше грибкові хвороби бувають через надмірну вологу. Одна з таких хвороб є сіра гнилизна її переносять комахи. Найактивніше ця хвороба прогресує у дощові дні.

Симптомами захворювання є млявість пагонів та сірий наліт у нижній частині стебла. Потім зона кореневої шийки набуває коричневого кольору. Для того щоб врятувати цю рослину слід хворі частини півонії видалити і потім обробити кущ бородською рідиною концентрацією 1%.

Відома хвороба листя півоній – борошніста роса. Вона розвивається в перші тижні літа, коли є підвищена вологість. Збудник перенесення – вітер, який переносить спори грибка. Симптомами захворювання є білий наліт на поверхні листя, який поступово піднімається знизу догори. Щоб врятувати таку рослину потрібно видалити уражені листя і обробити кущ мідним купоросом або кальцинованою содою концентрацією 0,5.

Ближче до осені можна спостерігати грибкове захворювання, яке має назву іржа. Иржа послаблює кущ і не дає йому можливість нормально перезимувати. Симптом цієї хвороби скручування листя і потім його в'янення. Півонії втрачають здатність нормально функціонувати і припиняє зростати, згодом помирає. Для лікування рослини потрібно видалити іржу і обробити фунгіцидами.

Коренева гниль найпоширеніша хвороба півоній. Проявляється у вигляді гниючих коренів та стебел. Причина поява цієї хвороби непродезінфіковані інструменти, якими відбувалися маніпуляції над рослиною. Також збудниками може бути вологість і кислий ґрунт. Симптоми: темне листя, відсутність пружності і соковитості стебла. Також корінь має темно-коричневе забарвлення і наліт. Для запобігання цієї хвороби півонії потрібно обробляти фунгіцидами, а на ранній стадії захворювання застосувати мідний купорос [20].



Рис. 1.8. Коренева гниль, яка перейшла на стебло квітки

1.4. Фармакологічні властивості півоній роду *Paeonia* L.

З *Paeonia* виділено 451 сполуку, які містить глюкозиди, монотерпеноїди, флаваноїди, стильбени, тритерпеноїди та стероїди, феноли. Фармакологічні дослідження виявили протизапальні, протипухлинні, противірусні, серцево-судинні, нейропротекторні властивості. Також в клінічних дослідження випробовувалися активні екстракти (глюкозиди, паенол та пеоніфлорин) як терапевтичні препарати. Активні речовини півонії мають цілющі властивості.

Деревоподібні півонії використовують як традиційну медицину для вилікування різних хвороб, особливо в Китаї це набуло поширення. Cortex Moutan (СМ), висушена кора півоній виконувала функції для зняття жару, сприяння кровообігу і полегшення застою крові. Також, деякі півонії містять ненасичені жирні кислоти в насіннях, для створення поживної харчової олії [21].

У золі листя та кореневищ було виявлено 19 елементів: залізо, фосфор, силіцій, алюміній, манган, марганець, нікель, молібден, свинець, кальцій, цинк, купрум, калій, стронцій, кобальт та арсен [22].

Сировини півоній використовують при шлункових хворобах, при ревматизму, епілепсії, а також для регуляції менструального циклу. Також з коренів роблять мазі, які використовують при болях в суглобах, радикуліті. Півонія є адаптогеном, регулятором імунної системи.

Флавоноїди – природні антиоксиданти, що зміцнюють судини, тому півонії ще часто використовують для покращення стану шкіри і для підтримки імунної системи.

Глікозиди містяться в корені півонії, вони позитивно впливають на серцево-судинну систему, також корисні при гіпертонії і для підтримки артеріального тиску.

Алкалоїди містяться в квітці півонії, вони добре впливають на нервову систему людини, допомагають боротися з тривожністю, безсонням та дратівливістю. У народній медицині дуже популярна саме ця фармакологічна дія півоній.

Саліцилова кислота – покращує загальний стан організму, також розслабляє і заспокоює його.

Ефірні олії півоній знімають напругу і покращують настрій. А танін покращує стан шкіри і сприяє регенерації тканин.

Також серед народної медицини є популярними настоянки з півоній. Його використовують як снодійний або заспокійливий засіб. Через свою високу концентрацію та зберігається максимальна користь від корені та квітів [23].

В Україні офіційно зареєстрована настоянка з півоній у науковій медицині її використовують як седативний препарат. Також її використовують в комбінації з іншими препаратами седативного походження [24].

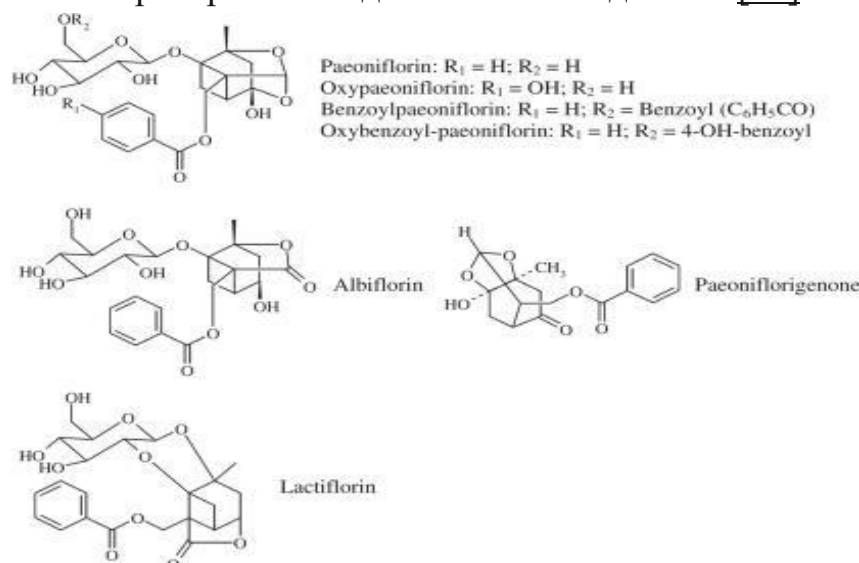


Рис. 1.9. Хімічні структури основних компонентів загальних глюкозидів півонії [25]

Фенольні кислоти – це природні сполуки з ароматичною структурою та з карбоксильною групою.

