ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ХАРЧОВОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА ГЕНОМІКИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ»

ГРОМАДСЬКА ОРГАНІЗАЦІЯ «ВСЕУКРАЇНСЬКА АСОЦІАЦІЯ БІОЛОГІВ РОСЛИН»

Третя конференція молодих учених

«БІОЛОГІЯ РОСЛИН ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ»

16-18 травня 2017 року

ЗБІРКА ТЕЗ

Київ-2017

УДК 577.21+631.52+581.17(06)+665.11

Біологія рослин та біотехнології: збірка тез Третьої конференції молодих учених, м.Київ, 16 – 18 травня 2017 р. Національний авіаційний університет. – К.: НАУ, 2017. – 84 с.

У збірнику представлені тези Третьої конференції молодих учених «Біологіч рослин та біотехнологія», присвячені сучаним дослідженням у галузі молекулярної генетики рослин, структурної та функціональної геноміки, біотехнології та нанобіотехнології, молекулярної та клітинної біології, регуляції росту та розвитку рослин, а також технологіям використання рослинних ресурсів для біопалива та отриманню функціональних харчових продуктів рослинного походження.

Рекомендовано до друку Вченою радою
ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»,
протокол № 6 від 20 квітня 2017 року

ОРГАНІЗАЦІЙНИЙ КОМІТЕТ

Голова: академік НАН України, д.б.н. Я.Б. Блюм

Заступник голови: чл.-кор. НАН України, д.б.н. А.І. Ємець

Члени Оргкомітету: к.б.н. Г.Я. Баєр , д.б.н. А.П. Галкін, к.б.н. І.І. Горюнова, к.б.н. А.Є. Демкович, д.б.н. С.В. Ісаєнков , к.б.н. П.А. Карпов , д.б.н. О.А. Кравець, к.б.н. Ю.А. Красиленко, к.б.н. В.І. Корховий, к.б.н. Т.А. Круподьорова, к.б.н. С.П. Ожередов , к.б.н. Н.М. Пірко, к.б.н. Я.В. Пірко, к.б.н. О.О. Тігунова, д.б.н. Л.О. Сахно, д.б.н. Б.В. Сорочинський, к.б.н. С.І. Співак, д.б.н. С.П. Циганков, к.ф.-м.н. С.М. Шульга , М.М. Борова, О.В. Мельничук, С.Г. Плоховська, Д.В. Лосєва, Р.Ю. Шадріна.

ОПТЭК
Объединяя решения

BioLabTech

MYHELIX

ЗМІСТ

МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА БІОЛОГІЯ

Алексєєва А.А, Хромих Н.О, Лихолат Ю.В, Давидов В.Р. ВІДМІННОСТІ СТАНУ ПРОДИХОВОГО АПАРАТУ В ОСВІТЛЕНИХ І ЗАТІНЕНИХ ЛИСТКАХ ДЕРЕВ РОДУ *TILIA* L. 7

Балко О.І., Зелена Л.Б., Ярошенко Л.В., Балко О.Б. ПІОЦИНИ S-ТИПУ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* УКМ В-333 8

Вознюк С.В., Титова Л.В БІОРІЗНОМАНІТНІСТЬ ПРОТЕОБАКТЕРІЙ У РИЗОСФЕРІ СОЇ ЗА ЗАСТОСУВАННЯ РІЗНИХ АГРОБІОТЕХНОЛОГІЙ 9

Гаврилик Л.П., Панчук І.І. ВМІСТ ТІОБАРБІТУРАТ АКТИВНИХ ПРОДУКТІВ У *ARABIDOPSIS THALIANA* В УМОВАХ ТЕПЛОВОГО СТРЕСУ 10

Гаврилюк І.Г., Буздуга І.М. ВПЛИВ ХЛОРИДУ НАТРІЮ НА АКТИВНІСТЬ ДЕГІДРОАСКОРБАТРЕДУКТАЗИ У РОСЛИН *A.°THALIANA* 11

Іваночко Х.М., Панчук І.І. АКТИВНІСТЬ ГВАЯКОЛПЕРОКСИДАЗИ У CAT2CAT3 НОКАУТНИХ РОСЛИН *A.°THALIANA* ЗА ДІЇ ХЛОРИДУ МІДІ 12

Краснопьорова О.Є., Буй Д. Д., Ісаєнков С.В., Ємець А. І. ВИВЧЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ *KIN10* ТА *KIN11* ЗА УМОВ ДІЇ СОЛЬОВОГО ТА ОСМОТИЧНОГО СТРЕСІВ 13

Лесняк Ю.І., Какайло Л.І., Спиридонов В.Г. ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ ІНТРАЦИТОПЛАЗМАТИЧНОЇ ІН'ЄКЦІЇ СПЕРМАТОЗОЇДА ДЛЯ ЗАПЛІДНЕННЯ ООЦИТІВ ЯПОНСЬКОГО ПЕРЕПЕЛА (*COTURNIX JAPONIKA*) 14

Носаєва А.Ю., Буздуга І.М. ВПЛИВ АЛЕЛОПАТИЧНИХ РЕЧОВИН НА АКТИВНІСТЬ ПЕРОКСИДАЗИ У РОСЛИН *A.°THALIANA* 15

Підлатюк М.М., Буздуга І.М. АКТИВНІСТЬ ГВАЯКОЛПЕРОКСИДАЗИ У НОКАУТНИХ *CAT2* РОСЛИН *A.°THALIANA* ЗА СТРЕСОВИХ УМОВ 16

Рудь О.М., Буздуга І.М. ВПЛИВ ХЛОРИДУ НАТРІЮ НА ВМІСТ ВІДНОВЛЕНОЇ ТА ОКИСЛЕНОЇ ФОРМ ВІТАМІНУ С У РОСЛИН *A.°THALIANA* 17

Чернобай Н.А., Шевченко Н.О., Присталов А.І., Каднікова Н.Г. КРІОКОНСЕРВУВАННЯ ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ РОСЛИН В УКРАЇНІ 18

Alekseeva A., Khromykh N., Lykholat Yu., Boroday E. SPECIFICITY OF THE CUTUCULAR WAXES COMPOSITION OF THE LINDEN LEAVES DEPENDING ON LIGHT LEVEL IN TREE CROWN 19

Lykholat T.Y., Lykholat O ALIMENTARY ESTROGEN EFFECT ON ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY IN DIFFERENT AGE ANIMALS ORGANS 20

РЕГУЛЯЦІЯ РОСТУ ТА РОЗВИТКУ РОСЛИН

Горюнова І.І., Ємець А.І. МІКРОТРУБОЧКИ ЯК ПОТЕНЦІЙНА МІШЕНЬ ДІЇ ІОНІВ КАДМІЮ ТА НІКЕЛЮ 21

Жук І.В., Дмитрієв О.П., Лісова Г.М., Кучерова Л.О. ІНДУКУВАННЯ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ СТІЙКОСТІ РОСЛИН ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ПРОТИ БІОТИЧНОГО СТРЕСУ 22

Жук В.В. ВПЛИВ УЛЬТРАФІОЛЕТУ В НА РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН ГОРОХУ 23

Красиленко Ю., Е. Пантеріс, П. Кастієр, М. Мартинчова, Й. Шамай, А. Блехова ОРГАНІЗАЦІЯ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТУ РОСЛИН-ПАРАЗИТІВ НА ПРИКЛАДІ ПОВИТИЦЬ (*CUSCUTA* SPP.) 24

Лагута І. В. РОЛЬ ГЕНІВ *PPD* У ФОРМУВАННІ АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ДО ПОСУХИ ТА ВИСОКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕСУ 25

Могільнікова І., Циганкова В., Копіч В., Ємець А. СКРИНІНГ НОВИХ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ РОСЛИН ТОМАТІВ СЕРЕД НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ СПОЛУК – ПОХІДНИХ ПІРИМІДИНІВ 26

Нестеренко Є.О., Ісаєнков С.В. ОСОБЛИВОСТІ ПРОЦЕСУ КАЛЮСОГЕНЕЗУ В КУЛЬТУРІ *IN VITRO* РОСЛИН ЯЧМЕНЮ 27

Паламарчук А. Д. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДІВ ЗАХИСТУ РОСЛИН ВІД ФІТОПАТОГЕНІВ 28

Плоховська С.Г., Ємець А.І., Блюм Я.Б. КОМБІНОВАНА ДІЯ ХОЛОДУ ТА ДОНОРА ЧИ ПЕРЕХОПЛЮВАЧА NO НА ОРГАНІЗАЮ АКТИНОВИХ ФІЛАМЕНТІВ У КЛІТИНАХ КОРЕНЯ *ARABIDOPSIS THALIANA* 29

Покотило І.В., Руеланд Е., Кравець В.С. ВИЗНАЧЕННЯ МЕХАНІЗМІВ САЙТ-СПЕЦИФІЧНОГО ЗВ'ЯЗУВАННЯ РЕКОМБІНАНТНИХ БІЛКІВ РОСЛИН З САЛІЦИЛОВОЮ КИСЛОТОЮ ТА ЇЇ АНАЛОГАМИ 30

Шулік В.В. ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ РІЗНИХ УМОВ ТРОФІЧНОГО ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ПРОЦЕСИ ТА АЛЕЛЬНИЙ СТАН ГЕНУ VRN-A1 В ПРОРОСТКАХ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ УПРОДОВЖ ЯРОВИЗАЦІЇ 31

Derevyanchuk M.V., Litvinovskaya R.P., Zhabinskii V.N., Khripach V.A., Kravets V.S. ROLE OF BRASSINOSTEROIDS IN THE REGULATION OF PLANT METABOLISM UNDER ABIOTIC STRESS CONDITIONS 32

Grabova G.Yu., Dragovoz I.V. PHYTOHORMONAL EXOMETABOLITES OF *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* SUBSP. *PLANTARUM* IMV B-7524 STRAIN 33

Kalachova T., Leitao L., Carpentier G., Kravets V., Ruelland E. PHOSPHATIDIC ACID ORIGINATING FROM PHOSPHATIDYLINOSITOL-DEPENDENT PHOSPHOLIPASE C MEDIATES ROS PRODUCTION IN *ARABIDOPSIS* SUSPENSION CELLS IN RESPONSE TO FLAGELLIN 34

Olenieva V., Lytvyn D., Blume Ya.B. ACETYLATION OF A-TUBULIN AS A CRUCIAL MODIFICATION FOR AUTOPHAGY DEVELOPMENT INDUCED BY ABIOTIC STIMULI 35

Vakal S.E., Virag E.A., Taller J. REVEALING THE BINDING MODES OF PYRAZOLONE, TRIKETONE AND DIKETONITRILE HERBICIDES TARGETING 4-HYDROXYPHENYLPYRUVATE DIOXYGENASE *IN SILICO* 36

<u>МОЛЕКУЛЯРНА ГЕНЕТИКА РОСЛИН</u>

Деркач К.В., Борисова В.В., Сатарова Т.М. СПОРІДНЕНІСТЬ ЛІНІЙ КУКУРУДЗИ ЗАРОДКОВОЇ ПЛАЗМИ ЛАНКАСТЕР ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ SNP-АНАЛІЗУ 37

Літвінов С. В., Шиліна Ю.В., Пчеловська С.А., Берестяна А.М., Соколова Д.О., Жук В.В., Тонкаль Л.В., Салівон А.Г., Нестеренко О.Г. РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНА НЕСТАБІЛЬНІСТЬ САТЕЛІТНОЇ ДНК ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН, ВИРОЩЕНИХ З ОПРОМІНЕНОГО НАСІННЯ 38

Місяць Т.К., Олійник Т.М., Пилипенко Л.А.ІДЕНТИФІКАЦІЯ R-ГЕНІВ СТІЙКОСТІ ДО ФІТОФТОРОЗУ ЗА ДОПОМОГОЮ ДНК-МАРКЕРІВ 39

Постовойтова А.С., Йотка О.Ю., Пірко Я.В., Блюм Я.Б. АНАЛІЗ ПОЛІМОРФІЗМУ ДОВЖИН ІНТРОНІВ ГЕНІВ АКТИНУ У ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *LINUM* L. 40

Русак О.О., Панчук І.І., Волков Р.А. ОСОБЛИВОСТІ МОЛЕКУЛЯРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ 41

ДІЛЯНКИ 5S рДНК ДВОХ УКРАЇНСЬКИХ ПОПУЛЯЦІЙ ЯВОРА (*ACER PSEUDOPLATANUS*)

Рабоконь А. М., Демкович А. Є., Йотка О. Ю., Пірко Я. В., Я. Б. Блюм ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ДОВЖИН ІНТРОНІВ ГЕНІВ ß-ТУБУЛІНУ У СОРТІВ ЛЬОНУ УКРАЇНСЬКОЇ СЕЛЕКЦІЇ 42

Сліщук Г.І., Волкова Н.Е. ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНОТИПІВ КУКУРУДЗИ ЗА МІКРОСАТЕЛІТНИМ ЛОКУСОМ UMC1545 ГЕНА *HSP3* 43

Тинкевич Ю.О., Романюк Ю.В., Волков Р.А. ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ЕВОЛЮЦІЯ МГС 5S РДНК У ПРЕДСТАВНИКІВ ПІДРОДИНИ *ROSOIDEAE* 44

Фесюк О.В., Василенко М.Ю. ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ НАКОПИЧЕННЯ РЕКОМБІНАНТНОГО GFPB ТРАНСГЕННИХ РОСЛИНАХ САЛАТУ *LACTUCA SATIVUM* 45

Ivanovych Ya.I., Volkov R.A. DETERMINATION OF SELF-INCOMPATIBLE GENOTYPES IN SWEET CHERRY CULTIVARS OF UKRAINIAN ORIGIN 46

Karelov A.V. JUVENILE AND ADULT LEAF RUST RESISTANCE FACTORS AT CHROMOSOME 2BS OF WHEAT 47

Litvinov S., Rashydov N. TRANSGENERATIONAL INHERITANCE OF RADIATION-INDUCED ACTIVATION OF *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) *RAD51* AND *RAD1* GENES 48

СТРУКТУРНА І ФУНКЦІОНАЛЬНА ГЕНОМІКА РОСЛИН

Созінова О.І., Самофалова Д.О., КарповП.А. ІОІНФОРМАЦІЙНИЙ ПОШУК І АНАЛІЗ ПЕРВИННИХ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ ПУРОІНДОЛІНІВ 49

Череватов О.В., Ілюк А.І., Волков Р.А. СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ СПЕЙСЕРНОЇ ДІЛЯНКИ 5S рДНК *IPHICLIDES PODALIRIUS* (*LEPIDOPTERA*) 50

Череватов О.В., Рошка Н.М., Волков Р.А. СТРУКТУРА МІЖГЕННОГО СПЕЙСЕРА COI-COII БДЖОЛИ МЕДОНОСНОЇ (*APIS MELLIFERA* L.) 51

Pydiura N., Pirko Ya, Bayer G., Blume Ya. ANALYSIS OF THE TUBULIN BETA GENES EXPRESSION PROFILES IN FLAX (*LINUM USITATISSIMUM*) AND RELATED SPECIES 52

РОСЛИННІ РЕСУРСИ ДЛЯ БІОПАЛИВА

Андріяш Г.С., Тігунова О.О., Бейко Н.Є., Шульга С.М. ТОРФ ЯК СУБСТРАТ ДЛЯ ПРОДУЦЕНТІВ ЛІПІДІВ 53

Блюм Р.Я., Лантух Г.В., Рахметов Д.Б. ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ОЛІЇ СУРІПИЦІ ЯК ПЕРСПЕКТИВНОЇ СИРОВИНИ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА БІОДИЗЕЛЬНОГО ПАЛИВА 54

Бондарчук О.П., Рахметов Д.Б. РОСЛИНИ ВИДІВ РОДУ *ASTRAGALUS* L. ЯК ФІТОСИРОВИНА ДЛЯ ОТРИМАННЯ БІОПАЛИВА 55

Володько О.І., Іванова Т.С., Циганков С.П. ШЛЯХИ ВИКОРИСТАННЯ СОРГОВОЦУКРОВОЇ БАГАСИ ПРИ ВИРОБНИЦТВІ БІОЕТАНОЛУ 56

Тігунова О.О., Бейко Н.Є., Андріяш Г.С., Шульга С.М. ВІДХОДИ ВИРОБНИЦТВА БІОДИЗЕЛЮ ЯК СИРОВИНА ДЛЯ БІОБУТАНОЛУ 57

БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА НАНОБІОТЕХНОЛОГІЯ

Баєр Г.Я., Рахметов Д.Б., Ісаєнков С.В. ГЕНЕТИЧНА ТРАНСФОРМАЦІЯ КОНСТРУКЦІЄЮ ДЛЯ РНК-ІНТЕРФЕРЕНЦІЇ ГЕНА ЦИТОКІНІНДЕГІДРОГЕНАЗИ 2 58

ПАЛЬЧАСТОГО ПРОСА

Богославець В.А., Григорюк І.П., Теслюк В.В. ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ ХІТИНОВИХ ПОХІДНИХ В БІОТЕХНОЛОГІЇ 59

Бойко М.В ПОЛІФУНКЦІОНАЛЬНІСТЬ БІОАГЕНТІВ *BACILLUS THURINGIENSIS* 60

Бойчук Ю.М., Баєр О.О., Баєр Г.Я., Ємець А.І. ТРАНСФОРМАЦІЯ РИЖІЮ ПОСІВНОГО (*CAMELINA SATIVA*) МЕТОДОМ *IN PLANTA* 61

Борова М.М., Науменко А.П., Ємець А.І. РОЗРОБКА МЕТОДУ БІОФУНКЦІОНАЛІЗАЦІЇ ПОВЕРХНІ КВАНТОВИХ ТОЧОК CdS З ВИКОРИСТАННЯМ ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЮ ТА БИЧАЧОГО СИВОРОТКОВОГО АЛЬБУМІНУ 62

Бузіашвілі А.Ю., Ємець А.І. *AGROBACTERIUM*-ОПОСЕРЕДКОВАНА ТРАНСФОРМАЦІЯ ТОМАТА СОРТУ ЛАГІДНИЙ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ ЙОГО СТІЙКОСТІ ПРОТИ ФІТОПАТОГЕНІВ 63

Венгловська А.С., Василенко М.Ю.ТРАНСФОРМУВАННЯ РОСЛИН САЛАТУ *LACTUCA SATIVUM* 64

Дубровіна О.А. МІКРОБНІ БІОСЕНСОРИ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОГО СПОЖИВАННЯ КИСНЮ 65

Жук В.П., Ісаєнков С.В. ВИЗНАЧЕННЯ СКЛАДУ ЖИРНИХ КИСЛОТ В КАЛЮСНИХ КУЛЬТУРАХ ДВОХ СОРТІВ РОСЛИН АМАРАНТУ 66

Іванова Т.С., Бісько Н.А. БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ ЛІКАРСЬКИХ МАКРОМІЦЕТІВ ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ НА ПРОДУКТАХ ПЕРЕРОБЛЕННЯ ЗЕРНОВИХ КУЛЬТУР 67

Кваско А.Ю., Ємець А.І. КАЛЮСОГЕНЕЗ ТА РЕГЕНЕРАЦІЯ ЗРІЛИХ ЗАРОДКІВ ПШЕНИЦІ (*Triticum aestivum* L.) 68

Крупицька Л.О., Капрельянц Л.В. ВПЛИВ ВТОИННИХ МЕТАБОЛІТІВ *PROPIONIBACTERIUM SHERMANII – PS 4* НА РІСТ *BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM – 1* 69

Курило В.В., Шиша О.М., Ємець А.І. ОТРИМАННЯ ТА АНАЛІЗ ТРАНСГЕННИХ ЛІНІЙ ЦУКРОВОГО БУРЯКУ, ЩО МІСТЯТЬ ГЕН *CRY1C*, ЯКИЙ ЗАБЕЗПЕЧУЄ СТІЙКІСТЬ ДО КОМАХ ШКІДНИКІВ 70

Лисак Ю.С., Ходько О.Т. НОВІ ПІДХОДИ ДО КРІОКОНСЕРВУВАННЯ МЕРИСТЕМАТИЧНИХ ТКАНИН 71

Лосєва Д.В., Ємець А.І. ВВЕДЕННЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ГІРКОКАШТАНА *AESCULUS HIPPOCASTANUM* 72

Мельничук О.В., Ожерєдов С.П., Ємець А.І., Блюм Я.Б. ПОЛІПЛОЇДИЗАЦІЯ МІСКАНТУСУ ГІГАНТСЬКОГО *(MISCANTHUS* × *GIGANTEUS* GREEFETDEU.) В УМОВАХ *IN VITRO* З ВИКОРИСТАННЯМ АНТИМІТОТИЧНИХ СПОЛУК ДИНІТРОАНІЛІНОВОГО РЯДУ 73

Пентелюк О.С., Григорюк І.П., Костенко С.М., Ліханов А.Ф БІОТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ РОЗМНОЖЕННЯ СТІЙКОЇ ПРОТИ КАШТАНОВОЇ МІНУЮЧОЇ МОЛІ ФОРМИ ГІРКОКАШТАНА ЗВИЧАЙНОГО *IN VITRO* 74

Похилько С.Ю., Степаненко А.І., Починок В.М., Дуган О.М., Моргун Б.В. АНАЛІЗ ВМІСТУ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКУ В ГІБРИДНИХ СІМ'ЯХ НОСІЇВ ГЕНУ *GPC-B1* ВІД *TRITICUM TURGIDUM* SSP. *DICOCCOIDES* МЕТОДОМ ІНФРАЧЕРВОНОЇ СПЕКТРОМЕТРІЇ 75

Чорнобров О.Ю. ЕФЕКТИВНІ СПОСОБИ РЕГЕНЕРАЦІЇ РОСЛИН *KALANCHOE* 76

BLOSSFELDIANA POELLN. *IN VITRO*

Шадріна Р.Ю., Ємець А.І. ВВЕДЕННЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ГОЛОЗЕРОГО ЯЧМЕНЮ (*HORDEUM VULGARE* L.) 77

НОВІ ХАРЧОВІ ПРОДУКТИ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ

Журлова О.Д., Капрельянц Л.В. ОТРИМАННЯ ПРИРОДНІХ КСИЛООЛІГОСАХАРИДІВ-ПРЕБІОТИКІВ ІЗ ВТОРИННИХ ПРОДУКТІВ ПЕРЕРОБКИ ЗЕРНА 78

ВІДМІННОСТІ СТАНУ ПРОДИХОВОГО АПАРАТУ В ОСВІТЛЕНИХ І ЗАТІНЕНИХ ЛИСТКАХ ДЕРЕВ РОДУ *TILIA* L.

Алексєєва А.А, Хромих Н.О, Лихолат Ю.В, Давидов В.Р.
Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, м. Дніпро, Україна, annakislaja@rambler.ru

У степовій зоні України деревна рослинність знаходиться в умовах екологічної невідповідності, тому є чутливою до найменших кліматичних коливань (Lykholat et al., 2016). Наявні і прогнозовані зміни клімату, які супроводжуються зростанням температури і посушливості, загострюють проблему виживання рослин, особливо в аридних регіонах (Bussotti et al., 2015). Вивчення діапазону адаптаційних можливостей деревних видів рослин дає підґрунття для прогнозування оптимального складу природних та штучно створених фітоценозів у змінених кліматичних умовах. Відомо, що положення листків у кроні належить до ключових факторів, що визначають відповідь рослин на дію стресових чинників, оскільки листки адаптуються до різних умов освітлення (James & Bell, 2000). Розташування і щільність продихів на листках деревних рослин також залежать від умов середовища. Ми припускаємо, що характерні особливості пристосованих до інтенсивного сонячного опромінення листків здатні вказати напрями процесів адаптації деревних рослин до посилення освітленості і температури середовища. Мета роботи полягала у виявленні впливу рівня освітленості у кроні дерева на морфометричні параметри продихового апарату листків.

Об’єктом дослідження були повністю розвинуті листки дерев роду *Tilia* із Ботанічного саду ДНУ ім. Олеся Гончара. Адаптовані до світла і тіні листки відбирали, відповідно, на зовнішній поверхні та всередині крони у 5-7 дерев на висоті 2 м. Відбитки епідерми листків реєстрували вбудованою цифровою фотокамерою мікроскопу Bresser Biolux LCD при збільшенні 40×. Довжину та ширину продихів на знімках вимірювали за допомогою комп'ютерної програми AxioVision Rel. 4.8.2.

З’ясовано, що перевищення щільності продихів в освітлених листках у порівнянні із затіненими сягало 44% у *T. cordata*, 30% у *T. tomentosa*, 20% *T. amurensis*, 22% *T. europea*, і понад 57% *T. begoniifolia*. Середні значення довжини і ширини продихів в адаптованих до світла листках були достовірно ($P < 0,05$) нижчими за показники для затінених листків, і становили, відповідно, 87 і 84% у *T. cordata*; 75 та 70% у *T. tomentosa*; 79 і 77% у *T. amurensis*; 83 і 81% у *T. europea* і 84 та 90% у *T. begoniifolia*. Показано, що розбіжності характеристик продихового апарату затінених й освітлених листків стосувались також форми продихів. У видів *T. cordata*, *T. tomentosa* і *T. amurensis* продихи в адаптованих до тіні листках мали округлену форму, тоді як за освітлення набували більш видовженої форми, і при цьому зростали коефіцієнти відношення довжини до ширини. У листках *T. begoniifolia*, навпроти, установлено зниження відношення довжини до ширини продихів в умовах зростання освітленості. У листках *T. europea* виявлені однакові співвідношення довжини і ширини продихів за умов освітлення і затінення. Отже, адаптація до високого рівня сонячного опромінення у листках дерев роду *Tilia* була асоційована із суттєвим збільшенням щільності продихів. За умов інтенсивного освітлення у листках усіх досліджених видів лип довжина і ширина продихів зменшувались у порівнянні із затіненням, що сприяє підвищенню ефективності регуляції рівня транспірації.

1.Lykholat Y., Khromykh N., Ivanko I., KovalenkoI., Shupranova L., Kharytonov M. Metabolic responses of steppe forest trees to altitude-associated local environmental changes // *Agriculture & Forestry*. – 2016. – V. 62, № 2. – P.163–171.

2.Bussotti F., Pollastrini M., Holland V., Bruggemann W. Functional traits and adaptive capacity of European forests to climate change. Environ // *Exp. Bot.* – 2015. – V. 111, № 3. – P. 91–113.

3.James S.A., Bell D.T. Influence of light availability on leaf structure and growth of two *Eucalyptus globulus* ssp. globulus provenances // *Tree Physiol*. – 2000. – № 20. – P. 1007–1018.

ПІОЦИНИ S-ТИПУ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* УКМ В-333

О.І. Балко, Л.Б. Зелена, Л.В. Ярошенко, О.Б. Балко
Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України
aleks-balko1@yandex.ua

Одним із факторів, який визначає родючість рослин є баланс в динамічній системі рослина-мікроорганізми. Ряд мікроорганізмів можна віднести до агрономічно корисної мікрофлори, тоді як інші здатні спричиняти розвиток захворювань. Штами *Pseudomonas aeruginosa* також виділяються з рослин, грунту і води. Дані мікроорганізми продукують бактеріоцини (піоцини), які здатні не лише регулювати чисельність бактеріальної популяції, але й визначати інтенсивність біоплівкоутворення (Oliveira et al., 2015). Раніше нами було виявлено ряд штамів *P. aeruginosa*, зокрема УКМ В-333, продуцентів високоактивних бактеріоцинів, які фізико-хімічними методами було класифіковано як піоцини S-типу (Balko et al., 2013). Дослідження останніх років показали, що серед бактеріоцинів даного типу існує значно більше підтипів, ніж вважалось раніше, проте приналежність до відповідного підтипу можливо встановити лише молекулярно-генетичними методами (Ghequire et al., 2014).

Метою даного дослідження було визначити наявність в геномі *P. aeruginosa* УКМ В-333 генів піоцинів S-типу за допомогою молекулярно-генетичного аналізу.

Аналіз геному штаму *P. aeruginosa* УКМ В-333 на наявність 7 генів піоцинів S-типу проводили за допомогою ампліфікації зі специфічними праймерами. Нуклеотидна послідовність праймерів була підібрана згідно даних літератури (Dingemans et al., 2014) та з використанням програми primer3. Як контроль використовували типовий штам *P. aeruginosa* PAO1, в геномі якого встановлена наявність генів піоцинів S2, S4 та S5 (Elfarash et al., 2012).

В результаті проведеного ПЛР-аналізу в геномі *P. aeruginosa* PAO1 підтверджено наявність генів піоцинів S2, S4 та S5, що засвідчило коректність підібраних праймерів та параметрів проведеної ампліфікації. В геномі штаму *P. aeruginosa* УКМ В-333 виявлено два з семи проаналізованих генів піоцинів S-типу. Отримані специфічні продукти ампліфікації розміром 459 і 646 п.н. відповідають фрагментам генів піоцинів S1 та S5.

Таким чином, за допомогою молекулярно-генетичного аналізу підтверджено можливість синтезу штамом *P. aeruginosa* УКМ В-333 піоцинів S-типу, а саме піоцинів S1 та S5. Отримані результати дозволять розширити уявлення щодо ролі піоцинів в процесі регуляції мікробіоти грунту та оцінити їх опосередкований вплив на систему рослина-мікроорганізми.

1. Balko A.B., Vidasov V.V., Avdeeva L.V. Optimization of conditions of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriocin induction // Mikrobiol zhurn. – 2013. – V.75, N 1. – P. 79-85.

2. Dingemans J., Ye L., Hildebrand F., Tontodonati F. et al. The deletion of TonB-dependent receptor genes is part of the genome reduction process that occurs during adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to the cystic fibrosis lung //Pathogens and disease. – 2014. – V.71, N1. – P. 26-38.

3. Elfarash A., Wei Q., Cornelis P. The soluble pyocins S2 and S4 from Pseudomonas aeruginosa bind to the same FpvAI receptor // Microbiologyopen. – 2012. – V.1. – P. 268–275.

4. Ghequire M.G.K., De Mot R. Ribosomally encoded antibacterial proteins and peptides from *Pseudomonas* // FEMS Microbiol Rev. – 2014. – V. 38. – P. 38523–38568.

5. Oliveira N.M., Martinez-Garcia E., Xavier J., Durham W.M. et al. Biofilm Formation As a Response to Ecological Competition // PLoS Biol. – 2015. – V.13, N 7. – P. e1002191.

БІОРІЗНОМАНІТНІСТЬ ПРОТЕОБАКТЕРІЙ У РИЗОСФЕРІ СОЇ ЗА ЗАСТОСУВАННЯ РІЗНИХ АГРОБІОТЕХНОЛОГІЙ

С.В.Вознюк, Л.В.Титова
Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143
vozsvet@gmail.com

Біорізноманітність відіграє ключову роль в стабілізації агроекосистем, збереженні родючості та підвищенні продуктивності рослин. Останніми роками інтенсивно розвивається органічне землеробство, яке базується на максимальному використанні біопотенціалу екосистем. Але для боротьби з грибними захворюваннями використовують фунгіциди, які можуть впливати не тільки на патогенні мікроміцети, а й на ґрунтові бактерії, викликаючи зміни у складі мікробіому ґрунту і порушуючи його біорізноманітність (Loa C.C, 2010). Склад мікробного угруповання ризосфери сої за умов застосування обробки насіння фунгіцидами з подальшою інокуляцією комплексним мікробним препаратом досліджений недостатньо.

Метою роботи було дослідити мікробіом ризосфери сої за інокуляції насіння біопрепаратом Ековітал і застосування фунгіцидів (Кінто дуо або Максим Стар) методом високопродуктивного піросеквенування ПЛР-ампліфіката ділянки V4 гена 16S рРНК.

У мікробіомі ризосфери сої ідентифіковано 20 філумів, 28 класів і 44 порядки бактерій, а також 1 філум, 1 клас і 2 порядки архей. Найбільш широко представлений був філум *Proteobacteria,* відносна кількість якого зростала з 26,2% у контрольному варіанті без інокуляції та обробки фунгіцидами до 35,8-37,6% у варіантах з обробкою насіння. Серед представників філуму *Proteobacteria* було ідентифіковано 4 класи – *Alpha-*, *Beta-*, *Delta-* і *Gamaproteobacteria*. Представленість класів *Alpha-*, *Beta-* і *Gamaproteobacteria* зростала з 10,6%, 11,0% і 3,7% у контролі до 16,5-18,2%, 12,7-15,5% та 4,3-5,2% відповідно у всіх варіантах обробки, а класу *Deltaproteobacteria* – знижувалась з 0,8% до 0,4-0,6%. Найбільша кількість ідентифікованих бактерій відносилась до класу *Alphaproteobacteria,* до якого входять як гетеротрофні, так і автотрофні бактерії. Особливий інтерес належить цьому класу тому, що до нього входять симбіотичні азотфіксувальні бактерії та деструктори токсичних речовин (*Aislabie J.* et al., 2013). До цього класу входили 6 порядків, 13 родин та 18 родів, представленість яких зростала у всіх дослідних варіантах порівняно з контролем. У варіантах з інокуляцією та обробкою фунгіцидами з наступною бактеризацією були ідентифіковані некультивовані бактерії, які належали до родів *Balneimonas, Bosea, Kaistia* та *Rhodobacter*. Представленість родів *Phenylobacterium*, *Hyphomicrobium* і *Mesorhizobium* була найвищою у варіантах із застосуванням біопрепарату. Відносна кількість представників, які належали до родів *Devosia*, *Methylobacterium*, *Kaistobacter*, *Novosphingobium* і *Sphingopyxis* збільшувалась у варіантах із застосуванням фунгіцидів з наступною бактеризацією Ековіталом. Бульбочкові бактерії роду *Bradyrhizobium* були виявлені у всіх варіантах обробки насіння, крім застосування фунгіциду Максим Стар з подальшою інокуляцією, а роду *Rhizobium* – лише у варіанті з Ековіталом і з фунгіцидом Кінто дуо та біопрепаратом.

Комплексна інокуляція насіння мікробним препаратом Ековітал і його застосування з фунгіцидами Кінто дуо або Максим Стар сприяли зростанню біорізноманітності протеобактерій у ризосфері сої.

1. Aislabie J., Deslippe J.R. Soil microbes and their contribution to soil services. *In* Dymond J.R. ed. Ecosystem services in New Zealand – conditions and trends. Manaaki Whenua Press. – 2013. – P. 143-161.
2. Loa C.C. Effect of pesticides on soil microbial community // Journal of Environmental Science and Health (Part B). – 2010. – N 45. – P. 348-359.

ВМІСТ ТІОБАРБІТУРАТ АКТИВНИХ ПРОДУКТІВ У *ARABIDOPSIS THALIANA* В УМОВАХ ТЕПЛОВОГО СТРЕСУ

Л.П. Гаврилик, І.І. Панчук
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
кафедра молекулярної генетики та біотехнології
i.panchuk@chnu.edu.ua

Температура – абіотичний фактор, що здатний впливати на молекулярно-біохімічні процеси у рослин. Так, різкі зміни температури викликають стрес і, як наслідок, запускають ряд реакцій, що забезпечують адаптацію рослин до змін навколишнього середовища (Hasanuzzaman, 2013). Тепловий стрес у рослин призводить до посилення генерації активних форм кисню, що є причиною оксидативного стресу у клітині (Volkov et al., 2006). Відомо, що деякі вуглеводи можуть зв'язувати вільні радикали (Ramel, 2004). Існують дані про те, що за дії стресу сахароза може виконувати захисну роль у клітині, активуючи експресію захисних генів (Wind et al., 2010). Метою даної роботи було з'ясувати ступінь пошкодження клітини за дії теплового стресу в присутності різних концентрацій сахарози. В якості маркеру стресу визначали вміст тіобарбітурат активних продуктів (ТБКАП) (Anjum, 2015).

