Институт пищевой биотехнологии и геномики
Национальной академии наук Украины

ПЕРВАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ

(С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ)

БИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И БИОТЕХНОЛОГИЯ

ПРОГРАММА

5-7 ОКТЯБРЯ 2011 ГОДА

г. Белая Церковь, Украина

ПРОГРАММА КОНФЕРЕНЦИИ
«БИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И БИОТЕХНОЛОГИЯ»

ВТОРНИК, 4 ОКТЯБРЯ 2011

16^{00} – 18^{00} ЗАЕЗД УЧАСТНИКОВ КОНФЕРЕНЦИИ

СРЕДА, 5 ОКТЯБРЯ 2011

09^{00}–10^{30} –регистрация участников в холле главного корпуса Белоцерковского национального аграрного университета

10^{30} – 10^{45}–открытие конференции, пленарное заседание:

Вступительное слово академика НАН Украины Блюма Я.Б. / *директора Института пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины*

10^{45}–11^{00} Вступительное слово член-корр. НААН Украины Даниленко А.С. / *ректора Белоцерковского национального аграрного университета*

11^{00}-11^{30} Пленарный доклад д.б.н. Емец А.И. Ключевая роль тубулина в молекулярных и клеточных механизмах устойчивости растений к гербицидам с антимитотической активностью / *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины*

11^{30} – 13^{00} –Заседание секции «Клеточная биология растений»

11^{30}-11^{50} к.б.н. Шеваль Е.В. Структура интерфазных ядер и топология реплицирующегося хроматина у растений / *НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова*

11^{50}-12^{10} к.б.н. Шеремет Я.А. Изучение функциональной роли фосфорилирования микротрубочек в растительной клетке / *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины*

12^{10}-12^{25} к.б.н. Литвин Д.И. Запрограммированная гибель растительных клеток в ответ на действие УФ-В / *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины*

12^{25}-12^{45} **Красиленко Ю.А.** Роль микротрубочек в опосредовании сигнала оксида азота в растительной клетке / *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины*

12^{45}-13^{00} **Росіцька Н.В.** Стан продихів у рослин *Rosa canina* L. за різних умов зростання / *Національний ботанічний сад імені М.М. Гришка НАН України*

13^{00} – 14^{00} – обед

14^{00} – 15^{25} –Заседание секции «Стресс и регуляция развития растений»

14^{00}–14^{20} **к.б.н. Исаенков С.В.** Роль вакуолярных ионных транспортеров и каналов в регуляции солеустойчивости растений / *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины*

14^{20}–14^{40} **к.б.н. Литвин Д.И.** Участие l-мио-инозотол 1-фосфат синтазы в NO-зависимом опосредовании оксидативного стресса, индуцированного ультрафиолетом В / *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины*

14^{40}–14^{55} **Головина И.В.** Анализ степени жаро- и засухоустойчивости изогенных по генам контроля темпов развития линий пшеницы / *Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина*

14^{55}–15^{10} **Бакун В.Р.** Оцінка вмісту антоціанів у рослин ріпаку за дії іонів важких металів та регулятора росту трептолему / *Львівський національний університет імені Івана Франка*

15^{10}– 15^{25} **Хань Бин** Фотопериодическая регуляция темпов развития и распределения азотсодержащих метаболитов у изогенных линий пшеницы / *Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина*

15^{25} – 15^{50} – кофе-брейк **(дендропарк "Александрия")**

15^{50} – 18^{30} – экскурсия по **Государственному дендрологическому парку «Александрия» НАН Украины**

18^{30}–20^{00}–праздничный фуршет по поводу открытия конференции

ЧЕТВЕРГ, 6 ОКТЯБРЯ 2011

09^{30}–10^{00} – регистрация участников в холле главного корпуса Белоцерковского национального аграрного университета

10^{00} – 11^{30} – Заседание секции «Молекулярная генетика растений»

10^{00}-10^{15} **Карелов А.В.** Поліморфізм українських сортів пшениці за 11-м екзоном локусу *LR34* / *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України*

10^{15}-10^{30} **Єфіменко Т.** Успадкування морфологічних ознак луски у інтрогресивних ліній м'якої пшениці / *Національний університет «Києво-Могилянська академія»*

10^{30}-10^{45} **Маньковська О.С.** Цитогенетична характеристика стійких до борошнистої роси ліній пшениці з хромосомою 4ssh та без неї і гібридів за їхньою участю / *Національний університет «Києво-Могилянська академія»*

10^{45}-11^{00} **Шпильчин В.В.** Мінливість за ознакою наявність воскової осуги у генераціях штучних амфідиплоїдів пшениці / *Національний університет «Києво-Могилянська академія»*

11^{00}-11^{15} **Михайлик С.Ю.** Внутрішньолінійна мінливість гліадинових спектрів в інтрогресивних лініях м'якої пшениці як наслідок нестабільності гібридного генома / *Національний університет «Києво-Могилянська академія»*

11^{15}-11^{30} **Петренко В.А.** Особенности процессов каллюсогенеза и морфогенеза в культуре *in vitro* у изогенных по генам контроля темпов развития линий мягкой озимой пшеницы *T. aestivum* / *Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина*

11^{30}–12^{30} – практический семинар по работе со световыми микроскопами «Карл Цейсс»

12^{30} – 13^{30} – обед

13^{30}–16^{10}– Заседание секции «Геномика, протеомика и биоинформатика»

13^{30}-13^{50} **к.б.н. Пирко Я.В.** Геномный анализ роли цитокинин оксидазы/дегидрогеназы в формировании повышенной продуктивности пальчатого проса / *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины*

14^{10}-14^{30} **Данченко М.М.** Використання очищених від радіоактивного забруднення земель чорнобильської зони – динаміка протеому насіння льону протягом розвитку / *Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України*

14^{30}-14^{50} **к.б.н. Карпов П.А.** Биоинформатика, как составная часть современных молекулярно-биологических исследований / *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины*

15^{10}-15^{25} **Демчук О.М.** Застосування CUDA-обчислень для прискорення процесу ліганд-білкового докінгу / *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України*

15^{25}-15^{40} **Самофалова Д.А.** Результаты сравнительного био-информационного анализа серин-треонин специфичных протеинфосфатаз из животных и высших растений / *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины*

15^{40}-15^{55} **Скороход О.М.** Дослідження взаємодії кінази рибосомного білку S6 та нового білка-партнера-TDRD7 з використанням біоінформатичного та молекулярно-біологічного підходів / *Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины*

15^{55}-16^{10} **Пидюра М.О.** Філогенетичний аналіз основних родин білків, асоційованих з мікротрубочками, що відповідають за специфічні риси організації мікротрубочок рослин / *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України*

16^{10} – 16^{40} – кофе-брейк

16^{10} – 16^{40} – постерная сессия

16^{40} – 18^{20} – Заседание секции «Генетическая инженерия и биотехнология растений»

16^{40}-17^{00} **Танасиенко И.В.** Генетическая трансформация ячменя геном лактоферина человека / *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины*

17^{00}-17^{15} **Кваско О.Ю.** Вивчення вірусостійкості трансгенних рослин цикорію *Cichorium intybus L.* / *Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України*

17^{15}-17^{30} **Ширина А.О.** Каллусные культуры *Fatshedera lizei* – продуценты важных биологически активных веществ / *Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского*

17^{30}-17^{45} **Ожерєдов С.П.** Антимітотична та гербіцидна активність нових похідних 2,4- та 2,6-динітроанілінів / *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України*

17^{45}-18^{00} **Чорнобров О.Ю.** Особливості адаптації рослин-регенерантів верби прутовидної (*Salix viminalis* L.) до умов *in vivo* / *Національний університет біоресурсів і природокористування України*

18^{00}-18^{20} **к.б.н. Пирко Н.Н.** Молекулярно-генетический анализ возможности переноса генов от генетически модифицированного рапса к диким родственникам из семейства *Brassicaceae* / *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины*

19^{00} – 22^{00} – дружественный ужин

ПЯТНИЦА, 7 ОКТЯБРЯ 2011

09^{30}–10^{30} – регистрация участников в холле главного корпуса Белоцерковского национального аграрного университета

10^{30}–12^{00} – Заседание секции «Растительные ресурсы для биотоплива»

10^{30}-10^{45} **Баер Г.Я.** Сомаклональная вариабельность в культуре *in vitro,* как источник селекционного материала пальчастого проса *Eleusine coracana* (L.) / *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины*

10^{45}-11^{00} **Бойчук Ю.Н**. Введение в культуру *in vitro* и разработка метода генетической трансформации рыжика посевного (*Camelina sativa*) / *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины*

11^{00}-11^{15} **Жаворонкова Т.Ю.** Енергетичні рослини для виробництва твердого біопалива в умовах степу України / *Донецький ботанічний сад НАН України*

11^{15}-11^{30} **Володько А.И.** Сироп из сока сахарного сорго как сырье для производства биоэтанола в Украине / *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины*

11^{30}-11^{50} **к.б.н. Корховий В.І.** Біодизель з мікроводоростей: досягнення та перспективи / *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України*

12^{00} – 13^{00} – обед

13^{00}–13^{15} – Заседание секции «Пищевая и промышленная биотехнология»

13^{00}-13^{15} **к.б.н. Круподьорова Т.А.** Базидіальні гриби − основа для створення функціональних продуктів / *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України*

13^{15}-13^{30} **Тігунова О.О.** Підвищення біосинтетичної здатності продуценту треоніну / *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України*

13^{30}-13^{45} **Андріяш Г.С.** Промислові продуценти лізину – ауксотрофні мутанти / *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України*

13^{45}-14^{00} **Волошко Т.Є.** Оптимізація живильного середовища для культивування штаму 167 *Agrocybe aegerita* − продуцента пероксидази / *Донецький національний університет*

14^{00}-14^{15} **Чайка О.В.** Індукція перекисного окиснення ліпідів штаму 167 *Agrocybe aegerita* (brig.) Fayod / *Донецький національний університет*

14^{15}-14^{30} **Забейда О.Ф.** Функціональні продукти молочного типу на основі сої / *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України*

14^{30}-14^{45} **Іванова Т.С.** Культивування лікарських грибів на субстраті з хлібної крихти в якості основи для створення функціональних продуктів / *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України*

14^{45}-15^{15} **Пленарный доклад академика НАН Украины Блюма Я.Б**. Сучасний статус сільськогосподарської біотехнології в Україні та супутні проблеми її розвитку / *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України*

15^{15}-16^{00} Закрытие конференции

Микроскоп Primo Vert

Рекомендуется для скрининга клеток, клеточных культур и линий в генетических лабораториях, лабораториях стволовых клеток, онкологии, цитологии.

Удобный. Эргономичный. Доступный по цене.

Компания Carl Zeiss представляет свою новую разработку для исследования клеточных культур – инвертированный микроскоп и монитор Primo Vert. Инновационная конструкция микроскопа **- монитор Primo Vert вместо окуляров,** дает возможность наблюдать и обсуждать полученные результаты одновременно нескольким пользователям. Монитор эргономично вписан в конструкцию микроскопа. Наклон монитора регулируется в пределах от 45 °до 80 °, что обеспечивает качественное изображение при любом уровне освещения. Кроме того, полученные изображение легко могут быть перенесены на карту памяти SD без подключения компьютера. Возможно дистанционное управление камерой при установке микроскопа в ламинарном боксе.

Основные характеристики:

- Микроскоп оснащен превосходной оптикой для получения контрастного качественного изображения. Объективы 4x, 10x, 20x, 40x. Индикаторы на всех объективах для быстрого определения увеличения. Универсальная фазовая вставка Ph1 - одна для всех объективов.

- Модульное освещение галогенными лампами либо светодиодами с длительным сроком службы. Автоматическое отключение освещения через 15 минут после завершения работы.

- Увеличенное рабочее расстояние: предусмотрена возможность снять конденсор, например, для размещения роллерных инкубаторов, микроманипуляторов.

Вся оптика микроскопа Primo Vert соответствует нормам и стандартам CE, UL, CSA, IvD, DIN EN 61010-1 (IEC 61010-1) ISO 9001. Оптика в микроскопе обработана антигрибковым средством. На все элементы управления микроскопом нанесены специальные гипоаллергенные материалы. Все версии микроскопов Primo Vert можно установить в вытяжных шкафах и напорных ящиках.

Основное преимущество микроскопа Primo Vert для покупателя – превосходное соотношение цены и технических характеристик.

Контактная информация:

ООО «ОПТЭК» - официальный представитель Carl Zeiss в Украине

Украина, 04070, г.Киев,
ул. Волошская/Ильинская, 6/14
Тел: +380 (044) 581-29-00
Факс:+380 (044) 581-29-02
e-mail: office-kiev@optecgroup.com
www.optec.zeiss.ru

Скануючи електронні мікроскопи серії EVO® MA Carl Zeiss

EVO® MA

Нові можливості аналізу матеріалів

ZEISS

We make it visible.

EVO® MA 10

- Невелика камера з великими можливостями керування положенням зразка
- Передбачена можливість підключення додаткових аналітичних опцій

EVO® MA 15

- Зручна камера середнього розміру для повсякденної роботи
- Обладнаний портом для підключення хвильового спектрометру

EVO® MA 25

- Дуже велика камера для дослідження великих та важких інженерних зразків

На правах реклами

Можлива модернізація скануючого електронного мікроскопу серії EVO® MA від системи з високим вакуумом до системи EVO® LS з низьким та наднизьким вакуумом

Зверніться за більш детальною інформацією в в ТОВ "ОПТЕК"

Україна, м.Київ, 04070
Іллінська, 14/6
тел. +38 044 581 29 00
факс +38 044 581 29 02
e-mail: office@optecgroup.com
www.optecgroup.com

Інтернет-магазин
http://shop.zeiss.ru

ОПТЭК
Объединяя решения

ТОВ «Хіммед.ua»

04136, м. Київ, вул. Північно-Сирецька, 3
Тел.:(044) 205-34-90, 205-34-80, 200-95-93
факс: (044) 205-34-13
E-mail: chimmed@chimmed.com.ua

www.chimmed.com.ua

Компанія "ХІММЕД.UA" заснована в 2002р. і на сьогоднішній день пропонує весь сучасний спектр вітчизняних та імпортних реактивів та хімікатів.
Ми поставляємо товар за каталогами Merck, SAF, Acros, Applichem, Becton Dicknson, Roche, Oxoid та інші, а також сировину таких виробників, як: SCORA, Oleon, Magnesia та інші.

Аналітичне лабораторне обладнання постачають такі фірми, як: VWR, Roth, Millipore та інші. Існуюча система логістики дозволяє доставляти товар у будь-якій кількості за мінімальний строк (від 7 днів).

Company "CHIMMED.UA" founded in 2002 and all modern spectrum of domestic and imported reagents and chemicals offers for today.
We supply with a commodity after the catalogues of Merck, SAF, Acros, Applichem, Becton Dicknson, Roche, Oxoid et al, and also raw material of such producers, as: SCORA, Oleon, Magnesia et al.

Such firms supply with an analytical laboratory equipment, as: VWR, Roth, Millipore et al. The existent system of logistic allows to deliver a commodity in any amount for a minimum term (from 7 days).

1. Поставка обладнання та витратних матеріалів які застосовуються в царинах молекулярної біології, генної інженерії та кріобіології.

Ми не лише постачаємо обладнання напряму від виробника, ми забезпечуємо повний комплекс послуг, які можуть знадобитися нашим клієнтам:

Допомагаємо визначитись з оптимальною моделлю приладу

Допомагаємо освоїти нові дослідницькі методи

Вводимо прилади в експлуатацію

Забезпечуємо гарантійне та післягарантійне обслуговування техніки

Допомагаємо вирішувати методологічні проблеми

2. Проектування, будівництво, введення в експлуатацію та підтримка лабораторій.

В партнерстві з найкращими проектними та будівельними організаціями України ми можемо як відремонтувати Вашу стару лабораторію, так і звести найсучасніший дослідницький комплекс.

3. Постачання широкого асортименту реагентів.

Великий вибір, точні дати поставок, прогнозована цінова політика, наявність багатьох реагентів на складі в Києві.

ТОВ «Біолабтех ЛТД» є дистриб'ютором таких відомих компаній:

ТОВ «Біолабтех ЛТД» постачає високоякісне обладнання для швидкої ПЛР

ТОВ «Біолабтех ЛТД»
вул. Богомольця 4, оф.228, м. Київ, 01024.
Тел. (044) 492 8188, 492 8189.
Факс (044) 494 2109
e-mail: info@biolabtech.biz,
сайт: www.biolabtech.biz

Институт пищевой биотехнологии и геномики
Национальной академии наук Украины

ПЕРВАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ

(С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ)

БИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И БИОТЕХНОЛОГИЯ

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

5-7 ОКТЯБРЯ 2011 ГОДА

г. Белая Церковь, Украина

СОДЕРЖАНИЕ

Клеточная биология растений

СТРУКТУРА ИНТЕРФАЗНЫХ ЯДЕР И ТОПОЛОГИЯ РЕПЛИЦИРУЮЩЕГОСЯ ХРОМАТИНА У РАСТЕНИЙ
Шеваль Е.В. *НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия* **25**

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РОЛИ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ МИКРОТРУБОЧЕК В РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКЕ
Шеремет Я.А., Емец А.И., Блюм Я.Б. *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина* **26**

РОЛЬ МИКРОТРУБОЧЕК В ОПОСРЕДОВАНИИ ДЕЙСТВИЯ ОКСИДА АЗОТА НА РАСТИТЕЛЬНУЮ КЛЕТКУ
Красиленко Ю.А., Литвин Д.И., Шеремет Я.А., Емец А.И, Блюм Я.Б. *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина* **27**

СТАН ПРОДИХІВ У РОСЛИН *ROSA CANINA* L. ЗА РІЗНИХ УМОВ ЗРОСТАННЯ
Росіцька Н.В. *Національний ботанічний сад імені. М.М. Гришка НАН України, м. Київ, Україна* **28**

ВЛИЯНИЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА ПРОДУКЦИЮ ВТОРИЧНЫХ МЕССЕНДЖЕРОВ ЛИПИДНОЙ ПРИРОДЫ
Деревянчук М.В., Кретинин С.В., Литвиновская Р.П., Хрипач В.А., Кравец В.С. *Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, г. Киев, Украина; Институт биоорганической химии НАН Белоруси, г. Минск, Бєларусь* **29**

ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНИНОВ НА АКТИВНОСТЬ ФОСФОЛИПАЗЫ D *IN VIVO* И *IN VITRO*
Колесников Я.С. *Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, г. Киев, Украина* **30**

ВЛИЯНИЕ ГЕРБИМИЦИНА *A* И ОРТОВАНАДАТА НАТРИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ КОРНЕЙ *ARABIDOPSIS THALIANA*
Шеремет Я.А., Оленева В.Д., Емец А.И. *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина; [2]Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка, ННЦ "Институт Биологии", г. Киев, Украина* **31**

ВОВЛЕЧЕНИЕ КАЗЕИНКИНАЗЫ 1 В РАЗВИТИЕ КОРНЕВЫХ ВОЛОСКОВ *ARABIDOPSIS THALIANA* ПОСРЕДСТВОМ РЕГУЛИРОВАНИЯ ОРГАНИЗАЦИИ МИКРОТРУБОЧЕК
Шеремет Я.А., Емец А.И., Кононенко Я., Блюм Я.Б. *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина; Киевский национальный университет им. Тараса Шевченка, ННЦ "Институт Биологии", г. Киев, Украина* **32**

РЕГУЛЯТОРНА РОЛЬ ЦИТОКІНІНУ У РОСЛИН ЯРОЇ ПШЕНИЦІ В ПРИРОДНИХ УМОВАХ ВИРОЩУВАННЯ
Жук В.В., Мусієнко М. М. *ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, м. Київ, Україна* **33**

МИКРОНУКЛЕАЦИЯ КЛЕТОК ПАЛЬЧАТОГО ПРОСА *ELEUSINE CORACANA* АНТИМИТОТИЧЕСКИМИ АГЕНТАМИ
Баер Г.Я., Емец А. И. *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина* **34**

ЯДЕРЦЕВА АКТИВНІСТЬ ЯК МОЖЛИВІСТЬ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ РОСТУ ПОТОМСТВ ПЛЮСОВИХ ДЕРЕВ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ
Криницький Г.Т., Войтюк В.П., Андреєва В.В. *Національний лісотехнічний університет України, Волинський національного університету імені Лесі Українки, м. Луцьк, Україна* **35**

Стресс и регуляция развития растений

РОЛЬ ВАКУОЛЯРНЫХ ИОННЫХ ТРАНСПОРТЕРОВ И КАНАЛОВ РЕГУЛЯЦИИ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ
Исаенков С.В. *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина* **36**

УЧАСТИЕ 1 L-MIO-ІНОЗОТОЛ 1-ФОСФАТСИНТАЗЫ В NO-ЗАВИСИМОМ ОПОСРЕДОВАНИИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА, ИНДУЦИРОВАННОГО УЛЬТРАФИОЛЕТОМ В
Литвин Д.И., Портниченко С.В., Емец А.И., Бергуню К., Блюм Я.Б. *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины г. Киев, Украина; Институт биологии растений, г.Орсе, Франция* **37**

АНАЛИЗ СТЕПЕНИ ЖАРО- И ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ИЗОГЕННЫХ ПО ГЕНАМ КОНТРОЛЯ ТЕМПОВ РАЗВИТИЯ ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ
Головина И.В., Данилюк И.А. *Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, г. Харков, Украина* **38**

ОЦІНКА ВМІСТУ АНТОЦІАНІВ У РОСЛИН РІПАКУ ЗА ДІЇ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ТА РЕГУЛЯТОРА РОСТУ ТРЕПТОЛЕМУ
Бакун В., Пацула О., Терек О. *Львівський національний університет імені Івана Франка, кафедра фізіології та екології рослин, м. Львів, Україна* **39**

ФОТОПЕРИОДИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ТЕМПОВ РАЗВИТИЯ И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ МЕТАБОЛИТОВ У ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ
Хань Бин *Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, г. Харьков, Украина* **40**

МИКРОТРУБОЧКИ КАК КОМПОНЕНТЫ СИГНАЛЬНЫХ КАСКАДОВ, ОПОСРЕДОВАННЫХ ОКСИДОМ АЗОТА, ПРИ ОБЛУЧЕНИИ РАСТЕНИЙ УФ-В
Красиленко Ю.А., Шеремет Я.А., Емец А.И, Блюм Я.Б. *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина* **41**

ЗАЛУЧЕННЯ ФОСФАТИДИЛХОЛІН-ГІДРОЛІЗУЮЧИХ ФОСФОЛІПАЗ С ДО РЕАКЦІЙ РОСЛИН НА ДІЮ ЧИННИКІВ БІОТИЧНОГО СТРЕСУ
Покотило І.В., Кравець В.С., Мартінец Я. *Інститут біоорганічної хімії і нафтохімії НАН України, м. Київ, Україна; Інститут експериментальної ботаніки АН Чеської Республіки, м. Прага, Чеська Республіка* **42**

АКТИВАЦІЯ ЛІПІДНОЇ СИГНАЛІЗАЦІЇ ТА АНТИОКСИДАНТНИХ СИСТЕМ КЛІТИН РОСЛИН ЗА ДІЇ МЕДІАТОРІВ БІОТИЧНОГО СТРЕСУ
Яковенко О.М., Калачова Т.А., Кретинін С.В., Кравець В.С. *Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, м. Київ, Україна* **43**

РЕГУЛЯТОРНА ДІЯ NO У РОСЛИН ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ В УМОВАХ ПРИРОДНОЇ ПОСУХИ
Жук І.В. *ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, м. Київ, Україна* **44**

ВЕГЕТАТИВНЕ ПОНОВЛЕННЯ ІНТРОДУКОВАНИХ ВИДІВ РОДУ *RHUS* L. В УМОВАХ НАЦІОНАЛЬНОГО ДЕНДРОЛОГІЧНОГО ПАРКУ «СОФІЇВКА» НАН УКРАЇНИ
Ковальчук Т.Д. *Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України, м. Умань, Україна* **45**

НАКОПИЧЕННЯ ТА РОЗПОДІЛ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ В ОРГАНАХ ВИНОГРАДНОЇ РОСЛИНИ
Кузьменко Є.І. *Національний науковий центр «Інститут виноградарства і виноробства імені В.Є. Таїрова», смт. Таїрове, Україна* **46**

ПОСТТРАВМАТИЧНІ РЕГЕНЕРАЦІЙНІ ПРОЦЕСИ РОДУ *PYRUS* L.
Кучер Н.М., Опалко О.А. *Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України, м. Умань, Україна* **47**

ВЛИЯНИЕ ФОТОПЕРИОДА НА СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ УГЛЕВОДОВ СИМБИОТИЧЕСКОГО АППАРАТА ИЗОГЕННЫХ ПО *E*-ГЕНАМ ЛИНИЙ СОИ
Попова Ю.В. *Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, м. Харьков, Украина* **48**

ДИФЕРЕНЦІЙНА ЕКСПРЕСІЯ ДЕФЕНЗИНУ PsDef2 В ОРГАНАХ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ
Юсипович Ю.М, Ковальова В.А., Гут Р.Т. *Національний лісотехнічний університет України, м. Львів, Україна* **49**

ФОРМИРОВАНИЕ И ПРОДУКТИВНОСТЬ АССИМИЛЯЦИОННОГО АППАРАТА ИЗОГЕННЫХ ПО *E*-ГЕНАМ ЛИНИЙ СОИ В ПРОЦЕССЕ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОЙ ИНДУКЦИИ
Юхно Ю.Ю., Малышко А.С. *Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, г. Харьков, Украина* **50**

Молекулярная генетика растений

ПОЛІМОРФІЗМ УКРАЇНСЬКИХ СОРТІВ ПШЕНИЦІ ЗА 11-М ЕКЗОНОМ ЛОКУСУ *LR34*
Карелов А.В., Пірко Я.В., Козуб Н.А., Созінов І.О., Блюм Я.Б., Созінов А.А. *Інститут захисту рослин Національної академії аграрних наук України, м. Київ, Україна; Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ; Україна* **51**

УСПАДКУВАННЯ МОРФОЛОГІЧНИХ ОЗНАК ЛУСКИ У ІНТРОГРЕСИВНИХ ЛІНІЙ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ
Єфіменко Т., Антонюк М., Терновська Т. *Національний університет «Києво-Могилянська академія», м. Київ, Україна* **52**

ЦИТОГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТІЙКИХ ДО БОРОШНИСТОЇ РОСИ ЛІНІЙ ПШЕНИЦІ З ХРОМОСОМОЮ 4S^{sh} ТА БЕЗ НЕЇ І ГІБРИДІВ ЗА ЇХНЬОЮ УЧАСТЮ
Маньковська О.С., Терновська Т. К., Антонюк М.З. *Національний університет «Києво-Могилянська академія», м. Київ, Україна* **53**

МІНЛИВІСТЬ ЗА ОЗНАКОЮ НАЯВНІСТЬ ВОСКОВОЇ ОСУТИ У ГЕНЕРАЦІЯХ ШТУЧНИХ АМФІДИПЛОЇДІВ ПШЕНИЦІ
Шпильчин В.В., Терновська Т.К. *Національний університет «Києво-Могилянська академія», м. Київ, Україна* **54**

ВНУТРІШНЬОЛІНІЙНА МІНЛИВІСТЬ ГЛІАДИНОВИХ СПЕКТРІВ В ІНТРОГРЕСИВНИХ ЛІНІЯХ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ЯК НАСЛІДОК НЕСТАБІЛЬНОСТІ ГІБРИДНОГО ГЕНОМА
Михайлик С.Ю., Антонюк М.З., Терновська Т.К. *Національний університет «Києво-Могилянська академія», м. Київ, Україна* **55**

ДЕТЕКЦІЯ ГЕНІВ СТІЙКОСТІ (*Lr9*, *Lr19*, *Lr24*) ДО БУРОЇ ІРЖІ В СОРТАХ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ УКРАЇНИ
Галаєв О.В., Сиволап Ю.М. *Південний біотехнологічний центр в рослинництві, м. Одеса, Україна* **56**

ОЦІНКА МІНЛИВОСТІ ЗРАЗКІВ КВАСОЛІ ЗВИЧАЙНОЇ (*PHASEOLUS VULGARIS*) ЗА ДОПОМОГОЮ RAPD-МАРКЕРІВ
Головань Л.В., Пузік В.К. *Харківський національний аграрний університет імені В.В. Докучаєва, м. Харків, Україна* **57**

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ISSR-МЕТОДА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА СОРТОВ *TRITICUM AESTIVUM* L.
Бобошина И.В., Боронникова С.В. *ГОУ ВПО «Пермский государственный университет», г. Пермь, Россия* **58**

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МАРКЕРИ В АНАЛІЗІ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ТА ФІЛОГЕНЕТИЧНИХ ЗВ'ЯЗКІВ ДЛЯ ЗБЕРЕЖЕННЯ РІДКІСНИХ ВИДІВ РОДУ *VINCETOXICUM N. M. WOLF*
Демкович А.Є., Зубцова Т.В., Приваліхін С.М., Назаренко Г.С., Трубнікова Н.М. *Донецький ботанічний сад НАН України, м. Донецьк, Україна; Інститут невідкладної і відновлювальної хірургії імені В.К. Гусака АМН України, м. Донецьк, Україна* **59**

ИДЕНТИФИКАЦИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СУБЪЕДИНИЦ ГЛЮТЕНИНА У ДИГАПЛОИДНЫХ ЛИНИЙ ГЕКСАПЛОИДНОГО ТРИТИКАЛЕ ЗайцеваО.И. *ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь* **60**

ІДЕНТИФІКАЦІЯ СОРТІВ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ЗА ЕЛЕКТРОФОРЕТИЧНИМИ СПЕКТРАМИ ГЛІАДИНУ
Коваленко М.С., Мелешко А.О. *Київський національний університет імені Т. Шевченка, м. Київ, Україна* **61**

ИНТРОГРЕССИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ЛОКУСОВ ДИКОГО ДИПЛОИДНОГО ВИДА КАРТОФЕЛЯ *SOLANUM BULBOCASTANUM* В МЕЖВИДОВЫЕ ГИБРИДЫ
Полюхович Ю.В., Воронкова Е.В., Ермишин А.П. *ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», г. Минск, Бєларусь* **62**

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ RAPD-АНАЛИЗА ДЛЯ ОТБОРА ПЕРСПЕКТИВНЫХ ОБРАЗЦОВ СРЕДИ АНДРОГЕНЕТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ ИЗ НЕРЕДУЦИРОВАННЫХ ГАМЕТ
Жарич В.М. *ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» г. Минск, Беларусь* **63**

ВЫЯВЛЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО (*HERACLEUM SOSNOWSKYI*) С ПОМОЩЬЮ RAPD, ISSR, REMAP
Соловьева А.И., Долгих Ю.И., Осипова Е.С., Степанова А.Ю., Яворская О.Г. *Институт физиологии растений имени К.А. Тимирязева РАН, г. Москва, Россия* **64**

ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ *PLEUROTUS OSTREATUS* (JACQ.: FR.) KUMMER. ЗА ДОПОМОГОЮ RAPD МЕТОДУ
Пірко Н.М., Новожилов Д.О., Краснопьорова О.Є., Дорошкевич Н.В., Пірко Я.В. *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, Україна; Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, ННЦ "Інститут Біології", м. Київ, Україна; Донецький національний університет , м. Донецьк, Україна* **65**

ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ КАЛЛЮСОГЕНЕЗА И МОРФОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* У ИЗОГЕННЫХ ПО ГЕНАМ КОНТРОЛЯ ТЕМПОВ РАЗВИТИЯ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ *TRITICUM AESTIVUM*
Петренко В.А. *Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, г. Харьков, Украина* **66**

Геномика, протеомика и биоинформатика

ВИКОРИСТАННЯ ОЧИЩЕНИХ ВІД РАДІОАКТИВНОГО ЗАБРУДНЕННЯ ЗЕМЕЛЬ ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ ЗОНИ – ДИНАМІКА ПРОТЕОМУ НАСІННЯ ЛЬОНУ ПРОТЯГОМ РОЗВИТКУ
Данченко М., Клубіцова К., Рашидов Н., Сакада В., Хайдух М. *Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАНУ, м. Київ, Україна; Інститут генетики та біотехнології рослин САН, м. Київ, Україна* **67**

ЗАСТОСУВАННЯ CUDA-ОБЧИСЛЕНЬ ДЛЯ ПРИСКОРЕННЯ ПРОЦЕСУ ЛІГАНД-БІЛКОВОГО ДОКІНГУ
Демчук О.М., Карпов П.А., Блюм Я.Б. *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, Україна* **68**

БІОІНФОРМАЦІЙНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ БІЛКІВ, АСОЦІЙОВАНИХ З МІКРОТРУБОЧКАМИ ВИЩИХ РОСЛИН ТА АНАЛІЗ ЇХ ПОДІБНОСТІ
Пидюра М.О., Карпов П.А. *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, Україна* **69**

ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ КІНАЗИ РИБОСОМНОГО БІЛКУ S6 ТА НОВОГО БІЛКА-ПАРТНЕРА - TDRD7 З ВИКОРИСТАННЯМ БІОІНФОРМАТИЧНОГО ТА МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНОГО ПІДХОДІВ
Скороход О., Немазаний І., Панасюк Г., Філоненко В., Гут І. *Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, м. Київ, Україна; Університет Коледжу Лондон, відділ структурної та молекулярної біології, м. Лондон, Великобританія* **70**

РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО БИОИНФОРМАЦИОННОГО АНАЛИЗА СЕРИН-ТРЕОНИН СПЕЦИФИЧНЫХ ПРОТЕИНФОСФАТАЗ ИЗ ЖИВОТНЫХ И ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ
Самофалова Д.А., Карпов П.А., Блюм Я.Б. *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина* **71**

ПОИСК И ПРЕДСКАЗАНИЕ ТРЕХМЕРНОЙ СТРУКТУРЫ ВЕРОЯТНЫХ ПАРТНЕРОВ РАСТИТЕЛЬНЫХ ГОМОЛОГОВ ПРОТЕИНКИНАЗЫ *DYRK1A*
Кораблев М.Д., Карпов П.А., Раевский А.В., Блюм Я.Б. *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина* **73**

Генетическая инженерия и биотехнология растений

ГЕНЕТИЧНА ТРАНСФОРМАЦІЯ ЯЧМЕНЮ ГЕНОМ ЛАКТОФЕРИНУ ЛЮДИНИ
Танасієнко І.В., Ісаєнков С.В., Галкіна В.С., Ємець А.І. *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, Україна* **74**

ВИВЧЕННЯ ВІРУСОСТІЙКОСТІ ТРАНСГЕННИХ РОСЛИН ЦИКОРІЮ *CICHORIUM INTYBUS* L.
Потрохов А.О., Кваско О.Ю., Матвєєва Н.А. *Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, м. Київ, Україна* **75**

КАЛЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ FATSHEDERA LIZEI – ПРОДУЦЕНТЫ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
Ширина А.О., Чмелева С.И. *Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, г. Симферополь, Украина* **76**

АНТИМІТОТИЧНА ТА ГЕРБІЦИДНА АКТИВНІСТЬ НОВИХ ПОХІДНИХ 2,4- ТА 2,6-ДИНІТРОАНІЛІНІВ
Ожерєдов С.П., Ємець А.І. *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, Україна* **77**

СИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК ЗОЛОТА ТА СРІБЛА ЗА ДОПОМОГОЮ ФІТОЕКСТРАКТІВ
Пірко Я.В., Даниленко І., Литвин О., Смертенко П.С., Блюм Я.Б. *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, Україна; Інститут фізики напівпровідників імені В.Є. Лашкарьова НАН України, м. Київ, Україна* **78**

ОСОБЛИВОСТІ АДАПТАЦІЇ РОСЛИН-РЕГЕНЕРАНТІВ ВЕРБИ ПРУТОВИДНОЇ *(SALIX VIMINALIS* L.*)* ДО УМОВ *IN VIVO*
Чорнобров О. Ю., Клюваденко А. А., Мельничук М.Д. *Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна* **79**

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ МОЖЛИВОСТІ ПЕРЕНОСУ ГЕНІВ ВІД ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОГО РІПАКУ ДО ДИКИХ РОДИЧІВ З РОДИНИ *BRASSICACEAE*
Пірко Н.М., Пірко Я.В., Ожерєдов С.П., Тимошенко А.В., Штойна Ю.Я., Осипенкова О.Л., Ємець А.І., Блюм Я.Б. *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м.Київ, Україна* **81**

РАЗРАБОТКА ПРОТОКОЛА РЕГЕНЕРАЦИИ *IN VITRO* РАСТЕНИЙ *SPINACIA OLERACEA* КАК ПОДГОТОВКА К *AGROBACTERIUM*-ОПОСЕРЕДОВАННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СЕЛЕКТИВНОГО ГЕНА УСТОЙЧИВОСТИ К ФОСФИНОТРИЦИНУ
Баглай А.Ю., Синдаровская Я.Р., Шелудько Ю.В. *Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, г. Киев, Украина* **82**

ФУНКЦІОНАЛІЗАЦІЯ ВУГЛЕЦЕВИХ НАНОТРУБОК ЗА ДОПОМОГОЮ БІОЛОГІЧНИХ МОЛЕКУЛ З МЕТОЮ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ ДЛЯ ГЕНЕТИЧНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ РОСЛИН
Бурлака О.М., Пірко Я.В., Ємець А.І., Блюм Я.Б. *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, Україна* **83**

ПОВЫШЕНИЕ ЕФЕКТИВНОСТИ ТРАНСФОРМАЦИИ *CRY*-ГЕНАМИ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ УКРАИНСКОЙ СЕЛЕКЦИИ
Жук В.П., Емец А.И. *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, Україна* **84**

РЕГУЛЮВАННЯ МОРФОГЕННИХ ПРОЦЕСІВ У ЕКСПЛАНТІВ *AMELANCHIER OVALIS* MEDIK. В КУЛЬТУРІ *IN VITRO*
Андрієнко О.Д., Колдар Л.А., Небиков М.В. *Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України, м. Умань, Україна* **85**

РОСТОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР *CLEMATIS VITALBA* НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ, СОДЕРЖАЩИХ СЕЛЕН
Заяц А.Ю., Сидякин А. И., Теплицкая Л.М. *Таврический национальный университет имени Вернадского, г. Симферополь, Україна* **86**

СТЕРИЛІЗАЦІЯ РОСЛИННОГО МАТЕРІАЛУ ЯК ЕТАП РОЗМНОЖЕННЯ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *CORYLUS* L. В КУЛЬТУРІ *IN VITRO*,
Сергієнко Н. В. *Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України, м. Умань, Україна* **87**

ОСОБЛИВОСТІ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ *SORBUS DOMESTICA* L.
Цимбал О.М. *Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України, м. Умань, Україна* **88**

РАЗРАБОТКА ПРОТОКОЛА АГРОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ (*Beta vulgaris* L.) СИНТЕТИЧЕСКИМИ *Cry*-ГЕНАМИ
Сивура В.В., Литвин Д.И., Курило В., Емец А.И. *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина* **89**

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ПАЛЬЧАТОГО ПРОСА *E. CORACANA* (L.)
Баер Г.Я., Емец А.И., Блюм Я.Б. *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина* **90**

Пищевая и промышленная биотехнология

БАЗИДІАЛЬНІ ГРИБИ − ОСНОВА ДЛЯ СТВОРЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПРОДУКТІВ
Круподьорова Т.А. *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, Україна* **91**

ПРОМИСЛОВІ ПРОДУЦЕНТИ ЛІЗИНУ – АУКСОТРОФНІ МУТАНТИ
Андріяш Г.С., Бейко Н.Є., Заболотна Г.М., Тігунова О.О., Ткаченко А.Ф., Шульга С.М. *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, Україна* **92**

ОПТИМІЗАЦІЯ ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ ШТАМУ 167 *AGROCYBE AEGERITA* ПРОДУЦЕНТА ПЕРОКСИДАЗИ
Волошко Т.Є., Федотов О.В. *Донецький національний університет, м. Донецьк, Україна* **93**

ІНДУКЦІЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ШТАМУ 167 *AGROCYBE AEGERITA* (BRIG.) FAYOD.
Чайка О.В., Федотов О.В. *Донецький національний університет, м. Донецьк, Україна* **94**

ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНІ РЕЧОВИНИ МІКРОБНОГО ПОХОДЖЕННЯ – НОВІ АНТИФІТОПАТОГЕННІ ПРЕПАРАТИ
Конон А.Д., Софілканич А.П., Скочко А.Б., Монастерецька І.О., Пирог Т.П. *Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна* **95**

ВЫДЕЛЕНИЕ ЦЕЛЛЮЛОЗОРАЗРУШАЮЩИХ БАКТЕРИЙ ИЗ СУБСТРАТОВ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
Соколовская Е.А., Отурина И. П., Ржевская В.С. *Таврический национальный университет имени. В.И. Вернадского, г. Симферополь, АР Крым* **96**

ПІДВИЩЕННЯ БІОСИНТЕТИЧНОЇ ЗДАТНОСТІ ПРОДУЦЕНТУ ТРЕОНІНУ
Тігунова О.О., Андріяш Г.С., Бейко Н.Є., Ткаченко А.Ф., Хоменко А.І., Шульга С.М. *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, Україна* **97**

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПРОДУКТИ МОЛОЧНОГО ТИПУ НА ОСНОВІ СОЇ
Забейда О.Ф., Бурушкіна Т.М., Ратушняк В.В., Бережницька Т.Г. *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, Україна* **98**

КУЛЬТИВУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ГРИБІВ НА СУБСТРАТІ З ХЛІБНОЇ КРИХТИ В ЯКОСТІ ОСНОВИ ДЛЯ СТВОРЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПРОДУКТІВ
Іванова Т.С., Антоненко Л.А., Мегалінська А.П. *Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, Україна; Національний технічний університет України „КПІ", м. Київ, Україна; Національний педагогічний університет імені М.П. Драгоманова, м. Київ, Україна* **99**

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ИЗ ПЛОДОВ НЕКТАРИНА
Корнильев Г.В. *Никитский ботанический сад – Национальный научный центр, г. Никита, Украина* **100**

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД
Подзноева З.Л. *РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», г. Симферополь, Украина* **101**

ХЕМОТИПЫ ЛЬНА КУЛЬТУРНОГО (*LINUM USITATISSIMUM* L.) В ПРОИЗВОДСТВЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК
Вакула С.И., Анисимова Н.В., Феськова Е.В. *ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь; УО «Белорусский государственный технологический университет», г. Минск, Бєларусь* **102**

СУБСТРАТ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ ДЛЯ СИНБІОТИКІВ
Кривошалик М.О., Путієнко Р.В., Настояща Н.І., Лич І.В. *Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна; ДП «Центр імунобіологічних препаратів», м. Київ, Україна* **103**

АНТИБІОТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БІОМАСИ І КУЛЬТУРАЛЬНОЇ РІДИНИ БАЗИДІАЛЬНОГО ГРИБА *CORIOLUS VERSICOLOR* QUEL
Антоненко Л.О., Клечак І.Р. *Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут», м. Київ, Україна* **104**

Растительные ресурсы для биотоплива

БІОДИЗЕЛЬ З МІКРОВОДОРОСТЕЙ: ДОСЯГНЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ
Корховий В.І., Царенко П.М., Борисова О.В., Блюм Я.Б.
Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, Україна; Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України **105**

СИРОП ИЗ СОКА САХАРНОГО СОРГО КАК СЫРЬЕ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА БИОЭТАНОЛА В УКРАИНЕ
Володько А.И., Лантух Г.В., Цыганков С.П. *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина* **106**

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* И РАЗРАБОТКА МЕТОДА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ РЫЖИКА ПОСЕВНОГО (*CAMELINA SATIVA*)
Бойчук Ю.Н., Шиша Е.Н., Емец А.И., Исаенков С.В., Блюм Я.Б. *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина* **107**

ЕНЕРГЕТИЧНІ РОСЛИНИ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА ТВЕРДОГО БІОПАЛИВА В УМОВАХ СТЕПУ УКРАЇНИ
Жаворонкова Т.Ю. *Донецький ботанічний сад НАН України, м. Донецьк, Україна* **108**

БИОКОНВЕРСИЯ ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВА БИОДИЗЕЛЯ В ПРАКТИЧЕСКИ ЦЕННЫЕ ПРОДУКТЫ – ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА
Конон А.Д., Хомяк Д.И., Покора К.А., Гриценко Н.А., Пирог Т.П. *Национальный университет пищевых технологий, г. Киев, Украина* **109**

СТРУКТУРА ИНТЕРФАЗНЫХ ЯДЕР И ТОПОЛОГИЯ РЕПЛИЦИРУЮЩЕГОСЯ ХРОМАТИНА У РАСТЕНИЙ

Шеваль Е.В.

НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

Важной характеристикой структуры генома является последовательность репликации различных фракций хроматина, а также пространственная топология реплицирующегося хроматина. Для всех исследованных животных эти параметры практически одинаковы, что, по-видимому, связано со сходной структурной организацией интерфазных ядер. Однако для растений с разным размером генома показана различная организация интерфазных ядер. Для ядер с маленьким геномом характерно наличие в ядрах небольшого количества конденсированного хроматина, собранного в округлые блоки – хромоцентры. Ядра растений с большим геномом содержат значительное количество конденсированного хроматина, образующего толстые нитчатые структуры – хромонемы. Можно ожидать разной организации и топологии реплицирующегося хроматина в этих двух крайних системах. В работе исследована топология реплицирующегося хроматина с ядрах и хромосомах двух видов растений с маленьким (***Lycopersicon esculentum***) и большим (*Nigella damascena*) геномом. Для экспериментов был использован новый метод выявления реплицирующегося хроматина на полутонких срезах. Увеличение генома ведет к усложнению картины организации и топологии реплицирующегося хроматина, хотя это не сопровождается появлением каких-либо принципиально новых структур. Данные обсуждаются в свете основных актуальных теорий о механизмах эволюции генома растений.

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РОЛИ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ МИКРОТРУБОЧЕК В РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКЕ

Шеремет Я.А.*, Емец А.И., Блюм Я.Б.

Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, ул. Осиповского 2а, г.Киев, 04123, Украина; *e-mail: yarasheremet@gmail.com

Микротрубочки являются обязательным универсальным структурным элементом эукариотических клеток. Ранее нами было установлено, что растительный α- и β-тубулин, основной компонент микротрубочек, подвергается фосфорилированию как по остаткам серина/треонина (Blume et al., 1997), так и по остаткам тирозина (Blume et al., 2008). Поскольку микротрубочки являются ключевыми компонентами растительной клетки, которые вовлечены в регулирование ее деления, роста и дифференциации, на сегодняшний день актуальным вопросом остается исследование роли разных типов серин/треониновых протеинкиназ и тирозинкиназ, а также протеинфосфатаз в регуляции фосфорилирования белков микротрубочек и определение функциональных особенностей данной модификации в растительной клетке, а также идентификация специфических протеинкиназ, способных катализировать фосфорилирование тубулина у растений.

В работе исследовано влияние разных концентраций ингибиторов серин/треониновых протеинкиназ (циклин-зависимых протеинкиназ (оломоуцин), Ca^{2+}-кальмодулин-зависимых протеинкиназ (W7) и протеинкиназы С (стауроспорин, Н7) и протеинфосфатаз (окадаиновая кислота), а также тирозинкиназ (гербимицин А, генестеин, тирфостин AG18) и тирозинфосфатаз (ортованадат натрия) на прохождение митоза клетками синхронизированной суспензионной культурой табака BY-2, рост и морфологию главных корней *Arabidopsis thaliana* и организацию разных типов построений микротрубочек в их клетках.

Установлено, что изменение организации микротрубочек в клетках главных корней *A. thaliana* вследствие ингибирования серин/треониновых протеинкиназ связано с соответствующими нарушениями роста и морфологии корней. Показано, что процесс прохождения митоза, в частности профазы, является чувствительным к уровню фосфорилирования белков по остаткам серина и треонина. Выявлено, что ингибирование разных типов тирозинкиназ нарушает процессы дифференциации корней *A. thaliana*, а также влияет на прохождение митоза клетками синхронизированной суспензионной культуры BY-2. С помощью иммунофлуоресцентной микроскопии доказано наличие фосфорилирования белков микротрубочек по тирозину в растительной клетке. Кроме того, установлено функциональную взаимосвязь между фосфорилированием белков микротрубочек по остаткам тирозина и чувствительностью кортикальных микротрубочек к действию холода.

Полученные результаты позволяют утверждать, что в регуляцию структурно-функциональных свойств микротрубочек растительных клеток вовлечены несколько типов серин/треониновых протеинкиназ, в частности Ca^{2+}-зависимые (Ca^{2+}-кальмодулин-зависимые протеинкиназы и протеинкиназа С) и циклин-зависимые протеинкиназы, а также протеинкиназы, которые фосфорилируют белки по остаткам тирозина. При этом функциональное состояние микротрубочек определяется тесным взаимодействием этих протеинкиназ, а также соответствующих типов серин/треониновых и тирозиновых протеинфосфатаз.

Blume Y.B. Yemets A., Sulimenko V., Sulimenko T. Chan J, Lloyd C, Dráber P. Tyrosine phosphorylation of tubulin in plant cells // Planta. – 2008. – V. 229. – P. 143–150.

Blume Y.B., Smertenko A., Ostapets N., Viklicky V., Draber P. Post-translational modifications of plant tubulin // Cell. Biol. Int. – 1997. – V. 21. – P. 918–920.

РОЛЬ МИКРОТРУБОЧЕК В ОПОСРЕДОВАНИИ ДЕЙСТВИЯ ОКСИДА АЗОТА НА РАСТИТЕЛЬНУЮ КЛЕТКУ

Красиленко Ю.А.*, Литвин Д.И., Шеремет Я.А., Емец А.И, Блюм Я.Б.
Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, ул. Осиповского 2а, г.Киев, 04123, Украина; *e-mail: j_krasylenko@ukr.net

В клетках растений функционирует ряд вторичных посредников, среди которых Ca^{2+}, циклические нуклеотиды, активные формы кислорода и азота, в особенности, оксид азота (NO), являющийся интегральным мессенджером в сигнальных каскадах клеток большинства эукариотических организмов, в том числе, и растений. Эта свободнорадикальная молекула опосредует морфогенез растений на протяжении всех этапов их жизненного цикла, обеспечивает ответ на действие биотических и абиотических факторов, а, следовательно, и формирование устойчивости растений. Большинство указанных процессов требует участия одного из компонентов цитоскелета, микротрубочек (МТ), представляющих собой полые цилиндры из упорядоченных определённым образом гетеродимеров α- и β-тубулинов. Гетерогенность и функциональные особенности МТ определяются комбинациями изоформ α- и β-тубулинов, их посттрансляционными модификациями, а также согласованным действием ряда сигнальных молекул. Посттрансляционные модификации растительных α- и β-тубулинов подлежат глубокому изучению и установлению их функциональной роли. Известно, что динамическая нестабильность МТ обеспечивается, в частности, циклом тирозилирования/ детирозилирования α-тубулина, который может быть изменён вследствие включения модифицированных аналогов тирозина, например, 3-нитротирозина, образовывающегося в клетке под влиянием NO и его производных. В то же время, нитротирозилирование белков как одна из их посттрансляционных модификаций является прямым путём передачи NO-сигнала. Нами было показано, что рост и морфология главных корней *Arabidopsis thaliana* (GFP-MAP4), а также организация МТ в их клетках изменятся под влиянием модуляторов содержания NO (доноров NO нитропруссида натрия и S-нитрозоацетилпеницилламина, перехватчика NO 2-(4-карбоксифенил)-4,4,5,5-тетраметилимидазолин-1-оксил-3-оксида, ингибитора синтазы NO L-нитроаргининметилэстера) и свободного 3-нитротирозина. С использованием методов иммунопреципитации и Вестерн-блоттинга нами получены биохимические доказательства наличия нитротирозилированного α-тубулина в клетках суспензионной культуры *Nicotiana tabacum* BY-2 (GFP-MBD) при физиологических условиях, что указывает на потенциальное регуляторное значение этой модификации. Также при помощи иммунофлуоресцентной микроскопии в необработанных клетках BY-2 установленно локализацию 3-нитротирозина на препрофазных лентах и фрагмопластах, что даёт основание считать нитротирозилирование физиологический модификацией α-тубулина. Поскольку было продемонстрировано, что нитропруссид натрия не приводит к нарушениям организации МТ в интерфазных и митотических клетках BY-2 (GFP-MBD), однако вызывает дозозависимое уменьшение общего числа митотических построений МТ, полученные данные свидетельствуют о функциональной роли нитротирозилирования α-тубулина растений которая, скорее всего, связана с регуляцией динамических свойств МТ.

Блюм Я.Б., Литвин Д.И., Красиленко Ю.А, Шеремет Я.А., Емец А.И. Нитротирозилирование как посттрансляционная модификация растительного α-тубулина // Доповіді Національної академії наук України. – 2011. – № 7. – С. 161–166.
Yemets A.I., Krasylenko Y.A., Lytvyn D.I., Sheremet Y.A., Blume Y.B. Nitric oxide signalling *via* cytoskeleton in plants // Plant Science. – 2011. – Vol. 181, Issue 5. – P. 545–554.

СТАН ПРОДИХІВ У РОСЛИН *ROSA CANINA* L. ЗА РІЗНИХ УМОВ ЗРОСТАННЯ

Росіцька Н.В.
Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України

Посуха належить до найпоширеніших несприятливих абіотичних чинників. Основною адаптивною стратегією за цих умов є зменшення деструктивної дії надлишкової енергії, окислювального стресу та втрат води. Регуляція водного статусу рослин відбувається за сигналом, який надходить з кореня до пагона. Первинні детектори дефіциту води локалізовані на плазмалемі клітин зони розтягу кореня і індукують хімічний сигнал, який по судинах ксилеми транспортується до листків. Акцептори сигналу знаходяться в клітинах листкового мезофілу. Наслідком дії сигналу є зростання продихового опору за рахунок закривання щілин продихів, зменшення інтенсивності транспірації, затримка або повна зупинка ростових процесів (Жук, 2011).

Експериментальна робота виконувалась у відділі алелопатії Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України у 2008-2010 р.р. Об'єкти досліджень – одновікові рослини *Rosa canina* L., які зростають на колекційній ділянці з дотриманням необхідної агротехніки (контроль) та на ботаніко-географічній ділянці „Степи України" без будь-якого догляду (дослід). Водний режим листків аналізували за І.П. Григорюком та ін. (2003). Стан продихів досліджували за методикою В.О. Давидова (1991) на світловому мікроскопі Primo Star (Carl Zeiss, Jena, Німеччина), оснащеному цифровим фотоапаратом Cannon PowerShot A640.

За літературними даними відомо, що кількість продихів, які припадають на одиницю прощі листка може слугувати показником стійкості рослин за дії стресових чинників (Дзьоба та ін., 2007), а показником погіршення умов водозабезпечення є зростання кількості продихів на одиницю листкової поверхні та зменшення ступеня відкритості (Жалдак, 2002). У результаті проведених нами досліджень було встановлено, що кількість продихів на 1 мм^2 у рослин з дослідної ділянки зростає у 1,7 рази порівняно з контролем, а апертура – зменшується у 1,5 рази. При цьому водний дефіцит листків у рослин із ботаніко-географічної ділянки у 3,5 рази вищий порівняно з рослинами колекційної ділянки.

Отже, проведені нами дослідження засвідчили суттєві відмінності стану продихового апарату в залежності від умов водозабезпечення рослин.

Григорюк И.А., Ткачев В.И., Савинский С.В., Мусиенко Н.Н. Современные методы исследований и оценки засухо- и жароустойчивости растений. – К.: Наук. світ, 2003. – 139 с.
Давыдов В.А. Простой метод получения эпидермальных отпечатков с помощью органического стекла и клейкой ленты // Физиология растений. – 1991. – Т.38, № 3. – С. 605 – 610.
Дзьоба Ю., Северін Ю., Цвілинюк О., Джура Н., Терек О. Особливості водообміну Carex hirta за дії нафтового забруднення // Молодь та поступ біології: Збірник тез третьої міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів. – Львів, 2007. – С. 414 – 415.
Жалдак С. Анатомические особенности строения эпидермы листьев Suaeda confusa Lijin. в условиях разного увлажнения почвы // Актуальні проблеми флористики, систематики, екології та збереження фіторізноманіття. Матеріали конференції молодих учених – ботаніків України. – Львів, 2002. – С. 147 – 148.
Жук О.І. Адаптивні стратегії пшениці в умовах посухи // Ботаніка та мікологія: проблеми і перспективи на 2011 – 2020 р. – Київ: Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного, 2011. – С. 265 – 266.

ВЛИЯНИЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА ПРОДУКЦИЮ ВТОРИЧНЫХ МЕССЕНДЖЕРОВ ЛИПИДНОЙ ПРИРОДЫ

Деревянчук М.В.[1], Кретинин С.В.[1], Литвиновская Р.П.[2], Хрипач В.А.[2], Кравец В.С.[1]
[1]Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины,
02094, Киев, ул. Мурманска, 1; e-mail:derevyanchuk@bpci.kiev.ua
[2]Институт биоорганической химии НАН Белоруси,
220141, г. Минск, ул. Купревича, 5

Брассиностероиды (БС) – высокоактивные полигидроксильные стероидные фитогормоны, проявляющие широкий спектр физиологических и биохимических реакций − регуляция процессов роста и развития, обеспечение репродуктивной функции, адаптация к действию стрессового фактора.

По представлениям на данный момент считается, что рецептор сигнала БС состоит из двух киназ – BAK1 и BRI1, димеризация, которых инициирует запуск трансдукции сигнала в ядро. Трансгенные растения с мутациями в гене *BRI1* не способны воспринимать сигнал БС и акуммулируют значительные уровни эндогенных БС. С другой стороны трансгенные растения с мутациями в гене *BAK1* способны развивать фенотип растений дикого типа, но отличаются значительно ниже устойчивостью к действию стрессов. BRI1 киназа также способна димеризоваться с рецептором флагелина, что указывает на роль БС в устойчивости к биотическим стрессам также.

Известно, что в ответ на восприятие сигнала БС в рецепторе запускается серия фосфорилирований сериновых, треониновых и тирозиновых последовательностей с дальнейшей трансдукцией сигнала в ядро. Однако, при димеризации киназ и образовании сигнального комплекса возможна локальная активация мембранных компонентов, в том числе – липидного метаболизма. В частности, нами было исследована активация фосфолипаз при действии БС.

Методами тонкослойной хроматографии липидов меченых радиоизотопом P^{33} нами было установлено накопление фосфатидной кислоты при действии брассиностероидов, что указывает на активацию фосфолипаз при ранних интервалах действия гормона – 15 минут. Трансгенные растения арабидопсиса *bak1*, характеризующиеся нарушением в функционировании BAK1 киназы рецепторного комплекса демонстрируют значительно ниже уровень фосфатидной кислоты. Это может указывать на опосредованное участие BAK1 киназы в активации брассиностероидами фосфолипазных ферментов. Анализ динамики сигнальных фосфолипидов – фосфатидилинозитолов (ФИФ) – выявляет повышенное содержание фосфатидилинозитол-4,5-бифосфата (ФИ4,5Ф2) в *bak1* растений. Однако, при действии екзогенных БС не происходит значительного снижения их уровня по сравнению с контрольными растениями, что может указывать на участие BAK1 киназы в активации фосфолипазы С.

В результате проведенной работы нами были установлены ранние ответы клетки на действие брассиностероидов и вовлечение систем липидного сигналинга при рецепции и трансдукции сигнала БС.

Работа выполнена при поддержке Государственного Фонда фундаментальных исследований Украины №Ф29.4/019-2009, №Ф41.4/041-2011 и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований № Х09К-029.

ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНИНОВ НА АКТИВНОСТЬ ФОСФОЛИПАЗЫ D *IN VIVO* И *IN VITRO*

Колесников Я.С.
Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, Киев, Украина
e-mail: kolesnikov@bpci.kiev.ua

Цитокинины являются одним из важнейших классов фитогормонов, играющих ключевую роль в регуляции роста и развития растений. Однако молекулярный механизм их действия в клетках требует дальнейших исследований. Фосфолипаза D (ФЛD) является важным компонентом трансдукции сигналов в клетках растений. Ранее нами была показана быстрая активация ФЛD в ответ на действие цитокининов в проростках амаранта (*Amaranthus caudatus* L.) *in vivo*.

Целью представленной работы было исследование регуляции активности ФЛD в интактных растениях и при действии цитокининов в системах *in vitro* и *in vitro*. При изучении действия гормона семядоли проростков амаранта обрабатывали раствором цитокинина бензиладенина (БА, 5 мкМ) в течение 30 мин. Для анализа активности фосфолипазы D *in vivo* использовали реакцию трансфосфатидилирования. С этой целью в ткани растений вводили 0,8% 1-бутанол. Для анализа формирования продукта ФЛD – фосфатидилбутанола – в ткани растений амаранта вводили [^{33}P]-ортофосфат втечение 14 часов при 25˚С. С целью изучения *in vitro* активности ФЛD проводили выделение плазматических мембран (ПМ) и анализировали активность фермента по степени гидролиза меченного субстрата [метил-^{3}H]фосфатидилхолина.

Установлено, что оптимум активности ФЛD *in vitro* во фракциях ПМ находился в диапазоне микромолярных концентраций ионов кальция, тогда как в цитозольной фракции – в условиях миллимолярных концентраций этого иона. Для определения роли ионов кальция в регуляции активности ФЛD цитокининами *in vivo* использовали ЭГТА (5 мМ), хелатор кальция в апопласте, и верапамил (0,3 мМ), блокатор каналов кальция плазматической мембраны. Введение в клетки указанных модификаторов баланса ионов кальция резко угнетало активацию ФЛD цитокининами, что свидетельствует об участии этих ионов в регуляции активности ФЛD при действии цитокининов.

Удельная активность *in vitro* ФЛD, зависимой от кофактора ФИФ$_2$, была значительно более низкой, чем ФИФ$_2$-независимая. Активация ФЛD цитокининами *in vitro* резко снижается с повышением концентрации неомицина, хелатора ФИФ$_2$ (0,1-1 мМ). Указанное соединение также резко угнетало стимуляцию ФЛD цитокининами *in vivo*, причем эффект был более выражен по сравнению с таковым для модификаторов баланса ионов кальция. Эти результаты свидетельствуют об исключительной важности ФИФ$_2$ как кофактора изоформ ФЛD, стимулируемых цитокининами.

С целью установления локализации в клетках активности ФЛD, стимулируемой цитокининами, исследовали активность этого фермента в мембранной и растворимой фракциях. Установлено, что цитокинины стимулируют ФЛD *in vitro* во фракциях плазматических мембран, выделенных из проростков амаранта. Характер и уровень активации фермента *in vitro* имел аналогию к таковым *in vivo*. Это свидетельствует о том, что плазматическая мембрана может обладать как системой рецепции цитокининов, так и компонентами, связывающими ее с активацией ФЛD. Таким образом, цитокинины стимулируют ФЛD, зависимую от ионов кальция и ФИФ$_2$, которая локализирована на плазматических мембранах.

Работа поддержана НАН Украины (гранты No5/3-08, No 2.1.10.32-10), НАН Украины и АН Чешской Республики (№5/1-2011), РФФИ (гранты 08-04-90429-Укр и 11-04-00614), Программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

ВЛИЯНИЕ ГЕРБИМИЦИНА *А* И ОРТОВАНАДАТА НАТРИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ КОРНЕЙ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Шеремет Я.А.[1]*, Оленева В.Д.[2], Емец А.И.[1]

[1]Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, ул. Осиповского 2а, г.Киев, 04123, Украина; *e-mail: yarasheremet@gmail.com

[2]Киевский национальный университет им. Тараса Шевченка, ННЦ "Институт Биологии", ул. Владимирская, 64, Киев, 01601, Украина

Известно, что для реализации биохимических и физиологических ответов на действие ряда внешних факторов биотической и абиотической природы, растения используют комплекс сигнальных путей, с помощью которых осуществляется регуляция их развития. Фосфорилирование/дефосфорилирование белков – один из наиболее распространенных регуляторных механизмов в эукариотических клетках, который связывает внутриклеточные стимулы с внеклеточными событиями.

Для выяснения возможной роли тирозинфосфорилирования белков в регуляции морфогенеза растений была исследована взаимосвязь между ингибированием тирозинкиназ/тирозинфосфатаз и изменением параметров роста/морфологии главных корней *Arabidopsis thaliana*. В качестве ингибитора тирозинкиназ использовали гербимицин А (30 и 50 μМ), и ортованадат натрия (250 и 500 μМ) - как ингибитор тирозинфосфатаз. Четырехдневные проростки *A. thaliana* обрабатывали ингибиторами в течение 24 и 48 ч. Изображение корней фиксировали с помощью цифровой фотокамеры Canon Power Shot G6 в режиме макросъемки. Измерение длины корней проводили с помощью программы ImageJ (версия 1.38d). Прирост корней (Δ) рассчитывали по формуле: $((L_{ср.} - L_0)/L_0)*100$, где L_0 – среднее значение длин корней до начала эксперимента (без обработки); $L_{ср.}$ – среднее значение длин корней, обработанных ингибитором в течение установленного времени.

В ходе экспериментов было установлено, что рост и развитие главных корней являются чувствительными к процессам тирозинфосфорилирования. Выявлено, что обработка ингбитором тирозинкиназ и ингибитором тирозинфосфатаз корней *Arabidopsis* приводила к замедлению скорости их роста по сравнению с контролем. Экспозиция проростков с 30 и 50 μМ гербимицином приводила к снижению скорости роста корней в 2 и 2,3 раза соответственно через 24 ч; в 2,2 и 2,5 раза после 48 ч обработки. Ортованадат натрия в 250 и 500 μМ концентрации также приводил к замедлению скорости роста в 2,7 и 6 раз после 24 ч обработки, и в 3,5 и 6,6 раз после 48 ч экспозиции проростков с данным веществом.

Также были выявлены нарушения общей морфологии главных корней *A. thaliana.* Было установлено, что обработка ингибитором тирозинкиназ корней *Arabidopsis* вызывала нарушения процессов формирования и роста корневых волосков, в то время как обработка ингибитором тирозинфосфатаз приводила к ускорению дифференциации клеток, что проявлялось в индукции образования корневых волосков. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что существует определенная функциональная взаимосвязь между уровнем тирозинфосфорилирования белков по остаткам тирозина и процессами дифференциации клеток главных корней.

ВОВЛЕЧЕНИЕ КАЗЕИНКИНАЗЫ 1 В РАЗВИТИЕ КОРНЕВЫХ ВОЛОСКОВ *ARABIDOPSIS THALIANA* ПОСРЕДСТВОМ РЕГУЛИРОВАНИЯ ОРГАНИЗАЦИИ МИКРОТРУБОЧЕК

Шеремет Я.А.[1]*, Емец А.И.[1], Кононенко Я.М.[2], Блюм Я.Б.[1]

[1]Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, ул. Осиповского 2а, г.Киев, 04123, Украина; *e-mail: yarasheremet@gmail.com

[2]Киевский национальный университет им. Тараса Шевченка, ННЦ "Институт Биологии", ул. Владимирская, 64, Киев, 01601, Украина

Используя растения линии *Arabidosis thaliana,* экспрессирующие химерный ген *gfp-map4*, нами было показано, что разные типы серин/треониновых и тирозиновых протеинкиназ вовлечены в регуляцию организации микротрубочек в клетках их главных корней (Yemets et al., 2008; Шеремет и др., 2010). В то же время, исследование функционирования и организации микротрубочек посредством прямого фосфорилирования тубулина в растительной клетке требует дальнейшего изучения. Недавно было установлено, что члены семейства казеинкиназ 1 принимают участие в фосфорилировании 413/420 остатков серина в составе растительного бета-тубулина (Ben-Nissan et al., 2008). Также было обнаружено, что казеиноподобная протеинкиназа 6 содержит уникальный С-концевой домен, ассоциированный *in vitro* с кортикальными микротрубочками. Показано, что повышенная экспрессия этой протеинкиназы может приводить к нарушениям организации интерфазных микротрубчек в клетках растений (Ben-Nissan et al., 2008). Для определения функциональной роли казеинкиназ 1 нами было исследовано влияние специфического ингибитора D4476 на микротрубочки клеток главных корней проростков *A. thaliana (GFP-MAP4)*. GFP-меченные микротрубочки визуализировали *in vivo* с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM 510 META (Карл Цейс, Германия).

Было обнаружено, что D4476 влияет на рост главных корней *Arabidopsis* и вызывает нарушение их общей морфологии. Рост и развитие корневых волосков были крайне чувствительными к действию ингибитора казеинкиназ 1. Так, замедление роста корневых волосков сопровождалось их ветвлением или полным прекращением их формирования в зависимости от концентрации D4476 и времени обработки проростков *A. thaliana*. Микротрубочки в клетках эпидермиса и кортекса переходной зоны и зоны растяжения, а также микротрубочки в трихобластах и атрихобластах зоны дифференциации изменяли свою ориентацию из поперечной/косой на хаотическую или продольную после обработки D4476.

Полученные нами результаты позволяют заключить, что казеинкиназа 1 вовлечена в регуляцию развития главных корней *A. thaliana*, в первую очередь, в формирование и рост корневых волосков, посредством регуляции организации кортикальных микротрубочек, возможно, посредством фосфорилирования тубулина в растительной клетке.

Шеремет Я.А., Емец А.И., Виссенберг К., Вербелен Ж.-П., Блюм Я.Б. Влияние ингибиторов серин/треониновых протеинкиназ на морфологию корня *Arabidopsis thaliana* и организацию микрготрубочек в его клетках // Цитология. – Т.52(5). – 2010. – С. 399–406.

Ben-Nissan G.., Cui W., Kim D.-J., Yang Y., Yoo B.-C., Lee J.-Y. *Arabidopsis* casein kinase 1-like 6 contains a microtubule-binding domain and affects the organization of cortical microtubules // Plant Physiol. – 2008. – 148. – P. 1897–1907.

Yemets A., Sheremet Ya., Vissenberg K., Van Orden J., Verbelen J-P., Blume Ya. B. Effects of tyrosine kinase and phosphatase inhibitors on microtubules in *Arabidopsis* root cells // Cell Biol. Int. – 2008. – Vol. 32. – P. 630–637.

РЕГУЛЯТОРНА РОЛЬ ЦИТОКІНІНУ У РОСЛИН ЯРОЇ ПШЕНИЦІ В ПРИРОДНИХ УМОВАХ ВИРОЩУВАННЯ

Жук В.В., Мусієнко М. М.
ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка

Формування продуктивності пшениці відбувається в умовах нестабільного та недостатнього забезпечення рослин водою та високих температур навколишнього середовища, що спричиняє порушення ендогенного гормонального балансу. Особливо суттєво зменшується пул ендогенних цитокінінів, головним джерелом яких у рослинах є корені. У стеблову частину рослин цитокініни рухаються з током води по ксилемі, тому в умовах дефіциту води їх надходження різко зменшується, що спричиняє затримку ростових процесів (Романов, 2009). Для зменшення дефіциту ендогенних цитокінінів та регуляції ростових процесів у рослин пшениці нами було проведено вивчення дії екзогенного синтетичного цитокініну 6-бензиламінопурину (6-БАП) та високотемпературного стресу на рослини пшениці в умовах лабораторних дослідів (Жук, Капустян, 2008). Встановлено, що дострессова обробка рослин пшениці цитокініном зменшувала деструктивну дію високої температури на пігментний комплекс листків. На підставі цих досліджень було вивчено регуляторну роль цитокінінів у рослин ярої пшениці в природних умовах вирощування. Рослини ярої м'якої пшениці сортів Скороспілка 95, Скороспілка 99 та Недра вирощували в умовах польового досліду на дерново-підзолистому ґрунті в Київській області. Обробку рослин 10^{-4}М розчином 6-БАП проводили у фазі трубкування. У період цвітіння та формування зернівок відзначали природну посуху, яка характеризувалась зниженням відносної вологоємності ґрунту до 20-30% і підвищенням температури повітря до 40 °С у полуденні години. Після обробки рослин дослідних варіантів протягом подальших періодів онтогенезу проводили дослідження водного статусу листкового апарату, вмісту пігментів у прапорцевому листку, наростання маси зернівок та структури врожаю. Встановлено, що обробка рослин пшениці 6-БАП стимулювала ріст прапорцевого листка у всіх досліджених сортів та верхнього міжвузля у сорту Недра. Екзогенний цитокінін затримував старіння листкового апарату в умовах дії природної посухи, збільшував масу сухої речовини в прапорцевому листку, затримував деструктивні процеси у пігментному комплексі, особливо у фазі формування зернівки. У період молочної стиглості зерна у всіх досліджених сортів ярої пшениці після обробки рослин 6-БАП вміст хлорофілу в прапорцевому листку був вищим, порівняно з контролем. Відзначено також зростання кількості протохлорофілів, що свідчить про позитивну дію цитокініну та біосинтез хлорофілів у рослин ярої пшениці. Вміст каротиноїдів під впливом 6-БАП суттєво збільшився лише у пшениці сорту Недра у фазі цвітіння і у сорту Скороспілка 95 у фазі молочної стиглості зерна. Регуляторна роль цитокініну у пшениці проявилась також у збільшенні кількості зерен у колосі та маси 1000 зерен у оброблених рослин, порівняно до контролю, що свідчить про включення екзогенного цитокініну в пул ендогенних цитокінінів та участь в процесах запилення, запліднення та проліферації клітин у період формування зародку та ендосперму зернівки. Кінцевим результатом регуляторної дії екзогенного цитокініну на рослини ярої пшениці було підвищення їх загальної продуктивності. Отже, дослідження регуляторної ролі цитокініну у рослин ярої пшениці дозволило з'ясувати, що його фітогормональна дія в умовах природної посухи полягала в зменшенні деструктивної дії стресу на асиміляційний апарат та процеси формування репродуктивних органів.

Жук В.В., Капустян А.В. Реакція хлорофілів Triticum aestivum на гіпертермію.// Матеріали VI Міжнародної науково-практичної конференції «Шевченківська весна» 20-23 березня 2008 р. – Київ, 2008 – С. 41-43.
Романов Г.А. Как цитокинины действуют на клетку? // Физиология растений. – 2009.- 56, №2.-С.295-319.

МИКРОНУКЛЕАЦИЯ КЛЕТОК ПАЛЬЧАТОГО ПРОСА *ELEUSINE CORACANA* АНТИМИТОТИЧЕСКИМИ АГЕНТАМИ

Баер Г.Я., Емец А. И.

Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, ул. Осиповского 2а, г. Киев, 04123, Украина; e-mail: galinabayer@mail.ru

Для получения растений с интересующими признаками широко используют методы генетической инженерии. Однако путем трансформации ДНК возможно переносить только предварительно индентифицированные и клонированные гены. Полигенные признаки или признаки с неизвестными механизмами, такими как устойчивость к некоторым болезням, абиотическим факторам или стрессам не поддаются перенесению с помощью методов генетической инженерии. Для преодоления данной проблемы используют методы переноса отдельных хромосом от диких видов к культурным растениям. В качестве альтернативы асимметрической гибридизации предложено использовать изолированные микропротопласты, содержащие одну или несколько хромосом, для слияния с протопластами 2-х видов (Yemets & Blume, 2008). Для использовния данной методики с целью улучшения злаков нами был разработан протокол высокоэффективной микронуклеации пальчатого проса (*Eleusine coracana* (L.) Gaertn.), поскольку ранее нами было получено несколько новых генотипов, которые характеризируются рядом ценных признаков (Баер и др., 2007).

Для изолирования микропротопластов из *E. coracana* 6-ти дневные проростки помещали в жидкую среду МС для каллусогенеза (Емец и др., 2003) с добавлением 10-150 мкМ изопропил N-(3-[хлорфенил] карбамата (ХИФК) или ХИФК в комбинации с 20 мкмМ цитохалазина В. Проростки инкубировали на шейкере (120 об/мин) в течении 12 ч. Ферментацию клеток проводили 4 ч в ферментативной смеси содержащую 2%, целюлазу Onozuka R-10, 0,2% пектолиазы, 0,6 мМ манитол, 20 мМ $CaCl_2$, а также 10 мкМ ХИФК и 20 мкМ цитохалазина В, pH 5,5. Далее смесь фильтровали, центрифугировали, осадок ресуспендировали в жидкой питательной среде КМ8р. Для цитологического анализа субпротопластов использовали 3 мг/мл 4,6-диамино-2-фенилиндол (DAPI, Sigma). Было установлено, что наиболее эффективное образование микроядер в клетках *E. coracana* происходит при использовании 10 мкМ ХИФК в комбинации с 20 мкмМ цитохалазина В.

Таким образом разработанный нами метод может применяться для перенесения полигенных признаков или признаков с неизвестными молекулярными или биохимическими механизмами в другие ценные виды зерновых культур с помощью слияния микропротопластов, которые содержат одну или несколько донорных хромосом в качестве альтернативы методу соматической гибридизации.

Баер Г.Я., Емец А.И., Стадничук Н.А., Рахметов Д.Б., Блюм Я.Б. Сомаклональная вариабельность как источник для создания новых сортов пальчатого проса *Eleusine coracana* (L.) Gaertn // Цитология и генетика. – 2007. – Т.41, №6. – С. 9-15.

Емец А.И., Баер Г.Я., Климкина Л.А., Стадничук Н.А., Абрамов А.А., Блюм Я.Б. Введение в культуру *in vitro* и регенерация растений дагуссы *Eleusine coracana* (L.) Gaertn. сорта Тропиканка // Физиол. биохим. культ. растений. – 2003. – 35, № 2. – С. 1– 8.

Yemets A. I., Blume Ya. B. Antimitotic drugs for microprotoplast-mediated chromosome transfer in plant genomics, cell engineering and breeding. In: The Plant Cytoskeleton: Genomic and Bioinformatic Tools for Biotechnology and Agriculture. (Blume YaB, Baird WV, Yemets AI, Breviario G, Eds), Springer Verlag, the Netherlands. – 2008. – P. 55-73.

ЯДЕРЦЕВА АКТИВНІСТЬ ЯК МОЖЛИВІСТЬ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ РОСТУ ПОТОМСТВ ПЛЮСОВИХ ДЕРЕВ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ

Криницький Г.Т.[1], Войтюк В.П.[2], Андреєва В.В.[2]
[1]Національний лісотехнічний університет України
[2]Волинський національного університету імені Лесі Українки

Важливим фактором прискорення селекційного процесу є можливість ранньої діагностики росту гібридів деревних рослин. На рівні цитогенетичних досліджень уточнюється зв'язок ознак ядерцевої активності з прямими селекційними господарсько цінними ознаками.

У нашому дослідження були використані 33-річні вегетативні і 27-річні насінні потомства плюсових дерев сосни звичайної, а також проростки клонів Володимир-Волинської (ВВ), Львівської (Л) та Цуманської ценопопуляцій (Ц-4). Усі досліджувані плюсові дерева є лідерами у вегетативних потомствах, крім Ц-8. За попередніми коротко- та середньостроковими оцінками випробних культур швидкорослістю відзначились усі потомства, крім Ц-8, яке на ранніх етапах онтогенезу характеризується середньою швидкістю росту. Для вивчення цитогенетичних характеристик об'єктів готувались давлені тимчасові мікропрепарати апікальної меристеми кореневих проростків. Фарбування корінців здійснювалось азотнокислим сріблом.

Порівняльний аналіз ростових показників 116 клонів виявив, що за висотою достовірно кращими є 21,2% всіх потомств з перевищенням відповідного середнього значення по плантаціях в середньому на 8,4%, за діаметром 18,6% потомств з перевищенням на 12,4% і за об'ємом стовбурів 18,8% потомств з перевищенням на 29,4%. За показником швидкості росту кращими є 25% всіх потомств. У жердняковому віці (27 років) 44,4% півсібсів володіють підвищеною енергією росту у висоту, 5,6% – зниженою і 50% ростуть на рівні контролю.

Дослідженням проліферуючої меристематичної тканини проростків клонів встановлено, що середня кількість ядерець в клітині становить 5-6. Слід відмітити, що кількість ядерець в ядрі характеризується високим рівнем мінливості (V=30,9%). Максимальні розміри ядерця властиві для клону Л-4 (40,3 мкм^3). Трохи менші ядерця (30 мкм^3) є у проростків клону ВВ-3. Для клітин проростків клонів Л-1, Л-5, Ц-4 і Ц-8 характерні середні розміри ядерця в межах 11 – 16 мкм^3. На основі біометричних даних вегетативного і насінного потомств, а також цитогенетичних досліджень проростків клонів встановлено тісний позитивний зв'язок (коефіцієнт кореляції r=0,897) між відсотком клітин з великою кількістю ядерець (9-10) в ядрі і: 1) висотою 33-річного вегетативного потомства; 2) відсотком перевищення за висотою 33-річного вегетативного потомства; 3) об'ємом стовбурів 27-річного насінного потомства; 4) відсотком перевищення за висотою 27-річного насінного потомства; 5) показником швидкості росту (ПШР) 27-річного насінного потомства, а також між відсотком клітин з 3-4 ядерцями в ядрі і відсотком швидкорослих дерев 27-річного насінного потомства. Встановлено також тісний кореляційний зв'язок між відсотком проростків, які мають 1-2 ядерця в ядрі і 1) відсотком перевищення за висотою вегетативного потомства; 2) показником швидкості росту клонів; 3) показником швидкості росту півсібсів; між відсотком проростків, які мають 11-12 ядерець в ядрі і 1) показником швидкості росту плюсових дерев; 2) відсотком перевищення за діаметром плюсових дерев, а також між відсотком проростків, які характеризуються максимальним значенням показника відношення сумарної площі ядерець в ядрі до площі клітини (більше 0,10) і відсотком швидкорослих дерев у півсібсів.

РОЛЬ ВАКУОЛЯРНЫХ ИОННЫХ ТРАНСПОРТЕРОВ И КАНАЛОВ В РЕГУЛЯЦИИ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ

Исаенков С.В.

Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, ул. Осиповского 2а, г.Киев, 04123, Украина

800 млн. гектаров земли в мире, а это 20% мировых сельскохозяйственных земель и около 50% орошаемых земель, страдают от сильного засоления почв. Перечисленные факторы значительно затрудняют использование этих почв под земледелие. Учитывая факторы увеличения численности населения нашей планеты, мировое производство продуктов питания должно вырасти на 50% до 2050 года. Вопрос использования новых территорий для сельского хозяйства остается проблематичным. Поэтому изучение механизмов солевого и осмотического стресса есть очень актуальным на сегодняшний день. Использование новых биотехнологий та создание растений с более высокими показателями солеустойчивости и засухоустойчивости одно из приоритетных и перспективных направлений биотехнологии растений. Растительные организмы используют разнообразные стратегии борьбы с солевым стрессом. К сожалению, большинство сельськохозяйственных растений есть гликофитами. Галофитные растения могут накапливать в своих тканях большие концентрации токсичных ионов, в тоже время гликофиты стараются вывести большую часть токсичных ионов за пределы растительного организма или перераспределить между различными органами растительного организма. Большинство гликофитов накапливают токсичные ионы солей в тканях и органах с низким уровнем фотосинтеза и метаболизма и таким образом избегают остановки всех жизненно важных процессов метаболизма. Кроме тканевого уровня борьбы с солевым стрессом, растения имеют системы поддержания ионного баланса и на клеточном уровне. Путем поддержания низкого уровня цитоксичных ионов (натрия и хлора) в цитозоле, клетки растений могут выполнять все необходимые метаболические функции. Одним из главных приемов увеличения толерантности клеток растений к солевому стрессу есть поддержание высокого уровня калия по отношению к натрию в цитоплазме. Депозитирование цитотоксичных ионов в центральную вакуоль, что занимает 90% объема клетки, есть одним из главных условий преодоления солевого стресса. Кроме того, накопление в вакуолях растений ионов калия служит универсальным депо для последующего использования клеткой этого иона в метаболических процессах цитоплазмы. Поэтому изучение функций ионных транспортеров и каналов вакуолей имеет очень важное значение. В этой работе мы хотим описать функции вакуолярных калиевых каналов семьи ТРК, а также вакуолярных протонно-натриевых обменников семьи NHX и их возможную физиологическую роль для солевого и осмотического стресса растительной клетки. Изучение функций генов кодирующих вакуолярные ионные каналы и транспортеры а также усиление експресии последних в растениях, поможет создать новые лини растений с повышенной засухо и солеустойчивостью, а также повысить пищевую ценность этих культур.

Gobert A., Isayenkov S., Voelker C., Czempinski K., Maathuis F.J.M. The two-pore channel TPK1 gene encodes the vacuolar K+ conductance and plays a role in K+ homeostasis // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2007. - 104. - P. 10726-10731.

Isayenkov S., Isner J.C., Maathuis F.J.M. Plant vacuolar ion channels // FEBS Let. – 2010. - 584. – P. 1982-1988.

Isayenkov S., Isner J.C., Maathuis F.J.M. Rice two-pore K+ channels are expressed in different types of vacuoles // Plant Cell. - 2011. – 23. - P. 756-768.

Isayenkov S., Isner J.C., Maathuis F.J.M. Membrane localisation diversity of TPK channels and their physiological role. Plant Cell Signalling and Behavior. -2011. - 8. - P. 1201-1204.

УЧАСТИЕ 1 L-МІО-ІНОЗОТОЛ 1 -ФОСФАТСИНТАЗЫ В NO-ЗАВИСИМОМ ОПОСРЕДОВАНИИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА, ІНДУЦИРОВАННОГО УЛЬТРАФИОЛЕТОМ В

Литвин Д.И.[1], Портниченко Г.В.[1], Емец А.И.[1], Бергуню К.[2], Блюм Я.Б.[1]

[1]Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, ул.Осиповского 2а, г.Киев, 04123, Украина; [2]Институт биологии растений-UMR 8618, Орсе, Франция

Изучение механизмов воздействия ультрафиолета В (УФ-В) на живые организмы приобрело большую актуальность в течение последних десятилетий, в связи с повышением количества УФ-В излучения, вызванного активным разрушением атмосферного озонового слоя. Одним из эффектов, инициируемых повышенным уровнем данного спектра солнечного излучения является развитие клеточных процессов приводящих к оксидативному стрессу. Известно, что мио-инозитол и его производные играют одну из критических ролей в жизнедеятельности растительной клетки. Данные соединения принимают участие в функционировании значительного количества клеточных процессов, к числу которых относят регуляцию устойчивости клетки к внешним стрессовым воздействиям. Поскольку метаболизм мио-инозитолов тесно взаимосвязан с сигнальным каскадом NO, который в свою очередь также играет ключевую роль в регуляции клеточных реакций на действие биотических и абиотических факторов, задачей данной работы было установить их синергетическое влияние на развитие оксидативного стресса, индуцированного УФ-В. Эксперименты проводили на 7-дневных проростках мутантной линии и растений дикого типа *Arabidopsis thaliana*, которые выращивались при 16ч/8ч режиме освещения при 3200 лк. Облучение растений УФ-В проводили на твердой агаризованой среде MS следуя протоколу, описанному в (Lytvyn et al., 2010), дозы облучения составляли 34 and 81 кДж/м^2. Для изучения развития оксидативного стресса использовали клеточные линии *A. thaliana*, мутантной по 1 L-мио-инозитол 1-фосфат синтазе 1 (atips1) – ферменту, являющимся критичным в биосинтезе мио-инозитола. Для количественного определения уровня оксидативного стресса в реальном времени мутантная линия и растения дикого типа были трансформированы геном, кодирующим слитую белковую конструкцию редокс-чувствительного белка roGFP2 и глютарредоксина - *grx1-rogfp*. Влияние NO на развитие оксидативного стресса исследовали, используя донор NO – нитропруссид натрия (SNP). В результате был выявлен ярко выраженный тканеспецифический эффект действия УФ-В, как индуктора оксидативного стресса как в растениях дикого типа, так и в мутантных по atips1. Клетки различных тканей корня оказались более чувствительными к действию излучения по сравнению с фотосинтезирующими тканями. Предварительная обработка растений SNP перед облучением выявила четко выраженный протекторный эффект даного донора NO. Так, предобработка растений дикого типа 100 μM SNP вызывала в тканях корня снижение уровня оксидативного стресса при облучении 34 кДж/м^2 УФ-В более чем в 3, 6, и 16 раз для клеток сосудов, апикальной меристемы и зоны элонгации, соответственно. В клетках мутантных растений был отмечен подобный результат. При облучении дозой 81 кДж/м^2 были обнаружены закономерности, указывающие на вовлеченность atips1 в процессы опосредования воздействия УФ-В. В частности, в большинстве тканевых локализаций предобработка растений SNP не имела должного восстановительного эффекта ввиду мощности данной дозы ультрафиолета. Однако, в образцах мутантных растений наблюдали существенное статистически достоверное протекторное воздействие NO на клетки зоны элонгации корня и клетки сосудов. Полученные результаты дают нам основания утверждать как о непосредственном влиянии сигналинга оксида азота на регуляцию опосредования оксидативного стресса, так и о вовлечении в эти процессы 1 L-мио-инозитол 1-фосфат синтазы.

