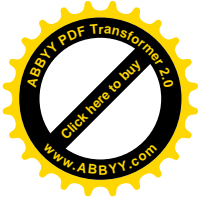
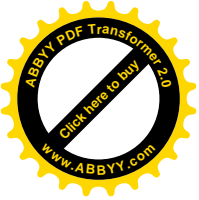




**НАУКОВІ ДОПОВІДІ  
НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ  
БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ  
УКРАЇНИ**

**Електронний науковий  
фаховий журнал**

**Київ**



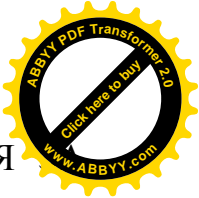
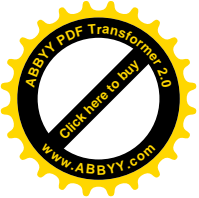
# Зміст електронного журналу «Наукові доповіді НУБіП України»

№ 57 (Грудень), 2015

Рекомендований до видання Вченою Радою НУБіП України протокол  
№ 5 від 25 листопада 2015 р.

## Біологія, біотехнологія, екологія

1. Лучко К. М., Атраментова Л. О. АСОЦІАЦІЯ РІВНЯ АГРЕСИВНОСТІ ТА ЕМПАТІЇ З ПОЛІМОРФІЗМОМ *rs2235186* ГЕНА *MAO-A*
2. Шульга С. М., Глух І. С. ЗАСТОСУВАННЯ СУХОГО ЗНЕЖИРЕНОГО ЛЕЦИТИНУ СОНЯШНИКА ЯК ЕМУЛЬГАТОРА В ХЛІБОБУЛОЧНИХ ВИРОБАХ ТА МАРГАРИНАХ
3. Барштейн В. Ю., Круподьорова Т. А. ЯКІСНИЙ ТА КІЛЬКІСНИЙ СКЛАД ВУГЛЕКИСЛОТНОГО ЕКСТРАКТУ АМАРАНТУ ТА ВІДХОДУ ЕКСТРАКЦІЇ – ШРОТУ
4. Прийомов С. Г., Тігунова О. О. ФІЛОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ШТАМУ-ПРОДУЦЕНТУ БУТАНОЛУ ПОРІВНЯННЯМ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ ГЕНА 16 S рРНК
5. Бейко Н. Є., Прийомов С. І., Тігунова О. О. СКРИНІНГ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ ЗА ПРОДУКТИВНІСТЮ ТА ЕФЕКТИВНІСТЮ ПРОЦЕСІВ БІОКОНВЕРСІЇ ЛІГНОЦЕЛЮЛОЗНОЇ СИРОВИНИ
6. Мельничук О. В., Ожерєдов С. П., Рахметов Д. Б., Рахметова С. О., Секан А. С., Баєр Г.Я., Шиша О. М., Ємець А. І. ВВЕДЕННЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ТА ПОЛІПЛОЇДИЗАЦІЯ *MISCANTHUS GIGANTEUS*
7. Горюнова І. І., Ємець А. І. ВПЛИВ ЦИНКУ НА ОРГАНІЗАЦІЮ АКТИНОВИХ ФІЛАМЕНТІВ В КЛІТИНАХ КОРЕНІВ *ARABIDOPSIS THALIANA*
8. Удовиченко К. М. ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНОЇ СПОРІДНЕНОСТІ ДЕЯКИХ УКРАЇНСЬКИХ ІЗОЛЯТІВ ВІРУСІВ ЯБЛУНІ
9. Буй Д. Д., Демкович А. Є., Пірко Я. В., Корховий В. І., Блюм Я. Б. ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА РІВНІВ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНА АЛЬФА-ТУБУЛІНУ



(TUBA-2-3) У СОРТИВ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ДЕМЕТРА ТА ЕЛЕГІЯ  
УМОВ ХОЛОДОВОГО СТРЕСУ

**10. Яцюк О. П.** ПРОГНОЗУВАННЯ НАСЛІДКІВ ВИЛИВУ (ВИКИДУ)  
НЕБЕЗПЕЧНИХ ХІМІЧНИХ РЕЧОВИН У РАЗІ АВАРІЙ НА ХІМІЧНО  
НЕБЕЗПЕЧНИХ ОБ'ЄКТАХ

**11. Калиненко Л. В., Перепелятнікова Л. В., Слюсар А. А.,  
Кимаковська Н. О.** СУЧАСНИЙ СТАН І ПРОБЛЕМИ РАДІАЦІЙНОГО І  
ХІМІЧНОГО ЗАХИСТУ НАСЕЛЕННЯ ТА ТЕРИТОРІЙ УКРАЇНИ

**12. Постовойтова А. С., Баср Г. Я., Пидюра М. О., Пастухова Н. Л.,  
Пірко Я. В., Ємець А. І., Блюм Я. Б.** ПОШУК ТА АНАЛІЗ  
ПОСЛІДОВНОСТЕЙ ГЕНІВ АКТИНУ У ГЕНОМІ ЛЬОНУ

**13. Корховий В. І., Ємець А. І., Яцишин В. Ю.** МЕТОДИ ВІДБОРУ ПРОБ І  
ПІДГОТОВКИ ЗРАЗКІВ ДЛЯ ДЕТЕКЦІЇ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ГМО У  
СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ РОСЛИНАХ І ПРОДУКТАХ  
ХАРЧУВАННЯ, ВИРОБЛЕНИХ ІЗ НИХ

**14. Ivanova T., Titova L., Megalinska G.** COMPOSITIONAL STUDY OF  
*SCHIZOPHYLLUM COMMUNE* FR.: FR. GROWN ON THE NEW  
SUBSTRATE BREADCRUMB

**15. Секан А. С., Мироничева О. С.** АНАЛІЗ ПРОЯВУ ДНК-КОНСТРУКЦІЙ  
ЗІ САЙТ-СПЕЦИФІЧНОЮ ЕКОМБІНАЗНОЮ СИСТЕМОЮ CRE/LOXP У  
ДЕКІЛЬКОХ ПОКОЛІННЯХ ТРАНСФОРМАНТІВ *ARABIDOPSIS*  
*THALIANA* ЗА ДОПОМОГОЮ МУЛЬТИВАРІАТИВНОГО МЕТОДУ

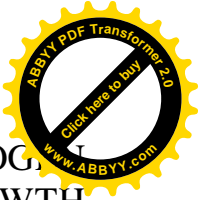
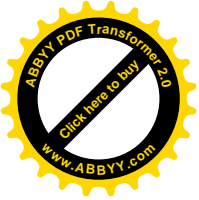
### Агрономія

**16. Антоненко О. Ф., Ал-Ясірі Хусам Моханад.** УРАЖЕНІСТЬ СОРТИВ  
ЯЧМЕНЮ ЯРОГО ТВЕРДОЮ САЖКОЮ

**17. Кава Л. П., Яковлєв Р. В., Станкевич С. В., Новицький В. П.,  
Маціборук П. В.** ВИДОВИЙ СКЛАД КОМАХ-ФІТОФАГІВ НА ПОСІВАХ  
СОЇ

**18. Станкевич С. В., Кава Л. П.** ЗАЛЕЖНІСТЬ ВРОЖАЙНОСТІ РІПАКУ  
ЯРОГО ВІД ПОШКОДЖЕНОСТІ СХОДІВ ЖУКАМИ ХРЕСТОЦВІТИХ  
БЛІШОК

**19. Bykin A., Bordyuzha N., Borysenko Y., Badyaka O.** ECONOMIC  
EFFICIENCY OF FERTILIZERS' APPLICATION FOR SPRING WHEAT  
UNDER DIFFERENT SOIL TILLAGE TECHNOLOGIES OF GREYZEM  
HAPLIC SOIL



**20. Bykin A., Kozachok O., Scherbynina N. IMPACT OF NITROGEN FERTILIZERS AND FOLIAR PLANT NUTRITION ON SOYBEAN GROWTH AND DEVELOPMENT UNDER DIFFERENT SOIL CULTIVATION METHODS**

**21. Бабенко Є. О., Манько Ю. П. ВПЛИВ ПРИРОДНОГО ТЕПЛООВОГО СТРЕСУ НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ НАСІННЯ БУР'ЯНІВ**

**22. Kilian M., Shevchenko Y., Gross E., Smetanska I., Voytsekhivskiy V. EXPERIMENTAL DESIGN AND DEVELOPMENT OF RECIPES FOR OBTAINING OF FRUCTOSE-FREE JAMS**

**23. Лавриненко Ю. О., Балашова Г. С. ПРОДУКТИВНІСТЬ РОСЛИН КАРТОПЛІ В КУЛЬТУРІ *IN VITRO* ЗА РІЗНОЇ КИСЛОТНОСТІ ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ТА ФОТОПЕРІОДУ КУЛЬТИВУВАННЯ**

**24. Присяжнюк Л. М., Щербиніна Н. П., Шаюк Л. В., Король Л. В., Гончарова С. О., Костенко А. В., Коровко І. І., Зірзак А. В. ОЦІНКА ПЛАСТИЧНОСТІ ТА СТАБІЛЬНОСТІ НОВИХ СОРТІВ СОЇ В РІЗНИХ ГРУНТОВО-КЛІМАТИЧНИХ ЗОНАХ**

**25. Шевчук М. Й., Ковальчук Н. С., Колесник Т. М. ВПЛИВ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ПІДВИЩЕННЯ АГРОХІМІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТОВАНОГО ОРГАНІЧНОГО ДОБРИВА**

#### **Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва**

**26. Мусіч О. І. ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРЕМІКСУ «ДНІПРОВСЬКИЙ» В СКЛАДІ КОМБІКОРМІВ ДЛЯ КУРЕЙ-НЕСУЧОК**

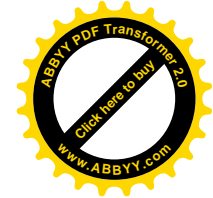
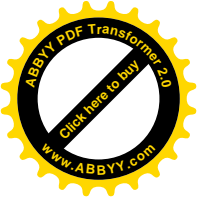
**27. Малетич М. Б., Рівіс Й. Ф., Цьонь Н. І. ВМІСТ НЕЕТЕРИФІКОВАНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ У ПЕЧІНЦІ ТА ВІДТВОРНА ЗДАТНІСТЬ КОРОПІВ-ПЛІДНИКІВ ЗА РІЗНОГО РІВНЯ ВІТАМІНУ А В КОМБІКОРМІ**

#### **Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва**

**28. Мазуркевич А. Й., Малюк М. О., Стародуб Л. Ф. ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН КІСТКОВОГО МОЗКУ КРОЛЯ НА РАННІХ ПАСАЖАХ КУЛЬТИВУВАННЯ ПРИ ДИСОЦІАЦІЇ КЛІТИННОГО МОНОШАРУ ЗА ДОПОМОГОЮ ЕТИЛЕНДІАМІНТЕТРАОЦТОВОЇ КИСЛОТИ**

#### **Лісівництво і декоративне садівництво**

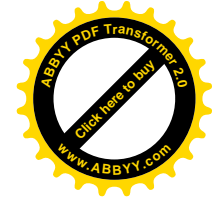
**29. Білоус В. М. ВПЛИВ СПОСОБІВ ЗБЕРІГАННЯ ЖОЛУДІВ ДУБА ЗВИЧАЙНОГО НА ЯКІСТЬ СІЯНЦІВ**



## Техніка та енергетика АПК

**30. Пулька Ч. В., Барановський В. М., Сенчишин В. С., Гаврилюк В. Я., Шарик М. В. ВІБРАЦІЙНА ПОТОКОВА ЛІНІЯ ДЛЯ ІНДУКЦІЙНОГО НАПЛАВЛЕННЯ ТОНКИХ ДИСКІВ**

**31. Володько О. І., Циганков С. П. ВИРОЩУВАННЯ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE M5* НА ОСНОВІ СОКУ ЦУКРОВОГО СОРГО В УМОВАХ ДЮЧОГО ПІДПРИЄМСТВА З ВИРОБНИЦТВА БІОЕТАНОЛУ**



УДК 575.17

**АСОЦІАЦІЯ РІВНЯ АГРЕСИВНОСТІ ТА ЕМПАТІЇ  
З ПОЛІМОРФІЗМОМ *rs2235186* ГЕНА *MAO-A***

**К. М. ЛУЧКО**, аспірант\*

**Л. О. АТРАМЕНТОВА**, доктор біологічних наук, професор

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна*

*E-mail: ekaterina\_luchko@mail.ru*

***Анотація.** Вперше в Україні проведено молекулярно-генетичний аналіз поліморфізму *rs2235186* гена *MAO-A* на подружніх парах і досліджено зв'язок даного поліморфізму з агресивністю та емпатією. Мажорним в харківській популяції є алель *C*. Виявлено не випадкове формування подружніх пар за генотипом *rs2235186* гена *MAO-A*.*

***Ключові слова:** агресивність, емпатія, генотип, *rs2235186* гена *MAO-A*, кореляція, шлюбна структура*

Стресогенний стан в місті є джерелом міжособистісних і міжгрупових конфліктів, прояв яких залежить від таких особистісних характеристик індивідів як агресивність та емпатія. Висока щільність населення, хімічне забруднення навколишнього середовища, підвищений тиск фізичних і психічних навантажень – це ті чинники, на які організм людини може реагувати несприятливим чином. Агресивність дозволяє вижити в умовах обмеженого життєвого ресурсу [3], проте в гіпертрофованій формі є деструктивною властивістю особини [2]. Емпатія розглядається як протилежна агресивності риса [1]. Підвищена агресивність і знижена емпатія притаманні більшості злочинців [7] і хворим із спадково обумовленими психопатологічними станами [11].

В етіології агресивності й емпатії визначена генетична компонента [14]. Згідно зі світовими даними, успадковуваність цих особистісних характеристик знаходиться на рівні 50 % [16, 10], вже виявлено асоційовані гени [9, 13, 17, 8]. Популяційні дослідження показали, що в українських популяціях приблизно

---

\*Науковий керівник - доктор біологічних наук, професор Л. О. Атраментова



40 % фенотипічної різноманітності за рівнем агресивності та емпатії обумовлено генетичною складовою [6].

**Мета дослідження** – з'ясувати зв'язок між рівнем агресивності/емпатії з однонуклеотидним поліморфізмом *rs2235186* гена *MAO-A* на населенні м. Харкова

**Матеріали та методи дослідження.** У дослідженні взяли участь 100 подружніх пар – постійні мешканці м. Харкова. Всі обстежені (вік від 27 до 67 років) дали добровільну інформовану згоду на анкетування та збір біологічного матеріалу. Рівень агресивності оцінювали в балах за опитувальником Ассінгера, емпатії – за опитувальником Меграбяна-Епштейна [4].

Пари (100 чоловіків і 100 жінок) генотиповані за SNP *rs 2235186* гена моноамінооксидази А (MAO-A) методом ПЛР-ПДРФ [18]. ДНК виділена з клітин букального епітелію за допомогою іонообмінної смоли ChelexR100. Рестрикція проведена ендонуклеазою *VspTI*. Електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації і рестрикції фрагментів ДНК проведено в 2 % агарозному гелі з візуалізацією в ультрафіолетовому світлі.

База даних сформована в програмі Microsoft Excel. Статистичний аналіз виконаний методами одновимірної статистики. Розподіл балів агресивності і емпатії на відповідність закону Гаусса перевірено методом Колмогорова-Смірнова. Порівняння середніх групових значень проведено з використанням непарного двостороннього *t*-критерію Стьюдента з поправкою Бонферроні. Для порівняння часток, а також фактичного теоретичного ряду використано критерій  $\chi^2$ . Розраховано коефіцієнт кореляції Пірсона *r*, бісеріальний коефіцієнт кореляції. Перевірку нульових гіпотез проводили на рівні значущості 0,05. Розрахунки виконані за допомогою програми Statistica.

**Результати досліджень та обговорення.** Загальнозначущі статистики, що характеризують розподіл балів агресивності та емпатії, наведено в табл. 1. Рівень агресивності варіював від 29 до 47 балів, емпатії – від 1 до 10 балів. Середнє значення агресивності у чоловіків вище, ніж у жінок (39,0 проти 37,1). Більш високе значення емпатії властиві також чоловікам (5,9 і 5,4 бали).



## 1. Характеристики розподілу загальної агресивності за Ассінгером та емпатії за Меграбяном-Епштейном

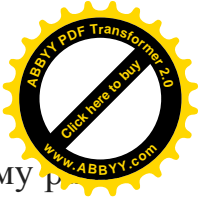
Статистики	Агресивність		Емпатія	
	чоловіки	жінки	чоловіки	жінки
<i>n</i>	100	100	100	100
$\bar{x}$	39,0	37,1	5,9	5,4
<i>Me</i>	39,0	37,0	6,0	5,0
<i>Mo</i>	39,0	38,0	6,0	5,0
<i>min</i>	32,0	29,0	1,0	1,0
<i>max</i>	44,0	44,0	10,0	10,0
<i>s</i>	2,1	2,5	1,8	1,6
<i>As</i>	-0,08	-0,15	-0,51	0,37
<i>Ex</i>	0,40	0,90	0,42	0,18

*Примітка:* *n* – кількість обстежених,  $\bar{x}$  – середнє арифметичне, *Me* – медіана, *Mo* – мода, *min* – мінімальне значення, *max* – максимальне значення, *s* – стандартне відхилення, *As* – показник асиметрії, *Ex* – показник ексцесу.

Прояв агресивності й емпатії у вивченого контингенту не залежав від етнічної приналежності і ступеня метисації обстежених.

Кореляційний аналіз виявив слабкий і статистично значущий зв'язок між віком пробанда і проявом досліджуваних особистісних характеристик. У чоловіків цей зв'язок для агресивності описано коефіцієнтом кореляції  $r = 0,08$  ( $p > 0,05$ ), у жінок –  $r = 0,11$  ( $p > 0,05$ ). Для емпатії у чоловіків  $r = -0,01$  ( $p > 0,05$ ), у жінок –  $r = -0,03$  ( $p > 0,05$ ).

Шкали оцінювання досліджуваних особистісних характеристик поділили на три рівні частини і відповідно до отриманих значень балів обстежених розподілили за групами з низьким (I), середнім (II) і високим (III) проявом ознаки. Особливістю розподілу вивчених особистісних характеристик є більш частіше відхилення в крайні групи чоловіків порівняно з жінками. За балами агресивності чоловіки розподіляються за групами наступним чином: I – 14 %, II – 74 %, III – 12 %. Пропорція груп у жінок трохи відрізняється: I – 12 %, II – 81 %, III – 7 %. Розподіл чоловіків відповідно з балами емпатії (I – 12 %, II – 69 %, III – 19 %) також відрізняється від розподілу жінок (I – 9 %, II – 80 %, III – 11 %).



На даній когорті між агресивністю і емпатією на індивідуальному рівні виявлений зворотній зв'язок середньої сили, який у чоловіків описано коефіцієнтом кореляції  $r = -0,5$  ( $p = 0,001$ ), а у жінок  $r = -0,4$  ( $p = 0,001$ ).

Рівень агресивності у подружжя позитивно корелює ( $r = 0,39$ ,  $p < 0,001$ ) також, як і рівень емпатії ( $r = 0,40$ ,  $p < 0,001$ ). Перехресні коефіцієнти кореляції (агресивність/емпатія) виявилися вкрай малими та статистично значущими. Цей зв'язок знайшов своє відображення і в показнику шлюбної спряженості за агресивністю  $K = 0,15$  ( $p < 0,001$ ) і за емпатією  $K = 0,14$  ( $p < 0,001$ ).

Розподіл генотипів у чоловіків ( $C - 61$ ,  $T - 39$ ) і жінок ( $CC - 30$ ,  $CT - 51$ ,  $TT - 19$ ) використано для підрахунку алельних частот. Мажорним в харківській популяції є алель  $C$ :  $p_c = 0,58$ . Частоти цього алеля варіюють у народів світу в широких межах [5, 12, 15].

## 2. Розподіл подружніх пар

Генотипи	$E$	$O$
$X^C Y \times X^C X^C$	18,3	27
$X^C Y \times X^C X^T$	31,1	30
$X^C Y \times X^T X^T$	11,6	5
$X^T Y \times X^C X^C$	11,7	3
$X^T Y \times X^C X^T$	19,9	21
$X^T Y \times X^T X^T$	7,4	14
Всього	100	100
Статистики	$\chi^2 = 20,4; p < 0,05$	

*Примітка:*  $X$  і  $Y$  - статеві хромосоми,  $C$  і  $T$  алелі,  $E$  - теоретично очікуване число подружніх пар при панміксії,  $O$  - фактичне число подружніх пар.