Для дослідження використовували рослини *A. thaliana* вирощені у ґрунті за +20ºС. Після 6,5 тижнів вирощування температуру підвищували на 48 год до +28ºС. Стресову обробку проводили на листках арабідопсису, занурених в 1 мМ К-фосфатний буфер pH 6.0, що містив 1% або 3% сахарозу. Обробку здійснювали в темряві протягом 2 та 4 годин за 20, 37 або 44°С. Контролем слугували рослини, листки яких інкубувалися за 20°С. Визначення вмісту ТБКАП здійснювали за методом, описаним в літературі (Du et al., 1992).

Наші дослідження показали, що у відсутності сахарози в інкубаційному середовищі вміст ТБКАП у листках зростав за дії теплового стресу. При додаванні сахарози в середовище вміст ТБКАП у рослин за дії підвищених температур переважно залишався в межах контролю. Найбільші відмінності спостерігались за 44°С після 4 годинної дії стресу. В цьому випадку вміст ТБКАП у листках, що інкубувались в присутності сахарози був менший ніж у листках, що зазнавали стресу без сахарози. У відсутності сахарози зростання вмісту ТБКАП складало 32%. Інкубування листків в присутності 1% сахарози призводило до збільшення вмісту ТБКАП на 25%. Водночас при застосуванні 3% сахарози вміст ТБКАП залишався на рівні контролю.

Отже, наявність сахарози у середовищі перешкоджає пошкодженню ліпідів мембран, що свідчить про її захисну роль за дії теплового стресу.

1. Anjum N.A., Sofo A., Scopa A. et al. Lipids and proteins – major targets of oxidative modifications in abiotic stressed plants // Envir. Sci. Pollution Res. – 2015. – V. 22. – P. 4099-4121.
2. Du Z., Bramlage W. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue exstracts // J. Agr. Food Chemistry. – 1992. – V. 40. – P. 1566-1570.
3. Hasanuzzaman M. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants //Int. J. Mol. Sciences. – 2013. – V. 14., N. 5. – P. 9643-9684.
4. Ramel F., Sulmon C., Bogard M. Differential patterns of reactive oxygen species and antioxidative mechanisms during atrazine injury and sucrose-induced tolerance in *Arabidopsis thaliana* // BMC Plant Biol. – 2009. – 28.
5. Volkov R.A., Panchuk I.I., Mullineaux P.M., Schöffl F. Heat stress-induced H_2O_2 is required for effective expression of heat shock genes in *Arabidopsis* // Plant Mol. Biol. – 2006. – V. 61 – P. 733-746.
6. Wind J., Smeekens S., Hanson J. Sucrose: metabolite and signaling molecule // Phytochemistry. – 2010. – V. 71, N.14-15. – P. 1610-1614.

ВПЛИВ ХЛОРИДУ НАТРІЮ НА АКТИВНІСТЬ ДЕГІДРОАСКОРБАТРЕДУКТАЗИ У РОСЛИН *A.°THALIANA*

І.Г. Гаврилюк, І.М. Буздуга
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
кафедра молекулярної генетики та біотехнології
i.buzduga@chnu.edu.ua

Підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонів натрію є токсичним для рослин. Ці іони є причиною порушення структури мембран, осмотичного балансу в клітині, сповільнення процесу фотосинтезу і стимулювання утворення активних форм кисню (АФК). АФК здатні окислювати макромолекули, порушуючи редокс-гомеостаз клітини та викликати оксидативний стрес (Deilein et al., 2014).

Для захисту від токсичної дії АФК рослин виробили широкий спектр антиоксидантних захисних систем, у тому числі і антиоксидантних ферментів (Puthur, 2014). До них, зокрема, належить дегідроаскорбатредуктаза (DHAR) – фермент аскорбат-глутатіонового циклу. DHAR є ключовим ферментом, який бере участь у підтримці пулу відновленого аскорбату і має велике значення для стійкості рослин за дії стресових факторів (Zhang et al., 2015). Метою даного дослідження було вивчення впливу різних концентрацій хлориду натрію на активність дегідроаскорбатредуктази у рослин *A. thaliana*.

Для дослідження використовували 5-тижневі рослини *A. thaliana* екотипу Col 0. Стрес проводили за умов світла та темряви протягом 4-х та 8-ми годин за дії концентрацій хлориду натрію – 50, 100, 200 мМ. Контролем слугували рослини, що інкубувались протягом зазначеного часу у 0,5х MS без додавання іонів хлориду натрію. Після стресу рослини заморожували в рідкому азоті та зберігали в морозильній камері за температури -70ºС. Активність DHAR визначали спектрофотометрично за зміною оптичної густини при 265 нм за описаним в літературі методом (Hossain et al., 1984).

В результаті наших досліджень було показано, що за умов темряви 4-годинна стресова обробка різними концентраціями хлориду натрію не призводила до змін активності DHAR, порівняно з контролем. На відміну від темряви, за умов проведення сольового стресу на світлі виявлено зростання активності ферменту на 15-20% за дії 50 та 100 мМ хлориду натрію. Продовження тривалості стресу до 8 годин призводило до зростання активності DHAR на 15% у темряві за дії найвищої концентрації - 200 мМ. За дії світла максимальне зростання ферментативної активності DHAR через 8 годин на 14 та 17% було виявлено вже за більш низьких концентрацій хлориду натрію – 50 та 100 мМ, відповідно.

Отримані дані свідчать, що DHAR залучена у клітинну відповідь рослин арабідопсису за дії засолення. Ступінь її активації залежав від тривалості стресової обробки та концентрації хлориду натрію в інкубаційному середовищі.

1. Deilein U., Stephan A.B., Horie T. et al. Plant salt tolerance mechanisms // *Trend. Plant Sci.* – 2014. – V. 19. – P. 371-377.

2. Hossain M.A., Asada K. Purification of dehydroascorbate reductase from spinach and its characterization as a thiol enzyme // *Plant Cell Physiol*. – 1984. – V. 25. – P. 85-92.

3. Puthur J.T. Antioxidants and cellular antioxidation mechanism in plants // *South Ind. J. Biol. Sci.* - 2016. – V. 2. – P. 14-17.

4. Zhang Y., Wang W., Yang H., Li Y., Kang X. Molecular properties and functional divergence of the dehydroascorbate reductase gene family in lower and higher plants // *PLoS ONE*. – 2015. – V. 10. – P. 24-78.

АКТИВНІСТЬ ГВАЯКОЛПЕРОКСИДАЗИ У CAT2CAT3 НОКАУТНИХ РОСЛИН *A.°THALIANA* ЗА ДІЇ ХЛОРИДУ МІДІ

Х.М. Іваночко, І.І. Панчук
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
кафедра молекулярної генетики та біотехнології
i.panchuk@chnu.edu.ua

Забруднення навколишнього середовища важкими металами (ВМ) є актуальною проблемою сьогодення. Деякі ВМ, зокрема мідь, є важливим для життєдіяльності рослин мікроелементом. За оптимальних концентрацій мідь є кофактором багатьох ферментів та бере участь у роботі електронно-транспортних ланцюгів (Yruela, 2005). Однак, за високих концентрацій в тканинах рослин вона здатна викликати зростання концентрації активних форм кисню (АФК). Для підтримання стабільного рівня АФК у рослинній клітині функціонує ферментативна антиоксидантна система захисту, до якої належить гваяколпероксидаза (POD) та каталаза (CAT) (Bhaduri et al., 2012). POD є одним із функціонально лабільних ферментів, що реагує на порушення гомеостазу клітинного метаболізму за дії різноманітних стресорів (Foyer et al., 2005). Відповідно, для з'ясування ролі POD у стресовій відповіді рослин на дію ВМ ми вивчали зміни активності POD у рослин *A. thaliana* дикого типу (ДТ) та нокаутної по каталазі *cat*2*cat*3 лінії за впливу різних концентрацій хлориду міді.

Для дослідження використовували 5-тижневі рослини *A. thaliana*. Стресову обробку рослин проводили у темряві протягом 2 та 12 годин за дії концентрацій хлориду міді 0,1; 0,5 та 5 мМ. Контрольні рослини інкубували на середовищі MS без додавання хлориду міді. Активність POD вимірювали за зміною оптичної густини при 470 нм за описаним в літературі методом (Amako et al., 1994). Кількість білку визначали за методом Бредфорда (Bradford, 1976).

В результаті отриманих даних виявлено, що за дії 2 годинного стресу, викликаного іонами Cu^{2+} у рослин ДТ активність POD знижувалась залежно від концентрації іонів міді. Максимальне зниження ферментативної активності POD на 43% було виявлено за дії концентрації 5 мМ хлориду міді. На відміну від ДТ, у *cat*2*cat*3 мутантів, навпаки, спостерігалось зростання активності на 19% за даної концентрації металу.

В умовах 12 годинної дії 5 мМ хлориду міді спостерігалось збільшення активності POD у рослин ДТ на 33%. За цих умов підвищувалась і активність ферменту у *cat*2*cat*3 мутантів – на 40%, порівняно з контролем. Отже, за 12 годинної обробки хлоридом міді як у ДТ, так і у нокаутних рослин, відбувається активація POD. Таким чином, POD залучена у клітинну відповідь рослин арабідопсису за впливу іонів Cu^{2+} та частково здатна компенсувати втрату двох ізоформ каталази у нокаутних рослин.

1. Amako K., Chen G., Asada K. Separate assays for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants // *Plant Cell Physiol.* – 1994. – V. 35. – P. 497-504.

2. Bhaduri A.M., Fulekar M.H. Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress // *Rev. Environ. Sci. Biotech.* – 2012. – V. 11. – P. 55-69.

3. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Analyt. Biochem.* – 1976. – V. 72. – P. 248-254.

4. Foyer C.H., Noctor G. Redox signaling in plants // *Antioxidants & redox signaling*. – 2013. – V. 18. – P. 2087-2090.

5. Yruela I. Copper in plants: acquisition, transport and interactions / I. Yruela // *Functional Plant Biology*. – 2009. – V. 36. – P. 409-430.

ВИВЧЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ *KIN10* ТА *KIN11* ЗА УМОВ ДІЇ СОЛЬОВОГО ТА ОСМОТИЧНОГО СТРЕСІВ

О.Є.Краснопьорова, Д. Д.Буй, С.В.Ісаєнков, А. І.Ємець
Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, вул. Осиповського 2а, Київ-123, 04123, *krasnopio524@gmail.com*

Сигнальні процеси в клітинах живих організмів є надзвичайно складними та недостатньо вивченими. Одним із ключових гравців у регуляції та сигналінгу в рослинах є родина протеїнкіназ SnRK1, що характеризується багатофункціональністю та складністю механізмів дії. SnRK1 є найближчими гомологами АМФ-активуючих протеїнкіназ у тварин (AMP activated protein kinase) та протеїнкіназ SNF1 (non-fermenting 1 kinase) у дріжджів (Polge C., et al., 2007). Ці ферменти мають важливу роль у регуляції клітинного гомеостазу та беруть участь у формуванні відповіді на дію стресів різної природи, що призводять до руйнування АТФ (Mohannath G., et al., 2014). Представники протеїнкіназ SnRK1 утворюють протеїнові комплекси з іншими елементами сигнальних шляхів клітини та діють як регулятори або ефектори різноманітних функцій у різних ділянках клітини та органах. Попри все, багато аспектів функціонування цих ферментів залишається невивченими.

Для кращого розуміння ролі та функцій протеїнкіназ SnRK1 за умов дії різних стресів, було проведено транскрипційний аналіз генів, що кодують їх представників у рослинах *Arabidopsis thaliana*, а саме KIN10 та KIN11. Нами було проаналізовано інтенсивність експресії *KIN10* та *KIN11* у двотижневих рослинах *A. thaliana* за умов впливу 100 мМ NaCl (сольовий стрес). Також проаналізовано зміни рівнів експресії *KIN11* в умовах дії 10% поліетиленгліколю (осмотичний стрес). Рослини відбирали через 2, 8 та 24 год після інкубування на різних середовищах. З відібраних рослин виділяли загальну РНК, та у подальшому синтезували з неї кДНК. Рівень транскриптів *KIN10* та *KIN11* визначався за допомогою ПЛР в реальному часі.

Встановлено, що у рослин *A. thaliana*, які зростали в умовах сольового стресу значно підвищений рівень експресії *KIN10* та *KIN11,* що може свідчити про безпосередню участь цих ферментів у регуляції метаболічних змін, спричинених цим типом стресу під час росту та розвитку рослин. У рослинах, які вирощували у присутності 10% полі етиленгліколю (осмотичний стрес), було зафіксовано найвищий рівень експресії *KIN11* через 8 год. Це може бути обумовлено тим, що захисні механізми рослин в цей період часу знаходяться в активній фазі метаболічних та транскрипційних перебудов, проте через 24 год за підтримку осмотичного гомеостазу рослин відповідають уже інші сигнальні та регуляторні процеси, що не залежать від KIN11.

Отже KIN10 та KIN11 можуть брати участь у регуляції сольового стресу. Цілком можливо, KIN11 також відіграє важливу роль у метаболічній та транскрипційній перебудові рослинних клітин за умов дії осмотичного стресу.

1. Polge C.,Thomas M. SNF1/AMPK/SnRK1 kinases, global regulators at the heart of energy control? // Trends. Plant Sci. – 2007. – 21, № 1. – P.20–28.
2. Mohannath G., Jackel JN., Lee YH., Buchmann RC., Wang H., Patil V., Adams AK., Bisaro DM. A complex containing SNF1-related kinase (SnRK1) and adenosine kinase in *Arabidopsis* // PLoS One. – 2014. – 149, № 4. – e87592.

ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ ІНТРАЦИТОПЛАЗМАТИЧНОЇ ІН'ЄКЦІЇ СПЕРМАТОЗОЇДА ДЛЯ ЗАПЛІДНЕННЯ ООЦИТІВ ЯПОНСЬКОГО ПЕРЕПЕЛА (*COTURNIX JAPONIKA*)

Ю.І. Лесняк, Л.І. Какайло, В.Г. Спиридонов
Українська лабораторія якості безпеки продукції АПК, м. Київ
bioclar@ukr.net

Це дослідження було проведено з метою встановлення ефективності застосування методу інтрацитоплазматичної ін'єкції сперматозоїда (ICSI) для запліднення ооцитів японських перепелів. Даний метод успішно використовується для отримання потомства в декількох видів ссавців, включаючи людину. Під час запліднення із застосуванням методуICSI використовували: а) сперматиди; б) сперматозоїди; в) сперматозоїди разом із екстрактом сперми; г)запліднення *in vivo* (звичайне запліднення: без використання ICSI). До складу екстракту сперми входили три компоненти: 1) фосфоліпаза, 2) аконітатгідратаза, 3) цитратсинтаза. Після запліднення ооцитів (яйцеклітин) здійснювали їх культивування протягом 24 годин. Розподіл клітин спостерігали гістологічно, використовуючи гематоксилін-еозин, для фарбування ядер використовували флуоресцентний барвник (DAPI). Під час запліднення методом ICSI з використанням сперматозоїдів було отримано 17,8% запліднених ооцитів, утворені в результаті ембріони показали розвиток на II-VII бластодермальних стадіях ембріонального розвитку*; яйцеклітини запліднені сперматозоїдами з використанням екстракту сперми продемонстрували 73,4% запліднення, у 7% - було отримано потомство; ооцити, яким було зроблено інтрацитоплазматичну ін'єкцію сперматид – були незаплідненими (ембріональний розвиток не спостерігався); у випадку із заплідненням *in vivo:* 93,6% ооцитів- були заплідненими, у 72,5% - було отримано потомство.

Результати показують, що внутрішньоклітинна ін'єкція одного сперматозоїда в яйцеклітину перепела, з використанням певних методичних підходів, може сприяти активуванню ооцита і призводити до його запліднення та отримання потомства. Вище описані дослідження є важливими для більш досконалого розуміння механізмів запліднення *in vitro* та ембріогенезу у птахів, а також сприятимуть в розробці нових методів у маніпулюванні пташиним геномом.

1. Garcia-Vazquez FA, Garcia-Rosello E, Gutierrez-Adan A, Gadea J. Effect of sperm treatment on efficiency of EGFP-expressing porcine embryos produced by ICSI-SMGT. Theriogenology 2009; 72:506–518.
2. Iwao, Y. (2012). Egg activation in physiological polyspermy. Reproduction 144,11-22.
3. Mizushima, S., Takagi, S., Ono, T., Atsumi, Y., Tsukada, A., Saito, N. and Shimada, K. (2008). Developmental enhancement of intracytoplasmic sperm injection (ICSI)-generated quail embryos byphospholipase Cζ cRNA. J. Poult. Sci. 45, 152-158.

*Бластодермальні стадії ембріонального розвитку визначали відповідно до Eyal-GiladiandKochav (1976).

ВПЛИВ АЛЕЛОПАТИЧНИХ РЕЧОВИН НА АКТИВНІСТЬ ПЕРОКСИДАЗИ У РОСЛИН *A.°THALIANA*

А.Ю. Носаєва, І.М. Буздуга
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
кафедра молекулярної генетики та біотехнології
i.buzduga@chnu.edu.ua

Останнім часом все гостріше стає проблема розповсюдження інвазивних видів. Ці види витісняють місцеву рослинність за рахунок виділення алелопатичних речовин (Li et al., 2010), які є вторинними метаболітами і негативно впливають на інші види рослин. Так, неофіт *Fallopia japonica* синтезує ряд алелопатично активних сполук, які, поряд із іншими ефектами, знижують життєздатність інших видів рослин і інгібують проростання їх насіння (Aryakia et al., 2015). Представниками алелопатичних речовин є катехін та полідатин. В даному дослідженні вивчався вплив цих сполук на модельну рослину *Arabidopsis thaliana*. Метою нашої роботи було дослідження впливу полідатину та катехіну на активність антиоксидантного ферменту пероксидази у арабідопсису.

Рослини *A. thaliana*, що використовувались для дослідження вирощували у ґрунті за +20ºС протягом 4 тижнів. Після цього рослини переносили в культуру гідропоніки на інкубаційне середовище Мурасіге Скуга. Рослини вирощували в культурі гідропоніки протягом 7 днів, після чого до рідкого середовища були додані алелопатичні речовини - катехін та полідатин до кінцевої концентрації 0,5 мМ. Обробку здійснювали протягом 72 годин. Контролем слугували рослини, які інкубувалися на середовищі МС без внесення катехіну або полідатину. Після стресу рослини розділяли на корені та листки, заморожували в рідкому азоті та зберігали в морозильній камері за температури -70ºС. Активність гваяколпероксидази (POD) вимірювали за зміною оптичної густини при 470 нм за описаним в літературі методом (Amako et al., 1994).

В результаті наших досліджень було показано, що за дії катехіну в листках рослин активність POD була на 15% вища, порівняно з контролем. Тоді, як дія полідатину призводила до більш значного зростання активності ферменту на 29%, порівняно з контрольними значеннями. Така активація антиоксидантного ферменту може свідчити про виникнення оксидативного стресу у клітині.

На відміну від листків рослин, у коренях арабідопсису за дії катехіну та полідатину не спостерігали активації POD. Навпаки, за дії катехіну активність POD знижувалась на 19%, порівняно з контролем. В той же час, за інкубації в середовищі з полідатином достовірних змін активності ферменту не було виявлено.

Таким чином, отримані дані свідчать, що POD у листках рослин арабідопсису залучена у клітинну відповідь за дії досліджуваних алелопатичних речовин.

1. Amako K., Chen G., Asada K. Separate assays for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants // *Plant Cell Physiol.* – 1994. – V. 35. – P. 497-504.

2. Aryakia E., Naghavi M.R., Farahmand Z., Shahzadeh Fazeli S.A.H. Evaluating Allelopathic effects of some plant species in tissue culture media as an accurate method for selection of tolerant plant and screening of bioherbicides // *J. Agr. Sci. Tech.* – 2015. – V. 17. – P.1011-1023.

3. Conn S.J. Protocol: optimising hydroponic growth systems for nutritional and physiological analysis of *Arabidopsis thaliana* and other plants //*Plant Methods*. – 2013. – V. 9. – № 1. – P. 1

4. Li Z.H., Wang Q., Ruan X., Pan C.D., Jiang D.A. Phenolics and plant allelopathy // *Molecules*. – 2010. – V. 15. – P. 8933-8952.

АКТИВНІСТЬ ГВАЯКОЛПЕРОКСИДАЗИ У НОКАУТНИХ *CAT2* РОСЛИН *A.°THALIANA* ЗА СТРЕСОВИХ УМОВ

М.М. Підлатюк, І.М. Буздуга
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
кафедра молекулярної генетики та біотехнології
i.buzduga@chnu.edu.ua

Засоленість є одним із факторів, що негативно впливають на фізіологічні та молекулярно-біохімічні процеси у рослин (Cheong et al., 2009). Важливою складовою реакції рослини на дію абіотичних стресових факторів, зокрема засолення, є накопичення в клітинах стресових метаболітів - активних форм кисню (АФК). Відомо, що до АФК належить пероксид водню, який поряд із пошкоджуючою дією виступає у ролі сигнального посередника, що необхідний для клітинної відповіді у рослин (Suzuki, 2012).

У рослинній клітині пероксид водню знешкоджують ферменти – каталаза та група пероксидаз. До групи пероксидаз належить гваяколпероксидаза (POD), яка відіграє важливу роль у клітинному захисті рослин за дії абіотичних стресових факторів (Cheong et al., 2009). Метою нашої роботи було дослідження зміни активності POD у рослин *A. thaliana* дикого типу (ДТ) та у нокаутної *Cat2* лінії за впливу різних концентрацій хлориду натрію.

Для дослідження використовували 5-тижневі рослини *A. thaliana* ДТ та *Cat2* лінії. Стрес проводили за умов освітлення протягом 4-х та 8-ми годин за дії концентрацій хлориду натрію – 50, 100, 200 мМ. Контролем слугували рослини, що інкубувались протягом зазначеного часу у 0,5х MS без додавання іонів хлориду натрію. Активність POD вимірювали за зміною оптичної густини при 470 нм за описаним в літературі методом (Amako et al., 1994). Кількість білку в екстракті визначали за методом Бредфорда (Bradford, 1976).

В результаті досліджень було виявлено, що 4-годинна обробка хлоридом натрію різних концентрацій мутантів не викликала зростання активності POD у рослин ДТ та *Cat2*, порівняно з контролем. Відповідно, можна припустити, що за дії короткотривалого сольового стресу POD не залучена у клітинну відповідь досліджуваних ліній рослин.

Продовження стресової обробки до 8 годин викликало зростання активності POD у *Cat2* мутантів, порівняно із рослинами ДТ, в яких значення активності наближались до контрольних. Зокрема, максимальне зростання активності POD у *Cat2* нокаутів на 34-35% було виявлено за концентрації 100 мМ та 200 мМ хлориду натрію. Таким чином, наші дані свідчать, що збільшення часу інкубації у присутності NaCl супроводжувалося розвитком клітинної відповіді на стрес, зокрема - перебудовою в роботі антиоксидантної системи.

Отже, POD залучена у відповідь рослинної клітини на дію сольового стресу та частково здатна компенсувати втрату ізоформи каталази CAT2 у нокаутних рослин арабідопсису за дії 8-годинного сольового стресу.

1. Amako K., Chen G., Asada K. Separate assays for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants // *Plant Cell Physiol.* – 1994. – V. 35. – P. 497-504.

2. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Analyt. Biochem*. – 1976. – V. 72. – P. 248-254.

3. Cheong M.S., Yun D. Salt-stress signaling // *J. Biol.* – 2009. – V. 50. – P. 148-155.

4. Suzuki N., Koussevitzky S., Mittler R. ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress // *Plant Cell Environ*. – 2012. – V. 35. – P. 259-270.

ВПЛИВ ХЛОРИДУ НАТРІЮ НА ВМІСТ ВІДНОВЛЕНОЇ ТА ОКИСЛЕНОЇ ФОРМ ВІТАМІНУ С У РОСЛИН *A.°THALIANA*

О.М. Рудь, І.М. Буздуга
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
кафедра молекулярної генетики та біотехнології
i.buzduga@chnu.edu.ua

Серед чинників абіотичної природи все більшу увагу дослідників привертає сольовий стрес, оскільки засолення ґрунтів належить до головних лімітуючих факторів продуктивності рослинництва. Викликаний засоленням осмотичний шок, призводить до порушень водного балансу у рослин, пригнічення фотосинтезу, зниження тургору та зростання генерації активних форм кисню, що є одним із ключових вторинних ефектів засолення (Parihar et al., 2015).

У рослин для протидії стресовим факторам функціонує антиоксидантна захисна система. Важливим її представником є вітамін С, який присутній у більшості органел та апопласті у відновленій (аскорбат – As) та окисленій (дегідроаскорбат – DHA) формах. Вітамін С залучений у окисно-відновні сигнальні реакції рослинної клітини (Foyer et al., 2011). As впливає на різні фізіологічні процеси у рослин, однак, основну роль у рослинній клітині він виконує як антиоксидант (Gallie, 2013). Метою даного дослідження було вивчення впливу сольового стресу на вміст відновленої та окисленої форм вітамінну С у рослин *A. thaliana*.

Для дослідження використовували 5-тижневі рослини *A. thaliana*. Стрес протягом 4-х та 8-ми годин за дії концентрацій хлориду натрію – 50, 100, 200 мМ. Контролем слугували рослини, що інкубувались протягом зазначеного часу у 0,5х MS без додавання іонів хлориду натрію. Вміст As та DHA визначали за зміною оптичної густини при 265 нм за описаним в літературі методом (Luwe et al., 1993).

В результаті наших досліджень було показано, що за умов 4 годинного сольового стресу вміст відновленої форми вітаміну С зростав, поряд із збільшенням концентрації хлориду натрію в інкубаційному середовищі. Так, найбільше зростання концентрації As на 45 % було виявлено за дії 200 мМ хлориду натрію. Слід зазначити, що за даних стресових умов, вміст окисленої форми – DHA, навпаки, знижувався на 42%, порівняно з контролем.

Продовження тривалості стресу до 8 годин призводило до аналогічних ефектів, як і за 4 годинного стресу. Так, вміст As зростав за концентрацій 100 та 200 мМ хлориду натрію, відповідно на 19 та 28%, порівняно з контролем. В той час, вміст DHA за даних умов знижувався відповідно на 20-30%.

Отримані дані свідчать, що застосовані концентрації хлориду натрію викликали зростання пулу аскорбату в клітині, що в свою чергу свідчить про збереження окисно-відновної рівноваги в клітині та важливу участь As у клітинній відповіді рослин за стресових умов.

1. Foyer C.H., Noctor G. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub // *Plant Physiol.* – 2011. – V. 155. – P. 2-18.

2. Gallie D.R. L-Ascorbic acid: a multifunctional molecule supporting plant growth and development // *Hindawi Publish. Corporat. Sci.* – 2013. – V. 13. – P. 32-68.

3. Luwe M.W.F., Takahama U., Heber U. Role of ascorbate in detoxify in ozone in the appoplast of spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves // *Plant. Physiol.* – 1993. – V. 101. – P. 969-976.

4. Parihar P., Singh S., Singh R., Singh V.P., Prasad S.M. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review // *Environ. Sci. Pollut. Research.* – 2015. – V. 22, No 6. – P. 4056-4075.

КРІОКОНСЕРВУВАННЯ ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ РОСЛИН В УКРАЇНІ

Н.А. Чернобай, Н.О. Шевченко, А.І. Присталов, Н.Г. Каднікова,
Інститут проблем кріобіології і кріомедицина НАН України, м. Харків, Україна
nadiiachernobai@gmail.com

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини є провідною організацією в Україні, що займається створенням способів кріоконсервування насіння та меристем сільськогосподарських культур, живців винограду, мікроводоростей (Кадникова та ін., 2016, Присталов та ін., 2014, Шеченко, 2016).

Чисельні експерименті показали, що зберігання ортодоксального насіння мікробіотиків у рідкому азоті та його парах не викликає зниження життєздатності, тоді як для багатьох ефірно-масляних культур спостерігається збільшення посівних якостей насіння. Кріоконсервування штучно зволоженого насіння кукурудзи та цукрових буряків показало, що при повільних швидкостях заморожування і відігрівання можливо отримати високі показники лабораторної схожості насіння з вологістю близько 20%.

Досліджено вплив кріопротекторів на життєздатність насіння з метою проведення передпосівної обробки насіння і підвищення їх холодо- і морозостійкості. Вивчено токсичну дію різних концентрацій кріопротекторів рядів амідів, діолів, спиртів на меристемі картоплі і винограду та на живцях плодово-ягідних культур. Встановлено, що кріопротектори ряду амідів проявляють виражену токсичну дію. В ряду діолів і спиртів токсичний ефект зростає зі збільшенням довжини алкільного ланцюга. Найменш токсичними в ряду вивчених речовин виявилися 1,2-пропандіол, гліцерин, етиленгліколь, які навіть в 2М концентрації дозволяють отримати життєздатність досліджуваних об'єктів більше 70%. Високомолекулярні сполуки: вуглеводи і поліетиленгліколі не викликають зниження життєздатності живців груші, малини, сливи, абрикосу, винограду, яблуні при концентраціях 5-25%. Таким чином, наведені кріопротектори можливо використовувати для розробки методів кріоконсервування живців. Розроблено спосіб кріоконсервування меристем картоплі, винограду, часнику з використанням модифікованого plant vitrification solution (1 М сахарози + 2 М гліцерину + 2,5 М етиленгліколю). Проводиться розробка способу кріоконсервування меристем батату.

Розроблено лабораторний пристрій для вакуумного насичення живців плодово-ягідних культур. Цей пристрій дозволяє швидко і рівномірно насичувати живці розчинами кріопротекторів, поживними середовищами.

Розроблено способи гіпотермічного зберігання *in vitro* колекцій клонів часнику, каллуса перцю овочевого, огірка, кавуна, живців винограду, одноклітинних *Dunaliela salina, Spirulina platensis, Astasia longa, Chlorella vulgaris.*

1. Кадникова Н.Г., Чернобай Н.А., Розанов Л.Ф. Жизнеспособность *Astasia longa* и *Dunaliella Salina* в условиях гипотермии // Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы развития экологии и биологии». 3-7 октября 2016г., Винница. – С. 336-339.

2. Присталов А. И. Виноградарство Слобожанщины: история, проблемы, перспективы создания и сохранения коллекций / А. И. Присталов, И. Н. Бондарь, А. А. Полулях, В. В. Лиховской // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Сер.: Біологія. - 2014. - № 1100, вип. 20. - С. 53-60.

3. Шевченко Н.А. Влияние температуры хранения на энергию прорастания и всхожесть семян *Pastinaca sativa, Daucus carota, Apium graveolens, Lepidium sativum, Cannabis sativa, Stevia rebaundiana* // «Современное состояние наук о жизни: фундаментальные и прикладные аспекты». Материалы республиканской (с международным участием) конференции. Караганда. 2016. – С.75-78.

SPECIFICITY OF THE CUTUCULAR WAXES COMPOSITION OF THE LINDEN LEAVES DEPENDING ON LIGHT LEVEL IN TREE CROWN

A.Alekseeva, N.Khromykh, Yu.Lykholat, E.Boroday
Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipro, Ukraine
annakislaja@rambler.ru

The cuticle is now interpreted as the most outer zone of the epidermal cell walls. Becomes clear that the physiological role of the cuticle extends far beyond its primary function as a barrier to transpiration; cuticle plays an important role in many processes ranging from development and to interaction with the microbes (Yeats, Rose, 2013). Cuticle consists of cutin and the surface cuticular waxes containing n-alkanes, esters, fatty acids, aldehydes. The component composition of the cuticular waxes determines plant susceptibility to pathogens and toxins (Muller, 2011). We tested the hypothesis that the intensity of irradiance is an environmental factor that affects the properties of leaves cuticular waxes as well. In our study, the sun-adapted and shade-adapted leaves in tree crown of linden species (the native *Tilia cordata* Mill. and the alien *Tilia tomentosa* Moench.) were selected as the test objects. Discs with a diameter of 2 cm were taken from leaves, and the cuticular waxes were extracted with chloroform for 30 seconds, as was described by Buschhaus et al. (2007). Then, chloroform was removed with a rotary vacuum evaporator. The component composition of the cuticular waxes was investigated by gas chromatography method using GC Shimadzu 2010 PLUS equipped with a flame ionization detector. Chromatographic analysis has been conducted on the capillary column SP-2560 using nitrogen as a carrier gas. Programmed temperature gradient was set in the range of 100 – 230° C at a rate of 10° C per minute. Quantitative determination of the components of the waxes was carried out by the automatic integration of the peak areas in the chromatograms. The contents of the individual components of cuticular waxes were expressed as a percentage of the total amount.

It was established, that the quantitative and qualitative differences in composition of the waxes were attributable to both the species specificity and the placement of leaves in the canopy of trees. The waxes content in the extracts of light-adapted leaves was higher than content in the shaded leaves of both linden species (79 and 16%, respectively for *T. cordata* and *T. tomentosa*). In shaded leaves, short chain components constituted 59% of the total hydrocarbons of *T. tomentosa* cuticular waxes, whereas only 18% in the waxes of *T. cordata*. In the sunned leaves, short chain hydrocarbons were not detected in the waxes of *T. tomentosa*, while reached almost 3% in waxes of *T. cordata*. Long chain hydrocarbons prevailed in composition of the cuticular waxes of *T. cordata* shaded leaves (more than 80% of total), whereas covered 34% only in *T. tomentosa* shaded leaves. In the sun-adapted leaves, the content of the long chain components reached the maximum in the cuticular waxes of both species (93% and 91%, respectively for *T. tomentosa* and *T. cordata*). Hydrocarbons with very long-chain have been found in the waxes of sunned leaves only, and accounted for more than 3% in leaves of *T. tomentosa*, while slightly more than 1% in *T. cordata* leaves. Thus, adaptation to a high level of irradiance was accompanied by strengthening biosynthesis of cuticular waxes and a significant increase in the content of long-chain hydrocarbons in the leaves of both autochthonous and introduced linden species.

1. Buschhaus C., HerzH., Jetter R. Chemical Composition of the Epicuticular and Intracuticular Wax Layers on Adaxial Sides of *Rosa canina* Leaves // *Annals of Botany*. –2007. – V.100, № 6. – P.1557–1564.
2. Müller C, Riederer, M. Plant surface properties in chemical ecology // *Journal of Chemical Ecology*. – 2005. – V. 31, № 11. – P. 2621–2651.
3. Yeats, T.H, Rose, J.K. The formation and function of the plant cuticles // *Plant Physiology*. – 2013. – V. 163, № 1. – P. 15–20.

ALIMENTARY ESTROGEN EFFECT ON ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY IN DIFFERENT AGE ANIMALS ORGANS

T.Y.Lykholat, O. Lykholat
Oles Honchar' Dnipropetrovsk National University, Dnipro, Ukraine.
Lyktata89@ukr.net

In modern agriculture under intensive technologies of products cultivation for a significant increase in productivity technological regulations can disrupt and dangerous agronomic and veterinary drugs (hormonal growth promoters, antibiotics etc.) and pesticides are used. Many of these compounds by the action are similar to steroid hormones, particularly estrogen. Products containing such substances are extremely dangerous to human health because of steroid activity manifestation with the following carcinogenic effects, causes a disruption of puberty and reproductive capacity. Food is one of the main routes of estrogens exposure on the human from the environment (Arditsoglou & Voutsa, 2008). Hormones aren't completely destroyed at cooked products. Therefore, similar compounds naturally presenting in meat, milk, eggs, fruits and vegetables, and there are, at least sometimes, and in smaller doses. Steroid hormones are destroyed by heat processing less (Papaioannou et al., 2014). Male and female hormones are contained in meat (beef, pork, chicken), only female ones are in milk and eggs, fruits and vegetables include phytohormones, for example soy. Animal sex hormones are identical to human hormones. Getting into to the human body with food, hormones are perceived by them as their own (Brinkman et al., 2010).