Lytvyn D.I., Yemets A.I., Blume Ya.B. UV-B overexposure induces programmed cell death in a BY-2 tobacco cell line // Environ Exp Bot. – 2010. – Vol. 68(1). – P.51-57.

АНАЛИЗ СТЕПЕНИ ЖАРО- И ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ИЗОГЕННЫХ ПО ГЕНАМ КОНТРОЛЯ ТЕМПОВ РАЗВИТИЯ ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ

Головина И.В., Данилюк И.А.
Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина

Пшеница - ценнейшая продовольственная культура, которая занимает ведущее место в зерновом балансе нашей страны. Её продуктивность зависит от реализации генетически заложенных потенций урожайности, а также влияния конкретных погодно-климатических условий, действующих на определенном этапе развития растения (Моргун, 2010). Известно, что продолжительность онтогенеза, тип развития (яровой/озимый) и её скорость у пшеницы детерминированы двумя генетическим системами – системой генов *VRN*, контролирующих потребность в яровизации и системой генов *PPD*, определяющих степень фоточувствительности растения (Стельмах, 2000). Генетические эффекты данных систем на ряд агрономических признаков – структура урожая, продуктивность, белковость зерна достаточно хорошо изучены. Однако, в литературе отсутствуют данные об исследовании опосредованного влияния данных генетических систем на стресс-толерантность пшеницы. В современных условиях изменяющего климата, сопровождаемых регулярными засухами и экстремально высокими температурами (Моргун, 2010), представляется актуальным исследование эффектов данных генетических систем, контролирующих тип и темпы развития растений на степень их засухо- и жаростойкости. Целью данной работы было проведение скрининга степени засухо- и жаростойкости изогенных по генам контроля типа и темпов развития линий пшеницы. Объектами исследования служили моногеннодоминантные почти изогенные (near isogenic lines) по системе генов *VRN* и *PPD* линии мягкой пшеницы, а также сорт, в генотипе которого созданы данные линии – Мироновская 808. Засухо- и жароустойчивость определяли экспресс-методом по прорастанию семян в условиях стресса, по приросту биомассы и линейным показателям роста проростков. Также о степени засухоустойчивости судили по накоплению пролина, а жаростойкости – определяя температурный порог коагуляции белков цитоплазмы. Результаты экспериментов показали, что все исследованные изолинии проявляют более высокую степень жаростойкости, чем засухоустойчивости. Изолинии по системе генов *PPD* характеризуются большей степенью жаростойкости, в то время как изолинии по системе генов *VRN* проявляют повышенную засухоустойчивость. Установлено, что корневая система обладает большей засухоустойчивостью, а надземная часть характеризуется повышенной жаростойкостью. Среди набора *VRN* изолиний минимальной устойчивостью к засухе и высокой температуре характеризуется изолиния *VRN B1a,* а максимальными показателями - линия *VRN A1a.* Среди *PPD* изолиний более устойчивы генотипы *PPD A1a* и *PPD D1a,* а максимальную чувствительность к стресс воздействиям проявляет изолиния *PPD B1a.* Таким образом, изолинии характеризующиеся быстрыми темпами развития и слабой фоточувствительностью проявляют более высокую степень засухо- и жаростойкости по сравнению с медленноразвивающейся изолинией, показавшей минимальные показатели засухо- и жаростойкости.

Моргун В.В., Киризий Д.А.. Шадчина Экофизиологические и генетические аспекты адаптации культурных растений к глобальным изменениям климата // Физиология и биохимия культ. растений. – 2010. – Т.42, №1. – С.3-23.
Моргун В.В., Швартау В.В., Киризий Д.А. Физиологические основы формирования высокой продуктивности зерновых злаков // Физиология и биохимия культ. растений. – 2010. – Т.42, №5. – С.371-393.
Стельмах А.Ф., Файт В.И., Мартынюк В.Р. Генетические системы типа и контроля скорости развития мягкой пшеницы // Цитология и генетика. – 2000. – Т.34, №2. – С.39-45.

ОЦІНКА ВМІСТУ АНТОЦІАНІВ У РОСЛИН РІПАКУ ЗА ДІЇ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ТА РЕГУЛЯТОРА РОСТУ ТРЕПТОЛЕМУ

Бакун В., Пацула О., Терек О.

Львівський національний університет імені Івана Франка, кафедра фізіології та екології рослин, вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна, e-mail: vira_b87@ukr.net

Різке загострення екологічної ситуації у світі в результаті антропогенного впливу, підвищення концентрації важких металів в оточуючому середовищі та посилення їх впливу на живі організми роблять проблему адаптації та стійкості рослин однією з центральних у сучасній фізіології рослин. Поглинання важких металів рослинами призводить до призупинення росту і розвитку, порушення фотосинтезу, дихання та інших біохімічних процесів. Крім того, надходження їх у рослинні клітини призводить до оксидантного стресу, через утворення активних форм кисню. У багатьох випадках зростання життєздатності рослин за несприятливих умов досягають шляхом застосування регуляторів росту. У цьому разі ефективність захисної дії регуляторів росту різна залежно від форми та сили стресового чинника, а також від виду рослини. Отримання ж надійних протекторів можливе лише після з'ясування механізмів формування стійкості рослин за їхньою допомогою. Відомо, що регулятори росту рослин, створені в Інституті нафтохімії та біоорганічної хімії НАН України, позитивно впливають на ріст сільськогосподарських культур (Пономаренко, 2001). Одним із таких сучасних регуляторів є трептолем – комплекс 2,6-диметилпіридин-l-оксид з бурштиновою кислотою – 50г/л та Емістиму С – 1,0г/л (ІБОНХ НАНУ, МНТЦ «Агробіотех», ЗАТ «Високий урожай») (Грицаєнко та ін., 2008).

Метою нашої роботи було виявити особливості впливу іонів цинку і купруму та регулятора росту трептолему на вміст антоціанів у рослин ріпаку. Досліди проводили на проростках ріпаку *(Brassica napus)* сорту Микитинецький. Насіння пророщували протягом 3 діб у чашках Петрі на зволоженому трептолемом, у концентрації 1 мл/л, фільтрувальному папері. Після цього проростки пересаджували на розчини, які містили: цинк (10^{-3}М) і купрум (10^{-5}М) сульфати та поживне середовище Холланда-Арнона. Контролем слугували рослини, вирощені на поживному середовищі Холланда-Арнона. Через 7, 14 та 21 добу у дослідних та контрольних рослин визначали вміст пігментів. Антоціани екстрагували та визначали за методом Beggs та Wellmann (Jaleel et al., 2009). Антоціани є природними пігментами, які належать до флавоноїдів. Вони широко поширені серед квітів, фруктів та овочів і відповідають за яскраві кольори, такі як оранжевий, червоний і синій. Вони відіграють певну роль у антиоксидантній системі рослин – дозволяють протистояти абіотичним стресам (Neill, Gould, 2003).

Встановлено, що дія іонів цинку та міді призводить до збільшення концентрації антоціанів у 2 рази відносно контролю. У рослин, вирощених з додаванням регулятора росту, виявлено зростання вмісту антоціанів у порівнянні з рослинами, які росли на середовищі з іонами цинку та купруму. Застосування трептолему призводить до посилення дії антиоксидантної системи рослин ріпаку, що виявляється у значному збільшення рівня пігментів антоціанів. Показано, що антоціани входять до складу антиоксидантної системи рослин, активність якої визначає їх рівень стійкості до впливу різних чинників в процесі онтогенезу.

Грицаєнко З.М., Пономаренко С.П., Карпенко В.П., Леонтюк І.Б. Біологічно активні речовини в рослинництві. – К., ЗАТ «НІЧЛАВА», 2008. – 352 с.

Пономаренко С.П. Створення та впровадження нових регуляторів росту рослин в агропромисловому комплексі України // Ефективність хімічних засобів у підвищенні продуктивності сільськогосподарських культур: Зб. наук. праць. — Умань: Уманська державна аграрна академія, 2001. — С. 15–23.

Jaleel C.A., Wang G., Ahmad P., Ikram-ul-Haq (2009) Changes in the photosynthetic characteristics of Catharanthus roseus L. as a result of exogenous growth regulators Plant Omics Journal, 2009. – 2(4). – P.169-174.

Neill S.O., Gould K.S Anthocyanins in leaves: light attenuators or antioxidants // Functional Plant Biology, 2003. – 30 – P. 865–873.

ФОТОПЕРИОДИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ТЕМПОВ РАЗВИТИЯ И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ МЕТАБОЛИТОВ У ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ

Хань Бин
Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина

Система генов *VRN* (vernalization) контролирует потребность в яровизации и определяет тип развития (яровой или озимый) растений пшеницы (Стельмах и др., 2000). По результатам современных молекулярно-генетических исследований установлено, что гены *VRN* (три-пять локусов) у мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) взаимосвязаны друг с другом и могут экспрессироваться или репрессироваться под влиянием фотопериодического сигнала (Trevaskis and al., 2006). Целью данной работы было исследование генетической детерминации содержания и распределения азотсодержащих соединений по органам главного побега при фотопериодической индукции коротким днем (9 часов) у изогенных по генам *VRN* линий мягкой пшеницы. Объектами исследования служили почти изогенные NILs по генам *VRN* моногеннодоминантные линии мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) двух сортов – высокостебельного Мироновская 808 и короткостебельного Ольвия. Растения выращивали на экспериментальном участке кафедры физиологии и биохимии растений ХНУ имени В.Н. Каразина микроделяночным способом. В фенофазу кущения опытные растения подвергали воздействию фотопериодической индукции коротким 9-часовым световым днем в течение 3-4 недель. Результаты исследований показали, что влияние короткого фотопериода удлиняло период всходы-колошение (ПВК) у всех изолиний обоих исследуемых сортов. Максимальную чувствительность к действию фотопериодической индукции коротким днем проявила изолиния *VRN-B1a*, а минимальную - изолиния *Vrn D1a.* В фенофазу колошения-цветения распределение общего азота между частями главного побега происходило следующим образом: максимальное содержание азота было в листьях (45 – 64 %), меньшее в формирующихся колосьях (22 – 40 %), а минимальное – в стеблях (14 – 21 %). У линий сорта Мироновская 808 распределение азота в колосе в фазе колошения соответствует темпам развития растений. Изучение содержания свободных аминокислот в различных органах главного побега при фотопериодической индукции коротким днем показало однотипную реакцию изолиний обоих сортов. Короткий фотопериод стимулировал биосинтез свободных аминокислот во всех органах растения – листьях, стеблях и особенно значительно в формирующихся колосьях. Определение степени белковости зерна в фенофазу полного созревания показали, что у линий сорта Ольвия содержание белка в зерне выше, чем в зерне линий сорта Мироновская 808. На коротком дне у линий сорта Мироновская 808 отмечена четкая обратная корелляция между продолжительностью периода всходы-колошение и содержанием белка в зерне. У линий сорта Ольвия, наоборот, изолиния *VRN A 1a,* опережающая другие линии по темпам развития, характеризуется максимальным накоплением белка в зерне за короткий вегетационный период. Таким образом, в ходе проведенных экспериментов установлено, что генетическая детерминация генами *VRN* темпов развития растений пшеницы в условиях действия короткого фотопериода опосредованно влияет на процессы распределения между органами азотсодержащих метаболитов.

Стельмах А.Ф., Файт В.И., Мартынюк В.Р. // Цитология и генетика. – 2000. – Т.34,№2. – С.39-45.
Trevaskis B., Hemming M. N., Peacock W. J. and Dennis E. S. // Plant Physiol. – 2006.− V.140. – P. 1397-1405.

МИКРОТРУБОЧКИ КАК КОМПОНЕНТЫ СИГНАЛЬНЫХ КАСКАДОВ, ОПОСРЕДОВАННЫХ ОКСИДОМ АЗОТА, ПРИ ОБЛУЧЕНИИ РАСТЕНИЙ УФ-В

Красиленко Ю.А.*, Шеремет Я.А., Емец А.И, Блюм Я.Б.
Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, ул. Осиповского 2а, г.Киев, 04123, Украина; *e-mail: j_krasylenko@ukr.net

Оксид азота (NO) является универсальной сигнальной молекулой в каскадах, обеспечивающих морфогенез растений и их реакцию на действие абиотических и биотических стрессовых факторов. Известно, что возрастание интенсивности потока ультрафиолета-В (280-315 нм), одного из постоянных абиотических факторов в составе солнечной радиации, определяет направление фотоморфогенеза растений и, наряду с изменениями климата, влияет на основные показатели их жизнедеятельности. Поскольку цитоскелет является движущей силой развития растений, было предположено, что его элементы, в особенности, микротрубочки (МТ), могут являться мишенями для действия УФ-В. Недавно нами было установлено, что организация сети МТ в клетках главных корней проростков *Arabidopsis thaliana*, экспрессирующих химерный ген *gfp-map4*, определяется опосредованным содержанием в них NO (Емец и др., 2009). Принимая во внимание тот факт, что действие многих абиотических факторов, в том числе, и УФ-В, преимущественно приводит к возрастанию уровня эндогенного NO, нами было изучено влияние предобработки проростков донором NO нитропруссидом натрия (НН) и перехватчиком NO 2-(4-карбоксифенил)-4,4,5,5-тетраметилимидазолин-1-оксил-3-оксидом (к-ФТИО) с последующим облучением проростков дозами УФ-В (6,8–68 кДж/м^2) на организацию МТ в различных типах клеток, а также процессы роста и развития корней, опосредованные МТ. Было установлено, что само по себе облучение УФ-В приводил к дозозависимому замедлению роста главных корней и нарушению их морфологии, а именно, к раздуванию и формированию избыточного количества корневых волосков, что сопровождалось рандомизацией и/или деполимеризацией МТ как в клетках эпидермиса, так и в клетках кортекса (Krasylenko et al., 2011). В то же время, предобработка облучённых проростков НН в концентрации 100 μM через 48 ч приводила к восстановлению роста корней, ингибированного УФ-В, что не было отмечено после предобработки к-ФТИО. Более того, НН, в отличие от к-ФТИО, также частично восстанавливал морфологию главных корней *A. thaliana* и организацию МТ в их эпидермальных клетках, нарушенную под воздействием УФ-В. Следовательно, донор NO способен защищать организацию МТ и опосредованные ними процессы от разрушительных эффектов УФ-В. Поскольку организация МТ зависит от содержания NO при облучении повышенными дозами УФ-В, нами предположено, что МТ при УФ-В стрессе могут быть компонентами сигнальных каскадов, в которых NO является вторичным посредником.

Емец А.И., Красиленко Ю.А., Шеремет Я.А., Блюм Я.Б. Реорганизация микротрубочек как ответ на реализацию сигнальных каскадов оксида азота (II) в растительной клетке // Цитология и генетика. – 2009. – Т. 43, № 2. – С. 3–10.
Krasylenko Y., Yemets A., Sheremet Y., Blume Y. Nitric oxide as a critical factor for perception of UV-B irradiation by microtubules in Arabidopsis // Physiologia Plantarum.– 2011. – in press.

ЗАЛУЧЕННЯ ФОСФАТИДИЛХОЛІН-ГІДРОЛІЗУЮЧИХ ФОСФОЛІПАЗ С ДО РЕАКЦІЙ РОСЛИН НА ДІЮ ЧИННИКІВ БІОТИЧНОГО СТРЕСУ

Покотило І.В.[1], Кравець В.С.[1], Мартінец Я.[2]
[1]Інститут біоорганічної хімії і нафтохімії НАН України,
02660,Україна, Київ, вул. Мурманска 1; e-mail: pokotylo@bpci.kiev.ua
[2]Інститут експериментальної ботаніки АН Чеської Республіки,
16502, Чеська Республіка, Прага, вул. Розвойова 263

Механізми внутрішньоклітинної трансдукції сигналів, що залучають продукти каталізу мембранних фосфоліпідів за участю фосфоліпаз у якості вторинних месенджерів, на сьогодні постають одними з головних чинників регуляції метаболізму клітин рослин як за фізіологічних умов, так і за умов дії стресових чинників середовища. В той же час, біотичний стрес зумовлений дією патогенних мікроорганізмів постає одним з ключових факторів втрат врожайності і зумовлює необхідність активного впровадження методів застосування індукторів резистентності рослин та вивчення молекулярних механізмів їх внутрішньоклітинної дії.

Полярній фосфоліпід фосфатидилхолін відомий у якості основного компоненту біологічних мембран та здатен виступати у ролі субстрату для фосфоліпаз С (ФЛС) та D, що забезпечують продукцію діацилгліцеролу та фосфатидної кислоти у якості молекул залучених до внутрішньоклітинного сигналінгу. Припускається, що нещодавно ідентифіковані фосфатидилхолін–гідролізуючі ФЛС рослин, відомі у якості регуляторів активності протеїнкіназ С у ссавців, також залучаються до клітинної регуляції у рослин.

За допомогою використання флуоресцентно-міченого фосфоліпіду фосфатидилхоліну було продемонстровано швидкі зміни у рівні продукції діацилгліцеролу (ДАГ) у клітинах культур тютюну BY2 та Арабідопсису AtH у відповідь на дію фітогормонів асоційованих зі станом біотичного стресу та еліситорних сполук.

Рівень ДАГ у мембранах клітин істотно змінювався за умов впливу ліпополісахаридів з клітинних стінок бактерій та термо-інактивованих патогенів *Pseudomonas syringae*, а також за дії специфічного еліситору flg22 – N-кінцевого 22-амінокислотного пептиду бактеріального білку флагеліну. Також продемонстровано зміну рівня продукції ДАГ за умов дії рослинних гормонів - саліцилової кислоти та метилжасмонату, що залучені до процесів регуляції взаємодії рослина-патоген.

Аналіз мутантних рослин Арабідопсису з нокаутованими генами шести ідентифікованих ізогенів ФХ-ФЛС показав, що дані рослини характеризувались суттєво зниженим рівнем стійкості за умов ураження патогенними бактеріями.

Аналіз експресії генів методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі дозволив виявити активацію експресії двох ізогенів фосфатидилхолін гадролізуючих ФЛС за умов атаки патогенних бактерії *Pseudomonas Syringae* у перші вісім годин після інфікування.

В дослідженні розглядається можлива участь фосфатидилхолін–гідролізуючих ФЛС, нового компонента рослинного фосфоліпазного сигналізування, у регуляції захисних механізмів клітин рослин спрямованих на захист проти дії патогенів.

Робота виконана за підтримки гранту Міжнародного Фонду Вишеград.

АКТИВАЦІЯ ЛІПІДНОЇ СИГНАЛІЗАЦІЇ ТА АНТИОКСИДАНТНИХ СИСТЕМ КЛІТИН РОСЛИН ЗА ДІЇ МЕДІАТОРІВ БІОТИЧНОГО СТРЕСУ

Яковенко О.М., Калачова Т.А., Кретинін С.В., Кравець В.С.
Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України,
02660,Україна, Київ, ул. Мурманська 1; e-mail: yon@bpci.kiev.ua

Вплив стресових факторів біотичного походження індукує в організмі рослин швидкі та багатогранні метаболічні реакції. Первинна відповідь спостерігається вже у перші хвилини після ураження і є неспецифічною для поранення, інфекції чи інвазії. Подальша дивергенція адаптивних реакцій відповідно до типу та способу живлення патогену реалізується вже за участі фітогормонів саліцилової та жасмонової кислот, що асоційовані відповідно з біотрофними та некротрофними патогенами. Однак у клітинах рослин існують універсальні системи вторинних посередників, через які проходить більшість сигнальних каскадів. Такими посередниками є фосфатидна кислота, що є продуктом активації ферментів ліпідного метаболізму, зокрема фосфоліпази D та діацилгліцеролкіназ та активні форми кисню, баланс яких у клітині регулюється головним чином ферментними системами генерації та детоксифікації. Проведені нами дослідження з використанням [^{33}P] мічення рослинних тканин та наступного аналізу спектру фосфоліпідів виявили індуковане екзогенною саліциловою кислотою (СК) підвищення вмісту фосфатидної кислоти у проростках сої, що свідчить про активацію ферментів ліпідного метаболізму. Для дослідження внеску фосфоліпази D у СК-індуковане накопичення фосфатидної кислоти в середовище інкубації тканин вводили 1-бутанол, включення якого в реакцію гідролізу фосфоліпідів призводить до утворення специфічного продукту – фосфатидилбутанолу. За таких умов 30 та 60 хвилинний вплив СК індукував підвищення вмісту фосфатидилбутанолу більш ніж вдвічі, що свідчить про включення фосфоліпази D в каскад реакцій, активованих фітогормоном.

Нами було показано зміни балансу активностей ферментних антиоксидантних систем рослин сої та накопичення в тканинах ендогенного пероксиду за впливу СК та ЖК, причому максимальний ефект було зафіксовано за умов спільної дії обох медіаторів імунних реакцій. Виявлена за дії досліджених гормонів інтенсифікація процесів перекисного окислення ліпідів супроводжувалася зниженням загальної відновлювальної активності фенольних антиоксидантів. Зафіксоване в ході роботи підвищення активності супероксиддисмутази необхідне для детоксифікації супероксидних радикалів, продукованих НАДФН-оксидазою у відповідь на дію медіаторів біотичного стресу. В свою чергу, зниження активності каталази запобігає остаточній деградації активних форм кисню та забезпечує підтримання вмісту пероксиду на рівні, необхідному для забезпечення розвитку імунних реакцій рослинного організму. Таким чином, отримані нами дані свідчать про залучення ферментів ліпідного сигналінгу і тонкої регуляції систем генерації та детоксикації активних форм кисню в реакції клітин рослин за дії медіаторів біотичного стресу.

Дослідження виконані за підтримки Грантів НАН України №8-11. Сортове насіння сої люб'язно надане Інститутом землеробства УААН.

РЕГУЛЯТОРНА ДІЯ NO У РОСЛИН ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ В УМОВАХ ПРИРОДНОЇ ПОСУХИ

Жук І.В.
ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка

Дослідження сигнальних систем та регуляторних процесів у рослин дозволило встановити визначну роль оксиду азоту NO у цих процесах (Красиленко та ін., 2010). З'ясовано, що ендогенний синтез NO відбувається у різних компартментах клітини. NO задіяний у адаптивних реакціях, сигнальних системах. Показано, що NO бере участь в регуляції продихів. Захисну роль NO пов'язують з його здатністю до детоксикації активних форм кисню, зупинки окиснення ліпідів вільними радикалами та фрагментації ДНК. Нами в умовах модельних лабораторних та польових дослідів було показано, що достресова обробка рослин пшениці продуцентом NO – нітропрусидом натрію – зменшувала негативну дію високотемпературного стресу та посухи на проростки озимої та рослини ярої пшениці (Жук, Капустян, Мусієнко, 2009; Жук, Мусієнко, 2010).

Метою подальших досліджень було вивчення регуляторної ролі NO у рослин озимої пшениці сортів Поліська 90, Харус, Донська напівкарликова. Досліди проводили на дерново-підзолистому ґрунті в умовах Київської області. Обробку рослин донором NO нітропрусидом натрію в концентрації 0,5 мМ проводили у фазі трубкування. Після обробки рослин протягом подальшого онтогенезу проводили дослідження водного статусу та антиоксидантної активності листків, морфометричних параметрів та продуктивності рослин. Встановлено, що у оброблених донором NO рослин пшениці відбувалась стабілізація водного статусу листків, що зменшувало втрати води рослинами в умовах дефіциту води у ґрунті. Виявлено, що у всіх досліджених сортів протягом періоду трубкування-формування зерна активність пероксидаз у клітинах мезофілу прапорцевих листків зменшувалась, а в період молочної стиглості зерна незначно зростала, порівняно з відповідними значеннями у контрольному варіанті. Очевидно, регуляторна роль NO проявилась у зменшенні окиснювального стресу у озимої пшениці в умовах природної посухи. Показано, що обробка рослин озимої пшениці у фазі трубкування підсилювала ростові процеси в прапорцевих листках, збільшувала довжину колоса, кількість зерен у колосі, масу 1000 зерен. Найбільш значні зміни у кількості та масі зерен відзначено у сортів Поліська 90 та Харус. Продуктивність рослин озимої пшениці, які були оброблені донором NO, зростала на 4 ц/га у сорту Поліська 90, на 9 ц/га – у сорту Харус і на 2 ц/га – у сорту Донська напівкарликова. Відносний внесок окремих складових формування продуктивності у кожного сорту після дії NO суттєво відрізнявся. У сортів Харус та Донська напівкарликова значно збільшувалась висота рослин та довжина колоса, однак кількість колосків у колосі у всіх сортів змінювалась незначно. Кількість зерен у колосі та маса 1000 зерен найбільше зростала у сортів Харус та Донська напівкарликова. Отже, кінцева продуктивність рослин формувалась як складова всіх компонентів структури врожаю. Таким чином, регуляторна дія NO у рослин озимої пшениці в умовах природної посухи полягала у зменшенні інтенсивності окиснювального стресу, втрат води, стимуляції ростових процесів у період формування останнього міжвузля та прапорцевого листка.

Жук І.В., Капустян А.В., Мусієнко М. М. Захисна роль оксиду азоту за дії високотемпературного стресу на рослини пшениці // Вісник Київського національного університету ім. Тараса Шевченка. Серія "Інтродукція та збереження рослинного різноманіття" – 2009. – Вип. 26 – С. 69 – 71.

Жук І. В., Мусієнко М. М. Вплив оксиду азоту на рослини пшениці в умовах посухи // Вісник аграрної науки – 2010. – №5 (685) – С. 32 – 34.

Красиленко Ю.А., Емец А. И., Блюм Я. Б. Функциональная роль оксида азота у растений // Физиология растений. – 2010. –Т.57, №4. – С.483 – 494.

ВЕГЕТАТИВНЕ ПОНОВЛЕННЯ ІНТРОДУКОВАНИХ ВИДІВ РОДУ *RHUS* L. В УМОВАХ НАЦІОНАЛЬНОГО ДЕНДРОЛОГІЧНОГО ПАРКУ «СОФІЇВКА» НАН УКРАЇНИ

Ковальчук Т.Д.
Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України

Результатом успішності інтродукції видів роду *Rhus* L. (*Rhus typhina* L., *Rhus typhina* 'Laciniata', *Rhus glabra* L. (Каталог…, 2000) у Національному дендрологічному парку «Софіївка» є акліматизація та натуралізація рослин, які здатні без особливого догляду рости, давати насіння та кореневі паростки. Здатність природного поновлення забезпечує неперервність і спадкоємність життя. У більшості деревних рослин домінує насіннєве поновлення. У даних представників роду *Rhus* в умовах дендропарку переважає вегетативне поновлення над насіннєвим. Це пояснюється тим, що виповненість насіння в суцвіттях варіює у *Rhus typhina* L. від 27,05% до 0,97%, *Rhus typhina 'Laciniata'* — 3,69 % —1,9%, *Rhus glabra* L.— 46,6% та дані види самосіву не дають.

Вегетативне поновлення, порівняно з насіннєвим, характеризується певними особливостями. Розрізняють поросль кореневу та від пня, і кореневі паростки (Крамер, Козловский, 1963). Поросль від пня — це пагони, які ростуть від кореневої шийки і від нижніх частин стовбура дерева, розвивається із раніше утворених сплячих бруньок. Коренева поросль розвивається із додаткових бруньок, які ростуть між корою і деревиною кореневих лап. Кореневі паростки розвиваються із додаткових або адвентивних бруньок на коренях, їх утворення збільшується при механічному пошкодженні. На коренях додаткові бруньки утворюються ендогенно внаслідок діяльності меристеми (Мороз, Гришко-Богменко, 1994; Джуран, 2001). Їхня будова не відрізняється нічим від звичайних верхівкових і пазушних бруньок.

Розмноження дерев кореневими паростками — явище дуже рідкісне, воно притаманне типово для листяних дерев і дуже рідко зустрічається у хвойних. Всі листяні дерева в різних місцях свого поширення утворюють не однозначну кількість порослі. Інтенсивність утворення кореневих паростків обумовлюється такими факторами, як вид дерева, час рубки, розмір батьківського дерева і ділянки. Завдяки кореневим паросткам відбувається природне поновлення представників роду *Rhus* у дендропарку «Софіївка». Інтенсивність паросткового поновлення обумовлюється вище зазначеними факторами. Значно збільшується кількість паростків при механічному пошкодженні кореневої системи *Rhus*, ранньовесняним видаленням кореневих паростків. Спостерігаємо тенденцію до збільшення інтенсивності паросткового поновлення при збільшенні віку посадок *Rhus*, на горбистих ділянках південної експозиції, де зменшується кількість вологи у ґрунті, на ділянках із малою рослинною навантаженістю. В залежності від призначення посадок контролюється кількість особин в угрупованні, тому що він часто поводить себе як інвазійна рослина за рахунок паросткового поновлення. Хоча не створює конкуренції для вікових аборигенних видів деревних рослин.

Джуран В.М. Морфологія рослин. Лабораторні заняття: (Навч. посібник). Переяслав-Хм.: «Вісник Переяславщини» , 2001. — 146 с.

Крамер П.И., Козловский Т.Т. Физиология древесных растений. — Москва: ГОСЛЕСБУМИЗДАТ, 1963. — 563 с.

Каталог рослин дендрологічного парку «Софіївка» / [Білик О.В. та ін.]; під ред І.С. Косенка. — Умань: дендрологічний парк «Софіївка» НАН України, 2000. — 160 с.

Мороз І.В., Гришко-Богменко Б.К. Ботаніка з основами екології: Навч. Посібник.— К.: Вища шк.., 1994.— 240 с.: іл.

НАКОПИЧЕННЯ ТА РОЗПОДІЛ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ В ОРГАНАХ ВИНОГРАДНОЇ РОСЛИНИ

Кузьменко Є.І.
Національний науковий центр «Інститут виноградарства і виноробства ім. В.Є. Таїрова»

Одним із джерел забруднення ампелоценозу важкими металами (ВМ) є викиди автотранспорту. Накопичення ВМ у ґрунті безпечно лише до тих пір, поки рослини здатні протистояти їх транслокації в організм та акумуляцій в їстівних частинах. Якщо вміст металів в урожаї винограду перевищить їх гранично допустимі концентрації (ГДК), тоді виноградна продукція може представляти серйозну небезпеку для здоров'я населення.

Метою дослідження було визначення вмісту ВМ – Pb, Cu, Zn, Fe в органах виноградної рослини. Дослідження впливу ВМ, з викидів автотранспорту, проводили на технічному сорті винограду Сухолиманський білий на виноградній плантації, розташованої поруч з автотрасою. Ґрунт – чорнозем південний малогумусний важкосуглинковий на карбонатному лесі. Дослідна ділянка була умовно розділена на чотири зони – I (0–25 м), II (25–50 м), III (50–75 м), IV (75–100 м). Відлік починався з 1 ряду винограднику. Повторність досліду – триразова. Контрольна ділянка знаходилась на значній відстані від автошляху. Визначення вмісту ВМ проводили на ААС С–115. Для екстракції ВМ з рослинних зразків (однорічні пагони, листки, суцвіття, грона) використовували розчин 10 % HCl.

В результаті проведених досліджень було виявлено, що найбільший вміст свинцю містився в органах рослин I і II зони. З віддаленням від джерела забруднення, в III і IV зоні, вміст свинцю поступово зменшувався, досягаючи контрольних показників. Так, перевищення вмісту Pb в органах рослин I та II зон відносно контролю становило: для пагонів – 1,6–1,4, для листків – 1,8–1,6, для генеративних органів – 1,5–1,3, відповідно. Вміст свинцю в органах рослин III зони, також, дещо перевищував показники контрольного варіанту. В IV зоні вміст свинцю в рослинах суттєво не відрізнявся від контролю.

Акумуляція міді, цинку та заліза в рослинах дослідних зон мала протилежний від свинцю характер. Так, при аналізі вмісту металів з I до IV зони спостерігалось, навпаки, підвищення вмісту вищевказаних металів. На нашу думку така закономірність пов'язана з значним накопиченням свинцю в ґрунті I-III зон, та значно меншою акумуляцією інших металів, що привело до формування антагоністичних відносин між Pb, з одного боку та Cu, Zn, і Fe, з іншого, при поглинанні металів рослиною. Вміст міді, цинку та заліза у рослинах IV зони суттєво не відрізнявся від контролю.

Було встановлено, що за ступенем насиченості ВМ органи виноградної рослини розташовувались в наступному порядку: листки > пагони > суцвіття/грона. Вміст ВМ у вегетативних органах рослин ми порівнювали з класифікацією В.Б. Ільїна [Ильин, 1991], а в гронах винограду – з показниками ГДК [Виноград, 1994]. Було виявлено, що вміст металів у вегетативних органах та врожаї винограду дослідних зон знаходився в межах встановлених норм.

Виноград свіжий технічний. Технічні умови: ДСТУ 2366–94. – Київ: Держстандарт України, 1994. – С. 2–3.
Ильин В.Б. Тяжелые металлы в системе почва–растение [Текст] / В.Б. Ильин. – Новосибирск: Наука, 1991. – 151 с.

ПОСТТРАВМАТИЧНІ РЕГЕНЕРАЦІЙНІ ПРОЦЕСИ РОДУ *PYRUS* L.

Кучер Н.М., Опалко О.А.
Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України, Умань

В основі вегетативного розмноження багатьох рослин, у тому числі представників роду *Pyrus* L., є здатність до регенерації. Це стосується і вкорінення живців (відновлювальна регенерація), і зрощування тканин при щепленні (одна з форм посттравматичної регенерації). Регенерація є одним з головних неспецифічних способів захисту рослин від усякого роду пошкоджень, які погіршують стан рослин. Через травмовані місця проникають різні патогенні мікроорганізми, тому швидкість гоєння і його якість мають велике значення (Кренке, 1950; Косенко та ін., 2008), а особливо для багаторічних плодових, до яких належить груша.

Впродовж тривалого життя деревних рослини трапляються різноманітні травми, тому посттравматичну регенераційну здатність представників роду *Pyrus* L., як і інших рослин, необхідно враховувати як при проектуванні ландшафтних композицій, так і при плануванні строків садіння та операцій догляду (Опалко, 2006).

Груша, як і більшість плодових рослин, має велику кількість видів, декоративних і плодових форм (Матвієнко, 2006), що різняться за регенераційною здатністю.

Для вивчення динаміки регенераційного потенціалу деревних плодових культур, у Національному дендропарку «Софіївка», протягом 2008–2010 виконували дослідження посттравматичної регенераційної здатності *in vivo* представників роду *Pyrus* L. за розробленою О.А. Опалко (2004) методикою. Вивчали закономірності прояву регенераційної здатності сортів Бере Десятова, Уманська ювілейна, Княгиня Ольга і Софія, з яких у середньому за роки досліджень найвища регенераційна здатність була у Бере Десятова та Княгиня Ольга. Протягом сезону високу активність регенераційних процесів у досліджених сортів спостерігали у період з травня до середини серпня з двома-трьома хвилями підвищеного регенераційного потенціалу, що дещо різнилися за календарними датами у кожного з сортів та у різні роки досліджень.

Косенко І.С. Постравматичні регенераційні процеси у рослин / І.С. Косенко, О.А. Опалко, А.І. Опалко // Автохтонні та інтродуковані рослини України: Зб наук праць НДП Софіївка НАН Украіни — Умань, 2008 – – С. 10–15.

Кренке Н.П. Регенерация растений / Кренке Н.П. — М.; Л.: Изд- во АН СССР, 1950. — 667 с.

Матвієнко М.В. Груша в Украні / Матвієнко М.В., Бабіна Р.Д., Кондратенко П.В. — К.: Аграрна думка УААН, 2006. — 320 с.

Опалко О.А. Вивчення посттравматичного регенераційного потенціалу вегетативних органів плодових культур непрямими методами / О.А. Опалко, А.І. Опалко // Селекція плодових і овочевих культур. Практикум: Навчальний посібник / Опалко А.І., ЯценкоА.О., Опалко О.А., Мойсейченко Н.В. — Умань, 2004. — С. 147–149.

Опалко О.А. Регенерационная способность как критерий использования рода Malus Mill. в ландшафтных композициях // Труды Тбилисского ботанического сада. / О. Опалко, А. Опалко. — 2006. — Т. 96. — С. 187–189.

ВЛИЯНИЕ ФОТОПЕРИОДА НА СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ УГЛЕВОДОВ СИМБИОТИЧЕСКОГО АППАРАТА ИЗОГЕННЫХ ПО *Е*-ГЕНАМ ЛИНИЙ СОИ

Попова Ю.В.

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, кафедра физиологии и биохимии растений

Фотопериодические условия значительно изменяют темпы развития растений, одной из причин этого является изменение накопления и оттока ассимилятов и их перераспределение между аттрагирующими центрами в растении (Чиков, 1987; Цибулько, 1998). Углеводы, синтезирующиеся растением, являются важным фактором для обеспечения веществом и энергией процесса фиксации молекулярного азота клубеньковыми бактериями бобовых растений (Проворов, 2006).

Однако влияние фотопериода на состав и содержание углеводов, поступающих в симбиотический аппарат изогенных линий сои, не исследовано. Нами ранее показано, что короткий день снижает содержание сахаров в клубеньках у фотопериодически нейтральных (ФПН) сортов и не влияет на их содержание у короткодневных (КД) сортов сои (Zhornyak, Avksentyeva, 2007).

Использование в качестве модельных объектов изогенных линий сои, созданных в генофонах сортов Clark, несущих доминантные и/или рецессивные аллели *Е*-генов, позволяет изучить эффекты этих генов на функционирование и формирование симбиотического аппарата.

В связи с изложенным, целью данной работы было изучить влияние фотопериода на состав и содержание углеводов симбиотического аппарата изогенных по *Е*-генам линий сои.

Материалом для исследования служили линии сои сорта Clark, различающиеся состоянием аллелей *Е*-генов: ФПН линия с генотипом *e1e2e3*, КД линия с генотипом *E1E2E3*. Растения выращивали в полевых условиях на экспериментальном участке кафедры физиологии и биохимии растений Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина. На стадии третьего настоящего листа одну часть растений подвергали влиянию короткого фотопериода (9 часов), а другую часть продолжали выращивать в условиях естественного длинного дня (16 часов). Содержание водорастворимых углеводов определяли в клубеньках по Швецову и Лукъяненко.

Результаты исследований показали, что содержание моно- и олигосахаров, а также общая сумма сахаров меньшая как у ФПН растений так и у КД растений при выращивании в условиях короткого дня. После прекращения воздействия коротким фотопериодом содержание углеводов в клубеньках обеих изогенных линий сои оставалось более низким, чем на длинном дне. Однако уровень снижения этого показателя более значителен у КД линии, чем у ФПН. Вероятно, *Е*-гены участвуют в накоплении продуктов ассимиляции в листьях и способствуют их поступлению в корневую систему для обеспечения симбиотического аппарата энергетическим и пластическим материалом.

Проворов Н.А., Долгих Е.А. Метаболическая интеграция организмов в системах симбиоза // Журнал общей биологии. – 2006. – Т.67, №6. – с. 403-422

Цибулько В.С. Метаболические закономерности фотопериодической реакции растений. – Киев.: Аграрна наука, 1998. – 182с.

Чиков В.И. Фотосинтез и транспорт ассимилятов. – М.: Наука, 1987. – 192с.

Zhornyak J., Avksentyeva O. The influence of photoperiod on the content and composition of sugars in Glycine Max (L.) Merr. // Proceedings of the 111 International Yong scientists conference “Biodiversity. Ecology. Adaptation. Evolution” (Odessa, 15-18 May, 2007). - Odessa: Pechtniy dom, 2007. – P. 79-80.

ДИФЕРЕНЦІЙНА ЕКСПРЕСІЯ ДЕФЕНЗИНУ PsDef2 В ОРГАНАХ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ

Юсипович Ю.М., Ковальова В.А., Гут Р.Т.
Національний лісотехнічний університет України
79057 м. Львів, вул. Ген. Чупринки, 103;e-mail: rgoutmollab@ukr.net

Рослинні дефензини є складовою частиною індукованих і конститутивних механізмів захисту рослин проти стресових чинників (Thomma *et al*., 2002). На сьогодні для сосни звичайної відомо два представника цієї групи протеїнів – PsDef1 і PsDef2, гени які було клоновано в лабораторії молекулярно-генетичних маркерів рослин кафедри лісівництва Національного лісотехнічного університету України (Ковальова та ін., 2007, 2008, 2010). Рівень гомології між двома протеїнами складає 87 %. Раніше нами було показано специфіку експресії дефензину PsDef1в різних органах *Pinus sylvestris* (Юсипович та ін., 2011).

Метою дослідження було визначити експресію гена *Ps*Def2 (GenBank No. EF 455617) у різних органах на різних етапах онтогенетичного розвитку сосни звичайної. Експресію дефензину 2 визначали у зрілому насінні, незрілому насінні, яке зібране із серпневих стробіл, восьмиденних проростках, вегетативних (корінь, кора, хвоя, бруньки) та генеративних органах (макро-, мікростробіли, пилок) 15-річної сосни. Дослідження експресії здійснювали на рівні мРНК, методом полімеразної ланцюгової реакції з попередньою зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР), використовуючи специфічні праймери до послідовності *Ps*Def2. Умови проведення ПЛР: (95 °С – 5хв; 95 °С – 1хв; 53,5 °С – 1хв; 72°С – 1хв (25 циклів); 72 °С – 10 хв.). Довжина продуктів ампліфікації становила 210 п.н. Як контроль транскрипції слугував ген 60s рибосомального білка *L 44*.

Електрофоретичний аналіз ПЛР продуктів показав наявність ампліконів очікуваної довжини дефензину 2 сосни звичайної в зрілому насінні, корі, коренях, хвої та вегетативних бруньках (в період зимового спокою). Високий рівень експресії дефензину 2 виявлено у різних частинах восьмиденних проростків – корінці, гіпокотилі й сім'ядолі. Крім вегетативних *Ps*Def2 експресується у генеративних органах *Pinus sylvestris* – мікростробілах і макростробілах поточного року. У пилку та незрілому насінні продукти гену *Ps*Def2 не виявлено.

Присутність продуктів експресії гену *Ps*Def2 у насінні, проростках, вегетативних та генеративних органах вказує на те, що дефензин 2 є невід'ємним компонентом імунної системи захисту сосни звичайної на різних етапах її онтогенетичного розвитку. Подальші дослідження впливу гормонів (саліцилату, ясминату) на рівень експресії дефензину 2 сосни звичайної дозволять з'ясувати шляхи регуляції експресії даного білка.

Робота підтримана грантом ДФФД України (проект № Ф41.4 /049).

Ковальова В.А. Дефензини в геномах рослин родини *Pinaceae* // Наук. вісник НЛТУ України: Зб. наук-техн. праць. – Львів: НЛТУ України. 2010. – Вип. 20.2. – С. 32–36.