Розподіл шлюбних пар за генотипом вказує на відхилення від панміксії (табл. 2). Частіше, ніж за випадкового підбору, формуються пари з подібними генотипами:  $C \times CC$  і  $T \times TT$ , пари між власниками різних генотипів -  $C \times TT$  і  $T \times CC$  - зустрічаються рідше, ніж за випадкового підбору.

Потенційні подружжя здійснюють вибір шлюбного партнера за фенотипом. Логічне припустити, що асортативність за генотипом SNP



*rs2235186* *MAO-A* є вторинною, обумовленою зв'язком між *MAO-A* та поліморфізмом і дослідженими поведінковими характеристиками.

У гемізіготних чоловіків алель *T* асоційований з більш високим середнім рівнем агресивності (39,9 бали) і зниженою емпатією (4,3 бали), а у носіїв алеля *C* агресивність (36,5) нижче ( $p < 0,05$ ), а емпатія (5,5) вище ( $p < 0,05$ ). Такий самий зв'язок між генотипом і фенотипом відзначений і для гомозиготних жінок. Рівень агресивності та емпатії у гетерозиготних жінок демонструє ефект проміжного успадкування цих ознак.

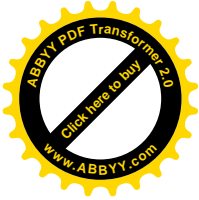
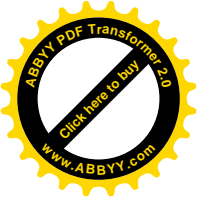
### 3. Зв'язок між генотипом *rs2235186* гена *MAO-A* та особистісними характеристиками

Статистики	Агресивність		Емпатія	
	чоловіки	жінки	чоловіки	жінки
<i>n</i>	100	49	100	49
<i>r<sub>bs</sub></i>	0,55	0,70	0,40	0,23
<i>t</i>	4,4	3,7	5,1	1,8
<i>p</i>	<0,001	<0,001	<0,001	>0,05

Примітка. *n* – кількість обстежених, *r<sub>bs</sub>* – бісеріальний коефіцієнт кореляції, *t* – критерій Стьюдента, *p* – рівень значущості.

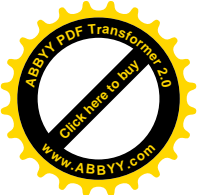
Зв'язок між рівнем агресивності та емпатії і генотипом по *rs2235186* гена *MAO-A* оцінили за допомогою бісеріального коефіцієнта кореляції *r<sub>bs</sub>*. Для його розрахунку були враховані всі чоловіки і жінки з генотипом *TT* і *CC*. Як бачимо з табл.3, особливо сильний зв'язок між генотипом по *rs2235186* притаманний для рівня агресивності, крім того він сильніше виражений у жінок (0,70) в порівнянні з чоловіками (0,55). Зв'язок рівня емпатії з генотипом з даного поліморфізму слабший: у чоловіків він описується коефіцієнтом кореляції 0,40, а у жінок статистично не значущий.

Автори дякують А.К. Почерняєву за допомогу в постановці методики полімеразної ланцюгової реакції.



## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Балабанова, Л. М. Судебная психология (вопросы определения нормы и патологий) [Текст] / Л. М. Балабанова. – Д.: Сталкер, 1998. – 432 с.
2. Берковиц, Л. Агрессия. Причины, последствия, контроль [Текст] / Л. Берковиц. – СПб.: Прайм-Еврознак, 2007. – 512 с.
3. Бэрн Р., Ричардсон Д. Агрессия [Текст] / Р. Бэрн, Д. Ричардсон. – СПб.: Питер, 2001. – 352 с.
4. Психологические тесты [Текст] / Под ред. А. А. Карелина: В 2 т. М.: Гуманит. изд. центр ВЛАДОС, 2002. Т.1. – 312 с.
5. Генетическая структура популяций человека [Текст] / [Розенберг Н. А., Притчард Д. К., Вебер Д. Л. та ін.] // Наука. – 2002. – №298. – С.2381-2385.
6. Філіпцова О. В. Популяційно-генетичний аналіз поведінкових ознак: досвід вивчення населення України [Текст]: автореф. дис. д-ра біол. ... наук: 03.00.15 / Київ, 2009. – 34 с.
7. Decety J. The functional architecture of human empathy [Текст] / J. Decety, P.L. Jackson // Behavioral and Cognitive Neuroscience. – 2004. – Reviews 3. – P.71–100.
8. Guo G., Roettger M. E., Shih J. C. Contribution of the DAT1 and DRD2 genes to serious and violent delinquency among adolescents and young adults [Текст] / G. Guo, M. E. Roettger, J. C. Shih // Hum Genet. – 2007. – V. 121. – P.125–136.
9. Hennig J., Reuter M., Netter P. Two types of aggression are differentially related to serotonergic activity and the A779C TPH polymorphism [Текст] / J. Hennig, M. Reuter, P. Netter // Behav. Neurosci. – 2005. – V.119. – P.16–25.
10. Hur Y.-M. J.P. Rushton's contributions to the study of altruism [Текст] / J.P. Hur Y.-M. // Personality and Individual Differences. – 2013. – V. 55(3). – P. 247-250.



11. Jones G., Zammit S., Norton N. Aggressive behaviour in patients with schizophrenia is associated with catechol-O-methyltransferase genotype [Текст] / G. Jones, S. Zammit, N. Norton // Br J Psychiat. – 2001. – V.179. – P. 351-355.

12. Jorde L.B., Bamshad M.J., Watkins W.S., Zenger R., Fraley A.E., Krakowiak P.A., Carpenter K.D., Soodyall H., Jenkins T., Rogers A.R. Origins and affinities of modern humans: a comparison of mitochondrial and nuclear genetic data [Текст] / L.B. Jorde, M.J. Bamshad, W.S. Watkins., R. Zenger, A.E. Fraley, P.A. Krakowiak, K.D. Carpenter, H. Soodyall, T. Jenkins, A.R. Rogers // Human Genetics. – 57. – P. 523-538. 1995.

13. Kogan A., Saslow L.R., Impett E.A. Thin-slicing study of the oxytocin receptor (OXTR) gene and the evaluation and expression of the prosocial disposition [Текст] / A. Kogan, L.R. Saslow, E.A. Impett // Proc. Natl. Academy Science. USA. – 2011. – V. 108(48). – P. 19189-19192.

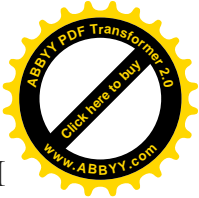
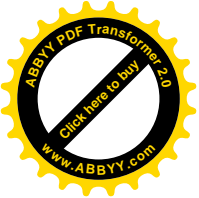
14. Plomin R. Genetics and behavior [Текст] / R. Plomin // The Psychologist. – 2001. – V.14. – №3. – P.68-79.

15. Shin C.H., Lee J.B., Lee Y.S. Allele frequencies and genetic data of 16 highly polymorphic loci in Koreans [Текст] / C.H. Shin, J.B. Lee, Y.S. Lee // Forensic. Sci. Int. – 2004. – 141 (149).

16. Tuvblad C., Baker L.A. Human aggression across the lifespan: Genetic propensities and environmental moderators [Текст] / C. Tuvblad, L.A. Baker // Adv. Genet. – 2011. – V. 75. – P. 171–214.

17. Uzefovsky F., Shalev I., Israel S. Oxytocin receptor and vasopressin receptor 1a genes are respectively associated with emotional and cognitive empathy [Текст] / F. Uzefovsky, I. Shalev, S. Israel // Hormone and Behavior. – 2015. – V. 67. – P. 60-65.

18. Yan X.J., Zhan X.H., Hou J.L. Study on the correlation between single nucleotide polymorphism of monoamine oxidase A gene and anger regulation [Текст] / X.J. Yan, X.H. Zhan, J.L. Hou // Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. – 2012. – 32(10). – P.1354-7.



## АССОЦИАЦИЯ УРОВНЯ АГРЕССИВНОСТИ И ЭМПАТИИ С ПОЛИМОРФИЗМОМ rs2235186 ГЕНА MAO-A

**Е. Н. Лучко, Л. А. Атраментова**

*Аннотация.* Впервые в Украине проведен молекулярно-генетический анализ полиморфизма rs2235186 гена MAO-A на супружеских парах и исследована связь данного полиморфизма с агрессивностью и эмпатией. Мажорным в харьковской популяции является аллель С. Выявлено не случайное формирование супружеских пар по генотипу rs2235186 гена MAO-A.

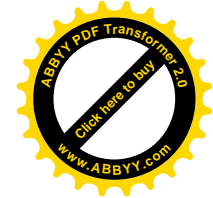
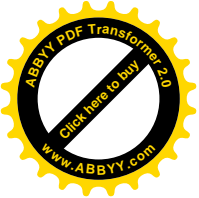
**Ключевые слова:** агрессивность, эмпатия, генотип, rs2235186 гена MAO-A, корреляция, брачная структура.

## ASSOCIATION AGRESSION AND EMPATHY WITH POLYMORPHISM OF THE rs2235186 OF GENE MAO-A

**E. N. Luchko, L. A. Atramentova**

*Abstract.* For the first time in Ukraine carried out the molecular genetic analysis of polymorphism rs2235186 gene MAO-A in married couples and investigated the relationship of this polymorphism with aggression and empathy. Major allele in the population of Kharkiv is a C allele. Identified accidental formation of couples by genotype rs2235186 gene MAO-A.

**Key words:** aggression, empathy, genotype, SNP rs2235186 MAO-A, correlation, marriage structure.



УДК 621.774.35.016

## ЗАСТОСУВАННЯ СУХОГО ЗНЕЖИРЕНОГО ЛЕЦИТИНУ СОНЯШНИКА ЯК ЕМУЛЬГАТОРА В ХЛІБОБУЛОЧНИХ ВИРОБАХ ТА МАРГАРИНАХ

**С. М. ШУЛЬГА**, кандидат фізико-математичних наук

**І. С. ГЛУХ**, кандидат технічних наук

*ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»*

*E-mail: Shulga5@i.ua*

***Анотація.** У статті наведено результати досліджень із застосування знежиреного лецитину соняшника як емульгатора за виробництва хлібобулочних виробів та маргаринів. Показано поліпшення органолептичних і фізико-хімічних показників хлібобулочних виробів та маргаринів за додавання сухого знежиреного лецитину соняшника.*

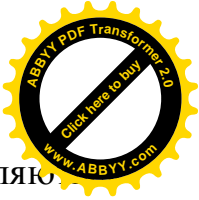
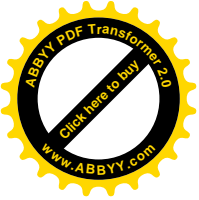
***Ключові слова:** фосфоліпіди, лецитин соняшника, харчова добавка*

Фосфоліпіди (фосфатиди) належать до групи фосфоровмісних речовин, що мають важливе фізіологічне значення, оскільки входять до складу кожної клітини тварин та рослин і без них неможливий внутрішньоклітинний обмін.

Однією з основних функцій фосфоліпідів є забезпечення і підтримка нормального обміну речовин в організмі. В теперішній час кількість захворювань, пов'язаних із порушеннями ліпідного обміну (атеросклероз, жовчнокам'яна хвороба, жирова дистрофія печінки) неухильно збільшується. Причиною цієї тенденції є нераціональне харчування і погіршення екологічного стану. Крім того, внаслідок вікових змін енергетичний запас організму знижується і клітини не можуть синтезувати фосфоліпіди у необхідній кількості, що в свою чергу призводить до підвищеної втомлюваності, знервованості, ослаблення пам'яті [1].

Задовольнити потребу організму в фосфоліпідах можна шляхом їх вживання в їжу.

Одним із представників фосфоліпідів є лецитин. Він являє собою суміш есенціальних фосфоліпідів, які знаходяться майже в усіх органах і тканинах



організму. За різними оцінками сфери застосування лецитину розподіляю наступним чином:

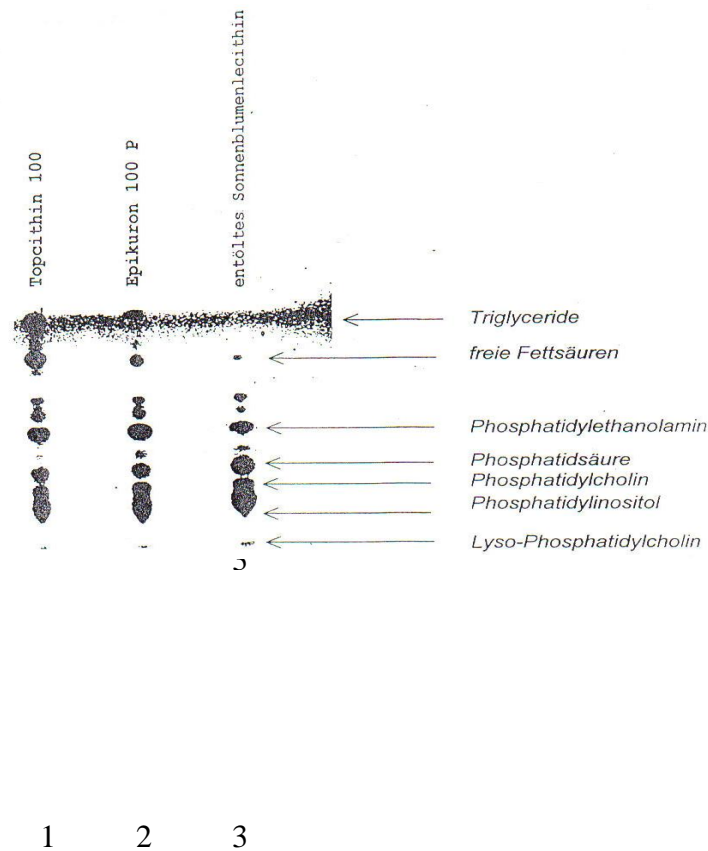
- харчова промисловість: виробництво маргаринів і майонезів – 25-30 %;
- виробництво хлібобулочних виробів, печива, вафель і т.і. – 10-15 %;
- виробництво шоколаду, морозива, кремів – 10-15 %.
- комбікормова промисловість – 25-30 %.
- фармацевтична промисловість – 7-10 %.
- виробництво технічних продуктів – 7-10 %.
- косметична промисловість – 3-5 %.

Лецитин належить до природних харчових добавок (Е 322), а за своїми технологічними функціями – до емульгаторів і антиоксидантів. Використання лецитину в харчовій промисловості пов'язане з його здатністю створювати і стабілізувати як емульсії олія/вода (різні соуси і майонези), так і емульсії вода/олія (маргарин).

За рахунок взаємодії лецитину і структурних компонентів тіста (хлібобулочні і борошняні вироби) утворюються комплексні з'єднання, які відіграють важливу роль у формуванні структури напівфабрикатів і якості готових виробів, уповільнюють процес зміни високополімерних речовин м'якушки хліба під час зберігання, покращують властивості реологій тіста, його пружність і еластичність. Добавка лецитину полегшує підйом жирного тіста, дає можливість застосовувати збіднене клейковиною борошно, а також отримувати збільшений об'ємний вихід продукту.

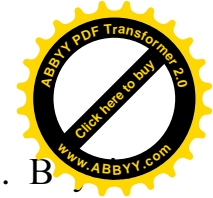
На даний час в світі промислове виробництво лецитину пов'язане в основному з переробкою соєвого фосфатидного концентрату. Зважаючи на те, що соя практично вся генетично модифікована, багато споживачів лецитину намагаються знайти замітник соєвого лецитину для виробництва так званих «органічних» продуктів. Потреба тільки для харчової промисловості в світі в сухому лецитині складає близько 150 тис. тон на рік (за даними компанії «Leatherhead Foods International»).

В Україні розроблена технологія [2] і створене виробництво сухого знежиреного лецитину соняшника потужністю 30 т/міс. Технологія сухого знежиреного лецитину соняшника унікальна і в Європі існує тільки в Україні. Порівняльний аналіз характеристик лецитину із соняшнику з його соєвим аналогом (проведений фірмою "Лукас Меєр", ФРН) показав, що їх основні показники подібні, а за деякими показниками лецитин соняшника (АТ "ДОІРЕА") переважає соєвий (рис. 1).



**Рис. 1. Порівняння складу зразків сухих лецитинів сої (1, 2) і соняшника (3)**

Застосуванню соєвого лецитину і його вплив на якість хліба та процес черствіння присвячено багато робіт [3-6]. В роботах [5, 6] наведені результати досліджень з використання в хлібобулочних виробках сухого соєвого - "CentrolexF" (вміст фосфоліпідів 96 %) а також гідролізованого - "Centrosoft W50" (ступінь гідролізу 50 %) і стандартного - "Sternlecithin F50" лецитинів.



Дослідження проводили методом пробних лабораторних випічок [7]. В випадках використовували борошно вищого гатунку із середніми хлібопекарськими властивостями (клейковина 1 групи, зміст сирової клейковини – 25 %, ВДК - 75 од., білизна - 57 од. умовної шкали, число падіння - 311). В результаті досліджень високі показники якості в порівнянні з контрольним зразком без добавок лецитину, отримані з використанням "CentrolexF". Крім того, відмічено що використання порошкоподібного знежиреного лецитину збільшувало термін свіжості виробів і значно покращувало процес їх дозування при замісі тіста. Отримані експериментальні дані дозволили авторам зробити висновок, що найбільш виражений технологічний і економічний ефект був за додавання лецитину "CentrolexF" у кількості 0,6-0,8 % від маси борошна в тісті.

Спільно із фахівцями центральної виробничо-технологічної лабораторії "Укрхлібпрому" нами були проведені дослідження з випічки хліба із використанням сухого знежиреного лецитину соняшника (зміст фосфоліпідів не менше 96 %). Дослідження проводили з використанням сировини, устаткування і матеріалів як в роботі [6]. Результати досліджень наведені в таблиці 1.

### **1. Показники якості хліба при використанні сухого знежиреного лецитину соняшника**

Кількість лецитину, %	Показники якості хліба	
	Пористість, %	Об'ємний вихід, см <sup>3</sup>
Контрольний зразок без добавки лецитину	64	374
0,4	72	449
0,7	68	390
1,0	68	385

Кращий зразок хліба було отримано за додавання лецитину у кількості 0,4 % від маси борошна в тісті. Хліб характеризувався поліпшеними органолептичними і фізико-хімічними показниками: розвиненою рівномірною пористістю, збільшеним об'ємним виходом, світлим кольором м'якушки.

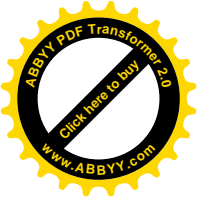


Відмічено поліпшення властивостей реологій тіста, його пружності та еластичності. В результаті проведеної роботи встановлено, що на якість хлібобулочних виробів позитивно впливала добавка сухого знежиреного лецитину соняшника у кількості 0,3-0,5 % від маси борошна в тісті [8].

Проведені випробування із застосуванням сухого лецитину соняшника у виробництвах вафельного листа (Дніпропетровський хлібозавод №9), цукрового печива (Дніпропетровська кондитерська фабрика), вафельних стаканчиків для морозива (Дніпропетровський холодокомбінат). Відмічено, що готові вироби мали поліпшену розсипчасту структуру, золотистий (підрум'янений) колір (печиво), рівномірне забарвлення листа, хороший хрускіт (вафельна продукція). Стаканчик з морозивом в процесі зберігання не набував «паперового» смаку і не відбувалося набрякання вафлі. Крім того, в усіх випадках мала місце більш рівномірна структура тіста.

Проведені також випробування із застосуванням сухого лецитину соняшника у виробництві маргаринів (вміст жиру 82, 72, 60 і 50 %). Вплив лецитину на створення маргаринової емульсії характеризувався його стабілізуючою здатністю. Для порівняння в тих же умовах створювали маргаринові емульсії з використанням стандартного соєвого лецитину. Випробування здійснювали в лабораторних умовах на камеральній установці спільно з фахівцями УкрНДІ олій і жирів (м. Харків).

Залежно від типу маргарину для отримання стійкої емульсії використовували одночасно два емульгатори, один з яких – лецитин соняшника – у вигляді масляних розчинів. Як жирову сировину в основному використовували саломаси і олію. Дезодоровану олію підігрівали до температури  $(85 \pm 5)$  °C, після чого за постійного перемішування додавали розрахункову кількість емульгатора – моногліцерид «Palsgaard 0291». Після 20 хв. розчин охолоджували до температури  $(55 \pm 5)$  °C і за перемішування дозували розрахункову кількість лецитину. Розчин емульгаторів витримували за постійного перемішування впродовж 20 хв., після чого направляли в



двосекційну ємність для подальшого використання. Результати випробування представлені в таблиці 2.