Найбільш поширеною фенольною кислотою у півоній є галова кислота та похідні її, вони містяться в пелюстка та в коренях – дигалова кислота, етилгалат, галоїлглюкоза, метилгалат.

У насіннях півоній містяться ванільна та хлорогенова кислоти, в деяких видах є ще гідроксибензойна кислота. Фенольні кислоти відомі через антиоксидантну та проти запальну властивість. Хіміопрофілактична дія підвищує фармакологічну цінність півоній. Фенольні сполуки також захищають рослину від шкідників і впливають на забарвлення пелюсток і аромат.

Таніни – поліфенольні сполуки, які осаджують алкалоїди, взаємодіють з білками та протизапальну, антибактеріальну властивості.

Таніни найбільше знаходяться у сортах півоній, а саме у коренях. Вони включають похідні три-, тетра-, пентагалоїльні похідні (казуаріїн, педункулагін, стриктинін, телімаграндин).

Біологічні властивості танінів полягають у в'язучій дії (загоювання ран), протизапальні (зменшення запалення слизових оболонок), також пригнічує розвиток гельмінтів і бактерій.

Ліпіди – органічні сполуки, складаються з водню, вуглецю та кисню. Вони були ідентифіковані в олії насіння півоній, також були знайдені жирні кислоти (олеїнова, пальмітинова, лінолева). Стероли ліпідів мають властивості зниження рівня холестерину, а жирні кислоти мають поживні речовини для здоров'я людини.

Органічні кислоти виявлені в усіх сортах півоній та у різних органах. У пелюстках містяться лимонна та шикімова кислоти. Присутні джерела олеанолової, урсолової та хінної кислот. Органічні кислоти мають протизапальні, антиоксидантні і інші терапевтичні властивості.

Алкалоїди виконують у півоніях захисну функцію від шкідників, бактерій та вірусів. Знаходяться вони в коренях та листях, у деревоподібних півоніях знаходяться у корі. Пеоніфлорин – біоактивний компонент півоній , глікозид терпенової природи. Мають заспокійливу, антиспазматичну та проізапальну дію. В медицині використовують при гіпертонії, безсонні, тривожності та проблем травлення [26].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Об'єкти дослідження

2.1.1. Використані сорти

Основними об'єктами, на які було направлено проведення дослідів, виступали півонії. Загалом аналізували 7 сортів та 11 варіантів рослинного матеріалу. З усіх існуючих варіантів 4 – здорові рослини, які не були уражені вірусною інфекцією та 7 – півонії, що потерпали від дії вірусних агентів, мали очевидні морфологічні зміни.

Таблиця 2.1

Аналізовані сорти півоній

№	Назва сорту	Хвора/здорова рослина (контроль)
1	Sonoma YeDo	Контроль
2	Mary Eddy Jones	Хвора
		Контроль
3	Скарбниця	Хвора
		Контроль
4	Edwin C. Bills	Хвора
		Контроль
5	Judy Anne	Хвора
		Контроль
6	Mrs. Wilder Buncroff	Хвора
7	Lorelei	Хвора

2.1.2. Морфологічні зміни уражених півоній

Візуальні дефекти включали появу на листкових пластинах концентричних кілець неправильної форми. Їх колір варіювався від світло-жовтого до темно-жовтого. Варто зазначити, що спостерігалася наявність зелених краплень. Окрім цього, зовнішні краї листя півоній набували коричневого кольору, що може вказувати на тенденцію до поступового відмирання тканин та появу більших некротичних осередків.



Рис 2.1. Морфологічні зміни листкових пластин уражених півоній

До того ж, розмір деяких хворих рослин був занадто малим, порівняно з контрольною групою, а цвітіння не фіксувалось. Якщо у здорових півоній довжина стебла разом з генеративними органами (квіткою) була більшою за 50 см, то уражена рослина відзначалась вдвічі меншою довжиною, яка не переважала 25 см.



Рис 2.2 Розміри нормальної (здорової) та хворої рослин

2.2. «Подвійний сендвіч» ІФА

2.2.1. Буферні розчини для ІФА в модифікації подвійного сендвічу (DAS-ELISA)

Для проведення імуноферментного аналізу готували 6 буферних розчинів. рН кожного доводили до потрібного значення шляхом внесення кислоти, чи лугу.

Таблиця 2.2

0,1М натрій-фосфатний буфер (PBS) з рН=7,3-7,5

Компонент	Концентрація (г/л)
NaCl	8
Na ₂ HPO ₄	1,15
KH ₂ PO ₄	0,2
KCl	0,2

Складові натрій-фосфатного буфера розчиняли у 930 мл дистильованої води та надалі доводили об'єм до 1 л.

Таблиця 2.3

Карбонатний буфер (ССВ) з рН=9,5-9,7

Компонент	Концентрація (г/л)
Na ₂ CO ₃	1,59
NaHCO ₃	2,93

Карбонатний буфер використовували для розведення аутоантитіл до рецептора ангіотензину 2 типу 1 (АТ-1). Компоненти карбонатного буфера

розчиняли у 800 мл дистильованої води та доливали рідину для досягнення об'єму в 1 л. Зберігання проводили за низьких температурних значень (2-8 °С).

Таблиця 2.4

Буфер відмивки (PBST) з рН=7,2-7,6

Компонент	Концентрація (мл/л)
PBS	800
Твін-20	0,5

Об'єм доводили до 1 л натрій-фосфатним буфером. PBST зберігали при кімнатній температурі (18-22 °С). Обов'язкова умова – контроль параметрів, оскільки буфер відмивки не може зберігатись при значеннях вище 30 °С.

