

Сучасні проблеми генетики, екології та біотехнології

наук Беларусі. Серія біялогічних наук. – 2016. – № 4. – С. 19–26.

3. *Медведева Т.М.* Проблеми акліматизації культивованих *in vitro* рослин / Т.М. Медведева // Физиология и биохимия культурных растений. – 2008. – Т. 40, №1. – С. 299–309.
4. *Benson E.E.* Plant Conservation Biotechnology / E.E. Benson // Taylor and Francis, 2002. – 309 p.

УДК 581.1

ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИН ТЮТЮНУ, ЩО ОДНОЧАСНО ЕКСПРЕСУЮТЬ ГЕНИ *DESА* ТА *DESC* В УМОВАХ ГПОТЕРМІЧНОГО СТРЕСУ

Кирпа-Несміян Т.М.¹ Хархота М. О.²

¹Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного
НАН України

E-mail: t-kirpa@ukr.net

В даний час залишається актуальним дослідження механізмів стійкості рослин до абіотичних стресів. Десатурази – це ферменти, що каталізують утворення подвійних зв'язків у жирних кислотах (ЖК) та тим самим перетворюють їх з насичених в ненасичені [4]. Підвищується стійкість рослин до знижених температур, заморозків, умов зневоднення внаслідок нестачі вологи або дії сильних вітрів, засоленості ґрунтів.

В роботі використовували ген *desC*, що кодує $\Delta 9$ -ацил-ліпідну десатуразу ціанобактерії *Synechococcus vulcanus*, та ген *desA*, що кодує $\Delta 12$ -ацил-ліпідну десатуразу ціанобактерії *Synechocystis* sp. PCC 6803. Генетичну трансформацію рослин *N. tabacum* було здійснено за допомогою *Agrobacterium tumefaciens*-опосередкованої трансформації [3].

Наявність вставки генів було доведено методом мультиплексної ПЛР, експресію генів перевіряли опосередковано, за активністю продукту репортерного білка [1]. Було здійснено аналіз спектру жирних кислот за допомогою методу газової хроматографії та мас-спектрометрії [5]. У

Сучасні проблеми генетики, екології та біотехнології

подвійних трансформантів, що містять та експресують одночасно два гетерогічних гени десатураз ціанобактерій було досліджено достовірне збільшення частки лінолевої (C18:2) та ліноленової кислот (C18:3)

Як контроль у дослідженні використовували рослини *N. tabacum* дикого типу та рослини *N. tabacum*, що містять у своєму геномі та експресують ген біфункціонального репортера *gfp:licVM3*. Достовірної різниці в аналізі ЖК контрольних рослин відмічено не було.

Перевіряли адаптацію рослин за такими показниками: активність ферменту супероксиддисмутаза, рівень накопичення малонового диальдегіду, загальний відсоток втрати електролітів та експресію гена за ферментативною активністю репортерного білка термостабільної ліхенази методом кількісної ліхеназної реакції.

Дослідження ліхеназної активності виявило підвищення активності експресії генів десатураз по репортерному білку після дії холодного стресу порівняно з трансгенним контролем на 23-51%.

Досліджуючи втрату електролітів, виявили менший рівень втрати у трансгенних рослин, що містять у своєму геномі два гени десатураз порівняно з контрольними. Суттєвої різниці між трансгенним контролем, що експресує ген біфункціонального репортера та рослинами дикого типу виявлено не було.

Рівень накопичення малонового диальдегіду вказує на ступінь окисної деструкції ненасичених жирних кислот. Хоча рослини одночасно експресують два гени десатураз та показники результатів хроматографічного аналізу спектру ЖК вказують на підвищення частки ненасичених ЖК в спектрі цих рослин, однак, рівень накопичення малонового диальдегіду в них набагато менший, ніж такий у контрольних рослинах.

Перевіряли активність ферменту супероксиддисмутаза за нормальних фізіологічних умов (+25°C) та після дії умов холодного стресу [2]. При культивуванні рослин за нормальних фізіологічних умов достовірної різниці між контрольними та трансгенними рослинами не було відмічено. Проте, після дії холодного стресу відмітили підвищення активності ферменту

СОД у рослин, що містять у своєму геномі та експресують гени десатураз.