The acetylcholine - acetylcholinesterase system is one of the main parts of the autonomic nervous system that involving other mediator and modulator processes performing the reactions of effector organs on central nervous impulses. The membrane acetylcholinesterase (AChE) activity is the parameter used to characterize of structural and functional changes in cells. The aim of the presented work was the study of cholinergic neurotransmitter system in the organs of experimental animals of different ages for exposure of alimentary synthetic estrogen.

In the brain of younger rats AChE activity was higher by 22 % compared to the control index. In the older group of experimental females the enzyme activation by 15 % was observed. When comparing enzyme index of 3-month and 6-month-old animals the activity increase by 5,3%. In blood serum and liver tissue inhibition of enzyme was determined. In pubertal animals the indicator was significantly different from the corresponding control. For mature females deviation of activity was less pronounced. For nutritional effect of estrogen reduced acetylcholinesterase activity were fixed in the serum and liver that could be caused by deterioration of liver synthesizing function and particular stagnation in the liver and kidneys. Enzyme activity was lower in pubertal females than in mature rats, indicating a lower efficiency of neurotransmitter transmission in the corresponding cholinergic neurons in rats from younger group. In the future, it can result in serious disturbances in the functioning of the body and trigger the emergence of new pathological states.

1. Arditsoglou A., Voutsa D. Determination of phenolic and steroid endocrine disrupting compounds in environmental matrices// Environ. Sci. Pollut. Res. Int. – 2008. – 15 (3). – P. 228 – 236.
2. Brinkman M.T., Baglietto L., Krishnan K. et al. Consumption of animal products, their nutrient components and postmenopausal circulating steroid hormone concentrations// Eur. J. Clin. Nutr. – 2010. – 64 (2). – 176 –183.
3. Papaioannou M.D., Koufaris C., Gooderham N.J. The cooked meat-derived mammary carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) elicits estrogenic-like microRNA responses in breast cancer cells // Toxicol. Lett. – 2014. – 17;229 (1). – P. 9 – 16.

МІКРОТРУБОЧКИ ЯК ПОТЕНЦІЙНА МІШЕНЬ ДІЇ ІОНІВ КАДМІЮ ТА НІКЕЛЮ

І.І. Горюнова, А.І. Ємець
Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», вул. Осиповського 2а, м. Київ, 04123, Україна
inna.horiunova.ukr@gmail.com

Цитоскелет – один з найбільш важливих компонентів рослинної клітини, що складається з взаємопов'язаних частин – мікротрубочок та актинових філаментів (мікрофіламентів). Мікротрубочки – це постійні високо динамічні складові цитоскелету рослинної клітини, що забезпечують ряд життєво важливих процесів клітини, таких як поділ і ріст, позиціювання органел, підтримування постійної форми та полярності клітин, мікрокомпартменталізація і внутрішньоклітинний транспорт (Ehrhard and Shaw, 2006). Відомо, що організація мікротрубочок дуже чутлива до дії різноманітних абіотичних та біотичнихфакторів. Досліджувані нами Ni^{2+} і Cd^{2+}, за найпоширеною хімічною класифікацією, належать до елементів з металічними властивостями й атомною масою понад 40-50 Да та густиною 4±1 г/см^3, а також проявляють широкий спектр токсичних властивостей. Проте, Ni^{2+}, як ультрамікроелемент, у рослин забезпечує біологічну активність деяких ферментів. Раніше було показано, Ni^{2+} і Cd^{2+} подібно до інших токсичних металів, впливають на ріст і морфогенез коренів проростків*Arabidopsisthaliana*, а також на організацію мікрофіламентів в клітинах їх коренів (Горюнова и др., 2014, 2016). Тому, вивчення їхньої дії на мікротрубочки, які також забезпечують ці процеси, і визначають актуальність нашого дослідження. Для дослідження впливу Ni^{2+} і Cd^{2+} на мікротрубочки рослинної клітини нами було використано лінію *A. thaliana*(GFP-MAP4), яка дозволяє прижиттєво візуалізувати мікротрубочки в клітинах коренів проростків цієї лінії. За допомогою лазерного скануючого конфокального мікроскопу LSM 5 PASCAL (CarlZeiss, Німеччина), було встановлено, що більш сильнішою токсичною дією володіють іони Ni^{2+}, в концентрації 5-20 мкМ, які впливають в більшій мірі на епідермальні клітини кореневого апексу, перехідної зони та зони розтягу, а також на клітини апікальної меристеми, що призводить до порушення росту та морфогенезу коренів рослин. Менш чутливими до дії Cd^{2+} виявилися мікротрубочки клітин кори зони розтягу і клітини зони диференціації, проте і в них спостерігалася незначна орієнтація мікротрубочок. У той час, чутливими до дії 5–20 мкМ Ni^{2+}, більшою мірою виявились мікротрубочки епідермальних клітин кореневого апексу, перехідної зони, меншою мірою – зони розтягу та клітини зони диференціації, при чому в меристематичних клітинах і клітинах кори зони розтягу сформувалися в основному типові за структурою мікротрубочки. Таким чином, найбільш чутливими до дії іонів Cd^{2+} виявились кортикальні мікротрубочки клітин апікальної меристеми та перехідної зони кореня, до дії Ni^{2+} – кортикальні мікротрубочкиклітин зони клітинних поділів та розтягу.Отже, нами вперше встановлено, що клітинними мішенями для дію іонів токсичних металів (Ni^{2+} і Cd^{2+}) виступають мікротрубочки в клітинах рослин.

1. Ehrhardt D.W., Shaw S.L. Microtubule dynamics and organization in the plant cortical array // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2006. – Vol.57. – P.859–875.
2. Горюнова И.И.,Красиленко Ю.А., Емец А.И., Блюм Я.Б. Влияние никеля на организацию актиновых филаментов в клетках корней *Arabidopsis thaliana*// Доп. НАН України . – 2016. - №2. – с. 109–116.
3. Горюнова И.И., Красиленко Ю.А., Заславский В.А., Емец А.И., Блюм Я.Б. Влияние кадмия на организацию актиновых филаментов в клетках корней *Arabidopsis thaliana* // Доп. НАН України. – 2014, №9. – с. 127-133

ІНДУКУВАННЯ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ СТІЙКОСТІ РОСЛИН ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ПРОТИ БІОТИЧНОГО СТРЕСУ

[1]І.В Жук ✉., [1] О.П. Дмитрієв, [2] Г.М. Лісова, [2] Л.О. Кучерова
[1]Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ Україна, 03680, вул.акад. Заболотного, 148, e-mail: ivzhukvi@gmail.com
[2]Інститут захисту рослин НААН України, Київ, Україна 03022, вул. Васильківська, 33, *mail_gl@ukr.net*

Органічне землеробство потребує нових біотехнологій та методів захисту рослин, які не тільки здатні захистити їх від ураження фітопатогенними грибами, знизити кількість обробок пестицидами, але й стимулювати ріст та розвиток рослин. Однією з нових біотехнологій є використання біотичних еліситорів, які розпізнаються рослинами, і стимулюють каскад захисних реакцій проти збудників хвороб. Внаслідок активації фітоімунного потенціалу за допомогою таких еліситорів підвищується неспецифічна стійкість рослин проти біотичних та абіотичних стресів (Дмитрієв та ін., 2015).

Одним з небезпечних патогенів рослин пшениці є гриб *Septoria tritici* Robet Desm., збудник септоріозу, який спричинює в залежності від погодних умов та толерантності рослин втрати врожаю від 10 до 50%. Розвиток гриба в інфікованих рослинах призводить до зменшення асиміляційної поверхні листків пшениці, що стає причиною порушень формування зерна.

Мета роботи – дослідити індукування стійкості рослин пшениці (*Triticum aestivum* L.) за допомогою обробки біотичними еліситорами. Об'єкт досліджень – сорт озимої м'якої пшениці *T. aestivum* – Поліська 90 вітчизняної селекції. У польових дослідах рослини пшениці обприскували 0,1 мМ розчином лимонної кислоти та 0,1 мМ розчином бурштинової кислоти у фазі виходу в трубку. На третю добу після обробки рослини інфікували спорами збудника септоріозу (10^6 /мл). Протягом вегетаційного періоду у прапорцевих листках визначали активність аскорбатпероксидази (АПО) (Nakano Y., Asada K, 1981). Оцінку ураження проводили за шкалою Саарі та Прескотта (Бабаянц О.В, Бабаянц Л.Т., 2014). Визначали також морфометричні параметри, а після дозрівання зерна проводили аналіз структури врожаю. Повторність досліду триразова. Результати обробляли статистично з використанням програмного пакету Microsoft Excel.

Одержані результати свідчать про підвищення рівня активності АПО у оброблених бурштиновою кислотою та інфікованих збудником септоріозу рослин озимої пшениці, що є наслідком активації антиоксидантної системи як важливої захисної реакції у боротьбі з розвитком патогену. Зростання активності АПО відзначено також у неінфікованих рослин, що може бути наслідком активації цим біотичним еліситором транскрипт-факторів, під контролем яких знаходиться синтез ферменту, та появою його нових молекулярних форм. У передоброблених лимонною кислотою та інфікованих спорами *S. tritici* рослин активність АПО підвищувалась менше. Однак обидва біотичні еліситори індукували стійкість рослин пшениці озимої проти біотичного стресу, стимулювали ріст листків та формування повноцінних зернівок, що в кінцевому підсумку підвищувало їх продуктивність.

1. Бабаянц О.В, Бабаянц Л.Т. Основы селекции и методологи оценки устойчивости пшеницы к возбудителям болезней // Одесса: ВМВ, 2014. – 401 с.
2. Дмитрієв О.П., Ковбасенко Р.В., Лапа С.В. Сигнальні системи рослин та формування стійкості рослин проти біотичного стресу. - Київ: Фенікс. - 2015. − 192 с.
3. Nakano Y., Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts // Plant Cell Physiol. - 1981. - V. 22 - P. 867-880.

ВПЛИВ УЛЬТРАФІОЛЕТУ В НА РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН ГОРОХУ

В.В.Жук
Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України,
вул. акад. Заболотного, 148, Київ, 03680, vzhukv@gmail.com

Ультрафіолет В (УФ-В), який досягає земної поверхні у високих дозах, здатен спричиняти деструктивну дію на рослини, тому дослідження його впливу на рослини залишається актуальною проблемою біологічної науки. Нами було встановлено, що опромінення рослин гороху ультрафіолетом С (УФ-С) у незначних дозах стабілізувало пігментний комплекс листків, стимулювало активність антиоксидантних ферментів (Міхєєв та ін., 2016). Однак кількість УФ-В, яка досягає поверхні рослин, значно перевищує УФ-С, що спонукало продовжити вивчення дії ультрафіолету на рослинний організм з використанням УФ-В.

Метою даної роботи було дослідження дії ультрафіолету В (УФ-В) на ріст рослин гороху у широкому діапазоні доз.

Рослини гороху (*Pisum sativum L.*) сорту Ароніс вирощували в умовах вегетаційного досліду в посудинах з ґрунтом за температури 25°С. У кожній посудині було 12 рослин. Режим освітлення складав 8 год темноти і 16 год світла інтенсивністю 2,2 кЛк. Опромінення рослин проводили у віці 10 діб. Джерелом УФ-В-випромінювання були лампи Philips special fluorescent lamp 35 W. Потужність опромінення УФ-В складала 6,0 Вт/м^2 на рівні верхніх листків, дози - 2, 4, 8 та 15 кДж/м^2. Повторність досліду 5-разова. Кожні п’ять діб після опромінення вимірювали довжину пагонів, в кінці вегетації визначали суху масу рослин. У період цвітіння вираховували кількість квіток, протягом періоду плодоношення – кількість стручків. Аналіз результатів досліджень проводили за допомогою ANOVA.

Показано, що після опромінення гороху у всіх дозах довжина пагонів зменшувалась, порівняно з контролем. Різниця у довжині пагонів контрольного та дослідних варіантів наприкінці досліду була найбільшою. Найзначніше затримувало ріст пагона опромінення гороху УФ-В у дозі 15 кДж/м^2. Суха маса рослин гороху значно знижувалась після опромінення рослин гороху у дозі 8 кДж/м^2. Однак підвищення дози опромінення до 15 кДж/м^2 зменшувало пригнічення наростання маси рослин. Після опромінення рослин гороху у дозі 2 кДж/м^2 кількість квіток у них суттєво зменшувалась. Однак після опромінення у дозі 4 кДж/м^2 кількість квіток у рослин гороху збільшувалась і перевищувала їх число у рослин контролю. Подальше зростання дози УФ-В зменшувало цвітіння рослин гороху. Після дії УФ-В у дозі 15 кДж/м^2 число квіток у дослідному варіанті зменшувалось до 40% від контролю. Кількість стручків у контрольному та дослідних варіантах відрізнялась менше. Зростання кількості стручків після опромінення рослин у дозі 4 кДж/м^2 було незначним і не перевищувало 10%. Подальше збільшення дози УФ-В призводило до зменшення кількості стручків, але за дії найвищої дози їх було більше 50%.

Таким чином, показано, що дія УФ-В на рослини гороху спричиняла затримку росту пагонів, маси рослин, кількості квіток та стручків, особливо у дозах 8-15 кДж/м^2, однак стимулювала у дозі 4 кДж/м^2.

1. Міхєєв О.М. Гормезисний вплив УФ-С опромінення на пігментний комплекс і антиоксидантні ферменти листків *Pisum sativum* L./ О.М. Міхєєв, В.В. Жук, Л.Г. Овсянникова, Д.М. Гродзинський // Доповіді НАН України. – 2016, № 11. – С. 99-111.

ОРГАНІЗАЦІЯ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТУ РОСЛИН-ПАРАЗИТІВ НА ПРИКЛАДІ ПОВИТИЦЬ (*CUSCUTA* SPP.)

Ю. Красиленко[1,2], Е. Пантеріс[3], П. Кастієр[4], М. Мартинчова[4], Й. Шамай[2], А. Блехова[4]
[1]Відділ клітинної біології та біотехнології, ДУ "Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України", вул. Осиповського 2а, 04123, Україна, y.krasylenko@gmail.com
[2]Відділ молекуляної та клітинної біології, Центр біотехнологічних та сільськогосподарських досліджень регіону Ханья, Шлехтітелу 27, Оломоуц, 783 71, Чеська Республіка
[3]Відділл ботаніки, Біологічна школа, Університет Арістотеля в Салоніках, 541 24, Салоніки, Греція
[4]Відділ фізіології рослин, Факультет природничих наук, Університет Коменіуса в Братиславі, Млинска долина, SK-84215, Братислава, Словаччина

Повитиці (*Cuscuta* spp., Convolvulaceae) є однією з найпоширеніших груп паразитичних рослин (близко 200 видів голо- та геміпаразитів), які наносять суттєву шкоду агропромисловості, оскільки знижують врожаї, отруйні для худоби та є вектором для вірусів рослин (Yoshida et al., 2014).). Згідно Weed Seeds Order Review (2014) повитиці належать до 1-го класу заборонених злісних бурянів, оскільки вражають широкий спектр господарів. Повитиці позбавлені справжніх коренів та котиледонів; їх проростки являють собою ниткоподібні гіпокотилі, здатні до настій та хемотропізму у пошуках господаря як основи для росту та джерел фотоассимілятів, поживних речовин та води (Kim et al. 2004). З провідними тканинами рослини-господаря повитиці сполучені за допомогою специфічного органу − гаусторії, яка необхідна для фіксації, живлення, обміну мРНК, etc..

Останнім часом у науковій літературі значну увагу приділяють вивченню клітинних механізмів паразитування рослин, проте відомості щодо залучення у взаємодію між рослиною-паразитом та рослиною-господарем компонентів цитоскелету обмежені. Рослинний цитоскелет є рушійною силою клітинних поділів та видовження, і, водночас, ефектором у взаємодії рослин з патогенами та симбіонтами (Takemoto and Hardham, 2004). Відомо, що його реорганізація важлива для приєднання патогенів та симбіонтів до рослини-господаря, реакції гіперчутливості та системної стійкості, що дозволяє припустити важливість цитоскелету для формування гаусторії рослин-паразитів. Нами було вперше вивчено організацію актинового цитоскелету в епідермальних клітинах апікальної меристеми гіпокотилів та коренеподібних структур за допомогою фармакологічних агентів іммуногістохімічних методів детекції. Так, вперше показано, що ріст проростків європейської (*C. europaea* L.) та східної (*C. monogyna* Vahl.) повитиць, а також морфологія їх коренеподібних структур є чутливими до препаратів, які порушують організацію актинових філаментів. Так, вирощування насіння повитиць протягом 7 діб на ½ MS середовищі з додаванням латрункуліну B (1 μM) та цитохалазіну Д (1 μM) спричиняє сповільнення видовження гіпокотилів, появу викривлених набряклих коренеподібних структур та аберантну організацію протоксилеми в них, що свідчить про важливість актинових філаментів для ранніх етапів морфогенезу повитиць. За допомогою родамін-фалоїдинового мічення за протоколом Panteris та ін. (2006) нами було виявлена сітка мікрофіламентів та індивідуальні тяжі F-актину в епідермальних клітинах апікальної меристеми і, що особливо важливо, у клітинах коренеподібних структур 2-3-денних проростків *C. monogyna*, оскільки у попередніх роботах було припущено відсутність актину в цих тимчасових структурах (Sherman et al., 2008).

Yoshida S. et al. Annu. Rev. Plant Biol. 2016. 67:643–67
Takemoto D., Hardham A.R. Plant Physiol. 2004. 136: 3864 –3876
Kim G. et al. 2014. Science 345. 808.
Panteris E. et al. Cell Motil Cytoskel. 2006: 1 –14 DOI: 10.1002/cm.20155
Sherman D. et al. 2008. Int. J. Plant Sci. 169(8):998–1012.

РОЛЬ ГЕНІВ *PPD* У ФОРМУВАННІ АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ДО ПОСУХИ ТА ВИСОКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕСУ

І. В. Лагута
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна
E-mail: terentyevairina13@mail.ru

Рівень адаптивності рослин до стресових факторів контролюється генотипом і проявляється в умовах інтенсивного впливу цих факторів. Низький рівень стійкості більшості сучасних сортів озимої пшениці до різних абіотичних стресових факторів стимулює розвиток напрямку селекції на підвищення адаптивності зернових культур (Литвиненко, 2001). М'яка пшениця (*Triticum aestivum L.*) – важлива сільськогосподарська культура, яка є вибагливою до температурних умов вирощування та вологозабезпечення. Рівень стрес-толерантності пшениці значною мірою залежить від того, на якому етапу розвитку рослини зазнають впливу конкретних погодно-кліматичних умов. Відомо, що у *Triticum aestivum* L. темпи розвитку та фотоперіодична чутливість детермінована системою генів *PPD* (photoperiod) (Kitagawa S., 2012) які можуть також відігравати важливу роль при адаптації пшениці до різних природно-кліматичних умов. Генетичні ефекти даної системи на ряд агрономічних ознак – структуру врожаю, продуктивність, білковість зерна досить добре вивчені (Файт та ін., 2007), однак, в літературі відсутні дані про дослідження впливу системи генів контролю темпів розвитку на ступінь адаптивного потенціалу *Triticum aestivum* L. Метою даної роботи було дослідження ролі генів *PPD* у формуванні ступеню посухо- та жаростійкості. В якості об’єктів дослідження були взяті моногенно домінантні майже ізогенні (NILs) за системою генів *PPD* лінії м’якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту *Mercia*: *PpdA1a, PpdB1a і PpdD1a* та чотири сорти озимої м’якої пшениці: *Альянс, Астет, Статна, Дорідна* селекції інституту рослинництва імені В.Я. Юр’єва НААН України. Рівень стійкості м'якої пшениці до посухи та високотемпературного стресу визначали декількома методами, створюючи стресові умови – експрес-аналіз за схожістю насіння, інгибування накопичення біомаси, гальмування ростової реакції, визначення температурного порога коагуляції білків (ТПКБ) та ін. За результатами дослідів встановлено, що всі ізолінії та сорти мають більшу стійкість до екстремально високих температур, ніж до посухи. При дослідженні впливу штучної посухи на схожість насіння було виявлено, що серед ізоліній по системі генів *PPD*, більш стійка ізолінії *PpdD1a,* а серед сортів Альянс та Астет. При вивченні впливу штучної посухи на ростові процеси було показано, що у ізолінії *Ppd A1a* реакція на стрес надземної та підземної частини виражена в меншому ступені, ніж в інших ізоліній. Всі ізолінії та сорти показали більш виражений ступінь жаростійкості за умов *in vivo*, ніж за умов *in vitro.* Таким чином, ізолінії пшениці, що характеризуються швидкими темпами розвитку і слабкою фоточутливістю (фотонейтральністю), виявляють вищу ступінь посухо- і жаростійкості.

1. Литвиненко М.А. Теоретичні основи та методи се, лекції озимої м’якої пшениці на підвищення адаптивного потенціалу для умов степу України : Автореф. дис. д-ра с.-г. наук. – Київ, 2001. – 46 с.
2. Файт В. И., Фёдорова В. Р. Влияние различий генов Ppd на агрономические признаки озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. – 2007. – № 6. – С. 26 – 33.
3. Kitagawa S., Shimada S., Murai K. Effect of Ppd-1 on the expression of flowering-time genes in vegetative and reproductive growth stages of wheat // Genes Genet Syst. – 2012. –Vol. 87. – P. 161-168.

СКРИНІНГ НОВИХ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ РОСЛИН ТОМАТІВ СЕРЕД НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ СПОЛУК – ПОХІДНИХ ПІРИМІДИНІВ

І. Могільнікова[1], В. Циганкова[2], В. Копіч[2], А. Ємець[1]
[1]Лабораторія клітинної біології та нанобіотехнології, Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, вул. Осиповського 2А,04123, Київ,Україна
[2]Відділ хімії біоактивних азотовмісних гетероциклічних основ, Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, вул. Мурманська, 1, 02660, Київ, Україна

Томати – це одна з найбільш цінних аграрних культур у світі завдяки своїм смаковим, харчовим та лікарським властивостям. За використання методів селекціїотримано різні сорти томатів з генетично поліпшеними комерційно важливими властивостями – підвищеною врожайністю та покращеною харчовою якістю продукції. На сьогодні аграрний сектор зазнає значну втрату врожаїв цієї культури через низку негативних чинників абіотичного характеру (глобальні кліматичні зміни, забрудненість грунтів промисловими відходами та хімічними засобами захисту рослин) та біотичного характеру (грибкові, вірусні та паразитарні організми). Тому, актуальним напрямком сільськогосподарської галузі є створення нових екологічно безпечних регуляторів росту для покращенняросту та розвитку рослин томатів, підвищення їх врожайності, поліпшення їх харчової якості, покращення їх адаптаційних властивостей до несприятливих умов зовнішнього середовища.Метою нашої роботи було дослідження у лабораторних умовах рістрегулюючої активності низькомолекулярних гетероциклічних сполук - похідних піримідинів, синтезованих вІнституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, на рослинах томату (*Solanum lycopersicumL.*) сортів«Лагідний» та «Мані мейкер»протягом вегетації. У процесі скринінгу відібрано найбільш біологічно активні сполуки, які виявили високу ріст стимулюючу активність, яка була подібна, або перевищувала активність фітогормонів ауксинів – ІОК та НОК. Зокрема, встановлено, що морфо-фізіологічні показники 30-добових проростків томату сорту «Лагідний» та «Мані Мейкер»,вирощених на водному розчині із сполукою№18-(Метансульфоніл)-2,6-дигідроімідазо[1,2-c]піримідин-5(3H)-он,використанійу концентрації 10^{-8}М,перевищували аналогічні показники рослин, вирощених на дистильованій воді (контроль) або на водному розчині з ауксинами ІОК та НОК, застосованих у аналогічній концентрації 10^{-8}М, відповідно в середньому:за всхожістю проростків - на 27%, 18% та 9% (для сорту «Лагідний») та на 12% і 19% (для сорту «Мані Мейкер»);за довжиною проростків - на 20%, 29% та 15% (для сорту «Лагідний»); за загальною кількістю коренів - на 4%, 5% та 18% (для сорту «Лагідний») та на 33% і 32% (для сорту «Мані Мейкер»); за загальною довжиною коренів – на 21% та 23% (для сорту «Мані Мейкер»).Морфо-фізіологічні показники 30-добових проростків томату сорту «Лагідний», вирощених на водному розчині із сполукою№2 9-(Метансульфоніл)-2,3,4,7-тетрагідро-6*H*-піримідо[1,6-*a*]піримідин-6-он, використаній у концентрації 10^{-8}М,перевищували аналогічні показники рослин, вирощених на дистильованій воді (контроль) або на водному розчині з ауксинами ІОК та НОК, застосованих у аналогічній концентрації 10^{-8}М, відповідно в середньому: за довжиною проростків –на17%, 26% та 13%; за загальною кількістю коренів - на 8%, 9% та 22%;за загальною довжиною коренів – на 6%, 8% та 7%.Морфо-фізіологічні показники 30-добових проростків томату сорту «Мані Мейкер», вирощених на водному розчині із сполукою№3 - 6-(2-Гідроксиетил)-8-метансульфоніл-2,6-дигідро-3*H*-імідазо [1,2-*c*]піримідин-5-он гідрохлорид, використаній у концентрації 10^{-8}М, перевищували аналогічні показники рослин, вирощених на дистильованій воді (контроль) або на водному розчині з ауксином ІОК, застосованому у аналогічній концентрації 10^{-8}М, відповідно в середньому: за схожістю проростків – на 33% та 32%; за загальною кількістю коренів – на32% та 31%;за загальною довжиною коренів – на 26% та 29%.

ОСОБЛИВОСТІ ПРОЦЕСУ КАЛЮСОГЕНЕЗУ В КУЛЬТУРІ *IN VITRO* РОСЛИН ЯЧМЕНЮ

Нестеренко Є.О., Ісаєнков С.В.
Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України
Yevheniya.nesterenko@gmail.com

Генетична трансформація рослин є методом, що дозволяє створювати рослини з новими та бажаними ознаками та властивостями, зокрема покращення стійкості рослин до стресів абіотичної та біотичної природи. Ячмінь є одною із наважливіших сільськогосподарських культур світу. Тому оптимізація методик трансформації та мультиплікації в культурі *in vitro* є важливим завданням. Для успішної трансформації рослин ячменю та мультиплікації рослин в культурі *in vitro* використовують калюсні культури. Таким чином метою нашої роботи була оптимізація калюсогенезу з експлантів ячменю сорту Південний.

Використання 2,4-дихлорфенооцтової кислоти (2,4-Д) є необхідним при культивуванні експлантів для формування калюсу (Raghavan, 2004). Однак у різних протоколах описані різні концентрації 2,4-Д, що залежить від виду рослини та типу експланта (стебло, листок, зародок і т.д.). Для подальшого виявлення ефективної концентрації 2,4-Д в нашому дослідженні було підібрано три різні концентрації цієї сполуки, що найчастіше застосовуються у протоколах культивування експлантів з метою отримання калюсу. Експланти були отримані зі стерильних зернівок ячменю сорту Південний та культивувались на середовищі Мурашіге-Скуга (МС) (Murashige & Skoog, 1962) у чашках Петрі при температурі 23˚С в умовах світлового дня 8/16. Для пом’якшення захисних оболонок насіння замочували у 75%-му розчині сірчаної кислоти, після чого ретельно промивали у проточній воді протягом 30 хв та обробляли 70%-м етиловим спиртом 1 хвилину. Стерилізацію насіння проводили у 5%-му розчині гіпохлориду натрію протягом 30 хв, потім відмивали стерильним дистилятом 4 рази по 10 хв (Танасієнко та інш., 2009). Експерименти проводили з трьома дослідними групами, що зазнавали дії 2,4-Д в різних концентраціях. Група 1 містила концентрація 1 мг 2,4-Д на літр середовища МС, група 2 – 2 мг/л 2,4-Д та група 3 – 3 мг/л 2,4-Д. Для кожної групи дослід проводили у трьох повторах. Частоту формування калюсу визначали як співвідношення кількості експлантів, що формували калюс, до загальної кількості посаджених експлантів.

У результаті проведених експериментів було виявлено, що середній відсоток калюсогенезу складав 19,2% у групі 1, у групі 2 – 38%, та 16,1% у групі 3. Отже, таким чином було встановлено, що оптимальна концентрація 2,4-Д для індукції калюсогенезу становить 2 мг/л.

1. Raghavan V. Role of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in somatic embryogenesis on cultured zygotic embryos of *Arabidopsis*: cell expansion, cell cycling, and morphogenesis during continuous exposure of embryos to 2,4-D // *American Journal of Botany* – 2004. – V. 91, №11. – P. 1743-1756.
2. Murashige T., Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures // *Physiologia plantarum* – 1962. – V. 15. – P. 473-497.
3. Танасиенко И.В., Емец А.И., Блюм Я.Б. Оценка эффективности каллусообразования и регенерации ярових сортов ячменя, районированых на территории Украины // *Цитология и генетика* – 2009. – Т. 43, №4. – С. 12-19.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДІВ ЗАХИСТУ РОСЛИН ВІД ФІТОПАТОГЕНІВ

А. Д. Паламарчук
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова
E-mail: anastasia.pdl.09@gmail.com

Фітопатогени, через біологічно активні речовин, що виділяються ними, викликають велику кількість хвороб рослин, в ході яких уражається коренева система, порушуються функції хлоропластів, надходження поживних речовин та ростові процеси клітин, а також відбувається загальна згубна дія на обмін речовин. Необхідною умовою досягнення максимальної ефективності при впровадженні прийомів захисту культур від шкідливих організмів і отримання високих врожаїв відмінної якості є повне дотримання агротехніки вирощування рослин, прийнятої для даної природно-кліматичної зони (Платонова Ю.В. та ін., 2004).

Хімічний захист рослин від фітопатогенів поки займає провідне місце в арсеналі заходів боротьби, особливо в системах інтенсивних технологій вирощування сільськогосподарських культур. Однак такі методи не є екологічно безпечними і повинні поєднуватися, а в перспективі і повністю замінитися, на біологічну стратегію фітозахисту.

В основі біологічного методу захисту рослин від фітопатогенів лежать природні явища понадпаразитизма і антибіоза (антагонізм, фунгістазис, супресивність), які регулюють взаємовідносини між сапрофітною, паразитною і патогенною мікробіотою (Токарев С.В., 2009). Найбільш значна роль антибіоза в ризоплані – зоні, що оточує коріння і кореневі волоски в межах до 100 мкм, що входить до складу ризосфери. Використання цих регуляторних механізмів спрямоване не на повне знищення популяції фітопатогена, а на суттєве обмеження її розвитку і значне зниження шкодочинності. Тому при здійсненні біологічного контролю найбільший практичний інтерес представляють мікроорганізми-антагоністи (особливо продуценти антибіотиків) і гіперпаразити (Sun Y. et al., 2012).

Використання різних біопрепаратів для контролю фітопатогенів є одним з перспективних методів біологічного захисту рослин від мікозів, бактеріозів, вірозов і фітонематод. У свою чергу, пошук високоефективних біоагентів повинен здійснюватися з урахуванням того, що основними природними ворогами фітопатогенних грибів є гриби-гіперпаразити і антагоністи, а також бактерії, актиноміцети і віруси (Фетисов Л.Н. та ін., 2006).

1. Платонова Ю.В., Сурин Н.А. География грибов рода *Fusarium* // Журнал «Фундаментальные исследования» – 2004. – № 4. – С. 95-99.
2. Токарев С.В. Особенности токсинообразования у гриба *Fusarium poae (peck) wollenweber*, распространенного в зернофураже // М.: Наука, 2009. – С. 20-24.
3. Фетисов Л.Н., Солдатенко Н.А., Русанов В.А. Микотоксины в кормах – одна из проблем современного животноводства // Успехи медицинской микологии – 2006. – Т. 7. – С. 215-219.
4. Sun Y., Zeng H.C., Peng M., Wang X.C., Yi X.P. Research advances on molecular pathogenic mechanism and control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* // Chin. J. Trop. Crops. – 2012. – V. 33. – P. 759–766.

КОМБІНОВАНА ДІЯ ХОЛОДУ ТА ДОНОРА ЧИ ПЕРЕХОПЛЮВАЧА NO НА ОРГАНІЗАЦІЮ АКТИНОВИХ ФІЛАМЕНТІВ У КЛІТИНАХ КОРЕНЯ *ARABIDOPSIS THALIANA*

С.Г. Плоховська, А.І. Ємець, Я.Б. Блюм
ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»
svetaplohovska@gmail.com

Низька температура є одним з важливих абіотичних чинників, що впливає на ріст та розвиток рослин, а також на полімерний склад компонентів цитоскелету, їх орієнтацію, організацію і взаємодію з різними внутрішньоклітинними структурами (Wasteneys et al., 2004; Penfield, 2008). У ряді робіт показано, що низька температура призводить до істотних змін організації мікротрубочок, зокрема до їх деполімеризації (Willin&Stromberg, 1995; Zhao, 2003). В останнє десятиліття велику увагу приділяють дослідженню оксид азоту (NO) – універсального вторинного посередника в клітинах еукаріотичних організмів. Окрім регуляції росту та диференціації NO є залученим до відповіді рослин на дію біотичних та абіотичних стресових факторів (Neil et al., 2008). Zhao із співавт. повідомляють, що холодова акліматизація викликана підвищенням синтезу ендогенного NO у дикого типу *A.thaliana* і в листках мутанта Atnoa1/rif1, в той час як рівень ендогенного NO nia1nia2 (NR – дифектний подвійний мутант) був нижчим, ніж у дикого типу. Холодова акліматизація стимулює діяльність NR і індукує регуляцію генів *NIA1*. Фармакологічні дослідження з використанням інгібітора NR, перехоплювача і донора NO показали, що рівень NO позитивно корелює із холодовим стресом. Тому, метою даної роботи було вивчення ролі NO та актинових філаментів у відповідь рослин на дію низької температури (+4°C). Експерименти проводили на 4-денних проростках лінії *A.thaliana* (L.) Heyh., що експресує химерний ген 35::GFP-ABD2-GFP, який дозволяє візуалізувати актинові філаменти в клітинах цієї лінії *in vivo* за допомогою конфокального лазерного скануючого мукроскопу LSM 510 META (Carl Zeiss, Німеччина). Як донор та перехоплювач NO використовували нітропрусид натрію і к-ФТІО, розчиненні у дистильованій воді безпосередньо перед початком експерименту в концентрації 100 мкМ. У результаті проведених досліджень було виявлено стимулюючий вплив донора NO нітропрусиду натрію (100 мкМ) на ріст коренів, що узгоджується зі змінами організації актинових філаментів у клітинах різних росткових зон кореня. Встановлено, що порушення організації актинового цитоскелету спричинене холодовим стресом відновлюється за допомогою екзогенного донора NO, що позитивно корелює відносно до охолодження. На противагу цьому, отриманні нами дані вперше демонструють негативний вплив комбінованої дії холоду та перехоплювача к-ФТІО (100 мкМ) на прижиттєву організацію актинових філаментів. Встановлено, що порушення організації мікрофіламентів збільшується при комбінованій дії, що супроводжується дезорганізацією та частковою деполімеризацією актинових філаментів, а в окремих клітинах вони взагалі не візуалізуються, що свідчить про їх руйнування і повну деполімеризацію. Таким чином, взаємозв'язок між низькою температурою, NO і мікрофіламентами вказує на залучення їх в єдиний сигнальний каскад.