Таблиця 2.5

Буфер зразка (GEB) з рН=7,2-7,8

Компонент	Концентрація (г/л)
Na ₂ SO ₃	1,3
Полівінілпіролідон (PVP)	20
Яєчний альбумін	2
Твін-20	20

Буфер зразка застосовували для гомогенізації матеріалу. Об'єм доводили до 1 л PBST. GEB, аналогічно до ССВ, зберігали при зниженій температурі (2-8 °С).

Таблиця 2.6

Буфер для розведення (ЕСІ) з рН=7,2-7,6

Компонент	Концентрація (г/л)
-----------	--------------------

Полівінілпіролідон (PVP)	20
Бичачий сироватковий альбумін (BSA)	2

Буфер ЕСІ використовували для розведення аутоантитіл до рецептора ангіотензину 2 типу 2 (АТ-2). Об'єм доводили до 1 л PBST. Найпридатнішим для зберігання є діапазон 2-8 °С.

Таблиця 2.7

Субстратний буфер (PNP) з рН=9,7-9,9

Компонент	Концентрація (мл/л)
Диетаноламін	97

2.2.2. Проведення ІФА

Після оцінки морфологічних змін листя, пагонів та генеративних органів півоній робили припущення про присутність вірусних агентів. Для підтвердження наявності вірусів карликовості та коротковузля проводили ІФА.

Спочатку планшети покривали антитілами, які направлені проти специфічних антигенів. Для цього антитіла розводили карбонатним буфером (ССВ) у співвідношенні 1:200, обережно перемішували суміш. Додавали 0,2 мл робочого розчину антитіл до лунок планшету. Інкубацію здійснювали при 37 °С протягом 4 год. Останнім кроком етапу було промивання лунок з допомогою буфера відмивки (PBST) з метою вилучення антитіл.

Потім рослинний матеріал підготовлювали до проведення аналізу. Для цього відбирали листя півоній, зважували його на аналітичних терезах та формували однакові за масою наважки. Надалі сегменти рослин гомогенізували до стану однорідної суміші. Процедуру здійснювали у фарфоровій ступці за допомогою товкачика. Проводили розведення із застосуванням буфера зразка (ГЕВ) так, щоб співвідношення компонентів становило 1:25. Якщо кількість

гомогенізованої суміші була б вищою, то це перешкоджало б виявленню позитивної реакції. Негативна реакція навпаки могла б бути ідентифікована як хибнопозитивна. Вносили по 0,2 мл зразків до лунок планшету, який ретельно закривали. Інкубація тривала всю ніч за зниженої температури в холодильнику. Для промивання лунок використовували буфер відмивки (PBST). Дії направлені на зв'язування антигену з антитілом. Варто зазначити, що додавали позитивні і негативні контролю для уникнення ідентифікації хибнопозитивних та хибнонегативних результатів.

На третьому етапі кон'югат розводили з ЕСІ (буфер для розведення) у співвідношенні 1:200, ретельно перемішували суміш. Вносили 0,2 мл робочого розчину кон'югата до лунок планшету та обережно закривали останній. Інкубація тривала 4 год при температурному значенні 37 °С. Кон'югат вилучали за допомогою буфера відмивки (PBST). Відбувалося зв'язування комплементарного антитіла з уже існуючим комплексом антиген-антитіло.

Під час проведення заключного етапу до лунок додавали 0,2 мл субстратного буфера (PNP), інкубували в темних умовах за температура 25 °С. Диетаноламін, що знаходиться в складі буферу, направлений на ферментативне утворення комплексу, який характеризується жовтим забарвленням. Успішність процесу оцінювали візуально через 1 та 2 год відповідно. Утворення жовтого кольору свідчило про позитивну реакцію та наявність вірусу.

2.3. Визначення каталазної активності спектрофотометричним методом

В основу методики закладено можливість пероксиду водню формувати стійкий комплекс разом з аніоном молібдату. Одержана сполука характеризується жовтим забарвленням, яке оцінюють при довжині хвилі 410 нм за допомогою спектрофотометра.

Для початку виокремлювали сегменти півоній. Частини рослин зважували на аналітичних терезах та підготовлювали наважки масою 500 г.



Рис 2.3. Зважування листя

Рослинний матеріал розтирали у фарфоровій ступці разом з 5 мл 1М фосфатного буфера застосовуючи товкачик.



Рис 2.4 Одержання гомогенату

Однорідну суміш розподіляли по епендорфах об'ємом 1,5 мл. Проводили центрифугування при 3000 об/хв протягом 10 хв.



Рис 2.5 Центрифугування

Надалі в кожному з пробірок вносили по 1 мл 0,03% розчину пероксиду водню та додатково додавали по 100 мкл супернатанту. Також застосовували контроль, яким слугувала пробірка з 100 мкл звичайної дистильованої води. Інкубація ємностей проводилась за температурного значення 37 °С. Час процесу становив 10 хв.



Рис 2.6 Інкубація

З метою припинення перебігу реакції вносили 1 мл 4% молібдату амонію. Потім здійснювали повторне центрифугування при тих же параметрах (3000 об/хв, тривалість – 10 хв). Після описаних кроків інтенсивність кольору вимірювали спектрофотометрично.

