ційним методом на спектрофотометрі «Z – 888», Японія. Результати одержаних даних наведені у табл.3.

Серед зольних елементів у борошна із солоду вівса та пшениці переважають P, K та Mg, при цьому вміст цих мікроелементів у вівсяному солоді більше на 30-35%. Щодо вмісту мікроелементів, то за цим показником перше місце займає пшеничний солод.

**У вітчизняній та зарубіжній науковій літературі зазначається, що в процесі пророщування зерна зростає вміст вітамінів.**

З літературних джерел відомо, що при пророщуванні зерна в кілька разів збільшується кількість вітамінів, зокрема групи В [ 5]. Відомо, що вітамін $B_1$ (тіамін) - регулює білковий, жировий, вуглеводний обмін, $B_2$ (рибофлавін) - активізує обмінні процеси (вуглеводний і водно-сольовий обмін).

Як свідчать результати досліджень, у борошні із солоду вівса та пшениці вміст вітамінів $B_1$, $B_2$ збільшився на 25 – 38% порівняно з пшеничним та вівсяним борошном (табл. 4.) Вміст вітаміну Е (токоферолу) підвищився у борошні з вівсяного солоду у 20 разів, у борошні з пшеничного солоду майже у 30.

Проведені дослідження по визначенню хімічного складу борошна із солоду вівса та пшениці показали, що за вмістом незамінних амінокислот, есенціальних жирних кислот, мінеральних речовин та вітамінів нетрадиційні види борошна доцільно використовувати як функціонально-фізіологічну сировину при створенні нового асортименту здобного печива оздоровчого призначення.

На підставі проведених досліджень були розроблені нові види печива: «Сонячне мереживо», «Соло» - з додаванням борошна з пророщеного зерна пшениці, «Зернова феєрія», «Вівсяне з солодом» з додаванням борошна з пророщеного зерна вівса. Зразки печива були представлені для висновків спеціалізованій дегустаційній комісії України по оцінці якості кондитерських виробів, якою були одностайно схвалені і рекомендовані до впровадження на підприємствах кондитерської галузі.

***ЛІТЕРАТУРА***


1. ***Капрельянц Л.В., Іоргачова К.Г.*** Функціональні продукти.– Одеса: «Друк», 2003.– 334 с.
2. ***Українець А.І., Ковбаса В.М., Федоренченко Л.О.*** та ін. Нові підходи до використання зернових культур. // Наукові праці НУХТ.– 2002.– №13.– С. 58–60.
3. ***Потапенко С., Ємельянова Н., Українець А., Мукоїд Р.*** та ін. Пророщені зерна злакових культур. Перспективи використання у харчовій промисловості. // Харчова та переробна промисловість.– 2006. –№7.– С. 19–21.
4. Оздоровнтельное и диетическое питание. / под ред. В.И. Циприяна.– К.: Логос, 2001.– 336с.
5. ***Бажай С.А., Федоренченко Л.О., Українець А.І., Ковбаса В.М., Романовська Т.І.*** Дослідження впливу пророщування зерна пшениці на зміну вмісту вітамінів групи В. // Харчова промисловість.– 2004.– Додаток до №3.– С. 105–106.


Кліматичні умови України особливо сприятливі для розвитку овочевої промисловості, зокрема томатної індустрії. Однією з найактуальніших проблем сільського господарства є захист рослин від мікроорганізмів та шкідників, які щорічно знищують близько 30% урожаю [31].

Томати уражають близько восьми видів фітопатогенних бактерій. Зокрема в Україні – це збудники бактеріального раку (Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis (Cmm), бактеріальної крапчастості (Pseudomonas syringae pv. tomato (Pst) та чорної бактеріальної плямистості (Xanthomonas vesicatoria (Xv) .

Для захисту рослин від шкодочинних організмів у сільському господарстві використовують пестициди.

Але у перевиданні офіційного «Переліку пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні на 2010 рік», немає відомостей стосовно препаратів, рекомендованих при бактеріальних ураженнях томатів. Альтернативою використання пестицидів є біологічні методи захисту (імунізація рослин) та використання стійких до фітопатогенів сортів рослин .