1. Wasteneys G.O., Yang Z. New views on the plant cytoskeleton // Plant Physiol. – 2004. – V. 136. – P. 3884–389.

2. Penfield S. Temperature perception and signal transduction in plants // New Phytolog. – 2008. – Vol. 179. – P. 615–628.

3. Willin M., Stromberg E. Cold-stable and cold-adapted microtubules // Int. Rev. Cytol. – 1995. – V. 157. – P. 1–31.

4. Zhao J.-L., Li X.-L., Zhang H., Li Y. Chilling stability of microtubules in root-tip cell of cucumber // Plant Cell Rep. – 2003. – V. 22. – P. 32–37.

5. Neill S., Barroso R., Bright J. et al. Nitric oxide, stomatal closure, and abiotic stress // J. Exp. Bot. – 2008. – V. 59. – P. 165–176.

ВИЗНАЧЕННЯ МЕХАНІЗМІВ САЙТ-СПЕЦИФІЧНОГО ЗВ'ЯЗУВАННЯ РЕКОМБІНАНТНИХ БІЛКІВ РОСЛИН З САЛІЦИЛОВОЮ КИСЛОТОЮ ТА ЇЇ АНАЛОГАМИ

І.В. Покотило[1], Е. Руеланд[2], В.С. Кравець[1]
1. Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАНУ
2. Інститут екології та наук про навколишнє середовище Парижу
E-mail:pokotylo@bpci.kiev.ua

Саліцилова кислота (СК) є гормоном залученим у регуляцію низки стресових реакцій клітин рослин. Реалізація регуляторних функцій СК відбувається внаслідок зв'язування з рецепторними білками NPR1, NPR3 та NPR4. Окрім цього, було виявлено близько ста інших білків *Arabidopsis* здатних зв'язувати СК *in vitro* (Manohar et al., 2014).

Цікаво відзначити, що до сьогоднішнього часу не було кристалізовано комплекс зв'язування білок-СК та не було визначено особливості взаємодії СК з білками на рівні амінокислотної послідовності та їх трьохмірної структури.

Метою даного дослідження було визначення особливостей сайт-специфічного зв'язування СК з деякими рекомбінантними білками рослин *Arabidopsis.* Експресія рослинних білків здійснювалась у гетерологічній системі (*E. coli* BL21). Білки – A1-субодиниця глицеральдегид-3-фосфат-дегідрогенази; мала субодиниця 1A рибулозобісфосфаткарбоксілази/оксигенази; тіоредоксін M та NPR1 – було клоновано з використанням вектору pET100/D-TOPO (Invitrogen). У подальшому експресовані рекомбінантні білки очищались базуючись на здатності полігістидинової мітки (що присутня у їх структурі на N-кінці) взаємодіяти з атомами нікелю у складі афінної смоли з комплексом нікель–нітрилотриоцтової кислоти (ProBond™ Nickel-Chelating Resin)

У структурі білків визначались амінокислоти, що здатні відповідати за зв'язування з СК методами моделювання та докінгу. У подальшому в структуру білку, за допомогою ПЛР-спрямованого мутагенезу, вносилась точкова мутація з метою верифікації результатів моделювання.

Аналіз зв'язування білків з СК проводився за допомогою азидосаліцилової кислоти, що виявляє усі основні властивості саліцилової кислоти, однак також здатна формувати ковалентний зв'язок із аміногрупою білку після опромінення УФ (Manohar et al., 2014). Даний комплекс може успішно мігрувати у акриламідному гелі та бути перенесеним на нітроцелюлозну мембрану де може розпізнаватись специфічними антитілами.

У роботі встановлено оптимальні параметри індукції (температура, час, концентрація індуктора IPTG) та параметри афінного очищення рекомбінантних білків. Окрім цього за результатами попереднього моделювання проведено точковий мутагенез білку Rubisco із заміною амінокислоти у положенні 91 та попередній аналіз зв'язування мутованої та нативної форми білку з азидосаліциловою кислотою.

1. Manohar, M., Tian, M., Moreau, M., Park, S.-W., Choi, H.W., Fei, Z., Friso, G., Asif, M., Manosalva, P., von Dahl, C.C., Shi, K., Ma, S., Dinesh-Kumar, S.P., O'Doherty, I., Schroeder, F.C., van Wijk, K.J., and Klessig, D.F. Identification of multiple salicylic acid-binding proteins using two high throughput screens // *Frontiers in Plant Science* – 2014. – V. 5. - 777.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ РІЗНИХ УМОВ ТРОФІЧНОГО ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ПРОЦЕСИ ТА АЛЕЛЬНИЙ СТАН ГЕНУ VRN-A1 ВПРОРОСТКАХ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ УПРОДОВЖ ЯРОВИЗАЦІЇ

В.В. Шулік
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
E-mail: viktoria.shulik@karazin.ua

У рослин озимої пшениці перехід від вегетативної фази розвитку до генеративної є одним із найважливіших етапів онтогенезу і обумовлений тривалим впливом низьких температур – яровизацією. Для успішного проходження яровизації одними з найважливіших факторів є трофічні, зокрема вуглеводний обмін. Різні форми вуглеводів можуть виступати в якості сигнальних молекул або/і універсальних регуляторів експресії генів регуляції росту і флорального розвитку рослин (Koch, 2004).У пшениці м`якої *Triticum aestivum* L. виявлена система VRN (vernalization), яка контролює потребу в яровизації та визначає тип розвитку рослин (ярий або озимий) (Авксентьева и Шулик, 2015). Велике значення мають зміни в регуляторних районах гена *Vrn-A1*, який, ймовірно, відіграє основну роль у детермінації чутливості до яровизації та термінів колосіння (Trevaskis, 2010). Метою роботи було дослідження впливу різних умов трофічного забезпечення на фізіолого-біохімічні процеси та алельний стан гену *Vrn-A1* в проростках озимої пшениці упродовж яровизації. В роботі використовували насіння двох сортів озимої м’якої пшениці - Дорідна і Статна селекції інституту рослинництва імені В.Я. Юр’єва НААН України. Насіння розподіляли за трьома варіантами: 1- зародки з ендоспермом з додаванням води, 2 - зародки без ендосперму + вода, 3 - зародки без ендосперму + 3% розчин сахарози. Яровизацію проводили протягом 45 діб за температури 4°С. Для проведення молекулярно-генетичного, морфометричного та біохімічного аналізів використовували ці зразки на різних етапах яровизації - 15, 30, 45 діб. Результати дослідження показали, що рецесивний стан гену *vrn-A1* на 15, 30 и 45 добу залишався незмінним у всіх варіантах для двох досліджуваних сортів. Тобто мутацій, які усувають залежність переходу до генеративної фази від фактору та умов яровизації виявлено не було. При проведенні морфо метричного аналізу впливу різних умов трофічного забезпечення на ростову реакцію проростків було виявлено, що упродовж яровизації проростки сорту Дорідна у всіх варіантах досліду при меншій довжині мають більшу біомасу, ніж проростки сорту Статна. Варто зазначити, що варіанти без ендосперму з 3% розчином сахарози мають більшу біомасу та загальну довжину, ніж варіанти без ендосперму з водою у двох досліджуваних сортів. Також, сахароза детермінує нормальне співвідношення розвитку надземної та підземної частин проростків. Результати визначення вмісту розчинних редукуючи цукрів, показали, що на 30-у добу яровизації спостерігається динаміка зниження вмісту як моноцукрів, так і суми цукрів, а на 45-у добу ці показники збільшуються. Найнижчий показник вмісту вуглеводів був виявлений у варіантів двох сортів - зародки без ендосперму з водою протягом усіх етапів верналізації, а у варіанті - зародки + 3% розчин сахарози - вищий, і, в основному, статистично не відрізняється від контрольних варіантів. Таким чином, сахароза має безпосередній вплив на фізіологічно-біохімічні процеси рослин озимої пшениці, а також значення у підготовці до яровизації та успішного її протікання.

1.Авксентьева О.А. Шулик В.В., Жмурко В.В. Аллельные варианты генов VRN и темпы развития изогенных линий пшеницы // Фактори експериментальної еволюції організмів: Зб. наук.пр. - К.: Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавілова, 2015. - Т.17. - С.17-22.

2. Koch K. 2004. Sucrose metabolism: regulatory mechanism sand pivotal roles in sugar sensing and plant development // J. Current Opinionin Plant Biology. - 2004. - №7. - P.235-246.

3. Trevaskis B. Thecentralroleofthe VERNALIZATION1 gene in the vernalization response of cereals // Funct. Plant Biol. 2010, V.37. P.479–487.

ROLE OF BRASSINOSTEROIDS IN THE REGULATION OF PLANT METABOLISM UNDER ABIOTIC STRESS CONDITIONS

M.V.Derevyanchuk, R.P.Litvinovskaya,V.N.Zhabinskii,V.A.Khripach, V.S. Kravets
Institute of bioorganic chemistry and petrochemistry NAS of Ukraine
E-mail:derevmyk@ukr.net

The object of the investigation is brassinosteroids and induction of adaptation reactions in cell organelles of plants under salinity.

Brassinosteroids (BRs) are a novel class of phytohormones implicated as key components of many signal cascades that are involved in regulation of cell proliferation and differentiation, initiations of adaptive reactions of plant cell metabolism against abiotic and biotic stresses that are often accompanied by ROS production and oxidative stress.

We have investigated role of brassinosteroids in rapid activation of cell phospholipids signaling, facilitation of energy homeostasis in plants (activity of cytochrom and alternative respiratory pathways, synthesis of mitochondrial chaperones) and activation of antioxidant systems to prevent oxidative stress development. It was found that BRs activate formation of key lipid messengers - phosphatidic acid (PA) and diacylglycerol (DAG). Utilizing inhibitory approach with specific inhibitors for key enzymes involved in PA and DAG conversion (phosphatases of phosphatidic acid and diacylglycerol kinases) we found that BRs activated phosphatidylcholine-hydrolyzing phospholipases C and diacylglycerol kinases. PA level of mutant *bak1* plants was significantly decreased that indicates about receptor kinase BAK1 involvement in BR-induced activation of phospholipases. Using wild-type (WT) *Arabidopsis thaliana* plants and two transgenic lines – overexpressing alternative oxidase *AOX1a* (AOX1a-OE) and antisense *AOX1a* (AOX1a-AS) – it was observed that brassinosteroidsare involved in regulation of respiration in *A.thaliana* leaf, particularly alternative respiratory pathway, under salt stress conditions. This study demonstrates that BRs stimulate total respiration rate, alternative respiratory pathway, and shift capacity of alternative respiratory pathway comparing to cyanide-sensitive pathway. Lowering level of endogenous BRs with the specific inhibitor of BRs biosynthesis – brassinazole – caused the decrease of alternative respiratory pathway activity in WT plants and transgenic AOX1a-OE and AOX1a-AS lines.

We observed that salt stress and BRs induced *de novo* synthesis of a range of proteins in *Z. mays*plants after 12 hours of treatment. Based on experimental dataand bioinformatics analysis we suggest that BRs might induce synthesis of chaperones, particularly HSP22 and CPN60 that are involved in homeostasis of mitochondrial respiratory chain. BR-mediated induction of these mitochondrial chaperones could be a part of mechanism of the plant respiration regulation under abiotic stresses.

All these results point at valuable role of BRs in the regulation plant cell energy machinery in response to stress factor.

Publications are based on the research provided by the grant support of the State Fund For Fundamental Research (projectNF70-2017).

PHYTOHORMONAL EXOMETABOLITES OF *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* SUBSP. *PLANTARUM* IMV B-7524 STRAIN

G.Yu. Grabova, I.V.Dragovoz
Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Science of Ukraine

Multivector interactions with plants, mediated by antibiotic, phytohormonal compounds, vitamins, etc., are characteristic for PGPR. It is believed that the ability to synthesize phytohormones is one of the basic properties of rhizospheric, epiphytic, endophytic and symbiotic bacteria that stimulate plant growth and development. Among microorganisms this feature is characteristic of, first of all, the soil rhizospheric, epiphytic and bacteria–symbionts of genera *Azospirillum, Agrobacterium, Azotobacter, Alcaligenes, Enterobacter, Erwinia, Acetobacter, Rhizobium, Bradyrhizobium, Herbaspirillum, Pseudomonas, Bacillus, Xanthomonas*. Previously, we have isolated and identified strain *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMV B-7524 with high and medium levels of antagonistic activity against phytopathogenic bacteria and micromycetes. The nature of its antibiotic exometabolites have been investigated, and their multidirectional participation in plant protection has been shown. Also, it has been established that the culture fluid of the strain has growth-stimulating activity. In view of the above, the purpose of the work was to determine the nature of substances that cause this activity. We used microbiological, physicochemical and physiological methods.

Previously, we have shown the presence of substances with phytostimulating activity in the culture fluid. However, the roll–culture method, which was used, allows neither to identify them nor to determine their number and value. Therefore, using specific bioassay on coleoptiles of wheat, cotyledonous leaves and hypocotyls of cucumber, it has been established that in the supernatant of culture fluid of strain IMV B-7524 there were substances with auxinic, cytokinin and gibberellic activities. The next step was the qualitative and quantitative analysis of the substances. It has been established that the investigated strain of bacilli synthesizes a relatively small total number of auxins (42 μg / g ADB), including physiologically active IAA (32,3% of the total pool of auxins). The total level of cytokinin synthesis was slightly higher, compared to that of auxins (70,5 μg / g ADB). In the pool of cytokinin compounds no transport form of cytokinin – zeatinriboside has been found. More than 50% of the total pool was izopentenyl-adenine, which is characterized by high physiological activity. It has been established that the strain is able to synthesize also an insignificant amount of abscisic acid (7,85 μg / g ADB) that belongs to stress phytohormones with inhibitory activity. Also, it has been shown that among the exometabolites with phytohormonal nature of strain IMV B-7524 there are gibberellic acids, in particular GA_3, in a significant amount (341,9 μg / g ADB), which play an important role in the regulation of plant ontogenesis.

Thus, we have investigated the qualitative and quantitative composition of exometabolites that cause the phytostimulating activity of strain *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* IMV B-7524. It has been shown that the strain synthesizes compounds which belong to 3 classes of hormones–stimulants (auxins, cytokinins and gibberellins) and a hormone–inhibitor abscisic acid. The level of synthesis and the range of phytohormonal compounds synthesized by the investigated strain may confirm their role in the manifestation of multivector biological activity of the bacteria at formation of effective relationship with a plant. They can affect the growth and development of plants at certain stages of ontogenesis, increase the resistance to abiotic stresses, including high and low temperatures, droughts, salinization, etc., and play a certain regulatory role in the protection of plants against phytopathogenic bacteria and micromicetes.

PHOSPHATIDIC ACID ORIGINATING FROM PHOSPHATIDYLINOSITOL-DEPENDENT PHOSPHOLIPASE C MEDIATES ROS PRODUCTION IN ARABIDOPSIS SUSPENSION CELLS IN RESPONSE TO FLAGELLIN

Kalachova Tetiana[1,2], Luis Leitao[2], Gilles Carpentier[3], Volodymyr Kravets[1], Eric Ruelland[2]

[1] Institute of bioorganic chemistry and petrochemistry NAS of Ukraine
[2] Institut d'écologie et des sciences de l'environnement de Paris
[3] Laboratoire de Croissance, Réparation et Régénération Tissulaires, Université Paris Est Créteil Val de Marne
kalachova@bpci.kiev.ua

The production of reactive oxygen species (ROS) is a universal defence reaction of plant cells to pathogen attack. It appears within the first few minutes of interaction between cell receptors and elicitor molecules and induces a number of downstream reactions. Flagellin is a classical bacterial effector, recognized by a plasma membrane receptor complex FLS2-BAK1 in Araabidopsis. This recognition is followed by a cascade of protein phosphorylation events, ROS production via NADPH-oxidase and further hormonal signaling activation and transcriptome remodeling. Secondary messengers of lipid origin like phosphatidic acid (PA) and phosphatidylinositols have been reported to participate in plant immunity at different levels; however their role in primary reactions is currently unclear.

We analysed phospholipid turnover in Arabidopsis cell suspensions after flg22 treatment using ^{33}P radioactive labelling followed by thin-layer chromatography. Flg22 caused a rapid transient decrease in phosphatidylinositol-4,5-biphosphate levels and a corresponding parallel increase in phosphatidic acid (PA) levels. With differential labelling approach and specific lipid signalling inhibitors (U73122, R59022, wortmannin and edelfosine) we found the major role of phosphatidylinositol-dependent phospholipase C (PI-PLC) and diacylglycerol kinase (DGK) in observed PA formation. ROS formation and intracellular localization were studied by confocal microscopy with fluorescent probe H2DCF-DA and validated by luminol-peroxidase based assay. A significant increase of fluorescence was detected in plasma membrane zones of elicited cells, while the fluorescence associated with chloroplasts remained stable. Total level and dynamics of ROS production after flagellin were affected in presence of lipid-signalling-pathway inhibitors.

Thus, we assume PI-PLC and DGK to be placed upstream of NADPH-oxidase dependent ROS production in the early responses to flagellin in *Arabidopsis* suspension cells.

ACETYLATION OF A-TUBULIN AS A CRUCIAL MODIFICATION FOR AUTOPHAGY DEVELOPMENT INDUCED BY ABIOTIC STIMULI

Olenieva V., Lytvyn D., Blume Ya.B.
Institute of Food Biotechnology and Genomics, Kiev, Ukraine
Vera_oleneva@ukr.net

Introduction. Plant autophagy is involved in a wide range of cellular recirculation processes both at normal physiological conditions and as during adaptive responses to variety of external factors. Numeral abiotic stressful stimuli such as oxidative-, salt-, and drought stresses as well as a lack of nutrients lead to the development of autophagic scenario. Mechanisms of autophagy development are still poorly understood in plant cell. In yeasts and animal cells microtubules (MTs) provide processes of maturation and traffic of autophagosomes via their dynamic state changes and tubulin post-translational modifications, acetylation in particular. The main objective of this research was to investigate the functional role of α-tubulin acetylation during the development of plant autophagy, induced by different abiotic stimuli. **Materials and methods.** For real-time investigation of autophagy development in plant cell, *Arabidopsis thaliana* line stably expressing Atg8h-eGFP fusion protein was generated. It was obtained by floral dip transformation of wild type plants by pH7FWG2-based construct containing 35S promoter and T35S terminator that bound *atg8h* and *egfp* reading frame. 7-day old *Arabidopsis thaliana* seedlings were subjected to metabolic- (sucrose-free medium), osmotic- (10 mM mannitol) and salt- (150 mM NaCl) stresses, as well as ultraviolet B irradiation (41 $kJ*m^{-2}$). Autophagy development was examined by fluorescent microscopy (staining with specific dye for autophagosomes monodansylcadaverine (MDC)) and Western blotting analysis, using monoclonal anti-acetylated α-tubulin and monoclonal anti-tubulin TU-16 antibodies. Additional sample stressful treatments combined with specific cysteine inhibitor E-64 preventing autophagy development as well as antiMT drugs taxol and nocodazole was performed. **Results.** Investigation of Atg8-GFP revealed notable tissue-spesific autophagosomes distribution under stress-induced autophagy development in *Arabidopsis thaliana*. In general, different root and above-ground tissues of untreated plants were characterized by stable expression of Atg8h-eGFP that was diffuse and had no evident signs of co-localization with vesicular cellular structures. The development of autophagy as a mass cellular event was detected in root cells at 7th cultivation day and was characterized by an appearance of structures with size range of 1-30 μm containing Atg8h-eGFP. These structures were localized mainly in root cap, epidermal, pericycle and vascular cells. Moreover, staining with MDC revealed an explicit co-localization of MDC-stained and GFP-containing cellular structures that gives an additional proof of autophagic flow under described experimental conditions. Using Western-blot analysis it was found that processing of Atg8, implying lipidation with phosphatidylethanolamine had occurred under all stressful treatments. This modification allows Atg8 to localize to the expanding phagophore, permitting the formation of autophagosome. Hence, received data denote an induction and development of stress-induced autophagy. Moreover, it was shown, that all examined stressful stimuli led to significant increase of α-tubulin acetylation level, emphasizing an important role of mentioned modification in plant autophagy development. It makes possible to suggest an existing of similar regulatory mechanisms of MTs mediated autophagy discovered in animals. It also should be mentioned, that synergistic action of stressful factors and E-64 was realized in decreased cell viability that confirms the survival role of autophagy under abiotic stress influences. In addition, pretreatment of plants with taxol and nocodazole revealed the same effect as E-64 pretreatment, confirming the involvement of MTs cytoskeleton to intracellular traffic of autophagosomes. Presented data assume the involvement of MTs cytoskeleton in realization of autophagy as an adaptive process and indicate the role of the post-translational acetylation of α-tubulin in the mediation of plant stress-induced autophagy.

REVEALING THE BINDING MODES OF PYRAZOLONE, TRIKETONE AND DIKETONITRILE HERBICIDES TARGETING 4-HYDROXYPHENYLPYRUVATE DIOXYGENASE *IN SILICO*

S.E.Vakal [1], E.A.Virag [2], J.Taller [2]
[1] ESC 'Institute of Biology and Medicine', Taras Shevchenko National University of Kyiv
[2] Department of Plant Science and Biotechnology, Georgikon Faculty, University of Pannonia (Hungary)
sergii.vakal@univ.kiev.ua

Introduction. Herbicides targeting 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD) belong to the so called 'bleaching' herbicide group. They act through restriction of the plant's ability to produce vitamin E and carotenoids, thus making the cellular membranes and photosynthetic apparatus susceptible to oxidative stress. Although there are a dozen of widely used HPPD-targeting herbicides nowadays, the structural details of action mechanism were revealed only for two of them – sulcotrione and NTBC. *In silico* molecular modeling is a powerful and modern approach that allows researchers to enquiry into the atomistic details of molecular events.

Thus, the **purpose** of this research was to reveal the binding modes of all available pyrazolone, triketone and diketonitrile herbicides targeting plant HPPD *in silico*.

Materials & Methods. Experimentally solved 3D model of *A. thaliana* HPPD was downloaded from the PDB ('5dhw'). The 2D structures of the pyrazolate, pyrazoxyfen, benzofenap, isoxaflutole, benzobicyclon, mesotrione, sulcotrione, topramezone, tembotrione and pyrasulfotole were downloaded from PubChem and converted to 3D in Avogadro. Preparation of the protein and ligands for docking was performed with AutoDock Tools. AutoDock Vina was used as a molecular docking tool. Validation re-docking was performed with '5dhw' model from PDB (ligand: sulcotrione) in four different modes: 1) fully rigid protein + flexible ligand; 2) rigid protein with flexible binding site + flexible ligand; 3) rigid protein with energy minimized rigid binding site + energy-minimized flexible ligand; 4) rigid protein with energy-minimized flexible binding site + energy-minimized flexible ligand. The protocols 1-3 were successful in prediction of the crystallographic binding pose. The protocol 3 (with exhaustiveness 128) was selected for the prediction of binding modes of the selected herbicides. In the case of the large difference between poses in top-3, two of three most close poses (usually, 1+2 or 1+3) were selected and averaged in Chimera. Post-docking analyses and visualization of the complexes were carried out in Chimera and Discovery Studio Visualizer.

Results. A validation step showed that AutoDock Vina is able to predict and correctly rank (in top-3) the crystallographic pose of *A. thaliana* HPPD ligand. The affinity for top-3 poses (T3A) varied from -7.5 to -8.7 kcal/mol. The studied herbicides were found to interact with the following HPPD residues: benzobicyclon: V228 (or F392, N423, L427), Q307, F381, F424 (T3A = -9.2…-7.7); benzofenap: V228, L265, V269, P280, N282, Q293, I294, Q307, H308 (or F419), M335, L368, F381, F392, F424, L427 (T3A = -8.8…-8.5); isoxaflutole: H226, V228, L265, P280, H308, L368, Q379 (or F392), F419, N423 (or F424) (T3A = -8.9…-8.7); mesotrione: Q307, H308, F381, F424 (T3A = -8.1…-7.9); pyrasulfotole: S267 (or N282), Q307, H308, Q379 (or N423), F381 (or L427), F424 (T3A = -8.1…-7.6); pyrazolate: (T3A = -8.4…-8.1); pyrazoxyfen: V228, Q307, H308 (or P280), M335, L368, F381, F392 (or F424), L427 (T3A = -8.9…-8.7); sulcotrione: H308, F381, F392, F424 (re-docking; T3A = -8.2…-8.0); tembotrione: L265, S267, Q307, G420, N423, F424, L427 (T3A = -8.9…-8.6); topramezone: V228, L265, S267, P280, N282 (or F381), Q307, F381, F424 (T3A = -8.5…-8.1). On the next step, mutations of the discovered residues that dramatically decrease the binding affinity will be predicted in order to understand the exact mechanisms of resistance to HPPD-targeting herbicides. Calculated binding poses will later be integrated and used to construct the pharmacophore model of the HPPD binding site. These data can be further used in the design of novel resistance-tolerant HPPD-targeting low-molecular compounds.

СПОРІДНЕНІСТЬ ЛІНІЙ КУКУРУДЗИ ЗАРОДКОВОЇ ПЛАЗМИ ЛАНКАСТЕР ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ SNP-АНАЛІЗУ

К.В. Деркач, В.В. Борисова, Т.М. Сатарова
ДУ Інститут зернових культур НААН України
E-mail: katerina-d-d@yandex.ua

Сучасний поділ генотипів у кукурудзи на зародкові плазми ґрунтується не тільки на даних реєстрації родоводів, гібридологічного аналізу, фенотипічних спостережень, а і на використанні ДНК-технологій. Для визначення спорідненості генотипів між собою широко використовують маркери однонуклеотидного поліморфізму ДНК (SNP-маркери), що полегшує ведення селекції кукурудзи за визначеними гетерозисними моделями.

Метою нашої роботи було виявлення рівня спорідненості за алельним станом SNP-маркерів перспективних в селекційному відношенні ліній кукурудзи зародкової плазми Ланкастер української селекції і типових ліній даної плазми.

Матеріалом дослідження виступали нові елітні лінії кукурудзи, створені в зоні Північного Степу Україні (м. Дніпро), а саме: ДК633, ДК267МВ, ДК212МВ, ДК680МВ, ДК633/266МВ, ДК298зСзМ, ДК3070МВ, ДК236СВ, ДК633325МВ, ДК296МВ, ДК1129, ДК2668, ДК3023зСзМ, ДК3626, ДК6342, ДК2965зСзМ, ДК4263, ДКД9053, ДКВ3451, ДК8143, ДК517МВ, ДК534зСзМ, ДК117зСМВ, ДК231зС, ДК6337зСзМ, ДК2953зСзМ, ДК366М та ДК3044, які ведуть своє походження від вихідних популяцій, до яких були залучені генотипи даної плазми. Алельний стан SNP-маркерів перелічених ліній порівнювали з алельним станом відповідних SNP-маркерів ліній Oh43 та Mo17 – відомих типових представників двох основних підгруп плазми Ланкастер. В роботі використана розроблена фірмою BioDiagnostics, Inc. (США) на основі Illumina VeraCode Bead Plate панель BDI-III з 384 SNP-маркерами. SNP-маркери панелі BDI-III є біалельними, розташовуються на всіх 10 хромосомах і мають ранг конструктивності >0,6 (Venkatramana et al., 2012). SNP-аналіз виконувався в повністю автоматизованому режимі на обладнанні Illumina BeadStation.

Для досліджених ліній кукурудзи плазми Ланкастер 90,9±3,4% використаних SNP-маркерів виявились інформативними. Індекс інформативності маркерів (PIC) мав середнє значення 0,242. Спорідненість досліджених ліній плазми Ланкастер української селекції з типовими представниками цієї плазми при порівнянні алельного стану SNP-маркерів коливалася у межах 52,2-89,7% для лінії Mo17 та 48,2-66,8% для лінії Oh43. Таким чином, як мінімум близько половини проаналізованих маркерів однонуклеотидного поліморфізму у геномі ліній української селекції та типових представників плазми Ланкастер мають однаковий алельний стан, а інша частка відрізняється від як такої у типових представників даної плазми і може розглядатися як результат селекції, яка відбувалася вже в умовах Північного Степу Україні. Можна припустити, що виявлені відмінності виникли в результаті багатьох циклів гібридизації, відборів та залучення до селекційних схем неспорідненого з плазмою Ланкастер вихідного матеріалу. Оскільки сучасні лінії української селекції створені на базі популяцій різної складності із залученням в тому числі компонентів, які не відносяться до підгруп плазми Ланкастер Mo17 та Oh43, оцінка ступеня їх спорідненості з предковими формами і між собою не тільки за фенотипом, але і за алельним станом SNP-маркерів дозволить обрати доцільну стратегію підбору батьківських пар для створення високогетерозисних гібридів кукурудзи.

1.Venkatramana P. Carison C., Blackstad M. et al. Development and characterization of single nucleotide polymorphism (SNP) panel for markers-assisted backcrossing in corn // Seed Technol. – 2012. – V.32, N2. – P.153.

РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНА НЕСТАБІЛЬНІСТЬ САТЕЛІТНОЇ ДНК ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН, ВИРОЩЕНИХ З ОПРОМІНЕНОГО НАСІННЯ

С. В. Літвінов, Ю.В. Шиліна, С.А. Пчеловська, А.М. Берестяна, Д.О. Соколова, В.В. Жук, Л.В. Тонкаль, А.Г. Салівон, О.Г. Нестеренко
Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України
slitvinov83@gmail.com

Протягом двох років наш колектив здійснює пошук шляхів підвищення фармакологічної продуктивності низки лікарських рослин з використанням передпосівного опромінення насіннєвого матеріалу (Grodzinsky et al., 2016). Важливим завданням роботи є пошук простих молекулярних маркерів, за якими можна було б попередньо оцінити інтервал стимулюючих доз іонізуючого опромінення. Відомо, що радіобіологічні реакції рослин часто супроводжуються генетичними та епігенетичними змінами у сателітній ДНК. В зв'язку з цим для вивчення молекулярних ефектів опромінення ми використали метод ISSR-ампліфікації ДНК-послідовностей між двома короткими інвертованими мікросателітними повторами (Sokolova et al., 2013). Нативну ДНК розщеплювали за допомогою сайт-специфічної ендонуклеази рестрикції HpaII, яка розщеплює ДНК у CCGG-сайтах з неметильованим цитозином. Після ISSR-ампліфікації та електрофорезу фрагментів в агарозному гелі отримували набір (патерн) ДНК-послідовностей різної молекулярної маси, який характеризує розташування, копійність та статус метилування сателітної ДНК, яка містить інвертовані мікросателітні повтори. Патерни рестрикційних фрагментів ДНК рослин при дозах опромінення насіння в інтервалі 5-50 Гр значуще відрізнялися від контрольних. Найбільші відмінності (поява або зникнення фрагментів певної довжини) спостерігались для варіантів рослин, вирощених з насіння, яке було опромінене в дозах, що стимулювали накопичення біомаси надземної частини, цвітіння, підвищення виходу флавоноїдів з одиниці сухої маси лікарської сировини. Спостережувані відмінності свідчать про деметилування цитозину CpG-острівців або/і переміщення мікросателітів у геномі. Зміни у патернах HpaII-рестрикції- ISSR-ампліфікації лише частково відтворюються при опроміненні насіння тією самою дозою радіації. Вказані особливості дають підстави стверджувати, що зміни у патернах рестрикції – ампліфікації сателітної ДНК є наслідком радіаційно індукованої стохастичної нестабільності мікросателітів, яка призводить до спадкових змін у геномі дочірніх (неопромінених) клітин. Таким чином, в клітинах рослин, вирощених з опроміненого насіння, має місце радіаційно-індукована мікросателітна нестабільність (РІМН). РІМН можна розглядати як прояв радіаційно-індукованої нестабільності геному (РІНГ) та як один з маркерів стимулюючої дії іонізуючого опромінення. Можливо, що РІМН пов'язана з базовим молекулярним рівнем адаптивної відповіді клітин на дію радіаційного чинника.

1. Grodzinsky D., Shylina Yu., Pchelovska S., Litvinon S., Sokolova D., Zhuk V., Tonkal L., Salivon A., Nesterenko O. The effect of acute X-ray irradiation of medicinal plant seeds on the secondary metabolite productivity. // International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research (4th ; 2016 ; Niš) Book of Abstracts (RAD 4, May 23-27, 2016, Niš, Serbia). - Niš: University, Faculty of Electronic Engineering, 2016. – P. 214

2. Sokolova D., Vengzhen G., Kravets A. An Analysis of the Correlation between the Changes in Satellite DNA Methylation Patterns and Plant Cell Responses to the Stress // CellBio. – 2013. – **2**. – P. 163 – 171.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ R-ГЕНІВ СТІЙКОСТІ ДО ФІТОФТОРОЗУ ЗА ДОПОМОГОЮ ДНК-МАРКЕРІВ

Т.К.Місяць[2], Т.М.Олійник[2], Л.А.Пилипенко[1]
[2] Інститут картоплярства НААН України
[1] Відділ землеробства, механізації та меліорації НААН України
E-mail: mesyac.tatyana@mail.ru

Фітофтороз картоплі є поширеним захворюванням та причиною втрати до 16% врожаю щорічно у всьому світі. Ефективна та екологічно безпечна стратегія боротьби з цим захворюванням – створення генетично стійких сортів картоплі. Залучення у традиційну селекцію новітніх ДНК-технологій, а саме ідентифікація генів стійкості за допомогою молекулярно-генетичних маркерів дозволить швидко добирати генотипи і полегшить створення нових стійких сортів картоплі.(Рогозина, 2011)

В наших дослідженнях вивчали наявність у відібраних зразках 6 генів горизонтальної стійкості до фітофторозу: *R1, R2, R3a* (вперше виявлені у виду *S. demissum*) та *RB/Rpi-blb1, Rpi-blb2, Rpi-blb3* (вперше виявлені у виду *S. bulbocastanum*). Роботу проводили на базі Республіканського унітарного підприємства «Науково-практичний центр НАН Білорусії з картоплярства та плодоовочівництва».

Використовували праймери: для гену *R1* - праймер R1-1205 довжиною 1205 п.н. (Sokolova E. et al., 2011); для гену *R2* - праймер R2-2500 довжиною 2500 п.н. (Kim H.-J. et al., 2012); для гену *R3a* - праймер R3a-1380 довжиною 1380 п.н. (Sokolova E. et al., 2011); для гену *RB/Rpi-blb1* - праймер Blb1-820 довжиною 820 п.н. (Wang et al. 2008); для гену *Rpi-blb2* - праймер Blb2 довжиною 715 п.н. (Wang et al. 2008); для гену *Rpi-blb3* - праймер Blb3 довжиною 618 п.н. (Wang et al. 2008)

В результаті досліджень виявлено, що 15 зразків мають у своєму генотипі ген *R1,* 22 зразка мають ген *R2* і 13 зразків мають ген *R3a*. Гени *Rpi-blb2* та *Rpi-blb3* не були присутні у жодному із зразків. Дані з дослідження наявності гену *RB/Rpi-blb1* не були достатньо чіткими та потребують подальшого дослідження. Отримані дані порівнювали з показниками стійкості за листям, вираженим в балах. Для перевірки гіпотези про зв'язок певного R-гену з підвищеною стійкістю до фітофторозу використовували параметричні методи статистичного аналізу. Порівнювали показники стійкості серед груп з різним генотипом за допомогою t-критерія Стьюдента. В результаті статистичного аналізу виявлено, що наявність певного R-гену не впливає на стійкість зразка до фітофторозу. Такий результат може бути пов'язаний з тим, що майже всі зразки мають відносно високий бал стійкості до фітофторозу, а тому різниця між групами зразків, що мають в своєму генотипі певний R-ген та групами, у яких цих генів не виявлено, не є достовірною.