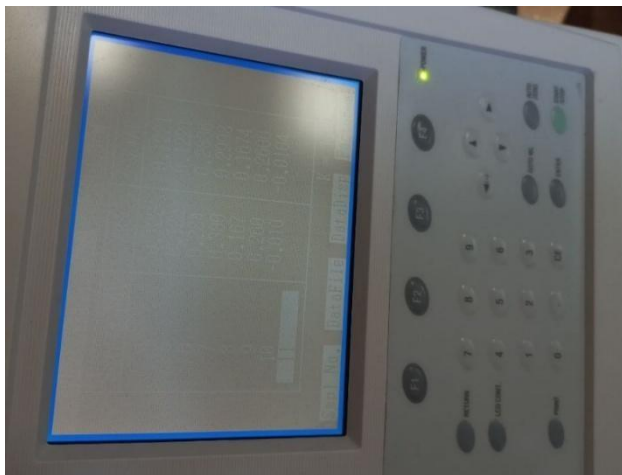


Рис 2.7 Вимірювання інтенсивності жовтого кольору спектрофотометром

Формула для обрахунку активності каталази:

$$E = (A_{\text{хол}} - A_{\text{досл}}) \cdot V \cdot t \cdot \frac{K}{m} \quad (2.1)$$

- E – активність каталази, мкат/мг.
- $A_{\text{хол}}$ – екстинція контрольної проби (внесення дистильованої води, а не пероксиду водню).
- $A_{\text{досл}}$ – екстинція дослідної проби.
- V – об'єм внесеної проби, 100 мкл.
- t – час інкубації, 600 с.
- m – маса внесеного рослинного матеріалу, мг.
- K – коефіцієнт мілімолярної екстинції пероксиду водню, $22 \cdot 10^3 \text{ мМ}^{-1} \text{ хсм}^{-1}$.

1 катал характеризує каталітичну активність, що пришвидшує перебіг реакції на 1 моль/сек. Перерахунок величин: $1 \text{ мкмоль/хв} = 1 \text{ од.акт} = 16,67 \text{ нкат}$, чи $1 \text{ ммоль/хв} = 0,01667 \text{ мкат}$ [27].

2.4. Визначення вмісту фотосинтетичних пігментів

Вміст каротиноїдів, а також хлорофілів форм а і b встановлювали в загальному пігментному екстракті. Попереднє розділення не проводили. При підготовці рослинного матеріалу формували наважки, маса кожної з яких складала 100 мг.



Рис 2.8 Наважки сегментів рослин

Подрібнювання листя півоній проводили у фарфоровій ступці з використанням товкачика. Необхідність внесення CaCO_3 обумовлювалась унеможливленням феофітинізації пігментів. Карбонат кальцію, який додавали на кінчику скальпеля, здатний нейтралізувати кислоти, що містяться в клітинному соці рослинних організмів. Надалі вливали 5 мл 80% ацетону та здійснювали гомогенізацію.

Скляну воронку вкривали фільтрувальним папером та вставляли у пробірку. Одержаний екстракт зливали на фільтр. Проводили дворазове споліскування ступки за допомогою розчинника та переносили залишки екстракту на фільтр.



Рис 2.9. Фільтрування екстракту



Рис 2.10. Відфільтрований екстракт

Відфільтрований екстракт додавали до іншої пробірки, яка мала об'єм 15 мл. В свою чергу, пробірку, яку застосовували в якості ємності для відфільтрованої рідини, промивали розчинником і з використанням цієї суміші доводили об'єм екстрагента до мітки (10 мл).



Рис 2.11. Доведення об'єму до мітки

Спираючись на те, що довжини хвиль, які еквівалентні максимумам поглинання каротиноїдів та хлорофілів форм а і b становлять 470, 663 та 646 нм відповідно, визначення оптичної густини отриманого екстракту проводили саме за цих показників. Контролем виступав розчинник.

Формула Ліхтенталера для обрахунку концентрації хлорофілу а:

$$C_{\text{хл.а}}(\text{мг/л}) = 12,21 \cdot D_{663} - 2,81 \cdot D_{646} \quad (2.2)$$

Формула Ліхтенталера для обрахунку концентрації хлорофілу b:

$$C_{\text{хл.б}}(\text{мг/л}) = 20,13 \cdot D_{646} - 5,03 \cdot D_{663} \quad (2.3)$$

Формула Ліхтенталера для обрахунку сумарної концентрації хлорофілу а та b:

$$C_{\text{хл.а+хл.б}}(\text{мг/л}) = 7,12 \cdot D_{660} + 16,8 \cdot D_{642,5} \quad (2.4)$$

Формула Ліхтенталера для обрахунку концентрації каротиноїдів:

$$C_{\text{кар}}(\text{мг/л}) = \frac{1000 \cdot D_{470} - 3,27 \cdot C_{\text{хл.а}} - 100 \cdot C_{\text{хл.в}}}{229}$$

(2.5)

Формула для обрахунку вмісту пігментів у рослинному матеріалі:

$$A(\text{мг/г}) = \frac{C \cdot V}{H \cdot 1000}$$

(2.6)

- C – концентрація пігментів, мг/л.
- V – об'єм екстракту, мл (10 мл).
- H – наважка рослинної сировини, г [28]

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Результати ІФА

Дослідженими сортами в ІФА були: Sonoma YeDo, Mary Eddy Jones, Скарбниця, Edwin C. Bills, Judy Ann, Mrs. Wilder Buncroff, Lorelei, а також додатково був взятий сорт Жемчужна розсип.

Жемчужна розсип була взята для визначення вірусу, адже ознаки захворювання були видні неозброєним оком. У цієї рослини були симптоми скручення листків, мозаїка спостерігалася на деяких листках, а також карликовість. Використовуючи DAS-ELISA, рослину тестували на наявність GFLP та GLRaV-1. У Жемчужній розсипі було виявлено антигени GLRaV-1.

У семи сортах: Sonoma YeDo, Mary Eddy Jones, Скарбниця, Edwin C. Bills, Judy Ann, Mrs. Wilder Buncroff, Lorelei, в яких були специфічні кільця, коротковузля та карликовість. Тест-системи були використані до таких вірусів: tobacco ringspot virus, tobacco rattle virus, tobacco ringspot virus, tomato blackring virus, raspberry ringspot virus, GLRaV-7. В результаті було виявлено вірус GLRaV-1 у сорті Mrs. Wilder Buncroff. Також було припущена думка на рахунок того, що вірус виноградної лози може бути новим для півоній.