Ковальова В.А., Гут І.Т., Гут Р.Т. Отримання рекомбінантного дефензину 1 сосни звичайної та його антифунгальна активність // Біополімери і клітина. – 2008. – Т 24, № 5. – С. 337–385.

Ковальова В.А., Криницький Г.Т., Гут Р.Т. Аналіз експресії дефензину в процесі проростання насіння сосни звичайної // Наук. вісник НЛТУ України: Зб. наук-техн. праць. – Львів: НЛТУ України. – 2007. – Вип. 17.8. – С. 24–27.

Юсипович Ю. М., Ковальова В.А., Гут Р. Т. Органоспецифічна експресія дефензину 1 (*Ps*Def1) у *Pinus sylvestris L.* // Наук. вісник НЛТУ України: Зб. наук-техн. праць. – Львів: НЛТУ України. – 2011. – Вип. 21.3. – С. 44–49.

Thomma B., Cammue B., Thevissen K. Plant defensins // Planta. – 2002. – Vol. 216, № 2. – P. 193–202.

ФОРМИРОВАНИЕ И ПРОДУКТИВНОСТЬ АССИМИЛЯЦИОННОГО АППАРАТА ИЗОГЕННЫХ ПО *Е*-ГЕНАМ ЛИНИЙ СОИ В ПРОЦЕССЕ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОЙ ИНДУКЦИИ

Юхно Ю.Ю., Малышко А.С.

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, каф. физиологии и биохимии растений

Процессы роста и развития растительного организма находятся под контролем генома и регулируются рядом внутренних и внешних факторов. Одним из факторов окружающей среды, которые сильнее всего влияют на скорость перехода к генеративной фазе, является фотопериод. Ответная реакция растений на продолжительность фотопериода, фотопериодическая реакция, не только затрагивает процесс развития растений, вызывая изменения ростовых процессов, а также является определяющим фактором по отношению к процессам фотосинтеза, влияя на его интенсивность и направленность распределения его продуктов (Киризий, 2004). В свою очередь, фотосинтез является необходимым условием осуществления фотопериодической реакции (Цибулько, 1998).

Материалом для исследований служили линии сои (*Glycine max* (L.) Merr.) сорта Clark, изогенные по *Е*-генам, любезно предоставленные Национальным центром генетических ресурсов растений Украины. Они отличаются по фотопериодической чувствительности, которая зависит от состояния *Е*-локусов: *E1/e1*, *E2/e2* и *E3/e3*. Растения выращивали в полевых условиях на природном длинном дне (16 ч.) и искусственно сокращенном до 9 часов. В течение опыта – до начала фотопериодической индукции, через 7 и 14 дней ее действия – определяли индекс листовой поверхности – ИЛП, фотосинтетический потенциал посевов – ФСП и чистую продуктивность фотосинтеза – ЧПФ (Ничипорович, 1966).

Результаты исследований показали, что на протяжении опыта у всех линий на длинном дне происходило возрастание ИЛП, ФСП и ЧПФ. Самый высокие значения данных показателей были у короткодневных (КД) линий *E1E2E3* и *E1e2e3*, а также у фотопериодически нейтральной (ФПН) линии *e1e2E3*, чуть меньше – у ФПН линии *e1E2e3*. ФПН линия *e1e2e3* характеризовалась самыми низкими значениями данных показателей среди всех линий на длинном дне.

Под влиянием короткого дня происходило снижение уровня изучаемых показателей в большинстве случаев по сравнению с длинным днем. Сильнее всего короткий фотопериод влиял на изменение ИЛП и ЧПФ. Наиболее чувствительными оказались линии с доминантными *E1* и *E3* локусами – *E1E2E3*, *e1e2E3* и *E1e2e3*: ИЛП соответственно ниже на 26%, 24% и 14%, а ЧПФ на 52%, 50 и 65%, чем на длинном дне. Сокращение фотопериода меньше всего влияло на изменение ИЛП и ЧПФ у линий с нейтральной фотопериодической реакцией – *e1E2e3* и *e1e2e3*.

Таким образом, исследованные лини с разной фотопериодической чувствительностью различаются по характеру и степени изменения ИЛП, ФСП и ЧПФ в разных фотопериодических условиях. Наиболее чувствительными к влиянию короткого фотопериода оказались линии с доминантными *E1* и *E3* локусами, самой низкой чувствительностью характеризовалась линия с полным рецессивным генотипом.

Киризий Д.А. Фотосинтез и рост растений в аспекте донорно-акцепторных отношений. – К.: Логос, 2004. – 192с.

Ничипорович А.А., Строганова Л.Е., Власова М.П. Фотосинтетическая деятельность растений в посевах. – Л.: Изд-во АН СССР, 1966. – С. 45-68.

Цибулько В.С. Метаболические закономерности фотопериодической реакции растений. – Киев: Аграрна наука, 1998. – 182с.

ПОЛІМОРФІЗМ УКРАЇНСЬКИХ СОРТІВ ПШЕНИЦІ ЗА 11-М ЕКЗОНОМ ЛОКУСУ *LR34*

Карелов А.В.[1,2], Пірко Я.В.[2], Козуб Н.А.[1,2], Созінов І.О.[1], Блюм Я.Б.[2], Созінов А.А.[2]
[1]Інститут захисту рослин Національної Академії Аграрних наук України, м Київ
e-mail: plant_prot@ukr.net, hromogen-black@ukr.net
[2]Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, e-mail: iht@i.kiev.ua

Бура іржа, що викликається дводомним грибом *Puccinia triticina* Erikss., є однією із найбільш розповсюджених і шкодочинних хвороб пшениці (*Triticum aestivum* L.), втрати врожаю від якої можуть скласти від 3 до 10-15 ц/га й більше (http://agroua.net). «Резистентний» алельний стан локусу *Lr34* забезпечує невидоспецифічну стійкість до цієї хвороби на рівні дорослої рослини, в перші 7-10 днів інфікування зменшуючи кількість урединій на одиницю площі листа й інгібуючи розвиток гриба за «повільним» типом (Kolmer, 1996; Bolton et al., 2008). Гаплотипи пшениці по локусу *Lr34* розрізняються за інсерцією-делецією в екзоні 11, що дало можливість створити кодомінантний STS-маркер *cssfr5* (Evans et al., 2009), інсерцією-делецією в екзоні 10, нуклиотидними замінами в інтроні 4 та екзоні 12. Всього за останніми даними нараховують 5 гаплотипів із яких, проте, лише один фенотипічно проявляється як «резистентний», однак, цілком вірогідними є й інші гаплотипи (Dakouri et al., 2010).

Досліджували сорти озимої м'якої пшениці, створені в Селекційоно-генетичному інституті НААН України (СГІ), Миронівському інституті пшениці ім. В.М. Ремесла НААН України (МІП), Інституті фізіології рослин і генетики НАН України (ІФРіГ) на поліморфізм за 11-м екзоном, для чого використовували кодомінантний маркер *cssfr5* (Evans et al., 2009). Метою дослідження був попередній аналіз вибірки сортів м’якої пшениці української селекції за одним із найбільш характерних молекулярно-генетичних маркерів «резистентного» алельного стану (Dakouri et al., 2010) із тим, щоби в подальшому більш глибоко проаналізувати кожну із отриманих груп сортів за можливими гаплотипами.

Із 51 сорту селекції СГІ, згідно результатам ПЛР, 31 ніс делецію в 11 екзоні, асоційовану із «резистентним» алельним станом локусу *Lr34*. Це свідчить про те, що при створенні сортів пшениці в СГІ, вірогідно, активно використовували селекційний матеріал, що містив локус *Lr34* в «резистентному» алельному стані як і про певну спрямованість селекційного відбору в південній степовій зоні України. Серед сортів створених МІП та ІФРіГ лише 4 з 30 проаналізованих несли делецію в 11-му екзоні, асоційовану із «резистентним» алельним станом.

Частотність делеції у 11-му екзоні локусу *Lr34* серед сортів пшениці української селекції є досить високою і становить приблизно 44%, що значно вище, ніж в європейських сортів. Проте важливим лишається питання про уточнення гаплотипів проаналізованих сортів, зокрема таких, які, згідно маркеру *cssfr5*, мають «резистентний» гаплотип.

Bolton M.D. Lr34-Mediated Leaf Rust Resistance in Wheat: Transcript Profiling Reveals a High Energetic Demand Supported by Transient Recruitment of Multiple Metabolic Pathways / M.D. Bolton, J.A. Kolmer, W.W. Xu, D.F. Garvin // MPMI. − V. 21, №12. – 2008. P. 1515–1527.
Dakouri A. Fine-mapping of the leaf rust *Lr34* locus in Triticum aestivum (L.) and characterization of large germplasm collections support the ABC transporter as essential for gene function / A. Dakouri, B.D. McCallum, A.Z. Walichnowski, S. Cloutier // Theor. Appl. Genet. – V. 121 – 2010. − P. 373–384.
http://agroua.net/plant/chemicaldefence/sickness/s-3/
Kolmer L.M. Genetics of resistance to wheat leaf rust / L.M. Kolmer // Annu Rev. Phytopathol. – 1996 – V. 34. – P. 435−55.

УСПАДКУВАННЯ МОРФОЛОГІЧНИХ ОЗНАК ЛУСКИ У ІНТРОГРЕСИВНИХ ЛІНІЙ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ

Єфіменко Т., Антонюк М., Терновська Т.
Лабораторія генетики та клітинної біології, Національний університет „Києво-Могилянська академія", Київ; e-mail:centaureinae@gmail.com

Дослідження генетичного контролю морфологічних ознак м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) має фундаментальне (Khlestkina et al., 2008) та практичне значення (Caballero et al., 2010). Рослинний матеріал, з яким ми працюємо, містить в геномі інтрогресії від дикорослих родичів пшениці з роду *Aegilops* (Жиров, 1989).

Інтрогресивні лінії пшениці відрізняються одна від одної та від рекурентного генотипу Аврора за кольором луски та наявністю опушення луски, а також за алелями мікросателітних локусів. Популяції F_2 від схрещування ліній з контрастними характеристиками між собою та з генотипом Аврора були досліджені за морфологічними ознаками та деякими молекулярно-генетичними (мікросателітними локусами *Xcfd92* та *Xgdm111*, специфічними до хромосоми 1D, генами *Gli*, специфічними до хромосом 1-ї та 6-ї гомеологічних груп) маркерами.

При вивченні популяцій F_2 від циклічних схрещувань, було встановлено, що гени *Rg2*, *Rg3* та *iRg3* беруть участь у контролі коричневого забарвлення луски. Ген *Bg2* контролює чорне забарвлення луски. Зчеплення між проаналізованими мікросателітними локусами та кольором луски відсутнє, скоріш за все через полігенний контроль ознаки. Три гени залучені в контролі ознаки опушення луски: *Hg1*, *Hg2* та *IHg*. Інтрогресивні лінії відрізняються одна від одної за одним, двома чи трьома з цих генів. Один з цих генів зчеплений з геном *Bg2*. Для однієї комбінації схрещування показана переважна передача гліадинових компонентів, що контролюються геном *GliD1* від одного з компонентів схрещування, локалізованим у хромосомі 1D. Всі інші гени *Gli*, локалізовані у хромосомах 1A, 1B, 6A, 6B та 6D, розщеплюються за Менделем у популяціях F_2. Одна з ліній цієї комбінації схрещування походить від Аврозис ($AABBS^{sh}S^{sh}$), що має гаметоцидну хромосому $4S^{sh}$ в своєму геномі. Отже, переважне спадкування гена *GliD1* може бути пов'язано з транслокацією гаметоцидного гена на хромосому 1D.

Жиров Е.Г. Геномы пшеницы: исследование и перестройка: Дис. ... док. биол. наук: 03.00.15. – Краснодар. – 1989. – 366 с.
Caballero L., Peña R. J., Martin L. M. et al. Characterization of Mexican Creole wheat landraces in relation to morphological characteristics and HMW glutenin subunit composition // Genetic Resources and Crop Evolution. – 2010. – Vol. 57. – P. 657-665.
Khlestkina E. K., Röder M. S., Salina E. A. Relationship between homoeologous regulatory and structural genes in allopolyploid genome – a case study in bread wheat // BioMed Central Plant Biology. – 2008. – Vol. 8, №88. – P. 1-14.

ЦИТОГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТІЙКИХ ДО БОРОШНИСТОЇ РОСИ ЛІНІЙ ПШЕНИЦІ З ХРОМОСОМОЮ $4S^{sh}$ ТА БЕЗ НЕЇ І ГІБРИДІВ ЗА ЇХНЬОЮ УЧАСТЮ

Маньковська О.С., Терновська Т.К., Антонюк М.З.

Національний університет «Києво-Могилянська академія», лабораторія генетики і клітинної біології

М'яка пшениця *Triticum aestivum* (AABBDD) – одна з найважливіших сільськогосподарських культур на планеті, має гарну врожайність, цінні хлібопекарські якості, проте вона є збідненою на гени стійкості до біо- та абіотичних стресів (Qi et al, 2007). Дикорослі родичі пшениці є ресурсом стійкості, але для того, щоб передати її пшениці, потрібно подолати заборону на рекомбінацію між гомеологічними геномами. Гаметоцидні гени здатні в гетеро- та гемізиготному стані викликатти руйнування хромосом у зародку і у тих гаметах, які їх не містять, забезпечуюючи собі перевагу у спадкуванні і індукуючи рекомбінацію між негомологічними геномами (Endo, 1990).

Aegilops sharonensis ($S^{sh}S^{sh}$) – дикорослий родич пшениці, який має в своєму геномі гаметоцидну хромосому з сильною дією $4S^{sh}$. Крім того, цей вид містить гени стійкості до борошнистої роси. Перенести гени стійкості до геному м'якої пшениці стало можливим шляхом використання геномно-заміщеної форми Аврозис (AABBSS), яка є донором S-геному егілопсу. Було отримано стійкі до борошнистої роси лінії пшениці, як такі, що містять, так і ті, які не містять хромосому $4S^{sh}$ (Жиров, Терновская, 1993).

Нами було досліджено обидва типи таких ліній на предмет їх цитогентичної стабільності, передачі нащадкам гаметоцидної хромосоми з використанням її маркеру – ізоферменту бета-амілази, і характеру спадкування ознаки стійкості. Крім того, лінії було проскриновано з використанням поліморфізму алелів мікросателітних локусів, специфічних до хромосоми 3D пшениці, на наявність чужинних інтрогресій і проаналізовано електрофоретичні спектри гліадинів різних генерацій цих ліній.

В результаті було виявлено наявність значного поліморфізму гліадинів, як між генераціями одної лінії, так і між рослинами одної генерації. Цитологічне дослідження показало, що каріотип ліній має незначні відхилення від каріотипу сорту Аврора, проте усі лінії цитологічно стабільні. Розщеплення за алелями гена *β-Amy-A1* серед нащадків F_3 гібридів, у походженні яких брала участь лінія з $4S^{sh}$, показало очевидний вплив гаметоцидної хромосоми на формування генотипів нащадків: було виявлено розщеплення за трьома алелями гена, в той час як на спектрі жодної з рослин, що брали участь у схрещуванні, не було одночасно компонентів, які відповідають усім трьом алелям. Очевидно, гаметоцидній ген ставши чинником перебудови ДНК при фомуванні гамет, спровокував появу нового алелю в нащадків. Розщеплення за алелями гена *β-Amy-D1* серед нащадків F_3 гібридів, у походженні яких брала участь лінія з $4S^{sh}$ характеризувалось перевагою гетерозигот *12 s* з алелем *A. sharonesis* над гомозиготами за обома алелями. Це говорить про стійку гетерозиготність ліній, яка могла бути викликана дією гаметоцидної хромосоми. Було показано, що ген стійкості до борошнистої роси, розташований на хромосомі $3S^{sh}$, має виражену перевагу в успадкуванні серед нащадків ліній-похідних Аврозісу, на основі чого зроблено припущення про транслокацію гаметоцидного гену на $3S^{sh}$.

Жиров Е.Г., Терновская Т.К. Передача пшенице *Triticum aestivum* L. хромосомы *Aegilops sharonensis* Eig. придающей ей устойчивости к мучнистой росе // Генетика. 1993. - Т. 29. - № 4. - С. 639-645.

Endo T.R. Gametocidal chromosomes and their induction of chromosome mutations in wheat. // Jpn. J. Genetics. – 1990. – № 65. – P. 135-152.

Qi L., Friebe B., Zhang P., Gill B.S. Homoeologous recombination, chromosome engineering and crop improvement. // Chromosome Research. – 2007. – Vol. 15. – P. 3–19.

МІНЛИВІСТЬ ЗА ОЗНАКОЮ НАЯВНІСТЬ ВОСКОВОЇ ОСУТИ У ГЕНЕРАЦІЯХ ШТУЧНИХ АМФІДИПЛОЇДІВ ПШЕНИЦІ

Шпильчин В.В., Терновська Т.К.
Національний університет «Києво-Могилянська академія»
вул. Г. Сковороди, 2, Київ, 04655, Україна; e-mail: vshpylchyn@bigmir.net

Передача селекційно-корисних ознак до м'якої пшениці від близькоспоріднених родичів із застосуванням методів хромосомної інженерії часто призводять до порушення геномного гомеостазу, результатом чого стають неочікувані зміни у прояві деяких ознак, які доступні для спостереження. Ознака воскова осуга є саме такою ознакою. У пшениці наявність/відсутність воскової осуги контролюється домінантними промоторами *W1*, *W2, Ws*, розташованими на хромосомах 2BS, 2B та 1B, а також домінантними інгібіторами *Iw1, Iw2, Iw3* (хромосоми 2B, 2D та 1BL) (McIntosh, 2011). Прояв цієї ознаки досліджується на таких об'єктах: 1) Авротика (AABBTT), амфідиплоїд від схрещування тетраплоїдного компоненту AABB м'якої озимої пшениці сорту Аврора – *Triticum aestivum*, AABBDD, (має воскову осугу) з диплоїдним видом *Aegilops mutica* (не має воскової осуги) (Жиров, 1989). Ініціальний амфідиплоїд був зеленим, тобто не мав осуги. Амфідиплоїд AABBTT одразу розщепився на три морфологічно різні форми: Авротику 1, яка нічим не відрізнялася від ініціального амфідиплоїда, Авротику 3 з більш рихлим колосом та Авротіку 2, яка мала на колосі невеликі остеподібні відростки. Саме в Авротіці 2 за кілька генерацій серед зелених рослин виявились блакитні, тобто і колос і листя були вкрити восковою осугою. Пізніше, за 8-10 років, блакитні рослини стали з'являтися серед зелених рослин Авротіки 1. Блакитна форма амфідиплоїда є константною, зелена у кожній генерації вищеплює блакитні рослини. 2) Міоза ($AABBM^tM^t$), амфідиплоїд між лінією твердої пшениці *Mutiko italicum* (AABB), з осугою, та диплоїдом *Ae. comosa* (M^tM^t), без осуги. Ініціальний амфідиплоїд осуги не мав. За кілька генерацій серед зелених рослин стали з'являтися блакитні, та рослини з зеленим колосом на блакитному стеблі, які не відрізнялись від зеленої форми за жодною з інших ознак морфології рослин (Shpylchyn, 2011). Наші дослідження свідчать, що зелені та блакитні форми Авротіки 2 відрізняються за спектрами гліадинів та бета-амілази, а контрастні за восковою осугою форми Міози є ідентичними за даними біохімічними маркерами. В свою чергу аналіз із застосуванням SSR-праймерів показує різницю у спектрах блакитної та зеленої форми Міози. Результати гібридологічного аналізу даних форм не дають змоги пояснити успадкування ознаки жодною з моделей успадкування за Менделем. Можливою причиною цього є прояв нестабільності генома, а також епігенетичні механізми генетичної мінливості, що відбуваються в амфідиплоїдах під час формування їхнього геному (Shpylchyn, 2011). Одним із таких факторів, що спричиняє значні зміни у геномі та впливає на прояв та успадкування ознак є рух мобільних генетичних елементів. В даному повідомленні представлені результати аналізу геномно-доданих форм Авротіки 2 та Міози, що відрізняються за ознакою воскова осуга, із застосуванням праймерів до ретротранспозонів. Аналіз за допомогою маркерних систем IRAP та REMAP (Kalendar, 1999) дав змогу виявити різницю між формами штучно створених амфідиплоїдів, контрастних за ознакою воскова осуга.

Жиров Е. Г. Геномы пшеницы: исследование и перестройка // Краснодар. – Диссертация на соискание ученой степени доктор наук. – 1989. – 366 С.
Kalendar R, Grob T., Regina M., et al IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques // TAG. – 1999. – Vol. 98. – P. 704-711.
McIntosh R.A. et al. Catalogue of gene symbols for wheat.
Shpylchyn V., Ternovska T. Changes in appearance of glaucousness in generations of amphidiploids in the *Triticinae* subtribe // Istanbul. – 9 Plant Genomics European Meetings. – 2011. – Abstract book. – P.68.

ВНУТРІШНЬОЛІНІЙНА МІНЛИВІСТЬ ГЛІАДИНОВИХ СПЕКТРІВ В ІНТРОГРЕСИВНИХ ЛІНІЯХ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ЯК НАСЛІДОК НЕСТАБІЛЬНОСТІ ГІБРИДНОГО ГЕНОМА

Михайлик С.Ю., Антонюк М.З., Терновська Т.К.
Національний Університет Києво-Могилянська Академія, вул. Сковороди 2, Київ

Чимало генів стійкості до шкідників та хвороб сучасних сортів м'якої пшениці мають чужинне походження. Одним з способів інтрогресії є статева гібридизація між тетраплоїдним компонентом AABB м`якої пшениці та близькоспорідненими диплоїдними дикорослими видами з наступною амфідиплоїдизацією та отриманням штучних гексаплоїдів з геномом, де X – геном диплоїдного виду (Zhirov et al., 1986). Такі геномно-заміщені форми стали джерелом певного розмаїття гексаплоїдних цитологічно сталих ліній м'якої пшениці, геном яких включає чужинний хроматин різного обсягу, гомологічної належності та хромосомної локалізації. Для перевірки генетичної стабільності та автентичності групи лінії — похідних Авродеса (геном AABBSS), Аврозиса ($AABBS^{sh}S^{sh}$) та Авролати (AABBUU), — по кілька представників різних їхніх генерацій, було вивчено за електрофоретичними спектрами гліадинів.

Результати характеризувались двома особливостями: практично не було ліній, електрофоретичний спектр гліадинів яких повторював спектр рекурентного генотипу Аврори або був сумою компонентів, що контролюються геномами A та B Аврори та геномом X, спектри мали нові компоненти, не притаманні жодній з прабатьківських форм; частина ліній виявилася нестабільною, демонструючи мінливість за гліадиновим спектром як від генерації до генерації, так і у межах однієї генерації. Найвищу частоту внутрішньогенераційної мінливості спектру показали лінії – похідні Авродесу. Частково це можна пояснити наявністю супресора *Ph1* у геномі Авродесу, який спричинює рекомбінацію гомеологічних хромосом та, як наслідок, підвищену генетичну мінливість усередині гібридного геному. Проте у геномі ліній цей ген відсутній, що доводиться картиною кон'югації хромосом у М1 мейозу МПК інтрогресивних ліній. Аврозис має у складі геному гаметоцидну хромосому $4S^{sh}$, яка за певних умов викликає розрив хромосом та перекомбінацію їхніх фрагментів, отже, також є джерелом мінливості. Проте генетичною мінливістю характеризуються і ті лінії — похідні Аврозису, відсутність гаметоцидної хромосоми для яких доведено. Одна з причин появи нових компонентів може бути пов'язана з особливістю структури гліадинових генів: до складу структурної частини входять повторювальні мотиви та кодони, що кодують поліглутамінові послідовності, являючи собою за молекулярною сутністю мікросателіти (Anderson, Green, 1997). Обидві особливості можуть бути джерелом мінливості білка за довжиною, якщо при реплікації відбувається проковзуванням ДНК-полімерази, елемент нестабільності, що може виявлятися у гібридному геномі. Крім того, нові компоненти гліадинового спектру у інтрогресивних лініях можуть виникати через дію транспозонів, яка, за сучасними даними, може активізуватися внаслідок геномного стресу, спричиненого–внесенням до стабільного геному чужинного генетичного матеріалу (Han et al., 2003). Виключений поліморфізм за компонентами гліадинового спектру, який спостерігається в цитологічно сталих інтрогресивних лініях пшениці, слід розглядати як прояв генетичної мінливості, яка супроводжувала становлення всіх інтрогресивних ліній і в в деяких з них стала перманентним процесом, причину чого слід встановити.

Anderson O. D., Greene F. C. The α-gliadin gene family. II. DNA and protein sequence variation, subfamily structure,and origins of pseudogenes // Theor. Appl. Genet. – 1997. – Vol.95. – P. 59-65.

Han F.P., Fedak G., Ouellet T., Liu B. Rapid genomic changes in interspecific and intergeneric hybrids and allopolyploids of Triticeae // Genome. — 2003. —V. 46. — P. 716–723.

Zhirov E.G., Ternovskaya T.K., Bessarab K.S. Investigation on wheat cytogenetics at Krasnodar Lukyanenko Research Institute of Agriculture // EWAC Newsletter. – Plant Breeding Inst., Cambridge, 1986. - P. 48-52.

ДЕТЕКЦІЯ ГЕНІВ СТІЙКОСТІ (*Lr9*, *Lr19*, *Lr24*) ДО БУРОЇ ІРЖІ В СОРТАХ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ УКРАЇНИ

Галаєв О.В., Сиволап Ю.М.
Південний біотехнологічний центр в рослинництві, Одеса, Україна
E-mail: galaev7@rambler.ru

Бура листова іржа є основним шкодочинним захворюванням пшениці в усіх зонах України, що спричиняє недобір врожаю зерна до 30-40 % (Бабаянц та ін., 2004). У боротьбі з бурою листовою іржею застосовуються методи інтегрованого захисту, серед яких створення стійких сортів пшениці є основним (Гешеле, 1978). За даними відділу фітопатології та ентомології Селекційно-генетичного інституту (СГІ-НЦНС) в Україні ефективними генами є *Lr9* (інтрогресований в пшеницю з *Aegilops umbellulatum*), *Lr19* і *Lr24* (інтрогресовані в пшеницю з *Agropyron elongatum*).

Застосування біотехнологічних методів, а саме ДНК-маркування значною мірою прискорює селекційний процес і підвищує його ефективність.

Метою дослідження було виявлення генів стійкості до бурої листової іржі *Lr9*, *Lr19* і *Lr24* в сортах озимої м'якої пшениці української селекції.

В якості позитивного контролю використовували сорта-носії генів *Lr9* - Transfer, *Lr19* - Agatha та *Lr24* - Agent. Сорта Transfer, Agatha та Agent незалежно від року вирощування і раси патогену виявляли високу стійкість до листової іржі. Об'єктом дослідження були 140 сортів озимої м'якої пшениці різних селекційних установ України. Для тестування сортів пшениці на присутність генів стійкості використано такі маркери: *Lr9* – SCS5 (Gupta et al., 2005), *Lr19* – Gb (Prins et al., 2001), *Xwmc221* (Gupta et al., 2006) і *Lr24* – J9 (Schachermayr et al., 1995).

Гени *Lr9* і *Lr24* не виявлено в досліджених сортах. При використанні маркера Gb в більшості сортів, що характеризуються чутливістю до бурої іржі, детектовано фрагмент ампліфікації 130 п.н., який свідчить про наявність гену *Lr19*. За допомогою кодомінантного мікросателітного маркеру *Xwmc221* не виявили ген *Lr19* в 140 сортах озимої м'якої пшениці. Даний факт свідчить про неефективність використання маркера Gb для детекції гена *Lr19* в сортах української селекції.

Показано, що сорта-носії ефективних генів *Lr9*, *Lr19* і *Lr24* не використовуються в селекції пшениці як донори стійкості до бурої іржі.

Гешеле Э.Э. Основы фитопатологической оценки в селекции растений. - М. – 1978 - 206 с.
Бабаянц Л.Т., Бабаянц О.В., Васильев А.А., Трасковецкая В.А. Расовый состав Puccinia recondite Rob. ex. Desm. *f. sp. tritici* в степи Украины и сортоустойчивость пшеницы // Збірник наукових праць СГІ. – 2004. - Вип. 6 (46). – С. 279-288.
Gupta S., Charpe A., Koul S., Prabhu V., Mohd Q., Haque Q.M.R. Development and validation of molecular markers linked to an Aegilops umbellulata-derived leaf rust resistance gene, *Lr9*, for marker-assited selection in bread wheat // Genome. - 2005. - Vol. 48. - P. 823-830.
Gupta S., Charpe A., Prabhu V., Haque Q.M.R. Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene Lr19 in wheat // Theor. Appl. Genet. - 2006. - Vol. 113, № 3. - P. 1027-1037.
Prins R., Groenewald J.Z., Marais G.F., Snape J.W., Koebner R.M.D. AFLP and STS tagging of Lr19, a gene conferring resistance to leaf rust in wheat // Theor. Appl. Genet. - 2001. - Vol.103. – P. 618-624.
Schachermayr G., Messmer M., Feuillet C., Winzeler H., Winzeler M., Keller B. Identification of molecular markers linked to the Agropyron elongatum-derived leaf rust resistance gene Lr24 in wheat // Theor. Appl. Genet. - 1995. - Vol. 90. - P. 982-990.

ОЦІНКА МІНЛИВОСТІ ЗРАЗКІВ КВАСОЛІ ЗВИЧАЙНОЇ (*PHASEOLUS VULGARIS*) ЗА ДОПОМОГОЮ RAPD-МАРКЕРІВ

Головань Л.В., Пузік В.К.
Харківський національний аграрний університет імені В.В. Докучаєва, Харків, Україна

Сучасним напрямком популяційно-генетичних досліджень культурних, а також дикорослих видів є використання різних типів ДНК-маркерів, які дозволяють вивчати мінливість та структуру популяцій, диференціювати колекційні зразки, створювати генетичні карти культур (Артемьева А.М., 2008, Власова А.Б., 2010, Коновалов Ф.А., 2006). З метою вивчення мінливості зразків квасолі звичайної за молекулярними маркерами були використані зразки різних еколого-географічних зон (Україна, США, Франція, Болгарія та Туреччина).

ДНК виділяли з суміші насіння CTAB методом (Ausubel et al., 1987). Для проведення полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) використовували 10 довільних праймерів, з яких OAC-20, OPF-10, OPI-19, OPU-01, OPW-04, OPW-06, OPW-10 та OPZ-04 розроблені фірмою Operon Technologies (США), а P28 та P37 у Південному біотехнологічному центрі (Україна). Ампліфікацію ДНК проводили у пробірках з ліофілізованим набором реактивів для ПЛР (GenePak PCR core). Кінцевий об'єм реакційної суміші склав 20 мкл і містив 20 нг ДНК та 0,2 мкМ праймера. Розподіл продуктів ампліфікації проводили методом горизонтального електрофорезу у 1,5% агарозному гелі у присутності бромистого етидію. Рівень поліморфізму визначали у відсотках як співвідношення поліморфних локусів до загальної кількості локусів, які детектуються з використанням кожного праймера.

При використанні 10 праймерів була виявлена достатня кількість продуктів ампліфікації для подальшого аналізу генетичного різноманіття зразків квасолі звичайної. Використані праймери дали можливість виявити поліморфізм між всіма зразками квасолі звичайної. Кожний досліджуваний зразок відрізнявся від інших кількістю фрагментів та їх довжиною. Кількість ампліфіконів варіювала від 7 до 12 для праймерів OPZ-04 та OAC-20, відповідно. У середньому їх кількість склала 9,8 на один використаний праймер. Розмір продуктів ампліфікації варіював у широких межах: від 100 до 2759 пн. При аналізі електрофореграм також були виявлені унікальні фрагменти, які характерні тільки для певного зразка квасолі звичайної. Вцілому нами ідентифіковано 101 RAPD-локус, з яких 90 були поліморфними. У середньому рівень поліморфізму склав 89%, що є достатньо високим показником.

Таким чином, при вивченні зразків квасолі звичайної різного еколого-географічного походження за допомогою RAPD-аналізу був встановлений високий рівень поліморфізму. Отримана інформація може бути використана для подальших досліджень в області генетики популяцій з метою вивчення особливостей диференціації зразків та у селекційних програмах при підборі батьківських пар для схрещування та контролю господарсько-цінних ознак.

Артемьева А.М., Чесноков Ю.В., Клоке Э. Генетическое разнообразие и внутривидовые филогенетические взаимоотношения культур вида *BRASSICA RAPA* L по результатам анализа микросателитов // Вестник ВОГиС.- 2008, Т.12, №4.-С. 608-619.

Власова А.Б., Юхимук А.Н., Спиридович Е.В., Решетников В.Н. Сертификация сортов голубики высокой (*Vaccinium corumbosum L.*) районированных в Беларуси, на основе RAPD- и ISSR- маркеров // Вісник УтГіС.- 2010, Т.8, №2.-С.203-210.

Коновалов Ф.А. Картирование и молекулярно-генетический анализ генов гороха (*Pisum sativum L.*) :Дис. … канд. биолог. наук.- Москва, 2006.-128с.

Ausubel, F. M., Brent R. et al. Current protocols in molecular biology / John Wiley & Sons. - New York, 1987.- P. 4.3.1–4.3.3.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ISSR-МЕТОДА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА СОРТОВ *TRITICUM AESTIVUM* L.

Бобошина И.В., Боронникова С.В.
ГОУ ВПО «Пермский государственный университет»

На современном уровне развития селекции для ускорения создания устойчивых и высокопродуктивных форм растений большое значение имеет идентификация сортов, сортообразцов и гибридов. Морфологических признаков часто бывает недостаточно для оценки уровня изменчивости, генетического разнообразия и идентификации (Конарев, 2007).

В исследовании по выявлению генетического полиморфизма растений все больше привлекаются данные ДНК-маркирования, полученные на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР). Одним из перспективных для изучения полиморфизма ДНК является ISSR-метод (Inter-Simple Sequence Repeats) (Zietkiewicz, 1994), который как маркерная система был успешно применен на различных сельскохозяйственных культурах и зарекомендовал себя как воспроизводимый метод, позволяющий выявлять высокий уровень полиморфизма.

Проведен молекулярно-генетический анализ двух сортов *Triticum aestivum* L., районированных в Пермском крае: «Горноуральская» и «Иргина». Для выделения ДНК использовали методику A.M. Torres (1993) с незначительными модификациями с использованием в качестве детергента CTAB. Для проведения амплификации было апробировано 20 ISSR-праймеров, синтезированных в ЗАО «Синтол» (Москва). Температура отжига в зависимости от праймера варьировала от 56 до 64°С. Амплификацию ISSR-методом проводили по стандартной методике (Молекулярная генетика, 2007). Молекулярно-генетический анализ *T. aestivum* выявил, что наиболее информативными праймерами для данного вида являются 5 ISSR-маркеров. Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 1,7% агарозном геле в 1х TBE буфере, гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем УФ-свете в системе гель-документации Gel Doc XR (Bio-Rad, USA). Определение длин фрагментов ДНК проводили с использованием программы Quantity One и маркера молекулярного веса (100 bp +1.5 + 3 Kb DNA Ladder) (“ООО-СибЭнзим-М”, Москва).

При молекулярно-генетическом анализе в сорте «Горноуральская» выявлено 48 ISSR-фрагментов. Число ампликонов варьировало от 7 (праймер X10) до 12 (праймер M1). В сорте «Иргина» выявлено 35 ISSR-фрагментов. Число ампликонов варьировало от 6 (праймеры M27, X10) до 9 (праймер M1). Длины фрагментов у сорта «Горноуральская» варьировали от 200 пн (праймер X10) до 1130 пн (праймеры M1, M3, M27), а у сорта «Иргина». – от 130 пн (праймер M1) до 910 пн (праймер M1). Полиморфизм ДНК, выявленный ISSR-методом, у сорта «Горноуральская» составил 91,7%, а у сорта «Иргина» – 74,3 %.

Таким образом, на основании ISSR-анализа полиморфизма ДНК установлено, что сорт пшеницы мягкой «Горноуральская» характеризуется более высоким уровнем генетического полиморфизма, чем сорт «Иргина».

Конарев В.Г. Молекулярно-биологические исследования генофонда культурных растений в ВИРе (1967–2007 гг.). СПб.: ВИР, 2007. 134с.

Молекулярная генетика: учеб.-метод. пособие / под ред. С.В. Боронниковой; Перм.ун-т. – Пермь, 2007. – 150 с.: ил.

Torres A.M. Linkage among isozyme, RFLP and RAPD markers in Vicia faba / A.M. Torres, N.F. Weeden, A. Martin // Theor. Appl. Genet, 1993. V.5. P. 937 –945.

Zietkiewicz E. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification / E. Zietkiewicz, A. Rafalski, D. Labuda // Genomics, 1994. V. 20. P. 176–183.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МАРКЕРИ В АНАЛІЗІ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ТА ФІЛОГЕНЕТИЧНИХ ЗВ'ЯЗКІВ ДЛЯ ЗБЕРЕЖЕННЯ РІДКІСНИХ ВИДІВ РОДУ *VINCETOXICUM N. M. WOLF.*

Демкович А.Є.[1], Зубцова Т.В.[1], Приваліхін С.М.[1], Назаренко Г.С.[1], Трубнікова Н.М.[2]

[1]Донецький ботанічний сад НАН України

[2]Інститут невідкладної і відновлювальної хірургії ім. В.К. Гусака АМН України

Розробка сучасної та актуальної стратегії збереження рідкісних та зникаючих видів рослин можлива на основі сукупного систематико-філогенетичного та популяційно-генетичного аналізу. Через відсутність оцінок популяційно-генетичної структури рідкісних та зникаючих видів рослин рекомендації щодо збереження ґрунтуються здебільшого на оцінках вікової та просторової структури популяцій. Остання є вкрай мінливою і не може адекватно свідчити про зміни, котрі відбувалися із видом протягом декількох століть, що є конче необхідним для оцінки статусу виду з позицій заходів щодо його збереження, внесення до Червоної книги. З іншого боку, система категорій багатьох рідкісних та зникаючих видів рослин є складною і не розробленою, іноді немає впевненості в їх систематичному положенні. Ймовірно, що на основі морфологічного аналізу за новий вид можуть прийматися гібриди широкопоширених видів. При цьому сукупності морфологічних ознак замало для того, щоб розв'язати питання про існування гібридогенного виду чи лише гібридів. Також є проблематичним питання неоендемізму та реліктовості певних видів. В цьому випадку надійним показником є популяційно-генетична структура видів, вивчення якої може підтвердити історичні строки існування та міжвидові відмінності. Для родин з поширеним апоміксисом і вегетативним розмноженням, лише використання молекулярно-генетичних маркерів дозволяє оцінити популяційно-генетичну структуру і, завдяки цьому, видовий статус окремих груп. В цьому плані є дуже цікавим рід *Vincetoxicum* Volf., який містить більше ніж 100 видів, поширених по території Євразії. До нього належать як достатньо розповсюджені, так і рідкісні та зникаючі види. При цьому таксономія роду донині не розроблена. Так рід *Vincetoxicum* об'єднують із близько спорідненим родом *Cynanchum* (Gilbert et al., 1995; Hooker, 1883; Yamazaki, 1993). З іншого боку ці два роди можуть відокремлювати (Markgraf, 1972; Ohashi, 1990; Qiu et al., 1989), а на основі кладистичного аналізу хімічних та морфологічних ознак була запропонована альтернативна гіпотеза, за якою *Vincetoxicum* ближчий до *Tylophora* ніж до *Cynanchum* (Liede, 1996). В Україні нараховується близько 15 видів (Mosyakin & Fedoronchuk, 1999), більшість з яких є рідкісними та потребують охорони. При цьому здатність до вегетативного розмноження разом із значним розповсюдженням апоміксису та здатністю до міжвидового схрещування ускладнюють як встановлення таксономічних меж, так і розробку заходів щодо збереження окремих видів. Таким чином, проблема збереження біорізноманіття в Україні на прикладі видів роду *Vincetoxicum* є важливою для фундаментальної науки.

Використання в якості молекулярно-генетичних маркерів ядерних мікросателітних послідовностей (Maki et al., 2009) для оцінки різноманіття і популяційно-генетичної структури дозволяє уточнити таксономічне положення і водночас є актуальним в практичному плані, оскільки дозволяє оцінити стан популяцій, і виявити ті, що потребують збереження. Використовуючи узагальнені та уточнені популяційно-генетичні дані, та враховуючи просторову структуру популяцій досліджуваних видів, буде поточнено таксономічний стан і розроблено стратегії збереження видів роду *Vincetoxicum*.

Роботу виконано в рамках досліджень цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України „Фундаментальні основи молекулярних та клітинних біотехнологій" за темою "Молекулярно-генетичні основи філогенії та збереження біорізноманіття рослин на прикладі видів родів Astragalus L. та Vincetoxicum N.M. Wolf." (№ ДР 0110U006084).

ИДЕНТИФИКАЦИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СУБЪЕДИНИЦ ГЛЮТЕНИНА У ДИГАПЛОИДНЫХ ЛИНИЙ ГЕКСАПЛОИДНОГО ТРИТИКАЛЕ

Зайцева О.И.
ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

Гексаплоидное тритикале (× *Triticosecale* Wittm.) (AABBRR), созданное на основании пшеницы и ржи, сочетает ряд благоприятных качеств обоих исходных видов. От ржи тритикале унаследовало устойчивость к наиболее опасным болезням, а от пшеницы высокую урожайность. Однако в настоящее время использование тритикале в пищевой промышленности ограничено, в связи с недостаточно высокими хлебопекарными качествами, которые в значительной степени определяются силой клейковины. Клейковинный полимер (глютен) образован в основном высокомолекулярными и низкомолекулярными субъединицами глютенина, а также мономерными белками глиадинами (Payne et al., 1987). При этом показано, что высокомолекулярные субъединицы глютенина на 47-60% определяют качество клейковины пшеницы (Payne et al., 1987). В этой связи целью работы было проведение молекулярно-генетического анализа аллельного состава глютенин-кодирующих локусов у 18 удвоенных гаплоидов ярового гексаплоидного тритикале, полученных нами в культуре пыльников *in vitro*.

В результате ПЦР-анализа с доминантными и кодоминантными праймерами к генам высокомолекулярных субъединицы глютенина (Ahmad, 2000; Ma et al., 2003) было показано, что все изученные дигаплоиды характеризуются внутрилинейной однородностью. При этом при анализе частоты встречаемости различных аллелей локуса *Glu-A1* у удвоенных гаплоидов было показано, что 14 из них содержали аллель *Glu-A1b* (77,8%), 4 – аллель *Glu-A1c* (22,2%). При оценке качества белка субъединицам 1 и 2*, кодируемым аллелями *Glu-A1a и Glu-A1b* присваиваются 3 балла. Таким образом, большинство линий (77,8%) содержали субъединицу 2*, придающую зерну хорошие хлебопекарные качества.

В результате ПЦР-анализа по локусу *Glu-B1* были выявлены сочетания аллелей *Glu-B1a, Glu-B1b и Glu-B1c*. Наиболее часто встречался аллель *Glu-B1a*, кодирующий субъединицу 7, он был обнаружен у 55,6% изученных линий. Частота встречаемости аллеля *Glu-B1b* (субъединицы 7+8) составила 11,1%, аллеля *Glu-B1c* (субъединицы 7+9) – 33,3%. Пары субъединиц белков, кодируемых аллелями *Glu-B1a, Glu-B1b и Glu-B1c*, оцениваются в 1, 3 и 2 балла, соответственно. Таким образом, 8 удвоенных гаплоидов характеризуются наличием благоприятных для качества клейковины аллелей по локусу *Glu-B1*.

