

*N. M. Luhinich, I. V. Gerush, I. M. Yaremiy, N. V. Davydova*

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University" (BSMU)

#### THE INFLUENCE OF 14 DAYS INTRODUCTION OF MELATONIN ON THE METABOLISM OF GLUTATHION IN THE LIVER OF ALLOXAN DIABETIC RATS

Diabetes mellitus (DM) is one of the most prevalent endocrine disorders in the world. Glutathione is a cofactor of many enzymes involved in the detoxification of active forms of oxygen and its deficiency leads to the progression of diabetes. Published data show that melatonin may play a role in glucose metabolism. Introduction of melatonin inhibits peroxidation of lipids and changes in the activity of antioxidant enzymes.

Therefore, the purpose of study was to evaluate effect of melatonin on the state of the glutathione system in the liver of rats under conditions of aloxane diabetes mellitus.

Experiments were conducted on white outbred sexually mature male rats. The glucose level was measured in the blood. In the liver, the content of reduced glutathione (GSH), activity of glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) and glutathione-S-transferase (GST).

The results of our studies showed that in the liver of rats with diabetes, there was a decrease in the content of GSH and the activity of glutathione-dependent enzymes GP<sub>x</sub>, G-6-PD and GST compared to control rats. The introduction of melatonin intragastrically over a period of 14 days had a normalizing effect on blood glucose level, GSH content and activity of GP<sub>x</sub> in the liver of rats in experimentally alloxane-induced DM.

Melatonin in the dose of 10 mg/kg contributes to the normalization of blood glucose level and some indicators of glutathione antioxidant defense system in the liver of rats in experimentally alloxane-induced DM, which testifies that its effective antioxidant role in this organ.

*Key words: diabetes mellitus, melatonin, alloxan, glutathione, antioxidant system*

Рекомендує до друку

В. В. Грубінко

Надійшла 07.09.2018

УДК: 573:575:57.022: 577+57.042

О. Г. НЕСТЕРЕНКО, С. В. ЛІТВІНОВ, Н. М. РАШИДОВ

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України  
вул. Академіка Заболотного, 148, Київ, 03143

### **АНАЛІЗ АКТИВНОСТІ LTR-РЕТРОТРАНСПОЗОНІВ РОСЛИН ГОРОХУ ПІД ВПЛИВОМ АБІОТИЧНИХ СТРЕСОВИХ ФАКТОРІВ**

Метою роботи було провести порівняльний аналіз змін ДНК у відповідь на стреси різної природи та їх комбінації (осмотичний стрес, іонізуюче опромінення, нагрівання) у геномі гороху на основі дослідження повторюваних елементів- LTR шляхом детекції появи нових ампліконів. Дослідження показали, що різні види стресу та його комбінації можуть активувати ретротранспозони рослин і привести до їх проліферації, зруйнувавши епігенетичний сайленсінг. Найактивніше на стрес реагували ретротраспозони за використання праймерів іPBS2074 та CYCLOP. Серед стресових чинників найефективнішими для активації транспозиції ретротранспозонів виявилися іонізуюче опромінення у високих (20–25 Гр) та низьких (5 Гр) дозах у поєднанні з засоленням та без нього, а також нагрівання та осмотичний шок.

*Ключові слова:* іонізуюче опромінення, осмотичний шок, гіпертермія, *Pisum sativum* L., стрес, ретротранспозони

Стрімке зростання кількості та інтенсивності стресових чинників зумовлює посилення їх впливу на живі організми. Зокрема, це стосується рослинних об'єктів, зміна місця перебування яких, на відміну від тваринних організмів, ускладнена. Наразі дослідження цього питання набуває актуальності. Стресові фактори мають властивість діяти на геном рослин, у результаті чого виникає вплив як на загальний стан організмів, так і на їх цвітіння, врожайність, швидкість старіння, виникнення змін на генетичному та епігенетичному рівнях, що можуть передаватися спадково та проявлятися у наступних поколіннях. Це може бути пов'язано і з мобільними генетичними елементами (МГЕ) рослин, зокрема, LTR-ретротранспозонами (ретротранспозонами з довгими кінцевими повторами (LTR – long terminal repeat)). Вони відіграють важливу роль у зміні структури геному та експресії генів. Існує вірогідність утворення адресних адаптивних мутацій, що генеруються інсерціями мобільних елементів у відповідь на специфічні та неспецифічні стресові впливи. Ретротранспозони є одними з маркерів реакції рослин на стресові фактори, особливо іонізуючу радіацію, осмотичний стрес та підвищення температур.