## 2. Результати випробувань сухого соняшникового лецитину

Вміст жиру в маргарині, %	Кількість ПАР, %			Стійкість емульсії
	Palsgaard 0291	Сухий соняшниковий лецитин	Стандартний соєвий лецитин	
82	0,2	0,05	-	стійка
	0,2	-	0,1	стійка
72	0,35	0,05	-	стійка
	0,35	-	0,1	стійка
60	0,6	0,2	-	стійка
	0,6	-	0,4	стійка
50	0,3	0,05	-	стійка
	0,3	-	0,1	стійка

За результатами випробувань зроблено висновок, що сухий лецитин соняшника створював стабільні маргаринові емульсії і може бути рекомендований для виробництва маргаринів (у з'єднанні з емульгаторами, що використовуються у виробництві маргаринів) з кількістю жиру 82, 72, 60 і 50 %, а також маргаринів для листового тіста. Водночас кількість лецитину, яка потрібна для створення стійкої емульсії, в два рази менше, ніж за використання стандартного соєвого лецитину.

Висновки і технологічні рішення, розроблені на стадії лабораторних досліджень, в повному обсязі підтвердилися за промислового тестування сухого знежиреного лецитину соняшника в умовах ЗАТ "МЖК" (м. Запоріжжя).

Під час виробництва маргарину "Слойка" використовували соєві лецитини " Adlek " і "Yelkin TS" фірми "ADM" у кількості 0,4 % і сухий соняшниковий лецитин у кількості 0,2 %. Було проведено мікроскопічний аналіз зразків маргаринів для визначення розмірів крапель води, які слугували важливим чинником стабільності емульсії, а також впливали на твердість і пластичність

маргарину. На рисунку 2 представлений мікроскопічний аналіз отриманих зразків маргарину.



а) з лецитином «Adlek» фірми «ADM» 0,4 %;



б) з лецитином «Yelkin TS» фірми «ADM» 0,4 %;



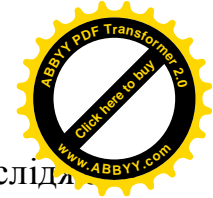
в) з лецитином «Sterncithin F-10» фірми «Беарс» 0,4 %;



г) з лецитином соняшника 0,2 %.

**Рис. 2. Мікроскопічний аналіз зразків маргарину.**

Було проведено випробування зі збереження структури за вигину в тонкому шарі і пластичності за “розкочування” отриманих зразків маргаринів.



Всі показники оцінювали за п'ятибальною шкалою. Результати досліджень зведені в таблицю 3.

### 3. Показники тестування різних типів лецитину у виробництві маргарину «Слойка»

Вид лецитину	Вміст лецитину, %	Показники тестування			
		Мікроскопія	Структура	Пластичність	Середній бал
Соєвий «Adlek» фірми «ADM»	0,4	4,5	4	4,5	4,33
Соєвий «Yelkin TS» фірми «ADM»	0,4	5	5	5	5
Сухий знежирений лецитин соняшника	0,2	4,5	5	5	4,85

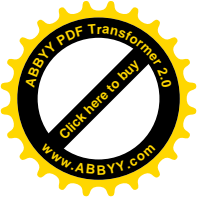
З отриманих результатів видно, що лецитин "Yelkin TS" і сухий лецитин соняшника за дозування відповідно 4 кг/т і 2 кг/т забезпечували високу якість і стабільність емульсії та необхідні споживчі властивості маргарину.

#### Висновки

Таким чином, сухий знежирений лецитин соняшника з урахуванням технологічної простоти його застосування можна рекомендувати для широкого промислового використання в виробництві продуктів харчування. Під час застосуванні сухого лецитину соняшника поліпшуються органолептичні і фізико-хімічні показники хлібобулочних виробів. Сухий лецитин соняшника створює стабільні маргаринові емульсії за меншої (в 2 рази) кількості лецитину порівняно зі стандартним соєвим.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Современные представления о биологических свойствах лецитина: Методичні рекомендації / [Дзяк Г. В., Дроздов А. Л., Шульга С. М. та ін.] // Днепропетровская государственная медицинская академия. – Днепропетровск, 2010. – 36 с.
2. Патент України на корисну модель № 54922, МПК (2009) A23D 9/00, A23J 7/00. Спосіб виділення фосфоліпідів із фосфатидного концентрату/



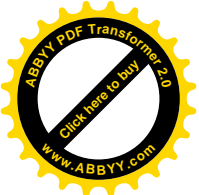
- Шульга С. М., Глух А. І., Глух І. С., Школа О. І.; заявка 11.06.2010; опубл. 25.11.2010; бюл. №22.- 8 с.
3. Дробот В. И. Использование нетрадиционного сырья в хлебопекарной промышленности. / В. И. Дробот – К.: Урожай, 1988.- 78 с.
  4. Дробот В.І. Технологія хлібопекарського виробництва. / В. І. Дробот – К.: Лотос, 2005. – 365 с.
  5. Полодюк В. С. Соеві лецитини: одержання, властивості, використання. / В. С. Полодюк, В. Ф. Доценко // Матеріали науково-практичної конференції «Харчові добавки, інгредієнти, БАДи: їх властивості та використання у виробництві продуктів і напоїв». – К.: Знання України. – 2003. – с. 66-68.
  6. Сидор В.. Вплив лецитину на якість хліба та процес черствіння. / В. Сидор, В. Полодюк, В. Доценко // Хлібопекарська і кондитерська промисловість України. – 2005. – № 2 – С. 21-23.
  7. Мука пшеничная хлебопекарная: Метод пробной лабораторной выпечки хлеба: ГОСТ 27669-88.. Москва: Стандартинформ, 2007.– 9 с. – (Межгосударственный стандарт).
  8. Глух И. С. Аспекты применения подсолнечного лецитина в пищевой промышленности. / И. С. Глух, О. И. Школа, В. Е. Ключкова та ін.] // Наукові праці. – Одеса, 2009. – випуск 36. – том 2. – С. 177-179.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СУХОГО ОБЕЗЖИРЕННОГО ЛЕЦИТИНА ПОДСОЛНЕЧНИКА КАК ЭМУЛЬГАТОРА В ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЯХ И МАРГАРИНАХ**

**С. М. Шульга, И. С. Глух**

*Аннотация.* В статье приведены результаты исследования с использованием лецитина подсолнечника при производстве хлебобулочных изделий и маргаринов. Показано улучшение органолептических и физико-химических показателей хлебобулочных изделий и маргаринов при добавлении подсолнечникового лецитина.

*Ключевые слова:* фосфолипиды, подсолнечниковый лецитин, пищевая добавка

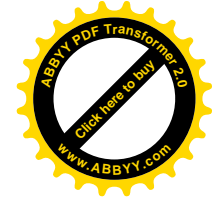
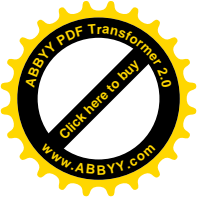


## **DRY DEOIL POWEDER SUNFLOWER LECITHIN USING FOR PRODUCTION OF BAKEGOODS AND MARGARINES**

**S. M. Shulga, I. S. Glukh**

***Abstract.** In the article, results over of researches are brought from application of sunflower lecithin at the production of bakegoodss and margarines. The improvement of organoleptic and physical and chemical indexes of bakegoodss and margarines is shown at addition of dry sunflower lecithin.*

***Key words:** phospholipids, sunflower lecithin, food additive*



УДК: 661.123

## ЯКІСНИЙ І КІЛЬКІСНИЙ СКЛАД ВУГЛЕКИСЛОТНОГО ЕКСТРАКТУ АМАРАНТУ ТА ВІДХОДУ ЕКСТРАКЦІЇ – ШРОТУ

**В. Ю. БАРШТЕЙН**, кандидат технічних наук,

**Т. А. КРУПОДЬОРОВА**, кандидат біологічних наук,

*Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки*

*Національної академії наук України»*

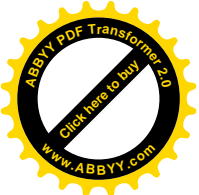
*E-mail: barmash14@gmail.com*

***Анотація.** Досліджено якісний і кількісний склад вуглекислотного екстракту амаранту та відходу екстракції – шроту. Вперше наведені дані хроматографічного визначення в екстракті: жирних кислот, серед яких вміст незамінної, ненасиченої лінолевої кислоти – більш ніж 50 %; токоферолів та лютеїну. Проаналізовано амінокислотний склад відходу екстракції – шроту амаранту. Запропоновано шляхи створення продуктів харчування з використанням шроту амаранту.*

***Ключові слова:** амарант, вуглекислотний екстракт, шрот, жирні кислоти, токофероли, лютеїн, амінокислоти*

Для України характерна тенденція погіршення здоров'я людей через економічне й екологічне неблагополуччя, ситуацію постійного стресу, в якій живе населення нашої країни останніми роками. Серед захворювань переважають: серцево-судинні, онкологічні, нервової системи, шлунково-кишкового тракту, хронічна перевтома, діабет тощо. Не в останню чергу серед причин росту захворюваності – низька якість та незбалансованість харчування.

Збалансований раціон харчування може як полегшувати перебіг вищезазначених хвороб, так і взагалі попередити їх появу. Цьому може сприяти широке використання спеціальних харчових продуктів, або як їх називають в світі – функціональних продуктів, які призначені для систематичного щоденного вживання і мають регулюючу дію на фізіологічні функції, біохімічні реакції і психосоціальну поведінку людини через нормалізацію його мікроекологічного статусу» [10, 14].

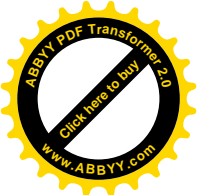


Джерелом біологічно активних речовин (БАР) для збагачення харчових продуктів та надання їм спеціальних, або функціональних властивостей є, в першу чергу, рослинна сировина. Часто її нетрадиційні види мають більший спектр БАР, ніж традиційні. Однак запаси і тих, і інших в Україні не безмежні, що робить актуальною проблему раціонального використання рослинної сировини (до того ж, безвідходне використання сировини здешевлює кінцевий продукт).

Розробка функціональних продуктів залежить не тільки від сировини, а також від вибору високоефективного способу вилучення з неї БАР. Таким способом є вуглекислотна екстракція [2, 3, 4, 13]. Цьому сприяють унікальні властивості двооксиду вуглецю. Термочутлива рослинна сировина переробляється під час низьких температур, ступінь вилучення БАР значно перевершує результати екстракції іншими розчинниками (органічними, водно-спиртовими сумішами тощо), екстракт є натуральним продуктом без домішок розчинника, він стерильний (вуглекислота пригнічує мікрофлору), термін зберігання екстрактів – не менше 3 років. За докритичних умов проведення процесу, двооксид вуглецю вилучає жиророзчинні речовини: насичені і ненасичені кислоти, ефірні і жирні олії, воски, жиророзчинні вітаміни тощо [1].

Останнім часом, великий інтерес викликає нетрадиційна рослинна сировина, яка культивувалася в Америці ще 6000 років тому і також росте в Україні – амарант [9]. Сквален, що міститься в насінні амаранту, унікальна основа багатьох ліків, має яскраво виражену антимікробну і фунгіцидну дію, одночасно сприяє нормалізації тканинного дихання. Не менший інтерес викликають жирні кислоти, в першу чергу, ненасичені, вітаміни. Відомо застосування олії з насіння амаранту в комплексній терапії шкірних захворювань, лікуванні онкозахворювань, серцево-судинних, захворювань шлунково-кишкового тракту тощо.

Раніше проводився ряд досліджень процесу вилучення БАР з амаранту. Флавоноїдні сполуки з листя амаранту отримували багатоступінчастою екстракцією: молочною сироваткою (двічі) і водно-спиртовою сумішшю [5, 16].



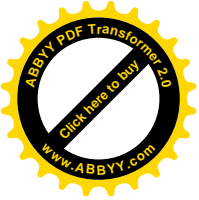
Ідентифікували кверцетин, кверцетин 3-0-глюкозид, рутин. У цьому випадку велика частина корисних речовин, залишалася в шроті. Проводили і вуглекислотну екстракцію з насіння амаранту [8]. На жаль, дані про якісний і кількісний склад екстракту не наводилися, а тому не досить обґрунтованими є результати клінічних випробувань екстракту (складно прогнозувати лікувальний ефект, розрахувати медично доцільну норму внесення екстракту в лікувальні та лікувально-профілактичні продукти, не знаючи складу екстракту).

Залежно від розчинника вилучаються ті, або інші речовини (водорозчинні або жиророзчинні, наприклад), водночас частина БАР (відповідно до дії розчинника) залишається в шроті.

Досліджували шрот з насіння амаранту після вилучення БАР пресуванням з подальшим екстрагуванням 60-80 % розчином спирту [11]. Суттєвим є те, що шрот після такого виду екстракції містить не тільки білки, а й жиророзчинні вітаміни. Це свідчить про недосконалість обраного способу екстракції. Автори роблять висновок про доцільність застосування шроту в хлібопеченні і кондитерському виробництві (ймовірно, після відповідної підготовки шроту). Під час отримання білок-ліпідного комплексу з насіння амаранту утворюється шрот вологістю приблизно 75 % [12]. Він консервується висушуванням і піддається біомодифікації. Надалі продукт використовувався в хлібопеченні. Використовувався в хлібопеченні і шрот амаранту після вуглекислотної екстракції [15]. Досліджувалася і можливість використання продуктів з амаранту (крім шроту після вуглекислотної екстракції) в макаронних виробках [17].

Таким чином, для створення спеціальних або функціональних продуктів на основі медично обґрунтованих норм внесення інгредієнтів, необхідним і актуальним є вивчення якісного і кількісного складу екстрактів та шротів.

**Мета дослідження** – визначення якісного і кількісного складу вуглекислотного екстракту з насіння амаранту, відходу екстракції – шроту та можливості використання цих продуктів в харчовій промисловості.



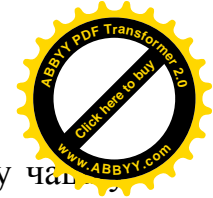
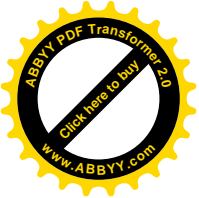
## Матеріали і методи досліджень.

В якості об'єкта дослідження було вибрано вуглекислотний екстракт з насіння *Amaranthus hybridus* L. сорту «Ультра» (Миколаївська обл., Україна, 2011) та відход екстракції – борошно зі шроту. Умови проведення екстракції: тиск – 7.2 МПа; температура – 24 °С; тривалість екстракції – 2 години.

Дослідження наявності сквалену і жирних кислот, що містяться в вуглекислотному екстракті амаранту, проводили методом газової хроматографії (ГХ) з мас-спектрометричним детектором (прилад Hewlett Packard). Наявність карбоксильних груп в молекулі жирних кислот перешкоджає проведенню їх визначення методом ГХ. Ця проблема вирішується переведенням їх у відповідні ефіри. Концентрацію метилових ефірів визначали, використовуючи стандартний розчин метилового ефіру елаїдинової (транс-олеїнової) кислоти в гексані. Оскільки молекулярна маса кислот більше 200, заміна протона на метильну групу збільшує молекулярну масу на 6–8 %, що можна порівняти із загальною похибкою вимірювання. Виходячи з цього, результати аналізу можна привести на вільні кислоти. Зразок, що досліджувався на наявність сквалену, піддавали лужному омиленню. Вільний сквален видаляли гексаном, залишок розчиняли в ацетоні та аналізували методом ГХ та мас-спектрометрії. Концентрацію сквалену визначали за стандартним зразком (Німеччина).

Для визначення жиророзчинних вітамінів (каротиноїдів, токоферолів –  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) зразок піддавали лужному гідролізу. Далі жиророзчинні вітаміни видаляли екстракцією сумішшю гексану з етером (1:1). Після випарювання концентратів до сухого стану, ізо-пропанольний концентрат аналізували методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) за фотометричного детектування: токоферолі 290 нм, каротиноїди – 450 нм. Концентрацію токоферолів визначали за калібрувальними графіками, які були побудовані попередньо.

Видалення амінокислот із шроту амаранту (борошна) проводили наступним чином. Наважку поміщали у мірну пробірку. Приливали 4 мл MeOH, 1 мл HCl та воду до 10 мл. Перемішували і залишали на 12 годин. Фільтрували



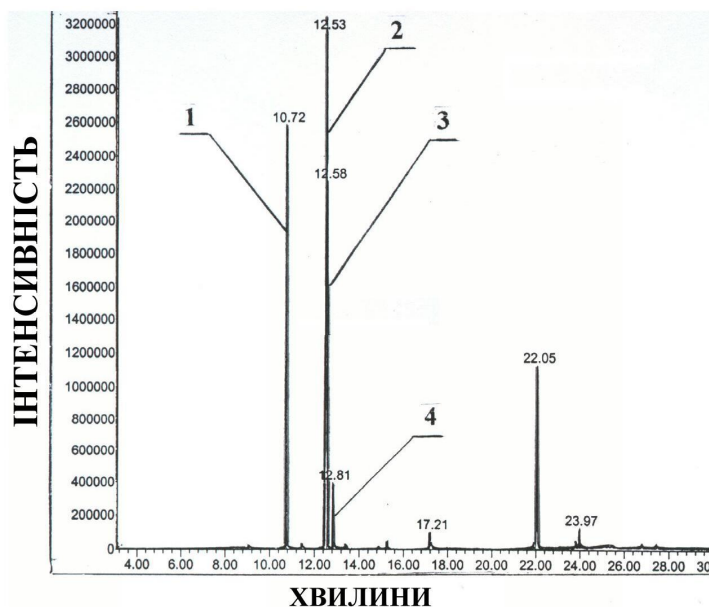
крізь фільтр «біла стрічка». Відбирали 8 мл, переносили у фарфорову чашу. Після цього обережно упарювали на піщаній бані досуха. Кількісне визначення амінокислот проводили за допомогою хроматографії.

Статистичну обробку одержаних даних виконували за допомогою пакету Microsoft Statistica 6.0. Розбіжність між вибірками вважали значущою за  $p \leq 0,05$ .

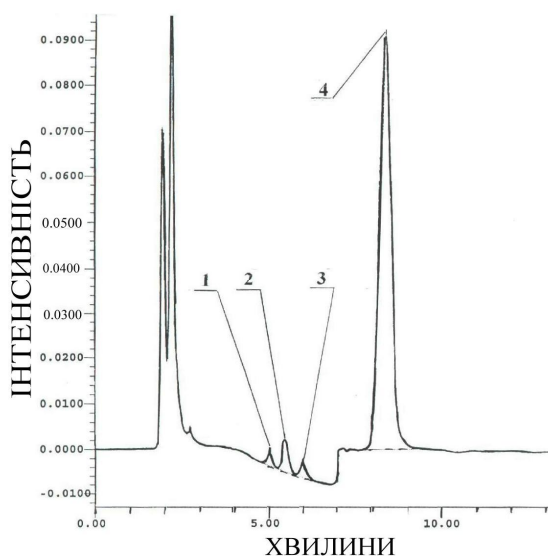
**Результати досліджень та їх обговорення.** Були ідентифіковані (рис. 1) з імовірністю більш ніж 90 % метилові ефіри жирних кислот: пальмітинової, лінолевої, олеїнової та стеаринової. Як було зазначено вище, результати аналізу можна наводити на вільні кислоти. Вміст сквалену в екстракті склав понад 90,0 г/кг або 9,0 %. Загальна кількість жирних кислот склала близько 420 г/кг, з них частка мононенасиченої олеїнової кислоти становила близько 95,0 г/кг, а незамінної, ненасиченої лінолевої – понад 215 г/кг або більш ніж 50 %.

Вміст жиророзчинних вітамінів у вуглекислотному екстракті амаранту показано на хроматограмі (рис. 2) та в таблиці 1.

Вміст вільних амінокислот у шроті (борошні) з насіння амаранту після вуглекислотної екстракції представлено на рис. 3 та в таблиці 2.