В інших сортах ми не виявили віруси, які ми тестували, але те, що вони хворі це доводить їх специфічний зовнішній вигляд та певні дефекти. А сорт Sonoma YeDo взагалі не хворіє, тому що належить до групи іто-гібридів [29].



Рис. 3.1. На плашці зображено наявність специфічних антигенів.

Результат ІФА

На плашці №1, можна побачити, що реакції антиген-антитіло не відбулася



Рис. 3.2. Відсутність реакція антиген-антитіло

3.2. Активність каталази результати

Для визначення активності каталази було взято 4 сорти, які містять контроль і хвору рослину (Скарбниця, Mary Eddy Jones, Judy Anne, Edwin C. Bills).

Таблиця 3.1.

Дослідні зразки	Активність каталази, мкат/мл
Mary Eddy Jones, хвора	936,7
Скарбниця, хвора	897,87
Edwin C. Bills, хвора	985,34
Judy Anne, хвора	954,65

Mary Eddy Jones, контроль	1206,7
Скарбниця, контроль	1155,54
Edwin C. Bills, контроль	1112,0
Judy Anne, контроль	989,77

У сортах контроль висока активність каталази, що свідчить про гарний фізіологічний стан рослини. Тобто, здатність усувати перекис водню, захист від окисного стресу, рослині легше буде пристосуватися до стресових умов. Так, як перекис водню є шкідливим він має бути видаленим, тому каталаза добре справляється з цим в сортах контроль [30].

Хворі сорти відносно контролю мають меншу активність каталази, тому мають меншу властивість до антиоксидантного захисту.



Рис. 3.3. Активність каталази дослідних зразках

3.3. Вміст фотосинтетичних пігментів

Останній етап дослідження, це визначення активності каталази. Було проаналізовано сорти: Скарбниця, Mary Eddy Jones, Judy Anne, Edwin C. Bills, на вміст хлорофілу а, хлорофілу b та каротиноїди. Сорти містять контроль та хвору рослину.

Головним завданням цього дослідження було встановити кількісний вміст хлорофілу а і b, а також каротиноїдів. Та встановити тенденцію в зміні фотосинтетичних пігментів між контролем та хворою рослиною.

Таблиця 3.2.

Зразок рослинної сировини	Хлорофіл а, мг/г	Хлорофіл b, мг/г	Каротиноїди, мг/г
Скарбниця, контроль	5,80	2,40	1,18
Скарбниця, хвора	2,40	1,60	1,22
Judy Anne, контроль	6,10	2,10	1,24
Judy Anne, хвора	3,00	1,75	3,2
Mary Eddy Jones, контроль	5,55	2,05	1,12
Mary Eddy Jones, хвора	2,39	1,50	4,5
Edwin C. Bills, контроль	5,95	2,15	1,20
Edwin C. Bills, хвора	2,88	1,75	1,26

Можна спостерігати, що у всіх хворих сортах хлорофіл а знижується відносно їхнього контролю. Це може свідчити про пригнічення фотосинтетичної активності і виявлені ознаки стресу. На відміну від хлорофілу показники каротиноїдів може зменшуватися або варіювати майже в однакових значеннях, а в деяких випадках навіть бути більшим [31].

В результаті цього дослідження ми може побачити, що у хворих рослин пригнічений синтез хлорофілу, а також наявні порушення хлоропластів. Тому це призводить до зниження енергії рослини. Каротиноїди у хворих сортах Judy Anne та Mary Eddy Jones більший від значення хлорофілів, це може свідчити про те, що компенсаторна реакція на стрес, щоб захисти власне хлорофіли від окиснення. В інших сортах спостерігаємо зниження вмісту каротиноїдів, це є наслідком порушення метаболізму.

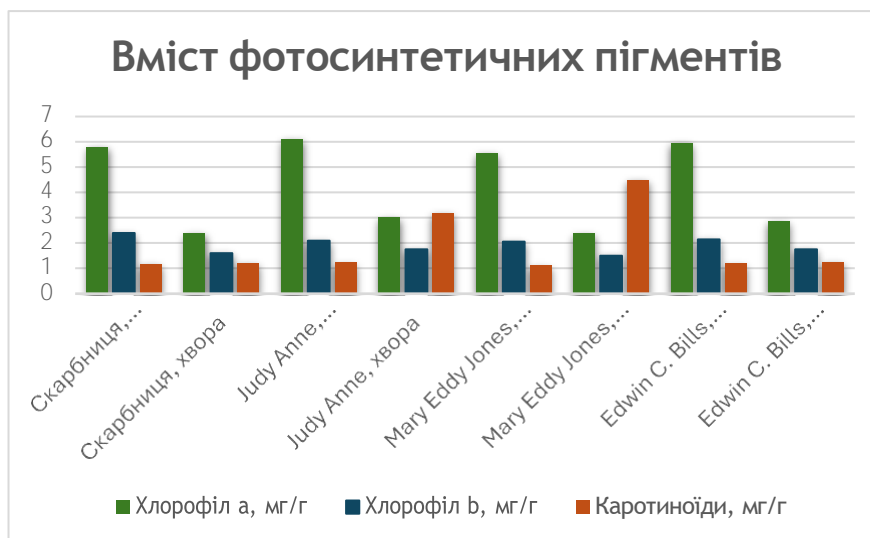


Рис. 3.4. Вміст фотосинтетичних пігментів в дослідних зразках півоній

З діаграми, можемо зробити висновки, що навіть за допомогою визначення вмісту фотосинтетичних пігментів можна виявити чи хвора рослина, адже показники від контролю відрізняються, а це може свідчити про те, що в рослині порушені біологічні функціонування і присутній стрес.