LTR-ретротранспозони несуть регуляторні сайти, пізнавані деякими ядерними факторами. Крім того, LTR беруть участь у рекомбінаційних процесах, у тому числі в мітозі і в мейозі, утворюючи складні гібриди з різних ретротранспозонів [5]. У даний час є досить велика кількість досліджень, в яких продемонстровано феномен індукції транспозиції LTR-ретротранспозонів різними факторами для різних об'єктів. Активація ретроелементів у рослинному геномі відбувається під впливом різних стресів: зневоднення, низьких або високих температур, впливу фітопатогенів та ін. У деяких дослідженнях показано, що ретротранспозиція є найбільш імовірною причиною соматональної мінливості, індукованої культивуванням *in vitro* [1]. Горох посівний (*Pisum sativum* L.) є важливою сільськогосподарською культурою. Він протягом багатьох років був модельним об'єктом досліджень, не дивлячись на досить великий розмір геному – 4300 Мб. При цьому приблизно половину геному складають повторювані елементи (35–48%, з яких 20–33% – LTR-ретротранспозони). Для дослідження активації мобільності LTR-ретротранспозонів під впливом абіотичних стресових факторів, було відібрано та проаналізовано 10 праймерів. Було знайдено специфічні для бобових та гороху ретротранспозони. Консервативні послідовності з LTR для рослин гороху були застосовані при підборі ПЛІР-праймерів для детекції поліморфізму методом IRAP (inter-retransposon amplified polymorphism). Для проведення PBS (Primer Binding Site) ампліфікації використали праймери, раніше розроблені д-р Календарем Р.М. та ін. [7]. Крім того, були використані універсальні праймери, комплементарні послідовностям PBS-ділянок для LTR ретротранспозонів [6]. Висококонсервативні PBS послідовності характерні для різних сімейств LTR ретротранспозонів, і оскільки тРНК зв'язується з PBS-ділянками для ініціації зворотної транскрипції, послідовність цього регіону комплементарна послідовності 3'-кінця тРНК.

Метою роботи було провести порівняльний аналіз змін ДНК у відповідь на стреси різної природи та їх комбінації (осмотичний стрес, іонізуюче опромінення, нагрівання) у геномі гороху на основі дослідження повторюваних елементів – LTR шляхом детекції появи нових ампліконів.

#### **Матеріал і методи досліджень**

Для досліду було використано 3-денні проростки *P. sativum*), пророщені у рулонній культурі. Для встановлення ступеня прояву реакції рослин на дію стресових чинників було використано декілька абіотичних факторів впливу, зокрема засоленість – занурення у розчин NaCl (0,22 Моль/л) на годину, гіпертермія (занурення у розчин 44 °С на 4 хвилини) на фоні іонізуючого опромінення (0-25 Гр) та без нього. Сформовані експериментальні групи представлено в таблиці 1.

Схема комбінації стресових факторів

Експериментальна група		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Стресові фактори	Х-промені (Гр)	-	-	-	5	5	5	10	10	10	15	15	15	20	20	20	25	25	25
	Сіль (NaCl, mM/l)	-	22	-	-	22	-	-	22	-	-	22	-	-	22	-	22	-	-
	Температура (°C)	-	-	44	-	-	44	-	-	44	-	-	44	-	-	-	-	44	44

Рослини гороху після дії стресорами продовжували культивувати у водній культурі за звичайних умов, при температурі 21±2 °C, з фотоперіодом 15 годин освітлення та 9 годин темряви. Через 2, 12 та 22 доби після впливу стресовими чинниками на проростки гороху з них було виділено тотальну ДНК за стандартною загальновідомою методикою Rogers & Bendich [9]. Якісну та кількісну оцінку ДНК проводили з використанням гель-електрофорезу та спектрофотометра NanoDrop (Thermo Fisher Scientific). Для вивчення фрагментів ДНК, нами було обрано 7 універсальних праймерів, комплементарні послідовностям iPBS ділянок ретротранспозонів [7] а також 3 специфічні пари IRAP праймерів для гороху. Було знайдено специфічні для бобових та гороху ретротранспозони. Назви праймерів і їх нуклеотидні послідовності представлені в таблиці 2.