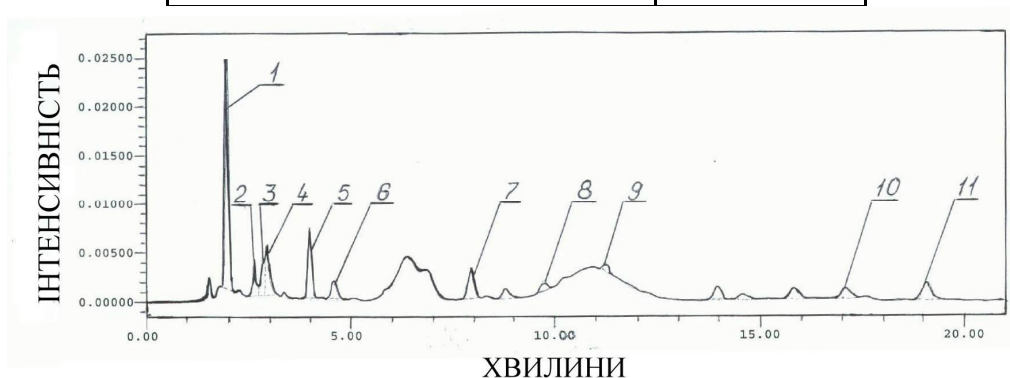
**Рис. 1. Хроматограма. Метилові ефіри жирних кислот: 1 – пальмітинової, 2 – лінолевої; 3 – олеїнової, 4 – стеаринової**



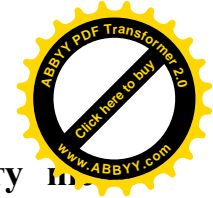
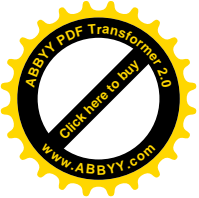
**Рис. 2. Хроматограма:** 1 –  $\sigma$ -токоферол, 2 –  $\gamma$ -токоферол, 3 –  $\alpha$ -токоферол, 4 – лютеїн

**1. Вміст жиророзчинних вітамінів у вуглекислотному екстракті амаранту.**

Назва	Вміст, мг/кг
$\sigma$ -токоферол	90,0 $\pm$ 0.6
$\gamma$ -токоферол	205,0 $\pm$ 0.9
$\alpha$ -токоферол,	144,0 $\pm$ 0.7
лютеїн	4507,0 $\pm$ 2.4



**Рис. 3. Хроматограма. Вільні амінокислоти в шроті з насіння амаранту:** 1 – аспарагінова, 2 – глютамінова, 3 – серин, 4 – гліцин, 5 – аланін, 6 – гістидин, 7 – аргінін, 8 – валін, 9 – тирозин, 10 – лейцин, 11 – лізин



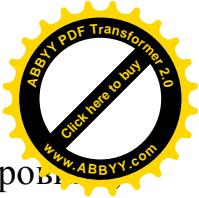
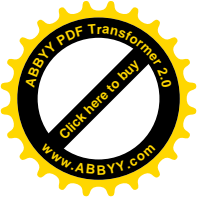
## 2. Вміст вільних амінокислот у шроті з насіння амаранту і в вуглекислотній екстракції

Назва	Вміст, мг/кг
аспарагінова	593,0±0.9
глутамінова	89,0±0.4
серин	86,0±0.4
гліцин	75,0±0.3
аланін	136,0±0.5
гистидін	91,0±0.2
аргінін	150,0±0.7
валін	47,0±0.0
тирозин	50,0±0.3
лейцин	54,0±0.4
лізин	150,0±0.6

Було досліджено процес створення стрічкоподібних макаронних виробів, виготовлених відповідно до нормативної документації [6, 7]. Дозування борошна зі шроту амаранту складало: 10 %, 20 %, 30 %. Дослідження показали можливість застосування борошна зі шроту амаранту для створення повноцінних макаронних виробів. Разом з тим невідповідність деяких показників [7], наприклад кислотності виробів, вимагає продовження досліджень і створення оригінальних рецептур.

### Висновки

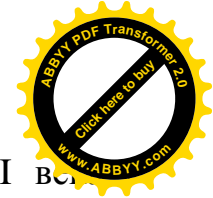
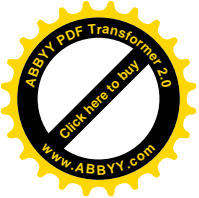
Досліджено якісний і кількісний склад вуглекислотного екстракту амаранту та відходу екстракції – шроту. Вперше наведені дані хроматографічного визначення в екстракті: жирних кислот, серед яких вміст незамінної, ненасиченої, лінолевої кислоти – більш ніж 50 %; токоферолів та лютеїну. Проаналізовано амінокислотний склад відходу екстракції – шроту амаранту. Це дозволить розраховувати медично обґрунтовані кількості цих високоефективних природних добавок для внесення в рецептури спеціальних (функціональних) продуктів харчування.



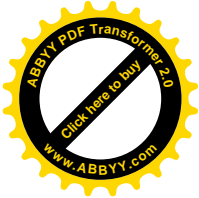
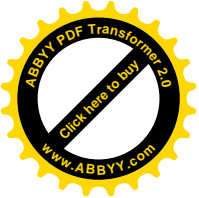
Доведена можливість безвідходної переробки рослинної сировини базовою стадією якої є вуглекислотна екстракція. Шрот після вуглекислотної екстракції може бути використаний не тільки в хлібопекарському виробництві, а й у виробництві макаронних виробів.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Багирян Э. А. Повышение биологической активности пищевых продуктов с помощью CO<sub>2</sub>-экстрактов / Э. А. Багирян, С. Ю. Кузнецова // Пищевая промышленность.– 1999.– № 8.– С. 60-61.
2. Барштейн В. Ю. Использование продуктов переработки растительного сырья для производства кондитерской продукции функционального назначения / В. Ю. Барштейн // Хлебопекарское и кондитерское дело.–2005.– № 2.– С. 12-15.
3. Барштейн В. Ю. Углекислотные экстракты лекарственных растений как основа для изготовления фитопрепаратов / В. Ю. Барштейн, С. М. Шульга // Тези доповідей Четвертої міжнародної конференції з медичної ботаніки. – К. – 1997. – С. 376-377.
4. Барштейн В. Ю. Создание функциональных продуктов на основе использования углекислотных экстрактов / В. Ю. Барштейн, С. М. Шульга, Н. В. Мельникова // Проблемы харчування. – 2004. – № 3(4). – С. 50-52.
5. Зобкова З. С. Экстракция пищевых компонентов из амаранта / З. С. Зобкова, В. Д. Харитонов, С. А. Щербакова // Пищевая промышленность. – 2001. – № 8. – С. 36-37.
6. Изделия макаронные. Общие технические условия: ГОСТ 875-92. – [Дата введения 1993-01-01] . – М.: ИПК Издательство стандартов, 1993. – 13 с.
7. Изделия макаронные. Правила приемки и методы определения качества: ГОСТ 14849-89. – [Дата введения 1990-07-01]. – М.: ИПК Издательство стандартов, 1990. – 15 с.
8. Касьянов Г. И. CO<sub>2</sub> –Экстракт из семян амаранта / Г. И. Касьянов, С. В. Бругто, С. Н. Лопатин // Пищевая промышленность. – 2000. – 5. – С. 37.



9. Кононов П. Ф. Амарант – перспективная культура XXI в. // П. Ф. Кононов, В. К. Гинс, М. С. Гинс.– Науч. изд.– М.: Изд-во РУДН, 1999.– 297 с.
10. Кочеткова А. А. Современная теория позитивного питания и функциональные продукты / А. А. Кочеткова, А. Ю. Колеснов, В. И. Тужилкин, И. Н. Нестерова, О. В. Большаков // Пищевая промышленность.–1999.– № 4.– С. 7-10.
11. Крайців Р. Й. Харчова і біологічна цінність амарантового шроту / Р. Й. Крайців, І. О. Мартинюк // Хлебопекарское и кондитерское дело.–2005.– № 3.– С. 44-45.
12. Пащенко Л. П. Биомодификация шрота амаранта для целей хлебопечения / Л. П. Пащенко // Хранение и переработка сельхозсырья.– 2000.– № 3.– С. 20-21.
13. Пехов А. В. СО<sub>2</sub> –экстракция. Обзорная информация / А. В. Пехов, Г. И. Касьянов, А. Н. Катюжанская. – М.: АгроНИИТЭИПП, 1992. – 35 с.
14. Цыганков В. Г. Задачи и перспективы разработки продуктов функционального питания / [В. Г. Цыганков, З. В. Ловкис, И. Н. Стигаило, С. В. Симоненко] // Труды Белорусского Государственного Университета. Серия: Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. – 2009. – Том 4. Часть . – С. 60-67.
15. Шмалько Н. А. Использование СО<sub>2</sub> – шрота из семян амаранта в хлебопечении / Н. А. Шмалько, Л. К. Бочкова, Ю. Ф. Росляков // Известия вузов. Пищевая технология. – 2004. – № 2-3. – С.20-22.
16. Щербакова С. А. Экстрагирование флавоноидных соединений из амаранта / С. А. Щербакова // Пищевая промышленность. 2002. – № 3. – С. 64.
17. Шнейдер Т. И. Использование амаранта в макаронных изделиях / Т. И. Шнейдер, Е. В. Петрова // Пищевая промышленность. – 2002. – № 7. – С. 76-77.



**КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ  
УГЛЕКИСЛОТНОГО ЭКСТРАКТА АМАРАНТА И  
ОТХОДА ЭКСТРАКЦИИ – ШРОТА  
В. Ю. Барштейн, Т. А. Круподерова**

*Аннотация.* Исследовано качественный и количественный состав углекислотного экстракта амаранта и выхода экстракции – шрота. Впервые приведены дынные хроматографического определения в экстракте: жирных кислот, среди которых содержание незаменимой, насыщенной линоленовой кислоты – более 50 %; токоферолов и лютеина. Проанализировано аминокислотный состав отхода экстракции – шрота амаранта. Предложено пути создания продуктов питания с использованием шрота амаранта.

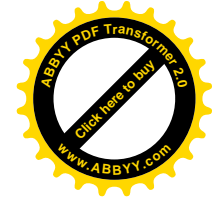
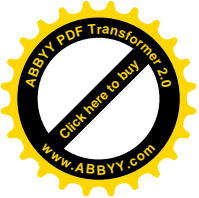
**Ключевые слова:** амарант, углекислотный экстракт, шрот, жирные кислоты, токоферолы, лютеин, аминокислоты

**QUALITATIVE AND QUANTITATIVE COMPOSITION OF  
AMARANTH CARBON DIOXIDE EXTRACT AND  
EXTRACTION WASTE – MEAL**

**V. YU. Barshteyn, T. A. Krupodorova**

*Abstract.* Qualitative and quantitative composition of amaranth carbon dioxide extract and extraction waste – meal have been investigated by chromatography methods. Methyl esters of linoleic, oleic, palmitic and stearic fatty acids were identified with a probability of more than 90%. The total amount of fatty acids was about 420 g/kg, of which the share of monounsaturated oleic acid was about 95.0 g/kg, and irreplaceable, unsaturated linoleic - more than 215 g/kg or more than 50%. Squalene content in the extract was more than 90.0 g/kg or 9.0%. Among the free amino acids in extraction waste – meal prevailed aspartic acid, lysin (indispensable), arginine. These data were obtained for the first time. The ways of creating food using amaranth meal have been outlined.

**Keywords:** amaranth, carbon dioxide extract, meal, fatty acids, tocopherols, lutein, amino acids



УДК 612. 398:577.121.3

## ФІЛОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ШТАМУ-ПРОДУЦЕНТУ БУТАНОЛУ ПОРІВНЯННЯМ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ ГЕНА 16S рРНК

С. Г. ПРИЙОМОВ, доктор технічних наук

О. О. ТІГУНОВА, провідний інженер

*ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України»*

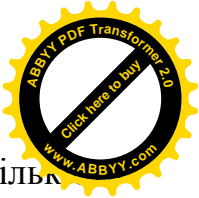
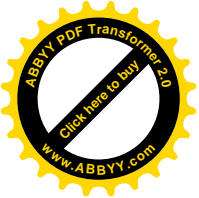
*E-mail: innagoriunova@yandex.ua*

***Анотація.** Визначення філогенетичної спорідненості нових штамів-продуцентів є найпершою ланкою в оптимізації умов культивування штаму та інтенсифікації синтезу цільового продукту (бутанолу). Завданням даної роботи було провести аналіз нуклеотидних послідовностей гена 16S рРНК та філогенетичний аналіз штаму з використанням методів поєднання найближчих сусідів та максимальної подібності. В результаті проведених досліджень було підтверджено, що *Clostridium acetobutylicum* IFBG СБН дісно відноситься до роду *Clostridium*. Гомологія нового штаму з існуючими склала 99 %. Враховуючи морфологічні особливості й філогенетичну спорідненість штаму до бактерій роду *Clostridium* можна зробити висновок, що *C. acetobutylicum* IFBG СБН представляє науковий інтерес та потребує подальшого вивчення.*

***Ключові слова:** філогенез, бутанол, штами-продуценти*

Бродіння цукрів з утворенням масляної кислоти було відкрито Пастером у 1861 році. Невдовзі було знайдено мікроорганізми, які утворювали масляну кислоту і було виявлено, що такий тип бродіння притаманний деяким видам клостридій. Як правило, тільки облигатні анаероби, до яких відносяться представники 4-х родів *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, в якості основного продукту бродіння утворюють бутират [6].

Механізм утворення бутирату був мало зрозумілим доки не було відкрито ферредоксин. Клострідії використовували фосфотрансферазну систему для споживання цукрів. Розщеплення гексозофосфатів до пірувату проходить шляхом Ембдена-Мейергофа-Парнаса. Перетворення пірувату в ацетил-КоА відбувається за участю піруват:ферредоксин-оксидоредуктази [5].



Бактерії, які утворюють у процесі своєї життєдіяльності значну кількість ацетону та бутанолу широко розповсюджені у природі. Як правило, вони в основному знаходяться у ґрунті і можуть бути виділені у вигляді чистих культур [1]. З різноманітних видів мікроорганізмів, які відносяться до роду клостридій, найбільш активним продуцентом розчинників є *C. acetobutylicum* [3].

Правильне визначення видової приналежності штаму відкриває можливості оптимізації умов культивування та генетичних маніпуляцій для збільшення виходу бутанолу. Для ідентифікації виду мікроорганізму потрібно застосовувати комплексний підхід із застосуванням генетичних та фенотипічних методів. Спосіб ідентифікації різних мікроорганізмів за допомогою аналізу нуклеотидної послідовності генів, що кодують рибосомальну РНК, є одним з найбільш точних і універсальних [3,4,7].

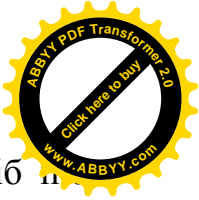
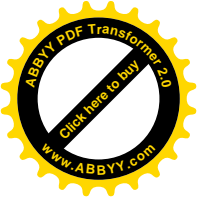
**Мета дослідження** – ідентифікація нового штаму-продуценту бутанолу.

**Матеріали та методи дослідження.** Об'єктом дослідження був штам *C. acetobutylicum* IFBG С6Н з «Колекції штамів мікроорганізмів і ліній рослин для харчової та сільськогосподарської біотехнології» ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» (далі Колекція).

В якості активаційних середовищ використовували середовище Виноградського та скибки картоплі, натерті крейдою; в якості ензиматичного використовували мелясне середовище [1].

В якості селективного середовища використовували середовище [3], яке містило 20 г/л глюкози. В якості синтетичного середовища для вивчення продуктивності штамів на різних джерелах вуглецю використовували середовище [2].

Для забарвлення живих препаратів використовували розчин Люголю, а для вітального – метиленового синього. Мікроскопіювання проводили за допомогою мікроскопу “Laboval” (Німеччина). Знімки робили за допомогою фотоапарату “Canon PowerShot A640” (Японія).



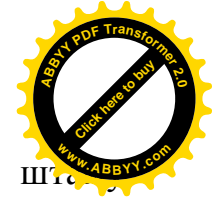
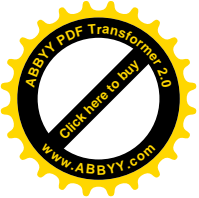
Культивування зразків проводили за методикою [1]. Через 7 діб на початку ферментації клітини осаджали за допомогою ультрацентрифуги “Labofuge 400R” (Німеччина) протягом 30 хв за 13000 об/хв. Культивування проводили у колбах об’ємом 500 мл з використанням 250 мл середовища. Колби зважували і термостатували за температури 35 °С. Після ферментації з культуральної рідини відганяли продукти бродіння.

Виділення ДНК проводили згідно [7]. Для більш ефективного лізису клітин додавали 1 % розчин лізоциму (10 мг/мл). Електрофоретичне розділення виділеної ДНК проводили в трис-ацетатній буферній системі.

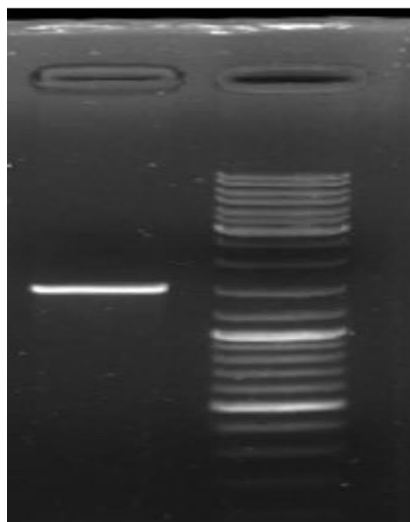
Полімеразну ланцюгову реакцію проводили на ампліфікаторі “Mastercycler personal 5332” (Eppendorf) в пробірках. Реакційна суміш складалася з однократного ПЛР-буфера з сульфатом амонію, 0,2 мкМ відповідних праймерів, 200 мкМ кожного з дезоксинуклеотидтрифосфатів, 0,5 од. Таq-полімерази, 2,0 мМ хлориду магнію, 10-50 нг ДНК-проби. Загальний об’єм реакційної суміші дорівнював 20 мкл. Умови ампліфікації: початкова денатурація: 94 °С– 3 хв; 94 °С– 30 с, 57 °С– 45 с, 72 °С – 30 с; кількість циклів – 32. Кінцева елонгація: 72 °С– 5 хв. Електрофоретичне розділення отриманих продуктів ампліфікації проводили в трис-ацетатній буферній системі. Отриманий фрагмент виділяли з агарозного гелю за допомогою набору Macherey-Nagel NucleoSpin Extract згідно інструкції фірми-виробника.

Послідовності сиквенували на автоматичному сиквенаторі “ABI PRISM 310 Genetic Analyser” (Applied Biosystems). Результуючий контиг сиквенування отримували шляхом порівняння прямої та зворотньо-комплементарної послідовностей з використанням програми CLC Main Workbench (CLC bio). Аналіз сиквенсу проводили за допомогою програмного забезпечення MEGA5, включаючи алгоритм ClustalW. Гомологічні послідовності підбирали з бази даних «GenBank». Філогенетична діаграма була створена з використанням методу поєднання найближчих сусідів [3].

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми Microsoft Excel. Усі досліди проводили в трьох повтореннях.



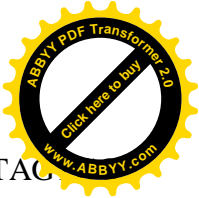
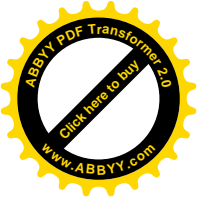
**Результати дослідження та їх обговорення.** Для порівняння штамів продуценту бутанолу з Колекції зі спорідненими штамми було виділено ДНК бактерії і визначено нуклеотидну послідовність гена 16S рРНК. Чистоту виділеного фрагмента ДНК перевіряли за допомогою електрофорезу (рис. 1).