Рослини здатні розпізнавати та попереджувати проникнення екзометаболітів (біологічних елісіторів) патогенів в клітину. У відповідь на стрес у них вмикається каскад імунних захисних реакцій – синтез стресових білків, кальцій-залежний синтез калози, знижується активність метаболізму. Використання елементів методики клітинної селекції дає змогу в умовах in vitro на селективних середовищах, що містять індуктори захисних реакцій рослин (бактеріальні чинники патогенності), визначити клітинні лінії з підвищеною стійкістю до одного або кількох патогенів одночасно [22, 27]. При цьому стресовий чинник рівномірно діє на мільйони рослинних клітин одночасно.

Для проведення клітинної селекції застосовують кілька прийомів: пряму селекцію (на селективному середовищі виживає певний мутантний тип калюсних клітин), непряму селекцію (в селективних умовах метаболічно неактивних клітин і вибірковій загибелі клітин дикого типу), ступінчасту селекцію – з поступовим підвищенням концентрації токсичної речовини, починаючи з летальної .

Селективними чинниками, які пригнічують імунну систему рослини можуть бути неорганічні сполуки, біомаса ослабленого збудника та цілий ряд різних за структурою та біохімічними властивостями органічних речовин: молекули бактеріальних ліпополісахаридів (ЛПС), бактеріальний флагелін, компоненти клітинної стінки грибів (хітин, глюкан, глікопротеїни), специфічні білки, що виділяються патогеном за умов контакту з рослиною тощо.

Відомо, що індукція захисних реакцій рослини

УДК **606:635.64**

# Створення томатів, стійких до бактеріальних хвороб, шляхом клітинної селекції

***Ю.АВЕТИСЯН,*** *аспірант*
***Ю.КОЛОМІЄЦЬ****, канд. біол. наук*
***І.ГРИГОРЮК*** *докт. біол. наук*
**Національний університет біоресурсів та природокористування України**

***Анотація.*** *Проведено відбір генотипів томата з підвищеною стійкістю до C. michiganensis subsp. michiganensis, P. syringae pv. tomato і X. vesicatoria в умовах in vitro. Встановлено залежність приросту калюсної маси і утворення життєздатних колоній 10 сортів томата від концентрації в живильному середовищі фітотоксичних метаболітів бактеріального походження.*
***Ключові слова.*** *Селекція. Томат. Lycopersicon esculentum Mill. Бактеріальні хвороби. Стійкість.*

***Determination genotypes of tomato with increased resistance to bacterial diseases in vitro.*** *JULIA F. AVETYSIAN, post-graduate student; JULIA V. KOLOMIETS , Ph.D in biotechnology, Associate Proffesor; IVAN P. GRYGORYUK , doctor in Biology; (National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine).*
***Abstract.*** *Determination tomato genotypes with high resistance to C. michiganensis subsp. michiganensis, P. syringae pv. tomato and X. vesicatoria in vitro. Dependence of growth callus mass and formation sustainable colonies by 10 sorts of tomato on the concentration in the culture medium of bacterial phytotoxic metabolites.*
***Key words.*** *Selection. Tomato. Lycopersicon esculentum Mill. Bacterial diseases. Resistance.*

при контакті з патогеном або біологічними елісіторами протікає різними сигнальними шляхами, що в решті решт виражається у зміні рівня експресії PR-генів рослини . Так, при зараженні томата Cmm змінюється експресія 122 генів та підвищується синтез PR-білків (pathogenesis-related proteins): 1,3-β-глюкозидази, ендохітинази, тауматину і збільшується рівень ліпооксигенази .

Оцінка імунорепресуючої дії бактеріальних метаболітів дасть змогу дійти висновку щодо імунного статусу досліджуваного генотипу за умов ураження збудником і обрати сорт з активною експресією захисних генів.

З огляду на це**, метою нашої роботи є розробка біотехнологічної схеми відбору генотипів томата з підвищеною стійкістю до бактеріального раку, бактеріальної крапчастості та чорної бактеріальної плямистості в умовах *in vitro*.**

Об'єктами досліджень обрано 10 генотипів томата, які внесено до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні, зокрема Санька, Кременчуцький, Гібрид Тарасенка, Малинове віконте, Іришка, Ріо Фуего, Пето, Флора, Самсон та Лагідний.

