

varieties in the open ground of the Western Forest-steppe are studied in the article. Also a comprehensive assessment of the decorative features, resistance to diseases, and compliance with the conditions of cultivation were studied. The most viable and decorative varieties of tulips are found out for growing in open soil. The study of the growth of tulips found that the plants reached a height of 13 cm to 38 cm. The lowest were representatives of the *Fabio* variety with an average length of stems 17,8 cm, and the most highly developed was the variety *Big love* – with pedicels 36 cm. Almost all tulip bulbs of the *Versace* variety formed additional smaller flower peduncles, each of which is fully bloom, which increases the decorative qualities of this variety. Flowering of all varieties ended on average 57 days after the appearance of leaves and generally lasted for 12–20 days. The smallest duration of flowering had a *Versace* variety – 9 days, the largest *Fabio* – 17 days.

Obviously, the climatic conditions that emerged in the spring of 2017 were not very favorable for disclosing all the decorative features of the studied varieties of tulips. For final conclusions on the suitability of the *Big Love*, *Double focus*, *Versace*, *Fabio* and *Esprit* varieties for growing in the open ground of the Western Forest Steppe, additional observations are needed over the next few years.

Key words: tulip, decorative estimation.

Стаття надійшла до редколегії
21.10.2017 р.

УДК 581.1:58.02

Лариса Сергєєва,
Марія Дикун,
Лариса Броннікова

Біотехнологія пшениці. Протеїновий пул тканин рослин і клітинних культур

У статті здійснено порівняльне дослідження інформативності двох методів електрофорезу білка (Попереля й Леммлі) під час оцінки різних тканин пшениці, інтактної рослини та клітинних культур. Відзначено, що аналіз клітинних культур потребує підбору оптимального методу аналізу. У цьому випадку протеїновий пул може бути маркером функціонального стану клітинної культури.

Ключові слова: пшениця, рослинні тканини, клітинна культура, білковий спектр, електрофорез.

Постановка наукової проблеми та її значення. Біотехнологічні методи *in vitro* за своєю популярністю наразі починають випереджати традиційні методи отримання генетично змінених форм рослин. Однак, як і будь-який метод, вони потребують постійного вдосконалення.

Загалом система *in vitro* є комплексним чинником, котрий впливає на генетичну програму рослини. Отримання клітинних культур (дедиференціація) із різноманітних органів сформованих рослин або незрілих тканин, маніпуляції з ними та подальша регенерація рослин із новими характеристиками є повним алгоритмом дослідження/технології. Суттєвих успіхів на цьому терені досягнуто з використанням значного спектра генотипів. У випадку біотехнологій злакових культур справа складніша. Незважаючи на приналежність до спільної родини *Graminae*, культури мають свої виняткові властивості, які потрібно враховувати. Тому при використанні клітинних та/або генних технологій особливу увагу потрібно зосереджувати на об'єктах маніпуляцій, оптимізації систем їх культивування та тестування. Під час вивчення конкретних фізіологічних процесів досягнення успіху можливе лише за умови вибору незаперечних показників, пов'язаних із ними.

Аналіз досліджень із цієї проблеми. Біотехнологія пшениці *in vitro* активно розвивається. Отримання клітинних культур пшениці як таке було метою низки досліджень [1–6]. Наразі процедура одержання калусу із сортів пшениці відпрацьована, хоча постійно оптимізується. Клітинні культури пшениці стабілізуються достатньо швидко. Тому, використовуючи різні за складом живильні середовища, досягають отримання різного за якістю (морфогенними показниками) калусу. Так, для збільшення виходу неморфогенного калусу найбільш прийнятним було середовище В₅ [2; 4].

Розвиток біологічної особини перебуває під постійним генетичним контролем. Його метаболізм прямо й опосередковано залежить від присутності та функціонування широкого спектра протеїнів. При цьому потрібно врахувати той факт, що роль багатьох не встановлена, а функції інших передивляються (уточнюються).

Тут, однак, слід внести застереження. Протеїни пшениці істотно відрізняються за своєю біологічною сутністю. Окремий клас складають запасні білки – глютеніни та гліadini [7–10]. Вони використовуються зародком під час його проростання. Установлено, що всі запасні білки синтезуються із

сигнальною послідовністю з 19–21 амінокислот, серед яких у домені з повторами переважають глутамін і пролін. Також показано, що гени запасних білків мають окреслену трьохдоменну організацію: два домени містять унікальні послідовності, а третій, центральний, об'єднує множинні повтори [11–13].