**Рис. 1. Електрофореграма фрагмента гена 16S рРНК**

Ампліфікацію гена 16S рРНК здійснювали з використанням універсальних бактеріальних праймерів 27f та 1492 r з подальшим сиквенуванням. Вирівнювання гена 16S рРНК штаму *C. acetobutylicum* IFBG СБН проводили в програмі ClustalW. Отримана послідовність наведена нижче.

```
GGGGAGTGCGGGTCTTACACATGCAGTCGAGCGAGAAACCTTCGGGTTTCTAGCGGCG
GACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCTCAAAGAGGGGAATAGCCTCCCGAAAG
GGAGATTAATACCGCATAATATTAAGTTTCACATGGAGCTTTAATTAAGGAGTAAT
CCGCTTTGAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGAGAGGTAACGGCTCACCAAG
GCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACATTGGAAGTACGACACGGT
CCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGAT
GCAGCAACGCCGCGTGAGTGATGACGGTCTTCGGATTGTAAAGCTCTGTCTTTGGGAC
GATAATGACGGTACCAAAGGAGGAAGCCACGGTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGT
AATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGATTTACTGGGCGTAAAGGATGTGTAGGCGGA
TACTTAAGTGAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGGACTGCATTTCAAAGTGGG
TATCTAGAGTGCAGGAGAGGAAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA
GATTAGGAAGAACATCAGTGGCGAAGGCGGCTTTCTGGACTGTAAGTACGCTGAGGC
ATGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCACGCGTAAACGATG
```

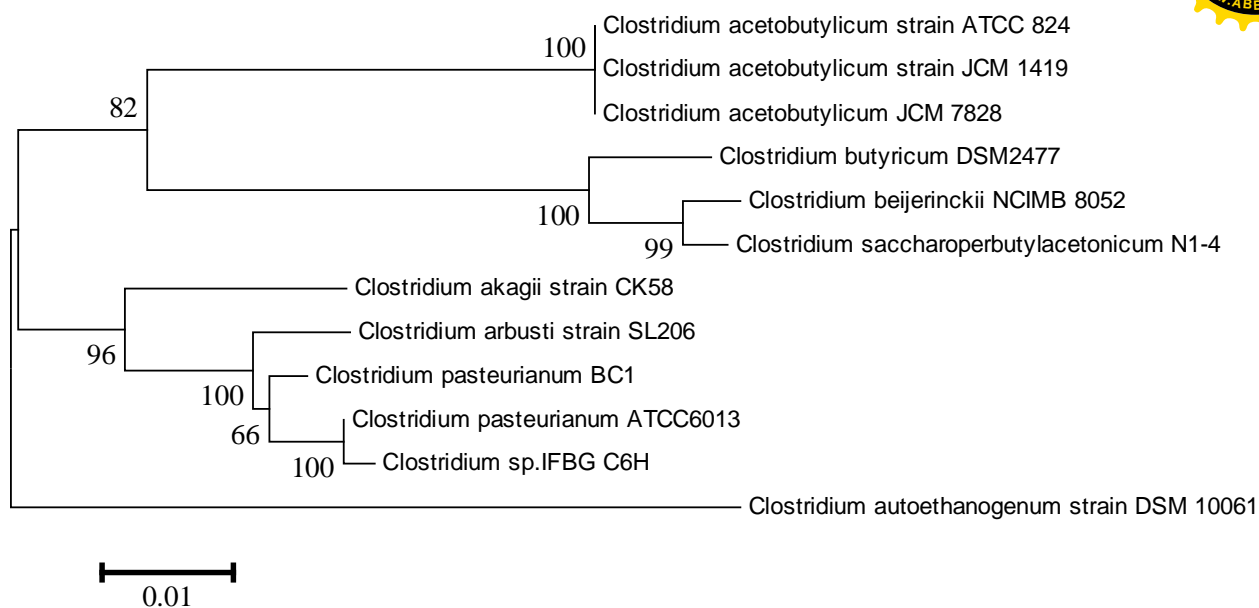
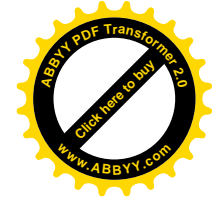
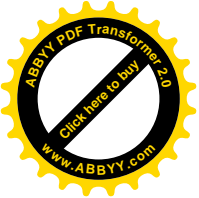


AGTACTAGTGTAGGAGGTATCGACCTCCTTTCTGGTGCCGCAAGTTACACAACCTAG  
TAGGCGGGGTGGAAATGCCGTAGAAGATTAGGAAGAACATCAGTGGCGAGCGCTTTCT  
GACTGTACTGACGCTGAGGCATGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTA  
GTCCACGCGTAAACGATGAGTACTAGGTGTAGGAGGTATCGACTCATCTGTGCCGCAG  
TTAACACAATAAGTACTCCGCCTGGGAAGTACGGTCGCAAGATTA AAACTCAAAGGAA  
TTGACGGGGGCCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAG  
AACCTTACCTAGACTTGACATCTCCTGAATAGCGTAGAGATACGTGAAGCCCTTCGGG  
GCAGGAAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAA  
GTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCATTAGTTGCTACCATTAAGTTGAGCACTCTAGT  
GAGACTGCCCCGGGTTAACCGGGAGGAAGGCGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCT  
TATGTCTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTGAGAACAACGAGATGCAATACCGTGA  
GGTGGAGCTAAACTTGAAAACATCCCAGTTCGGATTGCAGGCTGAAATTCGCCTGC  
ATGAAGTTGGAGTTGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCTCGCGGTGAATACGTTCCCGG  
GCSTTGACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGCTGGTAACACCCGAAGTCCGTGAGG  
TAACSTTTATGGGGCCAGCGGCCGAAGGTGGGATACGTGG

Для встановлення родинних зв'язків здійснено філогенетичний аналіз і побудовано філогенетичне дерево. Мірою відповідності набору вирівняних послідовностей даної топології дерева вважають міру (критерій), що ґрунтується на принципі найбільшої правдоподібності. Було досліджено дендрограму філогенетичних зв'язків штаму із Колекції і філогенетично близьких представників роду *Clostridium* з бази даних «GenBank».

Нижче наведено філогенетичне дерево, побудоване одним із статистичних методів – приєднання сусідів. Філогенетичне дерево з найвищим значенням логарифма подібності для оцінювання еволюційної відстані мало таку саму топологію.

Результати свідчать про філогенетичну гетерогенність досліджуваного штаму і підтверджують належність *C. acetobutylicum* IFBG С6Н до роду *Clostridium*. Показано, що подібність сиквенованих фрагментів 16S рРНК штаму *C. acetobutylicum* IFBG С6Н з фрагментами *C. pasterianum* ATCC 6013 складала 99 %.



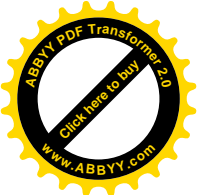
**Рис. 2** Дендрограма філогенетичних зв'язків деяких представників роду *Clostridium*

### Висновки

Таким чином, за допомогою молекулярно-філогенетичного аналізу послідовності гена 16S рРНК штаму *C. acetobutylicum* IFBG С6Н підтверджено належність його до роду *Clostridium* і встановлено філогенетичні зв'язки зі спорідненими штамми з бази даних «GenBank», подібність з якими становила 99 %. Враховуючи морфологічні особливості і філогенетичну спорідненість штаму до бактерій роду *Clostridium* можна зробити висновок, що *C. acetobutylicum* IFBG С6Н представляє науковий інтерес та потребує подальшого вивчення.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Шульга С. М. Нові штамми-продуценти біобутанолу. І. Виділення та ідентифікація / С. М.Шульга, О. О.Тігунова // *Biotechnologia Acta*. – 2013. – V 6, No 1. – С. 97-104.
2. Al-Shorgani N. K.N. The effect of different carbone sources on biobutanol production using *C. saccharoperbutylacetonicum* N 1-4 / Al-Shorgani N. K.N, Kalil N. S., Yusoff W. M.W.// *Biotechnology*. – 2011. – 10(3). – P. 280-285.

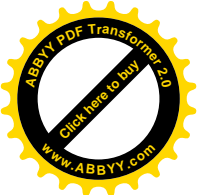


3. Jonson L. J. Cultures of “Clostridium acetobutylicum” from Various Collections Comprise Clostridium acetobutylicum, Clostridium beijerinckii, and two other Distinct Types Based on DNA-DNA Reassociation / Jonson L. J., Toth J., Santiwatanakul S., Chen J. S. // Int. J. of System. Bact. – 1997. – V. 47, No. 2. – P. 420-424.
4. Keis S. Taxonomy and Phylogeny of industrial solvent-producing clostridia / Keis S., Bennett C. F., Ward K. V., Jones D. T // J. of System. Bacteriol. – 1995. – Vol. 45, No. 4. – P. 693-705.
5. Tigunova O. Biobutanol as an Alternative Type of Fuel / Tigunova O. Shulga S., and Blume Y. // Cytology and Genetics. – 2013. – Vol. 47, No. 6. – P. 51-71.
6. Tigunova O. Obtaining of new butanol producers / Tigunova O., Shulga S // Abst. 15<sup>th</sup> Eur. Congr. Biotechnol., Istanbul, Turkey, 23-29 September 2012. – V. 29, Issue S. – P. S 43.
7. Wilkinson S. R. Phenotypic and genotypic differences between certain strains of Clostridium acetobutylicum / Wilkinson S. R. ,Young M., Goodacre R., Morris J.G., Farrow J. A. E., Collins M. D. / FEMS Microbiology letters. – 1995. – 125. – P. 199-204.
8. Wilson K. Preparation of Genomic DNA from bacteria / Wilson K. // Current protocol in Molecular biology. – 1997. – Unit 2.4.1.

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА  
БУТАНОЛА СРАВНЕНИЕМ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ  
ГЕНА 16S рРНК**

**С. Г. Приёмов, Е. А. Тигунова**

*Аннотация.* Определение филогенетического сродства новых штаммов-продуцентов является первой ступенью в оптимизации условий культивирования штамма и интенсификации синтеза целевого продукта (бутанола). Задачей данной работы было провести анализ нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК и филогенетический анализ штамма с использованием методов соединения ближайших соседей и максимальной подобности. В результате проведённых исследований было подтверждено,



что *Clostridium acetobutylicum* IFBG C6H действительно относится к р. *Clostridium*. Гомология нового штамма с существующими составила 99 %. Учитывая морфологические особенности и филогенетическое родство штамма к бактериальному роду *Clostridium* можно сделать вывод, что *C. acetobutylicum* IFBG C6H представляет научный интерес и требует дальнейшего изучения. Выходя из морфологических особенностей и филогенетического родства штамма можно сделать вывод, что *C. acetobutylicum* IFBG C6H требует дополнительного изучения.

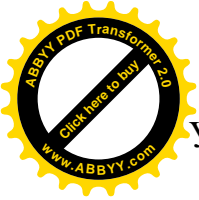
**Ключевые слова:** филогенез, бутанол, штамм-продуцент

## PHYLOGENETIC ANALYSIS OF BUTANOL PRODUCING STRAINS COMPARED 16S RRNA GENE SEQUENCE

S. Priyomov, O. Tiginova

**Abstract.** Determination of a phylogenetic relatedness new producer strains is the first step in optimizing the conditions for cultivation of the strain and stimulation of synthesis of the title product (butanol). The task of this work was to analyze the nucleotide sequences of the 16S rRNA gene and phylogenetic analysis of a strain using the methods of the compound of the nearest neighbors and the maximum similarity. As a result of investigations it was confirmed that *Clostridium acetobutylicum* IFBG C6H really belongs to the genus *Clostridium*. Homology of the novel strain existing is 99 %. Coming out of the morphological characteristics and phylogenetic relationships of the strain it can be concluded that the *C. acetobutylicum* IFBG C6H requires further study.

**Key words:** phylogeny, butanol, producing strain



УДК 612. 398:577.121.3



## СКРИНІНГ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ ЗА ПРОДУКТИВНІСТЮ ТА ЕФЕКТИВНІСТЮ ПРОЦЕСІВ БІОКОНВЕРСІЇ ЛІГНОЦЕЛЮЛОЗНОЇ СИРОВИНИ

**Н. Є. БЕЙКО**, науковий співробітник,

**С. І. ПРИЙОМОВ**, доктор технічних наук, провідний науковий  
співробітник,

**О. О. ТІГУНОВА**, провідний інженер

*ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України»*

*E-mail: innagoriunova@yandex.ua*

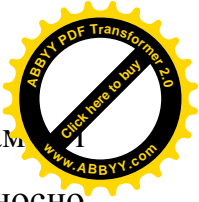
***Анотація.** Завданням роботи було проведення порівняння ступеня біоконверсії різних лігноцелюлозних субстратів мікроорганізмами. В результаті проведених досліджень було відібрано дві культури *Pichia apotala* K-1 і *Aspergillus awamori* sp з «Колекції штамів мікроорганізмів та ліній рослин для харчової і сільськогосподарської біотехнології» ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України». Встановлено, що біоконверсія целюлозовмісної сировини є регульованим процесом і залежить не тільки від фізіологічних особливостей продуцентів, але й від попередньої обробки сировини.*

***Ключові слова:** лігноцелюлозна сировина, біоконверсія, штами-продуценти*

В умовах економічної кризи паливні концерни проводять інтенсивний пошук нових поновлювальних джерел енергії та можливості використання відходів сільського господарства [2].

Найбільш перспективною та доступною заміною сировини харчового призначення для отримання вторинних метаболітів біосинтезу є лігноцелюлоза – відходи, що утворюються під час переробки залишків рослин. Біоконверсія лігноцелюлозних відходів може сприяти подоланню багатьох економічних і екологічних проблем та створенню підґрунтя для організації нових і удосконалення вже існуючих біотехнологій [3].

В сухій рослинній біомасі знаходиться близько 50 % целюлози. Це найпоширеніший біополімер, який є цінним джерелом вуглецю та енергії [4]. Складність використання целюлози полягає в тому, що в природному стані



вона знаходиться в складі нерозчинного комплексу з геміцелюлозамі лігніном. Крім того, окремі молекули целюлози орієнтуються одна відносно одної подібно кристалам за рахунок утворення водневих зв'язків, що перешкоджає дії гідролітичних агентів [5, 6].

**Мета дослідження** – здійснити скринінг штамів мікроорганізмів, визначити рівень біоконверсії лігноцелюлозного субстрату в моноцукри та оцінити ефективність їх застосування.

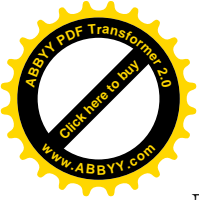
**Матеріали та методи досліджень.** Об'єкти досліджень: мікроорганізми – *A. niger sp.*, *A. niger 4*, *A. orizae 49-Б*, *A. awamori 9*, *Tremela sp.*, *Endomycopsis sp.*, *Rhizopus-BHP-179*, *Penicillium sp.*, *Pichia K-1*, *B. subtilis MK-1* із «Колекції штамів мікроорганізмів та ліній рослин для харчової і сільськогосподарської біотехнології» ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України».

Бактеріальні культури зберігали на м'ясо-пептонному агарі (м'ясо-пептонний бульйон із 2 % агару), дріжджові та грибні культури на сусло – агарі (солодове сусло з 2 % агару).

Бактерії вирощували на штрихових пластинах із середовищем МПА (склад: на 100 мл МПБ – 0,1 г глюкози; 0,25 г дріжджового екстракту). Інокуляцію продуцентів проводили на рідкому середовищі – збагаченому МПБ (склад: на 100 мл МПБ – 0,1 г глюкози; 0,25 г дріжджового екстракту) [1].

Культивування бактерій проводили на збагаченому м'ясо-пептонному агарі (склад: м'ясо-пептонний бульйон – 0,1 л; глюкоза – 0,1 г; дріжджовий екстракт – 0,25г; агар – 2%). Для культивування грибів використовували середовище наступного складу (%): цукрози – 2,0;  $\text{NaNO}_3$  -0,9;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,1;  $\text{KCl}$  – 0,05;  $\text{MgSO}_4$  – 0,05;  $\text{FeSO}_4$  – 0,001; крохмаль – 1,0. Дріжджі культивували на солодовому суслі з концентрацією сухих речовин 8 %. Культивування проводили на шейкері за температури від 28 °С до 32 °С протягом доби.

Вирощування мікроорганізмів проводили в колбах Ерленмейера місткістю 250 мл, в які задавали по 50 мл середовища наступного складу (г/л): подрібнених стеблин дроговидного проса – 60,0; ДАФ – 2,0; дріжджового екстракту – 0,5.



Інокуляцію проводили суспензією, що містила 1,1 млрд. кл. дводобової культури, попередньо вирощеної на агаризованому середовищі, з розрахунку 15 млн. на 1 мл середовища. Посівний матеріал задавали в кількості 10 % від об'єму середовища.

Для визначення активності росту відібраних мікроорганізмів на середовищі, де в якості джерела вуглецю була целюлоза, використовували ензиматичне середовище наступного складу, %:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 0,5;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  -0,5;  $\text{MgSO}_4$  -0,05; ДЕ -0,1; целюлоза -2,0.

Культивування мікроорганізмів проводили в шейкері «BIOSAN» ES – 20 (Латвія) з 240 об/хв протягом чотирьох діб.

Інтенсивність росту визначали за синтезом біомаси після трьохдобової інкубації за температури від 28 °С до 32 °С. Кількість накопиченої біомаси визначали ваговим методом.

Скринінг активних культур проводили в два етапи. Перший етап полягав в прямому відборі активних культур різних видів мікроорганізмів за інтенсивністю росту на лігніноцелюлозному середовищі. Другий етап – визначення активності біоконверсії лігноцелюлозної сировини в умовах ферментації на оптимізованому ензиматичному середовищі.

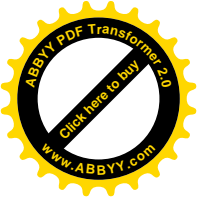
Гідроліз сухої маси проса проводили обробленням кислотою ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) низької концентрації (2 %) за температури 137 °С протягом 2 годин.

Визначення концентрації цукрів у середовищі і культуральній рідині проводили антроновим методом [1].

Усі досліди проводили у 3 повторюваності.

Статистична обробка експериментальних даних була зроблена за допомогою програми Microsoft Excel. Різницю між двома середніми величинами вважали достовірною при  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** Результати першого етапу скринінгу активних культур прямим відбором представлені в таблиці 1 (посів на поверхню агаризованого середовища в чашки Петрі) і таблиці 2 (ферментація рідкого лігноцелюлозного середовища).



## 1. Ріст мікроорганізмів на агаризованому лігноцелюлозному середовищі

Зразки	Інтенсивність росту
<i>A. niger sp.</i>	++*
<i>A. niger 4</i>	+++*
<i>A. oryzae_49-Б</i>	++
<i>Asp. awamori sp</i>	+++
<i>Tremela sp</i>	++
<i>Endomycopsis sp</i>	+*
<i>Rhizopus BHP-179</i>	+++
<i>Penicillium sp</i>	+++
<i>Pichia anomala K-1</i>	+++
<i>Bac. subtilis МК-1</i>	+
Контроль	-

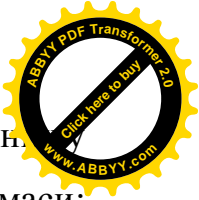
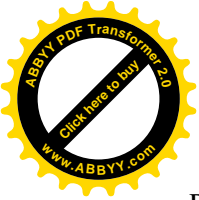
Примітка: +, ++, +++ - інтенсивність росту

Найбільшу інтенсивність росту на агаризованому середовищі із дротовидного проса мали культури: *A. niger 4*, *A. awamor sp*, *Rhizopus BHP-179*, *Penicillium sp*, *P. anomala K-1*. Інтенсивність росту відповідала і кількості накопиченої біомаси (табл. 2) за умов ферментації на рідкому середовищі із біомасою дротовидного проса.

## 2. Технологічні показники ферментації лігноцелюлозної сировини

Мікроорганізми	pH, од.	СР, %	Концентрація біомаси, г/л
<i>A. niger sp.</i>	7,5	4,0	8,7
<i>A. niger 4</i>	7,7	3,5	9,06
<i>A. oryzae49-Б</i>	6,4	3,2	8,15
<i>A. awamori sp.</i>	7,8	3,5	9,02
<i>Tremela sp</i>	7,4	3,5	7,95
<i>Endomycopsis sp</i>	4,74	3,5	7,8
<i>Rhizopus BHP-179</i>	7,6	4,0	9,0
<i>Penicillium sp</i>	7,6	4,0	9,4
<i>Pichia anomala K-1</i>	7,98	3,0	12,0
<i>B. subtilis МК-1</i>	6,5	3,0	7,9

Перший етап скринінгу показав, що для культур з найбільшою інтенсивністю росту спостерігалась варіабельність концентрації біомаси від 7,8 до 12 г/л.



Для подальшої роботи за результатами першого етапу скринінгу відібрано штами мікроорганізмів з найбільшим рівнем накопиченої біомаси: *P. anomala* K- 1, *Penicillium* sp, *Rhizopus* BHP-179, *A. niger* 4, *A. awamori* 9. Було проведено ферментацію збагаченого ензиматичного середовища вибраними штамами мікроорганізмів. Технологічні показники ферментації представлені в таблиці 3.

### 3. Технологічні показники ферментації відібраними штамами

Мікроорганізми	pH	CP	Концентрація біомаси, г/л
<i>Pichia anomala</i> K- 1	3,6	2,4	16,8
<i>A. awamori</i> 9	3,6	1,9	16,3
<i>A. niger</i> 4	3,6	2,13	11,5
<i>Rhizopus</i> BHP-179	3,5	2,6	12,0
<i>Penicillium</i> sp.	3,5	2,0	10,6

В результаті скринінгу за накопиченням біомаси для подальших досліджень відібрано штами мікроорганізмів: *P. anomala* K-1 та *A. awamori* 9.

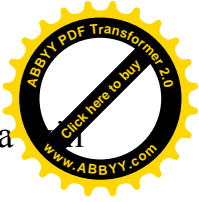
Оскільки, основним структурним компонентом сухої рослинної маси є целюлоза, то було проведено ферментацію синтетичного середовища з додаванням целюлози як джерела вуглецю. Технологічні параметри ферментації представлені в таблиці 4.