У дослідженнях використовували фітопатогенні бактерії Xanthomonas vesicatoria (Doidge 1920) Vauterin et al. 1995 штам 9098 з колекції відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України та Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis (Smith 1910) Davis et al. 1984 штам 4999, Pseudomonas syringae pv. tomato (Okabe 1933) Young et al. 1978 штам 2 – Інституту пестицидів та захисту рослин, м. Сербія.

Оцінку вірулентності штамів Cmm 4999, Pst 2, Xv 9098 та нарощування бактеріальної маси проводили за загальноприйнятими методиками .

Одержання рихлого калюсу томата здійснювали на середовищі Мурашіге і Скуга, яке доповнене 0,5 мг/мл БАП та 1 мг/мл ІОК (МС1) .

Як стресовий фактор до ураження бактеріальною крапчатістю і чорною бактеріальною плямистістю, використовували суспензію клітин (20 млрд. кл./

мл), які прогрівали за температури 100°С протягом 2,5 год (ПК), що містять ліпополісахариди бактерій (активні О-антигени), відповідно Pst 2 та Xv 9098 .

ЕПС Cmm одержували при вирощуванні Cmm 4999 на середовищі з 0,5% дріжджовим екстрактом, 1,5 глюкози та 0,5% $CaCO_3$. Культивування здійснювали 12 діб в колбах на качалках за температури 27°С. Бактеріальну масу відділяли центрифугуванням (6000 об., 20 хв.). У подальших дослідженнях використовували надосадову рідину .

Генотипи з підвищеною стійкістю визначали за дії ряду концентрацій ПК та ЕПС на життєздатність калюсних клітин методом змішування з агаром . Для цього відбирали 200 мг калюсних клітин кожного сорту і переносили на живильне середовище з додаванням різних концентрацій (0,4, 0,8, 2, 4, 6 і 10%) кожного з препаратів селективних чинників й культивували за температури 25±2°С, освітлення 2 клк, 16-годинного фотоперіоду. Масу калюсу в процесі культивування визначали за Кучеренко методом порівняльного зважування .

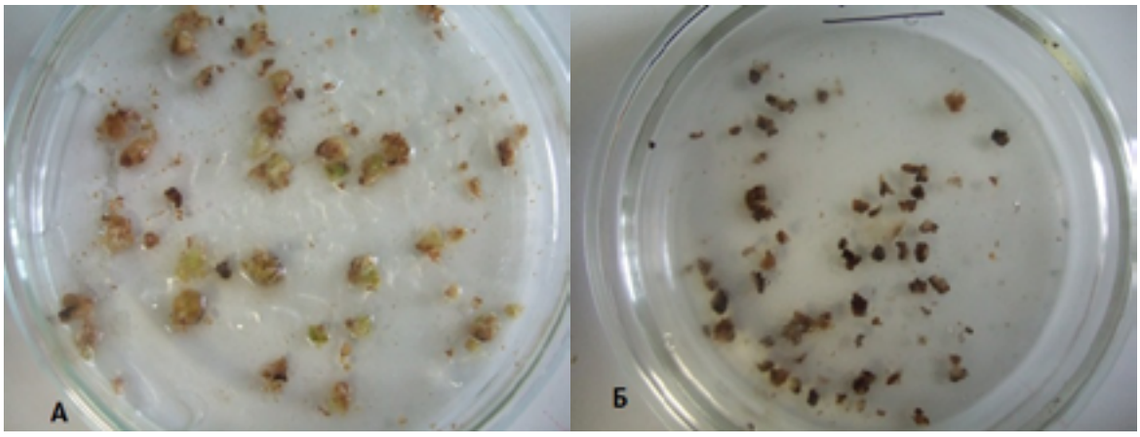
**Результати та їх обговорення.**

Визначення генотипів томата з підвищеною стійкістю до Cmm, Pst і Xv передбачало встановлення робочого діапазону концентрацій стресового чинника, в межах якого була різна життєздатність калюсних клітин. Одночасно проводили висів на контрольне середовище без додавання ПК і ЕПС. Через 3–4 тижні культивування на середовищі МС1 доповненого ЕПС Cmm 4999, ПК Pst 2 і ПК Xv 9098,