ВИСНОВКИ

1. У ході досліджень було проведено ІФА, взято тест-системи для виявлення вірусів у сортах півоній (Sonoma YeDo, Mary Eddy Jones, Скарбниця, Edwin C. Bills, Judy Ann, Mrs. Wilder Buncroff, Lorelei, а також додатково був взятий сорт Жемчужна розсип).

2. Було визначено, що сорт Sonoma YeDo належить до групи іто-гібрид і вони ніколи не хворіють. У сортах Wilder Buncroff та Жемчужна розсип виявлено віруси GLRaV-7 та GLRaV-1. Також були припущені висновки, що вірус виноградної лози може стати новим хазяїном для півоній. Адже хворі півонії мали специфічні для них дефекти: скручення листків, карликовість та поодинокі кільцева мозаїка.

3. Визначено активність каталази для чотирьох сортів, які мали контроль та хвору рослину (Скарбниця, Mary Eddy Jones, Judy Anne, Edwin C. Bills). У контроль сортах півоній спостерігала високу активність каталази, що свідчить про їхній гарний фізіологічний стан, адже каталаза усуває перекис водню та легко пристосовує рослину до стресових умов. Хворі рослини мали менші показники ніж контроль, тому вони мають меншу здатність до антиоксидантного захисту, їм складніше усувати перекис водню у клітинах рослин і важче пристосувати до стресових умов.

4. Вміст фотосинтетичних пігментів було проведено до сортів Скарбниця, Mary Eddy Jones, Judy Anne, Edwin C. Bills, які також мали контроль та хвору рослини. В результаті досліджень спостерігалось у контроль високий вміст хлорофілів, що характерний для здорової рослини. А хворі сорти мали знижений вміст хлорофілів а і b, що може сказати нам про порушення структури хлоропластів і знижений синтез хлорофілу. У сортах Mary Eddy Jones та Judy Ann вміст каротиноїдів був підвищений, це означає, що в рослині відбувається компенсаторна реакція на стрес, щоб захисти хлорофіли від окиснення. Інші сорти мають низький вміст каротиноїдів, це є наслідком порушення метаболізму.

5. Згідно з результатами дослідження можна дійти до висновку, що хворі сорти півоній мають нижчу каталазну активність і виробляється мало енергії для нормального функціонування рослини, а вміст пігментів хлорофілів а і b менші, ніж в контроль. Каротиноїди у хворих сортах можуть бути підвищеним для компенсаторної реакції на стрес, а можуть бути і низькими, що свідчить про порушення метаболізму в рослині.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. American Peony Society. URL: <https://americanpeonysociety.org/> (дата звернення 15.05.2025)
2. Стаття. — Український ботанічний журнал, 2011, Т. 68, №01. — С. 35-44.
3. *Paeonia* L. URL: <https://www.gbif.org/species/3083483>(дата звернення 15.05.2025)
4. Pantsyreva, H. V. (2018). Дослідження сортових ресурсів трав'яних видів *Paeonia* L. в Україні. Scientific Bulletin of UNFU, 28(8), 74-78. URL: <https://doi.org/10.15421/40280815> (дата звернення 15.05.2025)
5. Breeding History, Phytochemical Properties and Distribution of *Paeonia* spp. in Iran. URL:<https://jscholaronline.org/articles/JMPH/Breeding-History-Phytochemical-Properties-and-Distribution-of-Paeonia.pdf>
6. The Caucasian Representatives of the Genus *Paeonia* L. L.M. Kemularia-Nathadse, Trudy Tiflis. Botan. Sada 196. URL: <https://paeo.de/h1/kem/ch2.html> (дата звернення 15.05.2025)
7. Mary Eddy Jones. American Peony Society. URL: <https://americanpeonysociety.org>
8. Edwin C. Bills. American Peony Society. URL: <https://americanpeonysociety.org>
9. Judy Anne. American Peony Society. URL: <https://americanpeonysociety.org>
10. Lorelei. American Peony Society. URL: <https://americanpeonysociety.org>
11. Mrs. Wilder Bancroft. American Peony Society. URL: <https://americanpeonysociety.org>
12. Sonoma YeDo. American Peony Society. URL: <https://americanpeonysociety.org>
13. Новинка в колекції Півоній - Півонія "Скарбниця" (*Paeonia* "Skarbnitsya"). URL:<https://prolisok.com.ua>
14. Як і коли садити та пересаджувати півонії: детальна інструкція. URL: <https://zaxid.net/news/> (дата звернення 15,05.2025)
15. The best place to plant peonies. URL: <https://www.peonysociety.org/the-best-place-to-plant-peonies/> (дата звернення 15.05.2025)
16. Півонії: вирощування в саду, види і сорти. URL: <https://floristics.info/ua> (дата звернення 16.05.2025)

17. Hybridizing Peonies Don R. Smith—Hybridizer, West Newton, Massachusetts, USA. URL: <https://americanpeonysociety.org/wpcontent/uploads/2019/03/Hybridizing-Peonies-Smith.pdf> (дата зверення 15,05.2025)
18. Lu, W.; Hong, C.; Huang, Z.; Zhao, G.; Liang, Y.; Gao, H. Virus Diseases of Peonies. *Horticulturae* 2025, 11,517. URL: <https://doi.org/10.3390/horticulturae11050517> (дата зверення 15,05.2025)
19. *Horticulturae* 2025 , 11 (5),517; URL: <https://doi.org/10.3390/horticulturae11050517> (дата зверення 15,05.2025)
20. Хвороби півонії: які бувають і що робити. URL: <https://yaskravaklumba.com.ua> (дата зверення 15,05.2025)
21. Li P, Shen J, Wang Z, Liu S, Liu Q, Li Y, He C, Xiao P. Genus *Paeonia*: A comprehensive review on traditional uses, phytochemistry, pharmacological activities, clinical application, and toxicology. *J Ethnopharmacol.* 2021 Apr 6;269:113708. doi: 10.1016/j.jep.2020.113708. Epub 2020 Dec 24. PMID: 33346027. URL: <https://www.sciencedirect.com> (дата зверення 15,05.2025)
22. Дослідження вмісту вищих жирних кислоти ліпофільному екстракті ферментованих листків та гілок *Aspalatus Linearis* URL: http://ir.librarynmu.com/bitstream/123456789/1700/1/ZBIRNIK_tez_konferencii_2019.pdf
23. Peony: beneficial properties for human health. URL: <https://violapharm.com>
24. МАХИНЯ, Л. М., et al. Обґрунтування вибору напрямку досліджень *Bidens frondosa* L. з метою подальшої розробки лікарських засобів на основі виявлених біологічно активних речовин (БАР). 2018. PhD Thesis. URL: <https://quality.nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2018/06/Thesis-Kharkiv-2018-NuPh-Chemistry-of-natural-compounds-Tkachenko-O.V..pdf>
25. He DY, Dai SM. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *paeonia lactiflora* pall., a traditional chinese herbal medicine. *Front Pharmacol.* 2011 Feb 25;2:10. doi: 10.3389/fphar.2011.00010. PMID: 21687505; PMCID: PMC3108611. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3108611/>