### 4. Ферментація целюлози відібраними штамами мікроорганізмів

Штами мікроорганізмів	pH	Сухі речовини, %	Біомаса, г/л
<i>Pichia anomala</i> K-1	4,2	1,8	28,3
<i>A. awamori</i> sp.	5,5	2,9	26,5

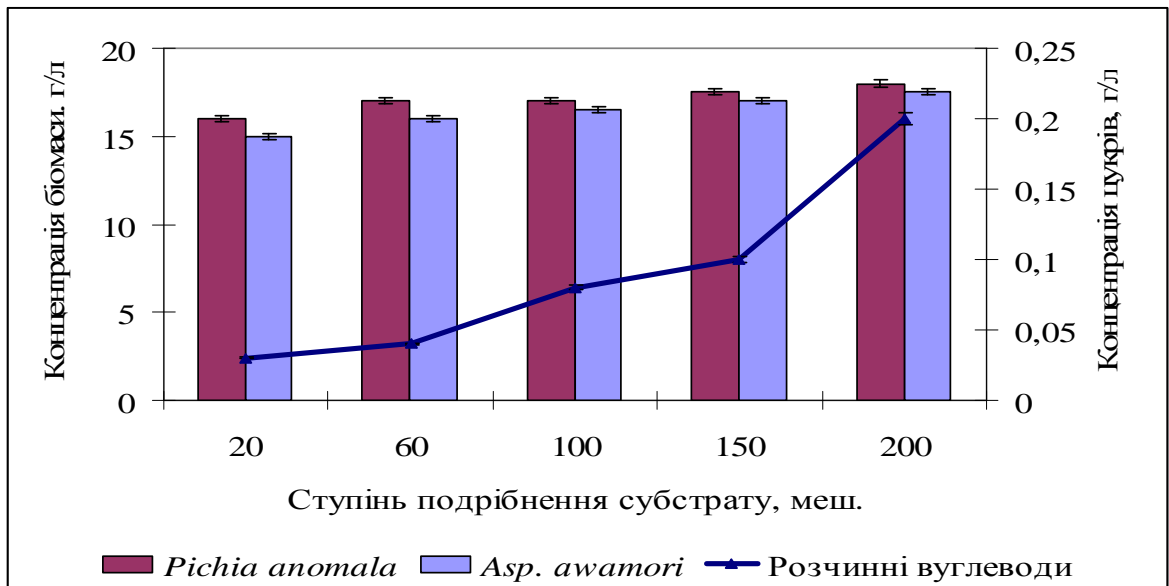
За результатами дослідження найбільший показник накопичення біомаси був у *P. anomala* K-1 (28,3 г/л) в порівнянні з *A. awamori* sp. (26,5 г/л). Це частково можна пояснити більш глибоким розщепленням целюлози штамом *P. anomala* K-1 та утворенням додаткової кількості цукрів, які далі споживаються культурою.

Слід відмітити, що важливим фактором, який впливав на ферментацію, була підготовка субстрату. Підготовка субстрату включала етап подрібнення сировини, оскільки якість і рівномірність помелу обумовлюють температурний



режим водно-теплової обробки сировини і ступінь втрат вуглеводів на стадії.

Було досліджено вплив ступеню подрібнення сировини на вміст цукрів та накопичення біомаси (рис. 1).

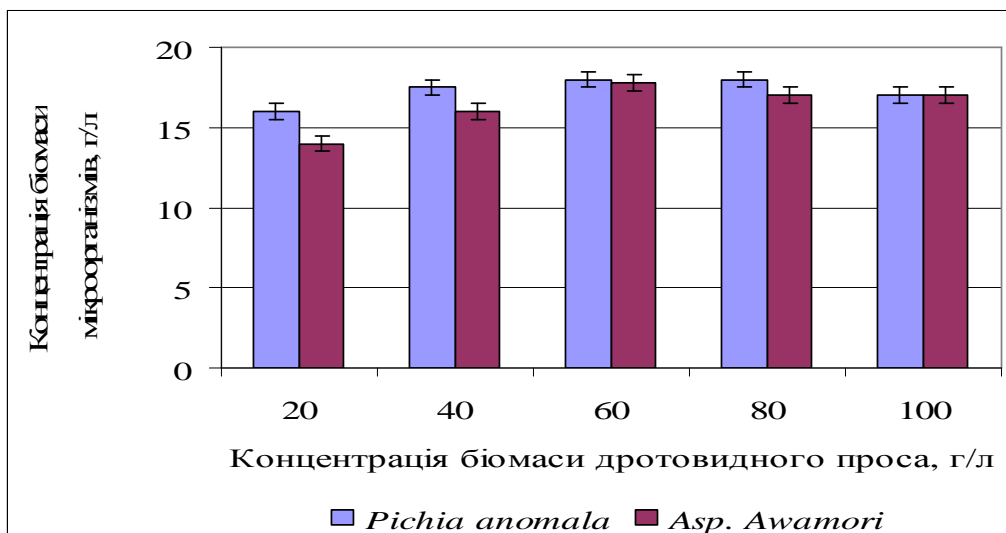


**Рис. 1. Залежність концентрації біомаси відібраних мікроорганізмів від ступеня подрібнення субстрату**

Дослідження показали, що зі збільшенням ступеня подрібнення біомаси дроговидного проса до 200 меш синтез біомаси збільшувався, а з подальшим подрібненням практично не змінювався. Це пояснюється тим, що за збільшення ступеня диспергування сировини настає більш глибоке розщеплення целюлози (до певного рівня) та утворюється додаткова кількість вуглеводів.

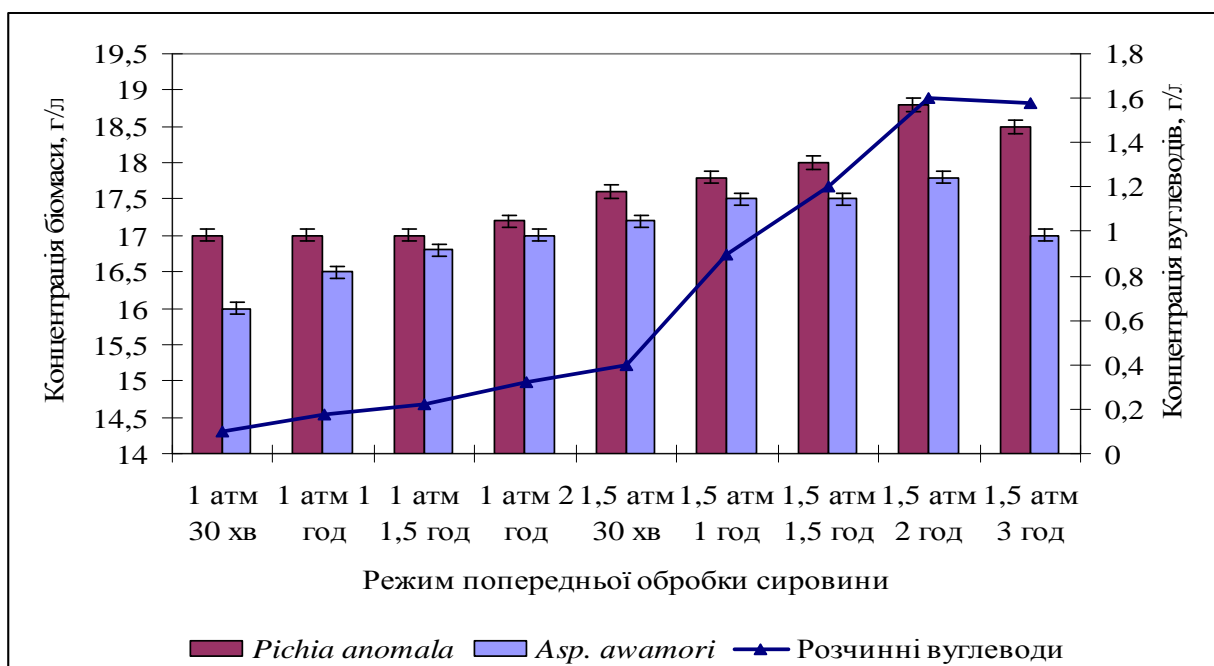
Було проведено дослідження впливу концентрації подрібненої біомаси дроговидного проса в середовищі на синтез біомаси. Результати представлені на рис. 2.

Показано, що оптимальна концентрація субстрату у середовищі склала 60 г/л. Слід відмітити, що зростання концентрації субстрату призводило до зменшення кількості накопиченої біомаси мікроорганізмів. Підвищення вмісту сухих речовин в середовищі пригнічувало життєдіяльність продуцентів.



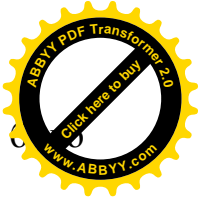
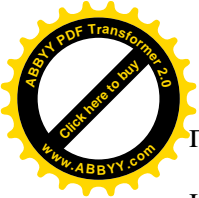
**Рис. 2. Залежність біомаси мікроорганізмів від концентрації субстрату**

Враховуючи такі чинники як ступінь подрібнення і вміст сухих речовин, проведено відпрацювання температурного режиму водно-теплової обробки сировини – подрібненої біомаси проса. Результати представлені на рис 3.



**Рис. 3. Залежність концентрації біомаси мікроорганізмів від режиму водно-теплової обробки сировини**

В результаті дослідження було показано, що найбільшу концентрацію біомаси накопичували культури *P. anomala* К-1 (18,8 г/л) і *A. awamori* 9 (17,8 г/л) за використання попередньо обробленої сировини за 1,5 атм ( $127 \pm 1$  °C)



протягом 2 год (рис. 3). Подальше збільшення часу обробки сировини недоцільним, оскільки кількість накопиченої біомаси зменшувалась.

Стадія попередньої підготовки сировини має багато варіантів. Одним із них є органозольна підготовка сировини з використанням розбавлених кислот. Було проведено ферментацію з використанням кислотних гідролізатів біомаси дротовидного проса. Технологічні показники ферментації гідролізованої сухої біомаси дротовидного проса представлені в таблиці 5.

### 5. Вплив кислотного гідролізу сировини на технологічні показники культивування

Технологічні показники		Штами мікроорганізмів	
		<i>Pichia anomala K-1</i>	<i>A. awamori sp.</i>
До гідролізу	Вміст розчинних цукрів	1,62	1,62
	pH	4	4
	Сухі речовини	2,5	2,8
	Біомаса	18,8	17,8
Після гідролізу	Вміст розчинних цукрів	2,65	2,65
	pH	3,5	3,5
	Сухі речовини	2,3	2,4
	Біомаса	24,9	23,0

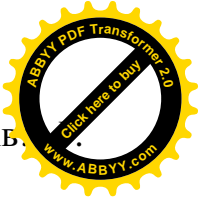
Наступним етапом було проведення культивування з використанням штамів мікроорганізмів, відібраних в результаті другого етапу скринінгу на ензиматичному середовищі з урахуванням ступеня подрібнення стеблин, концентрації сухих речовин в середовищі і режиму водно-теплової обробки. Технологічні показники ферментації представлені в таблиці 6.

### 6. Технологічні показники культивування на лігноцелюлозній сировині відібраними штамми мікроорганізмів

Штами мікроорганізмів	pH	Сухі речовини	Біомаса
<i>Pichia anomala K-1</i>	3,5	2,3	24,9
<i>A. awamori sp.</i>	3,5	2,4	23,5

### Висновки

Проведено скринінг культур з Колекції за активністю біоконверсії лігноцелюлозної сировини і їх продуктивністю. В результаті скринінгу



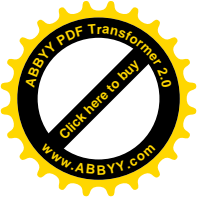
відібрано найбільш перспективні і продуктивні штами мікроорганізмів *anomala* K-1 і *A. awamori* sp.

Встановлено основні технологічні параметри стадії підготовки лігноцелюлозної сировини: ступінь подрібнення (200 меш), водно-теплову обробку (тиск 1,5 атм. протягом 2 год.) та кислотний гідроліз біомаси проса (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> концентрацією 2 %). Оптимальною концентрацією субстрату було 60 г/л.

Таким чином, під час культивування за оптимальних умов концентрація біомаси *Pichia anomala* K-1 становила 24,9 г/л, а концентрація біомаси *A. awamori* sp. – 23,5 г/л.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Оленников Д. Н. Методика количественного определения группового состава углеводного комплекса растительных объектов / Д. Н. Оленников, Л. М. Танхаева // Химия растительного сырья. – 2006. - № 4. – С. 29-32.
2. Скрининг культур грибов, дрожжей и бактерий для биоконверсии лигноцеллюлозного сырья в моносахара. / [Тигунова Е. А., Хоменко А. И., Ткаченко А. Ф. и др.] // Материалы конференции «Актуальные проблемы биоэкологии», 23-25 октября 2014г., –Минск. – С. 23.
3. Шульга С. М. Лігноцелюлоза як альтернативна сировина для одержання біобутанолу / С. М. Шульга, О. О. Тигунова, Я. Б. Блюм // BiotechnologiaActa. – 2013. – Том 6. – №2. – С. 9-21.
4. Arora R., Manisseri C., et.al. Monitoring and Analyzing Process Streams Towards Understanding Ionic Liquid Pretreatment of Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) // Bioenerg. Res. – 2010. – v. 3. – P.134-145.
5. Li C., Knierim B., et.al. Comparison of dilute acid and ionic liquid pretreatment of switchgrass: biomass recalcitrance, delignification and enzymatic saccharification // Bioresour. Technol. – 2010. – v. 101. – P. 4900 - 4906.



6. Shen H., Poovaiah R. C., Ragauskas A. J. Enhanced characteristics of genetically modified switchgrass (*Panicum virgatum* L.) for high biofuel production// *Biotechnology for Biofuels*. – 2013. – 6(71). – P.1-15

## СКРИНИНГ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ ПО ПРОДУКТИВНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОЦЕССОВ БИОКОНВЕРСИИ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО СЫРЬЯ

**Н. Е. Бейко, С. И. Приёмов, Е. А. Тигунова**

*Аннотация.* Задачей данной работы было провести сравнение биоконверсионных способностей микроорганизмов на лигноцеллюлозном сырье. В результате проведенных исследований было отобрано две культуры *Pichia anomala* K-1 и *Asp. awamori* sp. из «Коллекции штаммов микроорганизмов и линий растений для пищевой и сельскохозяйственной биотехнологии» ГУ «Института пищевой биотехнологии и геномики» НАН Украины. Показано, что биоконверсия целлюлозосодержащего сырья представляет собой регулируемый процесс и зависит не только от физиологических особенностей продуцентов, но и от предварительной обработки сырья.

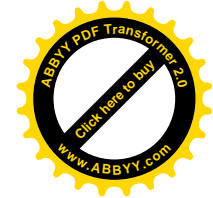
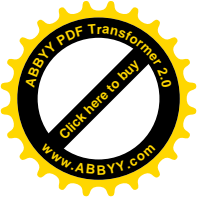
**Ключевые слова:** лигноцеллюлозное сырье, биоконверсия, штаммы-продуценты

## SCREENING OF MICROBIAL STRAINS ON EFFICIENCY AND EFFECTIVENESS IN THE BIOCONVERSION OF LIGNOCELLULOSIC FEEDSTOCKS

**N. E. Beyko, S. I. Priyomov, O. O. Tigonova**

*Abstract.* The task of this study was to compare the bioconversion abilities of microorganisms in the lignocellulosic feedstock. As a result of the survey were selected two cultures *Pichia anomala* K-1 and *Asp. awamori* sp. from the "Collections of microbial strains and lines of plants for food and agricultural biotechnology" SI "Institute of Food Biotechnology and Genomics" of NAS of Ukraine. It is shown that the bioconversion of cellulosic raw materials is regulated process, and depends not only on the physiological characteristics of producers, but also on the pretreatment material.

**Key words:** lignocellulosic feedstock, bioconversion, producing strain



УДК 58.085

## ВВЕДЕННЯ В КУЛЬТУРУ IN VITRO ТА ПОЛІПЛОЇДИЗАЦІЯ

### *MISCANTHUS GIGANTEUS*

**О. В. МЕЛЬНИЧУК**, аспірант\*

**С. П. ОЖЕРЄДОВ**, кандидат біологічних наук

**Д. Б. РАХМЕТОВ**, доктор сільськогосподарських наук, професор

**С. О. РАХМЕТОВА**, молодший науковий співробітник

**А. С. СЕКАН**, молодший науковий співробітник

**Г. Я. БАЄР, О. М. ШИША**, кандидати біологічних наук

**А. І. ЄМЕЦЬ**, доктор біологічних наук

*Державна установа "Інститут харчової біотехнології  
та геноміки НАН України"*

*E-mail: olexandr\_melnichyk@ukr.net*

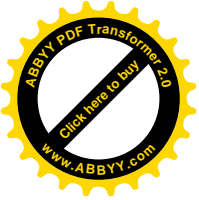
***Анотація.** Міскантус гігантський має великий потенціал для використання у сучасних технологіях виробництва біопалива. Одержання поліплоїдних ліній міскантусу гігантського дозволило б вирішити проблему фертильності та підвищити врожайність біомаси. В даній роботі наведено результати розробки протоколів поверхневої стерилізації асептичного рослинного матеріалу, які дозволяють отримати до 82 % стерильних експлантів, та базових протоколів індукції калюсогенезу та подальшого отримання рослин-регенерантів міскантусу гігантського.*

***Ключові слова:** міскантус гігантський, введення в культуру in vitro, експлант, поверхнева стерилізація, культура тканин, поліплоїдизація*

Рослини і різноманітні матеріали рослинного походження мають великий потенціал у забезпеченні планети відновлювальною енергією у майбутньому[3]. Поміж перспективних біоенергетичних культур можна виділити міскантус. Рослини відзначаються своєю невибагливістю до ґрунтових умов та високою

---

\*Науковий керівник - доктор біологічних наук, професор Блюм Ярослав Борисович



продуктивністю, яка становить близько 20–25 т/га сухої речовини [1]. Серед представників цього роду міскантус гігантський (*Miscanthus × giganteus*) є одним з найбільш перспективних [6]. Міскантус гігантський – це спонтанно утворений гібрид між *Miscanthus sacchariflorus* та *Miscanthus sinensis* і являє собою стерильний алотриплоїд ( $2n=3x=57$ ) [4].

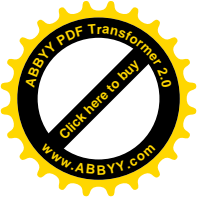
Одержання поліплоїдних ліній цього виду дало б можливість підвищити врожайність біомаси, вирішити проблему фертильності та дозволити ведення селекції на одержання нових ліній [8]. Поліплоїдизація в умовах *in vitro* із використанням сполук динітроанілінового ряду має перевагу над класичними антимітотичними речовинами завдяки їх високій спорідненості до тубуліну рослин та відносно низькій фітотоксичності [7, 10].

Цей метод вимагає введення міскантуса в культуру *in vitro*, що має певні складнощі, а саме, це високий рівень контамінації експлантів з підземної частини рослин, який в деяких випадках може перевищувати 50 % [5, 9].

**Мета дослідження** – розробка ефективного методу введення в культуру *in vitro* експлантів з підземної частини рослин міскантуса гігантського з метою отримання матеріалу для подальшого індукування утворення поліплоїдів із використанням перспективних антимітотичних сполук.

**Матеріали і методи дослідження.** В якості об'єкта дослідження нами було використано рослини *M. giganteus*, сорту «Гулівер», отримані з робочої колекції Національного ботанічного саду ім. М. М. Гришка НАН України. Як експланти, використовували кореневі придаткові бруньки з фрагментами ризом. Експланти добирали зі щойно викопаних та ретельно відмитих від ґрунту коренів рослин. Головними критеріями добору експлантів були оптимальний розмір бруньок (0,3–1,0 см), наявність ознак життєздатності та відсутність механічних пошкоджень.

Під час обробки експлантів використовували наступні варіанти поверхневої стерилізації:



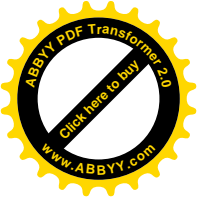
**Варіант 1** передбачав обробку відібраних експлантів 4 %-им розчином Tween 20 протягом 10 хв, з наступним двократним ополіскуванням та подальшою обробкою у 70 %-му розчині етанолу протягом 3 хв при постійному помішуванні. Наступним кроком була обробка розчинами цефотаксиму (250 мг/л) та превікуру (0,15 % ) із додаванням 2 %-го Tween 20 з експозицією 20 хв. Далі експланти двічі промивали стерильною водою та переносили до 4 %-ого розчину пероксиду водню на 20 хв, постійно помішуючи.