**Прояв адаптивного потенціалу генотипів томата до бактеріальних чинників патогенності**

| Збудник | Концент-рація стресового чинника, % | Сорт* |
|---|---|---|
| ЕПС C. michiganensis subsp. michiganensis 4999 | 0 – 0,8 | Санька, Кременчуцький, Гібрид Тарасенка, Малинове віконте, Іришка, Ріо Фуего, Пето, Флора, Самсон, Лагідний |
| | 0 – 2 | Санька, гібрид Тарасенка, Іришка, Пето, Мобіл, Самсон, Лагідний, Малинове віконте |
| | 0 – 4 | Іришка, Самсон, Лагідний, |
| ПК P. syringae pv. tomato 2 | 0 – 0,8 | Санька, Кременчуцький, Гібрид Тарасенка, Малинове віконте, Іришка, Ріо Фуего, Пето, Флора, Самсон, Лагідний |
| | 0 – 2 | Санька, Гібрид Тарасенка, Малинове віконте, Іришка, Ріо Фуего, Пето, Флора, Самсон, Лагідний |
| | 0 – 4 | Гібрид Тарасенка, Пето, Самсон, Лагідний, Малинове віконте |
| | 0 – 6 | Самсон |
| ПК X. vesicatoria 9098 | 0 – 0,8 | Санька, Гібрид Тарасенка, Малинове віконте, Іришка, Ріо Фуего, Пето, Флора, Самсон, Лагідний |
| | 0 – 2 | Санька, Гібрид Тарасенка, Малинове віконте, Іришка, Ріо Фуего, Пето, Флора, Самсон, Лагідний |
| | 0 – 4 | Санька, Пето, Самсон, Лагідний, Малинове віконте |
| | 0 – 6 | Пето, Самсон, Лагідний |

**Примітка.** *Сорт томата, який мав не менше 10 % стабільних ліній за наведеної концентрації селективного чинника




***Дія різних концентрації ЕПС на калюсні тканини томата сорту Самсон***
***А – 0,4% ЕПС Cmm 4999, Б – 6 % ЕПС Cmm 4999***

виростали різні за розміром калюсні колонії. Обрані генотипи томата мали специфічний діапазон концентрації, за якого утворювались життєздатні калюсні колонії (рис.).

За дії стресового чинника біотичної чи абіотичної природи в рослині активується так званий адаптивний потенціал, що являє собою природну, генотипово зумовлену стійкість рослин. Індукована стійкість рослин проявляється за умов контакту з патогенами, яка за своїми реакціями близька до звичайної імунної відповіді . Можна припустити, що генотипи, які стабільні за ширшого спектра концентрацій стресового чинника, мають більший адаптивний потенціал до ураження збудником.

В кінці третього пасажу мінімальна частина агрегатів (8–15%) завдяки генетичним чи адаптаційним змінам, була здатна до поділу і проліферації на селективному фоні при дозах ЕПС Cmm 4999: 4% для сортів Іришка, Лагідний та Самсон, 2 – Малинове віконте, Пето, гібрид Тарасенка, Санька, 0,8 – Кременчуцький, Ріо Фуего та Мобіл. На селективних середовищах з ПК Pst 2: 6% для сорту Самсон, 4 – Лагідний, Малинове віконте, Пето, Гібрид Тарасинка, 2 – Санька, Іришка, Ріо Фуего, Мобіл, 0,8 – Кременчуцький. На селективних середовищах з ПК Xv 9098: 6% – Лагідний, Самсон, Пето, 4 – Малинове віконте, Санька, 2 – Кременчуцький, Гібрид Тарасенка, Іришка, Ріо Фуего та Мобіл .

Внесення селективних чинників бактеріального походження в живильне середовище несприятливо впливало на формування і приріст калюсної маси .

Нами встановлено, що ЕПС Cmm 4999 мають більший пригнічуючий ефект проліферації калюсних клітин, ніж ПК Pst 2 і Xv 9089 .