Клітинна культура докорінно відрізняється від інтактної рослини та насіння, що проростає. Клітинна популяція перебуває в постійному розвитку. Одна стадія клітинного циклу змінює попередню. При цьому подальший розвиток залежить від успішного протікання попередньої стадії.

Очевидно цей динамізм підтримується синтезом відповідних протеїнів. Найпростіше цей факт установлюється при електрофорезі. Однак культуральні умови *in vitro* призводять до істотного збіднення протеїнового пулу. Тому під час біотехнологічних маніпуляцій, передусім, варто звернути увагу на методи оцінювання.

Мета й завдання дослідження. У зв'язку з цим **метою роботи** було порівняння білкового пулу клітинних культур пшениці за допомогою електрофорезу, а ключовим **завданням** – визначення оптимального методу оцінки.

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження. Об'єктом дослідження були різні тканини пшениці, а саме: зрілі зернівки (нативні, цілі); молоді проростки, відділені від ендосперму, ендосперм зернівок, калусні культури, отримані з пророщених зрілих зернівок, а також їхні білкові спектри. Білкові препарати отримували за стандартною описаною методикою [10]. Електрофорез здійснювали за двома варіантами [14, 15]. До експерименту залучали сорти пшениці, отримані в Інституті фізіології рослин і генетики НАН України.

На рис. 1 наведено білковий спектр тканин пшениці різних генотипів. Видно суттєве обмеження протеїнового пулу в тканинах зрілого калусу, отриманого з різних генотипів пшениці. Оскільки явище тотожне для всіх сортів, то його можна пояснити спеціалізацією, пов'язаною з функціонуванням культур *in vitro*. Хоча відомо, що система *in vitro* може здійснювати певний тиск на об'єкт вирощування, це явище, на нашу думку, не є наслідком стресового впливу, оскільки таке середовище попередньо оптимізували для посилення росту культур.

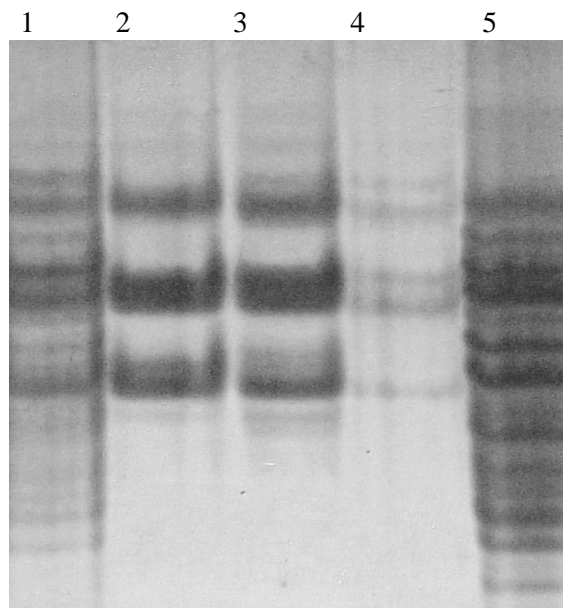


Рис. 1. Спектр водорозчинних білків пшениці:

1, 5 – зріла зернівка; 2–4 – калусні культури; 1, 2 – генотип Фаворитка; 3, 5 – генотип Золотоколоса;
4 – генотип Подолянка.

Калусні культури аналізували під час стадії експоненціального росту (розтягнення). Ця стадія відзначається максимальною різноманітністю метаболічних реакцій [16]. Видно деякі генотипові розбіжності, що також може вказувати на відсутність стресу. Електрофорез здійснювали за методом [14]. На етапі встановлення типу оцінюваних тканин (зріла зернівка, калус) цей підхід виявився інформативним.

Далі зрілу зернівку замочували та пророщували. Після візуалізації частин проростка об'єкт дослідження розділяли на фрагменти, у яких аналізували протеїновий склад (рис. 2).