26. Prospective Approaches to the Sustainable Use of Peonies in Bulgaria *Рослини* 2025 , 14 (6), 969; URL: <https://doi.org/10.3390/plants14060969>
27. Активність каталази в рослинній сировині. URL: <http://dspace.nbuiv.gov.ua>
28. Дисертація еколого-біохімічні засади застосування біостимуляторів при вирощуванні лікарських рослин на Заході України. URL: <https://repository.lnup.edu.ua/jspui/bitstream/123456789/40/1/Lupak%20O.M..pdf>
29. Mishchenko, L.T., Konup, L.O., Dunich, A.A. et al. First report of grapevine leafroll-associated virus-3 on peony plants in Ukraine. *J Plant Dis Prot* 130, 189–198 (2023). URL: <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00665-w>
30. Microscale investigations of catalase activity in plant extracts. URL: <https://practicalbiology.org>
31. Левчик, Н. Я., Скрипка, Г. І., Левон, В. Ф., Любінська, А. В., Закрасов, О. В., & Горбенко, Н. Є. (2023). Зміна вмісту фотосинтетичних пігментів у листках рослин *Phlox paniculata* L. під впливом збудника борошнистої роси в умовах НБС імені М. М. Гришка НАН України. *Scientific Bulletin of UNFU*, 33(1), 27-33. <https://doi.org/10.36930/40330104>

ДОДАТКИ

Додаток А



НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

ФАКУЛЬТЕТ ЗАХИСТУ РОСЛИН, БІОТЕХНОЛОГІЙ
І ЕКОЛОГІЇ

ЗБІРНИК

матеріалів доповідей

ХІ МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ СТУДЕНТІВ, АСПРАНТІВ

І МОЛОДИХ ВЧЕНИХ



«ЕКОЛОГІЯ – ФІЛОСОФІЯ ІСНУВАННЯ
ЛЮДСТВА»

23-24 квітня 2025 р.

Київ – 2025

<i>Кобилецький Я.О., Мінвайло А.А., Дмитренко Л.А.</i> ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТОВОГО ПОКРИВУ ЗА ВОЄННОГО ВПЛИВУ ПРИ РУЙНУВАННІ НАФТОПЕРЕРОБНИХ ЗАВОДІВ (НА ПРИКЛАДІ М. КРЕМЕНЧУК)	65
<i>Коваль М.В., Бережняк Є.М.</i> РОЗВИТОК АЛЬТЕРНАТИВНИХ ДЖЕРЕЛ ЕНЕРГІЇ В УМАНІ ТА МІСЦЕВИХ ГРОМАДАХ	67
<i>Корнілевська С.І., Кваско О.Ю.</i> ФУНГІЦИДНІ ВЛАСТИВОСТІ БАКТЕРІЙ <i>BACILLUS SPP.</i>	68
<i>Корсунський О.В., Субін О.В.</i> ВВЕДЕННЯ <i>MURTUS COMMUNIS</i> В АСЕПТИЧНУ КУЛЬТУРУ	70
<i>Косман А.С., Дащенко А.В.</i> АКТИВНІСТЬ КАТАЛАЗИ ТА ВМІСТ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ У ПІВОНІЯХ	71
<i>Кравець Г.С., Клепко А.В.</i> РАДІАЦІЙНА БЕЗПЕКА УРАНОВИДОБУВНОЇ ТА УРАНОПЕРЕРОБНОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ УКРАЇНИ	73
<i>Кравченко І., Ладика М.М.</i> КЛІМАТИЧНІ РЕАЛІЇ СЬОГОДЕННЯ ТА ЇХ ВПЛИВ НА УКРАЇНУ І СВІТ	75
<i>Крохан Я.Р., Ракоїд О.О.</i> ВПЛИВ БОЙОВИХ ДІЙ НА ҐРУНТИ: ЕКОЛОГІЧНІ НАСЛІДКИ ТА ЗАГРОЗИ ДЛЯ ДОВКІЛЛЯ	78
<i>Кудашкін Г.В., Герасимов О.І.</i> МОДЕЛЮВАННЯ КОМПОЗИТНИХ СТРУКТУР ЯК БАГАТОЧАСТИНКОВИХ ДИСКРЕТНИХ ПОЛІДИСПЕРСНИХ КОНГЛОМЕРАЦІЙ	80
<i>Ладика М.М., Бизим О.О.</i> АНТРОПОГЕННЕ НАВАНТАЖЕННЯ НА БАСЕЙН РІЧКИ ОСТЕР	82
<i>Латик В.</i> ВИКОРИСТАННЯ СВЕЙЛІВ У СІЛЬСЬКОМУ ГОСПОДАРСТВІ	84
<i>Лелюшок С.В., Наумовська О.І., Молдаван Л.П.</i> БІОТЕСТУВАННЯ ҐРУНТУ АГРОЕКОСИСТЕМ ЗА ВПЛИВУ НЕСАНКЦІОНОВАНИХ СМІТТЄЗВАЛНИЦЬ	85
<i>Литвиненко С.А., Дащенко А.В.</i> МОНІТОРИНГ ГРИБКОВИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ЛИСТЯ ТА ПЛЮДІВ <i>QUERCUS ROBUR</i> МЕТОДОМ ПЛР В МЕЖАХ МІСТА КИСЬВА	87
<i>Литвинчук А.Д., Ілленко В.В.</i> НОРМАТИВНО-ПРАВОВЕ РЕГУЛЮВАННЯ ВМІСТУ ПРИРОДНИХ РАДІОНУКЛІДІВ У БУДІВЕЛЬНИХ МАТЕРІАЛАХ	90
<i>Любчиков Р.С.</i> ВИКОРИСТАННЯ БІОХІМІЧНИХ МАРКЕРІВ ДЛЯ БІОНДИКАЦІЙНОЇ ОЦІНКИ ВОДНИХ ЕКОСИСТЕМ	92