Таким образом, при помощи ПЦР-анализа определен аллельный состав локусов *Glu-A1, Glu-B1* у 18 удвоенных гаплоидов гексаплоидного тритикале, полученных в культуре пыльников *in vitro*. Использование данного подхода позволило установить однородность линий, прогнозировать их хлебопекарные качества, а также отобрать наиболее перспективные по составу высокомолекулярных субъединиц глютенинов удвоенные гаплоиды для дальнейшего использования в селекционном процессе.

Ahmad, M. Molecular marker-assisted selection of HMW glutenin alleles related to wheat bread quality by PCR-generated DNA markers / M. Ahmad // Theor. Appl. Genet. – 2000. – Vol. 101. – P. 892-896.
Multiplex-PCR typing of high molecular weight glutenin alleles in wheat / W. Ma [et al.] // Euphytica. – 2003. – Vol. 134. – P. 51-60.
The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties / Payne P.I. [et al.] // J Sci. Food Agric. – 1987. – Vol. 40. – P. 51–65.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ СОРТІВ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ЗА ЕЛЕКТРОФОРЕТИЧНИМИ СПЕКТРАМИ ГЛІАДИНУ

Коваленко М.С., Мелешко А.О.
Київський національний університет ім. Т. Шевченка

Оцінка селекційного матеріалу на основі білкового маркеру надає можливість досить швидко і якісно його використовувати для визначення сортової чистоти, відбору і контролю передачі біжіних ознак від батьківських форм до гібридних популяцій. Особливе місце у вирішенні цієї проблеми посідають молекулярно-генетичні маркери, які у пшениці представлені запасними білками, у першу чергу гліадинами. Аналіз алельного складу блоків гліадинів дозволяє визначити генетичну однорідність сорту, його походження, а також прогнозувати хлібопекарські якості зерна (Гаврикова, 2007). Ідентифікація компонентного складу гліадинів надає можливість встановити генетичний потенціал рослини і передбачити її реакцію на дію абіотичних факторів (Созинов, 1985; Благодарова, Литвиненко, Голуб, 2004). Тому метою нашої роботи була ідентифікація компонентного складу блоків гліадинів у сортів та ліній пшениці озимої.

Матеріалом для дослідження слугували 13 новостворених сортів пшениці озимої, а також комбінації схрещування цих сортів. Всі комбінації схрещування на сьогодні є практично сформованими сортами у 7-10 регенерації. Сорти Світанок 1, Тітона та Тронка занесені до Реєстру сортів рослин України з 2004 р. Сорти та лінії створені шляхом індивідуального добору за фізіологічними показниками стабільності продукційного процесу на базі ПССДП «Бор». Оригінатор сортів та ліній – к.б.н. Артюшенко П.М.

Для ідентифікації компонентного складу гліадинів використовували стандартний метод електрофоретичного розділення в поліакриламідному гелі при кислих значеннях pH (Попереля, Асыка, Ключко та ін., 1989) з деякими модифікаціями. Співставлення отриманих електрофореграм проводили за каталогом алельних варіантів блоків гліадинів (Созинов, 1985).

За результатами аналізу компонентного складу блоків гліадинів було виявлено п’ять зразків, яким притаманний внутрішньосортовий поліморфізм. Серед досліджуваних зразків нових блоків гліадинів не виявлено. Електроофрез гліадинів показав значне різноманіття їх складу, а також, що більшість досліджуваних сортів та ліній мають характерний набір гліадинкодуючих алелів. Однак деякі генотипи пшениці мають однакові гліадинові формули, хоча відрізняються за певними ознаками.

Найбільш поліморфними у досліджуваних сортів та ліній виявились локуси Gld 1A, Gld 1D та Gld 6B. Локус Gld 1A представлений в основному блоками Gld 1A7 та Gld 1A4, які зустрічаються у 40 та 23% відповідно. За локусом Gld 1B понад 70% зразків мали блок Gld 1B1. Майже у половини досліджуваних сортів та ліній виявлений блок Gld 1D7, також часто зустрічається блок Gld 1D5. Локуси Gld 6A, Gld 6B та Gld 6D більш, ніж на половину представлені блоками Gld 6A3, Gld 6B5 та Gld 6D1 відповідно.

Благодарова О.М., Литвиненко М.А., Голуб Є.А. Геногеографія алелів гліадин- і глютенінкодуючих локусів українських сортів озимої пшениці і їх зв’язок з агрономічними ознаками // Збірник наук. праць СГІ – 2004. – №6. – С. 124-137.

Гаврикова О.М. Связь между составом белков и технологическими свойствами зерна у сортов озимой мягкой пшеницы: автореферат дис. канд. биол. наук. 03.00.12. – М.: 2007.– 24 с.

Попереля Ф.А., Асыка Ю.А., Ключко П.Ф., Соколов В.М., Трофимов В.А., Сергеев В.В. Определение гибридности семян кукурузы по электрофоретическим спектрам зеинов // Докл. ВАСХНИЛ. – 1989. – № 3. – С. 2-4.

Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. – М.: Наука, 1985. – 272 с.

ИНТРОГРЕССИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ЛОКУСОВ ДИКОГО ДИПЛОИДНОГО ВИДА КАРТОФЕЛЯ SOLANUM BULBOCASTANUM В МЕЖВИДОВЫЕ ГИБРИДЫ

Полюхович Ю.В., Воронкова Е.В., Ермишин А.П.
ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»
Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27; e-mail: E.Voronkova@igc.bas-net.by

Вовлечение в селекционный процесс дикого диплоидного вида картофеля из Мексики *Solanum bulbocastanum* (1EBN), характеризующегося высоким уровнем полевой устойчивости к фитофторозу, сильно затруднено из-за жестких пре- и постзиготных межвидовых барьеров. Для решения данной проблемы актуальным является разработка новых методов их преодоления. Нами изучалась возможность использования в качестве вида-посредника для вовлечения в селекцию *S. bulbocastanum* дикого самосовместимого диплоидного вида картофеля *S.verrucosum* (EBN2). В пестиках этого вида, в отличие от большинства других видов картофеля, отсутствуют S-РНКазы. Благодаря этому при использовании *S.verrucosum* в межвидовых скрещиваниях в качестве материнской формы не происходит ингибирование роста пыльцевых трубок. При гибридизации между *S.verrucosum* и *S. bulbocastanum* в наших экспериментах была достигнута очень высокая для подобных межвидовых скрещиваний эффективность: 22 семян/опыление. Ожидалось, что из-за различий в EBN родительских видов количество гибридных семян должно быть значительно меньше

Данные по всхожести семян, сравнение морфологических признаков исходных родительских видов и гибридных растений, а также показатели функциональной фертильности гибридов в целом подтвердили их происхождение от *S. bulbocastanum*. Однако для более точного доказательства гибридности сеянцев, а также оценки возможности интрогрессии ценных генов от *S. bulbocastanum* в селекционный материал нами проводился сравнительный молекулярно-генетический анализ исходных родительских форм и гибридов на их основе. RAPD-анализ с 10 праймерами выявил наличие специфических локусов *S. bulbocastanum* в продуктах амплификации у 14 из 15 исследованных растений. Представленность специфических для *S. bulbocastanum* локусов (количество видоспецифических локусов/количество проанализированных локусов×100%) варьировала от 3,92% до 15,38 %. Представленность локусов, которые отсутствовали у родительских форм, была от 1,45% до 13,46%. Из использованных RAPD-маркеров наиболее информативными оказались OPA 15 (590 bp) и OPC-06 (1050 bp), которые были представлены у 10 и 9 гибридов соответственно. Частота встречаемости локусов *S. bulbocastanum* была выше у тех гибридов, материал для анализа которых был собран в фазу цветения, когда можно было проводить отбор растений, отличающихся от материнского родителя по окраске венчика.

SCAR-маркер RGA2 гена Rpi-blb1 устойчивости к фитофторозу был обнаружен у 6 из 8 образцов *S. bulbocastanum*, использованных в работе, и не был выявлен у образцов *S.verrucosum.* Его наличие было установлено у 4 гибридных сеянцев из 15 проанализированных. Интересно, что все эти сеянцы имели, в отличие от материнской формы, белые или светло-голубые цветки. Кроме того, у этих четырех гибридов наиболее полно были представлены специфичные для *S. bulbocastanum* RAPD-маркеры.

Таким образом, полученные результаты подтвердили высокую эффективность предложенного метода вовлечения в селекцию ценного генофонда *S. bulbocastanum.*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ RAPD-АНАЛИЗА ДЛЯ ОТБОРА ПЕРСПЕКТИВНЫХ ОБРАЗЦОВ СРЕДИ АНДРОГЕНЕТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ ИЗ НЕРЕДУЦИРОВАННЫХ ГАМЕТ

Жарич В.М.
ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»
***Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27*;**
e-mail: E.Voronkova@igc.bas-net.by

В культуре пыльников тетраплоидного картофеля возможно появление как диплоидных растений-регенерантов, так и растений с измененной плоидностью (тетраплоидов, триплоидов, анеуплоидов) (Воронкова, 1999). Тетраплоидные растения-регенеранты могут представлять селекционный интерес в качестве гаметоклональных вариантов. Однако среди них могут присутствовать как удвоенные дигаплоиды, развившиеся из обычной пыльцы и удвоившиеся в процессе культивирования, так и растения, полученные из нередуцированных гамет. При образовании таких гамет, особенно гамет FDR-типа, рекомбинация генов не сопровождается существенным снижением уровня гетерозиготности, что дает возможность получать из них растения-регенеранты, не уступающие по продуктивности исходному сорту.

Целью работы было изучение с использованием RAPD и ISSR-маркеров изменчивости растений-регенерантов, полученных в культуре пыльников сортов картофеля, формирующих и не формирующих нередуцированные микроспоры, для упрощения отбора перспективных для селекции андроклонов. Было высказано предположение, что андрогенетические растения-регенеранты, происходящие из нередуцированных гамет имеют более высокий уровень сходства с исходным сортом, чем удвоенные дигаплоиды, благодаря чему их можно отбирать на ранних этапах селекции до проведения полевых испытаний.

Материалом для исследования служили 7 популяций андрогенетических растений-регенерантов, полученных в культуре пыльников сортов картофеля с разным уровнем формирования нередуцированных гамет (Аноста, Дубрава, Блакит, Прамень, Луговской, Ласунок, Верас). Они были предварительно оценены по показателям продуктивности, крахмалистости, полевой устойчивости к фитофторозу и парше обыкновенной.

Изучение полиморфизма популяций андрогенетических растений-регенерантов с использованием молекулярных ПЦР-маркеров показало наличие в них большого количества измененных по сравнению с исходными сортами форм. Пороговым для отбора андроклонов, среди которых можно проводить эффективный отбор перспективных образцов, выбран уровень сходства с исходным сортом более 70%. Показано, что дополнительную информацию при оценке уровня сходства с исходным сортом андрогенетических растений-регенерантов предоставляют результаты кластерного анализа, которые могут свидетельствовать о генетической близости к исходному сорту по двум параметрам - по принадлежности к одному кластеру и по наличию между исходным сортом и генотипом, представляющим интерес для селекции, генетической дистанции менее 0,1.

Воронкова Е.В. Гаметоклональная изменчивость у картофеля // “Генетика и селекция на рубеже XXI века”: сборник работ молодых ученых. /под ред.Н.А. Картеля/. Мн: ИПЭ. 1999. с.16-19.

ВЫЯВЛЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО (*HERACLEUM SOSNOWSKYI*) С ПОМОЩЬЮ RAPD, ISSR, REMAP

Соловьева А.И., Долгих Ю.И., Осипова Е.С., Степанова А.Ю., Яворская О.Г.
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
Россия, 127276, г. Москва, ул. Ботаническая, 35

Естественный ареал борщевика Сосновского - *Heracleum sosnowskyi* Manden. – преимущественно субальпийский горный пояс Центрального и Восточного Кавказа, Восточного, Центрального, Юго-Западного и части Западного Закавказья, где он произрастает на полянах и опушках лесного пояса гор, вдоль водотоков, а также в высокотравье субальпийских лугов. В 60-е годы XX ст. проводилась широкомаштабное распространение борщевика Сосновского на территории европейской России, Украины, Белоруссии, Прибалтики, и к концу столетия вид стал опасным и активным инвазионным растением в данных регионах.

При таком характере освоения территорий с новыми условиями существования, следует ожидать и быстрых эволюционных изменений происходящих в популяциях борщевиков. Известно, что генетическое разнообразие популяции является необходимым условием ее существования и поддержания высокого адаптационного уровня к новым или меняющимся условиям окружающей среды, что обеспечивает успешное распространение растений того или иного вида.

Исследовав сборы данных видов с территории Кавказа, Украины (Украинского Полесья) и России (Московской области) на молекулярном уровне, нами было обнаружено генетическое разнообразие среди борщевиков, произрастающих в пределах своего исторически сложившегося природного распространения и вторичного (антропогенного) ареала.

В данной работе с помощью RAPD-, ISSR-, REMAP-анализов мы попытались выявить генетическое разнообразие среди борщевиков, произрастающих как в географически удаленных друг от друга участках, так и в пределах одного географического участка, причем особое внимание было уделено выявлению генетического разнообразия у растений, произрастающих в пределах одного географического участка, но в зонах с разной степенью антропогенного загрязнения.

На молекулярном уровне было обнаружено генетическое разнообразие среди борщевиков, произрастающих в пределах одного географического участка. Видимо, в результате перекрестного опыления в популяции поддерживается значительное генетическое разнообразие, необходимое для повышения выживаемости вида в постоянно меняющихся условиях. На молекулярном уровне выявлен полиморфизм среди борщевиков, произрастающих в пределах одного географического участка, но в разных зонах, отличающихся степенью антропогенного загрязнения. Не исключено, что изменения на уровне ДНК произошли в результате воздействия вредных агрессивных веществ, находящихся в большом количестве в промышленной зоне города.

Всесторонее изучение высоко конкурентноспособных неаборигенных организмов, как например, *Heracleum sosnowskyi* Manden., связано с исследованиями современных процессов генезиса природных экосистем и закономерностей формирования растительных сообществ антропогенно нарушенных территорий. В свою очередь, выявление генетического разнообразия популяций борщевика рассматривается некоторыми учеными как возможность получения необходимой информации для разрешения вопросов, связанных с разработкой конкретных методов контроля за распространением инвазионного растения на новых территориях. Данная работа представляют научный интерес для дальнейшего анализа и изучения генетической природы данного опасного инвазийного растения на территории Восточной Европы.

ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ *PLEUROTUS OSTREATUS* (JACQ.: FR.) KUMMER. ЗА ДОПОМОГОЮ RAPD МЕТОДУ

Пірко Н.М.[1], Новожилов Д.О.[2], Краснопьорова О.Є.[2], Дорошкевич Н.В.[3], Пірко Я.В.[1]

[1]Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України,вул. Осиповського, 2 а, Київ, 04123, Україна. Тел.: +38(044) 434-45-84 E-mail: yavp@mail.ru

[2]Київський національний університет ім.. Тараса Шевченка, ННЦ "Інститут Біології", вул. Володимирська, 64, Київ, 01601, Україна

[3]Донецький національний університет (біологічний факультет), вул. Щорса, 46, Донецьк, 83050,Україна

Глива устрична або звичайна *(Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer.) є одним з найбільш популярних і доступних грибів, що культивуються в Україні та країнах СНД. В природі *P. ostreatus* представлена в різній мірі ізольованими, самостійно еволюціонуючими біологічними видами-двійниками, що практично не відрізняються за морфологічними ознаками, але не можуть між собою схрещуватися. Це робить неможливим об'єктивно і достовірно оцінити в природі межі окремих популяцій і навіть видів усередині роду *Pleurotus*, оскільки багато популяцій представлені генетично подібними клонами, які виникають завдяки безстатевому розмноженню. Слід зазначити, що генотипове різноманіття цього гриба вивчено доволі фрагментарно [1,2], тому дослідження генетичного поліморфізму представляє інтерес як для пізнання внутрішньовидової структури *P. ostreatus*, так і для можливого в подальшому генотипування високопродуктивних ізолятів гриба.

Для вивчення внутрішньовидового та міжвидового генетичного поліморфізму широко застосовуються ДНК маркери. Одним з найпоширених методів аналізу, що дозволяє оцінити генотипові відмінності в межах виду є RAPD метод, який, не дивлячись на певні недоліки, доволі часто використовують у сучасних молекулярно-генетичних дослідженнях. Для оцінки генетичного поліморфізму *P. ostreatus* було взято один штам та шість ізолятів із колекції кафедри фізіології рослин Донецького національного університету. Всі ізоляти були зібрані в різних місцях України та Росії на різноманітних субстратах. Деякі з ізолятів, за попередньо проведеними дослідженнями морфо-біологічних ознак, зокрема врожайності, відносяться до високопродуктивних [3]. ДНК для аналізу виділяли з міцелію ізолятів за допомогою ЦТАБ методу. В подальшому її використовували для проведення полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з двома олігонуклеотидними праймерами OPP-15 та OPP-17 (Operon Technologies, USA). Аналіз отриманих під час ампліфікації фрагментів здійснювали за допомогою електрофоретичного розділення їх у 1,5 % агарозному гелі з додаванням бромістого етидію. Отримані електрофоретичні дані переводили у матриці, в яких для кожного праймера вказували кількість смуг (ампліконів або локусів) та наявність (1) або відсутність (0) тої чи іншої смуги. У результаті проведеного аналізу *P. ostreatus* було виявлено 9 локусів (ампліконів). Кількість ампліфікованих фрагментів під час ПЛР з праймером OPP-15 дорівнювала 7, а з праймером OPP-17 – лише 2. В цілому всі досліджені локуси виявилися поліморфними, що може свідчити про доволі високий рівень генетичного поліморфізму *P. ostreatus*.

Штаер О.В. Сравнительный анализ природных популяций *Pleurotus pulmonarius (Fr.) Quel* // Ареф. Дис. канд. биол. наук – 2006. – 25 с.

Штаер О.В., Белоконь Ю.С., Белоконь М.М., Шнырева А.В. Сравнительный анализ природных изолятов вида *Pleurotus ostreatus* // Микробиология, - 2005. - Т.74, № 2. - С. 231-238.

Дорошкевич Н.В. Господорсько-біологічна оцінка нових штамів гриба *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer.) // Ареф. Дис. Канд. с/х наук. – 2010 – 20 с.

ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ КАЛЛЮСОГЕНЕЗА И МОРФОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* У ИЗОГЕННЫХ ПО ГЕНАМ КОНТРОЛЯ ТЕМПОВ РАЗВИТИЯ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ *TR.AESTIVUM*

Петренко В.А.

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, кафедра физиологии и биохимии растений. пл. Свободы 4, г. Харьков, 61022, Украин, v.a.petrenko@list.ru

Генетическая система контроля темпов развития детерминирует ряд физиолого-биохимических процессов жизнедеятельности растений пшеницы – скорость роста, углеводный и азотный обмены, фитогормональный баланс и т.д. (Stelmakh, 1998; Авксентьева, 2007). Возможно, эта генетическая система также участвует в контроле процессов *in vitro* при культивировании изогенных линий пшеницы. Целью данной работы было изучение возможной роли генов контроля темпов развития растений в детерминации процессов каллюсогенеза и морфогенеза при культивировании изогенных линий *in vitro.*Исследования проводили на генетической модели, включающей сорт мягкой озимой пшеницы Мироновская 808 и его почти изогенные линии по системе генов *PPD* – контролирующих степень фотопериодической чувствительности. Для получения первичных каллюсов в качестве эксплантов использовали зрелые зародыши, которые культивировали на питательной среде МС с полным набором макро- и микросолей, 0,7% агара, 3% сахарозы, 2,4 Д-2 мг/л. Для цитологических исследований готовили временные давленные препараты, используя световой микроскоп PZO Warszava (Польша, 1995). Сырую и сухую биомассу определяли после завершения культивирования на 45 сутки после первого пассажа. Оводненность рассчитывали по формуле: сухая\сырая масса ×100 %. Содержание легкорастворимого белка определяли фотоколориметрическим методом Лоури. Для индукции морфогенеза полученный каллюс переносили на регенерационную среду МС, дополненную 0,5 мг/л ИУК и 0,5 мг/л кинетином. езультаты исследований эффективности первичного каллюсогенеза показали, что максимальной отзывчивостью характеризовалась самая фоточувствительная линия *PPD B1a* (98,5%), минимальной – фотонейтральная (наиболее быстро развивающаяся в естественных условиях) линия *PPD A1a* (62,9%). В ходе цитологического анализа установлено, что минимальные размеры длины клеток и максимальное их количество отмечены у линии *PPD B1a,* а у *PPD A1a* – наоборот. Следовательно, рост каллюсов *PPD B1a*, по-видимому, происходит за счёт интенсивного деления клеток, а у *PPD A1a* – за счет их роста «растяжением». Максимальными показателями накопления биомассы характеризовались каллюсы *PPD A1a,* а минимальными – линии *PPD B1a.* Максимальное содержание белка показано в каллюсах изолинии *PPD D1a* (8,91 мг/л). Каллюсные ткани этой изолинии характеризовались минимальным приростом и максимальной оводненностью (85,55 %). Возможно, это свидетельствует о том, что генотип данной изолинии определяет быстрый переход от процессов роста к процессам развития – минимальные показатели прироста и максимальные синтетической активности. Впоследствии, данная изолиния показала наивысшие показатели морфогенетического потенциала, а линия *PPD B1a* – в наименьшей степени была способна к образованию морфогенных структур. Соответственно, линия *PPD B1a* характеризовалась наименьшим содержанием фракций легкорастворимого белка (6,23 мг/л), минимальными показателями накопления сырой и сухой биомассы, а также оводненности каллюсных тканей, что свидетельствует о пониженном уровне синтетической активности. Таким образом, в ходе проведенных экспериментов нами показано, что генотип изолинии, детерминирующий фотопериодическую чувствительность, оказывает влияние на процессы индукции каллюсогенеза, характеристики ростовой реакции первичных каллюсов *in vitro,* а также морфогенный потенциал первичных каллюсных тканей.

ВИКОРИСТАННЯ ОЧИЩЕНИХ ВІД РАДІОАКТИВНОГО ЗАБРУДНЕННЯ ЗЕМЕЛЬ ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ ЗОНИ – ДИНАМІКА ПРОТЕОМУ НАСІННЯ ЛЬОНУ ПРОТЯГОМ РОЗВИТКУ

Данченко М.[1,2], Клубіцова К.[2], Рашидов Н.[1], Сакада В.[1], Хайдух М.[2]
[1]Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАНУ
[2]Інститут генетики та біотехнології рослин САН

Молекулярний аналіз аграрних культур, вирощених на очищених від радіонуклідного забруднення грунтах Чорнобильської зони дозволить оцінити можливість майбутнього сільськогосподарського використання цих земель. Саме тому ми виростили льон (*Linum usitatissimum* L., сорт Київський) на експериментальному полігоні, котрий мав невисокий рівень радіації після ремедіації – 1,41 кБк·кг$^{-1}$ ^{137}Cs і 0,55 кБк·кг$^{-1}$ ^{90}Sr. Зразки із дезактивованого поля в Чорнобилі було відібрано на різних стадіях розвитку насіння, яке містило лише слідові кількості дозоформуючих радіонуклідів – 0,008 кБк·кг$^{-1}$ ^{137}Cs і 0,080 кБк·кг$^{-1}$ ^{90}Sr. Для комплексної характеристики метаболічних процесів ми застосували ефективний технічний підхід, протеоміку. Методом фенольної екстракції із наступною преципітацією амоній ацетатом білки було виділено із матеріалу зібраного на різних фазах дозрівання: а) 14 ДПЦ (день після цвітіння), середина ембріогенезу; б) 21 ДПЦ, кінець ембріогенезу; в) 28 ДПЦ, підготовка до спокою; г) зрілого насіння. Після двовимірного електрофорезу та аналізу гелів за допомогою програми ImageMaster 2D було отримано профілі експресії 379 білкових точок. Незважаючи на малу кількість геномних послідовностей льону в базах даних, застосувавши тандемну мас-спектрометрію, ми надійно ідентифікували 102 білки (Klubicová et al., 2011; Klubicová et al., in press). Ідентифіковані білки було віднесено до 11 метаболічних функціональних класів. Просумувавши встановлений експериментально вміст для окремих білків цих кластерів, ми отримали їх загальні профілі експресії в онтогенезі насіння льону. Найбільшу групу утворили “Білки невідомої функції” (39 ідентифікованих білків) з чітко вираженою тенденцією до зниження кількості. Також аналогічний тренд виявлено для класу “Енергетичні процеси” (13). Серед цієї групи окремо варто виділити цитоплазматичні ензими гліколізу, важливого для розвитку насіння процесу: тріозофосфат ізомеразу, енолазу, фосфогліцерат кіназу і дві ізоформи фосфоглюкомутази. На відміну від зазначених вище груп, сумарний вміст білків класів “Первинний метаболізм” (7) і “Захисні та стресові білки” (5) зростав протягом розвитку. Також типовий тренд накопичення показали “Запасні білки”(9).

Таким чином ми провели системний аналіз протеому в онтогенезі насіння льону, створивши білкові карти високої роздільної здатності. Порівнявши ці дані із закономірностями змін білків насіння інших економічно важливих рослин, ймовірно вдасться виявити регуляторні механізми, які визначають цінні характеристики.

Klubicová K, Berčák M, Danchenko M, Skultety L, Rashydov NM, Berezhna VV, Miernyk JA, Hajduch M. Agricultural recovery of a formerly radioactive area: I. Establishment of high-resolution quantitative protein map of mature flax seeds harvested from the remediated Chernobyl area. // Phytochemistry. 2011;72(10):1308-1315.
Klubicová K, Danchenko M, Skultety L, Berezhna VV, Hricová A, Rashydov NM, Hajduch M. Agricultural recovery of a formerly radioactive area: II. Systematic proteomic characterization of flax seed development in the remediated Chernobyl area. // J Proteomics. 2011 Mar 6. Epub ahead of print

ЗАСТОСУВАННЯ CUDA-ОБЧИСЛЕНЬ ДЛЯ ПРИСКОРЕННЯ ПРОЦЕСУ ЛІГАНД-БІЛКОВОГО ДОКІНГУ

Демчук О.М., Карпов П.А., Блюм Я.Б.
Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, вул. Осиповського 2а, 04123, Україна

Моделювання міжмолекулярних взаємодій *in silico* пов'язано із використанням ресурсоємних обчислень, які можуть здійснюватися на обчислювальних ядрах графічних процесорів (GPU) з використанням технології CUDA (Compute Unified Device Architecture). Переваги у швидкості обчислень, які надає технологія CUDA, можливо застосовувати і в таких задачах, як молекулярний докінг *in silico*, котрий є важливим методом у передбаченні активності низькомолекулярних сполук відносно білка-мішені, а також у вивченні механізмів взаємодії мішень-ліганд.

Метою наших досліджень було встановлення реального приросту в швидкості обчислень при проведенні ліганд-білкового докінгу за допомогою програмного пакету Hex 6.1 (Ritchie and Venkatraman, 2010).

В якості білка-мішені при докінгу використовувалась реконструйована нами раніше модель цитозольної форми рослинного білка FtsZ2-2 з *Arabidopsis thaliana* (Демчук и др., 2006). Лігандами слугували низькомолекулярні сполуки динітроанілінового ряду - еталфлюралін (*N-етил-N-(2-метилпроп-2-еніл)-2,6-динітро-4-(трифторметил)анілін*), пендиметалін (*3,4-диметил-2,6-динітро-N-пентан-3-іланілін*), оризалін (*4-(дипропіламіно)-3,5-динітробензенсульфонамід*) та трифлюралін (*2,6-динітро-N,N-дипропіл-4-(трифторметил)анілін*); фосфороамідного ряду – кремарт (*N-[етокси-(5-метил-2-нітрофенокси)фосфінотіол]бутан-2-амін*) та аміпрофосметил (*N-[метокси-(4-метил-2-нітрофенокси)фосфінотіол]-пропан-2-амін*); а також ряду бензімідазолів – беноміл (*метил-N-[1-(бутилкарбамоїл)бензімідазол-2-іл]карбамат*) та нокодазол (*метил-N-[6-(тіофен-2-карбоніл)-1H-бензімідазол-2-іл]карбамат*).

Розрахунки проводились з використанням обчислювальних можливостей центрального процесора Intel Core 2 Quad Q6600 та ядер графічних прискорювачиі різних поколінь ASUS EN9800GT та ZOTAC GeForce GTX 470.

Було продемонстровано суттєвий виграш у часі (в середньому в 8 разів) при застосуванні CUDA-обчистень. Так, при застосуванні в розрахунках центрального процесора загальний час обчислення складав 30-35 хв., тоді як аналогічні розрахунки на ядрах GPU зменшують цей час до 2-4,5 хв. в залежності від покоління та потужності відеоадаптора.

При цьому для кожного з восьми досліджуваних гербіцидів на різних використаних GPU Hex 6.1 генерував однакову кількість кластерів з найкращими кінцевими позиціями лігандів. Як правило, співпадають і енергетичні показники найкращої та найгіршої з перших 500-ста орієнтацій кожного ліганда, розраховані на центральному та обох графічних процесорах.

Таким чином, можливо зробити висновок про те, що використання технології CUDA разом з сучасними відеоадапторами компанії nVidia для здійснення великої кількості ресурсоємних розрахунків дозволяє значно скоротити час обрахунку та підвищувати продуктивність наукових досліджень.

Ritchie D.W., Venkatraman V. Fast FFT Protein-Protein Docking on Graphics Processors //Bioinformatics, 2010, 26, 2398-2405.

Демчук О.Н., Ныпорко А.Ю., Блюм Я.Б. Построение трехмерных моделей FtsZ-белков *Arabidopsis thaliana* на основе кристаллической структуры архебактериального комплекса FtsZ-GDP // Цитология и генетика – 2006. Т.40-№ 1. – С.10-20.

БІОІНФОРМАЦІЙНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ БІЛКІВ, АСОЦІЙОВАНИХ З МІКРОТРУБОЧКАМИ ВИЩИХ РОСЛИН ТА АНАЛІЗ ЇХ ПОДІБНОСТІ

Пидюра М.О.*, Карпов П.А.

Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, вул. Осиповського, 2а, 04123, Київ-123, Україна, *e-mail: pydiura@gmail.com

Білки, асоційовані з мікротрубочками (БАМ) – білки, що зв'язуються з субодиницями мікротрубочок і виконують функції, стабілізації або дестабілізації мікротрубочок, клітинного транспорту, зв'язування мікротрубочок між собою і є посередниками при взаємодії мікротрубочок з іншими клітинними білками.

За допомогою інструменту tblastn нами було виконано пошук специфічних рослинних БАМ у геномах 6 родів вищих рослин та виконано аналіз їх подібності. Досліджені БАМ належать до трьох родів класу дводольних: ріпак (*Brassica*), соя (*Glycine*) та люцерна (*Medicago*) і трьох родів класу однодольних: ячмінь (*Hordeum*), пшениця (*Triticum*) та кукурудза (*Zea*), які мають сільськогосподарське значення. Для пошуку гомологів були використані анотовані послідовності БАМ родин GCP (gamma-tubulin complex proteins), MAP215/MOR1, MAP65, MAP70, EB1, SPR1 та TOR1/SPR2 з *Arabidopsis thaliana* для дводольних і *Oryza sativa* для однодольних.

Було з'ясовано що білки GCP2, GCP3, GCP4, GCP6 із представників родів *Medicago*, *Hordeum*, *Triticum*, та *Zea* мають ідентичність амінокислотних послідовностей >70%. Білки GCP5 із представників *Medicago* і *Zea* мають виражену гомологію, але у *Hordeum* і *Triticum* було знайдено лише невеликі консенсусні ділянки. Це може пояснюватись тим, що даний білок є найбільш варіабельним представником родини GCP – у геномах *A. thaliana* і *O. sativa* він предсталений двома генами, а не одним, як інші представники даної родини. Цікаво, що у геномах *Brassica* і *Glycine* відсутні гомологи БАМ даної родини окрім наявності невеликого консенсусного фрагменту до білку GCP6 що є найкоротшим із родини. У *O. sativa* білки MOR1 представлені двома зв'язаними генами – 1998 і 326 а.з. Гомологи MOR1 виявлено у родах *Medicago* (85% подібність, 96% ідентичність і 61% подібність, 68% ідентичність) і *Zea* (33% подібність, 62% ідентичність і 87% подібність, 63% ідентичність).

Група гомологічних білків родини MAP65 можна розділити за довжинами амінокислотних послідовностей 2 групи: 1) MAP65-1, MAP65-2 та MAP65-5–9 (550-610 а.з.) і 2) MAP65-3, MAP65-4 (670-710а.з.). Гомологи більш коротких білків групи 1 були знайдені у всіх представників досліджених родів (ідентичність 40-90%, подібність 90-100%). При цьому виявилось що консенсусні ділянки білків MAP65-5–9 із представників роду *Brassica* на 20-30% коротші за гомологічні ділянки інших 5 родів (подібність 70-80%). Гомологи аналогічної довжини до білків MAP65-3 і MAP65-4 були знайдені лише у геномах роду *Zea* (98% подібність, 51% ідентичності і 99% подібності, 44% ідентичності відповідно).

Гомологи до білків родини MAP70 були знайдені (окрім *Triticum*) у геномах 5 з досліджених родів (подібність 60-100%, ідентичність 60-100%). Гомологи +Tips білків родин EB1 та SPR1 знайдено також (окрім *Triticum*) у геномах 5 з досліджених родів. Ідентичність складала 50-90% і 35-80% відповідно при подібності 90-100% у обох випадках.

БАМ родини TOR1/SPR2 були знайдені (окрім *Brassica* та *Triticum*) у 4-х досліджених геномах. Подібність послідовності складає від 48% (*Hordeum*) до 94% (*Medicago*), ідентичність складає від 30% (*Glycine*) до 68% (*Medicago*).

Відсутність гомологів родини MAP70 та +Tips родин білків EB1 та SPR1 у геномі роду *Triticum* і відсутність гомологів TOR1/SPR2 у геномах *Brassica* та *Triticum* потребує додаткового дослідження.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ КІНАЗИ РИБОСОМНОГО БІЛКУ S6 ТА НОВОГО БІЛКА-ПАРТНЕРА - TDRD7 З ВИКОРИСТАННЯМ БІОІНФОРМАТИЧНОГО ТА МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНОГО ПІДХОДІВ

Скороход О.[1], Немазаний І.[1], Панасюк Г.[1], Філоненко В.[1], Гут І.[2]

[1]Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, відділ сигнальних систем клітини м. Київ, Україна, e-mail: fiwinner@ukr.net

[2]Університет Коледжу Лондон, відділ структурної та молекулярної біології, м. Лондон, Великобританія, e-mail: i.gout@biochemistry.ucl.ac.uk

Кіназа рибосомного білка S6 (S6K) є Сер/Тре кіназою залученою в регуляції клітинного росту, диференціації та метаболізму. Клітини ссавців експресують дві форми кінази: S6K1 і S6K2.

Нещодавно проведений скринінг у двогібридної системи дріжджів з використанням S6K1 у якості байту дозволив нам виявити новий білок-партнер S6K1 – тюдор домен вмісний білок 7 TDRD7 (Trap). TDRD7 є адапторним білком з невідомою функцією, ідентифікований у комплексах з білками, які регулюють динаміку цитоскелету, мРНК транспорт і роботу апарату трансляції.

Для підтвердження S6K1-TDRD7 взаємодії нами було проведено більш детальні дослідження. Перш за все, було зроблено докладний біоінформатичний аналіз послідовності TDRD7. Наступним кроком було клонування шести різних фрагментів TDRD7, їх надекспресія, виділення та очистка білкових продуктів з бактеріальних клітин. Дані рекомбінантні білки було використано в серії експериментів *in vitro* зв'язування з повнорозмірною рекомбінантною S6K1. В результаті було детектовано пряму взаємодію між С-кінцевою, тюдор-вмісною ділянкою TDRD7 і кінаою. Дану взаємодію було також підтверджено проведеним іммуноблотингом (Far-Western blot) з використанням рекомбінантної S6K1 і TDRD7 фрагментів.

Крім того, ділянки TDRD7 (F1, F2 та F6) було використано в якості антигенів для імунізації мишей і продукування моноклональних антитіл. Застосування отриманих моноклональних антитіл для вивчення S6K1/TDRD7 взаємодії дозволило нам детектувати взаємодію між TDRD7 і S6K1, в реакції іммунопреціпітації в лізатах клітин HEK293 і клітин головного мозку щурів. Крім того, ми виявили, що S6K1 здатна фосфорилювати 3 з 6 фрагментів TDRD7 в *in vitro* кіназній реакції. З'ясування фізіологічної ролі взаємодії між кіназою рибосомного білка S6 та TDRD7 потребує подальших досліджень.

РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО БИОИНФОРМАЦИОННОГО АНАЛИЗА СЕРИН-ТРЕОНИН СПЕЦИФИЧНЫХ ПРОТЕИНФОСФАТАЗ ИЗ ЖИВОТНЫХ И ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Самофалова Д., Карпов П.А., Блюм Я.Б.
Институт пищевой биотехнологии и геномики, НАН Украины, Киев;
e-mail: samofalova_dariya@i.ua

Обратимое фосфорилирование - одна из основных посттрансляционных модификаций белков, ответственных за регуляцию различных видов клеточной активности. Являясь интегральными компонентами сигнальных систем клетки, протеинфосфатазы (ПФ) как правило, ответственны за возвращение белков в состояние покоя путем дефосфорилирования. В отличие от протеинкиназ, имеющих общее эволюционное происхождение, ПФ берут свое начало от различных предковых последовательностей и отличаются по структуре и механизмам действия [PMID:18058037, 19396163].

Выделяют три основные группы ПФ: серин-треонинспецифичные (ПФ 1, 2A, 2C, 3, 4, 5 и 7), тирозинфосфатазы и аспаргин-специфичные ПФ **[**PMID:18156295**].** При этом группа серин-треонинспецифичных ПФ является наиболее обширной и гетерогенной. Нами было выполнено биоинформационное исследование с целью сравнения группы серин-треонин специфичных протеинфосфатаз из *Homo sapiens, Arabidopsis thaliana* и мха *Physcomitrella patens.* Основываясь на информации, представленной в литературе и на ресурсе UniProt, были отобраны последовательности каталитических субъединиц ПФ фосфатома *A. thaliana*. Было выявленно 138 потенциальных ПФ, из которых 105 были определены как серин-тренионин специфичные ПФ. Дублирующиеся статьи баз данных исключались на основании анализа уникальности координат локусов генов (Taip). Первичная оценка была выполнена на основании анализа гомологии аминокислотных последовательностей и анализа доменного состава (помощи он-лайн инструментов SMART, Pfam и PROSITE). В результате совместной NJ-кластеризации каталитических субъединиц показано существование общей клады для растительных и животных ПФ, что свидетельствует об их эволюционной близости по сравнению с ортологами из грибов и слизевиков. При этом наиболее близкое положение по отношению к ПФ животных занимали потенциальные растительные ПФ из мха *P. patens*.

Дополнительный кладистический анализ ПФ из *A. thaliana* и *P. patens* показал, что для представителей типа ПФ1 из *A. thaliana* (UniProt: P30366, P48482, P48483, P48484, P48485, P48486, O82733, O82734, Q9M9W3), ближайшими гомологами являются A9RQF1, A9TPW7, A9SNF4 и A9S099 из *P. Patens* (уровень идентичности - 83-79%). Для группы ПФ2A (Swiss-Prot: Q07099, P48578, O04951; TrEMBL: Q8LAT9, Q8LAW8) имеется 4 неанотированных гомолога из *P. patens*: A9TXC9, A9SQ25, A9SKN8, A9SI18 (уровень идентичности - 89-78%). Фосфатазам ПФ4/PPX (Swiss-Prot: P48528 и P48529) из *A. thaliana* соответствуют 2 гомолога (A9TE32, A9TZL9) *P. patens* с уровнем идентичности последовательностей 86 и 84% соответственно. Для групп ПФ5 (Swiss-Prot: Q84XU2), ПФ7 (Swiss-Prot: Q9FN02, Q9LEV0, Q9LNG5) и BSU1 (Q9LR78) из *A. thaliana,* ближайшие гомологи из мха (A9SHX7, A9TCV1, A9SL12) характеризовались более низким уровнем идентичности последовательностей: 60-38%. Протеинфосфатазы типа BSL (Swiss-Prot: Q8L7U5, Q9SJF0, Q9SHS7), фитохром ассоциированные ПФ1 (Swiss-Prot: Q9SX52,) и ПФ3 (Swiss-Prot: Q9LHE7), формировали общую кладу с ПФ A9RVI2, A9TD31, A9S2C2 из *P. patens* (с идентичностью 90, 88 и 80% соответственно).

Наиболее обширная клада объединила 80 анотированных последовательностей ПФ2С из *A. thaliana* и 9 неанотированных белков из *P. patens*: A9SCW3, A9TIJ9, A9S877, A9U144, A9RNT2, A9TD47, A9SV72, A9TNG1, A9RIX5. При этом идентичность последовательностей ПФ2С *A. thaliana* была на уровне 30-51 %. Последующий профильный анализ доменного состава и архитектуры показал, что для группы гомологов ПФ2С из *P. patens* характерно соответствие одному из двух типов каталитических доменов: PP2Ac или PP2Cc с характерным отличием от ПФ *A. thaliana*, выражавшемся в наличии двух субдоменов RTP.

ПОИСК И ПРЕДСКАЗАНИЕ ТРЕХМЕРНОЙ СТРУКТУРЫ ВЕРОЯТНЫХ ПАРТНЕРОВ РАСТИТЕЛЬНЫХ ГОМОЛОГОВ ПРОТЕИНКИНАЗЫ DYRK1A

Кораблев М.Д., Карпов П.А., Раевский А.В., Блюм Я.Б.
Институт пищевой биотехнологии и геномики, НАН Украины, ул. Осиповского 2а, 04123 Киев, Украина

Дуальная протеинкиназа Dyrk1A (Dual-specificity tyrosine-regulated kinase 1A) играет важную роль в регуляции пролиферации клеток и развитии головного мозга животных, а мутации ее гена связаны с синдромом Дауна. [PMID: 15068245] Недавно, нами было показано существование ряда растительных гомологов протеинкиназ группы DYRK (http://mccmb.belozersky.msu.ru/2011/).

Настоящее исследование было посвящено идентификации растительных гомологов белков, регулирующих Dyrk1A у *Homo sapiens*. Phi-Blast-сканирование базы данных UniProt позволило идентифицировать ряд растительных гомологов белков непосредственно взаимодействующих с Dyrk1a или с участием не более одного посредника. При этом последовательности, имевшие высокий уровень сходства анализировались на присутствие аннотированных мотивов с применением серверов InterProScan [PMID:15980438] и MotifScan [PMID:19858104]. Отбор вероятных гомологов выполнялся на основании соответствия найденных мотивов аннотированным мотивам эталонных белков из *Homo sapiens*. В результате анализа нами было отобрано 4 растительных гомолога из *Physcomitrella patens* (A9SLT, A9SX93, A9S2l2 и A9TOL4).

В результате реконструкции 3D структуры с применением серверов: Swiss-Model (http://swissmodel.expasy.org/), M4T (http://manaslu.aecom.yu.edu/M4T/), YangZhangLab/Lomets (http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/), было построено 17 промоделей. Окончательное моделирование выполнялось в программе PyMol, с последующей верификацией на сервере Swiss-Model. В результате было отобрано 6 моделей, качество которых было улучшено в результате молекулярной динамикой на сервере YangZhangLab/FgMd. Отклонения от начальной структуры оценивались при помощи программ FoldMiner (http://motif.stanford.edu/) и PyMol. Построенные модели растительных гомологов Dyrk1A характеризовались высокими значениями Z-score. В результате молекулярной динамики, последний показатель удавалось улучшить лишь незначительно, что доказывает высокое качество моделей достаточное для проведения экспериментов по молекулярному докингу.

Поскольку, эволюционно, пространственная структура является более консервативной, нежили первичные последовательности, нами был выполнен PDB-поиск с использованием реконструированных моделей и алгоритма DALI (http://ekhidna.biocenter.helsinki.fi/). Была идентифицирована группа гомологичных X-rey структур, как на уровне индивидуального соответствия, так и на уровне «семьи» (в случае отсутствия соответствия по целостным структурам).