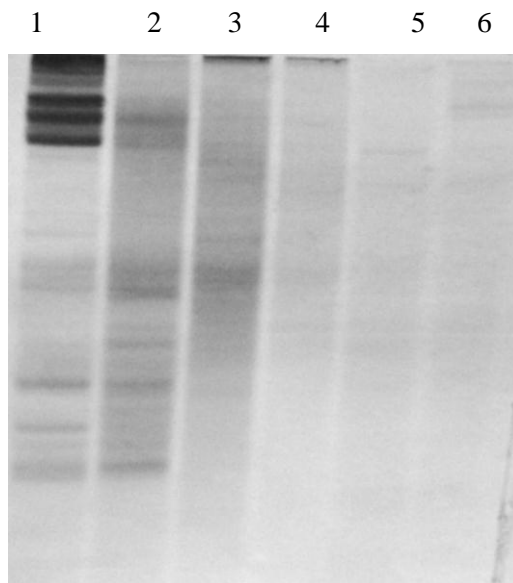


Рис. 2. Спектр водорозчинних білків пшениці:

1 – зріла зернівка, суха; 2 – ендосперм зрілої зернівки після замочування та виділення проростка;
3 – проросток, надземна частина; 4 – проросток, корінь; 5, 6 – калус, ініційований зі зрілої зернівки;
1–5 – генотип Золотоколоса; 6 – генотип Донська.

На електрофореграмі простежуємо зменшення протеїнового пулу як у частинах проростка, так і в клітинних культурах. Оскільки аналіз здійснювали на ранній стадії проростання (3 доби), то можна припустити, що в тканинах проростка й калусі були відсутні запасні білки, що є складовою частиною ендосперму. Отже, цей метод оцінювання тканин, котрі активно розвиваються, виявився не придатним [14]. Це явище закономірне, оскільки метод був оптимізований для аналізу зерна.

Клітинні культури пшениці, обрані для тестування, нормально розвивалися. До проведення аналізу вони витримали три пасажування після індукції калусу. За весь строк культивування варіанти не проявляли ознак деградації. Отже, їхній загальний метаболізм підтримувався на потрібному рівні, у тому числі й синтез білка.

Про це може свідчити рис. 3, який відображає протеїновий пул різних тканин пшениці. Аналіз здійснено іншим методом [15]. Це особливо актуально, оскільки до водорозчинних білків відносять ферменти вуглецевого й азотного обмінів [2, 9, 17]. На треках 3 та 4 показано спектр протеїнів клітинних культур. Дані електрофореграми вказують на активну проліферацію клітин у системі *in vitro*. Простежено навіть деякі дрібні генотипові особливості.

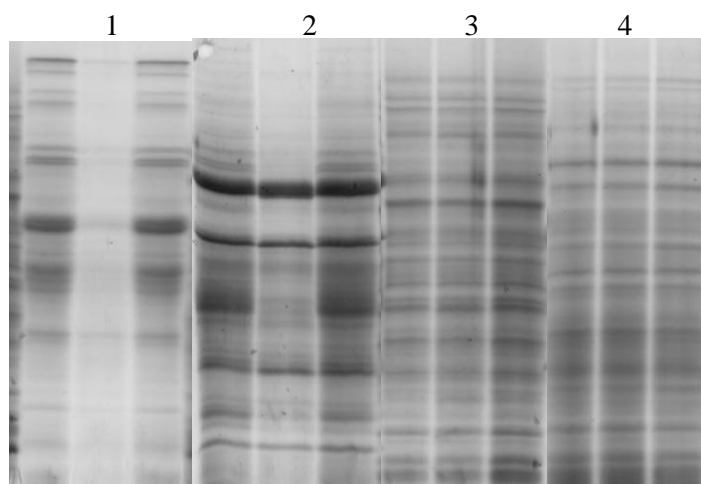


Рис. 3. Спектр водорозчинних білків пшениці:

1 – зріла зернівка, суха; 2 – ендосперм зрілої зернівки після замочування та виділення проростка;
3, 4 – калус, ініційований зі зрілих зернівок; 3 – генотип Золотоколоса; 4 – генотип Донська

Висновки та перспективи подальшого дослідження. Отже, білковий пул є чітким відображенням стану клітинної культури. У ході проведених досліджень встановлено: 1 – до напрямів вибору/оптимізації параметрів системи *in vitro* мають долучатися методи аналізу показників, пов'язаних із синтезом білка; 2 – характеристика протейнового пулу клітин може бути маркером життєдіяльності культури.

Ці висновки можуть у подальшому бути основою для визначення факту стресостійкості рослин, а також деяких механізмів, спряжених із ним. Для цього мають бути ідентифіковані конкретні поліпептиди та їхні характеристики.