Під час дослідження було відмічено незначне підвищення активності СОД у рослин тютюну дикого типу за нормальних фізіологічних умов та незначне підвищення активності СОД у рослин тютюну, що містять у своєму геномі та експресують ген біфункціонального репортера після дії холодового стресу. Значної різниці показників активності СОД в отриманих трансгенних лініях, що експресують гени десатураз не було відмічено.

Експресія двох додаткових генів десатураз у рослинному організмі сприяє збільшенню частки ненасичених жирних кислот в складі мембранних ліпідів, що було доведено аналізом газової хроматографії та мас-спектрометрії. При дослідженні рослин, що містять у своєму геномі та експресують додаткові гени десатураз до дії холодового стресу, виявили менший ступінь пошкоджень та кращу адаптацію порівняно з контрольними рослинами.

Література

1. *Berdichevets I.N., Shimshilashvili H.R., Gerasymenko I.M., Sindarovska Y.R., Sheludko Y.V., Goldenkova-Pavlova I.V.* Multiplex PCR assay for detection of recombinant genes encoding fatty acid desaturases fused with lichenase reporter protein in GM plants // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2010. – 397. – P. 2289–2293.
2. *Beyer W.F., Fridovich I.* Assaying for superoxide dismutase activity some large consequences of minor changes in conditions // *Anal. Biochem.* – 1987. – 161. – P.559–566.
3. *Gerasymenko I.M., Sakhno L.O., Курпа Т.М., Ostapchuk A.N., Khadjiev T.A., Goldenkova-Pavlova I.V., Sheludko Y.V.* Characterization of *Nicotiana tabacum* plants expressing hybrid genes of cyanobacterial $\Delta 9$ or $\Delta 12$ acyl–lipid desaturases and thermostable lichenase // *Russian J. Plant Physiol.* – 2015. – 62, № 3. – P. 283–291.
4. *Los D.A., Murata N.* Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2004. – 1666. – P. 142–157.

5. Maali R.A., Goldenkova-Pavlova I.V., Pchelkin V.P., Tsydendambaev V.D, Los D.A., Nosov A.M. Acyl-lipid Δ 12-desaturase of the cyanobacterium increases the unsaturation degree in transgenic potato (*Solanum tuberosum* L.) // Biologija. – 2007. – 53. – P. 4–7.

УДК 581.165+582.998

**ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ ТА МІКРОКЛОНАЛЬНЕ
РОЗМНОЖЕННЯ *IN VITRO* ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ
CARLINA L.**

Кравець Н.Б., Тулайдан Н.В., Дробик Н.М.

Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка

E-mail: kravets1979n@ukr.net

Загроза знищення окремих популяцій або суттєвого зменшення їхньої чисельності стає реальністю для дедалі більшої кількості видів рослин, особливо вузькоареальних ендеміків, реліктів і таких, що перебувають на межі ареалу поширення. До таких видів належать: відкасник безстебловий (*Carlina acaulis* L), відкасник осотоподібний (*Carlina cirsioides* Klokov) та відкасник татарниколистий (*Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer., Kulcz. et Pawl). Одним із заходів збереження біорізноманітності рослинного світу є введення рослин в культуру *in vitro* та застосування для їх розмноження методу мікроклонування [2].

У роботі як вихідний матеріал нами було використано насіння відкасників, зібране з природних місць зростання: *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* – у с. Гутисько (Бережанський район, Тернопільська область), *C. acaulis* – у с. Лазещина, (Рахівський район, Закарпатська область). Для отримання асептичних проростків насіння відкасників стерилізували за раніше розробленими методиками [3]. Насіння пророщували на агаризованому живильному середовищі Мурасіге, Скуга (МС) [4] з половинним вмістом макро- та мікросолей (МС/2), на світлі за температури +20–+22°C, вологості 80%. Мікроклональне розмноження відкасників проводили шляхом прямого