Таблиця 2

Характеристика праймерів

Назва праймеру	Нуклеотидна послідовність (5' →3' )	Оптимальна температура отжигу, °C	Кількість ампліконів	Кількість нових ампліконів
iPBS2228	CATTGGCTCTTGATACCA	54	11	0
iPBS 2230	TCTAGGCGTCTGATACCA	52	6	0
iPBS 2232	AGAGAGGCTCGGATACCA	55	7	0
iPBS2251	GAACAGGCGATGATACCA	53	8	0
iPBS2249	AACCGACCTCTGATACCA	51	17	0
iPBS2080	CAGACGGCGCCA	63	5	0
iPBS2074	GCTCTGATACCA	49	7	5
CYCLOP	F-CGATATCTCACAATCCCTGTGGAGAC R-GCAAGGAAACGGAGTGAAAGATGC	64	6	3
OGRE	F-TCGCGAGACCATGTCTTTTCCAGGTTTAC R-GTGGGCTGGGCTTTAGTGAGATGCTTTCC	71	10	0
PIGY	F-ACGCTCGTCACATGCCCGTGGCGGTC R-ATCATCAAAGTATCATCCGCCTTAGC	64	4	0

Для проведення ПЛР (полімеразної ланцюгової реакції) використовували 15 мкл реакційної суміші наступного складу: 0.5-1.2 мкл ДНК, 7.5 мкл Maxima Hot Start Master Mix (включає в себе буфер, Taq-полімеразу, dNTP та Mg<sub>2</sub>Cl), 1,2 мкл праймерів (Thermo Fisher Scientific). З метою забезпечення максимального виходу і специфічності продукту в кожному конкретному випадку проведення ПЛР було оптимізувано умови реакції, зокрема, температуру отжигу для кожного використаного праймера та кількість циклів. Загалом, ампліфікацію проводили при умовах первинної денатурації при 95°C 3-5 хвилин, далі 25-35 циклів (денатурація при 95°C 25-45 секунд, отжиг залежно від праймерів при відповідних температурах 30-70 секунд, та елонгації при 72°C протягом 2-2,5 хвилин), кінцевій елонгації при 72°C 10 хвилин з подальшим зберіганням при 4 °C. Для розділення продуктів ПЛР-реакції проводився горизонтальний електрофорез в 1-2%-вому агарозному гелі (концентрації якого також варіювали та підбиралася для оптимізації візуалізації фрагментів ДНК під час сканування), у присутності бромистого етидію. Гель поміщали до камери з 1xTE-буфером (10 mM Tris -HCl, pH 7,5-8,0, 1 mM EDTA). Електрофорез проходив за постійної напруги 60-70 В протягом 60-150 хвилин. Розміри ампліконів аналізованих зразків ДНК визначали шляхом співставлення їх електрофоретичної рухливості в гелі з рухливістю маркерів – фрагментів ДНК відомої молекулярної маси з використанням програми Image J. В якості маркера молекулярних мас використовували «GeneRuler 100 bp (Plus) DNA Ladder», (Thermo Fisher Scientific). Аналізувалися отримані в результаті ампліфікації електрофореграми з чітко помітними та розділеними ампліконами, кількість яких варіювала в залежності від використання відповідного праймера. Кількість дослідів варіювала від 2 до 5 для кожного праймера (пари праймерів).