1. Kim H.-J. et al. Broad spectrum late blight resistance in potato differential set plants Ma*R8* and Ma*R9* is conferred by multiple stacked *R* genes // *Theor. Appl. Genet.* – 2012. - V.124. – P.923-935
2. Sokolova E. et al. SCAR markers of the *R*-genes and germplasm of wild *Solanum* species for breeding late blight-resistant potato cultivars // *Plant Genet. Resources*. – 2011. – V.9. – P.309-312.
3. Wang M., et al. Allele mining in *Solanum*: conserved homologues of *Rpi-blb1* are identifed in *Solanum stoloniferum* // *Theor. Appl. Genet.* – 2008. – V.116. – P.933-943.
4. Рогозина Е.В. Молекулярно-генетические взаимодействия в системе «патоген-хозяин» при фитофторозе картофеля и современные стратегии селекции // *Сельскохозяйственная биология.* – 2011. - №5. – С.17-30.

АНАЛІЗ ПОЛІМОРФІЗМУ ДОВЖИН ІНТРОНІВ ГЕНІВ АКТИНУ У ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *LINUM* L.

А.С. Постовойтова[1], О.Ю. Йотка[2], Я.В. Пірко[1], Я.Б. Блюм[1]
[1]***Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, Україна, 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2а, тел/факс: (044) 434-37-77***
E-mail: nastya.postovoytova@gmail.com
[2]***Інститут луб'яних культур НААН України,Україна, 41400, м. Глухів Сумської обл., вул. Терещенків, 45***

Аналіз поліморфізму довжин інтронів різноманітних генів (ILP, intron length polymorphism) – один з найбільш перспективних підходів щодо оцінки генетичної різноманітності та філогенетичних зв'язків різних таксонів рослин. Доведено, що в інтронах, порівняно з екзонами, відбувається переважна більшість генних мутацій, і саме тому вони належать до гіперваріабельних ділянок генів. Зважаючи на цей факт, в основі підходу лежить оцінка кількісної та якісної різниці між інтронами (Wang X. et al., 2005). Льон, зокрема льон-довгунець (*Linum usitatissimum* L.), – цінна сільськогосподарська культура України, яка потребує ефективних методів фінгерпринт-аналізу під час генетико-селекційних досліджень. Тому розроблення та впровадження молекулярно-генетичних маркерів, заснованих на аналізі мінливості довжин інтронів різноманітних генів, для генотипування та оцінення міжвидового і міжсортового поліморфізму представників роду *Linum*, є актуальним напрямком досліджень.

Поліморфізм інтронів генів актину льна аналізували у 15 сортів льону-довгунця української селекції, 12 сортів білоруської селекції, а також видів *L. bienne* та *L. angustifolium*. Полімеразну ланцюгову реакцію проводили з власноруч розробленими виродженими праймерами, які забезпечують ампліфікацію II-го інтрону генів актину льону. Розділення фрагментів, що утворилися під час ампліфікації, здійснювали за допомогою електрофорезу в 6 % неденатуруючому поліакриламідному гелі з подальшим забарвленням їх нітратом срібла (Rahman M.H. et al., 2000).

В результаті аналізу 27 сортів льону-довгунця української і білоруської селекції та двох різних видів льону було показано, що кожен зразок представлений мінімум 10 ампліконами, що варіювали в межах від 700 п. н. до 1200 п. н. Загалом проаналізовані сорти льону-довгунця містили поліморфні фрагменти в діапазоні від 800 п. н. до 900 п. н., що дало можливість диференціювати їх між собою. Усі інші амплікони виявилися ідентичними для всіх проаналізованих зразків. Варто зазначити, що за допомогою цієї маркерної системи не вдалося встановити значних відмінностей між *L. bienne* та *L. angustifolium*.

Отже, під час проведених досліджень вперше вдалося проаналізувати мінливість інтронів генів актину у різних сортів та видів льону. Продемонстровано можливість використання поліморфізму довжин інтронів генів актину для генотипування та диференціювання різних генотипів льону.

1. Rahman M.H., Jaquish B., Khasa P.D. Optimization of PCR protocol in microsatellite analysis with silver and SYBR stains // Plant Mol. Biol. Rep. – 2000. – V. 18. – P. 339–348.
2. Wang X., Zhao X., Zhu J., Wu W. Genome-wide investigation of intron length polymorphisms and their potential as molecular markers in rice (*Oryza sativa L.*) // DNA Res. – 2005. – V. 12. – P. 417–427.

ОСОБЛИВОСТІ МОЛЕКУЛЯРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ДІЛЯНКИ 5S рДНК ДВОХ УКРАЇНСЬКИХ ПОПУЛЯЦІЙ ЯВОРА (*ACER PSEUDOPLATANUS*)

О.О. Русак, І.І. Панчук, Р.А. Волков
Інститут біології, хімії та біоресурсів
Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича
E-mail: o.rusak@chnu.edu.ua

Ділянка МГС 5S рДНК характеризується високим темпом еволюції, тому у цій ділянці можна виявити різницю навіть між близькоспорідненими видами, популяціями, а інколи – і між окремими особинами (Volkov et al., 2001). На сьогодні молекулярна організація 5S рДНК у представників роду *Acer*, до якого належать більше ста деревних видів (de Jong et al.,1994), та споріднених груп залишається невивченою. Відповідно, ми поставили перед собою задачу оцінити можливість використання 5S рДНК для диференціації популяцій широко розповсюдженого у лісах Європи виду явора, *Acer pseudoplatanus.* Для дослідження було обрано рослини з двох географічно віддалених популяцій *A. pseudoplatanus* – Чернівецької області та АР Крим. Ділянку 5S рДНК було ампліфіковано із використанням праймерів, комплементарних до ділянок кодуючої послідовності та клоновано у плазмідний вектор. Відібрані рекомбінантні плазміди Aps-X87-1, Aps-X87-2, Aps-Y67-1, Aps-Y67-2 сиквенували.

Встановлено, що рівень подібності між клонованими ділянками 5S рДНК двох популяцій становив 95,5–95,8 %. МГС 5S рДНК *A. pseudoplatanus* містить мотиви, необхідні для роботи РНК-полімерази III, яка забезпечує транскрипцію 5S рДНК. До таких мотивів, зокрема, належить оліго-Т послідовність, яка локалізована безпосередньо після 3’-кінця кодуючої ділянки і виконує функцію термінатора транскрипції. Крім зони термінації, у МГС мають бути присутні інші ділянки, необхідні для транскрипції, а саме – мотиви TATATA, GC та C, які знаходяться у МГС відповідно, у позиціях -28, -13 та -1 від 5’-кінця кодуючої ділянки (Douet and Tourmente, 2007). Виявилось, що у МГС *A. pseudoplatanus* в позиції -28 шестинуклеотидний мотив TATATA відсутній. Натомість в позиції -29 від 5’-кінця кодуючої ділянки розташовується AT-багатий мотив TTTAAGTAAATATT, що ймовірно функціонально замінює шестинуклеотидний мотив TATATA, який було раніше знайдено у багатьох інших рослин. Аналіз послідовності МГС *A. pseudoplatanus* показав, що у позиції -1, як і у інших видів, дійсно присутній нуклеотид C, проте, динуклеотид GC у позиції -13 відсутній, а знаходиться у позиції -16. Крім того, у позиціях -14 та -12 присутні мотиви GT та AC, які відрізняються від GC на одну транзицію. Також виявлено, що у МГС присутні шість прямих субповторів CGTTGGA, які виникли внаслідок тандемних дуплікацій.

Отже, 5S рДНК *A. pseudoplatanus* демонструє ряд специфічних структурних рис, які досі не зустрічались у інших покритонасінних рослин. Висока швидкість молекулярної еволюції дозволяє використовувати порівняння МГС у філогеографічних дослідженнях явора.

1. Volkov R. A., Zanke C., Panchuk I. I., Hemleben V. Molecular evolution of 5S rDNA of *Solanum* species (sect. *Petota*): application for molecular phylogeny and breeding // Theor. Appl. Genet. 2001. — Vol. 103. — P. 1273–1282.
2. *de Jong P. C., Gelderen D. M., Oterdoom H. J.* Taxonomy and reproductive biology of maples // In: van Gelderen D. M., de Jong P. C., Oterdoom H. J. (eds). Maples of the world. — Timber Press, Portland, 1994. — P. 69–104.
3. Douet J., Tourmente S. Transcription of the 5S rRNA heterochromatic genes is epigenetically controlled in *Arabidopsis thaliana* and *Xenopus laevis* // Heredity. — 2007. — Vol. 99. — P. 5–13.

ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ДОВЖИН ІНТРОНІВ ГЕНІВ ß-ТУБУЛІНУ У СОРТІВ ЛЬОНУ УКРАЇНСЬКОЇ СЕЛЕКЦІЇ

А. М. Рабоконь[1], А. Є. Демкович[1], О. Ю. Йотка[2], Я. В. Пірко[1], Я. Б. Блюм[1]
[1] ***Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України,***
[2]***Інститут луб'яних культур НААН України***
rabokonnastya@gmail.com

Льон культурний (*Linum usitatissimum* L.) - найдавніша сільськогосподарська рослина, яка широко використовується в різних галузях промисловості. Вона є однією з основних олійних та прядильних культур світу, історія вирощування якої налічує багато тисяч років (*Jhala A. et al., 2010*). На сьогодні рівень генетичного поліморфізму видів та сортів рослин найефективніше визначається за допомогою ДНК-маркерів (*Schulman A. et al., 2007*). Все більшої популярності як джерела інформації про мінливість геномів набувають інтрони. Інтрони, а саме поліморфізм їх довжини, виявилися універсальним об'єктом досліджень для широкого спектра організмів і зручними для генетичного картування, оскільки вони безпосередньо пов'язані з конкретними генами. Зокрема Д. Бревіаріо та його колеги запропонували маркерну систему, що заснована на вивченні поліморфізму довжин інтронів генів β-тубуліну (TBP - Tubulin-Based Polymorphism), яка з успіхом застосовується у фінгерпринт-аналізі (*Bardini M., Breviario D. et al., 2004*). Метою роботи було – виявити поліморфізм довжин інтронів генів ß-тубуліну у 16 сортів льону української селекції з колекції Інституту луб'яних культур НААН України, а саме: Есмань, Зоря 87, Сіверський, Каменяр, Журавка, Іванівський, Вручий, Глазур, Міандр, Рушничок, Гладіатор, Надія, Чарівний, Глобус, Глінум та Глухівський ювілейний. TBP-аналіз здійснювали згідно раніше розробленого протоколу (*Bardini M. et al., 2004*). Результати електрофоретичного аналізу показали наявність чітких і відтворюваних фрагментів довжиною від 400 п. н. до 1900 п. н. В цілому було зафіксовано 25 фрагментів різної довжини, 8 з яких виявилися поліморфними. З усіх досліджуваних сортів льону найбільш унікальний та відмінний від всіх інших TBP-профіль має сорт Надія. Дані фінгерпринтингу, залучених до аналізу зразків, були використані для відображення закономірностей генетичної диференціації сортів за допомогою UPGMA. Зразки льону чітко (зі 100% бутстреп підтримкою) розділилися на дві групи. В одну групу увійшли сорти *Сіверський, Журавка, Іванівський, Міандр, Надія*, другу ж групу склали інші 11 сортів. Таким чином результати проведеного аналізу, виконаного з використанням TBP-методу, дозволили доволі чітко диференціювати сорти льону української селекції. В цілому було ще раз продемонстровано, що TBP-метод являє собою зручну і надійну систему ДНК-маркування, яка може застосовуватися для диференціації та ідентифікації різних сортів (генотипів) льону. Даний тип ДНК-маркерів може бути використаний в молекулярно-філогенетичному аналізі роду *Linum*, оскільки поєднує в собі надійність і швидкість отримання вихідних даних і простоту їх аналізу.

1. Jhala A. J., Hall L. M. Flax (*Linum usitatissimum* L.): Current uses and future applications // Austral. J. Basic Appl. Sci. – 2010. – Vol. 4(9). – P. 4304-4312.

2. Schulman A. H. Molecular markers to assess genetic diversity // Euphytica. –2007. - Vol. 158. – P. 313-321.

3. Bardini M., Lee D., Donini P., Mariani A., Giani S., Toschi M., Lowe C., Breviario D. Tubulin-based polymorphism (TBP): a new tool, based on functionally relevant sequences, to assess genetic diversity in plant species // Genome. – 2004. – 47. – P. 281–291. – doi:10.1139/G03-132

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНОТИПІВ КУКУРУДЗИ ЗА МІКРОСАТЕЛІТНИМ ЛОКУСОМ UMC1545 ГЕНА *HSP3*

Г.І. Сліщук, Н.Е. Волкова
Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення
geoncrfqg@gmail.com

Кукурудза (*Zeamays*L.) є зерновою культурою з найбільшим щорічним світовим виробництвом (973 млн. т в 2016 р.). Світовим трендом є підвищення виробництва та перехідних запасів цієї культури. Врожайність зерна кукурудзи в середньому 11,8 т/га (в Україні - 6,66 т/га). Посухи є найбільш важливим фактором, що стримує та дестабілізує виробництво зерна кукурудзи. Це вимагає акцентувати зусилля науковців різних біологічних галузей на підвищенні її посухотолерантності.

Посухотолерантність являє собою складну кількісну ознаку, що контролюється багатьма генами.Геноміка відкриває безпрецедентні можливості для «препарування» кількісної ознаки на її окремі генетичні детермінанти, так звані локуси кількісної ознаки (англ. QuantitativeTraitLoci), та певні гени, продукти яких беруть участь у її прояві. Одним з механізмів захисту від дії стрес-факторів, в т.ч. посухи, є синтез протеїнів теплового шоку (англ. Heatshockproteins, HSP). Отже, мета нашого дослідження полягала в аналізі генів, що кодують протеїни теплового шоку, за допомогою мікросателітних маркерів та пошуку асоціацій певних алелів з рівнем посухотолерантності кукурудзи.

Матеріал дослідження - 16 модельних зразків/ліній кукурудзи з визначеним рівнем посухотолерантності з колекцій СГІ-НЦНС та Національної системи гермаплазми рослин (США), умовно розділені на три групи: сприйнятливі, толерантні, стійкі. Поліморфізм досліджували за мікросателітним локусом *umc1545*, який входить до складу гена *hsp3*. Послідовності пари праймерів (5’-3’): gaaaactgcatcaacaacaagctg і attggttggttcttgcttccatta. Екстракцію ДНК з 7-добових етильованих проростків, полімеразні ланцюгові реакції, електрофорез в 10 % поліакриламідних гелях, визначення розмірів продуктів ампліфікації здійснювали за загальноприйнятими методиками.

Ген *hsp3* (heatshock protein3) розташований на короткому плечі хромосоми 7 (бін 7.00), продуктом є HSP 70 кДа. Сімейство HSP70 є важливим членом через високу консервативність, широке розповсюдження в різних частинах клітини та ключову роль як основних шаперонів в рефолдингу денатурованих протеїнів. У кукурудзи, крім *hsp3*, HSP з молекулярною масою 70 кДа кодують такі гени: *hsp1, hsp26, hsp70-4*, а також декілька генів-кандидатів (згідно інформації MaizeGDB), розташовані на різних хромосомах.

Мікросателітний локус *umc1545* гену *hsp3*має повторюваний мотив *aaga.* Очікувані розміри продуктів ампліфікації - в діапазоні 68-90 п.н. Даний маркер використано для дослідження генетичного різноманіття різних вибірок кукурудзи, але з точки зору зв’язку з посухотолерантністю даний маркер не розглядали.

За результатами ПЛР-аналізу 16 модельних зразків кукурудзи отримано чотири типи алелів розмірами 80, 84, 88, 92 п.н. Найбільш часто зустрічався алель 88 п.н. Асоціацій міжнаявністю певного алеля та рівнем посухотолерантності не виявлено.

Подальші етапи нашого дослідження - біоінформатичний та молекулярно-генетичний аналіз поліморфізму даних генів, дослідження їхньої експресії та пошук асоціацій з рівнем посухотолерантності.

ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ЕВОЛЮЦІЯ МГС 5S РДНК У ПРЕДСТАВНИКІВ ПІДРОДИНИ *ROSOIDEAE*

Ю.О. Тинкевич, Ю.В. Романюк, Р.А. Волков
Кафедра молекулярної генетики та біотехнології
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
y.tynkevich@chnu.edu.ua

Rosoideae (Розанні) є однією з трьох підродин, які наразі виділяють у складі родини *Rosaceae* (Xiang et al., 2016). До неї відносять близько 850 видів, що згруповані у 40 родів та 6 триб. Таксономічний статус та філогенетичні зв'язки багатьох груп в межах підродини і зокрема триб *Roseae*, *Rubeae*, *Ulmarieae* залишаються невизначеними. Частково це пов'язано із тим, що молекулярні маркери, які використовувалися у дослідженні *Rosoideae* часто не володіють достатньою роздільною здатністю та / або універсальністю. Одним із перспективних маркерів для філогенетичних досліджень цієї групи є нуклеотидна послідовність міжгенного спейсера (МГС) генів 5S рРНК. Такі послідовності вже були успішно використані для ряду родів покритонасінних рослин (Volkov et al., 2001). Метою даної роботи було вивчення структурної організації, поліморфізму і еволюції 5S рДНК у представників підродини *Rosoideae* та характеристика цих послідовностей, як потенційних молекулярних маркерів для філогенетичних досліджень групи.

Рослинний матеріал для виділення ДНК з представників родів *Rosa, Rubus* та *Potentilla* був наданий ботанічним садом ЧНУ імені Ю. Федьковича. Тандемні повтори 5S рДНК було ампліфіковано методом ПЛР із використанням праймерів, комплементарних до кодуючої ділянки та клоновано у плазмідний вектор. Відібрані після скринінгу рекомбінантні плазміди піддавали сиквенуванню. Послідовності МГС представників родів *Cliffortia*, *Acaena*, *Sanquisorba* та *Fragaria* були знайдені в базі даних Genbank.

Загалом було просиквеновано 11 клонів для 5 різних видів. З Genbank було використано 8 послідовностей для 7 видів. Проведений аналіз показав, що довжина МГС у представників підродини розанних варіює від 250 до 422 нп. В ньому спостерігається чергування мінливих та більш консервативних ділянок. Консервативна ділянка на 3′ кінці МГС містить зовнішні промоторні елементи, які типові для покритонасінних, а саме – TATATA, GC та C нуклеотидні сигнали. Нуклеотидна послідовність та позиція цих сигналів виявились дуже стабільними. На противагу консервативній кодуючій ділянці, спейсер демонструє значний поліморфізм навіть в межах одного роду. Так у шипшин, для кожного з двох структурних класів, кількість нуклеотидних замін та інсерцій/делецій між послідовностями віддалених видів може сягати більше 100 нп, при загальній довжині МГС 370-420 нп. Відсоток подібності між МГС різних родів, що належать до однієї триби (на прикладі триби *Sanguisorbae*) та різних триб знаходиться у межах 79-87% та 37-59% відповідно, і таким чином демонструє достатній рівень гомології для використання у філогенетичних дослідженнях. Побудоване нами на основі вирівнювання послідовностей МГС філогенетичне дерево дозволяє чітко розділити представників різних родів та триб зі статистичною підтримкою отриманих вузлів на рівні 70-100% за bootstrap аналізом.

1. Xiang Y., Huang C.H., Hu Y., Wen J., Li S., Yi T., Chen H., Xiang J., Ma H. Evolution of Rosaceae fruit types based on nuclear phylogeny in the context of geological times and genome duplication // Molecular Biology and Evolution. – 2016. – P. 262-281.
2. Volkov R.A., Zanke C., Panchuk I.I., Hemleben V. Molecular evolution of 5S rDNA of *Solanum* species (sect *Petota*): application for molecular phylogeny and breeding // Theoretical and Applied Genetics. - 2001. - №103. - P. 1273-1282.

ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ НАКОПИЧЕННЯ РЕКОМБІНАНТНОГО GFPВ ТРАНСГЕННИХ РОСЛИНАХ САЛАТУ *LACTUCASATIVUM*

О.В.Фесюк [1], М.Ю.Василенко [2]
[1]Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут» ім. Ігоря Сікорського
[2]Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

Досягнення генетичної інженерії рослин в питаннях синтезу рекомбінантних білків, які є аналогами антигенів збудників інфекційних захворювань,започаткували новий напрямок – дослідженя рослинних їстівних вакцин, які невдовзі можуть замінити традиційні фармацевтичні засоби.

Рослини, як системи експресії рекомбінантних білків мають ряд переваг порівняно з культурами клітин ссавців та бактеріальними системами: рослинні системи характеризуються біологічною безпечністю, що зумовлено відсутністю в них тваринних вірусів, бактеріальних ендотоксинів, пріонів та онкогенних послідовностей; вирощування чи культивування рослин не вимагає значних фінансових втрат; можливість створення мультивалентних трансгенних рослин що експресують одразу декілька різних антигенів; рекомбінантні білки продуковані рослинами є функціонально активні.

Для промислового отримання рекомбінантних білків важливим показником є кількість білку, який накопичується в трансформованій рослині. Для того, щоб в процесі селекції трансгенних рослинних ліній визначити найпродуктивніші необхідний репортер (маркер), накопичення якого легко зафіксувати. Найчастіше таким репортером виступає білок GFP, що флуоресціює при опроміненні ультрафіолетовим світлом. Ген даного білкубув виділений з медузи *Aequorea victoria*і зараз активно використовується як репортерний ген при створенні різноманітних векторних систем, в тому числі для трансформації вищих рослин.

Метою роботи було визначення наявності рекомбінантного GFP та вивчення рівня його накопичення в трансгенних рослинах салату *Lactuca sativum,* протрансформованого агробактерією *Agrobacterium tumefaciens,* штам GV3101. Даний штам містить вектор pCB131, в якому цільовий ген туберкульозного антигену Ag85B поєднаний з репортерним геномGFP.

Для дослідження кількості рекомбінантногоантигену Ag85B-GFP було отримано екстракт сумарних білків салату шляхом перемелювання рослинної сировини у вібраційному млині з присутністю буферного розчину TRIS-HCl (20mM, pH8.0) та подальшого центрифугування (14000 об/хв). Отриману надосадову рідину використали для електрофоретичного розділення білків в 12% ПААГ.Очищений препарат білку отримали шляхом елюції репортерного білка зі смужки гелю, яку вирізали із зони гелю де спостерігалась флуоресценція при опроміненні гелю УФ світлом.Таким чином отримувалипрепарат Ag85B-GFP позбавлений значної кількості супутніх білків екстракту, які суттєво викривляють данні флуориметрії у разі прямого вимірювання флуоресценції в загальному екстракті.

Для визначення концентрації Ag85B-GFPфлуорисцентним методом попередньо було побудовано калібрувальну криву залежності флуорисценції GFP від його концентрацій.В результаті вимірювання значення флуоресценції очищеного дослідного Ag85B-GFPта використання даних калібрувальної кривої знайшли його концентрацю, яка становить 6 мкг білку на грам сирої ваги рослинної біомаси.

DETERMINATION OF SELF-INCOMPATIBLE GENOTYPES IN SWEET CHERRY CULTIVARS OF UKRAINIAN ORIGIN

Ya.I. Ivanovych [1], R.A. Volkov [2]
[1]Institute of Horticulture of the NAAS; [2]Yuriy Fedkovych National University of Chernivtsi
ivanovych.yar@gmail.com

Sweet cherry (*Prunus avium* L.) is one of the most important industrial fruit crops in Ukraine. Over the past decades, Ukrainian breeders have created a large number of sweet cherry cultivars, which are promising for industrial cultivation and competitive on the global market. Discovery and characterization of genes related to economically valuable traits in horticultural crops is extremely important for modern breeding and have a direct impact on industrial producers. Such traits include self-compatibility (SC) and self-incompatibility (SI). Pollination in the Rosaceae family is under the control of gametophytic self-incompatibility (GSI) system. The GSI system in sweet cherry includes one multi-allelic *S*-locus composed of two genes coding for an *S*-allele specific ribonuclease (*S*-RNase) and an *S*-specific F-box protein (SFB). These genes are expressed in the style and pollen, respectively. Fertilization occurs only when *S*-alleles expressed in stylar tissue are different from those ones in the pollen tube. If one of the *S*-alleles of the haploid pollen matches the respective allele in stylar tissue, the growth of pollen tube is arrested and fertilization does not occur. Up to now, 33 *S*-alleles (Cachi et al., 2017) were described and 52 cross-incompatibility groups (CIG) of sweet cherry cultivars were proposed.

The aim of our study was the elucidation *S*-genotypes of Ukrainian domestic sweet cherry cultivars. The plant material was obtained from the stock plantations of main sweet cherry breeding centers of Ukraine. For each cultivar up to four samples were analyzed. The PCR reactions were conducted using fluorescently labeled consensus primers specific for the first and second introns of *S-RNase* (Sonneveld et al., 2006) and for the single intron of the *SFB* genes (Vaughan et al., 2006). The PCR products of the first intron of *S-RNase* and *SFB* were separated on the Beckman Coulter CEQ™ 8000 Genetic Analysis System, whereas the fragments of the second intron of *S-RNase* were analysed in 1.5% agarose gel. Additional verification of rare alleles was performed applying allele-specific PCR primers.

S-genotypes were determined in 57 local sweet cherry cultivars and promising breeding clones of Ukrainian origin, and in 14 foreign cultivars. In total, 14 different *S*-alleles were detected. The most common *S*-alleles were S_1 (11.7%), S_3 (18.1%), S_4 (9.0%), S_5 (16.0%), S_6 (14.9%) and S_9 (19.1%). The relative occurrence of the identified *S*-alleles reveals that the studied cultivars belong to the European group of origin.

All analyzed cultivars were classified in 17 known incompatibility groups except for the cultivar ‘Yedyna’, which carries the alleles S_6 and S_{17}. This cultivar was placed in the group 0 as universal pollinator.

1.Cachi A.M., Wünsch A., Vilanova A., Guàrdia M., Ciordia M., Aletà N. *S*-locus diversity and cross-compatibility of wild *Prunus avium* for timber breeding // *Plant Breed.* – 2017. – V.136. – P. 126–131.

2. Sonneveld T., Robbins T.P., Tobutt K.R. Improved discrimination of self-incompatibility *S*-RNase alleles in cherry and high throughput genotyping by automated sizing of first intron PCR products // *Plant Breed.* – 2006. – V.125. – P. 305–307.

3.Vaughan S.P., Bošković R.I., Gisbert-Climent A., Russell K., Tobutt K.R. Characterisation of novel S-alleles from cherry (*Prunus avium* L.) // *Tree Genetics & Genomes* – 2008. – V.4. – P. 531–541.

JUVENILE AND ADULT LEAF RUST RESISTANCE FACTORS AT CHROMOSOME 2BS OF WHEAT

A.V.Karelov
Institute of plant protection of NAAS, Ukraine
tolikkarelov@meta.ua

Leaf rust is an important disease of wheat caused by fungi *Puccinia triticina* Erikss. (1899). Usage of resistant wheat cultivars allows to diminish crop losses, amount of fungicides in the environment and expenses spent on fungicides. And understanding of the genetic background for such resistance makes breeders able to use the cultivars with known resistance genes to obtain certain types of resistance and farmers – able to plant the cultivars with certain resistance genes in the areas with known races of leaf rust being spread.

Materials and Methods. The correlation between the allelic state of the *Tsc2* gene localized at 2B chromosome of wheat and average level of field leaf rust resistance reported by different scientists for common wheat cultivars of Remeslo Institute of Wheat (Myronyvka) were chosen as the subject to investigate (Karelov, 2015). Research of localized at 2B chromosome SSR (Röder et al., 1998) and RGA (Rezac et al., 2015) markers was performed for selected cultivars (36 in total). The data were processed with use of Spearman's rank correlation coefficient (ρ) and further – with one-way ANOVA (McDonald, 2014). Juvenile resistance in the greenhouse was scored according to literature (Mains et al., 1926). The samples were artificially inoculated with the mixture of *P. triticina* races gathered from the field in Georgia, USA (inoculum concentration 5 mg/ml).

Results and Discussion. According to statistical analysis no correlation between average field leaf rust resistance observed by different scientists in Ukraine and juvenile leaf rust resistance in the greenhouse was observed. The analysis of the juvenile leaf rust resistance in the greenhouse showed correlation between this factor and the allelic state of the marker *Lr16_RGA_22128R* (ρ=0.49, error p=0.6%) and confirmed by ANOVA showing non-random distribution of the cultivars with different allelic state of the marker and different level of resistance (current effect: F=17.695; p=0.024%) allowing to speculate that the *Lr16* gen may be the source of juvenile resistance against *P. triticina* races spread in the field in Georgia, USA. The data about the factor of field leaf rust resistance at 2B chromosome of wheat were confirmed by correlation between the allelic state of the *gwm154* marker and level of average field leaf rust resistance (ρ = -0.45, p = 1% for the allele 162 bp) and ANOVA showing non-random distribution of the cultivars with and without this allele of the marker and different levels of resistance (F=8.6837; p=0.616%).

1. Karelov A.V. The polymorphism of the genes conferring resistance against fungi diseases in common wheat cultivars of Ukrainian breeding (Manuscript) // State institution “Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine”, Kyiv, 2015. – 24 p.
2. Mains E.B., Jackson H.S. Physiological specialization in leaf rust of wheat, Puccinia triticina Erikss // Phytopathology. – 1926. – V. 16. – P. 89-120.
3. McDonald J.H. Handbook of Biological Statistics, 3rd ed.// Sparky House Publising, Baltimore, Maryland, U.S.A. – 2014. – 305 p.
4. Rezac N.H., Fritz A.K., Glasscock J.I., Ahmed S., Messina D.N., Amand P.St., Fellers J.P. Using RNA sequencing and in silico subtraction to identify resistance gene analog markers for Lr16 in wheat // The Plant Genome. – 2015. – V 8, N 2. – 9 p. – doi: 10.3835/plantgenome2014.08.0040.
5. Röder M.S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.H., Leroy P., Ganal M.W. A microsatellite map of wheat // Genetics. – 1998. – V 149, N4. – P. 2007–2023.

TRANSGENERATIONAL INHERITANCE OF RADIATION-INDUCED ACTIVATION OF *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) *RAD51* AND *RAD1* GENES

S. Litvinov, N. Rashydov
Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine, 148 Acad. Zabolotnogo str, Kiev-03143, Ukraine
slitvinov83@gmail.com

In the last decade greatly increased interest in the study of to the mechanisms of long-term changes in the genome stability of living organisms under the influence of stress factors. One of the manifestations of such arrangements is to transfer the "memory" about the radiation exposure through the mitotic and meiotic barriers. Previously, we have identified a non-linear wave-like dose-effect dependence of some morphometric characteristics of *Arabidopsis thaliana* plants irradiated at the late vegetative stage of development in the range of 3-21 Gy of X-ray radiation. Comparing the dose-effect curves with early changes in transcriptional activity (2 hours after exposure) of caretaker genes *AtKu70*, *AtRAD51*, *AtRad1*, we have found a close correlation between the level of activity of these loci and morphometric features of irradiated plants 30 days after irradiation (Litvinov, Rashydov, 2017). This means that at least a part of long-term postradiation effects are associated with radiation-induced modification of the caretaker genes sustained activity. In this connection, the question arose about the effects that occur in the generation grown from the seeds of exposed plants. Such effects had been revealed for the germination rate, 30-day plant survival, growth rate, the proportion of seedlings with abnormal phenotype, the number of flowers and pods per 10 mm of stem length.

Our results, obtained with RT-PCR-gel densitometry quantification of pre-mRNA level, show that the pattern of radiation-induced increased activity of *AtRAD51* and *AtRad1* genes is inherited by the offspring of irradiated plants in F1 generation, and the level of induced activity of *AtKu70* have not. At doses of 3 Gy and 1 Gy + 1 Gy + 1 Gy (24 h time interval between fractions) increased level of *AtRAD51* pre-mRNA is maintained in the F1 generation. Irradiation by scheme 5 Gy + 5 Gy + 5 Gy (24 h time interval) stimulates activation of *AtRAD51* in the generation of irradiated plants, and also in the unirradiated offspring generation. At doses of 12 Gy and 4 Gy + 4 Gy + 4 Gy (24 h time interval) increased level of *AtRad1* transcriptional activity is preserved in the F1. Acute exposure at dose of 21 Gy induces expression of *AtRAD51* both in F0 and F1. Fractionation of dose 21 Gy at three fractions, 7 Gy + 7 Gy + 7 Gy (24 h time interval) does not induces expression of *AtRAD51*, but slightly increases the transcriptional activity of *AtRad1*. At doses of 6 Gy and 9 Gy, both acute and fractionated irradiation, pattern of early transcriptional response to radiation exposure of *AtRAD51* and *AtRad1* genes is not transmitted to the next generation.

It can be concluded that radiation-induced transcriptional activation of plant genes of some key DNA repair systems can be inherited by offspring of the F1 generation. We assume that the effect of radiation-indused stimulation is transmitted to the next generation by inheriting of the specific pre-mRNA of induced genes.

1. Litvinov S., Rashydov N. The transcriptional responce of *Arabidopsis thaliana L. AtKu70*, *AtRAD51* and *AtRad1* genes to X-rays. // Journal of Agricultural Science and Technology A. – 2017. – 7. – P. 52 – 60. doi: 10.17265/2161-6256/2017.01.008

БІОІНФОРМАЦІЙНИЙ ПОШУК І АНАЛІЗ ПЕРВИННИХ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ ПУРОІНДОЛІНІВ

О.І. Созінова[1], Д.О. Самофалова[2], П.А.Карпов[2]
Київський Національний університет ім. Т.Г. Шевченка[1], ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України»[2]
sozinooksana@gmail.com

Пуроіндоліни – білки зернівки, що визначають текстуру ендосперму у різних видів пшениці, егілопсів, вівса, ячменя, жита та тритікале, де м'яка текстура ендосперму є домінуючою рисою. Відіграють важливу роль у визначенні твердозерності, а також мають антимікробну і антигрибкову дію у зв’язку з чим активно досліджуються. Метою дослідження було провести пошук та аналіз гомологічних послідовностей пуроіндолінів на основі досліджених у *Triticum aestivum* двох ізоформ А і В, що складаються приблизно з 120 амінокислотних залишків (Pauly et al., 2013).

Для BLASTp - пошуку та подальшого аналізу рослинних гомологів було використано маркерні анотовані амінокислотні (АК) послідовності пуроіндоліну А і В (депоновані у БД UniprotKB під номерами P33432 і Q10464) з *T.aestivum (www.uniprot.org).* Відбір гомологів здійснено на підставі відсоткових показників ідентичності, подібності і гепів (Korf et al., 2003). Множинні вирівнювання АК послідовностей було виконано за допомогою програми ClustalX 2.0.5 (*www.clustal.org*) із застосуванням серії матриць BLOSSUM. Кластеризацію повних АК послідовностей виконано із застосуванням методу зв'язування найближчих сусідів (Neighbor-Joining) з подальшою візуалізацією у програмі MEGA 5.