**Варіант 2** був ідентичним до попереднього, відрізнявся лише концентрацією пероксиду водню (8 %).

**Варіант 3** передбачав обробку відібраних експлантів 4 %-им розчином Tween 20 протягом 10 хв з наступним двократним ополіскуванням. Подальшу обробку здійснювали у 70 %-му розчині етанолу протягом 3 хв при постійному помішуванні. Наступним кроком була обробка розчинами цефотаксиму (250 мг/л) та превікуру (0,15 % ) із додаванням 2 %-го Tween 20 з експозицією 20 хв, після чого експланти двічі промивали стерильною водою та переносили до розчину гіпохлориту натрію (NaOCl) у концентрації 6 % із додаванням Tween 20 (2 %) на 20 хв. Після стерилізації експланти тричі промивали водою протягом 10 хв кожного разу.

**Варіант 4** відрізнявся від попереднього лише концентрацією розчину NaOCl (12 %). Всі інші маніпуляції відповідали попередньому протоколу.

**Варіант 5** передбачав обробку відібраних експлантів 4 %-им розчином Tween 20 протягом 10 хв, з наступним двократним відмиванням стерильною дистильованою водою. Подальшу обробку здійснювали у 70 %-му розчині етанолу протягом 3 хв при постійному помішуванні. Наступним кроком була обробка розчинами цефотаксиму (250 мг/л) та превікуру (0,15 % ) із додаванням 2 %-го Tween 20 з експозицією 20 хв, після чого експланти, двічі промиті водою, переносили до розчину  $\text{AgNO}_3$  (0,02 %) із додаванням Tween 20 (2 %) на 20 хв.



Після стерилізації експланти тричі промивали стерильною дистильованою водою, 10 хв кожний.

**Варіант 6** відрізнявся від попереднього концентрацією розчину  $\text{AgNO}_3$  (0,04 %). Всі інші маніпуляції були ідентичні до попереднього протоколу.

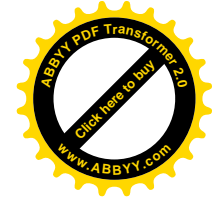
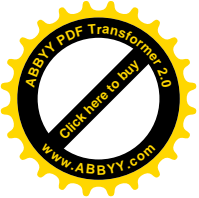
**Варіант 7** передбачав попередню обробку експлантів 50 %-им розчином комерційного препарату «Білизни» (3 %-ий розчин гіпохлориту натрію) протягом 20 хв з постійним помішуванням, тричі промивали стерильною водою та в асептичних умовах із бруньок видаляли поверхневі луски і частину ризом. Підготовлені експланти повторно стерилізували у 50 %-му розчині «Білизни» протягом 20 хв з постійним помішуванням, тричі промивали стерильною водою, протягом 10 хв кожний.

**Варіант 8** був аналогічний до варіанту 7 за виключенням другого етапу обробки, який передбачав повторну стерилізацію експлантів у 0,08 %-му розчині нітрату срібла ( $\text{AgNO}_3$ ) протягом 20 хв з постійним помішуванням.

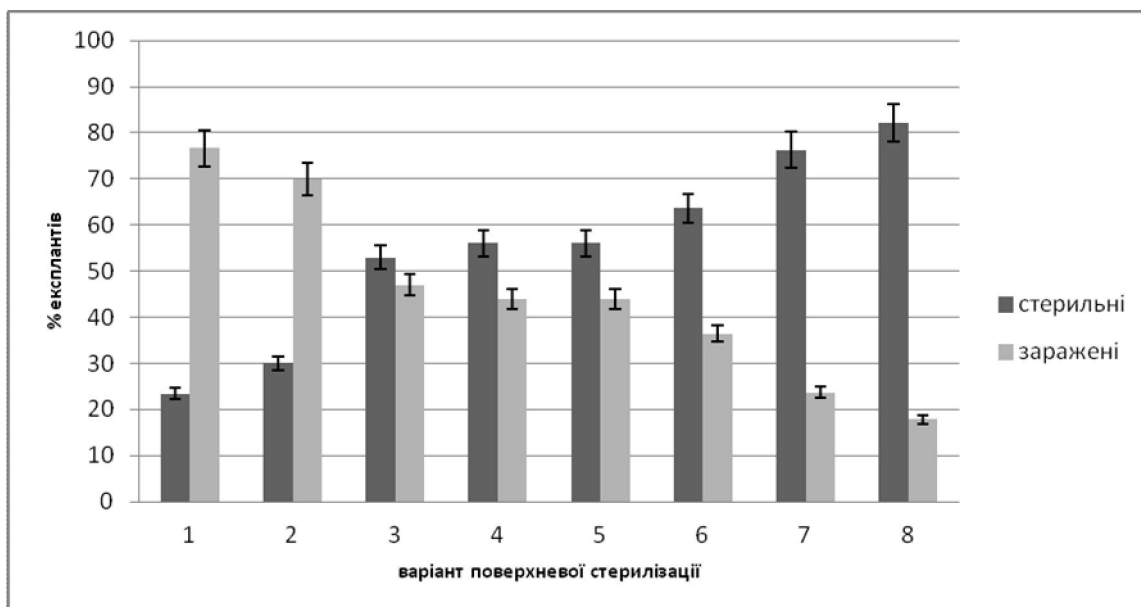
Після проведення поверхневої стерилізації просушені на фільтрувальному папері експланти переносили в чашки Петрі, які містили живильне середовище MS (Murashige and Skoog, 1962) без додавання гормонів. Культивування експлантів здійснювали за температури  $24^\circ\text{C}$  за умов 16/8 год. фотоперіоду.

Підрахунок контамінованих та стерильних експлантів здійснювали на 7-му добу культивування. Аналіз отриманих даних проводили із використанням програми ANOVA. Статистичний аналіз виконували за допомогою MICROSOFT® EXCEL 2002.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Як показали результати дослідження найбільш ефективним методом поверхневої стерилізації є протокол поверхневої стерилізації із використанням 50 %-го розчину «Білизни», видаленням зовнішніх лусок бруньок та частини ризом та обробка 0,08 %-им розчином нітрату срібла, як описано у варіанті 8 (Рис. 1). Цей варіант дозволив одержати 82,2 % стерильних експлантів, які були придатними до індукції



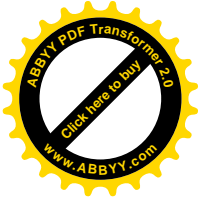
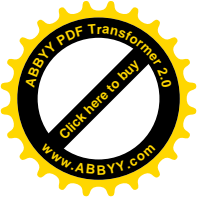
калюсогенезу та наступної регенерації рослин міскантусу гігантського з калюсу як на середовищі, вільному від антимітотичних агентів, так і на середовищі, доповненому 3 мкМ трифлюраліну та іншими перспективними антимітотичними сполуками.



**Рис. 1. Ефективність різних протоколів стерилізації експлантів *M. giganteus* (відсоток стерильних і контамінованих експлантів за використання різних варіантів поверхневої стерилізації експлантів)**

Відносно ефективним виявився протокол, описаний у варіанті 7 з використанням 50 %-го розчину «Білизни», який дозволяє одержати 76,3 % стерильних експлантів міскантусу гігантського. Використання перекису водню у зазначених концентраціях є неефективним для поверхневої стерилізації експлантів з підземної частини рослин міскантусу гігантського (Рис.1).

Для індукції калусогенезу нами були використані модифіковані середовища MS, які містили ауксини та цитокініни у різних комбінаціях та концентраціях [2]. Для регенерації рослин калусну культуру культивували на середовище MS, яке містило 2 мг/л БАП. Отримані регенеранти розділяли та переносили на аналогічне середовище для подальшого мікроклонального розмноження.



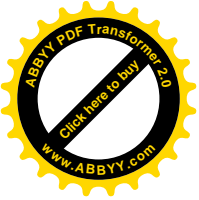
З метою отримання поліплоїдних рослин під час регенерації, середовище доповнювали трифлураліном та іншими перспективними антимітотичними сполуками динітроанілінового ряду, такими як: Бр-44, Бр-37, СНА-030 та СНА-017, у концентрації 3 мкМ. Після 20 діб культивування на середовищі з антимітотичними речовинами калюс переносили на живильне середовище, вільне від гербіцидів. Регеновані з калюсу рослини відокремлювали та переносили на середовища MS, доповнене 2 мг/л БАП для подальшого розвитку та розмноження ліній, які вимагають встановлення рівня плоїдності.

Під час регенерації як на вільному від антимітотичних сполук, так і на середовищі із додаванням динітроанілінів, спостерігали утворення вільних коренів, які за кількістю значно перевищували кількість утворених пагонів. Отже, важливим питанням є оптимізація умов та комбінації регуляторів росту для індукції калюсогенезу та регенерації рослин міскантусу гігантського з калюсної культури.

### **Висновки**

За результатами проведених досліджень відпрацьовано метод введення рослин міскантусу гігантського в культуру *in vitro*, який дозволяє одержати 82,2 % стерильних експлантів, здатних до дедиференціації та органогенезу. Розроблено базові протоколи для індукції калюсогенезу та наступної регенерації рослин з калюсу. Проте, як показали проведені дослідження, вони потребують подальшого доопрацювання з метою підвищення їх ефективності та оптимізації. Також було проведено дослідження з поліплоїдизації міскантусу за використання динітроанілінових сполук.

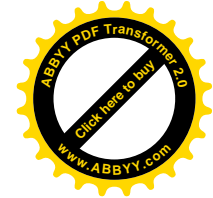
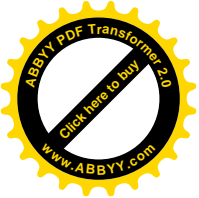
Планується подальше проведення роботи по відбору найбільш перспективних антимітотичних речовин динітроанілінового задля ефективного отримання поліплоїдних рослин міскантусу.



Робота виконувалася в рамках наукового проекту "Створення нових високоврожайних ліній міскантусу як сировини для біоетанолу шляхом отримання поліплоїдів" (2015-2019 р.р.) цільової комплексної науково-технічної програми наукових досліджень НАН України «Біологічні ресурси і новітні технології біоенергоконверсії».

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Clifton-Brown J. C., Breuer J., Jones M. B. Carbon mitigation by the energy crop *Miscanthus*/ Global Change Biology. – 2007. – № 11 – P. 2296–2307.
2. Gubisova M., Gubis J., Zofajova A., Mihalik D., Kraic J. Enhanced *in vitro* propagation of *Miscanthus x giganteus*// J Ind Crop Prod. – 2013. – № 41. – P. 279–282.
3. Heaton E.A., Dohleman F.G., Miguez A.F., Juvik J.A., Lozovaya V., Widholm J., Zabolina O.A., McIsaac F., David M.B., Voight T.B., Boersma N.N., Long S.P. *Miscanthus*: a promising biomass crop//Adv Bot Res. –2010. – № 56. P. 75–135.
4. Hirayoshi I., Nishikawa K., Hakura A. Cytogenetical forage studies on forage plants: 3- and 4-hybrids raised from the cross, *Miscanthus sinensis* var. *condensatus* M. *sacchariflorus*// Research Bulletin of the Faculty of Agriculture Gifu University. –1960. –№ 12. – P. 82–88.
5. Jain S. M., Dutta Gupta Biotechnology of Neglected and Underutilized Crops. : Springer Science+Business Media Dordrecht, 2013. – 247 p.
6. Nasir, El Bassam Handbook of bioenergy crops: A complete reference to species, development and applications.: Routledge, Taylor and Francis Group Ltd. Oxford, 2010. – 544 p.
7. Yemets A.I., Blume Ya.B. Progress in plant polyploidization based on antimicrotubular drugs // The Open Horticulture J. – 2008. - 1, №1. - P. 15-20.
8. Yu C.Y., Kim H.S., Burn A.L., Widholm J.M., Juvik J.A. Chromosome doubling of the bioenergy crop, *Miscanthus*×*giganteus*// Global Change Biology Bioenergy. – 2009. – № 1. – P. 404–412.



9. Мельничук О. В. Розробка та відпрацювання методики введення в культуру *in vitro* рослин міскантусу / [О. В. Мельничук, С. П. Ожередов, А. С. Секан, та ін.] // Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2015. - Т. 17. - С. 209-212.
10. Ожередов С. П. Скрининг новых производных 2,4 и 2,6 динитроанилинов на фитотоксичность и антимиотическую активность / [С. П. Ожередов, А. И. Емец, В. Н. Брицун та ін.] // Цитология и генетика. – 2009. – 43, № 5. – С. 3–13.

## **ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ IN VITRO И ПОЛИПЛОИДИЗАЦИЯ MISCANTHUS GIGANTEUS**

**О. В. Мельничук, С. П. Ожередов, Д. Б. Рахметов, С. О. Рахметова А. С.  
Секан, Г. Я. Баер, О. М. Шиша, А. И. Емец**

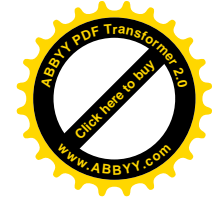
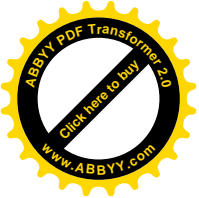
*Аннотация.* Мискантус гигантский – это перспективная энергетическая культура, которая обладает большим потенциалом для использования в современных технологиях производства биотоплива. Получение полиплоидных линий мискантуса гигантского даёт возможность повысить урожайность биомассы и решить проблему фертильности. Проведение полиплоидизации в условиях *in vitro* требует как использования эффективных протоколов введения растений в стерильные условия, индукции каллусогенеза, регенерации растений из каллуса и микроклонального размножения, так и применения высокоэффективных антимиотических соединений с невысоким уровнем фитотоксичности. В данной работе показаны результаты разработки протоколов поверхностной стерилизации асептического растительного материала, позволяющих получить до 82 % стерильных эксплантов, и базовых протоколов для индукции каллусогенеза и получения растений-регенерантов.

**Ключевые слова:** мискантус гигантский, введение в культуру *in vitro*, эксплант, поверхностная стерилизация, культура тканей, полиплоидизация

## **IN VITRO CULTURE ESTABLISHMENT AND POLYPLOIDIZATION OF MISCANTHUS GIGANTEUS**

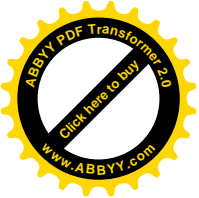
**O. Melnychuk, S. Ozheriedov, J. Rakhmetov, S. Rakhmetova,  
A. Sekan, H. Baier, O. Shysha, A. Yemets**

*Abstract.* *Miscanthus Giganteus* is a promising energy crop with a great potential for utilization in contemporary bio-fuel production technologies. Creation of miscanthus



*polyploids could allow us to solve problem with its fertility and to increase yield of its biomass. In vitro polyploidization requires application of effective protocols for in vitro culture establishment, callus induction, plant regeneration and micropropagation as well as treatment with highly efficient anti-mitotic agents with low level of phytotoxicity. Protocols for surface sterilization of root adventitious buds allowing obtaining up to 82% of sterile explants has been found. Basic protocols for callus induction and plant regeneration have been developed. Plants have been regenerated on both, anti-mitotic agents -free media and on media containing the later.*

**Key words:** *Miscantus giganteus*, in vitro culture establishment, explants, surface sterilization, tissue culture, polyploidization.



УДК 581.17 + 576.311.348.7 + 546.95 + 632.95.02

## ВПЛИВ ЦИНКУ НА ОРГАНІЗАЦІЮ АКТИНОВИХ ФІЛАМЕНТІВ В КЛІТИНАХ КОРЕНІВ *ARABIDOPSIS THALIANA*

**І. І. ГОРІУНОВА**, молодший науковий співробітник\*

**А. І. ЄМЕЦЬ**, доктор біологічних наук, професор, член-кореспондент

НАН України

*Державна Установа «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН  
України»*

*E-mail: innahoriunova.ukr.@gmail.com*

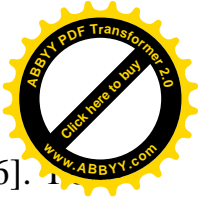
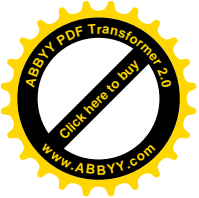
***Анотація.** Досліджено вплив одного з політантів, мікроелементу - цинку ( $Zn^{2+}$ ) - на прижиттєву організацію актинових філаментів (мікрофіламентів) різних типів клітин кореня *Arabidopsis thaliana* (L.) за допомогою лазерної скануючої мікроскопії. Для візуалізації мікрофіламентів була використана лінія *Arabidopsis thaliana*, яка експресує химерний ген *gfp-fabd2*. Встановлено, що  $Zn^{2+}$  децю стимулює ріст головного кореня, а також не викликає змін в його морфології. Вперше показано, що  $Zn^{2+}$  в незначній мірі порушує організацію і орієнтацію мікрофіламентів в клітинах кореню, як основного органу рослин, який першим піддається інтоксикації ґрунтовими політантами. Виявлено, що найбільш чутливими до його дії є актинові філаменти епідермальних клітин перехідної зони, а також клітини зони диференціації кореня *A. thaliana**

***Ключові слова:** клітини кореня, цитоскелет, актинові філаменти, актин, цинк, цитотоксичність*

Важкі метали є одними з найпоширеніших забруднювачів ґрунтів, відомих своїм токсичним впливом на живі організми. Внаслідок сильного антропогенного впливу, виникає проблема підвищеної акумуляції важких металів у рослинах, що негативно впливає, як на самі рослини, так і на людей і тварин, для яких рослини є невід'ємними частинами раціону. В зв'язку з цим важливо дослідити клітинні і молекулярні стрес-індуковані відповіді рослин на важкі метали, з подальшим виробленням ефективних стратегій боротьби з ними. До важких металів належать елементи з металічною структурою і густиною 3,5-7г/см<sup>3</sup>, які декоруються дитизоном і проявляють широкий

---

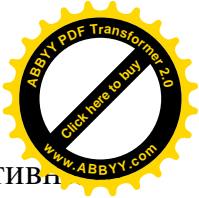
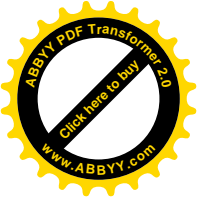
\*Науковий керівник – доктор біологічних наук, професор Ємець Алла Іванівна



діапазон фітотоксичності (As, Cd, Cr, Cu, Pb, Hg, Ni, Se, Zn и др.) [6]. У деяких важких металів (Cd, Pb, Hg та ін.) у фізіологічних процесах рослин мало досліджена, інші – є невід'ємною частиною життєдіяльності рослин і виступають в ролі мікро- і ультрамікроелементів (Zn, Cu, Mg, Ni та ін.). В нашій роботі ми досліджували  $Zn^{2+}$ .

$Zn^{2+}$  входить до складу більш, ніж 30 ферментів, зокрема, фосфатази, карбонатгідрози, алкогольдегідрогенази, РНК-полімерази, а також активує енолазу, альдолазу, гексокіназу, триозофосфатдегідрогеназу, приймає участь в утворенні ауксину і хлорофілу, що демонструє роль  $Zn^{2+}$  в процесах дихання і фотосинтезу [15]. Також  $Zn^{2+}$  відіграє роль у формуванні рибосом, приєднується до фосфоліпідів і сульфгідрильних груп мембранних білків, впливає на проникність мембран [5], а також виступає одним із факторів регуляції транскрипції в сполуках, які містять залишки гістидину і цистеїну, т.к.н «цинкові пальці» [8]. Таким чином, ключовим фактором при реалізації фітотоксичності важких металів виступає концентрація. За гранично допустимих концентрацій  $Zn^{2+}$  корисний для життєдіяльності рослин, виступаючи в якості мікроелементу, а за перевищення фізіологічних концентрацій – проявляє токсичність.

Цитотоксичні властивості важких металів торкаються ряду фізіологічних процесів у рослин. Зокрема, за підвищеної концентрації  $Zn^{2+}$  в *Oryza sativa* L. відбувається уповільнення росту головних коренів і частковий некроз його клітин [17]; подібні процеси відбуваються і у вівсяниці червоної [12]. Однією з причин описаного явища є порушення проходження мітозу. Було продемонстровано, що в клітинах меристеми *Allium cepa* L. під впливом цинк-вмісного препарату Azzurro® спостерігаються  $\kappa$ -мітози, формування хромосомних мостів, порушення проходження анафази, деполімеризація веретена поділу і фрагментації [2]. Крім негативного впливу на мітотичну активність клітин, важкі метали можуть уповільнювати пресинтетичний (G1) і постсинтетичний (G2) періоди клітинного циклу [10; 12]. Слід відмітити, що важкі метали, крім мутагенної та анеугенної дії, також здатні викликати

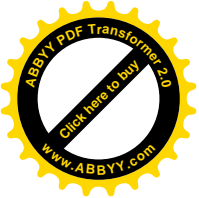


пошкодження ядра [11], порушувати синтез РНК та інгібувати активність рибонуклеаз [14]. В основі зазначених вище порушень клітинного поділу лежить насамперед здатність зв'язування іонів металів з сульфгідрильними групами білків веретена (зокрема, тубуліну), а також ферментів, які відповідають за проходження мітозу, внаслідок чого ці білки втрачають свою активність [11, 14]. Ще однією причиною подібного явища є взаємодія іонів металів з молекулою ДНК, в результаті чого зменшується стабільність її структури [19], а також безпосередній вплив на компоненти цитоскелету, зокрема на мікротрубочки і актинові філаменти (мікрофіламенти).