#### **Результати досліджень та їх обговорення**

Всі МГЕ за способом переміщення можуть бути згруповані в два основні класи: ретротранспозони (мають ретровірусне походження), що переміщуються за допомогою РНК-посередника за принципом «копіювання та вставка», і ДНК транспозони, коли переміщується безпосередньо ДНК. Серед LTR-ретротранспозонів цікавими та найбільш багаточисленними є ретротранспозони *Ty3/gypsy*, зокрема *OGRE* (33%), *PIGY* (1,5%) та *CYCLOP* (близько 1%). LTR-ретротранспозони відіграють певну роль у забезпеченні генетичної пластичності та адаптації у відповідь на екологічний стрес [12, 10]. Наразі проведено дослідження поведінки LTR-ретротранспозонів залежно від часу впливу стресорами та їх комбінацій, точки онтогенезу (віддаленості за часом від моменту впливу). Паралельно з іншими методами спостереження за організмами такі дослідження дають можливість зрозуміти роль МГЕ у генетичній мінливості рослин та динаміку їх геномів; у формуванні відповіді особин у процесі адаптації до стресорів. Для молекулярного аналізу було виділено ДНК для кожної з груп рослин та проведено ПЛР екстрагованої ДНК з використанням специфічних праймерів для LTR-ретротранспозонів.

У попередніх дослідженнях аналіз морфометричних показників проростків на модифікуючу дію іонізуючого випромінювання у формуванні реакції рослин на дію інших стресових факторів показав, що рівень відхилення від адитивності в бік синергізму або антагонізму найбільш яскраво спостерігається у рослин через дві та вісім діб після дії стресорами [15, 16]. Метод іPBS-ампліфікації заснований на фактично універсальній присутності тРНК-комплексу як сайту зв'язування праймерів зі зворотною транскриптазою як у ретровірусів, так і в LTR-ретротранспозонів, що необхідно для ініціації зворотної транскрипції під час циклу реплікації. Висококонсервативні PBS послідовності характерні для різних сімейств LTR ретротранспозонів і, оскільки тРНК зв'язується з PBS-ділянкою для ініціації зворотної транскрипції, послідовність цього регіону комплементарна послідовності 3'-кінця тРНК [6]. Під час аналізу за IRAP-PCR маркерам ДНК рослин з 15 експериментальних груп через 3 різні проміжки часу використано 3 пари праймерів та за іPBS-PCR – 7 праймерів. У результаті отримано загалом 81 амплікон різних розмірів, при цьому загальна кількість нових фрагментів склала 8 шт. та була характерна для середньої частини спектра (склала приблизно 350-1650 п.н.). Найбільша кількість ампліконів виявилася при використанні іPBS праймеру 2249, а найвища інформативність праймера була характерна для іPBS 2074 під час аналізу ДНК рослин, які культивували протягом 2 днів після впливу стресорів.

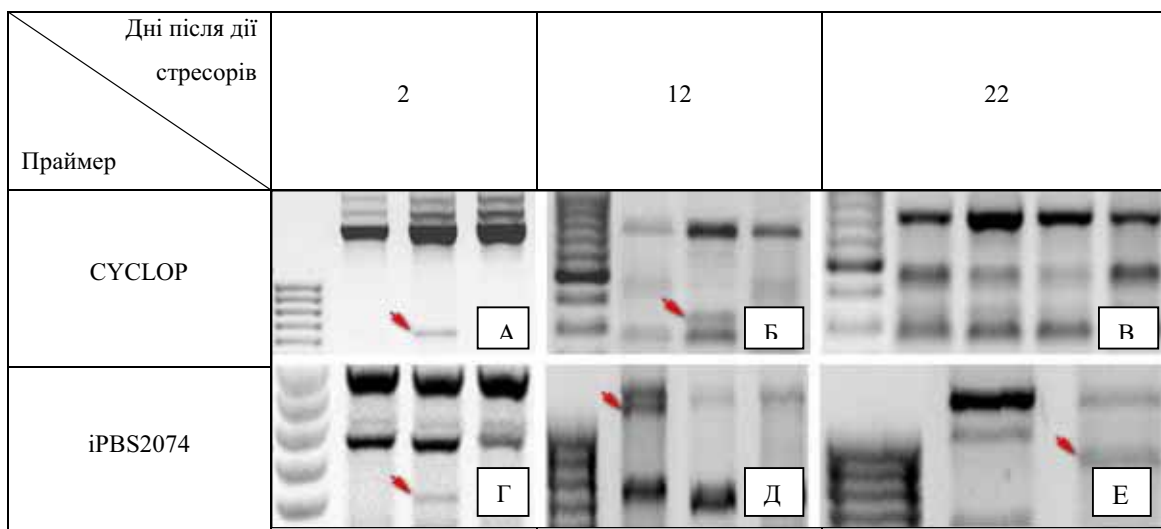


Рисунок. Електрофореграма продуктів ПЛР-аналізу тотальної ДНК рослин з використанням праймерів: 2074: А – 2 дні, Б – 12 днів, В – 22 дні; CYCLOP: Г – 2 дні, Д – 12 днів, Е – 22 дні.