Ґрунтуючись на інформації представленій в літературі і ресурсі UniProtKB було сформовано первинну вибірку гомологів пуроіндолінів, що складала більш ніж 450 АК послідовностей. На підставі аналізу унікальності координат локусів генів і подальшого множинного вирівнювання було отримано вторинну вибірку (400 гомологів) з якої було виключено дублікати за помилковим прочитанням сиквенсів або проектом та встановлено, що незважаючи на високу дивергенцію пуроіндолінів рослинного походження їх N- кінцева частина містить у собі характері мотиви: LFLL –x – LLALVA, FAQY і GGGGG, тоді як C-кінцева частина молекули більш гетерогенна. В результаті кладистичного аналізу зведеної групи маркерних послідовностей з *T.aestivum* і потенційних пуроіндолінів рослинного походження було показано розподіл дерева на три великі, чітко відокремлені клади: пуроіндоліни А, Б, та невизначені білки, кожна з яких поділялась на дві субклади. Зокрема клада пуроіндолінів типу А включала переважно представників з роду *Hordeum*, тоді як кладистичний аналіз групи пуроіндолінів В дозволив виділити 3 клади, найбільша з яких представлена лише пуроіндолінами типу В з роду *Avena*.

На даний час існуюча класифікація поділяє даний клас білків тільки на два типи А і Б, тоді як в результаті кладистичного аналізу було показано розподіл гомологів не лише за маркерними АК послідовностями пуроіндолінів, що дозволяє припустити можливість іншої інтерпретації класифікації на основі гомології сиквенсів і потребує подальшого дослідження.

1. Pauly A., Pareyt B., Fierens E., Delcour J.A. Wheat (*Triticum aestivum* L. and *T. turgidum* L. ssp. *durum*) kernel hardness: I. Current view on the role of puroindolines and polar lipids // *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety*.– 2013.– V. 12.– P. 413-426.
2. Korf I., Yandell M., Bedell J. BLAST.– Sebastopol: O'Reilly & Associates. – 2003. – 368 p.

СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ СПЕЙСЕРНОЇ ДІЛЯНКИ 5S рДНК *IPHICLIDES PODALIRIUS* (LEPIDOPTERA)

О.В. Череватов, А.І. Ілюк, Р.А. Волков
Інститут біології, хімії та біоресурсів
Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича
E-mail:o.cherevatov@chnu.edu.ua

Молекулярна систематика на відміну від традиційної оцінює спорідненість організмів, виходячи з подібності або відмінності їх геномів. Зручним інструментом для з'ясування молекулярної еволюції є ділянки геному, що кодують рибосомні РНК (рДНК). Інтерес до структурно-функціональної організації кластера рибосомних генів обумовлений центральною роллю рРНК в біосинтезі білка, зв'язком структури рДНК зі швидкістю розвитку, а також особливостями будови рДНК, що відрізняють її не тільки від унікальних генів, але і від кластерів інших багатогокопійних генів (Vierna et all., 2013). Специфічність варіантів рДНК широко використовують для паспортизації сортів рослин, порід тварин і для ідентифікації видів в складних угрупуваннях при симбіозі і паразитизмі.

Послідовності 5S рДНК денного метелика *Iphiclides podalirius* (L.) було ампліфіковано за допомогою ПЛР із використанням праймерів, комплементарних до кодуючої послідовності та клоновано у плазмідний вектор. Відібрані за результатами скринінгу рекомбінантні плазміди pPod1.1 та pPod1.5 сиквенували.

Аналіз результатів показав, що довжина МГС у двох клонів складає 212 та 216 нп. Після встановлення межі між кодуючими та спейсерними ділянками, було проведено порівняння їх між собою. Застосування для порівняння послідовностей методу ClustalW (Gap penalty = 10; gap lengthpenalty = 10) дозволило визначити, що рівень подібності клонів pPod1.1 та pPod1.5 становить 94.8%, а з аналогічними послідовностями інших лускокрилих та *B. mori*, не перевищує 50%. Тобто, МГС помітно відрізняється за послідовністю від інших лускокрилих. На сьогодні вважається, що послідовності, які знаходяться у МГС не є необхідними для ініціації транскрипції, але вони приймають участь у модуляції транскрипції, що пов'язано із приєднанням до цієї ділянки як мінімум двох білкових факторів. Так, у *Drosophila melanogaster* у позиції від -26 до -39 нп від початку кодуючої ділянки знаходиться послідовність TATAA (Qi et all., 1988). Отримані нами послідовності містять у МГС TATA-подібну послідовність у положенні від -20 до -27 нп.

На границі між ділянкою, що кодує 5S рРНК та МГС у *I. podalirius* знаходиться послідовність TTTTTGCC, тоді як у *B. mori* - TTTTTTTT. Імовірно, ці послідовності є сигналом термінації для РНК-полімерази III, оскільки відомо, що кластери залишків T мають таку функцію у 5S рДНК інших еукаріот (French et all., 2008).

Отже, отримані результати наводять на думку, що регуляторні сигнали, які знаходяться у МГС, можуть суттєво відрізнятись як у різних видів метеликів, так і між різними варіантами рДНК.

1. French S.L., Osheim Y.N., Schneider D.A. et al. Visual Analysis of the Yeast 5S rRNA Gene Transcriptome: Regulation and Role of La Protein / *Molecular and Cellular Biology*. – 2008. - Vol. 28, №14. - P. 4576–4587.
2. Qi GR, Cao GJ, Jiang P, Feng XL, Gu XR. Studies on the sites expressing evolutionary changes in the structure of eukaryotic 5S ribosomal RNA. / *Journal Molecular Evolution*. - 1988. – Vol. 27, №4. - P. 336-40.
3. Vierna J., Wehner S. Systematic analysis and evolution of 5S ribosomal DNA in metazoans / *Heredity*. – 2013. – 12 p

СТРУКТУРА МІЖГЕННОГО СПЕЙСЕРА COI-COII БДЖОЛИ МЕДОНОСНОЇ (*APIS MELLIFERA* L.)

О.В. Череватов, Н.М. Рошка, Р.А. Волков
Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича
o.cherevatov@chnu.edu.ua

Бджола медоносна (*Apis mellifera*) набула широкого розповсюдження майже у всіх країнах світу завдяки швидкій адаптації до різних кліматично-географічних умов та місцевої флори. Не зважаючи на високу продуктивність та пристосованість місцевих бджіл до локальних умов, за останні роки в Україні спостерігається завіз інших порід, що супроводжується їх неконтрольованою гібридизацією та подальшим зниженням адаптованості (Череватов В.Ф. та ін., 2014). У зв'язку з цим актуальною є питання застосування молекулярного генотипування для з'ясування порідної приналежності бджоли медоносної.

Зручною ділянкою для порівняння підвидів та порід *Apis mellifera* є послідовність мітохондріального геному, що локалізується між ділянками, які кодують першу та другу субодиниці цитохром оксидази (COI-COII). Тому, нашою метою було дослідити поліморфізм ділянки COI-COII у місцевих популяцій бджоли медоносної (*Apis mellifera*). Матеріалом для дослідження були бджоли, зібрані у Чернівецькій (м. Хотин) та Хмельницькій (смт. Ярмолинці) областях. Загальну ДНК екстрагували з тіла бджоли за стандартним протоколом. Полімерність ДНК перевіряли за допомогою електрофорезу в 1% агарозному гелі. Для ампліфікації ділянки COI-COII була застосована ПЛР з використанням праймерів, які комплементарні до послідовностей COI та COII *A. mellifera*. Отримані продукти ПЛР сиквенували. Розшифровані нуклеотидні послідовності були порівняні із послідовностями ДНК бджіл, що містяться в базі даних GenBank.

Добре відомо, що до складу спейсера між COI та COII може входити два типи нуклеотидних послідовностей: P (що іноді представлена декількома варіантами P0, P1 та P2) та Q (Q1, Q2, Q3) (Cornuet J.M. et all., 1991). Після порівняння отриманих нами послідовностей виявлено присутність ділянок, що відповідають Q1, Q2, Q3 та відсутність ділянки P. Така структура спейсера характерна для підвидів *ligustica, carnica* та *caucasica,* тоді як для середземноморських та африканських груп характерна наявність ще додаткової ділянки P.

Подальший детальний аналіз отриманих нами даних показав, що у мтДНК бджіл з Чернівецької обл. присутні заміни окремих нуклеотидів, специфічні для підвиду *A. m. carnica,* а у бджіл з Хмельницької обл. – для підвиду *A. m. caucasica.* Крім того, було виявлено декілька мутацій, які відсутні у послідовностях COI-COII з GenBank. Отже, поліморфізм ділянок мтДНК COI-COII може бути використано для уточнення таксономічної приналежності *Apis mellifera,* яка зустрічається в Україні.

1. Череватов В.Ф. Феркаляк В.Ю., Волков Р.А. Неконтрольована гібридизація бджоли медоносної (*Apis mellifera* L.) на території Івано-Франківської області / Вісник українського товариства генетиків і селекціонерів. – 2014. – Т.12. – №2. – С. 234-240.
2. Cornuet, J.M. Garnery L., Solignac M. Putative origin and function of the intergenic region between COI and COII of *Apis mellifera* L. mitochondrial DNA / Genetics. – 1991. – Vol. 128. – P. 393–403.

ANALYSIS OF THE TUBULIN BETA GENES EXPRESSION PROFILES IN FLAX (*LINUM USITATISSIMUM*) AND RELATED SPECIES

Pydiura N., Pirko Ya, Bayer G., Blume Ya
Institute of Food Biotechnology and Genomics NAS of Ukraine
E-mail of the corresponding author: pydiura@gmail.com

Methods: Tubulin beta genes of the 6 plant species from the Phytozome v11.0.9 gene expression database genetically closest to flax (*Linum usitatissimum*): *Glycine max*, *Arabidopsis thaliana*, *Eucalyptus grandis*, *Populus trichocarpa*, *Medicago truncatula*, *Phaseolus vulgaris* were identified and analysed.

Tubulin genes were searched by the sequence similarity of the known amino acid tubulin sequences vs the Phytozome database nucleotide sequence data with the TBLASTN tool. 72 tubulin beta genes were identified in the named 6 species. Multiple sequence alignment of the identified tubulin beta genes and flax tubulin beta genes was carried out with Clustal Omega.

Further, a phylogenetic tree was built with Phylogeny.fr toolset, that includes sequence alignments with MUSCLE, alignment curation with Gblocks, phylogenetic analysis with PhyML and tree visualisation with TreeDyn.

Expression data was obtained from the Phytozome database using the PhytoMine interface as FPKM (substitute reads with fragments per kilobase of exon per million reads mapped). For *A. thaliana* there is 1 series of experiments with 6 samples available, for *E. grandis* – 1 with 6; *M. truncatula* – 1 with 9; *P. vulgaris* – 1 with 11; *P. trichocarpa* – 2 with 24 samples total; *G. max* – 2 experiments with 9 and 17 samples.

By FPKM, the percentages of the expression of each of the tubulin beta genes among all the tubulin beta genes were calculated. Tubulin beta genes expression by each gene in different tissues and organs was analysed. The data allows to identify the tubulin beta genes with the lowest and the highest expression by tissue or organ. Thus, by each gene total expression in all the experiments, maximum, minimum, median and mean expression values and standard deviations were calculated.

Results: A total 72 tubulin beta genes were identified in the named 6 species: *G. max* (18), *A. thaliana* (9), *E. grandis* (6), *P. trichocarpa* (21), *M. truncatula* (10), *P. vulgaris* (7).

17 out of 72 tubulin beta genes were identified as copies of the same genes (95.95-100% identity) of *G. max*, *P. trichocarpa*, and *M. truncatula* and were discarded from the phylogenetic analysis. In the same manner, 3 out of 10 flax genes were discarded from the phylogenetic analysis.

Basing on the tubulin beta genes expression analysis in different tissues of different organisms the profiles of the tubulin beta genes expression were identified. Namely, does the expression of one or two tubulin beta genes overwhelms in the sample or all the genes are expressed evenly in the tissues and organs of one specie.

In A. thaliana and *E. grandis* the domination of expression of one single tubulin beta gene in different tissues is observed; in *M. truncatula* and *P. trichocarpa* two different genes dominate the expression in different tissues; in *P. vulgaris* depending on the tissue the domination of the expression of three different genes is observed; in *G. max* all the tubulin beta genes are expressed evenly in all the tested tissues.

On the basis of the expression of the tubulin beta genes homologous to flax genes, the mean expected expression of the flax tubulin beta genes in different tissues we propose as follows: Lus10008528 and Lus10002000: ≈7.2% ±3.2; Lus10036069: ≈13.7% ±1; Lus10023348: ≈2.8% ±1; Lus10021094: ≈5.1% ±4.6; Lus10016448: ≈13.9% ±7.75; Lus10039231: highly variable in different tissues.

ТОРФ ЯК СУБСТРАТ ДЛЯ ПРОДУЦЕНТІВ ЛІПІДІВ

Г.С. Андріяш, О.О. Тігунова, Н.Є. Бейко, С.М. Шульга
Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», вул. Осиповського 2а, м. Київ, 04123, Україна
E-mail: Shulga5@i.ua

Різні види біопалива можуть бути перспективним альтернативним джерелом енергії (Кухар, 2007). Сировиною для біопалива слугують жири і олії рослинного, тваринного і мікробіологічного походження. У перспективі ліпіди, отримані за допомогою мікроорганізмів, зможуть замінити жири та олії рослинного і тваринного походження (Шульга, 2010). В природі найбільш розповсюджені такі ліпідоутворювачі, як *Pichia* та *Rhodotorula*. Для отримання ліпідів дріжджового походження можливе використання дешевої нехарчової сировини, зокрема торфу. Одним із способів попередньої підготовки торфу є процес кавітації (Промтов, 2008).

Для вивчення впливу кавітаційного оброблення пульпи торфу на синтез ліпідів нами було проведено культивування штамів *Pichia anomala* IMB Y-5067 та *Rhodotorula gracilis* IMB Y-5075 на качалках (240 об/хв) за температури 31±1°С протягом 72 годин на різних живильних середовищах. Як джерело вуглецю, використовували низинний торф в кількості 50,0 г/л та додавали поживні і ростові речовини згідно варіантам (г/л): I – KH_2PO_4 – 2,0; $MgSO_4$ – 0,12; $(NH4)_2PO_4$ – 10,0; дріжджовий екстракт – 2,0; II – KH_2PO_4 – 3,0; $MgSO_4$ – 0,18; $(NH_4)_2PO_4$ – 15,0; дріжджовий екстракт – 3,0; III – KH_2PO_4 – 4,0; $MgSO_4$ – 0,24; $(NH_4)_2PO_4$ – 20,0; дріжджовий екстракт – 4,0. Після здійснення кавітаційного оброблення торфу та культивування на середовищі III відбувалась інтенсифікація процесу біосинтезу ліпідів *P. anomala* IMB Y-5067 з 10,0 г/л до 28,7 г/л і біомаси з 4,0 г/л до 9,0 г/л. Для дріжджів *R. gracilis* IMB Y-5075 вміст ліпідів збільшувався з 13,0 г/л до 17,4 г/л, а біомаси з 6,5 г/л до 10,2 г/л. За культивування дріжджів на середовищі аналогічного складу з додаванням цукрози, як основного джерела вуглеводів, максимальне накопичення ліпідів склало 14,0 г/л.

Отже, було вперше показано перспективність отримання ліпідів за культивування *P. anomala* IMB Y-5067 та *R. gracilis* IMB Y-5075 на нехарчовому субстраті – низинному торфі. Показано, що кавітація може слугувати одним із способів попередньої підготовки торфу до подальшого використання. Встановлено, що кавітаційне оброблення – це ефективний спосіб зміни структури торфу за рахунок гідравлічного удару та різкого збільшення температури.

1. Кухар В.П. Биоресурсы – потенциальное сырье для промышленного органического синтеза // *Катализ и нефтехимия*. – 2007.– Т. 15. – С.1–15.
2. Промтов М.А. Перспективы применения кавитационных технологий для интенсификации химико-технологических процессов // *Вестник ТГТУ*. – 2008. – Т. 14, № 4. – С. 861– 869.
3. Шульга С. М., Ткаченко А. Ф., Бейко Н. Е., Хоменко А. И., Андрияш А. С. Биосинтез липидов дрожжами *Rhodotorula gracilis* // Біотехнологія. – 2010. – Т. 3, №3. – С.58-65.

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ОЛІЇ СУРІПИЦІ ЯК ПЕРСПЕКТИВНОЇ СИРОВИНИ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА БІОДИЗЕЛЬНОГО ПАЛИВА

Р.Я. Блюм [1,2], Г.В.Лантух [2], Д.Б.Рахметов [3]
[1]ННЦ "Інститут біології та медицини" Київського Національного університету імені Тараса Шевченка, blume.rostislav@gmail.com
[2]Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України
[3]Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України

На сьогодні існують різні технологічні рішення отримання біодизельного палива з рослинної сировини. У Європі та в Україні для виробництва біодизелю використовується переважно ріпак. Проте поряд з ріпаком на більшу увагу заслуговують інші види традиційних олійних культур з родини *Brassicaceae*, які потенційно також можна використовувати з цією метою. Раніше нами було проведено оцінку жирнокислотного олії насіння форм та сортів тифону (*Brassica campestris* f. biennis DC. × *B. rapa L.*), редьки олійної (*Raphanus var. oleifera sativus L.*) та рижію посівного (*Camelina sativa*) селекції Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України з метою визначення їхньої придатності для отримання біодизелю. Ще одним з високоолійних видів з родини Хрестоцвітих, що відрізняється високою продуктивністю в умовах помірного клімату на території України, є суріпиця яра (*B. campestris* f. annua D.C.) та озима (*B. campestris* f. biennis D.C.).

Для порівняння жирнокислотного складу озимої та ярої суріпиці нами було використано насіння селекційних форм та сортів суріпиці, створених у відділі нових культур Національного ботанічного саду ім. М.М.Гришка НАН України. Суріпиця озима була представлена формами ЕОСОФУ, ЕОСОФГл., ЕОСОФДн., ЕОСОФВол., Оріана-1 та сортом Оріана; суріпиця яра - формами ЕОСЯФ-1, ЕОСЯФ-2, ЕОСЯФР та сортозразком Піонер-ЮТ.

У ході проведених досліджень визначено урожайність насіння, вміст олії та її енергетичну цінність залежно від формових та сортових особливостей суріпиці ярої та озимої. Серед проаналізованих генотипів суріпиці найвищий вміст олії у насінні відмічено для у сорту озимої суріпиці Оріана (38,1%). Генотипи з найвищою продуктивністю за виходом олії на одиницю площі були представлені формами ЕОСОФВол (1312 кг/га), ЕОСОФДн (1321 кг/га), ЕОСОФГл (1389 кг/га) та сортом Оріана (1373 кг/га).

За результатами хроматографічного аналізу встановлено, що найбільшим вмістом ерукової (22:1) кислоти характеризується сорт Оріана-1 (42,8%), олеїнової – форма ЕОСЯФ-2 (46,92%), найбільшим вмістом коротколанцюгових жирних кислот – форми ЕОСЯФ-1 (81,54%) та ЕОСЯФ-2 (80,72%), найбільшим вмістом мононенасичених жирних кислот – сорт Оріана (75,68%), найбільшим вмістом поліненасичених жирних кислот – форма ЕОСЯФ-1 (30,07%) та сортозразок Піонер-ЮТ (30,24%).

З урахуванням таких показників, як врожайність, продуктивність олії та особливості жирнокислотного складу нами відібрано два найбільш перспективних генотипи суріпиці для виробництва біодизелю – це сорт Оріана та форма ЕОСЯФ-1. Сорт Оріана вирізняється найвищим вмістом олії у насінні (38,1%), її високим виходом на одиницю площі (1373 кг/га) та найоптимальнішим жирнокислотним складом для отримання важких видів дизельного біопалива: найвищий вміст ерукової кислоти (42,8%) та найвищий вміст мононенасичених жирних кислот (75,68%). Форма ЕОСЯФ-1 вирізняється достатньо високим вмістом олії (36,2%), найвищим її виходом на одиницю площі серед ярих генотипів (998 кг/га) та найкращим жирнокислотним складом для отримання легких видів біодизелю: практично найвищий вміст олеїнової кислоти (46,15%) та найвищий вміст коротколанцюгових жирний кислот (81,54%). Можна передбачити, що у разі отримання важкого біодизельного палива з сорту Оріана воно характеризуватиметься високою енергетичною цінністю та високою окисною стабільністю, але буде малопридатним для використання за низьких температур через високу точку загустіння. У той же самий час легке дизельне біопаливо, отримане з форми ярої суріпиці ЕОСЯФ-1, не матиме проблем з використанням за несприятливих температурних режимів, але матиме меншу окисну стабільність та буде майже рівноцінною за виходом енергії з одиниці палива порівняно з «важким» біодизелем.

РОСЛИНИ ВИДІВ РОДУ *ASTRAGALUS* L.ЯК ФІТОСИРОВИНА ДЛЯ ОТРИМАННЯ БІОПАЛИВА

О.П. Бондарчук,Д.Б. Рахметов
Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України
bondbiolog@gmail.com, jamal_r@bigmir.net

Останнім часом все більше уваги приділяється зміні стратегії розвитку суспільствощоб зменшити антропогенне навантаження на довкілля, при цьому жодним чином не погіршити, а навіть покращити якість життя людства. Перевидобуток корисних копалин, збільшення рівня CO_2 в атмосфері зумовлює науковців світу на пошук альтернативних джерел енергії, щоб запобігти енергетичній кризі.

Раціональним вирішенням питання проблеми відновлюваної енергії є використання біомаси рослинного походження, частка якої за прогнозами вчених до 2040 року досягне близько 23,8 % (Blumeetal., 2014). Сьогодні велика увага приділяється пошукам рослинних ресурсів, технологій переробки фітосировини на потрібні біопалива й ефективних шляхів отримання енергії.

У відділі культурної флори НБС ім. М.М. Гришка НАН України зібрано унікальну колекцію енергетичних рослин близько 500 таксонів (Rakhmetovetal., 2015), яка становить національне надбання України. Важливе місце серед сировинної бази для біопалива можуть займатирослини видів роду *Astragalus* L. (Stadnichuketal., 2014). Це переважно багаторічні рослини, які характеризуються високою резистентністю до умов інтродукції з тривалим періодом онтогенезу близько 25 років (Bondarchuketal., 2016). Серед залучених інтродуцентів, можна виділити перспективні рослини для отримання різних видів біопалива.

Оцінено якісний та кількісний склад фітосировини видів роду *Astragalus* L. встановлено, що *A. glycyphyllos*L. у фазу цвітіння характеризується досить високою врожайністю надземної фітомаси (понад 4 кг/м^2) з підвищеним вмістом цукрів близько 20% в перерахунку на суху речовину, тому є припущення, що даний інтродуцентперспективний для отримання біоетанолу. Також у рослин спостерігається накопичення сухої речовин – 21,77%, золи – 3,27%, теплоємкість – 4525,73ккал/кг. Виявлено, щоз-поміж досліджуваних інтродукованих рослини *A. galegiformis*вирізнялися найбільшою продуктивністю зеленої маси (близько 11,5 кг/м^2), яка припадала на фазу збиральної стиглості,вміст сухої речовини – 41,13%, зола – 3,707%, теплоємкість – 4420,17ккал/кг. Отримані дані демонструють, що рослин *A. galegiformis*L. можуть бути використані для отримання твердого біопалива.

Отже, рослини видів роду *Astragalus* L. характеризуються високою продуктивністю надземної фітомаси, якісним та кількісним складом, що дає підстави вважати дані інтродуценти перспективними для виробництва різних видів біопалив. Тривалий онтогенетичний період, багатоукісність (до 4 разів за вегетаційний період), свідчить про рентабельність культивування цих рослинта отримання економічно вигідного умовного палива на одиницю площі.

1. BlumeYa., Levchuk O., Rakhmetov D., Rakhmetov S. Biological resources for production of different biofuel types // Herald of the NAS of Ukraine – 2014. N 11. – P.64–72.
2. BondarchukO., RakhmetovD. Ontomorphogenesis of plant of the genus *Astragalus* L. in conditions of introduction in the Right-Bank of Forest-Steppe of Ukraine // Plant introduction – 2016. N 2. P.45–51.
3. RakhmetovD. Catalog plants the department of new cultures.– Kyiv. – 2015. – P.57–91.
4. Stadnichuk N., Bondarchuk O., Rakhmetov D., FischenkoV. *Astragalus* L. species, the Forest-Steppe of Ukraine: introduction and perspectives on biofuels// Biological resources and the newest biotechnological advancements in biofuel production. –Kyiv. – 2014. – P.102–109.

ШЛЯХИ ВИКОРИСТАННЯ СОРГОВОЦУКРОВОЇ БАГАСИ ПРИ ВИРОБНИЦТВІ БІОЕТАНОЛУ

О.І.Володько, Т.С. Іванова, С.П.Циганков
Державна Установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України». Вул. Осиповського 2А, Київ, 04123
volodko@ua.fm

Побічним продуктом при переробленні стебла цукрового сорго в біоетанол є сорговоцукрова багаса – знецукрена маса технічних стебел цукрового сорго, з якої механічним пресуванням видалений цукровмісний сік.

З урахуванням цін на енергоносії, які суттєво впливають на собівартість продукції, на підприємстві з перероблення цукрового сорго в етанол найбільш рентабельним є використання багаси на паливо, зокрема для згущування соку, перероблення сорговоцукрового сиропу і соку в біоетанол. Також соргоцукрова багаса може приносити додатковий прямий дохід біоетанольному підприємству. Зокрема, надлишок сорговоцукрової багаси може бути реалізований у вигляді паливнх гранул (пелет) або на корм худобі – як силос або як сіно (висушені гранули багаси). Дослідження проведені ДНУ Всеросійського науково-дослідного інституту зернових культур (Метлин В.В, 1996) дали змогу вважати, що для приготування якісного силосу із цукрового сорго достатньо використовувати 6…7 % цукрів в соку стебел, а решту цукрів, які містяться у стеблах, є доцільним відтискувати і використовувати з метою перероблювання.

При багатоступеневому відтисканні соку в стеблах залишається 5…7 % цукрів. Наші дослідження підтверджують, що відтискання на 50 % соку (залишкова вологість фітомаси 50%) із стебел сорго практично не змінює кормову цінність силосу із одержаної багаси.

Зразки нативної багаси після відтискання соку та пелети з сорговоцукрової багаси, отримані на підприємстві ТОВ «Компанія «Еко-Енергія», були відправлені на аналітичні дослідження з метою визначення хімічного складу та одержання оцінки кормової якості. Результати показали незначні відмінності в хімічному складі пелет у порівнянні з багасою. Енергетична поживність корму багаси в кормових одиницях склала 0,24, якість корму за показниками перетравлюваності СР 72,8 %, відносна кормова цінність 93.

Біоетанольний завод, що переробляє цукрове сорго, повинен мати високу рентабельність за рахунок дешевизни і високої якості вихідної сировини. Сорговоцукрова багаса забезпечить завод тепловою енергією в осінній період, а також дозволить покрити потреби на згущення соку в сироп шляхом випарювання.

1. Метлин В.В. Основные направления селекции сахарного сорго для использования на зеленый корм, силос и сахарный сироп в условиях северного Кавказа: автореф. дисс. на соискание уч. степени доктора с.-х. наук: спец. 06.01.05 „Селекция и семеноводство” / В.В. Метлин – Краснодар, 1996. – 57с.

ВІДХОДИ ВИРОБНИЦТВА БІОДИЗЕЛЮ ЯК СИРОВИНА ДЛЯ БІОБУТАНОЛУ

О.О. Тігунова, Н.Є. Бейко, Г.С. Андріяш, С.М. Шульга
Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», вул. Осиповського 2а, м. Київ, 04123, Україна
E-mail: Shulga5@i.ua

В зв'язку з постійно зростаючим світовим виробництвом біодизелю з відновлювальної біомаси в значній кількості утворюється гліцерин, як побічний продукт переетерифікації рослинних олій. Очищений гліцерин широко використовується в фармакології, косметиці, харчовій та іншій галузях промисловості (Плетнёв, 2009). Очищення гліцерину досить кошторисний та енерговитратний процес, тому дослідження направлені на використання неочищеного гліцерину як сировини в мікробіологічному виробництві наразі своєчасні і актуальні (Tigunova, 2016, Wilkens, 2012). Отже, метою даного дослідження було вивчити влив терміну зберігання та кількості посівного матеріалу на накопичення бутанолу за використання гліцерину як джерела вуглецю. Об'єктом дослідження був процес культивування штама-продуцента бутанолу *Clostridium acetobutylicum* IMB B-7407 (IFBG C6H) з «Колекції штамів мікроорганізмів та ліній рослин для харчової і сільськогосподарської біотехнології» ДУ «Інституту харчової біотехнології та геноміки НАН України» з використанням технічного гліцерину як субстрату. Культивування мікроорганізмів проводили у анаеростаті «АЭ 01» в атмосфері азоту. Анаеростат поміщали у термостат за температури 35±1^{0}С. Використовували середовище наступного складу (г/л): гліцерин – 40,0, дріжджовий екстракт – 1,0; $(NH_4)_2SO_4$ – 0,6; $(NH_4)_2HPO_4$ – 1,6; pH 6,5. Середовище стерилізували протягом 30 хв та тиску 1 атм. Усі досліди проводили в 3 повтореннях. Статистична обробка експериментальних даних була зроблена за допомогою програми Microsoft Excel

Таким чином, було вперше показано влив концентрації посівного матеріалу на накопичення бутанолу штамом IFBG C6H на середовищі з гліцерином. Було показано, що за використання посівного матеріалу в об'ємі 2% відносно об'єму культуральної рідини отримано найбільше накопичення бутанолу (10,0 г/л). Саме таку концентрацію посівного матеріалу використовували в подальших дослідженнях. В результаті проведених досліджень показано, що відновлена ліофілізована культура (штам IFBG C6H) після зберігання за температури 4^{0}С протягом шести місяців, була життєздатна. Накопичення бутанолу у культуральній рідині після культивування практично не змінилось, в порівнянні з накопиченням до ліофілізації, та становило 10,0 г/л. Накопичення бутанолу в процесі культивування за використання відновлених бактерій після зберігання від півроку до року поступово спадало і після року зберігання зменшувалось майже вдвічі. Показано, що продукування цільового продукту у культуральній рідині відновлювалось до вихідного рівня через 1-2 пересіви культури

1. Плетнёв И. Ю. Отходы производства биодизеля как источник продуктов с высокой добавленной стоимостью // Биотехнология – 2009. – №1. – С. 3-10.
2. Tigunova O.O., Beiko N.E., Andriiash A. S., Priymov S. G., Shulga S.M. Lyophilization effect on productivity of butanol-producing strain // Biotechnol. Acta – 2016. – V. 9, N.4. – C. 24-29.
3. Wilkens E., Ringel A.K., Hortig D., Willke T., Vorlop K.D. High-level production of 1,3-propanediol from crude glycerol by *Clostridium butyricum* AKR102a // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2012. – V.93, N.3 – P.1057-1063.

ГЕНЕТИЧНА ТРАНСФОРМАЦІЯ КОНСТРУКЦІЄЮ ДЛЯ РНК-ІНТЕРФЕРЕНЦІЇ ГЕНА ЦИТОКІНІНДЕГІДРОГЕНАЗИ 2 ПАЛЬЧАСТОГО ПРОСА

Г.Я.Баєр[1], Д.Б.Рахметов[2], С.В.Ісаєнков[2]
[1]ДУ "Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України", 04123, Київ, вул. Осиповського 2а. E-mail: galabayer@ukr.net
[2]Національний ботанічний сад ім.М.М. Гришка НАН України
01014 Київ, вул. Тимірязівська,1

Україна має великий потенціал у сільському господарстві, тому використання рослинної сировини для виробництва біопалива як для потреб внутрішнього ринку так і для експорту є надзвичайно важливим. Пальчасте просо(*Eleusine coracana* (L.) Gaertn.) –зернова та фуражна культура із недооціненим сільськогосподарським потенціалом. Значний інтерес представляє вирощування цієї технічної культури з метою виробництва біопалива.

Відомо, що цитокінінам належить ключова роль роль у регуляції таких господарсько-цінних ознак, як висота рослин, кущистість, розмір та кількість насінин в колоску. Активність та функції цитокінінів залежать від їх синтезу *de novo*, кон'югації та деградації, а також від локального і дистанційного транспорту. За рахунок цих процесів підтримується гомеостаз цитокінінів у кожному окремому органі рослин. Застосування методів генетичної інженерії для пригнічення експресії генів цитокінінгідрогеназ може значно покращити продуктивність та врожайність даної культури.

Тому метою роботи було створення рослин з підвищенною продуктивністю за використанням ДНК конструкцій для РНК інтерференції цитокініндегідрогенази 2 (*EcCKX)* для подальшої трансформації пальчастого проса. На початковому етапі було відібрано специфічну ділянку послідовності гена *EcCKX2* пальчастого проса, що мала низький рівень гомології з послідовностями інших представників генів *EcCKX*, для створення РНКі-конструкції. Проведено дизайн праймерів та ампліфіковано за допомогою ПЛР фрагмент кДНК *EcCKX2* (413 п.н.). Отриманий фрагмент кДНК *EcCKX2* клоновано у вектор для інтерференції РНК, а саме pBract207. Для генетичної трансформації створеною конструкцією для РНК інтерференції гена *EcCKX2* використовували листкові диски тютюну (*Nicotiana plumbaginifolia*), в якості модельного об´єкту, та ембріогенний калюс пальчастого проса.

Досліджено вплив гігроміцину, як селективного агента, на калюсогенез пальчастого проса та регенерацію тютюну. Встановлено, що концентрація 25 мг/л є оптимальною для селекції трансгенних клітин як для пальчастого проса так і для тююну. В результаті проведених досліджень на селективному середовищі відібрано калюсні лінії пальчастого проса, стійкі до гігроміцину, оскільки конструкція для трансформації містила ген, що забезпечує стійкість до даного антибіотику. Також отримано відселектовані регенеранти тютюну. Спостерігали зміни у морфології рослин тютюну а саме: потовщення стебла, розвиток пазушних бруньок. Дані зміни характерні при підвищенні кількості цитокінінів у рослині, однак дане припущення потребує перевірки.

Отже, з метою підвищення продуктивності рослин було апробовано методику агробактеріальної трансформації рослин створеною генетично конструкцію для РНК інтерференції гена цитокініндегідрогенази 2 (*EcCKX2)*, що містить часткову послідовність цього гена у сенс- та антисенс-орієнтації, для збільшення загального рівня цитокінінів в рослинах пальчастого проса та тютюну.

Робота виконувалась в рамках наукового проекту "Отримання високопродуктивних рослин пальчастого проса для виробництва біоетанолу шляхом регуляції експресії генів цитокініндегідрогенази" цільової комплексної програми наукових досліджень НАН України «Біологічні ресурси і новітні технології біоенергоконверсії» (№ держреєстрації 0113U004718) з використанням приладів Центру колективного користування приладами (ЦККП) «ГЕНТЕСТ».

ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ ХІТИНОВИХ ПОХІДНИХ В БІОТЕХНОЛОГІЇ

В.А. Богославець, І.П. Григорюк, В.В. Теслюк
Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м.Київ, 03041, Україна
e-mail: bogoslavetsv@mail.ru

Одним із нових і перспективних напрямів в галузі біотехнології біологічно активних речовин є одержання, вивчення і впровадження у практику біополімерів хітозану, хітину та їхніх похідних. Завдяки унікальним властивостям біополімерів, увага дослідників сконцентрована на вивченні та практичному їх застосуванні для захисту культурних рослин від абіо- та біотичних стресових чинників середовища. Метою роботи було одержання і застосування біополімерів хітозану, хітину та їхніх похідних в біотехнології.