Джерела та література

1. Терлецкая Н. В. Неспецифические реакции зерновых злаков на абиотические стрессы *in vivo* и *in vitro* / Н. В. Терлецкая. – Алматы : 2012 – 208 с.
2. Larkin P. J. Somaclonal variation in crop improvement / P. J. Larkin, W. R. Scowcroft // See Ref. – 1982. – 21. – P. 289–314.
3. Рахимбаев И. Р. Биотехнология зерновых культур / И. Р. Рахимбаев, Ш. Тивари, Н. К. Бишимбаева и др. – Алма-Ата : Гылым, 1992. – 240 с.
4. Кушнарченко С. В. Морфогенез и регенерация в культуре тканей пшеницы : автореф. дис. ... канд. биол. наук. / С. В. Кушнарченко. – Душанбе, 1990. – 22 с.
5. Волощук Г. Д. Суспензійна культура пшениці *Triticum aestivum* L. та її використання в генетико-селекційних дослідженнях : автореф. дис. ... канд. біол. наук / Г. Д. Волощук. – Київ, 2000. – 20 с.
6. Heyser J. W. Long-term, high-frequency plant regeneration and the induction of somatic embryogenesis in callus cultures of wheat (*Triticum aestivum* L.) / J. W. Heyser, M. W. Nabors, C. Mac Kinnon et al. // Z. Pflanzenzüchtg. – 1985. – 94. – P. 218–233.
7. Новосельская-Драгович А. Ю. Генетика и геномика пшеницы: запасные белки, экологическая пластичность и иммунитет / А. Ю. Новосельская-Драгович // Генетика. – 2015. – 51, № 5. – С. 568–583.
8. Ribeiro M. One hundred years of grain omics: identifying the glutes that feed the / M. Ribeiro, J. Miranda, G.-J. Branlard // Proteome Res. – Москва, 2013. – 12. – P. 4702–4716.
9. Shewry P. R. Wheat / P. R. Shewry // J. Exp. Bot. – 2009. – 60, № 6. – P. 1537–1553.
10. Созинов А. А. Полиморфизм проламинов и селекция / А. А. Созинов, Ф. А. Попереля // Вестник сельскохозяйственной науки. – 1979. – 10. – С. 21–34.
11. Branchley R. Analysis of the bread wheat genome using whole genome shot-gun sequencing / R. Branchley, M. Spannagl, M. Pfeifer et al. // Nature. – 2012. – 491 (7426). – P. 705–710.
12. D'Ovidio R. Sequence similarity between allelic *Glu-B3* genes related to quality properties of durum wheat / R. D'Ovidio, C. Marchitelli L. Ercoli Cardelli, E. Porceddi // Theor. Appl. Genet. – 1999. – 98. – P. 455–461.
13. Anderson O. D. The wheat ω -gliadine genes: structure and EST analysis / O. D. Anderson, Y. Q. Gu, X. Kong [et al.]. // Funct. Integr. Genomics. – 2009. – 9. – P. 397–410.
14. Попереля Ф. А. Методические указания по электрофорезам гелиантина зерна кукурузы для определения процента гибридности / Ф. А. Попереля, Ю. А. Асыка. – Москва, 1988 – С. 4–6.
15. Laemmli V. K. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4 / V. K. Laemmli // Nature. – 1970. – 227, 52–59 – P. 680.
16. Сергеева Л. Е. Изменения культуры клеток под действием стресса / Л. Е. Сергеева. – Киев : ЛОГОС, 2001. – 100 с.
17. Николаев Л. А. Биокатализаторы и их модели : учеб. пособ. / Л. А. Николаев. – Москва : Высш. шк., 1968 – 196 с.

Сергеева Лариса, Дыкун Мария, Бронникова Лариса. Биотехнология пшеницы. Протеиновый пул тканей растений и клеточных культур. Клеточные культуры являются самодостаточным предметом исследования, с одной стороны, а также могут быть составляющими биотехнологических методологий получения генетически изменённых форм растений. Клеточные культуры дают возможность анализировать физиологические и биохимические процессы клеточного уровня. При этом такие события происходят в клетках, которые активно делятся и растут. Отдельные показатели клеточного метаболизма могут быть адекватными маркерами нормального/стрессового/паталогического состояния клеточной популяции. Динамичная клеточная культура существенно отличается от тканей интактного растения, которые специализированны и не делятся. Манипуляции в системе *in vitro* требуют постоянного контроля и модификаций для каждого вида растений. Биотехнология пшеницы *in vitro* занимает в последнее время ключевые позиции. Исследуются как ткани растения, так и клеточные культуры. Предметом настоящей работы было сравнительное исследование информативности двух методов электрофореза белков (Попереля и Лэммли) при оценке различных тканей пшеницы; интактного растения и клеточных культур. Отмечается, что анализ клеточных культур требует подбора оптимального метода анализа. В этом случае протеиновый пул может быть маркером функционального состояния клеточной культуры.