З віддаленням за часом від моменту впливу стресового чинника ми спостерігаємо «вирівнювання» загальної картини морфометричних змін, тобто вся система, отримавши потужний поштовх у вигляді декількох гострих впливів стресора, почала поступове відновлення до характерних показників опромінених у відповідних дозах груп рослин. Однак, кількість переміщених (скопійованих) LTR ретротранспозонів очікувано не знизилася, адже інсерції цих МГЕ мають стабільний характер, хоча на реалізацію відповіді геному і потрібен час. Маркери iPBS (inter primer binding site) являються специфічними до сайтів зв'язування т-РНК, тобто після вставки попередня копія залишається. Мутації, що створюються інсерціями ретротранспозону, виявляються стабільними на відміну від мутацій, що викликаються ДНК-транспозонами, оскільки останні при переміщенні вирізають свою вихідну копію з геному і вже потім вбудовуються в інший сайт, тоді як копія ретротранспозону, вбудувавшись, вже нікуди не зникає [8].

Фрагменти ДНК після праймера 2074 породемонстрували більшу частоту виникнення фрагментів. Через два дні після опромінення та засолення/нагрівання на електрофореграмі виник амплікон розміром близько 700 п.н. у рослин після опромінення у дозі 20 Гр. Через 12 діб після впливу стресорів було виявлено нові фрагменти для групи 25 Гр+NaCl розміром 1280 п.н., а для груп NaCl та 5 Гр – амплікони близько 1650 та 1550 п.н. відповідно. При цьому для групи засолених рослин була характерна відсутність фрагменту розміром близько 350 п.н. Очевидно, це може бути пояснено тим, що у клітинах еволюційно доцільним було виникнення механізму, що був би направлений на генетичний контроль процесів транспозиції і зниження негативних наслідків від переміщення мобільних елементів. Тому відсутність старого фрагменту може спостерігатися через метилювання ДНК – найбільш значущий та глобальний шлях контролю за поведінкою МГЕ [13]. Через 22 дні поява амплікону у розмірі 750 п.н. відбулася для групи 20 Гр+NaCl з одночасною відсутністю дещо більшого амплікону у приблизна 800 п.н.

CYCLOP порівняно новий ретротранспозон, досить поширений у деяких бобових та представлений 5000 копій у геномі гороху [2]. Електрофореграма за участі праймера CYCLOP продемонструвала наступне. Амплікон близько 700 п.н. з'явився на електрофореграмі у ДНК рослин через дві доби після температурного стресу. Через 12 діб нові фрагменти розмірами близько 380 та 1200 п.н. було відмічено для групи рослин 5+NaCl. За 22 дні після пошкоджуючих чинників значних змін для ДНК з використанням CYCLOP виявлено не було.