Так, додавання 4% ЕПС Cmm 4999 спричинило зменшення приросту калюсної маси на 87–92%, а у сортів Санька, Кременчуцький, гібрид Тарасенка, Ріо Фуего, Пето, Мобіл і Малинове – повну загибель калюсних колоній на 3-7 добу культивування. На живильному середовищі з 2% ЕПС Cmm 4999 приріст калюсної маси зменшувався на 73–89%, а у сортів Кременчуцький, Ріо Фуего, Мобіл відбувалось формування нежиттєздатних колоній. За умов додавання 0,8% ЕПС Cmm 4999 приріст зменшувався на 28–88%.

Найменші концентрації ПК (0,4%) Pst 2 і Xv 9089 істотно не впливали на приріст калюсних клітин досліджуваних генотипів. Значне зменшення приросту калюсної маси відбувалось за концентрації ПК Xv 9089 6% у сортів Пето, Самсон і Лагідний (88–90%), 4 ПК Xv 9089 – Санька, Малинове віконте (90–92%), 2 ПК Xv 9089 – Кременчуцький, гібрид Тарасенка, Іришка, Ріо Фуего та Мобіл (83–89%) .

На селективних середовищах з додаванням 6% ПК Pst 2 стабільні клітинні лінії відбирали лише у сорту Самсон, де зменшення калюсної маси було на 89–90%. За концентрації ПК Pst 2 4% зменшення приросту калюсної маси на 80–92% зафіксовано у сортів Ріо Фуего, Мобіл, Лагідний та Малинове віконте. Внесення 2% ПК Pst 2 зумовило зменшення приросту калюсної маси на 73–92% у сортів Санька, гібрид Тарасенка, Іришка та Пето. У сорту Кременчуцький мінімальний приріст калюсної маси визначено за умов додавання до живильного середовища 0,8% ПК Pst 2, що супроводжувалось зменшенням приросту порівняно з контролем на 92 – 95%.

Одержані результати дають змогу окреслити межі концентрацій бактеріальних чинників патогенності, за яких зберігається життєдіяльність калюсних ліній наявних сортів в умовах in vitro (табл. ).

Стає очевидним, що кожен генотип відзначається певним ступенем сприйняття фітотоксичних метаболітів. Дослідження, проведені Рубин Б.А., Арциховськоюк О. В., Паніною Я. С., Тютеревим С. Л. показали, що для захисту рослина використовує не лише існуючий в ній імунний бар'єр, а переважно індуковані інфекцією імунні реакції. Стійкість до інфекції є генетично детермінованою ознакою, яка проявляється на різних рівнях організації живої клітини.

Розроблена нами методика дає змогу в лабораторних умовах обирати сорт, який має більший відсоток виживання калюсних клітин за ширшого спектра концентрацій фітотоксинів і відзначається захисною дією проти збудника. В основі цього потенціалу лежить комплекс реакцій, що зумовлює пригнічення розвитку патогена: синтез саліцилової

і янтарної кислот, алкалоїдів, терпеноїдів, суберінізація покривів та підвищення синтезу калози.

Результати наших досліджень показують доцільність використання сортів Самсон і Лагідний в районах, де існує загроза поширення бактеріального раку, бактеріальної крапчастості й бактеріальної плямистості; зокрема Санька, Пето, Малинове віконте – бактеріальної плямистості, а Ріо Фуего та Малинове віконте – бактеріальної крапчастості. Водночас експериментальні дані потребують додаткових досліджень за природного інфекційного фону, що дасть змогу побачити кореляцію результатів підвищеної стійкості сорту до бактеріальних метаболітів в умовах in vitro та in planta. Оцінка стійкості сортів томата, що плануються впровадити у виробництво, до бактеріальних хвороб важлива для одержання якісної сировини з метою споживання населенням України.