Ключевые слова: пшеница, растительные ткани, клеточная культура, белковый спектр, электрофорез.

Sergeeva Larisa, Dykun Maria, Bronnikova Larisa. The Wheat Biotechnology. The Protein Pools of Plants Tissues and cell Cultures. Cell cultures are completely sufficient objects of the investigation, from one hand. From another, they may be units of biotechnological experiments directed to obtaining genetically modified plant forms. Cell cultures ensure to conduct the investigations of physiological and biochemical processes of cellular level. At the same time those events develop in cells that divide and grow actively. Some metabolism parameters are the adequate markers of normal/stress/pathological states of cell population. Cell culture with its dynamics considerably differs from intact plant tissues with their special functions. So, *in vitro* manipulations need regular control and proper modifications for any plant. Wheat biotechnology *in vitro* becomes advanced approach last time. Wheat plant tissues as well as wheat cultures there were detected. Two electrophoresis methods (Poperelia and Laemmli) for protein pools analyses were compared. The objects of investigation were different wheat tissues and their cell cultures. There was marked that the optimal test is a marker of functional status of cell culture.

Key words: wheat, plant tissues, cell culture, protein pool, electrophoresis.

Стаття надійшла до редколегії
09.10.2017 р.

УДК 582.26-.27(477.81)

**Інна Толочик,
Віталій Володимирець**

Видовий склад угруповань водоростей р. Стир у межах Рівненської області

Наведено результати дослідження видового складу угруповань водоростей середньої течії р. Стир у межах Волинської височини та нижньої течії в межах Волинського Полісся на території Рівненської області. Установлено, що фітопланктон річки переважно сформований за участю видів *Bacillariophyta*, меншою є роль видів відділу *Chlorophyta* й *Euglenophyta*. Зростанню видової різноманітності планктонних водоростей сприяють наявність мілководь і розвиток вищої водної та прибережно-водної рослинності.

Ключові слова: видовий склад, фітомаса, угруповання водоростей, планктон, річка Стир, Рівненська область.

Постановка наукової проблеми та її значення. Фітопланктон – важливий компонент водних проточних екосистем, зокрема річок. Його види разом із вищими водними рослинами складають автотрофний блок і певною мірою визначають продуктивність річкових систем. Водночас види фітопланктону досить чутливо реагують на зміни у водному середовищі, що дає підставу використовувати їх як фітоіндикатори його стану [2]. Застосування автотрофних гідробіонтів для оцінки екологічного стану екосистем передбачено Водною рамковою директивою Європейського Союзу [13]. Тому вивчення видового складу та чисельності річкового фітопланктону дає змогу певною мірою оцінити реальний стан конкретної річки.

Аналіз досліджень цієї проблеми. Значний внесок у сучасне вивчення альгофлори України в цілому зробили С. П. Вассер, П. М. Царенко [3]. Методи визначення характеристик угруповань водних водоростей розкрито в публікаціях В. Д. Романенка зі співавторами [9], В. І. Щербака [11]. Вивченням прісноводних червоних водоростей Українського Полісся займався Д. О. Капустін [5], діатомові водорості регіону вивчала Л. Н. Бахтіярова [14]. Узагальнення відомостей про частину систематичних груп водоростей України відображено в колективній монографії «Algae of Ukraine» (2006 р.) [12].

Аналізуючи повноту вивчення альгофлори різних регіонів України, потрібно зауважити, що чимало праць із цієї тематики стосується території Західної України (С. О. Афанасьєв [1]). Водорості планктону озера Скоринь Волинської області досліджував М. О. Струк [15]. Різноманіття водоростей Рівненського природного заповідника вивчав Ю. П. Малахов [8].

Варто відзначити праці стосовно вивчення фітопланктону малих річок (зокрема Житомирської й Хмельницької областей) Ю. С. Шелюка [10]. Аналіз водоростей Поліського природного заповідника проводили Д. О. Капустін, П. М. Царенко [6].

Водночас потрібно зазначити, що літературні відомості про альгофлору р. Стир відсутні. Лише маємо результати вивчення фітопланктону р. Ікви, правої притоки Стиру, які наведено в праці Ю. Ф. Громової та О. В. Мантурової [4].