Обнаруженное ранее сходство последовательностей говорит о возможной гомологии животных и растительных DYRK.(http://mccmb.belozersky.msu.ru/2011/) Однако, результаты обратного поиска X-rey PDB-структур, относительно реконструированных 3-D моделей, с высокой степенью достоверности подтверждает функциональное сходство животных Dyrk1A и их растительных гомологов.

ГЕНЕТИЧНА ТРАНСФОРМАЦІЯ ЯЧМЕНЮ ГЕНОМ ЛАКТОФЕРИНУ ЛЮДИНИ

Танасієнко І., Ісаєнков С.В., Галкіна В.С., Ємець А.І.
Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України,
вул. Осиповського 2а Київ-123, 04123

До недавнього часу робота фармацевтичних компаній зосереджувалась на створенні препаратів таких, як антибіотики, гормони та анальгетики, синтезованих хімічною промисловістю або мікроорганізмами. Однак, останніми роками все більшу цікавість викликають високомолекулярні терапевтичні білки. В той час, як низькомолекулярні структури досить легко хімічно синтезуються, для коректного синтезу високомолекулярних білків необхідні живі організми. Так, на сьогоднішній день в якості таких біореакторів використовують широкий ряд організмів: бактерії, гриби та культури тваринних клітин. Проте, найоптимальнішою системою експресії для продукції біологічно активних речовин вважаються рослинні об'єкти. Трансгенні рослини дозволяють отримувати значні об'єми цільових білків із коректною третинною структурою, що має принципове значення для активності отриманого продукту. Зокрема, в якості біореакторів використовують як модельні об'єкти (*Nicotiana tabacum*), так і такі, що мають комерційне значення (*Oryza sativa*, *Zea mays*). Однак, серед широкого видового ряду найбільшу цікавість викликають представники родини Злакових. Ячмінь (*Hordeum vulgare* L.) - один із найперспективніших представників цієї родини для методів генетичної трансформації, оскільки має невеликий диплоїдний набір хромосом (2n-14), на відміну від такого складного тетраплоїду як пшениця, та має найбільше географічне поширення у порівнянні із іншими представниками цієї родини. Окрім цього ячмінь запасає велику кількість білків у зернівці (до 15%), що робить його використання економічно вигідним. У зв'язку із тим, що ефективність генетичної трансформації залежить від генотипу нами було введено в культуру одинадцять сортів ячменю, для встановлення ефективності калюсоутворення та регенерації, що дозволило відібрати найперспективніші лінії для подальшої їх модифікації геном лактоферину людини (*hLF*). Лактоферин - мультифункціональний білок, що синтезується залозами зовнішньої секреції та нейтрофілами. Здатен підсилювати захисні властивості організму людини до інвазивних, бактеріальних, грибкових, вірусних інфекцій. Лактоферин, взаємодіючи із клітинами господаря модулює запальні процеси та вроджений імунітет людини та має протипухлинні властивості. Тож, в наших дослідженнях було проведено *Agrobacterium*- опосередковану та біолістичну трансформацію відібраних сортів ячменю геном *hLF*. Для цього були створені конструкції pBiLF та pHLFTubA, що містили ген *hLF* під контролем глютелінового B 1 промотору, який дозволяє отримати експресію цільового гену виключно у зернівці злаку. У якості селективного маркерного гену були використані ген стійкості до антибіотику гігроміцину B (*hpt*) та ген мутантного α-тубуліну із гусячої трави *Eleosina indica*, що забезпечує стійкість до динітроанілінів. Використання останнього дозволяє уникнути критики та недовіри до генетично модифікованих організмів із боку громадськості. Ефективність трансформації як за допомогою *A. tumefaciens*, так і з використанням мікрочастинок вольфраму була повністю співставною, і становила 1-2% для обох підходів. Для підтвердження трансгенної природи отриманих в наслідок трансформації рослин та детекції експресії гену-інтересу проводили тест на наявність мРНК, що містить послідовність *hLF*-гену, в зернівках ячменю покоління F1. У всіх проаналізованих ліній фіксували присутність відповідної мРНК, що свідчить про їх трансгенну природу.

ВИВЧЕННЯ ВІРУСОСТІЙКОСТІ ТРАНСГЕННИХ РОСЛИН ЦИКОРІЮ *CICHORIUM INTYBUS* L.

Потрохов А. О., Кваско О. Ю., Матвєєва Н. А.
Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

Генетична трансформація є методом, який дозволяє створювати рослини з новими властивостями, зокрема, такі, що синтезують невластиві для рослин білки. Разом з тим, відомо, що трансгенні рослини можуть набувати стійкості до хвороб. Так, показано, що трансформовані рослини тютюну з геном α-інтерферону мають стійкість до вірусу тютюнової мозаїки (Смирнов и др., 1990). У трансгенних рослин люцерни з геном β-інтерферону спостерігалась затримка симптомів розвитку вірусної інфекції (Ривкин и др, 1993). Створено рослини томату з геном β-інтерферону з метою захисту цих рослин від вірусних захворювань (Рудас и др., 1997).

Метою даної роботи було вивчити вірусостійкість трансгенних рослин цикорію з геном α2b-інтерферону та туберкульозного антигену ESAT6. Трансгенні рослини цикорію з геном α2b-інтерферону людини отримано шляхом Agrobacterium rhizogenes- та A. tumefacience-опосередкованої трансформації (pCB161 та pCB124), трансгенні рослини цикорію з геном туберкульозного антигену ESAT6 - за допомогою A. tumefacience-опосередкованої трансформації (pCB063). Досліджували 4 лінії рослин з pCB161-, 2 лінії – з pCB124 та 2 лінії pCB063. Рослини інфікували вірусом тютюнової мозаїки (ВТМ), який був отриманий з уражених рослин тютюну з характерними симптомами вірусної інфекції. В якості позитивного контролю використовувалися нетрансформовані інфіковані рослини цикорію, негативного - нетрансформованні та незаражені вірусом рослини. Для підтвердження вірусного ураження була проведена флуоресцентна мікроскопія (ФМ). Кількісне визначення концентрації вірусу проводили методом імуноферментного аналізу (ІФА).

За даними ФМ, усі зразки наземної частини рослин (окрім контрольних неуражених зразків) містили вірусні включення, що свідчить про наявність реплікативно активних віріонів ВТМ в дослідних рослинах. Результати ІФА показали, що в трьох ліній pCB161, 1 лінії pCB124 та 1 лінії pCB063 кількість ВТМ виявилась більшою в порівнянні з контрольними нетрансформованими рослинами. Решта ліній показала зниження кількості ВТМ в порівнянні з позитивним контролем.

Отже, більшість ліній трансгенних рослин цикорію з генами α2b-інтерферону та туберкульозного антигену ESAT6 не виявили стійкості до ураження ВТМ. Проте в деяких лініях цих рослин спостерігалось певне зниження кількості вірусу. Отриманий результат можна пояснити тим, що кожна лінія трасгенних рослин є унікальною за своїми властивостями, в тому числі у стійкості до вірусної інфекції. Крім тго, у частини рослин була відсутня біологічна активність синтезованого інтерферону, про що свідчать результати тестування екстрактів з листків трансгенних рослин на активність проти вірусу везикулярного стоматиту. Дана робота буде продовжуватись у напрямку пошуку ліній, стійких до вірусного ураження.

Рудас В.А., Пивень Н.М., Ривкин М.И., Вершинин А.В., Інфанте Д.Х. Генетическая трансформація *Lycopersicon peruvianum* var. *dentatum* с помощью *Agrobacterium tumefaciens*, несущей плазмиду с геном β-интерферона человека // Цитология и генетика – 1997. – Т. 31. - № 2. – С. 17-22.

Смирнов С. П., Теверовская Є. Х., Крашенинникова Л. В., Пухальский Л. В., Создание экспрессионного інтегративного вектора и его использование для введения в растений гена рекомбинантного альфа-интерферона человека // Генетика. – 1990. – Т. 26., № 12. – С. 2111-2121.

Ривкин М. И., Дейнеко Е. В., Комарова М. Л. Оценка вирусоустойчивости трансгенных растений табака и люцерны, несущих ген бета-интерферона человека // Докл. РАН. – 1993. – Т. 331, № 5. – С. 652-654.

КАЛЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ FATSHEDERA LIZEI – ПРОДУЦЕНТЫ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Ширина А.О., Чмелева С.И.

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, проспект Вернадского, 4, г. Симферополь, 95007, Украина, e-mail: chmelevasiv@ukr.net

В последние годы, в связи с ограниченностью природного лекарственного сырья, получение ценных биологически активных соединений, используя биотехнологические методы, является актуальным и перспективным (Носов, 1991; Кунах, 2005). Среди веществ вторичного метаболизма значительный интерес представляют различные гликозиды, проявляющие широкий спектр фармакологического действия.

Fatshedera lizei – гибрид, полученный при скрещивании достаточно исследованных культур *Fatsia* L. и *Hedera* L., однако информация о каллусной культуре фатсхедеры, как источнике вторичных метаболитов в научной печати отсутствует (Смычков, 1975; Кемоклидзе, 1999). Как и остальные представители семейства аралиевых, фатсхедера является источником гликозидов, проявляющих ярко выраженное адаптогенное, антибактериальное, противогрибковое и противокашлевое действие (Гришковець, 2004).

Получение каллусных культур фатсхедеры и их анализ на содержание тритерпеновых гликозидов явилось целью настоящей работы.

Материалом исследований служили вегетативные органы *Fatshedera lizei*, культивируемые в условиях закрытого грунта. В качестве инициальных эксплантов использовали листовые черешки и фрагменты ювенильных листьев. Поверхностную стерилизацию проводили гипохлоридом натрия (5 мин) с последующей промывкой в автоклавированной дистиллированной воде. Установлено, что оптимальным вариантом питательной среды для индукции каллусогенеза явилась среда Мурасиге и Скуга (МС), содержащая 2,0 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л кинетина и 0,5 мг/л БАП. При этом установлена максимальная частота каллусогенеза (95,0±2,1).

При химическом анализе интактного материала *Fatshedera lizei* было выявлено 8 различных фракций тритерпеновых гликозидов, из которых - 5 фракций, имеющие в качестве агликона – хедерагенин (B, D, E, F и H) и 3 фракции олеаноловой кислоты (A, C и G). Данные гликозиды ранее были выделены из различных видов растений семейства аралиевых. При анализе каллусных культур на содержание тритерпеновых гликозидов нами установлено, что они отличаются от интактных эксплантов по фракционному составу исследуемых веществ и при этом важное значение имеет среда культивирования. Так, при анализе каллусных культур, культивируемых на среде МС, дополненной 0,5 мг/л БАП 0,5 мг/л кинетина 1,0 мг/л ИУК нами были идентифицированы 4 фракции гликозидов (A, B, C, D), а на среде МС, содержащей 0,5 мг/л кинетина, 0,5 мг/л БАП, 2,0 мг/л 2,4-Д только 2 фракции гликозидов (A, B).

Гришковець В. І. Тритерпенові глікозіди аралієвих: виділення, встановлення будови, біологічна активність та хемотаксономічне значення : автореф. дис... д-ра хім. наук : 02.00.10 / Гришковець Володимир Іванович; – Одеса, 2004. – 39 с.

Кемоклидзе З. Тритерпеновые гликозиды фатсии японской – Fatsia japonica, культивируемой в Грузии: автореф. дис. … канд. фармац. наук спец: 15.00.02 – фармацевтическая химия, фармакология / Зураб Кемоклидзе; АН Грузии, Ин-т фармаколог. – Тбилиси, 1999. – 26 с.

Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи / В. А. Кунах. – К. : Логос, 2005. – 730 с.

Носов А. М. Регуляция синтеза вторичных соединений в культуре клеток растений / М. : Наука, 1991. – С. 5–20.

Смычков В. Ф. Противовоспалительные свойства сапонинов плюща колхидского / В. Ф. Смычков, Н. Ф. Фаращук // Здравоохр. Белоруссии. – 1975. – Т. 2, № 11. – С. 27.

АНТИМІТОТИЧНА ТА ГЕРБІЦИДНА АКТИВНІСТЬ НОВИХ ПОХІДНИХ 2,4- ТА 2,6-ДИНІТРОАНІЛІНІВ

Ожерєдов С.П., Ємець А.І.
Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України
04123, Київ-123, вул. Осиповського, 2а, ozheredov@gmail.com

Дослідження реалізації та регуляції клітинного циклу знаходиться в ряду найбільш актуальних проблем, які вивчає сучасна клітинна біологія. При цьому особлива увага приділяється вивченню цитоскелету, як одного з найбільш чутливих до біотичних та абіотичних факторів компоненту клітини. Зазначені процеси безпосередньо пов'язані з динамічними перебудовами мікротрубочкового цитоскелету, а саме зі змінами довжини індивідуальних мікротрубочок шляхом збиранням та розбиранням останніх. Важливим інструментом при вивченні мікротрубочок є сполуки, які взаємодіють безпосередньо з тубуліном, їх основною складовою, порушуючи або повністю блокуючи процеси клітинного циклу. Серед них значний інтерес представляють похідні динітроаніліну, які на відміну від речовин тополонового ряду (колхіцин) та алкалоїдів *Vinca* (вінбластин), характеризується високим рівнем афінности до тубулінів рослинного та протозойного походження (Ныпорко и др., 2009). Крім того, завдяки своїм властивостям, похідні динітроаніліну знайшли широке застосування в сільському господарстві в якості гербіцидних препаратів і модифікаторів активності інших гербіцидів, а також біотехнології. Не зважаючи на те, що на даний час синтезовано значну кількість сполук цього класу, пошук та синтез їх функціональних похідних продовжується і донині.

Отже, за допомогою *Allium*-тесту нами було проведено скринінг нових похідних 2,4- та 2,6-динітроаніліну, синтезованих в Інституті органічної хімії НАН України, на рівень фітотоксичності, антимітотичну та антимікротрубочкову активність (Ожередов и др. 2009; Ожередов и др., 2010) Встановлено, що всі 17 досліджуваних сполук здатні викликати зміну показника мітотичного індексу, появу цитогенетичних порушень, а також чинити фітотоксичну дію на корні проростків *Allium cepa*. На прикладі відібраних сполук показано, що їх дія безпосередньо пов'язана з антимікротрубочковою активністю. Також досліджено можливість використання відібраних речовин в якості модифікаторів активності комерційних граміницидів (Ожередов и др., 2011) та індукторів апоптотичних процесів в рослинній клітині (Ожередов и др., 2010). Встановлено, що використання комерційних граміницидів у композиції з динітроанілінами дозволяє посилити їх ефективність при застосуванні проти злакових бур'янів. Показано, що реалізація даного виду біологічної активності пов'язана із індукуванням в рослинній клітині апоптотичних каскадів за рахунок синергічних ефектів при використанні гербіцидних композицій динітроанілінів з інгібіторами ацетил-КоА-карбоксилази.

Ныпорко А.Ю., Емец А.И., Брицун В.М., Лозинский М.О., Блюм Я.Б. Структурно-биологическая характеристика взаимодействия тубулина с динитроанилинами // Цитология и генетика. – 2009. - Т.43, № 4. – С.56-70.

Ожередов С.П., Емец А.И., Брицун В.Н., Ожередова И.П., Лозинский М.О., Блюм Я.Б. Скрининг новых синтезированных 2,6-динитроанилинов на фитотоксичность и антимитотическую активность // Цитология и генетика. - 2009. – Т.43, № 5 – С.3–13.

Ожередов С.П., Емец А.И., Литвин Д.И., Брицун В.Н., Швартау В.В., Лозинский М.О., Блюм Я.Б. Антимитотическое действие новых производных 2,6-динитроанилинов и их синергическая активность в композициях с граминицидами // Цитология и генетика. – 2010. – Т.44, № 5 – С.54–59.

Ожередов С.П., Емец А.И., Брицун В.Н., Лозинский М.О., Швартау В.В., Блюм Я.Б. Повышение активности гербицидов-ингибиторов ацетил-КоА-карбоксилазы при использовании их в композиции с новыми производными динитроанилинов // Физиол. и биохимия культ. раст. – 2011. – Т.43, № 2. – С.122-128.

СИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК ЗОЛОТА ТА СРІБЛА ЗА ДОПОМОГОЮ ФІТОЕКСТРАКТІВ

Пірко Я.В.[1], Даниленко І.[1], Литвин О.[2], Смертенко П.С.[2], Блюм Я.Б.[1]
[1]Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, e-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net
[2]Інститут фізики напівпровідників ім. В.Є.Лашкарьова НАН України

Наночастинки все більше привертають велику увагу із-за перспектив практичного застосування (Brigger et al., 2003; Wu et al., 2003). На цей час існують декілька різних підходів до синтезу наночастинок. Серед них найбільш популярними є хімічні та фізичні методи. Однак, хімічні підходи не завжди позбавлені необхідності використання токсичних речовин. Фізичні методи часто дуже дорогі із-за своєї енергоємності; хімічні методи синтезу можуть призвести до появи деяких токсичних хімічних сполук, адсорбованих на поверхні наночастинок, що може стати джерелом негативного впливу на живий організм за умов використання їх у медичних цілях. Біологічні методи синтезу наночастинок за допомогою мікроорганізмів, культури клітин, тканин рослини або фітоекстрактів були запропоновані в якості можливих екологічно безпечних та неенергоємних методів як альтернатива існуючим хімічним та фізичним методам синтезу наночасток (Debecker et al., 2008; Ahmad et al., 2002). Хоча мікроорганізми, такі як бактерії, актиноміцети, та гриби вже давно використовуються для синтезу наночастинок металів, застосування рослин у подібних методах синтезу є відносно новим і малодослідженим напрямком нанобіотехнології (Shankar et al., 2005).

Нами були синтезовані наночастинки золота та срібла з 0,001 М розчинів $NaAuCl_4$ та $AgNO_3$ при додаванні фітоекстрактів рослин *Magnolia denudata* та *M. stellata*. Фітоекстракти отримували двома способами: шляхом подрібнення свіжого листя у рідкому азоті і подальшого видалення дебрису за допомогою центрифугування або; або за допомогою кип'ятіння рослинної сировини. Наночастинки були очищені після реакції від надлишку фітоекстракту шляхом трикратного центрифугування і ресуспендування осаду. Пік поглинання суміші при довжинах хвиль 425-435 нм відповідає поглинанню наночастинок срібла, а золота – приблизно 530 нм. Синтезовані наночастинки виявились стабільними у розчині протягом достатньо тривалого часу (на протязі 2 тижнів не спостерігалося утворення металічного золота та срібла). Спектральні характеристики колоїдних розчинів очищених наночастинок не змінювались протягом 2 тижнів після їх синтезу. Був також досліджений вплив світла і температури на формування наночастинок срібла. Виявлено, що світло може прискорювати процес синтезу наночастинок срібла, а також впливати на їх розміри. Для дослідження за допомогою атомної силової мікроскопії розчинів з отриманими наночастинками срібла було осаджено плівки на спін-коутері. Результати проведеного аналізу показали, що розмір наночастинок срібла варіює у межах 12-40 нм, а середньо-квадратичне значення неоднорідності поверхі (RMS) знаходиться у межах 3,36 нм.

Brigger I., Dubernet C., Couvreur P., Adv. Drug Delivery Rev., **54** (2002) 631–651.
Wu X., Liu H., Liu J., Haley K. N., Treadway J. A., Larson J. P., Ge E., Peale F., Bruchez M. P., Nat. Biotechnol. 21(2003) 41–46.
Debecker D. P., Faure C., Meyre M.-E., Derre A., Gaigneaux E. M., Small, **4** (2008) 1806–1812.
Ahmad A., Mukherjee P., Mandal D., Senapati S., Khan M. I., Kumar R., Sastry M., J. Am. Chem. Soc., **124** (2002) 12108-12109.
Shankar S., Rai A., Ahmad A., Sastry M., J. Colloid and Interface Sci., **275** (2004) 496–502.

ОСОБЛИВОСТІ АДАПТАЦІЇ РОСЛИН-РЕГЕНЕРАНТІВ ВЕРБИ ПРУТОВИДНОЇ *(SALIX VIMINALIS* L.*)* ДО УМОВ *IN VIVO*

Чорнобров О. Ю., Клюваденко А. А., Мельничук М.Д.
Проблемна лабораторія фітовірусології і біотехнології, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м.Київ, 03041, Україна, E-mail: virlab@nauu.kiev.ua

Одним із ефективних шляхів вирішення проблеми енергозабезпечення є використання паливних брикетів на основі рослинної біомаси. Перспективним джерелом отримання біомаси є плантаційне лісовирощування швидкоростучих деревних порід. На сьогодні в Україні створення плантацій високопродуктивних культур для потреб енергетики знаходиться лише на стадії експериментальних досліджень (Титко, Калініченко, 2010). Досить перспективною для умов України є верба прутовидна (*Salix viminalis* L.), щорічна продуктивність якої на плантаціях досягає 49 т/га (Фучило та інш., 2009). Однак, за існуючими даними (Шиманюк, 1967; Гордієнко, 2002), масове розмноження цієї породи традиційними методами є малоефективним, тому для вирішення зазначеної проблеми доцільним є залучення біотехнологічних методів культури клітин *in vitro*.

Метою нашої роботи було розроблення методики адаптації рослин-регенерантів *S. viminalis* L. після культури *in vitro* до умов *in vivo* для подальшого створення енергетичних плантацій.

Відібрані первинні експлантати ізолювали з трьохрічних рослин-донорів *S. viminalis* L. у весняно-літній період, стерилізували у 0,1% розчині сулеми з експозицією 8−10 хв, що дозволило забезпечити ефективність стерилізації понад 80%. Експлантати (апікальні меристеми, вегетативні бруньки та частини пагонів) культивували на живильному безгормональному середовищі за прописом Мурасіге та Скуга (МС) (Murashige T., Scoog F.A., 1962) за загальноприйнятою методикою (Кушнір, Сарнацька, 2005). При тривалості циклу культивування рослин-регенерантів 28−30 діб коефіцієнт розмноження становив 1:25. Як субстрат використовували суміш торфу низинного, біогумусу та піску річкового. Рослини-регенеранти різного віку (14-, 28- та 42-добові) висаджували у фіто-контейнери (місткість – 200 см^3) з субстратом різної вологості: 50−55%, 65−70%, 85−90%. Субстрат зволожували розчином ½ макро- та мікроелементів МС та штучно створювали підвищену вологість повітря на рівні 95−100%. Садивний матеріал при підвищеній вологості повітря експериментально витримували протягом різного періоду (2 доби та 10 діб), після чого вологість повітря поступово знижували до 60−70%. За появи ознак в'янення листків проводили обприскування водою. Контейнери з рослинним матеріалом витримували в контрольованих умовах адаптаційного приміщення (освітлення − 2−3 клк, 16-год. фотоперіод, t=24±2°C, відносна вологість повітря 60−70%). Ефективність адаптації визначали на 30 добу адаптації.

У результаті проведення експерименту було встановлено, що в цілому зі збільшеннням показника вологості субстату зменшувалася ефективність адаптації рослин-регенерантів незалежно від періоду витримування в умовах підвищеної вологості та віку садивного матеріалу. Так, зокрема, для 28-добових рослин-регенерантів, витриманих 10 діб, при вологості грунту 50−55%, 65−70%, 85−90% відсоток життєздатних становив відповідно – 30−38%, 6−10%, 1−3%. Зниження відсотка життєздатності відбулося переважно внаслідок інфікування рослинного матеріалу збудниками грибної інфекції (*Botrytis spp., Penicillum spp.*), що, на нашу думку, було спричинено високою вологістю субстрату та повітря.

За отриманими даними, найбільша ефективність адаптації спостерігалась у 28-добових рослин-регенерантів. Так, наприклад, для 14-, 28- та 42-добових рослин,

витриманих 10 діб, вологість грунту 50−55%, відсоток життєздатних становив відповідно – 15−20%, 30−38%, 26−30%.

Було з'ясовано, що при витримуванні рослин протягом 2 діб ефективність адаптації в цілому виявилась вищою на 5−30% порівняно з аналогічним показником при витримуванні протягом 10 діб.

Отже, за результатами проведеного дослідження найвищу ефективність адаптації (65−70%) було отримано для 28-добових рослин-регенерантів при вологості ґрунту 50−55% та періоді витримування в умовах підвищеної вологості 2 доби. На 90 добу адаптації було отримано садивний матеріал *S. viminalis* L. з високим показником утворення вегетативної маси (довжина 16−23 см) та добре розвиненою кореневою системою без наявних морфологічних аномалій.

Таким чином, результати проведених досліджень з адаптації рослин-регенерантів *S. viminalis* L. до умов *in vivo*, дозволили отримати життєздатний садивний матеріал з ефективністю близько 70%. Подальші дослідження спрямовані на розробку біотехнології щодо ефективного створення промислових плантацій верби прутовидної (*S. viminalis* L.) з метою отримання біомаси для потреб енергозабезпечення.

Гордієнко М.І. Чагарникові верби рівнинної частини України (біологія, екологія, використання) / Гордієнко М.І., Фучило Я.Д., Гойчук А.Ф., за ред. М.І. Гордієнко, 2002. − 174 с.

Кушнір Г. П. Мікроклональне розмноження рослин : теорія і практика / Г. П. Кушнір, В. В. Сарнацька. − К.: Наукова думка : Ін-т фізіології рослин і генетики, 2005. – 269 с.

Титко Ришард. Відновлювальні джерела енергії. / Титко Ришард, Калініченко Володимир. - Варшава – Краків – Полтава: Обєдн. шк. електр. №1, Полт. держ. агр. акад., 2010. − 533 с.

Фучило Я. Д. Створення та вирощування енергетичних плантацій верб і тополь / Фучило Я. Д., Сбитна М. В., Фучило О.Я., Літвін В.М. − К.: ЛОГОС, 2009. — 80 с.

Шиманюк А. П. Дендрология / Шиманюк А. П. – М.: Лесная промышленость, 1967. – 334 с.

Murashige T., Scoog F. A revised medium for rapid, growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. plantarum. – 1962. – V.15. - N. 3. – P. 473.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ МОЖЛИВОСТІ ПЕРЕНОСУ ГЕНІВ ВІД ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОГО РІПАКУ ДО ДИКИХ РОДИЧІВ З РОДИНИ *BRASSICACEAE*

Пірко Н.М.[1], Пірко Я.В.[1], Ожерєдов С.П.[1], Тимошенко А.В.[2], Штойна Ю.Я.[2], Осипенкова О.Л.[2], Ємець А.І.[1], Блюм Я.Б.[1]

[1]Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, вул. Осиповського, 2а, Київ, 04123, Україна, e-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net

[2]Київський національний університет ім.. Тараса Шевченка, ННЦ "Інститут Біології", вул. Володимирська, 64, Київ, 01601, Україна

У зв'язку з поширенням генетично модифікованих рослин виникає необхідність об'єктивної оцінки потенційного ризику їх впливу на навколишнє середовище. Зокрема постає питання необхідності оцінки можливостей неконтрольованого переносу генетичного матеріалу від ГМ рослин до споріднених видів. Ріпак олійний (*Brassica napus*), що належить до родини *Brassicaceae*, є однією з основних культур у виробництві харчових і технічних олій та кормів. В країнах ЄС дозволено вирощування декількох трансгенних ліній ріпаку олійного, серед них MS1 x RF1 (ACS-BN004-7xACS-BN001-4) та MS1 x RF2 (ACS-BN004-7 x ACS-BN002-5) компанії Bayer CropScience зі стійкістю до дії гербіциду глюфосинату, які містять ***bar*** ген та ***nos*** термінатор. Оскільки *B. napus* – амфіплоїд, тому існує висока ймовірність виникнення гібридних рослин при його схрещуванні з представниками родини *Brassicaceae* дикої флори. Дотепер дослідження можливостей перенесення генів в межах цієї родини здійснювалось різними авторами, але не в умовах Україні (Simard et al., 2002; Warwick et al., 2003).

Для дослідження можливостей перенесення трансгенів від ГМ ліній ріпаку до споріднених видів родини *Brassicaceae* в межах України було здійснено примусові схрещування у замкненій системі (умови теплиці) між ГМ ріпаком та дикими видами родини. В подальшому вихідні лінії ГМ ріпаку та гібридні рослини, отримані з насіння від відповідних схрещувань, вводили в культуру *in vitro* для подальших молекулярно-генетичних і цитологічних досліджень. Зокрема це були гібриди, отримані при схрещуванні ГМ ріпаку з *Brassica napus, B. campestris, B. juncea, B. nigra*, *Erucastrum cretaceum*, *Diplotaxis tenuifolia*, *Raphanus raphanistrum*. Здійснено підбір та синтез праймерів для виявлення трансгенів, а саме ***bar*** гена та ***nos*** термінатора, присутніх у лініях MS1xRF1 і MS1xRF2 та проведено молекулярно-генетичний аналіз введених в культуру *in vitro* рослин. В цілому було проаналізовано 32 варіанти схрещувань. Так, у двох з трьох проаналізованих варіантів схрещувань *E. cretaceum* з однією із ГМ ліній *B. napus* результати молекулярно-генетичного аналізу засвідчили одночасну присутність ***bar*** гена та ***nos*** термінатора. Для рослин, отриманих від схрещування *Brassica juncea x B. napus* (ГМ лінія), – у трьох із 4 варіантів схрещувань спостерігалась передача трансгенів наступному поколінню. Рослини, які утворились в результаті примусових схрещувань між *Brassica campestris* та ГМ лініями *B. napus*, також виявились трансгенними, у той час як спонтанний «гібрид» – ні. Слід зазначити, що серед проаналізованих рослин відсутність ГМ подій зафіксовано у «гібридів» *B. napus* x *B. napus* (ГМ лінія), в той же час у рослин, що утворились в результаті схрещувань ГМ ріпаку з *E. cretaceum*, *Brassica juncea* та *Brassica campestris*, навпаки, частіше виявлялися рослини з ГМ подією. Таким чином, за допомогою молекулярно-генетичного аналізу з використанням ПЛР встановлено факт перенесення трансгенів від ГМ ріпаку до його близьких родичів родини *Brassicaceae*, які зустрічаються у природній флорі України.

Simard M.-J., Legere A., Pageau D., Lajeunesse J., Warwick S.. The frequency and persistence of canola (*Brassica napus*) in Quebec cropping systems// Weed Technol. - 2002. - V. 16. - P. 433-439.

Warwick S.I., Simard M.-J., Legere A., Beckie H.J., Braun L., Zhu B., Mason P., Seguin-Swartz G., Stewart C.N.. Hybridization between transgenic *Brassica napus* L. and its wild relatives: *Brassica rapa* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Sinapis arvensis* l., and *Erucastrum gallicum* (Willd.) O.E. Schulz //Theor. Appl Genet. – 2003. – V. 107. – P. 528-539.

РАЗРАБОТКА ПРОТОКОЛА РЕГЕНЕРАЦИИ *IN VITRO* РАСТЕНИЙ *SPINACIA OLERACEA* КАК ПОДГОТОВКА К *AGROBACTERIUM*-ОПОСЕРЕДОВАННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СЕЛЕКТИВНОГО ГЕНА УСТОЙЧИВОСТИ К ФОСФИНОТРИЦИНУ

Баглай А.Ю., Синдаровская Я.Р., Шелудько Ю.В.
Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины
Украина, 03680, Киев, ул. Заболотного, 148; e-mail: Abaglaj@i.ua

Шпинат (*Spinacia oleracea* L.), являющийся одной из важнейших овощных культур, известен как богатый источник железа, витаминов и минеральных веществ. Это делает его ценным объектом биотехнологии, перспективным с точки зрения получения съедобных вакцин. Однако регенерация у этого вида растений в культуре *in vitro* происходит сложно. Описаны методики трансформации и регенерации шпината из гипокотилей (Xiao and Branchard, 1993) или культуры протопластов (Goto et al., 1998). Регенерация в этих случаях происходит через один-два месяца после перенесения эксплантов на регенерационную среду. Нашей задачей была разработка ускоренного протокола регенерации растений шпината из листовых дисков и определение оптимальных концентраций селективного агента для агробактериальной трансформации.

В исследованиях использовались растения вида *S. oleracea* сорта «Чита». Для получения стерильного материала использовали методику поверхностной стерилизации семян (Xiao and Branchard, 1993) с незначительными модификациями. После стерилизации семена *S. oleracea* проращивали на агаризованной безгормональной среде MS с 30 г/л сахарозы и культивировали в условиях 16-часового фотопериода при 23°С. Первые проростки наблюдали через 4-5 дней после стерилизации, а массово семена прорастали через 7-10 дней культивирования.

Для регенерации растений использовали среду MS с добавлением фитогормонов НУК (нафтилуксусная кислота), 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота), БАП (6-бензиламинопурин) и кинетин (6-фурфуриламинопурин). Через 1,5-2 недели после перенесения эксплантов листьев на питательные среды наблюдали образование каллуса и почти одновременно с этим - регенерацию. На средах с добавлением БАП и НУК в концентрации 1,5 мг/л и 0,4 мг/л, соответственно, наблюдали регенерацию у 30% эксплантов, а на средах с добавлением кинетина (2 мг/л) и 2,4-Д (0,5 мг/л) – у 11% эксплантов.

Генетические конструкции, которые будут использоваться для агробактериальной трансформации шпината, содержат гены устойчивости к PPT (фосфинотрицину) для первичной селекции трансформантов. Для избежания ложноположительных результатов мы проверили устойчивость шпината к различным концентрациям PPT. При культивировании эксплантов на средах MS с добавлением БАП, НУК, 2,4-Д, кинетина и 5 мг/л PPT мы наблюдали образование каллуса и появление регенерантов. Это свидетельствует о естественной устойчивости шпината к данной концентрации фосфинотрицина. Было показано, что при концентрации PPT 7,5 мг/л регенерация не происходит, то есть такая концентрация является селективной для данного объекта.

Таким образом, нами было показано, что регенерация из листовых дисков более эффективно происходит на средах, содержащих БАП и НУК. Также была определена естественная устойчивость шпината к фосфинотрицину и подобрана его селективная концентрация.

Goto T., Miyazaki M., Oku M. (1998) J. Japan. Soc. Hort. Sci. 67:503-506.
Shojaei T.R., Salari V., Ramazan D. (2010) African J. of Biotechnology 9:4179-4185.
Xiao X., Branchard M. (1993) Plant Cell Rep. 13:69-71.

ФУНКЦІОНАЛІЗАЦІЯ ВУГЛЕЦЕВИХ НАНОТРУБОК ЗА ДОПОМОГОЮ БІОЛОГІЧНИХ МОЛЕКУЛ З МЕТОЮ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ ДЛЯ ГЕНЕТИЧНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ РОСЛИН

Бурлака О.М., Пірко Я.В., Ємець А.І., Блюм Я.Б.
Інститут харчової біотехнології та геномікиНАН України;
e-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net

Важливим етапом у розробці методик генетичної трансформації рослин з використанням вуглецевих нанотрубок (ВНТ) як фізичних векторів для перенесення ДНК у клітини, є отримання трансформаційно-активних, диспергованих у водному середовищі комплексів ДНК з ВНТ. ВНТ мають гідрофобні властивості і, загалом, погано диспергуються у більшості розчинників через сильні Ван-дер-Ваальсові взаємодії між окремими ВНТ. Тому для біологічного застосування їх функціоналізують приєднанням молекул чи радикалів, які уможливлюють і опосередковують диспергування ВНТ у воді (Liu et al., 2009). У ряді досліджень повідомляється про отримання диспергованих у воді комплексів ВНТ з ДНК під дією ультразвуку, за рахунок π-π-стекінг взаємодій між стінками ВНТ і азотистими основами ДНК (Nakashima et al., 2003). Також використовується попередня функціоналізація ВНТ приєднанням біомолекул (білків, полісахаридів, фосфоліпідів) з отриманням диспергованих у воді ВНТ, до яких у подальшому, нековалентно приєднується ДНК (Karousis et al., 2010).

У рамках розробки системи генетичної трансформації рослин за допомогою ВНТ було проведено дослідження ефективності диспергування ВНТ у водному середовищі під впливом ультразвуку, використовуючи у якості функціоналізуючих агентів різні біологічні молекули (плазмідну ДНК, суміш dNTP, спермідин). У результаті проведених досліджень було отримано колоїдні розчини комплексів ВНТ з ДНК, спермідином та з dNTP. У випадку використання спермідину не спостерігали утворення гомогенної суміші; основна частина ВНТ виявлялася у вигляді окремої фази на поверхні розчинника. В той же час, у випадку з плазмідною ДНК та розчином dNTP спостерігали утворення колоїдних розчинів темного кольору різного ступеня забарвлення. Таким чином, результати проведених досліджень підтверджують здатність ВНТ диспергуватися внаслідок обробки ультразвуком у водному середовищі в присутності ДНК або ж суміші dNTP. Азотисті основи цих біомолекул, скоріше за все, вступають у π-π-стекінг взаємодії з поверхнею ВНТ, тоді як гідрофільні цукро-фосфатні залишки виявляються повернутими назовні. Спермідин, як можливий агент функціоналізації ВНТ, виявив низьку ефективність, що імовірно пов’язано з особливостями його молекулярної будови, яка характеризується малою спорідненістю до ВНТ.

Liu Z., Tabakman S., Welsher K., Dai H. Carbon nanotubes in biology and medicine: *in vitro* and *in vivo* detection, imaging and drug delivery // Nano Res. – 2009. – V. 2. – P. 85-120.
Nakashima N., Okuzono S., Murakami H. et al. DNA dissolves single-walled carbon nanotubes in water // Chem. Lett. – 2003. – V. 32, N. 5. – P. 456-457.
Karousis N., Tagmatarchis N., Tasis D. Current progress on the chemical modification of carbon nanotubes // Chem. Rev. – 2010. – V. 110, N. 9. – P. 5366-5397.

ПОВЫШЕНИЕ ЕФЕКТИВНОСТИ ТРАНСФОРМАЦИИ *CRY*-ГЕНАМИ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ УКРАИНСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Жук В.П., Емец А.И.

Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, ул. Осиповского, 2а, м. Киев, 04123, Украина; e-mail: viktoria.zhuk@gmail.com

Нами были проведены эксперименты по разработке протокола эффективной трансформации разных сортов картофеля украинской селекции с использованием синтетичных *Cry*-генов, обеспечивающими устойчивость к различным классам насекомых-вредителей. Для этого в качестве эксплантов использовали листовые диски и междоузлия побегов четырехнедельных растений сортов картофеля Левада, Свитанок, Вернисаж и Зарево из селекции Института картофелеводства НААН Украины. Генетическую трансформацию проводили с использованием 5-ти различных конструкций *A. tumefaciens*, содержащих синтетические *Cry*-гены: *Cry*2Aa2, *Cry*1C і *Cry*1Ac, находящимися под контролем двух промоторов: d35S промотору вирусу мозаики цветной капусты или под ткане-специфическим промотором из картофеля STLS. Конструкции агробактерии любезно были предоставлены проф. И. Альтасааром (Университет Отавы, Канада). Для агробактериальной трансформации вышеуказанных сортов экспланты погружали в суспензию бактерии, а потом культивировали на среде для индукции каллуса. После двух дней кокультивации трансформанты промывали стерильной водой и высаживали на среду, содержащей канамицин в качестве селективного агента и цефатоксим для приостановки роста бактерии. Для регенерации растений экспланты переносили на среду, дополнительно содержащую комбинацию фитогормонов (НУК и БАП). Протрансформированые ткани пассировали каждые две недели на свежей питательной среде. В дальнейшем трансформанты высаживали на безгормональную среду.

Известно, что применение периода пре- и ко-культивирования значительно повышает дальнейший уровень регенерации трансформантов. В нашей работе экспланты, подвергшиеся прекультивированию, не только давали более высокий результат самой трансформации, а также имели повышенную устойчивость к разрастанию культуры агробактерии и обесцвечиванию клеток на селективной среде. Оптимальный период пре-культивирования эксплантов перед трансформацией составил 4 дня. Длительность культивирования тоже оказывает большое влияние на эффективность трансформации растений. Слишком короткий период ко-культивирования может непривнсти к генетической модификации, однако, слишком долгий период приводит к зарастанию *Agrobacterium* и может вызывать некроз и гибель клеток. Оптимальный период кокультивирования в наших эксперементах составил 2-3 дня. Установлено, что использование манитола перед и после трансформации также повышало устойчивость к разрастанию культуры агробактерии и приводило к значительному росту каллусной массы. Было установленно, что среди исследованных сортов высоким уровнем трансформации характеризовались растения сорта Свитанок, Вернисаж и Зарево.

В результате проведенных экспериментов был оптимизирован протокол трансформации данных сортов картофеля. Стабильный рост на селективной среде отобранных трансформантов позволяет предположить наличие в них *Cry*-генов. Для подтверждения экспрессии перенесенных генов проводиться молекулярно-генетический анализ отселектированых линий.

РЕГУЛЮВАННЯ МОРФОГЕННИХ ПРОЦЕСІВ У ЕКСПЛАНТІВ *AMELANCHIER OVALIS* MEDIK. В КУЛЬТУРІ *IN VITRO*

Андрієнко О.Д., Колдар Л.А., Небиков М.В.
Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України

Рід *Amelanchier* Medik. родини *Rosaceae* Juss. об'єднує близько 25 видів ірги, поширених у зонах помірного клімату, з яких в Україні ростуть переважно два тетраплоїдних 68-хромосомних види: ірга звичайна, або овальна, – *A. ovalis* Medik. та ірга канадська – *A. canadensis* (L.) Medik. Крім того, певне значення мають ірга колосиста – *A. spicata* (Lam.) K. Koch, ірга малоплідна – *A. bartramiana* (Tausch) M.Roem., ірга вільхолистна – *A. alnifolia* (Nutt.) Nutt. ex M.Roem., ірга рясноквітуча – *A. alnifolia* var. *semi-integrifolia* (Hook.) C.L.Hitchc. та деякі інші види й різновиди (Опалко, 2000; Флора УРСР, 1954).

Успішне впровадження кращих представників *Amelanchier* у вітчизняне садівництво потребує виробництва великої кількості садивного матеріалу. Для цього можна використовувати насіннєве та вегетативне (відсадками, поділом кущів, щепленням) розмноження. Однак за насіннєвого походження, отримують неоднорідне потомство, в якому не зберігаються ознаки рослин, з яких було відібрано насіння. Тому найбільш цінні сорти і форми розмножують вегетативно. За вегетативного розмноження ознаки маточних рослин зберігаються у вегетативному потомстві, однак коефіцієнти розмноження відсадками чи поділом кущів не завжди достатні, а щеплення на сіянцях ірги, які схильні давати багато порослі, завдає багато клопотів з її видалення. Це спонукало пошук способів мікроклонального розмноження *A. ovalis* як досить перспективного виду для впровадження у вітчизняне озеленення і плодівництво.

Вивчали залежність процесів морфогенезу в експлантів *A. ovalis* від фітогормонального складу живильних середовищ. У природних умовах ріст і розвиток рослин контролюється фітогормонами – хімічними речовинами, що виробляються у дуже малій кількості, але здатними давати відчутний фізіологічний ефект (Ребров, 2008; Троян, 1995). Регулювання проліферації і морфогенезу *in vitro* здійснюється додаванням до базових живильних середовищ відповідних фітогормонів. Базове живильне середовище (Murashige et al., 1962) було модифіковане 6-бензиламінопуріном (6-БАП) 0,5 – 4,0 мг/л та β-індолилмасляною кислотою (ІМК 0,01 – 0,5 мг/л) у шести варіантах. Культивовані на різних середовищах експланти відрізнялись за коефіцієнтом розмноження, довжиною пагонів, кількістю пар листків, їх забарвленням тощо) залежно від співвідношення фітогормонів у живильних середовищах.