Хітозан – це унікальна речовина, яку названо препаратом XXI століття, тобто молекула хітину без ацетильних груп (амінополісахарид 2-аміно-2-дезокси-b-D-глюкан), що утворюється за умов дезацетилювання хітину. Хітин (хімічна назва: полі-N-ацетил-D-глюкозо-2-амін) – азотовмісний полісахарид, що хімічно схожий з целюлозою, лише замість гідроксила (–ОН) на кожному кільці (мономері) із 6 атомів вуглецю розташована аміногрупа, в якій один з двох атомів водню заміщений на ацетильну групу.

За фізичними властивостями хітин - це жорсткий напівпрозорий матеріал, хімічні властивості якого зумовлені транс-розташуванням в елементарній ланці макромолекули заміщувачів (ацетамідної і гідроксильної груп) у С(2) й С(3), що обумовлює значну гідролітичну стійкість ацетамідних груп, в тому числі і в умовах лужного гідролізу. Тому відщеплення ацетамідних груп можливо здійснити лише в порівняно жорстких умовах обробкою 40-49 %-ним водним розчином NaOH за температури 110-140°С упродовж 4-6 годин *(Феофилова Е.П., 1999).*

Хітин і його дезацетильоване похідне хітозан, яке промислово отримують із хітину, виявляють противірусну, антибактеріальну і протипухлинну дію й активізують діяльність макрофагів. Крім того, хітин має здатність до сорбції важких металів і радіонуклідів. Нині хітин і хітозан використовують для підвищення стійкості рослин проти хвороб, а також біотехнологічних процесах як катіонні агенти для очищення забруднених водойм, харчову добавку для людини і тварин, зниження рівня холестерину, загоєння ран та опіків. Водночас його застосовують як антикоагулянт, протитромбічний і гемостатичний засіб для тимчасової заміни шкірної й кісткової тканини, компонент у штучних кровоносних судинах і клапанах, імплантат у косметичній хірургії, косметичний інгредієнт, іммобілізаційний шар у хроматографії, у текстильній, паперовій промисловості, виробництва кіноплівки та губок *(Hiranoa Sh., 1996).* Аналіз світових тенденцій використання хітинових похідних свідчить щодо значного потенційного ефекту від їх застосування у сільському господарстві.

Таким чином, одержання, вивчення і впровадження у практику біополімерів хітозану, хітину, а також їх похідних є досить перспективним науковим напрямком дослідження, зокрема для захисту рослин від хвороб та вирощування екологічно чистої продукції.

1. Феофилова Е.П., Терешина В.М. Перспективные источники получения хитина из природных объектов // Материалы 5-й конф. «Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана». – М.: ВНИРО, 1999. – С. 76-78.

2 Hiranoa Sh. Chitin Biotechnology Applications / Sh. Hiranoa // Biotechnology Annual Review. –1996. –Vol.2. – P. 237–258.

ПОЛІФУНКЦІОНАЛЬНІСТЬ БІОАГЕНТІВ *BACILLUS THURINGIENSIS*

М.В. Бойко
Національний університет біоресурсів та природокористування України
вул. Героїв Оборони, 13, м. Київ, 03041
maryaulina@gmail.com

Розробка технологій мікробіологічного захисту рослин з пошуком альтернативних шляхів контролю патогенів різної етіології на сьогоднішній день є пріоритетним і прогресивним напрямком систем сільського господарства. Як основу бактеріальних препаратів для фітозахисту активно використовують ризосферні мікроорганізми, зокрема бактерії роду *Bacillus* з потенціалом ентомоцидної та антагоністичної активності відносно широкого кола комах-шкідників та фітопатогенних мікроорганізмів за рахунок синтезу метаболітів різної природи. (Chandler et al., 2011)

В роботі досліджені поліфункціональні властивості бактеріальних штамів природного типу *B. thuringiensis var. thuringiensis* з ентомотоксичними та антифунгальними ефектами щодо личинок *Leptinotarsa decemlineata* Say. і фітопатогенних мікроміцетів *Venturia* ssp., ізольованих з насаджень кісточкових культур. Дослідження впливу поживних середовищ (дріжджо-полісахаридне, мелясне, капустяний агар, МПБ, LB) на продуктивність штамів *Bt* першого серотипу показали різний рівень технологічності та прояв ентомопатогенної дії споро-кристалічного комплексу ─ від 1,6 до 3,6 млрд спор/мл та від 85,0 до 97,0 % відповідно. Виразний ентомоцидний ефект штамів зафіксовано при інфекційному навантаженні 1:1. Так, на десяту добу досліду виявлено до 96,0 – 97,0% загибелі личинок. За результатами модельних досліджень встановлено, що досліджувані біоагенти-продуценти *Bt* володіють високою антагоністичною активністю щодо фітопатогенних мікроміцетів роду *Venturia ssp.* Виявлено, що під впливом штаму *Bt* 87/3 відбуваються значні зміни морфогенезу мікроміцету, зокрема, прояв характерних зон лізису, зміни щільності, товщини та напрямку росту міцелію, а також ступінь інгібування проростання конідій в межах 86-93%. Поліфункціональність та метаболічна активність природних бактеріальних штамів *Bt* демонструє важливість ефективного науково-обґрунтованого використання їх потенціалу в агробіології, біотехнології, аграрному виробництві.

1. Chandler D., Bailey Al.S., Tatchell G. M. et all. The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management // Phil. Trans. R. Soc. B. – 2011. – 366.

ТРАНСФОРМАЦІЯ РИЖІЮ ПОСІВНОГО (*CAMELINA SATIVA*) МЕТОДОМ *IN PLANTA*

Ю.М. Бойчук, О.О. Баєр, Г.Я. Баєр, А.І.Ємець
ДУ "Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України",
вул. Осиповського 2а. 04123, Київ, Україна тел./факс (044) 434-37-77
E – mail: boychuk.yulia@gmail.com

На сьогоднішній день в генетичній інженерії рослин науковці значну увагу приділяють методам трансформації, що дозволяють запобігти довготривалим маніпуляціям, пов'язаними з отриманням культури тканин. Останні досягнення у сфері генетичної трансформації показали, що можливо створювати трансгенні рослини без будь-яких процедур *in vitro*. Зокрема, розроблений для *Arabidopsis thaliana* метод трансформації, названий трансформація *in planta* [Clough, 1998], успішно використовується для трансформації інших представників з родини *Brassicaceae* [Inan, 2004; Chhikara, 2012]. Метою даного дослідження було розробити ефективний метод генетичної трансформації *in planta* рижію посівного *C. sativa* для подальшого удосконалення цього виду рослин.

Як вихідний матеріал використовували насіння рижію посівного сорту Перемога. Для трансформації використовували штам *Agrobacterium tumefaciens* AGL1, що містив векторну конструкцію pGH217 з репортерним геном β-глюкуронідази (*gus*) під контролем 35S промотора вірусу мозаїки цвітної капусти (ВМЦК) і *nos*-термінатора, а також селективний маркерний ген *hpt*, що забезпечує стійкість до гігроміцину у трансгенних рослин. З метою визначення селективної концентрації гігроміцину насіння контрольних рослин *C. sativa* висаджували в чашки Петрі на фільтрувальний папір, зволожений розчином гігроміцину в концентраціях 0-20 мг/л. За результатами тестування на стійкість до нього було встановлено, що критичною концентрацією для відбору трансгенних ліній рижію є 20 мг/л гігроміцину.

Трансформацію методом *in planta* проводили у період бутонізації – на початку цвітіння рослин. Загалом бактеріальною суспензією було оброблено 30 рослин. Інокуляцію здійснювали шляхом занурення квіток у суспензійну культуру агробактерії на 10–15 сек та покривали поліетиленовими плівками для створення умов з підвищеною вологістю. Рослини витримували протягом 24 год в умовах підвищеної вологості. Трансформовані рослини знаходились на ділянках до повного дозрівання насіння. Для відбору трансгенних ліній зібране насіння (близько 2400 шт.) пророщували на фільтрувальному папері з гігроміцином у концентрації 20 мг/л. Протягом 3–5 діб насіння проростало рівномірно, але вже через тиждень селекції нетрансформовані проростки на гігроміцині були більш пригнічені у рості, листя скручувалося в той час, як трансформоване насіння мало довші гіпокотилі та рівномірні сходи, причому на контрольному розчині без гігроміцину спостерігали дружнє проростання всіх насінин. Було встановлено, що 1,8% насіння, отриманого після трансформації *C. sativa* методом *in planta* виявляє стійкість до селективного агента. За допомогою молекулярно-генетичного аналізу отриманих рослин з використанням специфічних праймерів до гена *gus* були отримані фрагменти, що були присутні у зразках, які відповідали позитивному контролю, що підтверджує перенесення та інтеграцію чужорідного гена.

1. Clough S.J., Bent A.F. Floral dip: a simplified method for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana* // Plant J. – 1998. – 16. – P. 735–743.

2. Inan G., Zhang Q., Li P., et al. Salt cress a. a halophyte and cryophyte *Arabidopsis* relative model system and its applicability to molecular genetic analyses of growth and development of extremophiles // Plant Physiol. – 2004. – 135. – P. 1718–1737.

3. Chhikara S., Chaudhary D., Yadav M., Sainger M., Jaiwal P. a non-tissue culture approach for developing transgenic *Brassica juncea* L. plants with *Agrobacterium* tumefaciens // *In Vitro* Cell Dev. Biol. Plant. – 2012. – 48. – P. 7–14.

РОЗРОБКА МЕТОДУ БІОФУНКЦІОНАЛІЗАЦІЇ ПОВЕРХНІ КВАНТОВИХ ТОЧОК CdS З ВИКОРИСТАННЯМ ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЮ ТА БИЧАЧОГО СИВОРОТКОВОГО АЛЬБУМІНУ

М.М.Борова[1], А.П.Науменко[2], А.І.Ємець[1]
1. Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, Київ 04123
2. Київський національний університет ім. Т. Шевченка, фізичний факультет, Київ 03022,
yemets.alla@nas.gov.ua, *marie0589@gmail.com*

Напівпровідники нанометрових розмірів, які належать до II-VI груп періодичної системи елементів, а саме CdS, PbS, ZnS, CdSe, PbSe, привертають значну увагу завдяки ряду унікальних квантово-розмірних властивостей. Серед названих сполук найбільш активно досліджують CdS через можливість його застосування в оптоелектроніці та різноманітних біосенсорах. Крім того, квантові точки CdS розробляють для різноманітних біологічних застосувань, зокрема, імуногістохімічного детектування, доставки ліків, візуалізації *in vivo*, відслідковування внутрішньоклітинної поведінки молекул (Prasad & Jha., 2010). Полімери широко використовуються для створення захисного покриття навколо наночастинок, через те, що контакт Cd-вмісних наночастинок з біологічним середовищем здійснюється саме через їхню поверхню. У той же час, полімерні матріали є носіями реакційноздатних функціональних груп, які забезпечують використання біосумісних квантових точок для біовізуалізації та детектування клітинних структур. Отже, даний етап дослідження був орієнтований на створення підходів щодо модифікації поверхні наночастинок CdS, які синтезовані нами раніше, за допомогою поліетиленгліколю (ПЕГ) та бичачого сироткового альбуміну (БСА).

Наночастинки CdS були отримані нами раніше (Borovaya et al., 2015). З метою функціоналізації використовували водні розчини ПЕГ (10 мг/мл) та БСА (10 мг/мл). Для приготування функціоналізованих наночастинок CdS, колоїдний розчин люмінесцентних наночастинок додавали до відповідних полімерів у співвідношенні 2:1. Тобто, 10 мл наночастинок та 5 мл зазначених хімічних агентів. У подальшому отримані зразки досліджували методом оптичної спектрофотометрії. Для порівняння вимірювали спектри фотолюмінесценції вихідного розчину синтезованих наночастинок CdS без полімерного покриття, а також спектри люмінесценції водних розчинів ПЕГ та БСА. У результаті досліджено спектри фотолюмінесценції функціоналізованих систем «наночастинки CdS - ПЕГ» та «наночастинки CdS - БСА» при двох довжинах хвиль збуджуючого випромінення 340 нм та 380 нм. Встановлено, що у спектрах фотолюмінесценції функціоналізованих наночастинок CdS спостерігаються відмінності від спектрів вихідних наночастинок CdS, а саме, в області довжин хвиль 460 нм – 470 нм виникає протяжний максимум, відсутній у спектрах вихідних наночастинок. Крім того, спектри не містять максимумів у короткохвильовому діапазоні (435 нм та 384 нм), характерних для вихідних розчинів ПЕГ та БСА, що свідчить про перехід молекул ПЕГ та БСА у зв'язаний стан з наночастинками CdS. Отримані дані відкривають можливості використання біофункціоналізованих наночастинок для цілеспрямованої взаємодії з окремими молекулами (ДНК, білками) всередині клітин.

1. Borovaya M, Pirko Y, Krupodorova T, Naumenko A, Blume Y, Yemets A. Biosynthesis of cadmium sulphide quantum dots by using *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm // Biotechnol. & Biotech. Eq.– 2015. – Vol. 29. – P. 1156 – 1163.

2. Prasad K, Jha A. K. Biosynthesis of CdS nanoparticles: An improved green and rapid procedure // J. Colloid Interface Sci. – 2010. – Vol. 342**.** – P. 68 – 72.

AGROBACTERIUM-ОПОСЕРЕДКОВАНА ТРАНСФОРМАЦІЯ ТОМАТА СОРТУ ЛАГІДНИЙ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ ЙОГО СТІЙКОСТІ ПРОТИ ФІТОПАТОГЕНІВ

А.Ю. Бузіашвілі, А.І. Ємець
ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки» НАН України
buziashvili.an@gmail.com

Надзвичайно важливою сільськогосподарською культурою по всьому світі є томат (*Lycopersicon esculentum* Mill.). В Україні, томати є провідною за обсягами виробництва овочевою культурою. Одним із лідерів за врожайністю є ранньостиглий український сорт Лагідний (Саблука, 2009). Однак, цей сорт схильний до ураження грибними та бактеріальними патогенами. Для покращення стійкості сорту Лагідний проти патогенних мікроорганізмів, було проведено агробактеріальну трансформацію даного сорта геном лактоферину людини. Лактоферин – це багатофункціональний білок родини трансферинів, який міститься у молоці, слині та сльозах та володіє неспецифічною фунгіцидною, бактерицидною та противірусною активністю (Yemets et al., 2014). Для цього насіння томату стерилізували протягом 2-3 хв у 70%-му етанолі та протягом 15 хв у 5%-му гіпохлориті натрію та пророщували на середовищі МС (Murashige, 1962) (4.3 мг/л макро- та мікросолей МС, 30 г/л сахарози, 8 г/л агару, pH 5.7). Як експланти використовували гіпокотилі та сім'ядольні листки 10-денних проростків. Трансформацію проводили протягом 20 хв за використання супервірулентного штаму *A. tumefaciens* EHA105, що містив плазмідний вектор pBIN35LF, з геном лактоферину людини *hLf* під контролем 35S промотора вірусу мозаїки цвітної капусти та селективним маркерним геном неоміцинфосфотрансферази (*nptII*), який забезпечує стійкість до канаміцина (Танасієнко, 2014). Прекультивацію та кокультивацію проводили протягом 1 доби на середовищі МС, доповненому 100 мг/л міо-інозитолу, 0.5 мг/л нікотинової кислоти, 0.5 мг/л піридоксину, 1 мг/л тіаміну-HCl та 2 мг/л гліцину (МСТ0) (Танасієнко, 2014).

Селекцію трансгенних ліній здійснювали протягом 6 місяців на середовищі МСТ0 в присутності 1 мг/л зеатину, 1 мг/л індоліл-оцтової кислоти, 25 мг/л канаміцина та 300 мг/л цефотаксима (МСТ-С). Частота регенерації трансформованих пагонів складала 65%. Було отримано лінії томатів сорту Лагідний, трансформовані геном лактоферину людини та стійкі до канаміцина. За використання методу ПЛР з праймерами до гена *nptII* було підтверджено інтеграцію даного гена у геном трансформованих ліній (послідовність прямого праймера ATGATTGAACAAGATGGATTG, зворотнього GAAGAACTCGTCAAGAAGCCGA, умови реакції – первинна денатурація 94ºС протягом 5 хв, 40 циклів денатурації 30 с при 94ºС, віджига 30 с при 65ºС, елонгації 40 с при 72ºС, кінцева елонгація 7 хв при 72ºС). Наступним етапом даної роботи буде підтвердження інтергації гена *hLf* у геном трансгенних ліній томата Лагідний за допомогою ПЛР з праймерами до цього гена.

1.Танасієнко І., Бузіашвілі А., Ємець А., Блюм Я. Агробактеріальна трансформація томатів (*Solanum lycopersicon*) геном лактоферину людини // *Факт. експеримент. евол. орг.* – 2014. – Т. 15. – С. 246–250.

2. Технології та нормативи вивтрат на вирощування овочевих культур // під ред. П.Т. Саблука, Д.І. Мазоренка, Г.Є. Мазнєва. – Київ: ННЦ ІАЄ. – 2009. – 340 с.

3. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* – 1962 – V. 15. – P. 473–497.

4. Yemets A., Tanasienko I., Krasylenko Yu., Blume Ya. Plant-based biopharming of recombinant human lactoferrin // *Cell Biol. Int.* – 2014. – V.38. – P. 989–1002.

ТРАНСФОРМУВАННЯ РОСЛИН САЛАТУ *LACTUCA SATIVUM*

Венгловська А.С.[1], Василенко М.Ю.[2]
[1]Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут» ім. Ігоря Сікорського
[2]Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

Однією з найскладніших інфекційних хвороб у світі є туберкульоз (ТБ): щодня встановлюють цей діагноз у 1000 осіб Європи. Найбільший відсоток нових випадків захворювання і смерті від туберкульозу припадає на країни, що розвиваються.

На даний час як дієвий засіб боротьби з ТБ використовують вакцинацію. Створена в 1921 вакцина БЦЖ і досі використовується в різних країнах світу, проте сучасний стан проблем, пов'язаний із розповсюдженням ТБ, спонукає шукати нові препарати для боротьби з збудником. Створення рослин-продуцентів антигенних білків є основою для розробки вакцин, які будуть зручні у використанні, високоспецифічні і дієві проти туберкульозу. Рослини є ефективними системами в якості "біореакторів" для накопичення необхідних рекомбінантних білків, оскільки культивування рослин не вимагає дорогого устаткування, в клітинах рослин відсутні тваринні віруси, ендотоксини, пріони та онкогенні послідовності. Отже, рослинні системи є безпечним джерелом білків медичного призначення, які можуть бути доступними в значній кількості в сільськогосподарських масштабах (Сіндаровська, 2009).

Метою роботи булоотримання трансгенних рослини салату *Lactucasativum*, які продукуютьрекомбінантний білок-антиген AG85B, клонований зтуберкульозної мікобактерії. Генетичну трансформацію рослин салату проводили із застосуванням методу *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації. Агробактерії(*Agrobacteriumrhizogenus,*штам A4)мали вектор pCB131, який містить цільовий ген AG85B,селективний ген BARiрепортерний генGFP, поєднаний з цільовим геном.

Селекцію трансгенних рослин проводили на живильному середовищі MSз додаванням фосфінотрицину (ppt) у концентрації 5 мг/л. Трансформацію здійснювали шляхом культивування експлантів з суспензією *A. rhizogenes*.Ріст коренів на експлантах на безгормональному живильному середовищі з селективним антибіотиком канаміцином у концентрації 400 мг/л починався вже через 10-14 діб. Отримані корені відокремлювали від експлантів і переносили на середовище того ж складу для подальшого культивування та розмноження. Для ідентифікації ефективної експресії рекомбінантного білку Ag85B-GFP кореневіекспланти опромінювали ультрафіолетовим світлом (λ=400 нм). Підтвердження присутності рекомбінантного білку Ag85B-GFP в рослинних екстрактах проводили за допомогою ДСН електрофорезу білків в 12% ПААГ.

В результаті досліджень з використанням *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації (*A.rhizogenes*) отриманокультуру коренів салату посівного, якапродукує рекомбінантний білок Ag85B-GFP з молекулярною масою близько 55 кДа.

1.Сіндаровська Я.Р. Agrobacterium-опосередкованатранзієнтна експресія генів рекомбінантних білків (GFP, β-глюкоуронідаза та інтерферону альфа 2b) в рослинах роду NicotianaL.: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 03.00.20 "Біотехнологія" / Я.Р. Сіндаровська. – Київ, 2009. – 20 с.

МІКРОБНІ БІОСЕНСОРИ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОГО СПОЖИВАННЯ КИСНЮ

О.А. Дубровіна
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65082, Україна
:dubrovina.1996@list.ru

Найважливішою інтегральною характеристикою якості води є біохімічне споживання кисню (БСК) - це кількість кисню, яка споживається мікроорганізмами на біохімічне окислення органічних речовин, що містяться у воді.

Цілі клітини мікроорганізмів в якості БПК-сенсорів можуть бути ефективно використані для аналізу широкого спектру сполуку біотехнологічних процесах та екологічному моніторингу. Різноманіття ферментативного апарату мікробних клітин відкриває можливість підбору мікроорганізмів для аналізу практично будь-яких сполук. Важливим фактором, з практичної точки зору, є більш низька вартість мікробних біосенсорів порівняно з ферментними через відсутність необхідності очищення ферментів і використання кофакторів. Так за статистичними даними основними областями найбільш успішного використання біосенсорів є промислова біотехнологія, харчова промисловість, екологія, клінічна діагностика.

При розробці біосенсорів необхідно, щоб біологічний матеріал був надійним чином закріплений (іммобілізований) на фізико-хімічному перетворювачі. Використання іммобілізованих культур дозволяє: збільшити тривалість перебування мікроорганізмів в реакторі, забезпечити біологічну безпеку, чистоту кінцевого продукту та ін.

Серед основних методів іммобілізації можна виділити адсорбцію, ковалентну зшивку з носіями, включення в структуру гелів. Для іммобілізації клітин мікроорганізмів можуть бути використані адсорбенти органічної (хітин, целюлоза тощо) або неорганічної (глини, пісок, кремнеземи, вугілля і т. д.) природи, штучні неорганічні носії (вуглецеві матеріали, металеві сплави, кераміка і т. д.) і синтетичні полімери (поліетилен, нейлон, поліуретан тощо). Іммобілізація в гелі забезпечує рівномірний розподіл клітин мікроорганізмів в об'ємі носія. Більшість гелевих матриць має високу механічну, хімічну, теплову та біологічну стійкістю і забезпечує можливість багаторазового використання ферменту, включеного в його структуру.

Іммобілізація цілих клітин бактерій в природних полімерних гелях (агар, колаген, альгінат кальцію) є одним з найбільш м'яких методів, що дозволяють отримувати біокаталізатори з високою активністю ферментних систем бактерій. У той же час іммобілізацію мікроорганізмів в агаровому гелі можна використовувати для отримання стабільних рецепторних елементів біосенсора, що дозволяє порівнювати біокаталітичні властивості грампозитивних і грамнегативних бактерій в умовах тривалого експерименту.

Мікробні біосенсори грають важливу роль у вирішенні завдань екологічного моніторингу. В якості аналізаторів вони є перспективними за рахунок простоти і надійності конструкції, низької вартості біологічного матеріалу. Унікальною характеристикою мікроорганізмів є їх здатність окисляти широкий спектр органічних сполук. Застосування рецепторних елементів на основі іммобілізованих культур в даний час є одним з пріоритетних напрямків біотехнології. Це дає можливість відносно простими способами, використовуючи принцип реєстрації клітинного дихання, формувати біосенсори для детекції різних органічних сполук. Перераховані факти зумовлюють актуальність досліджень, спрямованих на вдосконалення та отримання нових знань в цій області.

ВИЗНАЧЕННЯ СКЛАДУ ЖИРНИХ КИСЛОТ В КАЛЮСНИХ КУЛЬТУРАХ ДВОХ СОРТІВ РОСЛИН АМАРАНТУ

В.П. Жук, С.В.Ісаєнков
Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»
viktoria.zhuk@gmail.com

Амарант, або щириця (лат. *Amaránthus*) - широко поширений рід переважно однорічних трав'янистих рослин. Амарант є важливою культурою тому, що має підвищену поживну цінність і високий рівень врожайності, не вимагає особливих умов вирощування. Особливу цінність мають зерна амаранту тому, що містять до 20-23% білка з підвищеним вмістом лізину, поліненасичених жирних кислот, крохмалю, стеролів і флавоноїдів. Вивчення регулювання біосинтезу важливих біологічних сполук в культурі *in vitro* з суттєво відмінним хімічним складом має велике значення.

В роботі використовували два сорти амаранту: Геліос і Глевахівський. На першому етапі нами були проведені експерименти по вивченню потенціалу утворення калюсної маси у різних типів експлантів рослин амаранту. Для ефективного ініціювання первинного калюсу на експлантах були протестовані середовища доповнені різними гормонами в кількох комбінаціях. Відповідно до експериментальних даних було відмічено, що для ефективної проліферації калюсу обраних експлантів потрібне середовище, яке містить 2,4-Д в концентрації 0,5 мг/л у поєднанні з 1 мг/л НОК та 0,5 мг/л кінетину. Наші результати показують, що здатність формувати калюс притаманна для всіх видів експлантів та майже на всіх досліджуваних середовищах.

Наступним етапом будо визначення методом газової хроматографії масової частки метилових ефірів жирних кислот, що засновано на перетворенні тригліцеридів жирних кислот в їх метилові ефіри і подальшому газохроматографічному аналізі останніх. Вивчаючи можливість отримання жирних кислот методом культури тканин були проаналізовані калюсні культури індукований з експлантів гіпокотилів, сім’ядольних листків, міжвузлів пагонів та листових дисків. Різниця у композиції та вміст різних жирних кислот залежить не тільки від типу експланта, а і від сорту рослини. Склад жирних кислот в калюсних культурах різних типів експлантів відрізнявся для всіх типів тестованих калюсних культур з різних видів експлантів. Було показано, що калюсна культури амаранту з експлантів міжвузлів пагонів (4,562%) та з експлантів гіпокотилів (2,308%) сорту Геліос містить найбільший відсоток ω-3 поліненасичених жирних кислот у порівняні з іншими типами калюсів. В культурах *in vitro* з листових дисків та міжвузлів пагонів соту Глевахівський міститься до 6,792% і 3,59%. стеаринової кислоти. Найвищий вміст ω-9 мали калюсні культури з сорту Глевахівський, а саме калюс з листових дисків 4,434%; з міжвузля пагонів 3,624%; з гіпокотилів 2,33%; з сім’ядольних листків 1,822%.

Слід зазначити, що утворення вторинних метаболітів в культурі рослин може збільшуватись під впливом деяких стресових факторів (продуктів життєдіяльності певних мікроорганізмів, іонів важких металів, осмотичного шоку, тощо). Отже подальший напрямок досліджень буде спрямовано на оцінку ролі деяких типів елісіторів на синтез та накопичення біологічно-активних речовин у відібраних калюсах культур двох сортів амаранту: Геліос і Глевахівський *in vitro*.

БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ ЛІКАРСЬКИХ МАКРОМІЦЕТІВ ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ НА ПРОДУКТАХ ПЕРЕРОБЛЕННЯ ЗЕРНОВИХ КУЛЬТУР

Т.С. Іванова[1], Н.А. Бісько[2]
[1]Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України; *ivanova_tatiana_wat2@bigmir.net*
[2]Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України

Лікарські макроміцети є джерелом біологічно активних речовин та мають високу харчову цінність, тому їх використовують як компоненти для створення функціональних продуктів харчування та дієтичних добавок. Ферментативні системи макроміцетів здатні розкладати широке коло субстратів, у тому числі дешеві та нешкідливі для здоров'я людини продукти перероблення зернових культур. Метою роботи було отримання біомаси лікарських макроміцетів – сировини для одержання функціональних харчових продуктів і дієтичних добавок, що містить біологічно активні речовини, при глибинному культивуванні на продуктах перероблення зернових культур.

Штами видів макроміцетів відділів *Basidiomycota* та *Ascomycota* були надані з колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (IBK) [1]: *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray 976, *Lentinus edodes* (Berk.) Singer 502, *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. 1928, *Cordyceps militaris* (L.) Link 1862, *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. 1701, *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. 1900, *Flammulina velutipes* (Curt.) Sing. 1878, *Trametes versicolor* (L.: Fr.) Quél. 353, *Schizophyllum commune* Fr.: Fr. 1768 та *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm. 551. Субстратами для поверхневого культивування були відходи III категорії ПрАТ «Київмлин» (м. Київ), аспіраційні відходи ячменю ПАТ «Оболонь» (м. Київ), сухарна крихта ПАТ «Київхліб» (м. Київ), барда кукурудзи ДП «Немирівський спиртовий завод» (Вінницька обл., м. Немирів) та багаса сорго ТОВ "Компанія "Еко-Енергія" (Сумська обл., Лебединський р-н, с. Будилка). Ефективність біоконверсії субстрату розраховували як відношення сухої маси міцелію до сухої маси субстрату. Амінокислотний склад білків досліджували на амінокислотному аналізаторі ("Mikrotechna", Чехія). Аналіз метилових ефірів жирних кислот проводили на хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973 inert (Agilent technologies, США). Визначення питомої активності радіонукліду Cs^{137} в пробах проводили за допомогою гамма-радіометру РУГ-91 «Адані» (Мінськ, Білорусь).

В результаті скринінгу за принципом найбільшої біомаси для *C. sinensis, G. applanatum, G. frondosa, L. edodes* та *P. ostreatus* підібраний субстрат аспіраційні відходи ячменю (від 3,17 до 6,19 г/л), а для *C. militaris, G. lucidum, F. velutipes, T. versicolor* та *S. commune* – сухарна крихта (від 5,12 до 8,99 г/л). Відповідно до показників максимальної ефективності біоконверсії субстрату, при глибинному культивуванні оптимальна концентрація сухарної крихти становила 50 г/л для *G. lucidum, F. velutipes, T. versicolor* та 60 г/л для *S. commune*.

За результатами вивчення динаміки накопичення біомаси при глибинному культивуванні були обрані *S. commune* та *T. versicolor* для подальших досліджень. *S. commune* синтезував максимальну біомасу (24 г/л) із 7 % ендополісахаридів та 19 % сирого протеїну за 4-ри доби, а *T. versicolor* – 16 г/л біомаси із 6 % ендополісахаридів та 20 % сирого протеїну за 5-ть діб. Білок *S. commune* можна вважати білком із високою біологічною цінністю, оскільки він містить більше 40 г незамінних амінокислот на 100 г білку (41,40 г), білок *T. versicolor* – 37,38 % незамінних амінокислот. Вміст ненасичених жирних кислот був вищим у міцелію *S. commune* (63 %) і *T. versicolor* (58 %), ніж вміст насичених. Питома активність радіонукліду у 3,9 рази менша для *S. commune* (51 ± 5 Бк/кг) та у 16,7 разів менша для *T. versicolor* (12 ± 2 Бк/кг), ніж допустима норма для лікарських рослин сушених, фіточаїв та біологічно активних добавок усіх видів за Державним гігієнічним нормативом «Допустимі рівні вмісту радіонуклідів Cs^{137} та Sr^{90} у продуктах харчування та питній воді».

КАЛЮСОГЕНЕЗ ТА РЕГЕНЕРАЦІЯ ЗРІЛИХ ЗАРОДКІВ ПШЕНИЦІ (*Triticum aestivum* L.)

А.Ю. Кваско, А.І.Ємець
Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Київ
kvasko.anna@ukr.net

Ефективна регенерація рослин із культури клітин та тканин в умовах in vitro є передумовою успішного використання методів біотехнології для покращення характеристик сільськогосподарських рослин, зокрема злакових культур. Серед злаків, найбільш важливою є пшениця, яка є надзвичайно вразливою до різних біотичних та абіотичних факторів і потребує генетичного удосконалення. Процеси калюсоутворення в культурі in vitro пшениці визначаються більшою мірою складом живильного середовища, типом та віком експланта (Chugh, Khurana, 2003; Сидор, Орлов, 2005), а також сортовими особливостями. Метою даної роботи було введення в культуру in vitro озимого сорту пшениці Миронівська та розробка ефективного методу регенерації рослин для подальшої генетичної трансформації цього сорту цільовими генами.

Для дослідження використовували зріле насіння сорту пшениці Миронівська, люб'язне надане Інститутом харчової біотехнології та геноміки НАН України. Стерилізацію насіння проводили шляхом обробки 70% -им розчином етанолу протягом 2 хв; 0,002%-им розчином азотнокислого срібла протягом 20 хв та подальшою обробкою 10 хв 2%-им розчином гіпохлориту натрію. Простерилізоване насіння тричі промивали дистильованою водою.

Для отримання калюсної тканини в якості експлантів використовували зрілі зародки, які асептично видаляли з частиною ендосперму та переносили на середовище Мурасіге та Скуга (МС), доповнене вітамінами за Гамборгом та 30 г/л сахарози. У якості регуляторів росту використовували 1 мг/л 6-бензиламінопурину (БАП) та 2 мг/л 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти (2,4-Д). Культивування проводили протягом 18 діб за температури 24° С. Індукцію калюсоутворення спостерігали на 3 добу після перенесення експлантів на дане середовище. Сформований морфогенний калюс далі переносили на середовище МС з вітамінами за Гамборгом, 0,5 мг/л БАП та 20 г/л сахарозою для отримання рослин-регенерантів. Частоту регенерації визначали як відношення числа калюсних есплантів, з яких утворились пагони до загального числа експлантів.

У результаті досліджень було встановлено, що частота регенерації пагонів за даних умов становила близько 80%. Подальшим кроком наших досліджень буде розробка ефективного методу трансформації даного сорту пшениці.

1. Chung A., Khurana P. Regeneration via somatic embryogenesis from leaf basal segments and genetic transformation of bread and emmer wheat by particle bombardment // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2003. – Vol. 74, № 2. – P. 151-161.
2. Сидор Л.С., Орлов П.А. Регенерационный потенциал различных видов пшеницы, ржи и ячменя в культуре листовых эксплантов // Цитология и генетика. – 2005. - №5. – С. 28-34.

ВПЛИВ ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ *PROPIONIBACTERIUM SHERMANII – PS 4* НА РІСТ *BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM – 1*

Л.О. Крупицька, Л.В. Капрельянц
Одеська національна академія харчових технологій, Одеса, Україна
e-mail: krupitskaja.lora@yandex.ua

Препарати пробіотики добре зарекомендували себе, як засоби профілактики дисбактеріозу шлунково-кишкового тракту(ШКТ). Однак, в останні роки при їх застосуванні стали спостерігатися зниження їх ефективності, нестабільності результатів лікування, особливо в сенсибілізованному організмі, оскільки гетерогенна мікробна маса препарату може спричиняти значне антигенне навантаження на організм. Відомі також складності при використанні біопрепаратів з профілактичною метою в харчових продуктах. Це сприйнятливість до кисню і нагрівання в поєднанні з їх недостатнім захистом від агресивного впливу захисних бар'єрів ШКТ(Holmes E. et al., 2011)

У зв'язку з цим, актуальними питання біотехнології є розробка метаболітних пробіотиків, які в порівнянні з клітинною формою є більш безпечними, мають більш тривалі терміни придатності до застосування, знижують взаємодію з компонентами харчових продуктів.

Основа метабіотика - це культуральна рідина пробіотичних мікроорганизмів, тому основна мета цього дослідження полягала у вивченні впливу культуральної рідини пропіоновокислих бактерій на ріст біфідобактерій, як основних представників нормобіоти ШКТ людини.