Показано, що при радіоіндукованій активації ретротранспозонів беруть участь транскрипційні фактори теплового шоку і NF- $\kappa$ B [3, 14]. МГЕ використовують для власної активації механізми контролю генної експресії, як транскрипційні фактори і метилування ДНК, а також сприйнятливі до розривів ДНК [19]. При використанні праймера Pigu, ДНК-профілі гороху через 2, 12, 22 доби після дії стресорами за кількістю ампліконів не змінювалися для жодної з груп та стабільно становила 4. Також стійкими до активації мобільності стресорами виявилися праймери 2228, 2230, 2232, 2251, 2249, 2080, ogre та pigu. Можливо, знаходячись у ділянках висококонсервативного гетерохроматину, вони виявилися менш доступними для ферментів. Крім того, існує висока ймовірність втрати ретротранспозоном своєї активності. Відомо, що вставка ретротранспозону поблизу гена може істотно впливати на його експресію. У випадку вбудовування ретротранспозону всередині самого гена може безпосередньо змінитися його генна структура і функції, що може привести до утворення мутацій та до руйнування епігенетичного сайленсінгу [6]. Регуляторні послідовності є досить варіабельними, що може вказувати і на те, що ретротранспозони також здатні до розвитку шляхом модифікації власних регуляторних елементів [4]. Дослідниками було виділено ретротранспозон типу Ty1-Copia, названий Ttd1a, що активізується у відповідь на засолення у рослин. Вони показали, що він розташований поруч з геном, що відповідає за стійкість. Мобілізація цього елемента може відігравати важливу роль у реакції-відповіді на екологічні стреси [11]. Отримані дані демонструють роль стресорів у появі нових ампліконів, відповідно, перенесенню ретротранспозонів, у відповідь на радіацію, засолення, підвищену температуру тощо. Ці дані підтверджують, що рівень пристосування до змін навколишнього середовища може визначатися не лише за рахунок епігенетичної регуляції геному в цілому [18], але і за рахунок мобільності LTR ретротранспозонів рослин та вже за їх безпосереднім впливом на геном живителя. Зміни у послідовності ДНК, отримані в результаті транспозиції LTR-ретротранспозонів, можуть мати як негативний вплив, так і відігравати позитивну роль у індукції адаптивних процесів та формуванні захисної відповіді рослинного організму через потенційне втручання у функції генів і геномів у процесі онтогенезу. У зв'язку з генетичною нестабільністю, в свою чергу, можуть проявлятися такі радіобіологічні реакції, як гормезис, адаптивна відповідь або радіаційно-індуковане старіння [15]. Результати дослідження свідчать про підвищення мобільності МГЕ гороху у відповідь на абіотичні стресові чинники, зокрема опромінення та осмотичний стрес. Активація ретротранспозонів у відповідь на стресовий вплив визначається здатністю їх промоторів реагувати на сигнальні шляхи, які регулюють адаптацію рослин до абіотичних стресів.

### Висновки

1. Дослідження показали, що різні види стресу та його комбінації (засолення, температурні зміни, радіація) можуть активувати ретротранспозони рослин і привести до їх проліферації, зруйнувавши епігенетичний сайленсінг.
2. Найбільшу активну реакцію на вплив стресових чинників виявили ретротранспозони за умов використання праймерів iPBS2074 та CYCLOP. При цьому виникнення найбільшої кількості нових ампліконів спостерігали через 2-12 діб після впливу стресорами.
3. Серед стресових чинників найефективнішими для активації транспозиції ретротранспозонів виявилися іонізуюче опромінення у високих (20-25 Гр) та низьких (5 Гр) дозах у поєднанні з засоленням та без нього, а також нагрівання та осмотичний шок.

1. Campbell B.C., LeMare S., Piperidis G., Godwin I.D. IRAP, a retrotransposon-based marker system for the detection of somaclonal variation in barley // *Mol. Breeding*. — 2011. — 27. — P. 193—206.
2. Chavanne F., Zhang D.X., Liaud M.F., Cerff R. Structure and evolution of Cyclops: a novel giant retrotransposon of the Ty3/Gypsy family highly amplified in pea and other legume species // *Plant Mol. Biol.* 1998. — 37, № 2. — P. 363—375.
3. Faure E., Best-Belpomme M., Champion S. X-irradiation activates the Drosophila 1731 retrotransposon LTR and stimulates secretion of an extra-cellular factor that induces the 1731-LTR transcription in nonirradiated cells // *J. Biochem. (Tokyo)*. — 1996. — 120, № 2. P. 313—319.
4. Grandbastien M. Activation of plant retrotransposons under stress conditions // *Trends Plant Sci.* — 1998. — 3. — P. 181—187. [DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385\(98\)01232-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385(98)01232-1)].