Встановлено, що найбільш активно процеси морфогенезу відбувалися у варіанті модифікування живильного середовища додаванням 6-БАП – 2,0 мг/л, у якому спостерігали активний ріст центрального пагона, а впродовж 15 – 23 діб з одного експланта формувалось пересічно 5 – 7 додаткових адвентивних мікропагонів. У другому пасажі коефіцієнт розмноження *A. ovalis* досягав 25.

Опалко А. І. Селекція зерняткових культур // Селекція плодових і овочевих культур / А. І. Опалко, Ф. О. Заплічко. – К.: Вища школа, 2000. – С. 345 – 364.
Ребров В. Г. Витамины, макро- и микроэлементы / В. Г. Ребров, О. А. Громова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 960 с.
Троян В. М. Етапи росту рослин та їх особливості / Троян В. М. – К.: Наукова думка, 1995. – 261 с.
Флора УРСР : [у 12 т.] / ред. тому Д. К. Зеров. – К.: Вид-во АН УРСР, 1954. – Т.VI. – С. 46 – 47.
Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiology Plant. – 1962. – 15, № 13. – P. 473 – 497.

РОСТОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР *CLEMATIS VITALBA* НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ, СОДЕРЖАЩИХ СЕЛЕН

Заяц А.Ю., Сидякин А. И., Теплицкая Л.М.
Таврический национальный университет им. Вернадского, г. Симферополь; e-mail: zayatc.alex@i.ua

По современным данным более 30 микроэлементов считаются необходимыми для нормальной жизнедеятельности человека. Среди них селен, суточная потребность которого 30-100 мкг. Спектр его действия широк. Он выполняет каталитическую, структурную и регуляторную функции, взаимодействует с витаминами, ферментами и биологическими мембранами, участвует в окислительно-восстановительных процессах, обмене жиров, белков и углеводов. Основными путями поступления селена в организм являются продукты животного и растительного происхождения. Одним из источников микроэлементов в наиболее доступной (биологически активной) форме являются растения. Перспективным путем получения растительной биомассы, обогащенной микроэлементами в биологически активной форме, является культура *in vitro*. Этот метод позволяет получать клеточные культуры различных видов растений, которые могут быть использованы как источники микроэлементов и биологически активных веществ (БАВ). В связи с вышесказанным получение клеточных культур растений, содержащих микроэлементы и БАВ, несомненно, актуально.

Целью данной работы являлось изучение влияние Se на ростовые параметры пассируемой культуры клеток *Clematis vitalba*.

Материалом для исследования служили каллусные культуры *C. vitalba* IV пассажа, которые выращивали на модифицированных агаризованных питательных средах, дополненных селенитом натрия в концентрациях от 1 до 10 мг Se/л.

Согласно результатам проведенных исследований, при культивировании каллусных культур *C. vitalba* в контрольном варианте опыта (на среде без селена) индекс роста (ИР) составил 3,62. Внесение в питательные среды 1 и 5 мг Se/л стимулировало накопление биомассы (ИР составил 6,19 и 7,03). Дальнейшее повышение содержания Se в среде (10 мг Se/л) значительно увеличивало ростовые показатели каллуса до 22.

Проведенные исследования показали стимулирующее влияние Se на ростовые параметры каллусной культуры. В дальнейшем планируется изучение влияния повышенного содержания Se в питательной среде на аккумуляцию его в клеточных культурах и отбор штаммов с высоким содержанием этого микроэлемента.

СТЕРИЛІЗАЦІЯ РОСЛИННОГО МАТЕРІАЛУ ЯК ЕТАП РОЗМНОЖЕННЯ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *CORYLUS* L. В КУЛЬТУРІ *IN VITRO*

Сергієнко Н. В.
Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України

Раціональне використання, подальше вивчення та збагачення рослинного різноманіття в Україні є важливим завданням ботанічної науки. У зв'язку з цим великий інтерес являють декоративні форми та сорти ліщини, які широко застосовуються в озелененні та плодівництві.

З метою збереження генетичної однорідності видів, сортів, форм представників роду *Corylus* L. використовують вегетативне розмноження. Застосовуючи класичні методи розмноження одержуємо відносно обмежену кількість рослин. Виникає потреба у використанні нових, більш ефективних методів розмноження. Одним з таких методів є прискорене розмноження рослин у культурі *in vitro*. Перевагами цього методу розмноження є можливість отримання в короткі строки, незалежно від пори року великої кількості безвірусного садивного матеріалу.

Вирощування в стерильних умовах будь-якого рослинного матеріалу передбачає послідовне проведення цілого ряду технологічних процесів, які починаються зі стерилізації рослинного матеріалу (Косенко та ін., 2008). Процес стерилізації інтактної рослини, необхідно виконувати з особливою увагою, оскільки від цього залежить, чи буде експлант розвиватися, чи загине від інфекції (Черевченко та ін., 2008). Для стерилізації органів і тканин рослин, з яких буде ізолюватися експлант, зазвичай застосовують великий набір різних стерилізуючих речовин. Найбільше використовуються розчини з вмістом активного хлору: гіпохлорид кальцію і натрію, хлорне вапно, хлорамін, також розчини сполук ртуті — сулейма, диацид та ін. Ці речовини за правильного підбору концентрацій та експозиції дають позитивні результати, незважаючи на їх токсичність для рослинних тканин (Бутенко, 1964).

Щоб отримати стерильний матеріал, вивільнений від патогенів, підбирали поєднання стерилізуючих препаратів та їх концентрацій, за яких тканини рослинного організму залишалися б життєздатними. Під час проведеної роботи випробувано стерилізуючі речовини: гіпохлорид натрію ($NaClO$), дихлорид ртуті ($HgCl_2$), нітрат срібла ($AgNO_3$). Для більш ефективної дії до кожного із стерилізаторів додавали емульгатор „Твін 80”.

Найвищий відсоток стерильних та життєздатних експлантів було отримано за використання такої схеми стерилізації: мильний розчин → проточна вода → 70% етанол (10 сек.) → 5% гіпохлорид натрію (8 хв.) з додаванням емульгатора „Твін 80”→ чотириразове промивання стерильною водою. Одержаний рослинний матеріал, після видалення залишків стерилізатора, висаджували на безгормональне живильне середовище для подальшого пересаджування і розмноження рослин.

Бутенко Р.Г. Культуры изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Р.Г. Бутенко, — М.: Наука, 1964. — 272 с.
Косенко І.С., Фундук: прикладна генетика, селекція, технологія розмноження і виробництва: Навч. посібник / Косенко І. С., Опалко А. І., Опалко О. А.,— Київ: Наук. думка, 2008. — 256 с.; іл
Черевченко Т. М. Биотехнология тропических и суб тропических растений in vitro / Черевченко Т. М., Лаврентева А. Н., Иванников Р. В.,— К. Наук. думка, 2008.— 559 с.

ОСОБЛИВОСТІ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ *SORBUS DOMESTICA* L.

Цимбал О.М.
Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України

S. domestica L. — горобина кримська або домашня — реліктовий вид середземноморської флори, який у природньому стані росте в гірській частині Криму та на Кавказі (Курьянов, 1986). Цей вид у західноєвропейських країнах використовують для отримання цінної меблевої деревини, а плоди — у харчовій та фармацевтичній промисловості (Мельниченко, 1999). *S. domestica* L. має великі для представників роду *Sorbus* L. плоди завдовжки 1,5–3,5 см та завширшки 1,3–3 см. Середня маса плода становить 17–25 г, а максимальна — 30–35 г (Курьянов, 1986).

Метою нашої роботи було вивчення морфогенетичного потенціалу, розробка методів для підтримання постійної стерильної культури, розмноження матеріалу *S. domestica* L. для подальшого його використання при розробці методики вкорінення та підвищення коефіцієнта розмноження.

Порівняно з більшістю інших видів роду *Sorbus* L. пагони *S. domestica* L. мають сильне опушення і потребують ретельнішої обробки при введені у живильне середовище. Перед стерилізацією необхідне механічне очищення пагонів з повним видаленням ворсинок, що не завжди дає змогу отримати високий відсоток стерильного татеріалу. Тому, для введення в культуру *in vitro* використовували як експлант свіжо зібране насіння, яке стерелізували 0,1% розчином дихлориду ртуті $HgCl_2$ протягом 3-х хвилин. Для культивування використовували базове живильне середовище Мурасіге – Скуга (MS) модифіковане додаванням вітамінів B_1, B_6, C, PP та цитокініну БАП. Після введення насіння у живильне середовище, пробірки з експлантами поміщали в холодильну камеру для проходження стратифікації. Після закінчення терміну стратифікації пробірки з експлантами переносили в культуральну кімнату з кондиційованим повітрям, з температурою 25˚С, відносною вологістю повітря 70–75%, фотоперіодом 16 годин та штучним освітленням 3–5 тис. люкс. На 25-й день після перенесення в культуральну кімнату проросло 36% насінин. Після того, як сіянці сформували 3–4 справжніх листочки проводили перше пасажування. Сіянці ділили на кілька частин, відділяли корінь і отримували 3–4 нових експланти. Розглядали основні показники: ступінь розвитку калюсогенезу, здатність до пагоноутворення та ризогенезу. Вході досліджень було встановлено, що найкращий коефіцієнт розмноження спостерігався на середовищі з додаванням 2 мг/л БАП. Довжина пагонів була 1,5–3 см, але коефіцієнт пагоноутворення зафіксований вищий ніж на інших досліджуваних середовищах. При додаванні до середовища 1мг/л БАП кількість пагонів була меншою, але вони мали більшу довжину (до 7,5 см) і спостерігалося калюсоутворення в базальній частині експлантів. Експланти які перевищували 6–7 см відділяли для індукування ризогенезу. Для цього до середовища додавали ІМК, ІОК, НОК в різних концентраціях . Було встановлено, що найкращі результати відмічені на середовищі з додаванням 0,5 мг/л ІОК та 1 мг/л НОК. Ризогенез спостерігали на 15-й день досліджень. Кількість коренів становила від 1 до 9, а довжина їх коливалася в межах 1–13 см. На даний час проводиться робота з адаптації рослин регенерантів в умовах лабораторії з подальшим перенесенням *ex vitro*.

Курьянов М.А. Рябина садовая / М.А. Курьянов. – М.: Агропромиздат, 1986. – 77 с.
Мельниченко Н.В. Модификационная изменчивость и формовое разнообразие рябины крымской в условиях Лесостепи Украины / Н.В. Мельниченко // Інтродукція рослин №3–4/1999. — С–139–141.

РАЗРАБОТКА ПРОТОКОЛА АГРОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ (*Beta vulgaris* L.) СИНТЕТИЧЕСКИМИ *Cry*-ГЕНАМИ

Сивура В.В., Литвин Д.И., Курило В., Емец А.И.
Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, ул. Осиповского 2а, 04123 Киев-123, Украина; e-mail: Valicoo@rambler.ru

Сахарная свекла (*Beta vulgaris* L.) является одной из наиболее важных технических культур, поскольку почти 40% сахара в мире изготавливается из данной культуры. Исходя из этого развитие селекционно-генетических работ, направленных на улучшение потенциала выращивания сахарной свеклы и производство сахара имеет большое экономическое значение для нашей страны. Однако следует отметить, что ввиду вариабельности генотипов, низкого регенерационного и трансформационного потенциала сахарной свеклы, существуют серьезные ограничения для применения основных биотехнологических манипуляций *in vitro* с исходным экспериментальным материалом этой культуры, направленных на повышение показателей ее урожайности и устойчивости к различного рода патогенам и вредителям. Целью наших исследований была разработка протокола эффективной агробактериальной трансформации сахарной свеклы с использованием синтетических *Cry*–генов. В работе использовали бинарные векторы p1AcPRD, p1CPRD, p2APRD, несущие синтетические *Cry1Ac-, Cry1C-, Cry2A*-гены, соответственно, под контролем промотора d35S CaMV, а также селективный маркерный *nptII*-ген с устойчивостью к канамицину. Перечисленные целевые гены обеспечивают резистентность к ряду насекомых-вредителей отряда *Lepidoptera* (Перепончатокрылые) и *Diptera* (Двукрылые). В качестве исходного материала была взята отцовская селекционная линия ММ ½ сахарной свеклы, любезно предоставленная Институтом биоэнергетических культур и сахарной свеклы НААН Украины.

Для трансформации *B. vulgaris* использовали *Agrobacterium tumefaciens* штамма LB4404. Перед трансформацией агробактерию инкубировали в жидкой среде MS (Murashige & Skoog, 1962) с добавлением 50 мМ ацетосерингона на протяжении 5 ч. Затем листовые диски инкубировали с культурой агробактерий в течении 48 ч. Для селекции использовали среду. содержащую 300 мг/л цефотаксима для элиминации бактерии и 200 мг/л канамицина, в качестве селективого агента. Пассирование культуры проводили каждые две недели с той же концентрацией антибиотиков. Нами была установлена предварительная эффективность трансформации на селективной среде, которая составляла 31% при использовании конструкции p1AcPRD, а также 10% при использовании двух других конструкций. В настоящее время проводится молекулярно-генетический анализа отобранных трансгенных линий сахарной свеклы для установления их трансгенной природы, а также планируется проведение соответствующих биотестов для установления наличия устойчивости растений к насекомым–вредителям.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ПАЛЬЧАТОГО ПРОСА *E. CORACANA* (L.)

Баер Г.Я., Емец А.И., Блюм Я.Б.
Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины,
ул. Осиповского 2а, г. Киев, 04123, Украина; e-mail: galinabayer@mail.ru

Наиболее важными критериями при создании химических препаратов с гербицидной активностью является их нетоксичность для человека и животных, а также избирательное ингибирование роста сорняков. Первое требование удовлетворить довольно легко, поскольку существуют принципиальные отличия в биологии растительной и животной клетки, что позволило синтезировать большое количество химических препаратов.На сегодняшний день более четверти мирового рынка гербицидов составляют вещества, которые нарушают деление клеток. К ним в частности относятся соединения специфически связывающиеся с тубулином растительных клеток и не взаимодействующие с тубулином растительного происхождения. Среди них особое место занимают динитроанилиновые и фосфоротиоамидные гербициды (Hugdahl & Morejohhn, 1993), блокирующие динамику микротрубочковых структур клеток, что приводит в последствии к нарушениям деления и роста клеток.

Преимущества использования динитроанилиновых гербицидов обусловлены их высокой специфичностью, поскольку динитроанилины связываются только с растительным тубулином в низких микромолярных концентрациях (Blume et al., 2003). Поэтому создание культурных растений с устойчивостью к таким гербицидам на сегодняшний день является актуальной проблемой.

Объектом наших исследований были выбраны растения пальчатого проса сорта Тропиканка и нового высопродуктивного сорта Ярослав-8. Трансформацию проводили с помощью *Agrobacterium tumefaciens* и бомбардмента микрочастичками вольфрама. Для агробактериальной трансформации использовали бинарный вектор pBITUBA8, содержащий мутантный ген α-тубулина *Tuam1* из *E. indica* (обеспечивает устойчивость к динитроанилиновым гербицидам) и ген β–тубулина *HvTUB1* с ячменя, а также селективный *ntpII* ген. Для биолистической трансформации использовали две плазмиды: pAHTUAm1, содержащую мутантый ген *Tuam1* и *bar*- ген, и pAHTUB1 и селективный *bar*-ген, содержащую ген *HvTUB1*. Все гены находились под контролем убихитинового промотора кукурузы (*PUbi*) и терминатора нопалинсинтазы (*NOS*) (Yemets et al., 2008). Для трансформации использовали одну конструкцию pAHTUAm1 либо обе в эквимолярных концентрациях. Селекцию трансформантов проводили на 10 мкМ трифлюралина. Трансгенная природа полученных регенератов, устойчивых к динитроаналиновым гербицидам, была подтверждена с помощью и ПЦР-анализа с использованием специфических проб к *ntp II* гену и *bar* гену. С помощью генетического анализа потомства было показано наследование привнесенных генов.

Hugdahl J.D., Morejohn L.C. Rapid and reversible high – affinity binding of the dinitroaniline herbicide oryzalin to tubulin from *Zea mays* L. // Plant Physiol. – 1993. – Vol. 102. – P. 725 – 740.
Blume Ya. B., Yemets A. I., Nyporko A. Yu., Baird W. V. Structural modelling of plant α-tubulin interaction with dinitroanilines and phosphoroamidates // Cell Biol. Int. – 2003. – Vol. 27, N 3 – P. 171 – 174.
Yemets A.I., Radchuk V.V., Bayer O.A., Bayer G.Ya., Pakhomov A.V., Baird W.V Blume Ya.B. The development of transformation vectors based upon a modified plant □-tubulin gene as the selectable marker // Cell Biol Int. – 2008. – 32. – P.566 – 570.

БАЗИДІАЛЬНІ ГРИБИ − ОСНОВА ДЛЯ СТВОРЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПРОДУКТІВ

Круподьорова Т.А.
Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України вул. Осиповського 2а, м.Київ, 04123, Україна

Застосування функціональних харчових продуктів, харчових продуктів для спеціального дієтичного харчування, харчових добавок, як компонентів для їх створення, дієтичних добавок − найбільш перспективний напрям первинної і вторинної профілактики поширених соматичних захворювань. Такий підхід відповідає основному принципу медицини − зміцненню здоров'я населення, попередженню розвитку найпоширеніших хвороб людини, запобіганню несприятливої дії на організм факторів навколишнього середовища. Створення вищезгаданих продуктів неможливо без пошуку додаткових природніх ресурсів біологічно активних речовин.

У всьому світі проводяться ґрунтовні дослідження з вивчення таких фармакологічно перспективних сполук з грибів як глікани, хітин, терпени, ліпіди, каротиноїди, флавоноїди, меланіни, поліфеноли тощо. Особлива увага належить полісахаридам. Полісахариди вищих грибів знайдені в плодових тілах, культуральному міцелії та культуральній рідині. Завдяки багаточисленним експериментам та клінічним випробуванням, що були проведені перш за все в Китаї, Японії, США, встановлено, що полісахариди різних видів базидіальних грибів (*Ganoderma lucidum, Trametes versicolor, Grifola frondosa, Tremella fuciformis, Schizophyllum commune, Lentinus edodes*) здатні обумовлювати протипухлинну, антивірусну, антидіабетичну, гепатопротекторну, іммуномодулювальну, антиоксидантну, протипухлинну, гіпохолестеринемічну, фото- и радіопротекторну активності (Stamets, 2000; Wasser, 2010). Одночасно, особливого значення також набувають експерименти, спрямовані на використання базидіальних лікарських грибів як джерел харчового протеїну, амінокислот, зокрема незамінних амінокислот, ненасичених жирних кислот, полісахаридів, вітамінів, мікро- та макроелементів. В наш час у харчовій та фармацевтичній промисловостях країн Південно-східної Азії активно застосовують харчові, дієтичні, біологічно активні добавки (БАД) та профілактично-лікувальні препарати, на основі грибів із різних систематичних груп. Слід зауважити, що сукупний вплив на організм комплексу біологічно активних речовин грибів забезпечує ефект доповнення та полівалентності. Продукти на основі лікарських грибів необхідно розглядати як раціональний засіб корекції харчування і, одночасно, як засіб профілактики або додаткової терапії багатьох хронічних захворювань. Відповідно, такі продукти, розроблені на основі базидіальних грибів, у рівному ступені відносять як до нутрі-, так і парафармацевтиків. Незважаючи на значний потенціал лікарських грибів, виробництво на їх основі функціональних харчових продуктів, харчових продуктів для спеціального дієтичного харчування, харчових добавок, як компонентів для їх створення, дієтичних добавок в Україні, нажаль, находиться на етапі становлення. Ряд БАД (серія «Мікосвіт», серія «Міко») випускається за результатами досліджень, виконаних в Інституті ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Дослідження, спрямовані на створення харчових добавок та функціонально харчових продуктів на їх основі проводяться останні роки в ДУ "Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України". Визначено склад міцеліальної маси та культуральної рідини грибів, створено проекти НТД, отримано патент на корисну модель. Такі дослідження сприятимуть створенню вітчизняних функціональних продуктів з ціною, нижчою ніж імпортні, що дозволить забезпечити конкурентну здатність та доступність продукту більш широкому колу людей.

Stamets P. Growing gourment and medicinal mushrooms.− Hong Kong: Ten Speed Press, 2000. − 574 p.
Wasser S.P. Medicinal mushroom science: history, current status, future trends, and unsolved problems // Int. J. Med. Mush. –V.12, №1. – 2010. – P. 1–16.

ПРОМИСЛОВІ ПРОДУЦЕНТИ ЛІЗИНУ – АУКСОТРОФНІ МУТАНТИ

Андріяш Г.С., Бейко Н.Є., Заболотна Г.М., Тігунова О.О., Ткаченко А.Ф., Шульга С.М.

Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, вул. Осиповського, 2а, 04123, г. Київ-123, Україна

Досліджено штами-продуценти лізину: *Brevibacterium sp. 90, Brevibacterium sp. 90H, Brevibacterium sp. X* з Колекції штамів мікроорганізмів та ліній рослин для харчової та сільськогосподарчої біотехнології ІХБГ.

Більшість промислових штамів-продуцентів - це ауксотрофні мутанти за однією або декількома амінокислотами. Їх мутації пов язані із змінами у генах, що кодують ферменти регулювання біосинтезу лізину за принципом зворотного зв язку (Підгорський, Іутинська, Пирог, 2010). Бревібактерії - промислові продуценти лізину – мають ауксотрофність за гомосерином, лейцином, треоніном (Пирог, Ігнатова, 2009; Жданова, 1990)

Проведено клоновий аналіз промислових продуцентів лізину *Brevibacterium sp. 90, Brevibacterium sp. 90H, Brevibacterium sp. X*, з трьох продуцентів отримано 15 клонів. Кожен оцінено за лізиновою продуктивністю в періодичних умовах культивування та оптимального забезпечення продуцентів киснем. Рівень біосинтезу лізину складав 4−12 г/л лізину .

Досліджено ауксотрофність штамів бревібактерій щодо 16 амінокислот на твердих поживних середовищах; перевірено ауксотрофність клонів щодо амінокислот аспартатної родини на мінімальному рідкому середовищі в оптимальному забезпеченні культур киснем; визначено, що клони є ауксотрофами за гомосерином та лейцином.

Підібрано та оптимізовано мінімальне середовище за джерелом вуглецевого живлення для вивчення ауксотрофності штамів бревібактерій.

Показано, що клони синтезували лізин та амінокислоти аспартатної родини на мінімальному середовищі. Визначено, що досліджені клони – це мутантні штами зі змінами в генах *hom* (гомосериндегідрогенази) та *lysC* (аспартаткінази).

Відібрано 3 клони для здійснення генно-інженерного вдосконалення продуцента (6-hom^-, leu^-, met^-; 7- hom^-, leu^-; 11- hom^-, leu^-, tre^-, trp^-).

Виділено геномну та плазмідну ДНК трьох клонів *Brevibacterium sp.* та двох штамів *E. coli,* проведено їх електрофоретичне дослідження (Федоренко, 2006; Мартиненко, 2010), клони розрізнялись за геномною та плазмідною ДНК.

Підгорський В.С., Г.О. Іутинська, Т.П. Пирог Інтенсифікація технологій мікробного синтезу. – Київ: НВП «Вид-во Наукова думка НАН України», 2010. – 327 с.

Пирог Т.П., Ігнатова О.А. Загальна біотехнологія:Підручник. – К.:НУХТ,2009.– 336с.

Федоренко В.О.та ін. Великий практикум з генетики, генетичної інженерії та аналітичної біотехнології мікроорганізмів/ В.О.Федоренко, Б.О.Осташ, М.В.Гончар, Ю.В.Ребець: Навч. посібник.- Львів: видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2006 .- 279 с.

Жданова Н.И. Современные тенденции развития селекционных работ с продуцентами аминокислот / под ред. проф. Дебабова В. Г. сборн. Генетика промышленных микроорганизмов и биотехнология. – М.: Высш. шк., 1990 – С.14-31

Мартиненко О.І. Методи молекулярної біотехнології: Лабораторний практикум / за наук. ред.. чл..-кор. НАН України, проф.. Д.М. Говоруна.- К.: Академперіодика, 2010.- 232 с.

ОПТИМІЗАЦІЯ ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ ШТАМУ 167 *AGROCYBE AEGERITA* ПРОДУЦЕНТА ПЕРОКСИДАЗИ

Волошко Т.Є., Федотов О.В.
Донецький національний університет

Основою успішного культивування штамів-продуцентів базидіальних грибів, відповідно до поставленої мети, є добір живильних середовищ з урахуванням їх фізіологічних потреб (Бухало та ін., 2004).

Значний інтерес до пізнання різних аспектів біології та біосинтетичної активності вищих грибів відділу *Basidiomycota*, що спостерігається в останні роки, обумовлений, в першу чергу, розширенням сфери їх практичного використання. Цікавим в цьому відношенні є малодосліджений ксилотроф *Agrocybe aegerita* (Brig.) Fayod. – перспективний для біотехнологічного використання (Соломко, Ломберг, 2005). Серед чисельних метаболітів гриба *A.aegerita* особливої уваги заслуговують антиоксидантні ферменти, а саме пероксидаза. Пероксидаза має широкий спектр практичного застосування – у медицині, наукових дослідженнях та різних галузях промисловості (Белова, 2004). Основним джерелом отримання цього ферменту є коріння *Armoracia rusticana,* але цієї сировинної бази недостатньо для забезпечення існуючих потреб.

Відомо, що пероксидазна активність (ПА) штаму-продуценту змінюється під впливом різних факторів. Так, у наших попередніх дослідженнях штаму 167 *A. aegerita* було з'ясовано, що максимальна ПА спостерігається при рості на живильному середовищі із сахарозою в якості джерела вуглецевого живлення.

Мета роботи – оптимізація живильного середовища для культивування штаму 167 *A.aegerita* – продуцента пероксидази.

Об'єктом дослідження був штам 167 гриба *A.aegerita*. Штам культивували поверхнево в колбах Ерленмейєра на 250 мл протягом 10 діб при 27,5°С на глюкозо-пептоному живильному середовищі об'ємом 50 мл, де глюкоза замінена в еквіваленті вмісту вуглецю на сахарозу. Удосконалення вихідного середовища проводили за методом повного факторного експерименту (ПФЕ-2^4). Варіювання (λ) вмісту у живильних середовищах сахарози і пептону – факторів x_1, x_2 складає 2 г/л, а KH_2PO_4 і K_2HPO_4 – факторів x_3 і x_4 – 0,2 г/л, інші компоненти мають постійну концентрацію. Пероксидазну активність оцінювали за спектрофотометричним методом визначення інтенсивності забарвлення продукту окислювання о-діанізидину перекисом водню (Дудка, 1982). Статистичну обробку експериментальних даних проводили за методом дисперсійного аналізу, порівняння середніх арифметичних – за методом Дункана.

Дані досліду свідчать про наступне. Найбільш придатним для росту та ПА було середовище з наступним складом, г/ л: сахароза – 12, пептон – 5, KH_2PO_4 – 0,4, K_2HPO_4 – 0,2, інші компоненти у стандартних концентраціях. Це живильне середовище перевищує контроль у 4,11 рази за ПА міцелію, та у 1,12 рази за ПА КФ. Оптимізація глюкозо-пептоного середовища для росту і пероксидазної активності штаму 167 *Agrocybe aegerita* дозволяє вести його культивування, направлене на отримання міцеліальної біомаси чи ферментів пероксидази екзо- і ендопоходження, що спрощує і здешевлює їх виробництво.

Белова, Н. В. Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомицетов / Н. В. Белова // Микол. и фитопатол. – 2004. – Т. 38, вып. 2. – С. 1-6.

Бухало А.С., Бисько Н.А., Соломко Э.Ф., Билай В.Т., Митропольская Н.Ю., Поединок Н.Л., Гродзинская А.А., Михайлова О.Б. Культивирование съедобных и лекарственных грибов. Практические рекомендации / Под общ. ред. А.С. Бухало. – Киев, 2004. – 120 с.

Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А. Методы экспериментальной микологии. Справочник. – К.: Наук. думка, 1982. – 550 с.

Ломберг М.Л. Лікарські макроміцети у поверхневій та глибинній культурі: дис. канд. біол. наук: 03.00.21/НАН України; Інститут ботаніки ім.М.Г.Холодного. – 2005.–20 с.

ІНДУКЦІЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ШТАМУ 167 *AGROCYBE AEGERITA* (BRIG.) FAYOD.

Чайка О.В., Федотов О.В.
Донецький національний університет

Підвищення інтересу до вивчення закономірностей процесів життєдіяльності базидіоміцетів та можливості їхньої регуляції, що є одним з важливих напрямків розвитку сучасної біотехнології, обумовлений широкими перспективами їх практичного використання в різних галузях промисловості і сільського господарства та медицині (Бухало, Бісько и др. 2004). Активно досліджуються біотехнологічні перспективи використання базидіального ксилотрофу *Agrocybe aegerita* (Brig.) Fayod. (Соломко, Ломберг, 2000)

Перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) – важливий метаболічний процес, притаманний всім живим організмам, приймає участь в регуляції процесів життєдіяльності організму, синтезі багатьох речовин, реалізації захисних функцій. Інтенсивність ПОЛ є показником стійкості стаціонарного режиму перетворень в організмі, що впливає і водночас характеризує його здатність до адаптації та визначає можливість розвитку багатьох патологічних змін (Владимиров, 1998). Відомо, що гриби, зокрема ксилотрофні базидіоміцети, мають здатність до ініціювання реакцій ПОЛ, які спрямовані на вільнорадикальне розкладання лігніну і інших феноловмісних речовин, що має суттєве адаптаційне та екологічне значення (Капич, 1998).

Мета дослідження – вивчення можливості індукції ПОЛ штаму 167 *Agrocybe aegerita* (Brig.) Fayod. шляхом модифікації глюкозо-пептонного середовища.

Культивування штаму 167 проводили протягом 10 діб при 27,5°С поверхнево на глюкозо-пептонному середовищі (ГПС) та на цьому середовищі, де глюкоза була замінена на сахарозу в еквіваленті вмісту вуглецю за методом ПФЕ 2. Накопичення біомаси визначали ваговим методом, pH культурального фільтрату (КФ) – потенціометричним методом. Оцінку активності процесів ПОЛ визначали спектрофотометрично за вмістом продуктів ПОЛ, активних до тіобарбітурової кислоти (ТБК-АП) (Капич, 1998). Статистичну обробку експериментальних даних проводили за методом дисперсійного аналізу, порівняння середніх арифметичних – за методом Дункана.

Результати дослідження показали, що на модифікованому ГПС з сахарозою вміст ТБК-АП в міцелії становив 14,3 ± 0,4 нмоль/ г. Вміст ТБК-АП в КФ складав 3,8 ± 0,2 нмоль / мл. Біомаса міцелію становила 0,72 ± 0,09 г/ л, pH КФ 6,77 од. Отже, перевищення рівня вмісту ТБК-АП в міцелії на представленому середовищі відносно цього показника на ГПС з сахарозою складає 2,6 рази, а на вихідному ГПС – в 2,86 разів. Вміст ТБК-АП в КФ на цьому середовищі відносно ГПС з сахарозою більший в 1,2 рази, а відносно вихідного ГПС – в 1,8 разів. Таким чином, використання модифікованого живильного середовища дозволяє вести культивування штаму 167 макроміцету *A.aegerita* з метою індукції процесів ПОЛ в міцелії та збільшення його продуктів в культуральній рідині.

Бухало А.С., Бисько Н.А., Соломко Э.Ф., Билай В.Т., Митропольская Н.Ю., Поединок Н.Л., Гродзинская А.А., Михайлова О.Б. Культивирование съедобных и лекарственных грибов. Практические рекомендации / Под общ. ред. А.С. Бухало. – К., 2004. – 120 с.

Владимиров Ю. А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестн. РАМН. 1998. – № 7. – С. 43–50.

Капич *А.Н.* Процессы перекисного окисления липидов у грибов (биотехнологические аспекты) // Проблемы микробиологии и биотехнологии. – Минск, 1998. – С. 185-188.

Соломко Э.Ф., Ломберг М.Л. Перспективы использования лечебно-профилактических свойств культивируемых грибов в 21 веке // Мат. наук.-практ. конф. "Нові технології при вирішенні медико-екологічних проблем". – К., 2000.– С. 84-87.

ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНІ РЕЧОВИНИ МІКРОБНОГО ПОХОДЖЕННЯ – НОВІ АНТИФІТОПАТОГЕННІ ПРЕПАРАТИ

Конон А.Д., Софілканич А.П., Скочко А.Б., Монастерецька І.О., Пирог Т.П.
Національний університет харчових технологій, м. Київ

Надмірне використання хімічних пестицидів та добрив у сучасному сільському господарстві призводить до погіршення родючості ґрунтів, а також внутрішньоклітинного накопичення хімічних агентів і появи пестицид-стійких мутантів комах і рослин в усьому світі. Щоб подолати ці проблеми, доцільно застосовувати засоби біоконтролю, які включають використання ефективних штамів мікроорганізмів і мікробних метаболітів замість хімічних засобів боротьби зі шкідниками сільськогосподарських культур (Mohammadipour M. et al., 2009). З літератури відомо, що ефективними антимікробними агентами є поверхнево-активні речовини (ПАР) мікробного походження, яким притаманна антифунгальна активність щодо широкого спектру фітопатогенних мікроорганізмів (Grover M. et al., 2010), проте на сьогодні актуальною залишається проблема боротьби з бактеріозами сільськогосподарських рослин.

У зв'язку з цим мета нашої роботи – дослідження антимікробної дії препаратів поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 і *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 щодо фітопатогенних бактерій. У роботі використовували наступні препарати: препарат 1 – супернатант культуральної рідини (концентрація ПАР 0,28 мг/мл); препарат 2 – розчин ПАР, виділених із супернатанту (препарат 1) екстракцією сумішшю Фолча (метанол:хлороформ 2:1). препарат 3 – водна фаза після екстракції ПАР сумішшю Фолча.

Антимікробну дію препаратів ПАР визначали щодо фітопатогенних бактерій-шкідників пасльонових та хрестоцвітних рослин: *Pseudomonas syringae* 8511, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 8003, *Xantomonas vesicatoria* 7790, *Pseudomonas corrugata* 9070, *Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens* 9129, *Pectobacterium carotovorum 8982*. Фітопатогенні бактерії були люб'язно надані співробітниками відділа загальної та грунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології НАН України.

Встановлено, що препаратам 1 і 2 притаманна антимікробна активність щодо всіх досліджуваних бактерій, причому в усіх випадках препарат 2 виявився ефективнішим. Так, через 2 год експозиції за присутності препарату 2 *A. calcoaceticus* К-4 спостерігали зниження кількості клітин *P. syringae* 8511 і *X. vesicatoria* 7790 на 92–100 %, а *X. campestris* pv. *campestris* 8003, *P. corrugata* 9070, *P. syringae* pv. *coronafaciens* 9129, *P. carotovorum 8982* – на 63–74 %, в той час як після обробки тест-культур препаратом 1 виживання клітин було у 1,5–2 рази вищим. Препарат 1 *R. erythropolis* ЕК-1 характеризується слабшою антимікробною дією щодо *P. corrugata* 9070 (зниження кількості клітин на 31-33 % через 2 год експозиції), ніж препарати *A. calcoaceticus* К-4, і не поступався в ефективності при дії на *P. carotovorum 8982* (69–72 %).

Зазначимо, що за дії препарату 3 *A. calcoaceticus* К-4 майже на всі досліджувані тест-культури спостерігали збільшення кількості клітин навіть на порядки, чого не відбувалося за дії *препарату 3 R. erythropolis* ЕК-1 (виживання клітин 100 %). Ми припускаємо, що *A. calcoaceticus* К-4 продукує комплекс біологічно активних речовин (наприклад, фітогормонів), які залишаються у водній фазі після екстракції ПАР і можуть слугувати стимуляторами росту рослин. Вивченню цього питання будуть присвячені наші подальші дослідження.

Grover M., Nain L., Singh S.B., Saxena A.K. Molecular and biochemical approaches for characterization of antifungal trait of a potent biocontrol agent *Bacillus subtilis* RP24 // Curr. Microbiol. – 2010. – Vol. 60, № 2. – P. 99–106.

Mohammadipour M., Mousivand M., Abbasalizadeh S. Molecular and biochemical characterization of Iranian surfactin-producing *Bacillus subtilis* isolates and evaluation of their biocontrol potential against *Aspergillus flavus* and *Colletotrichum gloeosporioides* // Can. J. Microbiol. – 2009. – V. 55. – P. 395–404.

ВЫДЕЛЕНИЕ ЦЕЛЛЮЛОЗОРАЗРУШАЮЩИХ БАКТЕРИЙ ИЗ СУБСТРАТОВ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ.

Соколовская Е.А., Отурина И. П., Ржевская В.С.
Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, Симферополь, АР Крым

Микробиологическая конверсия возобновляемых ресурсов биосферы, в огромных количествах попадающих в отбросы, в различные полезные продукты в настоящее время представляет собой одну из важнейших биотехнологических проблем. Одним из наиболее распространенных в природе органических соединений является целлюлоза (клетчатка), разложение которой происходит как в аэробных, так и в анаэробных условиях, при щелочной и кислой реакции среды, низкой и высокой влажности, разной температуре. Содержание и видовое разнообразие целлюлозоразрушающих микроорганизмов в различных типах природного субстрата значительно варьирует, поэтому выделение из разнообразных природных источников бактерий, осуществляющих минерализацию клетчатки, а также выявление среди них наиболее эффективных штаммов, представляет собой не только теоретический, но и практический интерес с перспективой их использования для переработки органических отходов (Саловарова, 2006).

Целью данной работы явилось выделение целлюлозоразрушающих бактерий из субстратов различного органического происхождения: компоста, остатков сточных вод, опилок, разложившейся соломы. Культивирование выделенных штаммов бактерий проводилось на питательных средах Виноградского, Гетчинсона и Имшенецкого – Солонцевой, в термостате при температуре 37±1° С.

В ходе проведенных экспериментов было обнаружено, что на поверхности агаризованной питательной среды появляются слизистые, неопределенной формы, разнообразного цвета (бесцветные, желтые) налеты. На питательных средах Виноградского и Гетчинсона рост целлюлозоразлогающих бактерий был замедлен, процесс разложения клетчатки проходил с очень низкой скоростью. На питательной среде Имшенецкого – Солонцевой минерализация целлюлозы начиналось уже на 2-е сутки культивирования. С целью получения накопительной культуры аэробных бактерий, разлагающих клетчатку, обнаруженные бактерии многократно пересевали на накопительную среду (Боровикова, 2003).

При микроскопировании препаратов компостной микрофлоры были обнаружены бактерии цилиндрической формы размером 1 – 3 мкм, подвижные, спорообразующие. Из соломы были выделены цистоподобные структуры округлой формы. В других видах органического субстрата содержание бактерий было незначительным.

Таким образом, оптимизация методов выделения и культивирования целлюлозоразрушающих микроорганизмов позволяет определить условия, при которых возможно выделение штаммов бактерий, наиболее активно разлагающих органический субстрат.

Боровикова Т.П. Методическое пособие по почвенной микробиологии, Кривой рог: Изательство «И.В.И.», 2003. - 68 с.
Саловарова В.П., Козлов Ю.П. Эколого-биотехнологические основы конверсии растительных субстратов, - М.: Издательский дом «ЭНЕРГИЯ», 2006. - 545 с.

ПІДВИЩЕННЯ БІОСИНТЕТИЧНОЇ ЗДАТНОСТІ ПРОДУЦЕНТУ ТРЕОНІНУ

Тігунова О.О., Андріяш Г.С., Бейко Н.Є., Ткаченко А.Ф., Хоменко А.І., Шульга С.М.

Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м.Київ, вул. Осиповського 2а, м.Київ, 04123, Україна

Останнім часом наукові розробки з біотехнології незамінних амінокислот направлені як на створення оптимальних умов культивування продуцентів і підбір економічно доцільної сировини для цих технологій, так і на селекціонування більш продуктивних штамів мікроорганізмів, що здатні екстрацелюлярно продукувати амінокислоти (Delaunay, 1999; Herman, 2003; Lee et. al., 2006)

Для успішного проведення мікробіологічного синтезу необхідно знати метаболізм відповідної культури і слідкувати за тим, щоб в складі середовища росту не було репресуючих речовин(Підгорський та ін., 2010)

Вивчення механізму регуляції ферментативних процесів в виробництві, з використанням культур мікроорганізмів, дає можливість вибрати оптимальне середовище вирощування для забезпечення підвищення виходу кінцевого продукту (Пирог, 2010).

Проведено дослідження з пошуку штаму-продуценту треоніну з «Колекції штамів мікроорганізмів та ліній рослин для харчової і сільськогосподарської біотехнології» Інституту харчової біотехнології і геноміки НАН України. Відібрана бактеріальна культура *Brevibacterium flavum,* яка давала найбільший вихід треоніну на синтетичному середовищі – 2,4 г/л, порівняно з іншими.

Подальша робота була направлена на підвищення синтезу треоніну. На ріст і фізіологічну активність мікроорганізмів впливали: аерація, вміст метіоніну у середовищі, ростові фактори, pH середовища та інші фактори.

Визначено роль різних поживних речовин в середовищі для вирощування *Brevibacterium.* Встановлено, що найкращим є екстракт дріжджів, який забезпечував приріст біомаси і підвищував вміст треоніну у культуральній рідині. Стимулюючим фактором було внесення біотину у ферментаційне середовище.

Досліджено вплив температури культивування на ріст бактеріальної культури та синтез треоніну. Дослідження показали, що оптимальна температура для росту біомаси не була оптимальною для екстрацелюлярного продукування амінокислоти.

Розглянуто роль метіоніну в синтезі треоніну. Показано, що внесення його у середовище, як у малій так і у великий концентрації призводить до інгібування синтезу треоніну. Підібрано оптимальну концентрацію метіоніну для підвищення продуктивності штаму.

Розглянуто вплив розчиненого кисню в середовищі та pH середовища на розвиток культури та синтез треоніну. Підібрана оптимальна величина pH 5 та кількість кисню 11 г/O_2/л/час для збільшення виходу треоніну. Підібрані середовища і умови культивування дали можливість підвищити синтез треоніну з 2,4 г/л до 4,7 г/л.

Підгорський В.С., Іутинська Г.О., Т.П. Пирог. Інтенсифікація технологія мікробного синтезу. - К.:Наукова думка, - 2010. – 328 с.

Пирог Т. П.. Біологічні основи мікробіологічного синтезу. – В кн.: Основи біотехнології. – К.: 2010. – 127 с.

Delaunay S.,et al. Importance of phosphoenolpyruvate carboxylase of *Corynebacterium glutamicum* during the temperature triggered glutamic acid fermentation. 1999. Metab. Eng., 1, 334-343 p.

Hermann T. Industrial production of amino acid by coryneform bacteria.2003. J. Biotech. 104, 155-172.

Man-Hyo Lee, Hong-Weo Lee, et.al. Improved L-threonine Production of *Escherichia coli* Mutant by Optimization of Culture Conditions. 2006. J. Biosc. & Bioeng. V.101 127-130p.

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПРОДУКТИ МОЛОЧНОГО ТИПУ НА ОСНОВІ СОЇ

Забейда О.Ф., Бурушкіна Т.М., Ратушняк В.В., Бережницька Т.Г.
Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, вул. Осиповського 2а, м.Київ, 04123, Україна

Соєві продукти молочного типу найбільше відповідають смаковим особливостям Європейців, тому включення сої в харчування доцільно розпочинати саме з таких продуктів. Нажаль, ринок соєвих молочних продуктів представлений в Україні, в основному продуктами імпортного виробництва, це різноманітні йогурти, сири, молоко.

В нашому інституті виробництво соєвих та соєво-молочних сквашених продуктів розпочали зі створення банку промислових мікроорганізмів, придатних для сквашування соєвих суспензій. На сьогоднішній день задепоновано 11 промислових штамів мікроорганізмів у Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

На основі задепонованих штамів розроблено бакконцентрат “СМІ” для виготовлення соєвих та соєво-молочних йогуртів, який немає аналогів в Україні. Дослідні партії бакконцентрату виготовлено в умовах вітчизняного виробництва на Дослідному підприємстві бак заквасок Технологічного Інституту молока і м’яса Української Аграрної Академії Наук.