Об’єктом дослідження була біомаса *Bifidobacterium bifidum – 1* та культуральна рідина бактерій *Propionibacterium shermanii – PS 4*. Культивування проводили на лактозному середовищі з додаванням соєвої сироватки протягом 24 год при (37±1) ºС. У якості інокулятів використовували добову культуру *B.bifidum – 1,* яка була стандартизована до $1\cdot10^6$КУО/см^3, а також культуральну рідину *P.shermanii – PS 4,* що була відокремлена від життєздатних клітин, кількість яких становила $1\cdot10^9$КУО/см^3. Співвідношення об’ємів інокулятів культуральної рідини до біомаси біфідобактерій були наступними 1:1, 1,5:1, 2:1, 2,5:1, 3:1 до *B. bifidum –1.* Контролем слугувала пробірка з середовищем, в яке інокулювали тільки біомасу біфідобактерій без культуральної рідини пропіоновокислих бактерій. Кількісний облік життєздатних клітин біфідобактерій в експериментальних і контрольному зразках проводили методом десятикратних розведень в пробірках з напіврідким лактозним середовищем. З подальшим термостатуванням посівів при температурі (37 ± 1) ºС протягом 72 годин.

При співвідношенні інокулятів 1:1 кількість життєздатних клітин біфідобактерій становила $3\cdot10^9$КУО/см^3 , що незначно перевищувало значення контролю $1\cdot10^9$КУО/см^3. Зі збільшенням дози інокуляту культуральної рідини відбувалось збільшення біомаси *B. bifidum –1:* при співвідношенні 1,5:1 – збільшувалась до $5\cdot10^9$КУО/см^3, при 2:1 – до $9\cdot10^9$КУО/см^3, при 2,5:1 – до $1\cdot10^{10}$КУО/см^3, при 3:1 – до $2\cdot10^{10}$КУО/см^3. З погляду економічної цінності – мінімальне використання сировини, при якому отримуємо максимальних вихід продукту – найбільш вдалим є співвідношення культуральної рідини до біомаси біфідобактерій у кількості 2:1.

5. Holmes, E., Li, J. V., Athanasiou, T., Ashrafian, H. Understanding the role of gut microbiome–host metabolic signal disruption in health and disease //Trends in microbiology. – 2011. – Vol. 19. – №. 7. – P. 349-359.

ОТРИМАННЯ ТА АНАЛІЗ ТРАНСГЕННИХ ЛІНІЙ ЦУКРОВОГО БУРЯКУ, ЩО МІСТЯТЬ ГЕН *CRY1C*, ЯКИЙ ЗАБЕЗПЕЧУЄ СТІЙКІСТЬ ДО КОМАХ ШКІДНИКІВ

В.В. Курило, О.М. Шиша, А.І. Ємець
Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»,
вул. Осиповського 2а, м. Київ, 04123, Україна
E-mail: adreatyda@ukr.net

Цукровий буряк в основному використовують для виробництва цукру, але також відомі й його інші застосування, зокрема, використання відходів від цукрового виробництва в отриманні біоетанолу. Також цукровий буряк розглядають як перспективне джерело синтезу і накопичення нових метаболітів в коренях (Menzel et. al., 2003). Однак значна кількість цукрових буряків гине в результаті ураження шкідниками. Тому, для запобігання знищення врожаю доцільно створювати сорти і лінії цукрового буряку, резистентні до комах-шкідників. Використання гена *cry1C* в наших дослідах з *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації буряку може забезпечити стійкість до шкідників цукрових буряків ряду *Lepidoptera* (лускокрилі), серед яких капустяна міль *(Plutella xylostella)*, совка мала *(Spodoptera exigua)*, совка бавовняна *(Helicoverpa armigera)* та інші. Тому, метою даної роботи було створення генно-модифікованих ліній цукрового буряку *(Beta vulgaris L.)*, які б експресували синтетичний ген *cry1C*.

У якості вихідного рослинного матеріалу використовували батьківську селекційну лінію ММ 1/2 (селекційний запилювач при гетерозисний селекції) цукрового буряку *(Beta vulgaris L.)*, люб'язно надану Інститутом біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України. Перенесення генів здійснювали методом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації (Курило та ін., 2015) з використанням бінарних конструкцій *pRD400-cry1CST* та *pRD400-cry1C*, люб'язно наданих проф. І. Альтасааром (Університет Оттави, Канада), до складу яких входив цільовий синтетичний ген *cry1C* та селективний ген неоміцинфосфотрансферази II (*nptII*), що викликає стійкість до канаміцину. Для підтвердження інтеграції гена інтересу в геном рослин буряку, регенерованих на селективному середовищі, було проведено молекулярно-генетичний аналіз за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР). Для цього використовували пару праймерів, специфічних до гена *cry1C*: 5 '- GGTGAGGATTTCTGATTGCGCTGC - 3' (R) і 3 '- GTTTCTAACTTTGTGCCAGGAGGAG - 3' (F) з ампліфікацією ПЛР-продукту розміром 763 п.н.

У результаті було відібрано на селективному середовищі, що містило канаміцин у концентрації 200 мг/л, 3 лінії при трансформації векторною конструкцією *pRD400-cry1CST* та 3 лінії – конструкцією *pRD400-cry1C*. Отримані лінії за своєю морфологією не відрізнялися від контрольних (нетрансгенних) рослин та між собою. Відомо, що здатність трансформантів тривалий час рости і розвиватися в присутності селективних агентів не є остаточним доказом трансгенної природи отриманих рослин. За результатами ПЛР-аналізу було остаточно підтверджено інтеграцію генів інтересу в геном рослин цукрового буряку. В подальшому отримані нами лінії будуть перевірені з використанням відповідних біотестів на стійкість до комах-шкідників.

1. Menzel G., Harloff H.J., Jung C. Expression of bacterial poly(3-hydroxybutyrate) synthesis genes in hairy roots of sugar beet (*Beta vulgaris L.*) // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2003. – V. 60. – P. 571–576.

2. Курило В.В., Ємець А.І. Генетична трансформація цукрового буряку синтетичним геном *cry1C* // Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2015. – Т. 17. – С. 193–196.

НОВІ ПІДХОДИ ДО КРІОКОНСЕРВУВАННЯ МЕРИСТЕМАТИЧНИХ ТКАНИН

Ю.С. Лисак, О.Т. Ходько
Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України
ulisoak@gmail.com

Катастрофічне скорочення генофонду популяцій дикоростучих рослин і цінних сортів культурних рослин потребує створення біологічних низькотемпературних банків для надійного довгострокового зберігання їх генетичного матеріалу за азотних температур. Для збереження сортових властивостей та потрібних якостей материнських рослин необхідний лише генетично ідентичний матеріал, який можна отримати з культури апікальних меристем.

Для меристематичних тканих розроблено багато способів кріоконсервування, більшість із них грунтуються на швидкому охолодженні. Недоліками швидких способів є використання високих концентрацій речовин кріопротекторної дії, що викликають значне зневоднення клітин і впливають на їх біологічну структуру, іноді, спричиняючи навіть пошкодження молекул ДНК (Kim et al., 2004; Wang et al., 2014).

Метою роботи було отримання після низькотемпературного зберігання матеріалу, який би не зазнав дії хімічних речовин у процесі кріоконсервування і міг би у подальшому використовуватись у біотехнологічному процесі, для потреб сільського господарства, або стати основою для створення колекцій видів дикоростучих та культурних рослин. У зв’язку з цим було поставлено задачу створити таку методику кріоконсервування, щоб за рахунок оптимізації процесу охолодження можливо було відмовитись від використання кріопротекторних речовин, отримуючи при цьому великий відсоток збереженості.

Було показано, що при повільному охолодженні апікальних меристем часнику (*Allium sativum* L.), картоплі (*Solanum tuberosum* L.) та винограду (*Vitis vinifera* L.) і наступному їх зануренні у рідкий азот без використання кріозахисних розчинів, для кожного виду спостерігалась збереженість на рівні 90-95% (Ходько та ін., 2014).

В основі способу лежить поступове неконтрольоване за швидкістю охолодження, процес якого полягає у 10-25 хвилинній експозиції біооб'єкту у парах азоту над дзеркалом рідкої фази і наступному його зануренні у рідкий азот. Процес відігріву до кімнатних температур проходить аналогічно охолодженню, але у зворотньому напрямку. Контроль за життєздатністю меристем після кріоконсервування здійснюється шляхом культивування на стандартному поживному середовищі MS (Murashige & Skoog) в умовах фітотрону впродовж 15 діб. За цей час життєздатні меристеми набувають зеленого кольору і виявляють тенденцію до росту і диференціювання (Лисак та ін., 2015).

1. Kim H., Cho E., Back H. Cryopreservation of garlic shoot tips by vitrification: effects of vitrification, rewarming, unloading and regrous conditions // *CryoLetters.* – 2004. - №25. - P.59-70.

2. Wang B., Li J., Zhang Z., Wang R., Ma Y., Blystad D., Keller E., Wang Q. Three vitrification-based cryopreservation procedures cause different cryo-injuries to potato shoot tips while all maintain genetic integrity in regenerants // *J Biotechnol.* – 2014. V.20. - №184. – P.47-55.

3. Пат. 100791 Україна МПК A01N3/00, A23B4/06, A23B7/055. Спосіб кріоконсервування меристем сільськогосподарських рослин / Лисак Ю.С., Ходько О.Т.; заявник і власник патенту ІПК і К НАН України. - № u201501645; опубл. 10.08.2015, Бюл. №15.

4. Ходько А.Т., Лысак Ю.С. Природа и динамика фазовых превращений при охлаждении-отогреве клеточного сока чеснока // *Біофізичний вісник.* — 2014. - №32(2). - С.48-60.

5. Ходько А.Т., Лысак Ю.С., Стрибуль Т.Ф. Особенности процесса криосохранения меристематических тканей // *Збірн. тез Міжнародної наукової наради «Збагачення генетичного різноманіття рослин».* — 2014. – С.153.

ВВЕДЕННЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ГІРКОКАШТАНА *AESCULUS HIPPOCASTANUM*

Лосєва Д.В., Ємець А.І.
ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», м. Київ

Для біотехнологічного удосконалення та надання нових ознак гіркокаштану необхідною умовою є розробка ефективних методів його введення в культуру invitro та регенерації рослин з різних типів експлантів. Метою даної роботи було введення в культуру чутливих до мінуючої молі рослин гіркокаштану м. Києва. Для цього спочатку було протестовано різні способи стерилізації вихідного матеріалу та опрацьовано умови для його вирощування в умовах *in vitro*. У деревних рослин спостерігається тенденція до накопичення внутрішньої інфекції, тому важливо підібрати оптимальну схему стерилізації для їх подальшого культивування [1]. Основним показником ефективності стерилізаційної речовини є кількість експлантатів, які нормально розвиваються [2].

У досліджені як експланти були використані апікальні бруньки та зріле насіння, в якості стерилізуючи агентів: 1%-ний перманганант калію (KM_nO_4), 2,5 %-ний гіпохлорит натрію (NaClO); 1,0 %-ний нітрат срібла (AgNO3), 96%-ний етанол. Брунькита зріле насіння були відібрані із різних рослин гіркокаштана, який зростає в Голосіївському районі м. Києва. Відбір бруньок для проведення стерилізації було проведено у осінньо-зимовий період 2016-2017 рр. Для кожного типу експлантат були підібрані різні способи стерилізаціїі з застосуванням вище зазначених реагентів. Доведено, що оптимальним є ступінчаста стерилізація апікальних бруньок у два етапи. Під час першого етапу бруньки розміщували у розчин гіпохлориту натрію з дистильованою водою 3:1 на 15 хв,після цього промивали у дистильованій воді тричі протягом 10 хв. Експланти в ламінарному боксі після першого етапу стерилізації на стерильному фільтрувальному папері очищали від покривних лусок. Очищенні від лусок бруньки проходять другий етап стерилізації. Для цього на 15 хв їх розміщували у розчин дистильованої води з сріблом та тричі промивали у дистильованій воді протягом 10 хв. Далі стерильні бруньки висаджували на живильне середовище MS[3] та культивували за температури 25 ^oC, 16/8 фотоперіоді у культуральній кімнаті.

Зріле насіння каштану стерилізували також у два етапи. Спочатку його обробляли розчином KM_nO_4 протягом 1 хв, далі розчиномNaClOз дистильованою водою 3:1 протягом15 хв, після чого промивали дистильованою водою тричі протягом 10 хв. Далі в ламінарному боксі на стерильному папері очищалинасіння від шкірки і піддавали другому етапу стерилізації: обробка протягом 1 хв у 96%-ному етанолі, 15 хв у розчинні NaClO з дистильованною водою у співвідношенні 3:1, потім тричі промивали дистильованою водою по 10 хв. Після двох етапів стерилізації експланти пересаджували на без гормональне середовище МС та культивували за температури 25 ^oC при розсіяному світлі у культуральній кімнаті для пророщування та появи пагонів рослин каштану.

Запропоновані умови стерилізації дозволяють досягнути 90% стерильного матеріалу як з апікальних бруньок, так і з насіння *Aesculus hippocastanum*.

1. Євтушенко Ю. В. Особливості отримання асептичної культури виду *Aesculus carnea Hayne* // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія : Лісівництво та декоративне садівництво. - 2014. - Вип. 198(2). - С. 244-250.
2. Чеченєва Т. М. Введення в культуру *in vitro* різних видів гіркокаштана / Т.М. Чеченєва, К.Є. Шаванова, С.П. Машковська // Физиология и биохимия культурных растений. – 2010. – Т. 42, № 2. – С. 132-136.
3. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures //Physiol Plantarum. – 1962. – Т. 15. – №. 3. – С. 473-497.

ПОЛІПЛОЇДИЗАЦІЯ МІСКАНТУСУ ГІГАНТСЬКОГО *(MISCANTHUS × GIGANTEUS* GREEFET DEU.) В УМОВАХ *IN VITRO* З ВИКОРИСТАННЯМ АНТИМІТОТИЧНИХ СПОЛУК ДИНІТРОАНІЛІНОВОГО РЯДУ

О.В.Мельничук, С.П.Ожерєдов, А.І. Ємець, Я.Б.Блюм
ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»
olexandr_melnichyk@ukr.net

Серед інших біоенергетичних культур міскантус гігантський *(Miscanthus × giganteus* Greefet Deu.) є досить перспективним, завдяки його невибагливості до грунтових умов та при цьому рекордно високій продуктивності, яка становить близько 20–25 т/га сухої речовини. Це стерильний алотриплоїд, гібрид, що утворився внаслідок об'єднання геномів *M. sacchariflorus* та *M.sinensis*(Chou,2009).Проблеми зі статевою гібридизацією міскантуса гігантського призводять до обмеження корисного генетичного різноманіття, яке необхідне для ведення селекційної роботи з покращення цієї культури.Для забезпечення генетичного різноманіття, зокрема у випадку стерильного міскантуса гігантського, поліплоїдизація є незамінним методом одержання нових генотипів рослин. Крім вищезазначеного, поліплоїдні рослини у більшості випадків мають перевагу над нормальними у відношенні більшого розміру клітин та більшої біомаси рослин(Yuetal. 2009).

Сучасний розвиток наукидозволяє проведення *in silico* скрінінгу сполук на їх спорідненість до тубуліну, основного білку мікротрубочок, які є основними внутрішньоклітинними елементами поділу клітин, для відбору найбільш перспективних сполук для проведення поліплоїдизації в умовах *in vitro.*

Метою даної роботи була розробка протоколів ефективної поліплоїдизації в культурі *invitro* з використанням як класичних, так і перспективних речовин з антимікротрубочковою активністю та отримання поліплоїдних ліній міскантуса гігантського.

У результаті досліджень розроблено ефективні протоколи культивування та підібрано ефективні концентрації динітроанілінів для проведення поліплоїдизації міскантуса гігантського в умовах *in vitro.*

Зокрема встановлено, що культивування пагонів *invitro* на середовищах, доповнених динітроанілінами у концентрації 10 мкМ протягом 14 діб дозволяє отримати найбільший відсоток поліплоїдних рослин. Проте, за даних умов, фітотоксичність класичних динітроанілінів, зокрема оризаліну, призводить до загибелі переважної кількості експлантів.

Робота виконувалася в рамках наукового проекту «Створення нових високоврожайних ліній міскантусу як сировини для біоетанола шляхом отримання поліплоїдів» цільової комплексної науково-технічної програми наукових досліджень НАН України «Біологічні ресурси і новітні технології біоконверсії».

1.Chou Ch-H. Miscanthus plants used as alternative biofuel material: The basic studies on ecology and molecular evolution. Renew Energ. – 2009. – 24. - P. 1908–1912.

2.Yu C.Y., Kim H.S., Burn A.L., Widholm J.M., John A. Juvik. Chromosome doubling of the bioenergy crop, *Miscanthus*×giganteus. Global Change Biology Bioenergy -2009. - 1. –P. 404–412.

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ РОЗМНОЖЕННЯ СТІЙКОЇ ПРОТИ КАШТАНОВОЇ МІНУЮЧОЇ МОЛІ ФОРМИ ГІРКОКАШТАНА ЗВИЧАЙНОГО *IN VITRO*

О.С. Пентелюк, І.П. Григорюк, С.М. Костенко, А.Ф.Ліханов
Національний університет біоресурсів і природокористування України
м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15, Україна
creadleofdeath@gmail.com

Наразі особливої актуальності набуває вирішення проблеми збереження, відновлення і збагачення видів рослин роду *Aesculus* L. в антропогенно зміненому середовищі, які суттєво пошкоджуються каштановою мінуючою міллю (КММ) (*Camerariaohridella* Deschka & Dimic) (Чайка та ін., 2013). У м. Києві нами вперше виявлено рідкісну пізньостиглу форму гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.) віком 35-40 років, яка не пошкоджується КММ (Григорюк, Лук'яненко, 2015).

Виходячи з цього, метою даної роботи було розробити технологію мікроклонального розмноження форми гіркокаштана звичайного *in vitro* для отримання генетично однорідного садивного матеріалу з якісно новими властивостями.

Встановлено, що за умов застосування 0,1 % розчину $HgCl_2$ефективність стерилізації експлантатів становила 75 %, а 50 % нанорозмірних частинок $AgNO_3$ – 90 %.Отримані асептичні експлантати стійкої проти КММ форми гіркокаштана звичайного на живильному середовищі МС з додаванням БАП виявляли початкові ознаки активації процесів росту, збільшення об'ємів листкової бруньки і розростання тканин примордіїв листків.

Внаслідок травматичних ушкоджень тканин листкової пластинки на адаксіальному боці листків з'являлись перші ознаки калюсоутворення. Індукція первинного калюсу проходила в умовах темряви, а калюсоутворення – на 10-12-ту добу культивування. Калюсна тканина формувалась шільною і світло-зеленого забарвлення. Протягом 7-10 діб неморфогенний калюс зневоднювався і зменшувався в об'ємі й втрачав життєздатність. Збільшення кількості біомаси калюсної тканини було найхарактернішим лише для зони безпосереднього контакту листкової поверхні з живильним середовищем МС. У випадку додавання до нього регуляторів росту у листках стійкої проти КММ форми гіркокаштана звичайного простежувалось індукування процесів калюсогенезу, тривалість зберігання якого і збільшення сирої речовини маси суттєво залежало від техніки проведення мануальних операцій. Для ініціації морфогенних процесів неморфогенний калюс ізольовували і пасажували на живильне середовище МС із внесенням регуляторів росту.

Таким чином, біотехнологічне розмноження стійкої проти КММ форми гіркокаштана звичайного можливе із залученням методів мікроклонального розмноження. Найефективнішим виявився спосіб непрямого морфогенезу через послідовну ініціацію калюсогенезу – дедиференціацію і диференціацію тканин з отриманням морфогенних структур й подальшим формуванням рослин-регенерантів форми гіркокаштана звичайного, яка стійка проти КММ.

1. Чайка В.М., Григорюк І.П., Мельничук М.Д. Екологія агроекосистеми України в умовах змін клімату. – К.: ЦП «Компринт», 2013. – 628 с.
2. Григорюк І.П., Лук'яненко Т.Л. Фізіолоігічні і молекулярні основи стйкості видів рослин роду *Aesculus* L. проти каштанової мінуючої молі. – К.: ЦП «Компринт», 2015. – 174 с.

АНАЛІЗ ВМІСТУ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКУ В ГІБРИДНИХ СІМ'ЯХ НОСІЇВ ГЕНУ *GPC-B1* ВІД *TRITICUM TURGIDUM* SSP. *DICOCCOIDES* МЕТОДОМ ІНФРАЧЕРВОНОЇ СПЕКТРОМЕТРІЇ

С.Ю.Похилько[1,2], А.І.Степаненко [1,3], В.М.Починок [3], О.М. Дуган [2], Б.В. Моргун [1,2]
[1]Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України,
Україна, 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 148.
[2]Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»,
Україна, 03056, м. Київ, пр. Перемоги, 37.
[3]Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,
Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 31/17.
molgen@icbge.org.ua

Якість пшениці, має не менш важливе значення чим її врожайність. Прийнято характеризувати якість зерна комплексом показників, які нормовані ДСТУ 3768:2010. До нормованих показників відносять: запах і колір, склоподібність, натура, вологість, домішки (зернова і сміттєва), ступінь ушкодження шкідниками та ураження хворобами, масова частка білка та сирої клейковини, її якість, число падання (ДСТУ 3768:2010). На основі показників якості визначають клас зерна пшениці м'якої і твердої у процесі її заготівлі та переробки. Одними із основних показників є масова частка білку і клейковини в зерні, так як дані параметри суттєво впливають на визначення класу зерна. Сучасний і швидкий способом вимірювання основних параметрів зерна є метод оснований на інфрачервоній спектрометрії (NIR).

Визначення масової частки білку і клейковини проводили в гібридних сім'ях озимої м'якої пшениці F_5 покоління носіїв гену *Gpc-B1* від *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides.* Гібридні сім'ї були отримані при схрещуванні високопродуктивного сорту Куяльник та донорної гексаплоїдної лінії Glu-Pro, носія гену *Gpc-B1* від *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides.* Ген *Gpc* відповідає за прискорене старіння листя та зумовлює ефект підвищеної концентрації у зерні важливих мікроелементів *Zn* (60 мг/кг проти 47,5 мг/кг), *Mn* (53,9 мг/кг проти 40,9 мг/кг), *Fe* (44,2 мг/кг проти 35,9 мг/кг) та білку (14,4% проти 10,8%). Селекційний відбір та молекулярно-генетичний аналіз гібридних сімей на протязі п'яти років дав можливість відібрати найкращі та найперспективніші сім'ї, що є гомозиготними за геном *Gpc-B1*.

Метою аналізу було перевірити фенотиповий прояв гену *Gpc-B1* від *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* в гібридних сім'ях, а саме, визначити зміну вмісту білку в порівнянні з материнською лінією сортом Куяльник. Аналіз проводили на приладі Perten Informatic 8600. Контролем в досліді були вихідні лінії – сорт Куяльник та лінія Glu-Pro, яка є носієм гену *Gpc-B1* від *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides.*

Серед проаналізованих 16 гібридних сімей, масова частка білку склала від 14,23% до 16,81% , клейковини від 30,3% до 36,2%, тоді як у сорту Куяльник ми спостерігали вміст білку 13,5% , а клейковини 28,3%. У лінії Glu-Pro масова частка білку 16,9%, а клейковини 36,4%. Найбільший вміст білку і клейковини серед гібридних сімей спостерігався у сім'ї № 7 і склав 16,81% білку і 36,2% клейковини, що дуже наближається, до вихідної лінії Glu-Pro. Найменший вміст білку і клейковини спостерігався у сім'ї №21 і склав 14,23% білку і 30,3% клейковини, що в будь якому випадку більше ніж у вихідній материнській лінії. Залежність між масовою часткою білку і клейковини прямо залежна.

Отримані результати свідчать, що ген *Gpc-B1* від *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides,* який ідентифікований у гібридних сім'ях, впливає на вміст білку і клейковини, а, отже, данні сім'ї є цінним матеріалом для подальшого створення високопродуктивних озимих сортів м'якої пшениці.

1. ДСТУ 3768–2010. Пшениця. Технічні умови. – Держспоживстандарт України. – 2010. – С.14.

ЕФЕКТИВНІ СПОСОБИ РЕГЕНЕРАЦІЇ РОСЛИН *KALANCHOE BLOSSFELDIANA* POELLN. *IN VITRO*

О.Ю. Чорнобров
Науково-дослідна лабораторія біотехнології рослин
ВП НУБіП України «Боярська лісова дослідна станція»,
Київ, Україна
E-mail:oksana_chornobrov@ukr.net

Kalanchoe blossfeldiana Poelln. – красивоквітуча багаторічна кімнатна рослина з доволі тривалим періодом цвітіння. Традиційно культуру розмножують насінням, а також стебловими або листковими живцями, недоліком останнього є поширення ряду захворювань бактеріальної й грибної природи (*Kalanchoe*, 2006). Альтернативою традиційним способам розмноження є мікроклональне, яке дозволяє одержувати достатню кількість оздоровлених рослин-регенерантів упродовж року (Бутенко, 1964; Калинин и др., 1980). Саме тому метою досліджень було розроблення ефективних способів регенерації рослин *K. blossfeldiana in vitro* для масового отримання регенерантів.

Для досліджень використовували фрагменти листкових пластинок (S=0,5−1,0 см^2), які ізольовували із однорічних рослин-донорів *K. blossfeldiana* у березні місяці. Стерилізація рослинного матеріалу полягала у витримуванні у мильному розчині й проточній воді (10−15 хв), споліскуванні дистильованою водою, обробці 70 % етиловим спиртом (30−60 с), занурюванні у 0,1 % $HgCl_2$ (7−8 хв) та 4-кратному відмиванні у стерильній дистильованій воді (10−15 хв). На етапі введення в культуру *in vitro* використовували живильне середовище за прописом Мурасіге і Скуга (МС) (Murashige, Skoog, 1962). Регенераційну здатність тканин і органів рослин *in vitro* досліджували на МС з додаванням регуляторів росту ауксинового та цитокінінового типів дії. Рослинний матеріал культивували за загальноприйнятою методикою (Калинин и др., 1980). Результати зазначено на 60 добу культивування *in vitro*.

Установлено, що використання розробленого режиму стерилізації експлантатів дозволило одержати понад 70 % асептичних життєздатних мікропагонів. Достатньо високу частоту калюсоутворення з наступним активним ростом тканини твердої консистенції спостерігали за умови культивування фрагментів листкових пластинок у світловому приміщенні або термостаті (без освітлення) на МС з 2,0 мг·л$^{-1}$ 2,4-Д й 0,2 мг·л$^{-1}$ БАП. Інтенсивне мікропагоноутворення рослин шляхом непрямого морфогенезу (коефіцієнт мультиплікації понад 10) фіксували на МС з 1,0 мг·л$^{-1}$ БАП й 0,3 мг·л$^{-1}$ НОК. Одержання мікропагонів прямим морфогенезом індукували шляхом культивування фрагментів мікропагонів на МС з 0,5 мг·л$^{-1}$ БАП й кінетину (коефіцієнт мультиплікації понад 5). У разі застосування безгормонального середовища у понад 90 % фрагментів мікропагонів фіксували регенерацію кореневої системи з наступною активацією наявних меристем та одержанням рослин-регенерантів завдовжки 3,5−4,5 см.

Отже, нами розроблено ефективні способи регенерації *K. blossfeldiana in vitro* з масовим отриманням оздоровлених рослин-регенерантів. Подальші дослідження спрямовані на розробку ефективного способу адаптації рослин до умов *in vivo* для їх подальшого використання в озелененні жилих приміщень.

1. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений: учеб. пособ. / Р. Г. Бутенко– М.: Наука. − 1964. – 272 с.

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

3. *Kalanchoe* // Ботаника. Энциклопедия «Все растения мира»: пер. с англ. Botanica / ред. Д. Григорьев и др. − М.: Könemann, 2006. – 1020 с.

4. Murashige T. A Revised Medium for Rapid, Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plantarum. – 1962. – V.15. - N. 3. – P. 473.

ВВЕДЕННЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ГОЛОЗЕРОГО ЯЧМЕНЮ (*HORDEUM VULGARE* L.)

Р.Ю. Шадріна, А.І. Ємець

ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»

Ячмінь (*Hordeum vulgare* L.) є четвертою найбільш популярною посівною культурю після кукурудзи, пшениці та рису. Останнім часом його все більше використовують як модельний об'єкт, оскільки ячмінь має диплоїдний набір хромосом та відносно легко піддається генетичній трансформації порівняно з іншими однодольними рослинами. Продукти харчування, які містять ячмінь, віднесли до групи продуктів із лікувально профілактичною дією ще у 2008 році в США організацією FDA.

Не дивлячись на значний перелік переваг, ячмінь як і інші злакові культури чутливий до ряду шкідників, вірусних, бактеріальних та грибних захворювань. Тому, для генетичного удосконалення цієї культури методами біотехнології актуальним є розробка ефективних методів введення в культуру in vitro, отримання рослин-регенерантів та генетичної трансформації окремих сортів ячменю. Метою даної роботи було введення в культуру in vitro сорту голозерого ячменю Ахілес з подальшою трансформацією цільовим геном лактоферину *hLf*.

В роботі використовуються незрілі зародки, оскільки вони найкраще охарактеризовані серед усіх відомих експлантів. Даний тип експлантів найкраще підходить, як для отримання високоефективної регенерації та ефективної трансформації ячменю.

Для цього зріле насіння ячменю сорту Ахілес (люб'язно надане Селекційно-генетичним інститутом, м. Одеса) стерилізували 2 хвилин спиртом 75% , 12 хвилин білизною, та 30 хвилин відмивали у дистильованій воді. Потім видаляли зародки, переносили на живильне середовище CI - 2 (Callus induction), що містило мікро та макросолі, мальтозу 30 грам на літр, фітогормони були відсутні, pH середовища був 5,7. Виділені щитки культивували за температури 25 °С, 16/8 фотоперіоді протягом 1-2 тижнів. Через 3 доби культивування оцінювали ефективність методу стерилізації (візуально оцінювали рівень контамінації експлантів), через 7-14 діб – ефективність проростання насіння.

У результаті досліджень було встановлено, що найефективніший спосіб стерилізації зрілого насіння даного сорту ячменю є за допомогою білизни, найкраще утворюються рослини в культурі in vitro за використання вищезазначеного середовища. Наразі підбираються умови і розробляється ефективний метод *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації сорту ячменю Ахілес.

1. Танасиенко И.В., Емец А.И., Блюм Я.Б. Разработка методов еффективной трансформациия ячменя Hordeum vulgare L. с помощью *A. tumefaciens.*

2. Serhantová V., Ehrenbergerová J., Ohnoutková L. Callusinduction and regeneration efficiency of spring barley cultivars registered in the Czech Republic // Plant SoilEnviron. – 2004. – V.10. – P. 456-462.

ОТРИМАННЯ ПРИРОДНІХ КСИЛООЛІГОСАХАРИДІВ-ПРЕБІОТИКІВ ІЗ ВТОРИННИХ ПРОДУКТІВ ПЕРЕРОБКИ ЗЕРНА

О.Д. Журлова, Л.В. Капрельянц
Одеська національна академія харчових технологій
biochem_onaft@ukr.net

Серед основних напрямків сучасної нутриціології виділяють біотехнології отримання природніх олігосахаридів-пребіотиків, які сприяють підтримці імунітету регулюючи мікробіоту кишківника та індукуючи позитивні ефекти на рівні організму людини в цілому.

Широко розповсюдженим джерелом ксиланів, при обмеженому хімічному або ферментативному гідролізі яких отримують препарати ксилоолігосахаридів (КОС), є висівки злакових культур. Чисельні дослідження препаратів КОС довели різноманіття їх біологічних властивостей, головною серед яких виступає пребіотична (Ramkrishna D. et al., 2014; Shyam S. et al.,2010).

Препарати природніх КОС отримували шляхом поетапного обмеженого ферментативного гідролізу пшеничних та житніх висівок. Попередньо оброблені парою (120°C, 5 хв) висівки подрібнювали до 750 мкм та знекрахмалювали ферментними препаратами α- та глюкоамілази (60 хв, 55°C, pH 5). Для видалення з висівок залишків білка в реакційну суміш додавали ферментний препарат кислої протеази (30 хв, 55°C, pH 5). Перший етап ферментативної обробки дозволив знизити кількість домішок у готовій дієтичній добавці за рахунок звільнення сировини від крохмальних зерен та білків.

На другому етапі проводили обмежений ферментативний гідроліз висівок мультиферментним препаратом Viscozyme L (Novozyme, Denmark), що має широкий спектр геміцеллюлазних активностей (эндо-1,4-β-глюканазну, ксиланазну, целюлазну, пектинестеразну, ферулоестеразну), при гідромодулі 1:10 в ацетатному буфері (pH 4, 55°C) протягом 3 - 5 годин. Обґрунтована тривалість ферментолізу геміцелюлоз дозволила отримати КОС певного фракційного складу з високою фізіологічною активністю, які формували основу пребіотичних властивостей готових препаратів. Серед отриманих олігомерів ксилану переважали триози і тетрози, вміст яких складав 45,5 та 45,7% з пшеничних і житніх висівок, відповідно.

Отримані ферментолізати відділяли центрифугуванням та концентрували до залишкової вологості 30% при температурі 60°C. Концентрати обробляли водним розчином етанолу (96%) при співвідношенні концентрат : етанол 1 : 3. Цей процес дозволив розділити присутні в концентратах компоненти та осадити цільові КОС. Осад відділяли центрифугуванням та висушували при температурі 70°C до залишкової вологості 8%.

Отримані препарати КОС з пшеничних та житніх висівок мали вміст вуглеводів 76,5 та 76,0%, серед яких вміст КОС складав 65,4 та 68% відповідно.

Пребіотичні властивості препаратів було доведено на пробіотичних культурах *L. acidophilus* та *B. bifidum*. Стимулююча дія препаратів КОС на ріст і розвиток пробіотичних культур, забезпечила накопичення $1{,}4\cdot10^{10}$ КУО/см^3 *L. acidophilus* та $9{,}2\cdot10^{10}$ КУО/см^3 *B. bifidum*, що підтвердило високий пребіотичний ефект комплексів КОС.

6. Ramkrishna D., Singh, Jhumur Banerjee, Amit Arora. Prebiotic Potential of Oligosaccharides: a Focus on Xylan Derived Oligosaccharides // *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fiber*. – 2014. N 73. – P. 1-28.
7. Shyam S., Reddy, Chandraraj Krishnan. Production of Prebiotics and Antioxidants as Health Food Supplements from Lignocellulosic Materials Using Multienzymatic Hydrolysis // *Int. J. Chem. Sci*. – 2010. – Vol. 3, N 3. – P. 535-549.

ДЛЯ НОТАТОК

ДЛЯ НОТАТОК

ДЛЯ НОТАТОК

ДЛЯ НОТАТОК

Наукове видання

Третя конференція молодих учених

БІОЛОГІЯ РОСЛИН ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ

ЗБІРКА ТЕЗ

16–18 травня 2017 року

В авторській редакції

Підп. до друку друку 25.04.2017. Формат 60х84/16. Папір офс.
Офс.друк. Ум.друк.арк 4,88. Обл.-вид.арк. 5,25.
Тираж 100 прим. Замовлення № 51-1.

Видавець та виготівник
Національний авіаційний університет
03680, Київ-58, проспект Космонавта Комарова, 1.
Свідоцтво про внесення до Державного реєстру ДК № 977 від 05.07.2002