УДК 606:577.15:633.86

АКТИВНІСТЬ КАТАЛАЗИ ТА ВМІСТ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ У ПІВОНІЯХ

Косман А.С., студентка 4 курсу факультету захисту рослин, біотехнологій та екології

Даценко А.В., кандидат с.-г. наук, доцент кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики

Національний університет біоресурсів і природокористування України.

Культура Півонії належить до монотипного роду трав'янистих багаторічних рослин, єдиного у родині *Paeonia L.* Видовий склад культури півонії буває різним – трав'янисті, ще трапляються півонії деревоподібні, а також види, в яких поєднують властивості як деревоподібних, так і трав'янистих півоній (близько 40 видів). У природних умовах зростання півонії зростають у помірних і субтропічних поясах Північної Америки та Євразії.

Рід *Paeonia L.*, виділений із родини *Ranunculaceae Juss.* у самостійну родину *Paeoniaceae Rudolphi*, нараховує 33 види, поширених, головним чином, в Європі, Середземномор'ї та Азії.

Селекційна робота ведеться у Національному ботанічному саду. Низка праць належить видаткому селекціонеру сучасності – академіку М.М. Гришко, так як асортимент багаторічних квітково-декоративних культур незнаний [1].

У наших дослідженнях використовувалися рослини родини *Paeonia*. Півонії (*Paeonia*) є цікавим об'єктом для біохімічних досліджень, оскільки поєднують високу декоративну цінність із значною стійкістю до несприятливих умов довкілля. Визначення вмісту фотосинтетичних пігментів та активності каталази в їхніх листках дозволяє оцінити загальний фізіологічний стан рослин, їхню адаптацію до умов вирощування та реакцію на стресові фактори.

Основними фотосинтетичними пігментами є хлорофіл *a*, хлорофіл *b* та каротиноїди. Хлорофіл *a* є основним пігментом, що забезпечує процес фотосинтезу, тоді як хлорофіл *b* виконує допоміжну функцію, розширюючи спектр поглинання світла. Каротиноїди не лише беруть участь у фотосинтетичних процесах, а й виконують захисну функцію, запобігаючи фотопшкодженню клітин під впливом надмірного світла. Вміст цих пігментів може змінюватися залежно від освітлення, вікових змін листків та екологічних умов.

Визначення концентрації фотосинтетичних пігментів зазвичай здійснюється спектрофотометричним методом. Для цього зразки рослинного матеріалу екстрагують у 80% ацетон, після чого вимірюють оптичну густину отриманого розчину при довжинах хвиль 645, 663 і 470 нм. Отримані дані використовуються для розрахунку вмісту хлорофілів *a*, *b* і каротиноїдів за формулою Ліхтенгалера [2].

Каталаза є ключовим ферментом антиоксидантної системи, що сприяє розкладанню перекису водню на кисень і воду. Це допомагає знизити рівень оксидативного стресу в клітинах рослин. Активність каталази змінюється залежно від віку рослини, умов навколишнього середовища та стресових факторів. Наприклад, у молодих листках цей фермент зазвичай активніший, ніж у старіючих, а за несприятливих умов, таких як посуха чи підвищена температура, його активність може зростати як адаптивна реакція.

Метод визначення активності каталази ґрунтується на вимірюванні швидкості розщеплення H_2O_2 . Для цього рослинний матеріал подрібнюють, отримують гомогенат у фосфатному буфері та додають розчин перекису водню. Вимірювання змін оптичної густини при 240 нм за допомогою спектрофотометра дозволяє розрахувати активність ферменту в перерахунку на 1 г сирової маси.

Взаємозв'язок між вмістом фотосинтетичних пігментів і активністю каталази має важливе значення для розуміння адаптаційних механізмів у рослин. У нормальних умовах висока концентрація хлорофілів забезпечує ефективний процес фотосинтезу, тоді як активність каталази залишається відносно стабільною. Однак під впливом стресових факторів, таких як інтенсивне освітлення, забруднення повітря або механічні пошкодження, рівень хлорофілів може знижуватися, тоді як активність каталази зростає як захисна реакція рослини.

Список використаних джерел

1. Горобець В.Ф. Півонія (біологія, селекція, сорти) / Горобець В.Ф. – Київ: Велес, 2015. – 160 с. – ISBN 978-966-02-7643-7. URL: http://www.nbg.kiev.ua/about_garden.
2. Метод визначення каталазної активності у рослинному матеріалі / І.М. Долиба, Р.А. Волков, І.І. Панчук // Фізіологія і біохімія культурних рослин. — 2010. — Т. 42, № 6. — С. 497-503. — Бібліогр.: 12 назв. — укр. URL: <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/66325>.