Бак концентратом “СМІ” сквашувано соєві та соєво-молочні суміші і в результаті одержано йогурти. Розроблено нормативно-технічну документацію, виготовлено дослідні партії “Продуктів соєво-молочних сквашених” і проведено широкомасштабні медико-біологічні та клінічні дослідження.

Розроблено спеціальні продукти: “Продукти для спеціального дієтичного споживання. Десерти соєво-молочні сквашені.”

Проведено медико-біологічні та клінічні дослідження, що дає підстави рекомендувати названі продукти як для звичайного, так і спеціального дієтичного споживання в якості функціональних продуктів.

КУЛЬТИВУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ГРИБІВ НА СУБСТРАТІ З ХЛІБНОЇ КРИХТИ В ЯКОСТІ ОСНОВИ ДЛЯ СТВОРЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПРОДУКТІВ

Іванова Т.С.[1], Антоненко Л.А.[2], Мегалінська А.П.[3]
[1]Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, вул. Осиповського 2а, м.Київ, 04123, Україна
[2]Національний технічний університет України „КПІ", м. Київ
[3]Національний педагогічний університет ім. М.П. Драгоманова, м. Київ

Лікарські гриби – джерело цінних біологічно активних речовин, що проявляють широкий спектр фармакологічних властивостей. Через високу харчову цінність та біодоступність гриби використовують в якості складових функціональних продуктів (Smith et al., 2000). В той же час існує необхідність пошуку ефективних та нешкідливих для здоров'я людини відходів харчової промисловості України – субстратів для культивування лікарських грибів.

Нами був проведений скринінг з метою вирощування лікарських грибів на відходах виробництва хліба – хлібній крихті (м. Київ, Хлібокомбінат №12), а також підбір її концентрації для найбільш ефективного культивування перспективних видів. Об'єктами досліджень були види базидіоміцетів та аскоміцетів із колекції культур шапинкових грибів відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України: *Grifola frondosa 976, Lentinula edodes 355, Cordyceps sinensis 209*, *Cordyceps militaris 207*, *Ganoderma applanatum 1701*, *Ganoderma lucidum 1900*, *Flammulina velutipes 600*, *Trametes versicolor 353*, *Schizophyllum commune 1768* та *Pleurotus ostreatus 453.* Міцелій відібраних видів грибів для скринінгу на хлібній крихті вирощували поверхневим способом в 100 мл колбах на стерильному середовищі з концентрацією субстрату 25 г/л протягом 14 діб. Для підбору концентрації субстрату міцелій перспективних видів вирощували глибинним способом на качалці із швидкістю 120 коливань/хв в колбах на 250 мл протягом 7 діб. Для видів *G. lucidum, T. versicolor* та *F. velutipes* використовували концентрації хлібної крихти: 25 г/л, 30 г/л, 40 г/л, 50 г/л та 60 г/л. Для виду *S. commune* крім вказаних концентрацій використовували також 70 г/л, 80 г/л, 90 г/л та 100 г/л через його активний ріст на середовищах із високими концентраціями.

Результати скринінгу на хлібній крихті показали, що найкращий приріст біомаси на хлібній крихті спостерігався для видів *G. lucidum* (6,0±0,3 г/л)*, T. versicolor* (6,5±0,1 г/л)*, F. velutipes* (6,4±0,5 г/л) та *S. commune* (8,9±0,2 г/л). Два види роду *Cordyceps* виявили схожий приріст біомаси на всіх субстратах так само, як і обидва види роду *Ganoderma*. Це можна пояснити подібними потребами до субстрату та особливостями метаболізму. Найгірше на хлібній крихті росли базидіоміцети *G. frondosa* (2,3±0,1 г/л) та *L. edodes* (3,5±0,2 г/л).

Досліди по підбору концентрації хлібної крихти виявили, що оптимальною концентрацією для синтезу біомаси видів *G. lucidum, T. versicolor* та *F. velutipes* була 50 г/л (величина біомаси вищезазначених видів - 17,39±0,2 г/л; 25,90±0,3 г/л; 21,38±0,2 г/л відповідно). Для *S. commune* залежність між концентрацією хлібної крихти та приростом біомаси мала лінійний характер при всіх значеннях концентрації субстрату.

В результаті проведених досліджень з'ясувалося, що з метою створення функціональних продуктів на основі лікарських грибів можливо використовувати хлібну крихту – відхід харчової промисловості України. Серед обраних видів грибів найкращий приріст біомаси на цьому субстраті спостерігався для *G. lucidum, T. versicolor, F. velutipes* та *S. commune*.

Smith, J.E. Functional food science and the medicinal mushrooms [Text]/ J.E. Smith, N.J. Rowan, K.K. Tan// International Journal of Medicinal Mushrooms. – 2000. – Vol.2. – P.277-285.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ИЗ ПЛОДОВ НЕКТАРИНА

Корнильев Г.В.
Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

Неотъемлемым звеном сбалансированного питания населения Украины являются фрукты – природный источник витаминов, микроэлементов, доступных форм углеводов и других ценных биологически активных веществ. Одной из перспективных культур для Юга Украины как с точки зрения вкусовых качеств, нарядного внешнего вида, так и химического состава плодов является нектарин – *Persica vulgaris* subsp. *nectarina* (Ait.) Shof. Отсутствие опушения у плодов нектарина повышает эффективность их переработки по причине большей концентрации биологически активных веществ в кожице и мякоти около кожицы. Целью работы явился комплексный анализ химического состава некоторых видов продукции (варенье, джем, компот, пюре), полученных в экспериментальном цехе по переработке растительного сырья НБС-ННЦ из плодов поздних сортов нектарина (Евпаторийский, Рубиновый 8). Анализ продукции через 3 мес. после ее производства осуществляли по общепринятым методикам (Кривенцов, 1982; Методы, 2002; Мусієнко, 2001), антиоксидантную активность – амперометрически (Пат. № 2238554)).

В исследуемой продукции отмечено пониженное по сравнению со свежими плодами содержание аскорбиновой кислоты, каротинов, флавоноидов; соответственно, произошло уменьшение антиоксидантной активности. В наибольшей степени в продукции снизилось содержание каротинов, что обусловлено их окислительной деструкцией в процессе гомогенизации и термического воздействия при варке; при этом меньшие потери каротинов отмечены в компотах и пюре, при приготовлении которых варка имеет меньшую продолжительность. Несколько более устойчивыми к деструкции оказались флавоноиды и аскорбиновая кислота. Наибольшая антиоксидантная активность отмечена в джеме и сиропе варенья, что можно объяснить как количественным содержанием веществ в продуктах переработки, так и оптимальным сочетанием антиоксидантов – каротинов, флавоноидов и аскорбиновой кислоты. При получении продукции наблюдается снижение концентрации моносахаридов, титруемых кислот и водорастворимого пектина за счет разбавления сиропом и перехода в него веществ из мякоти плодов. В процессе разваривания мякоти происходит также деструкция протопектина. За счет внесения желирующей смеси (пектинового порошка и лимонной кислоты) при приготовлении джема в нем происходит повышение содержания титруемых кислот и водорастворимого пектина. Использование сахарного сиропа приводит к повышению содержания сахарозы, сухих веществ, что связывают с энергетической ценностью конечного продукта. Кроме того, имеет место повышение содержание сахарозы и сухих веществ в мякоти по сравнению со значениями в свежих плодах за счет перехода сахарозы из сиропа, в наибольшей степени для варенья и компота. Учитывая комплекс показателей химического состава (содержание сахарозы, водорастворимого пектина, каротинов, аскорбиновой кислоты, флавоноидов) наиболее оптимальной можно считать переработку плодов нектарина на варенье и джем.

Кривенцов В.И. Методические рекомендации по анализу плодов на биохимический состав. – Ялта, 1982. – 22 с.
Методы технохимического контроля в виноделии / Под ред. В.Г. Гержиковой. – Симферополь: Таврида. – 2002. – 259 с.
Мусієнко М.М., Паршикова Т.В., Славний П.С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 200 с.
Пат. № 2238554. Способ определения суммарной антиоксидантной активности биологически активных соединений. – Пр. 25.07.2003.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД

Подзноева З.Л.
РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», г. Симферополь, пер. Учебный, 8.

В биотехнологических процессах полифосфаты занимают особое место. В первую очередь это касается экологических аспектов. В современной биотехнологии очистки сточных вод особенно актуальны вопросы биологического удаления фосфора (Enhanced Biological Phosphorus Removal, EBPR) (Toerien, 1990; Кислинг, 2000).

Как правило, в этих процессах задействованы комплексы различных групп микроорганизмов, включающие, кроме бактерий, дрожжевые и мицелиальные микроскопические грибы, микроводоросли, простейшие (Мино, 2000; Кулаев, Вагабов, Кулаковская, 200). Эти микроорганизмы накапливают неорганические полифосфаты, в основном в виде волютиновых гранул, что и является ключевым звеном в поглощении избытка фосфора из окружающей среды и местом локализации комплексов полифосфаты с тяжелыми металлами.

Объектом исследования явились микроорганизмы из Украинской коллекции микроорганизмов — дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* УКМ Y- 517, представленные институтом микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного.

В ходе экспериментальной работы было определено изменение концентрации фосфата в культуральной среде при выращивании *S. cerevisiae* на средах с различной начальной концентрацией P_i: 0,05, 2,3, 7,8 и 11,5.

Оказалось, что уже при начальной концентрации P_i 0,05 *S. cerevisiae* способна поглощать фосфат из среды роста. Было показано, что дрожжи *S.cerevisiae* способны эффективно поглощать фосфат из среды культивирования в процессе роста независимо от его начальной концентрации. При росте культуры наблюдалось снижение концентрации фосфата в среде культивирования.

В результате проделанной работы было показано, что изучаемая культура является уникальным поглотителем фосфата, которая способна к концу периода культивирования накапливать 0,9, 0,5 и 0,65 моль P_i/г сырой биомассы, соответственно.

Toerien D. F., Gerber A., Lotter L. H., Cloete T. E. Enhanced biological phosphorus removal in activated sludge // Adv. Microb. Ecol. — 1990. — V. 11. — P. 173–230.
Кислинг Дж. Д., Вэн Дайен С. Дж., Трелстэд П. и др. Метаболизм полифосфатов и проблемы биотехнологии и защиты окружающей среды // Биохимия. — 2000. — Т. 65, Вып. 3 — С. 394–405.
Мино Т. Селекция полифосфатаккумулирующих бактерий для усовершенствованного биологического удаления фосфата в активированных илах при технологических процессах удаления сточных вод // Биохимия. — 2000. — Т. 65, Вып. 3. — С. 405–414.
Кулаев И. С., Вагабов В. М., Кулаковская Т. В. Высокомолекулярные неорганические полифосфаты: биохимия, клеточная биология, биотехнология. — М.: Научный мир, 2005. — 216 с.

ХЕМОТИПЫ ЛЬНА КУЛЬТУРНОГО (*LINUM USITATISSIMUM* L.) В ПРОИЗВОДСТВЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК

Вакула С.И.,[1] Анисимова Н.В. ,[1] Феськова Е.В.[2]
[1]ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
[2]УО «Белорусский государственный технологический университет»

Функциональные продукты на основе льняного масла могут способствовать профилактике сердечнососудистых, воспалительных и онкологических заболеваний (Oomah, 2003). Наиболее ценными компонентами льняного масла являются незаменимые полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК): 50%-70% α-линоленовая (ω-3, АЛК) и около 20% линолевая (ω-6, ЛК) (Vaisey-Genser, 2003). Биологические эффекты ω-3 и ω-6 семейств противоположны: производные ω-3 кислот обладают противовоспалительным, антитромбическим, гипотензивным и антиаритмическим действием; метаболиты ω-6 вызывают воспаление, тромбоз, гипертензию и аритмию. Рекомендованное соотношение ω-6/ω-3 ЖК в рационе человека ниже 5 (Abeywardena, 2001). Увеличение уровня потребления льняного масла будет способствовать обогащению рациона ПНЖК и нормализации ω-6/ω-3 баланса.

Цель данной работы – анализ соотношения ПНЖК в масле сортов льна культурного (хемотипов), определение наиболее оптимальных путей их хозяйственного и селекционного использования. Селекционная работа по улучшению качества льняного масла ведется в разных направлениях. Хемотипы «пищевых» солинных сортов льна характеризуется низким содержанием АЛК (<2%) и увеличенным содержанием ЛК (~70%), снижение уровня АЛК увеличивает стабильность льняного масла. Льняное масло с высоким уровнем АЛК (50-70%) ценно для получения функциональных БАД, но высокая степень окисления этой ПНЖК, приводит к снижению сроков хранения производимых продуктов (Oomah, 2003).

Сравнительный анализ 25 сортов коллекции льна выявил значительные различия как по общему содержанию масла, так и по соотношению ПНЖК в семенах. Функциональная ценность сортов Atalante, SU-1-10, Небесный, К 5621 состоит в высоком накоплении АЛК (более 60%), вне зависимости от погодных условий года. При этом сорта Atalante, Небесный и К 5621 отличаются высоким общим уровнем масла в семенах. Содержание АЛК в масле солинного сорта Gold Flax обычно не превышает 1,5%. Этот сорт отличается повышенной стабильностью масла, что расширяет перспективы его пищевого использования в качестве салатного масла и масла для жарки. Остальные сорта коллекции занимают промежуточное положение по содержанию и соотношению ЖК. Так, у сортов Flanders и McGregor, высокий уровень АЛК проявляется лишь в определенных погодных условиях, то же можно сказать и об их масличности.

Таким образом, скрининг коллекции сортов льна культурного по ЖК составу семян выявил значительную межсортовую гетерогенность по всем учитываемым показателям. В коллекции выявлены «функциональный» (Atalante, Небесный, К 5621) и «пищевой» хемотипы (Gold Flax) льна, которые могут быть использованы как для получения функциональных нутрицевтиков (БАД), так и в пищевого салатного масла.

Abeywardena M.Y. Head R.J. Long chain ω-3 PAFA and blood vessel function. Cardio-vasc Res. 2001, 52, 361–371.
Oomah B.D. Processing of Flaxseed Fiber, Oil, Protein. Flaxseed in Human Nutrition, 2-nd ed. AOCS Publishing, 2003.
Vaisey-Genser M., Morris D.H. History of the cultivation and uses of flaxseed. Flax: The genus Linum. New York: Taylor & Francis Inc. 2003.

СУБСТРАТ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ ДЛЯ СИНБІОТИКІВ

Кривошалик М.О.[2], Путієнко Р.В.[1], Настояща Н.І.[2], Лич І.В.[1]
[1]Національний університет харчових технологій
[2]ДП «Центр імунобіологічних препаратів»

Останніми роками техногенний негативний вплив на довкілля призвів до забруднення екосистем шкідливими для здоров'я людини речовинами. Окрім того, фармацевтична, харчова та косметологічна промисловість наситили споживчий ринок великою кількістю синтетичних штучних речовин, до яких людина генетично не адаптована. Внаслідок цього маємо алергічні ускладнення, хронізацію інфекційних та неінфекційних захворювань, онкогенну експансію та порушення нормального функціонування основних систем життєдіяльності організму людини. У зв'язку з цим виникли питання про способи конструювання і відновлення оптимальної мікроекології і ендоекології макроорганізму. Для успішного їх вирішення, як вважають деякі автори (Коршунов, Ефимов, Пикина, 2000; Спасов., Иваненко, 2004), раціональним є застосування синбіотиків, перспективним етапом у створенні яких є пошук та введення пребіотиків природного походження, зокрема рослинного, які б мали одночасно технологічну і фізіологічну функціональність (*Шендеров*, 2001). Метою дослідження було вивчення життєдіяльності лактобактерій та біфідобактерій в присутності рослинного субстрату – соку каланхое, що є досить поширеним у медичній практиці. В роботі були використані препарати "Лактобактерин" та "Біфідумбактерин" виробництва ФДУП "Мікроген" (Росія) та ізоляти штамів – *Lactobacillus plantarum* та *Bifidobacterium bifidum*, виділені із цих препаратів. Для культивування лактобактерій використовували селективне тверде середовище MRS-4 та напіврідке середовище MRS-1. Біфідобактерії вирощували на напіврідкому біфідумсередовищі. В якості випробовуваного субстрату до напіврідких поживних середовищ додавали сік каланхое у різних співвідношеннях – 9:0; 8:1; 6:3; 3:6; 1:8 (середовище:сік каланхое відповідно). Бактеріальні суспензії в розведеннях 10^5 – 10^7 висівали на селективні середовища та після інкубації за температури 37°С упродовж 48 – 72 год проводили підрахунок кількості КУО. Кислотоутворення за Тернером визначали титрометричним методом, показник pH – потеціометрично.

Проаналізувавши результати можна сказати, що при збільшенні частки соку каланхое в поживному середовищі спостерігається зменшення кількості КУО та показників функціональної активності в порівнянні із контролем (без додавання соку каланхое). Найоптимальнішим варіантом для лактобактерій є середовище із співвідношенням MRS:сік каланхое – 6:3, де ріст культур для всіх розведень зберігається на рівні 80 – 90% від контролю. При цьому значення pH становить 5,32, а показник кислотоутворення – 224°Т (контрольні значення відповідно 5,58 та 239°Т). Затримки росту культури біфідобактерій при цьому співвідношенні не спостерігається, а показники pH та активності кислотоутворення відповідно 6,44 та 112,7°Т порівняно з 7,03 та 120,7°Т у контролі. При високих концентраціях соку каланхое спостерігається ріст лише поодиноких колоній. Ріст ізолятів штамів *L. plantarum* та *B. bifidum* є більш активним у порівнянні із досліджуваними. Отримані результати свідчать, що сік каланхое в усереднених концентраціях позитивно впливає на ріст та показники функціональної активності лактобактерій та біфідобактерій. Механізм впливу соку каланхое на *L. plantarum,* та *B. bifidum* потребує подальшого вивчення у напрямках клінічної медицини, мікробіології та біотехнології.

Коршунов В.М., Ефимов Б.А., Пикина А.П. Характеристика биологических препаратов и пищевых добавок для функционального питания и коррекции микрофлоры кишечника // Журн. микробиол. – 2000. – №3. – С. 86 – 91.
Спасов А.А., Иваненко И.В. Эубиотики // Вестник российской АМН. – 2004. – №3. – С. 11 – 19.
Шендеров Б.А. Медицинская и микробная екология и функциональное питания: В 3т., Т. I: Пробиотики и функциональное питание. – М.: «ГРАНТЬ», 2001. – 288с.

АНТИБІОТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БІОМАСИ І КУЛЬТУРАЛЬНОЇ РІДИНИ БАЗИДІАЛЬНОГО ГРИБА *CORIOLUS VERSICOLOR* QUEL.

Антоненко Л.О., Клечак І.Р.
Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут

Базидіальні гриби продукують велику кількість вторинних метаболітів, які проявляють антибактеріальну, антифунгальну, антивірусну активності (Бадалян, 2001; Феофилова, 1998). Біологічно активні речовини вищих базидіальних грибів представлені терпеноїдами, пуринами, хінонами, піримідинами, похідними фенолів. Майже 40% базидіоміцетів утворюють антибіотики, які нараховують близько 60 типів. В наш час на долю базидіоміцетів припадає 5% антибіотиків, що використовуються в медицині (Феофилова, 1998). Серед представників роду *Coriolus* на сучасному етапі використовується лише антибіотична речовина коріолін, виділена з *C. consors* (Berk.) Imaz (Японія), тому актуальним є дослідження антибіотичного потенціалу інших видів базидіоміцетів роду *Coriolus*.

Метою роботи було дослідження антимікробних властивостей культуральної рідини та міцелію базидіального гриба *Coriolus versicolor* 353 з Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України по відношенню до тест-культур: *Staphylococcus aureus* 209, *Bacillus licheniformis* 72, *Arthrobacter globiformis* B-661, *Rhodococcus rhodochrous* ATCC 13808, *Micrococcus luteus* CCM 169, *Corynebacterium ammoniagens* 672, *Brevibacterium linens* 1924, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* 06 і грибів *Candida albicans* 259 ATCC 885-653, *Saccharomyces cerevisiae* 590. Для якісного визначення антимікробних властивостей міцелію та культуральної рідини було використано відповідно метод перпендикулярних штрихів і метод лунок в агарі. Штам базидіального гриба *C.versicolor* 353 культивували протягом 14 діб на комплексному поживному середовищі, що містить глюкозу, пептон, дріжджовий екстракт, кукурудзяний екстракт та мінеральні солі.

Встановлено, що міцелій та культуральна рідина штаму *Coriolus versicolor* 353 проявляють антагоністичні властивості по відношенню до грампозитивних бактерій, таких як *Bacillus licheniformis, Rhodococcus rhodochrous, Micrococcus luteus, Brevibacterium linens*, але не містять антибіотичних речовин проти грампозитивних бактерій *Staphylococcus aureus* і *Arthrobacter globiformis,* досліджених грамнегативних бактерій та грибів. Однаковий спектр антимікробної дії міцелію і культуральної рідини свідчить, що міцелій продукує антимікробні речовини і накопичує їх у культуральній рідині в процесі культивування.

Відсутність антагоністичних властивостей культуральної рідини *C.versicolor* 353 по відношенню до грамнегативних бактерій та дріжджів пояснюється більш складною будовою їх клітинних стінок. Необхідно відзначити, що антифунгальна активність по відношенню до дріжджових клітин, за даними літератури, рідко зустрічається навіть у традиційних продуцентів антибіотиків – актиноміцетів і бактерій. (Егоров, 1994).

З метою підвищення антибіотичної активності досліджуваного штаму *C.versicolor* 353 було проведено оптимізацію середовища за вмістом глюкози та пептону з використанням методу математичного моделювання (повного факторного експерименту). Отримано адекватну математичну модель, що описується рівнянням регресії. При використанні оптимізованого середовища антибіотична активність підвищувалась в 2,5 рази.

Бадалян С.М. Основные группы и терапевтическая значимость биоактивных метаболитов, образуемых макромицетами / С.М. Бадалян // Проблемы медицинской микологии. – 2001. – Т.3. – № 1. – С.16–23.
Феофилова Е.Н. Современные направления в изучении биологически активных грибов (обзор) / Е.Н. Феофилова // Прикл. биохим. и микробиол. –1998. – Т. 34. – Вып. 6. – С. 597–608.
Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках / Н.С. Егоров. – М.: МГУ, 1994. – 512 с.

БІОДИЗЕЛЬ З МІКРОВОДОРОСТЕЙ: ДОСЯГНЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ

Корховий В.І.[1], Царенко П.М.[2], Борисова О.В.[2], Блюм Я.Б.[1]

[1] *Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»;*
[2] *Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України*

Енергетична криза кінця 70-х, зростаючі темпи видобутку покладів вуглеводнів, швидкі зміни клімату та багато інших чинників спонукала уряди багатьох країн світу до пошуку альтернативних джерел енергії. Дизельне пальне використовується в основному для двигунів внутрішнього згоряння авто, залізничного, річкового та морського транспорту, забезпечення роботи чисельних одиниць техніки, задіяних в сільськогосподарському виробництві, роботи котелень тощо. Сировиною для його виробництва можуть слугувати тваринні та рослинні жири – в результаті нескладних хімічних перетворень отримують придатне для роботи дизельних двигунів пальне. Альтернативою традиційним олійним культурам є мікроводорості, які можуть продукувати в 15-300 разів більше ліпідів (Chisti Y., 2007). Окрім високої продуктивності мікроводорості не потребують для їх вирощування сільгоспугідь, великої кількості прісної води, та основних високоенергозатратних процесів, пов’язаних з отриманням високих врожаїв. Поруч з очевидними перевагами слід зазначити і суттєві проблеми, а саме: за оцінками деяких дослідників існує більше 200 тисяч видів мікроводоростей з яких описано трохи більше 60 тисяч, а у виробництві використовується лише біля 30 видів. На сьогодні відкритими залишаються питання отримання штамів мікроводоростей, які б відрізнялися стабільним накопиченням жирів для виробництва біодизеля.

З метою пошуку мікроводоростей – потенційних гіперпродуцентів ліпідів для виробництва біодизеля було виконано скринінг альгологочної колекції Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (IBASU-A) та виділено штами кандидати. Проведено ISSR-аналіз відібраних штамів та їх мутантних форм.

Chisti Y. Biodiesel from microalgae. Biotech Advances. - 2007, V.25, – P. 294–306

СИРОП ИЗ СОКА САХАРНОГО СОРГО КАК СЫРЬЕ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА БИОЭТАНОЛА В УКРАИНЕ

Володько А.И., Лантух Г.В., Цыганков С.П.
Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», м. Київ, вул. Осиповського 2а, 04123, Україна

В последние десятилетия наблюдается рост содержания в атмосфере парниковых газов, главным образом диоксида углерода. Использование альтернативных видов топлива, в частности биоэтанола, могут уменьшить проблемы, вызванные парниковым эффектом.

Особое место среди сырьевых источников для производства биоэтанола занимает сахарное сорго. Это растение накапливает сахар в стебле – так же, как и сахарный тростник. Зерновая метелка сахарного сорго сравнительно небольшая и может использоваться для кормовых целей.

В отличие от тропического сахарного тростника, зона возделывания сорго достигает 54° северной широты. Урожайность стеблей сорго в европейском климате - 80…100 т/га. В Европе созданы сорта с урожайностью до 120 т стеблей с гектара и содержанием сахаров в соке до 18 %.

Возможность использования стеблей сорго в качестве топлива для производства биоэтанола после отжима из них сахаросодержащего сока делает эту культуру «сахарным тростником средних широт». Полученный биоэтанол будет вполне конкурентоспособен перед бразильским, который также производится с использованием энергии от сжигания тростниковых выжимок (багассы). Еще одним преимуществом сахарного сорго является возможность перехода на том же предприятии к сырью второго поколения – целлюлозе стеблей. На энергетическое обеспечение производства достаточно одной трети от количества образующейся «сорговой багассы». Остальная часть может использоваться для производства биоэтанола по технологии второго поколения.

Сахарное сорго является наиболее перспективной культурой для производства биоэтанола и в Украине. Цель нашей работы – сравнить сироп сахарного сорго (ССС) и традиционного сахаросодержащего сырья для производства этанола - мелассы.

Установлено, что по таким показателям, как содержание сухих веществ (СВ), количество фосфора, нитратов, а также многих макро- и микроэлементов сироп сахарного сорго и меласса похожи. В золе как ССС, так и мелассы больше всего содержится таких элементов, как K, Mg, Ca, но общая зольность мелассы в 3 раза выше, чем в сорговом сиропе – 11 % и 3,7 % соответственно.

Содержание усваиваемого азота в сиропе сорго в 40 раз меньше чем в мелассе. Нами установлено количество этих элементов, которое необходимо вносить на тонну соргового сиропа - 2,957 кг 70 % ортофосфорной кислоты и 6,124 кг мочевины.

Содержание сбраживаемых сахаров в полученном нами сорговом сиропе составило 67 % (в мелассе - 48 %). Сравнение бродильных проб ССС и мелассы показала, что питательная среда на основе ССС сбраживается дрожжами *Saccharomyses serevisiae* штамм ETHANOL RED™ (производитель – Lesaffre Group, Франция) быстрее, чем мелассная. Хроматографический анализ продуктов перегонки свидетельствует о том, что сорговый сироп лучший субстрат для получения топливного этанола, так как его ферментация дает бóльшую массовую долю высших спиртов в продуктах по сравнению с мелассой.

Полученные результаты показывают хорошую перспективу для разработки и промышленной реализации комплексной безотходной технологии переработки стеблей сахарного сорго в биоэтанол.

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* И РАЗРАБОТКА МЕТОДА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ РЫЖИКА ПОСЕВНОГО (*CAMELINA SATIVA*)

Бойчук Ю.Н., Шиша Е.Н., Емец А.И., Исаенков С.В., Блюм Я.Б.
Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, ул. Осиповского 2а, Киев, 04123, Украина; e-mail: boychuk.yulia@gmail.com

Среди капустных культур особый интерес представляет рыжик посевной (*Camelina sativa L.*), который выращивают почти во всех областях Украины и Автономной Республике Крым. В последнее время его рассматривают как объект для получения биодизеля, поскольку он является чрезвычайно перспективной и дешевой масличной культурой для производства этого вида биотоплива.

Поскольку на сегодняшний день существует мало работ по совершенствованию рыжика с помощью биотехнологических методов, целью данной работы было введение в культуру *in vitro C. sativa* и разработка эффективной регенерации растений, как основы для дальнейшего биотехнологического совершенствования этого вида растений с помощью агробактериальной трансформации.

В качестве исходного материала использовали семена *C. sativa*, любезно предоставленные отделом новых культур Национального Ботанического сада им. Н.Н. Гришко НАН Украины. В результате проведеннях нами исследований были подобраны оптимальные условия стерилизации исходного материала. В частности, были определены и установлены эффективные концентрации стерилизующих агентов и время обработки ими семян. После стерилизации семена высаживали на безгормональную среду МС (Murashige & Skoog, 1996) без модификаций. В качестве эксплантов для изучения эффективности регенерации побегов использовали петиоли и сегменты гипокотилей 5 - или 7 - дневных проростков рыжика. Для индукции образования побегов экспланты размещали на несколько вариантов сред, основу которых составляла среда МС. Состав питательных сред отличался соотношением фитогормонов – (2 мг/мл) бензиламинопурина (БАП) и (0,1 мг/мл) нафтилуксусной кислоты (НУК). Все экспланты инкубировали при температуре 22-24 °С и 16-часовом фотопериоде. На некоторых вариантах питательных сред после трех недель культивирования на сегментах гипокотилей и петиолей наблюдали образование желто-зеленого или зеленого каллуса с хорошо заметными точками инициации будущих побегов. В результате проведенных исследований был установлен наиболее оптимальный фитогормональный состав питательной среды для эффективного формирования побегов, что является необходимым условием для обеспечения успешного проведения опытов по генетической трансформации.

В експериментах по генетической трансформации использовали штамм *Agrobacterium tumefaciens* [LBA4404], содержащий бинарную конструкцию pGBP450f с кодирующей последовательностью гена цитохрома P450SCC и *bar*-геном, обеспечивающим устойчивость к фосфинотрицину. До проведения агробактериальной трансформации была определена оптимальная концентрация фосфинотрицина (1 мг/мл) для селекции трасформантов.

Получены данные об использовании оптимальной оптической плотности (OD) агробактерии и времени её кокультивирования с эксплантами *C. sativa.* На селективной среде отобраны трансгенные линии рыжика, которые в ближайшее время будут проверены на предмет интеграции целевого гена P450SCC с помощью молекулярно-генетических методов анализа.

ЕНЕРГЕТИЧНІ РОСЛИНИ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА ТВЕРДОГО БІОПАЛИВА В УМОВАХ СТЕПУ УКРАЇНИ

Жаворонкова Т.Ю.
Донецький ботанічний сад НАН України

Використання відновлювальних джерел енергії в Україні та за її межами вважається найбільш перспективним вирішенням зростаючої проблеми енергозбереження та зменшення антропогенного впливу на довкілля. На сьогоднішній день за рахунок біомаси (в основному деревинного палива) Україна покриває близько 0,5% потреби в первинних енергоносіях. Біомаса може забезпечити близько 17-20 млн. т у.п./рік або 8-10 % від загальної потреби в первинній енергії. Використання такої кількості біомаси еквівалентно збільшенню вітчизняного видобутку палива на 20% (Гелетуха та ін., 2005; Рибалка, 2006; Калетник, 2008). Грунтово-кліматичні умови більшості регіонів України є сприятливими для вирощування культур з високим рівнем накопичення енергії біомаси під час вегетації. Промислове виробництво палива з біомаси в Україні ще не налагоджене, однак вже впроваджені пробні проекти виробництва біопалива в окремих областях України, зокрема в Донецькій області (Впровадження енергоефективних проектів, 2009; Энергоэфективность Донецкого региона, 2009). Проте до цього часу ще не визначені пріоритетні культури, які б давали гарантований урожай біомаси для отримання твердого біопалива в складних природно-кліматичних умовах степової зони України. Південний схід України (Донецька і Луганська обл.) знаходиться у зоні різнотравно-типчаково-ковилових степів і характеризується різко-континетальним кліматом з сильним коливанням температур при незначній кількості опадів.

В Донецькому ботанічному саду НАН України для виявлення та дослідження видів, перспективних для виробництва біопалива в умовах степу України, у 2008 р. створена колекція технічних культур, яка наразі нараховує 142 зразки, 64 види і 47 сортів з 47 родів та 15 родин. Метою наших досліджень було на основі вивчення еколого-біологічних особливостей, господарських ознак та оцінки успішності інтродукції виділити перспективні енергетичні культури для виробництва твердого біопалива в умовах степу. Дослідження 28 видів, 1 сорту з 12 родів та 8 родин енергетичних рослин за комплексом характеристик (пристосованість до природно-кліматичних умов регіону, продуктивність надземної маси; насіннєва продуктивність, енергетична цінність) дозволило виділити три перспективних види рослин (*Kitaibelia vitifolia* Willd., *Sida hermophrodita* Rusby., *Silphium perfoliatum* L.) з високими показниками стійкості до полягання, осипання, хвороб, шкідників, бур'янів, посухо- та морозостійкісті, невибагливісті до ґрунту, облистяності (до 26%), продуктивності надземної маси (до 21 т/га), насіннєвої продуктивності (до 300 г/м^2). Вивчення теплоти згорання показало, що виділені культури характерезуються теплоемністю 17-18 МДж/кг та вихідом енергії 170-180 ГДж/га, тобто за енергетичною цінністю досліджувані види рослин не поступаються енергетичним культурам, вирощування яких вважаються рентабельними у світовій практиці (наприклад, *Miscanthus* має вихід енергії 16 ГДж/га). Вирощування на одному місці близько 20 років *Kitaibelia vitifolia*, *Sida hermophrodita*., *Silphium perfoliatum* показали підвищення показників гумусу майже на 12% (з 5,2% до 5,85%), та калію більше ніж у двічі (з 122 до 285 мг/кг грунту).

Таким чином, в результаті досліджень успішності інтродукції та продуктивності надземної маси 28 видів технічних рослин було виділено *Kitaibelia vitifolia*, *Sida hermophrodita*, *Silphium perfoliatum,* що мають найвищу посухо- та морозостійкость, стійкість до полягання, осипання, уражень хворобами та шкідниками, невимогливі до родючості ґрунтів, як найбільш перспективні для виробництва біопалива в умовах степової зони України.

БИОКОНВЕРСИЯ ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВА БИОДИЗЕЛЯ В ПРАКТИЧЕСКИ ЦЕННЫЕ ПРОДУКТЫ – ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА

Конон А.Д., Хомяк Д.И., Покора К.А., Гриценко Н.А., Пирог Т.П.
Национальный университет пищевых технологий, г. Киев

На сегодняшний день большое внимание уделяется биодизелю и биоэтанолу как альтернативным источникам энергии, производимым из сырья растительного происхождения. Однако на каждые 100 л полученного биодизеля образуется до 10 л глицерина в качестве побочного продукта (Yazdani et al., 2007). Известные потребители глицерина – парфюмерная промышленность, военно-промышленный комплекс – не способны обеспечить достаточный уровень его утилизации (da Silva et al., 2009). Поэтому необходимым является поиск альтернативных путей решения этой проблемы, одним из которых может быть использование глицерина в биотехнологической отрасли в качестве субстрата для культивирования микроорганизмов и получения практически ценных метаболитов, например, поверхностно-активных веществ (ПАВ) (da Silva et al., 2009), которые могут быть использованы в растениеводстве для борьбы с фитопатогенными микроорганизмами, а также для биоремедиации загрязненных нефтепродуктами почв.

Цель данной работы – исследование синтеза ПАВ *Nocardia vaccinii* К-8 на глицерине, а также возможности их использования для борьбы с фитопатогенными бактериями и для очистки почвы от нефти.

Установлена способность штамма К-8 синтезировать метаболиты с поверхностно-активными и эмульгирующими свойствами при росте на среде с глицерином (1,5 %); при этом условная концентрация ПАВ составляла 4,2, а индекс эмульгирования – почти 100 %.

Показана возможность интенсификации биосинтеза ПАВ при одновременном внесении в среду с глицерином 0,2 % фумарата и 0,2 % цитрата натрия в начале стационарной фазы роста штамма К-8. В таких условиях культивирования количество синтезированных ПАВ повышалось на 40 % по сравнению с выращиванием бактерий на среде без органических кислот.

Дальнейшие исследования показали высокую антимикробную активность препаратов ПАВ *N. vaccinii* К-8 (1,7 мг/мл) по отношению к фитопатогенным бактериям *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* 8571, *Xanthomonas translucens* 7696, *Pectobacterium carotovorum* 8982 (снижение количества клеток на 92-98 % уже через 1 час экспозиции).

Изучение возможности применения ПАВ *N. vaccinii* К-8 в процессах нефтеочистки показало, что препараты в виде постферментационной культуральной жидкости (150 мл на 1 кг почвы) интенсифицируют процессы деструкции нефти в загрязненной почве. Так, на 30 сутки степень очистки почвы (21,4 г нефти/кг почвы) составляла 83–85 %.

Таким образом, полученные результаты могут стать основой для разработки комплексной природоохранной технологии, которая позволит утилизировать отходы производства биодизеля (глицерин), получая при этом поверхностно-активные вещества, которые могут быть использованы для очистки почв от нефтепродуктов, а также при борьбе с бактериозами растений.

da Silva P.G., Mack M., Contiero J. Glycerol: A promising and abundant carbon source for industrial microbiology // Biotechnol. Adv. – 2009. – V. 27. – P. 30–39.
Yazdani S.S., Gonzales R. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry // Curr. Opin. Biotechnol. – 2007. – Vol. 18. – P. 213–219.

Анисимова Н.В. **102**
Андрієнко О.Д. **85**
Андріяш Г.С. **92, 97**
Андреєва В.В. **35**
Антоненко Л.А. **99, 104**
Антонюк М.З. **52, 53, 55**

Баглай А.Ю. **82**
Бакун В. **39**
Баер Г.Я. **34, 90**
Бережницька Т.Г. **98**
Бергуню К. **37**
Бейко Н.Є. **92, 97**
Блюм Я.Б. **26, 27, 32, 37, 41, 51, 68, 71, 73, 78, 81, 83, 84, 90, 105, 107**
Бобошина И.В. **58**
Бойчук Ю.Н. **107**
Борисова О.В. **105**
Боронникова С.В. **58**
Бурлака О.М. **83**
Бурушкіна Т.М. **98**

Володько А.И. **106**
Вакула С.И. **102**
Войтюк В.П. **35**
Волошко Т.Є. **93**
Воронкова Е.В. **62**

Галаєв О.В. **56**
Галкіна В.С. **74**
Головань Л.В. **57**
Головина И.В. **38**
Гриценко Н.А. **109**
Гут Р.Т. **49**
Гут І. **70**

Даниленко І.А. **78**
Данилюк И.А. **38**
Данченко М. **67**
Демкович А.Є. **59**
Демчук О.М. **68**
Деревянчук М.В. **29**
Долгих Ю.И. **64**
Дорошкевич Н.В. **65**

Ермишин А.П. **62**
Емец А.И. **26, 27, 31, 32, 34, 37, 41, 74, 77, 81, 83, 89, 90, 109**
Єфіменко Т. **52**

Жаворонкова Т.Ю. **108**
Жарич В.М. **63**
Жук В.В. **33**
Жук В.П. **84**
Жук І.В. **44**

Забейда О.Ф. **98**
Заболотна Г.М. **92**
Зайцева О.И. **60**
Заяц А.Ю. **86**
Зубцова Т.В. **59**

Іванова Т.С. **99**
Ісаєнков С.В. **36, 74, 107**

Калачова Т.А. **43**
Карелов А.В. **51**
Карпов П.А. **68, 69, 71, 73**
Кваско О. Ю. **75**
Клечак І.Р. **104**
Клубіцова К. **67**
Клюваденко А.А. **79**
Ковальова В.А. **49**
Коваленко М.С. **61**
Ковальчук Т.Д. **45**
Козуб Н.А. **51**
Колдар Л.А. **85**
Колесников Я.С. **30**
Конон А.Д. **95, 109**
Кононенко Я.М. **32**
Корнильев Г.В. **100**
Корховий В.І. **105**
Кравец В.С. **29, 42, 43**
Красиленко Ю.А. **27,41**
Краснопьорова О.Є. **65**
Кретинин С.В. **29, 43**
Криницький Г.Т. **35**
Кривошалик М.О. **103**
Круподьорова Т.А. **91**
Кораблев М.Д. **73**
Кузьменко Є.І. **46**
Курило В.В. **89**
Кучер Н.М. **47**

Лантух Г.В. **106**
Литвин Д.И. **27, 37, 89**
Литвин О. **78**
Литвиновская Р.П. **29**
Лич І.В. **103**
Малышко А.С. **50**
Маньковська О.С. **53**
Мартінец Я. **42**
Матвєєва Н.А. **75**
Мегалінська А.П. **99**
Мелешко А.О. **61**
Мельничук М.Д. **79**
Михайлик С.Ю. **55**
Монастерецька І.О. **95**
Мусієнко М.М. **33**

Назаренко Г.С. **59**
Настояща Н.І. **103**
Небиков М.В. **85**
Немазаний І. **70**
Новожилов Д.О. **65**

Ожерєдов С.П. **77, 81**
Оленева В.Д. **31**
Опалко О.А. **47**
Осипенкова О.Л. **81**
Осипова Е.С. **64**
Отурина И.П. **96**

Панасюк Г. **70**
Пацула О. **39**
Петренко В.А. **66**
Пірко Н.М. **65, 81**
Пірко Я.В. **51, 65, 78, 81, 83**
Пирог Т.П. **95, 105**
Подзноева З.Л. **101**
Покора К.А. **109**
Покотило І.В. **42**
Попова Ю.В. **48**
Полюхович Ю.В. **62**

Портниченко С.В. **37**
Потрохов А.О. **75**
Приваліхін С.М. **59**
Пидюра М.О. **69**
Пузік В.К. **57**
Путієнко Р.В. **103**

Раєвський А.В. **73**
Ратушняк В.В. **98**
Рашидов Н. **67**
Ржевская В.С. **96**
Росіцька Н.В. **28**

Сакада В. **67**
Самофалова Д. **71**
Сергієнко Н.В. **87**
Сиволап Ю.М. **56**
Сивура В.В. **89**
Сидякин А. И. **86**
Синдаровская Я.Р. **82**
Скороход О.О. **70**
Скочко А.Б. **95**
Соколовская Е.А. **96**
Смертенко П.С. **78**
Созінов А.А. **51**
Созінов І.О. **51**
Соловьева А.И. **64**
Софілканич А.П. **95**
Степанова А.Ю. **64**

Танасієнко І. **74**
Теплицкая Л.М. **86**
Терек О. **39**
Терновська Т.К. **52, 53, 54, 55**
Тігунова О.О. **92, 97**
Ткаченко А.Ф. **92, 97**
Трубнікова Н.М. **59**
Тимошенко А.В. **81**
Федотов О.В. **93, 94**
Феськова Е.В. **102**
Філоненко В. **70**

Хайдух М. **67**
Хань Бин **40**
Хоменко А.І. **97**
Хомяк Д.И. **109**
Хрипач В.А. **29**

Царенко П.М. **105**
Циганков С.П. **106**
Цимбал О.М. **88**

Чайка О.В. **94**
Чмелева С.И. **76**
Чорнобров О.Ю. **79**

Шеваль Е.В. **25**
Шелудько Ю.В. **82**
Шеремет Я.А. **26, 27, 28, 32, 41**
Ширина А.О. **76**
Шиша Е.Н. **107**
Шпильчин В.В. **54**
Штойна Ю.Я. **81**
Шульга С.М. **92, 97**

Юсипович Ю.М. **49**
Юхно Ю.Ю. **50**

Яворская О.Г. **64**
Яковенко О.М. **43**