***ЛІТЕРАТУРА***


1. ***Аветисян Ю.Ф., Коломиец Ю.В.*** Возбудители бактериальных болезней томата в хозяйствах Днепропетровской области / Глобализация науки: проблемы и перспективы: сборник статей Международной научнопрактической конференции. 7 февраля 2014г.– Уфа: РИЦ БашГУ, 2014.– Т. 3.– С. 186–189.
2. ***Аветисян Ю.Ф., Коломієць Ю.В.*** Індукція утворення калюсних клітин культурою помідора (Lycopersicon esculentum Mill.) в умовах in vitro. // Наукові доповіді НУБіП України.– 2013.– №41.– 13 с.
3. ***Ахатов А.К.*** Мир томата глазами фітопатолога.– М. : КМК, 2010.– 288 с.
4. ***Гвоздяк Р.І., Мороз С.М., Яковлева Л.М., Черненко Є.П.*** Етіологія масового захворювання томатів у господарствах України. // Мікробіол. журн.– 2009.– 71, №5.– С. 33–40.
5. ***Матвеева Е.В.*** Черная бактериальная пятнистость томата (Возбудитель Xanthomonas campestris pv. vesicatoria). // Arpo XXI.– 2006.– №12.– С. 30–32.
6. ***Панина Я.С.*** Модулирование индуцированной устойчивости ивосприимчивости картофеля : автореф. дис. на соискание науч. степ. канд. биол. наук : спец. 03.00.04 «Биотехнология».– М., 2005.– 23 с.
7. ***Полексенова В.Д.*** Индуцированная устойчивость растений к патогенам и абиотическим стрессовым факторам (на примере томата). // Весник БГУ.– 2009.– Сер. 2, №1.– С. 48–60.
8. ***Удинцев С.Н., Бурмистрова Т.И.,. Заболотская А.В., Жилякова Т.П.*** Механизмы индукции резистентности растений к фитопатогенным гуминовым веществам. // Вестник Томского государственного университета. Биология, 2011.– №4 (16).– С. 100–107.
9. ***B ttner D., No l L., Thieme F., Bonas U.*** Genomic approaches in Xanthomonas campestris pv.vesicatoria allow fishing for virulence genes. // Journal of Biotechnology.– 2003.– №106.– P. 203–214.
10. Food and Agriculture Organization of United Nations, Agriculture data (FAO), 2005 http://faostat.fao.org/.
11. ***Savidor D., H. Teper K., Gartemann R., Eichenlaub L.*** The Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis – tomato interactome reveals the perception of pathogen by the host and suggests mechanisms of infection. // J. Proteome Res.– 2012.– 11, №2.– P. 736–750.


Амінокислоти – органічні (амінокарбонові) кислоти, молекули яких містять одну чи кілька аміногруп (NH2-груп). Вони займають найважливіше місце в азотистому обміні, з них побудовані усі білки. І якщо більшість амінокислот синтезуються в організмі в необхідній кількості, то при недостачі або відсутності незамінних амінокислот неможливий синтез багатьох гормонів, ферментів, пігментів та інших біологічно активних речовин [1].

Забезпечення організму амінокислотами обмежується кількістю і якістю харчових білків, що потрібно враховувати при організації правильного здорового харчування різних вікових верств населення.

Молоко кобил споживають у їжу з давніх часів. Цей напій вважався цілющим і в народній медицині використовувався для лікування легеневих хвороб, а також для додаткового або повного харчування немовлят.

Першими споживачами кобилячого молока були древні кочові народи, які тривалий час могли харчуватися виключно кониною та молоком, яке згодом навчилися «консервувати» для більш тривалого його зберігання. Методом інтенсивного збовтування молоко перетворювалось на кумис – продукт кисломолочного та спиртового бродіння. Сучасний метод виробництва кумису мало відрізняється від стародавнього, як і раніше, єдиною добавкою в процесі переробки молока є закваска, приготовлена на чистих культурах молочнокислої болгарської палички і молочних дріжджів [3, 5].

У процесі виробництва та дозрівання кумису проходять складні біохімічні реакції, в результаті яких відбуваються кількісні та якісні зміни за хімічним складом продукту, зокрема змінюється вміст амінокислот, особливо, за даними О.Є. Гладкової [1], підвищується кількість лізину, триптофану і метіоніну. Як вона зазначає, зростання вмісту амінокислот в кумисі у процесі його дозрівання сприяє підвищенню трансаміназної активності ферментів молока і мікрофлори закваски.

**Метою нашого дослідження було вивчити амінокислотний склад молока кобил новоолександрівської ваговозної породи і кумису, одержаного з цього ж молока, та дослідити динаміку зміни кількості амінокислот в обох продуктах з подальшим їх порівнянням.**