5. Hora A., Malik C.P. Evaluation of genetic relationship between *Trigonella Melilotus* complex using CCMP markers // *Plant Tissue Culture and Biotechnology*. — 2013. — 23, № 1. — P. 59—66.
6. Kalendar R., Schulman A.H. Transposon-based tagging IRAP, REMAP, and iPBS. // *Methods in Molecular Biology*. — 2014. — 1115. — P. 233—255.
7. Kalendar R., Antonius K., Smýkal P., Schulman A. iPBS: a universal method for DNA Fingerprinting and retrotransposon isolation // *Theor. Appl. Genet.* — 2010. — 121. — 1419—1430 (Published online) [DOI 10.1007/s00122-010-1398-2 123]
8. Llorens C., Futami R., Covelli L. The Gypsy Database (GyDB) of Mobile Genetic Elements: Release 2.0 // *Nucl. Acids Res. (NARESE)*. — 2011. — 39, № 1. — P.70-74.
9. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from plant, fungal and algal tissues. In: , Gelvin SB, Schilperoort RA (eds) // *Plant Molecular Biology Manual*. Boston, MA: Kluwer Academic Publishers. — 1994. — 1. — P. 1-8.
10. Ungerer M.C., Kawakami T. Transcriptional Dynamics of LTR Retrotransposons in Early Generation and Ancient Sunflower Hybrids // *Genome Biol. Evol.* — 2013. — 5, № 2. — P. 329—337.
11. Woodrow P., Pontecorvo G., Ciarmiello L.F., Fuggi A., Carillo P. Ttd1a promoter is involved in DNA-protein binding by salt and light stress // *Mol. Biol. Rep.* — 2011. — Vol. 38. — P. 3787—3794.
12. Woodrow P., Pontecorvo G., Fantaccione S., Fuggi A., Kafantaris I., Parasi D., Carillo P. Polymorphism of a new Ty-1-copia retrotransposon in durum wheat under salt and light stresses // *Theor. Appl. Genet.* — 2010. — P.311—322.
13. Yoder J.A., Walsh C.P., Bestor T.H. Cytosine methylation and the ecology of intragenomic parasites // *Trends Genet.*, 1997. — 13, № 8. — P. 335—340
14. Васи́льева Л.А., Ратнер В.А., Бубенщикова Е.В. Стрессовая индукция транспозиций ретротранспозонов дрозофилы: реальность явления, характерные особенности и возможная роль в быстрой эволюции // *Генетика*. — 1997. — 33, № 8. — С. 108—1093.
15. Зайнуллин В.Г. Генетические эффекты хронического облучения в малых дозах ионизирующего излучения. — СПб.: Наука, 1998. — 100 с.
16. Нестеренко О. Г., Рашидов Н. М. визначення кореляції між вмістом проліну та води у коренях *Pisum sativum* L. під впливом абіотичних стресових факторів // *Біологічні системи*. — 2017. — 9, № 8. — С. 81—196.
17. Нестеренко О. Г., Рашидов Н. М. Реакція рослин гороху на дію сольового і термічного стресових факторів залежно від попереднього іонізуючого опромінення // *Біологічні Студії*. — 2018. — 12. № 1
18. Соколова Д.А., Кравец А.П. Роль эпигенетического полиморфизма проростков кукурузы в реакциях на УФ-С облучение ISSN 2308-7099. *Физиология растений и генетика*. — 2014. — 46, № 3. — С. 221—229.
19. Юрченко Н.Н., Коваленко Л.В., Захаров И.К. Мобильные генетические элементы : нестабильность генов и геномов // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. — 2011. — 15, № 2. — С. 261—270.

*O. G. Nesterenko, S. V. Litvinov, N. M. Rashydov*

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering NAS of Ukraine

#### ANALYSIS OF THE LTR-RETROTRANSPOSONS MOBILITY IN PLANTS AFTER ABIOTIC STRESS FACTORS IMPACT

The aim of this work was to investigate a comparative analysis of DNA changes in response to different origin stresses and their combinations (osmotic stress, ionizing radiation, heating) in the genome of *Pisum sativum*. It can be done using repetitive mobile elements LTR-retrotransposons and detecting the appearance of new amplicons on electrophoregrams.

Investigation have shown that various types of acute stressors and their combinations can activate retrotransposons mobility in plants and lead to their proliferation by “switching off” epigenetic silencing. Most reactive ability to stress were retrotransposons after using iPBS2074 and CYCLOP primers.

Among the stress factors and their doses the most effective for activating transposition of retrotransposons affected ionizing radiation in high (20-25 Gy) and low (5 Gy) doses combined with salinity or without it as well as heating and osmotic shocks by separately were applied.

*Key words: ionizing irradiation, osmotic shock, hyperthermia, Pisum sativum L., stress, retrotransposon*

Рекомендує до друку

Надійшла 19.06.2018

Н. М. Дробик