Вплив  $Zn^{2+}$  на мікрофіламенти, які в рослинній клітині беруть участь в клітинному поділі, рості, переміщенні і позиціюванні органел, транспорті везикул, регулюванні міжклітинних контактів крізь плазмодесми [9, 16] досліджено не було. Проте в опрацьованій нами літературі є дані, стосовно впливу інших важких металів на актинові філаменти рослинних клітин, що дає змогу припустити, про наявність такого впливу і для  $Zn^{2+}$ . Зокрема, за впливу  $Ni^{2+}$  і  $Cu^{2+}$  спостерігалась дозо- і часо- залежна реорієнтація і деполімеризація мікрофіламентів в культурі клітин водоростей *Spirogyra desmiana* [13]. Також відбувалось порушення організації актинових філаментів в корневих волосках *Arabidopsis thaliana* (GFP-FABD2) після обробки  $Cd^{2+}$  [7].

В зв'язку з цим, **метою дослідження** було показати вплив  $Zn^{2+}$  на актинові філаменти різних типів клітин головних коренів *Arabidopsis thaliana*.

**Матеріали і методи дослідження.** Для досліджень нами були використані корені чотириденних проростків лінії *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (екотип Landsberg erecta (Ler.)), які експресують химерний ген *gfp-fabd2*, котрий дозволяє прижиттєво дослідити динаміку та організацію актинових філаментів, за допомогою візуалізації сигналу від зеленого флуоресцентного білка (GFP), злитого з білком, асоційованого з мікрофіламентами. Корені обрані нами в якості об'єкта досліджень, оскільки є універсальною моделлю у зв'язку з наявністю у своїй структурі різних типів клітин, які знаходяться на різних етапах розвитку, і відповідно, першими реагують на підвищення вмісту важких



металів в ґрунтах. Приготування поживних середовищ, пророщування насіння, обробка 4-денних проростків  $ZnSO_4$  (Sigma-Aldrich, USA) в концентраціях 5-20 мкМ, а також дослідження морфології коренів і організації актинових філаментів в клітинах зони поділу, зон елонгації та диференціації *in vivo* за допомогою лазерного скануючого конфокального мікроскопа LSM 5 PASCAL (Carl Zeiss, Німеччина) проводили за методикою описаної нами раніше [1]. За допомогою програмного забезпечення версії 4SP2 LSM 510 META отримували тривимірні зображення організації мікротрубочок на основі серії оптичних зрізів (Z-стеків) з інтервалом 0,2-0,7 мкм. Дослідження повторювали 3-5 разів, вивчаючи не менше 10 проростків для кожної із зазначених концентрацій.

### Результати досліджень та їх обговорення.

Вплив  $ZnSO_4$  на ріст і морфологію головного корня *Arabidopsis thaliana* (GFP-FABD2). В результаті проведених досліджень показано, що вплив 5-10 мкМ  $ZnSO_4$  викликав незначну стимуляцію росту головних коренів *A. thaliana* (GFP-FABD2) (Рис. 1). Зокрема, через 24 год приріст коренів збільшувався в 1,5 рази, а при обробці  $ZnSO_4$  в концентрації 5 мкМ, в 1,5 рази, в 1,1 рази – при 10 мкМ і в 1,02 рази – при 20 мкМ. Разом з тим, обробка  $Zn^{2+}$  на протязі 48 і 72 год призводить до стимулювання росту в 1,3 і 1,02 рази (5 мкМ), в 1,22 і 0,8 рази (10 мкМ) і в 1,3 і 1,2 рази (20 мкМ), відповідно (Рис.1)

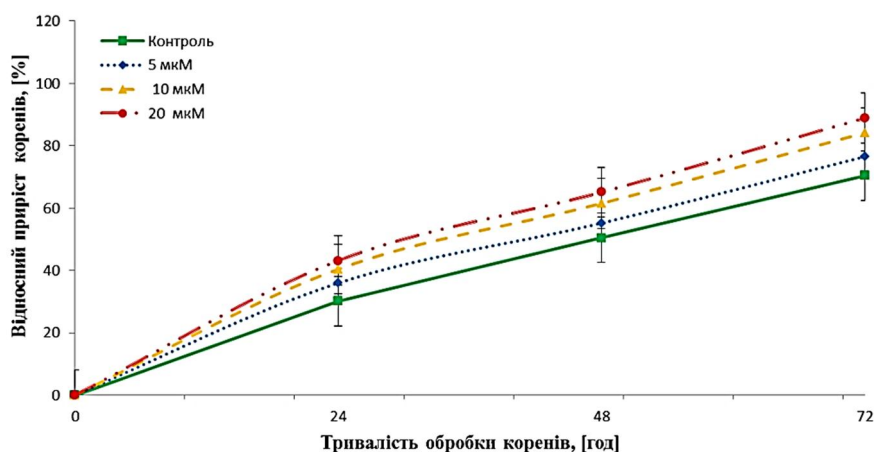
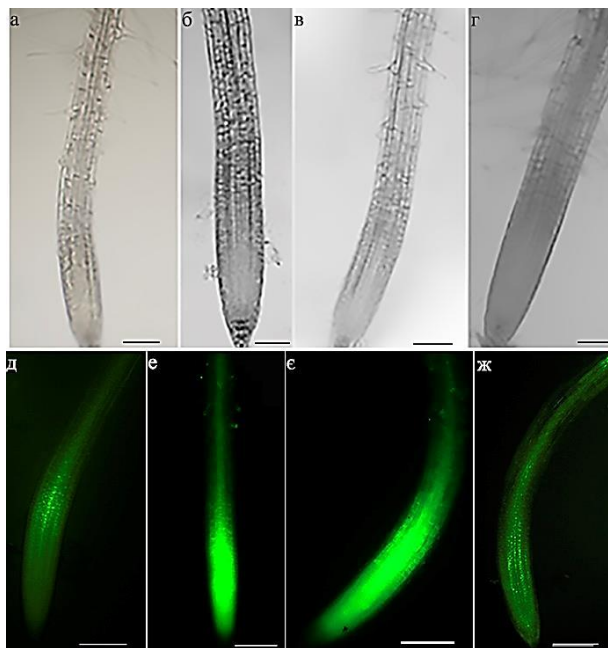


Рис.1. Вплив  $ZnSO_4$  на ріст головних коренів *A. thaliana* (GFP-FABD2)

Морфологія головних коренів *A. thaliana* (GFP-FABD2) практично не змінена, за впливу концентрацій 5-10 мкМ, лише за 20 мкМ спостерігалось незначне збільшення корневих волосків (Рис.2, б-г). Для того, щоб продемонструвати життєздатність клітин коренів після впливу  $Zn^{2+}$ , була проведена детекція FDA, який є загально прийнятим маркером на живі клітини [28]. Наші результати демонструють збереження життєздатності усіх типів клітин коренів після обробки 5-20 мкМ Zn (Рис. 2, е-ж).

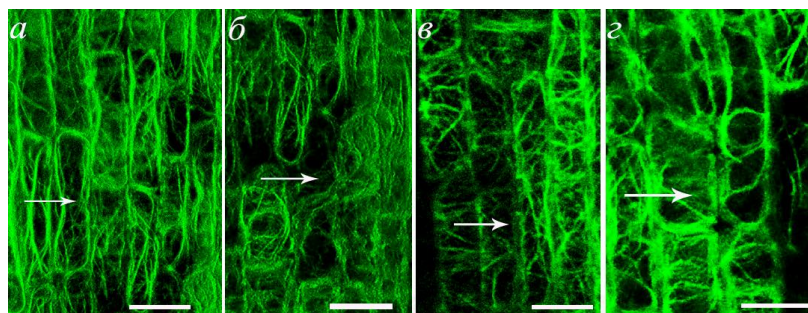


**Рис. 2. Морфологія головних коренів проростків *A. thaliana* (GFP-FABD2), оброблених  $ZnSO_4$  протягом 48 год: а,д – контроль; б, е – 5 мкМ; в, е – 10 мкМ, г,ж – 20 мкМ. Масштаб: а...ж – 200 мкм**

Вплив  $ZnSO_4$  на організацію актинових філаментів клітин головних коренів *Arabidopsis thaliana* (GFP-FABD2). Наступним етапом нашої роботи було дослідження впливу  $Zn^{2+}$  на просторову організацію і орієнтацію актинових філаментів в різних типах живих клітин коренів *A. thaliana*. Мікрофіламенти в інтерфазних клітинах апікальної меристеми необроблених коренів *A. thaliana* (GFP-FABD2) представляють собою тонку і високодинамічну сітчасту структуру, в епідермальних клітинах кореневого апексу, зон елонгації і

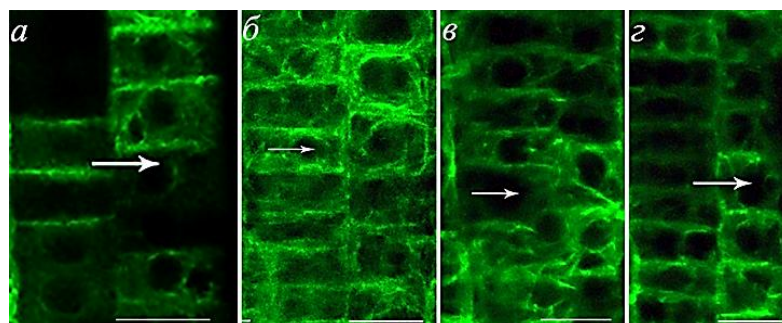
диференціації, а також в клітинах кортексу – подовжені, закручені товсті і тонкі філаменти, тоді як в корневих волосках вони мають поздовжню орієнтацію.

В епідермальних клітинах кореневого апексу після обробки на протязі 1 год 5 мкМ ZnSO<sub>4</sub> спостерігалось формування актинових філаментів, подібних до контролю, переважно з неупорядкованою орієнтацією (показано стрілками на Рис. 3, б), а за обробки 10-20 мкМ спостерігалось незначне порушення нативної організації мікрофіламентів (показано стрілками на Рис. 3, в-г).



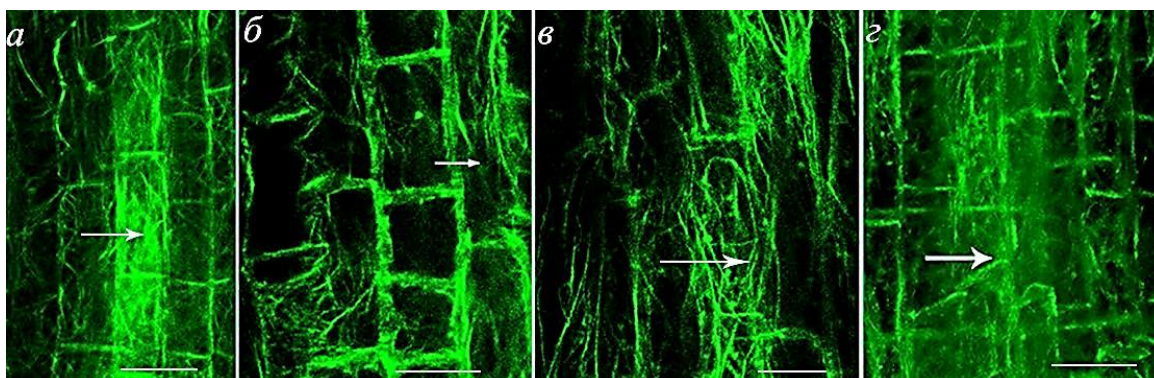
**Рис. 3. Організація мікрофіламентів в епідермальних клітинах кореневого апексу коренів *A. thaliana* (GFP-FABD2) після обробки проростків ZnSO<sub>4</sub> протягом 1 год: а – контроль; б – 5 мкМ; в – 10 мкМ; г – 20 мкМ. Масштаб: 20 мкм.**

В апікальній меристемі коренів, при обробці всіма досліджуваними концентраціями, актинові філаменти залишались інтактними (показано стрілками на Рис.4, б–г). Лише в деяких випадках, при обробці 10-20 мкМ спостерігали дещо порушену орієнтацію актинових філаментів.



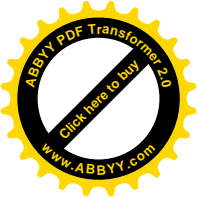
**Рис. 4 Організація мікрофіламентів в клітинах апікальної меристеми коренів *A. thaliana* (GFP-FABD2) після обробки проростків ZnSO<sub>4</sub> протягом 1 год: а – контроль; б – 5 мкМ; в – 10 мкМ; г – 20 мкМ. Масштаб: 20 мкм**

В клітинах перехідної зони вже після обробки 5 мкМ формувались бг потовщені мікрофіламенти (показано стрілками на Рис. 5, б), але вже за 10-20 мкМ спостерігалась зміна орієнтації з невпорядкованої на частково повздовжню, а також незначна деполімеризація мікрофіламентів (показано стрілками на Рис. 5, в-г).



**Рис. 5** Організація мікрофіламентів в епідермальних клітинах перехідної зони коренів *A. thaliana* (GFP-FABD2) після обробки проростків  $ZnSO_4$  протягом 1 год: а – контроль; б – 5 мкМ; в – 10 мкМ; г – 20 мкМ. Масштаб: 20 мкм

В клітинах кортексу зони розтягу, в деяких з досліджуваних нами екземплярів, відбувалось незначне порушення типової орієнтації актинових філаментів, але загалом організація мікрофіламентів залишалась подібною до контролю. Навпаки, в трихобластах, атрихобластах і корневих волосках спостерігалось формування мікрофіламентів з переважно поздовжньою орієнтацією (5мкМ), а також в деяких випадках – з частковою деполімеризацією (10-20 мкМ). Отже, наші спостереження демонструють актинові філаменти, як один з найчутливіших компонентів рослинної клітини до впливу різних абіотичних факторів, зокрема до важких металів. Таким чином, наші результати демонструють епідермальні клітини зони розтягу, а також трихобласти, атрихобласти і кореневі волоски, як мішені для впливу  $Zn^{2+}$ , тоді як глибинні шари коренів, зокрема клітини апікальної меристеми і клітини кортексу залишалися інтактними. Такий розподіл чутливості різних типів клітин, на нашу думку, пояснюється наявністю складних захисних



механізмів, які перешкоджають подальшому проникненню  $Zn^{2+}$ , в клітинні стінки кореня. Зокрема, в клітинах запускаються процеси накопичення важких металів в симпласті, зв'язування в клітинній стінці та/або ж інгібування ендоцитозу. Якщо концентрація важких металів дуже висока, відбувається синтез метал-хелатинів, а також накопичення їх в вакуолях, одночасно відбувається каскад реакцій оксидативного стресу, обумовлений посиленням синтезом стресових білків, сигнальних молекул і гормонів [6].

Подібні дані, в опрацьованій нами літературі, на рослинних клітинах знайдені не були. Загальний молекулярний механізм впливу важких металів, в тому числі і  $Zn^{2+}$  на мікрофіламенти залишається також мало дослідженим.

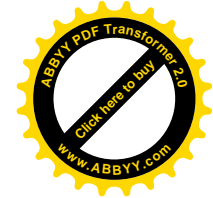
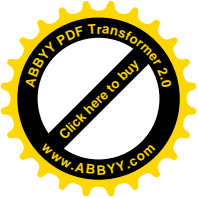
Одним з таких механізмів є надлишкове проходження важких металів по  $Ca^{2+}$ -каналам, оскільки  $Ca^{2+}$ , як і більшість важких металів є двовалентним, і мають схожі іонні радіуси, таким чином порушуючи градієнт  $Ca^{2+}$  в клітинах, заміщають його в  $Ca^{2+}$ -вмістних молекулах (наприклад, гелізоліні), надалі активуючи деполімеризацію актинових філаментів. [3]. Також було продемонстровано, властивості заміщати  $Mg^{2+}$  на інші двовалентні катіони важких металів, зокрема в процесі нуклеації актинових філаментів [4].

Існує припущення про здатність приєднання катіонів важких металів, до останнього атому С в молекулі актину [18]. Таким чином, механізми впливу важких металів на мікрофіламенти в рослинах потребують подальшого дослідження, що дозволить розробити ефективні стратегії захисту рослин від руйнівного впливу металів – забруднювачів ґрунтів.

### **Висновки**

$Zn^{2+}$  стимулює ріст головних коренів *A. thaliana*. і не викликає порушення морфології головних коренів.

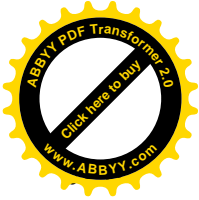
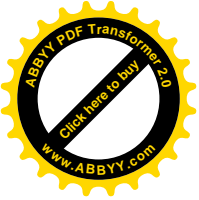
Мішенню для впливу  $Zn^{2+}$  виявились мікрофіламенти епідермальних клітин зони елонгації і диференціації, тоді як актинові філаменти епідермальних клітин кореневого апексу і апікальної меристеми, а також клітин кортексу зони розтягу, залишилися інтактними, для всіх зазначених концентрацій.



Дослідження були виконані в рамках тематики ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»  
“Дослідження молекулярно-генетичних і клітинних механізмів стійкості рослин до абіотичних і біотичних факторів для покращення їх адаптивних властивостей до несприятливих умов”(2012-2016 г.г.)

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Горюнова И. И. Влияние кадмия на организацию актиновых филаментов в клетках корней *Arabidopsis thaliana* / [Горюнова И. И., Красиленко Ю. А., Заславский В. А., Емец А. И.] // Доп. НАН України. – 2014. - №9. – с. 127–134.
2. Andriolia N.B., Soloneskib S., Larramendyb M.L., Mudrya M.D. Cytogenetic and microtubule array effects of the zineb-containing commercial fungicide formulation Azzurro® on meristematic root cells of *Allium cepa* L. / Andriolia N.B., Soloneskib S., Larramendyb M.L., Mudrya M.D. // Mutat. Res. – 2012. -№ 742. – P. 48–53.
3. Apostolova, M.D. Involvement of gelsolin in cadmium-induced disruption of the mesangial cell cytoskeleton / Apostolova, M.D., Christova, T., Templeton, D.M. // J. Toxicol. Sci. – 2006. – Vol. 89, № 2. – P.465–474.
4. DalleDonne I. Actin assembly by cadmium ions / DalleDonne, I.; Milzani, A.; Colombo, R. // Biochim. Biophys. Acta. – 1997. – № 357. – P. 5–17.
5. Dang H.R. Absorption, accumulation and distribution of zinc in highly-yielding winter wheat / Dang H.R., Li Y., Sun X., Zhang Y. // Agr. Sci. China. – 2010. – Vol. 9 №7. – P.965–973.
6. Duffus J.H. “Heavy Metals”—a meaningless term? / Duffus, J.H. // Pure Appl. Chem. – 2002. – Vol. 74, № 5. P. – 793–807.
7. Fan J.-L. Disarrangement of actin filaments and  $Ca^{2+}$  gradient by  $CdCl_2$  alters cell wall construction in *Arabidopsis thaliana* root hairs by inhibiting vesicular trafficking / Fan J.-L. , Wei X.-G. , Wan L.-C., Zhang L.-Y. , Zhao X.-Q. , Liu W.-Z. , Hao H.-Q., Zhang H.-Y. // J. Plant Physiol. – 2011. – № 168. – P. 1157–1167.
8. Gupta S.K. Comparative analysis of zinc finger proteins involved in plant disease resistance / Gupta S.K., Rai, A.K., Kanwar S.S.,



<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0042578>

9. Henty-Ridilla J. L. Actin dynamics in the cortical array of plant cells / Henty-Ridilla J.L., J. Li, Blanchoin L., Staiger C.J. // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2013. – №16. – P.678–687.

10. Liso R. Responship between ascorbic acid and cell division / Liso R., Calabrese G., Bintoni M.B., Arrigoni O . // *Exp. Cell Res.* – 1984. – Vol. 150. – P. 314–320.

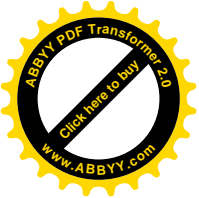
11. Liu D. Effects of cadmium on root growth, cell division and nucleoli in root tip cells of garlic / Liu D., Jiang W., Gao X. // *Biol. Plant.* – 2003/4. – № 47. – P. 79–83. Powell M.J., Davies M.S., Francis D. The influence of zinc on the cell cycle in the root meristem of a zinc-tolerant and a non-tolerant cultivar of *Festuca rubra* L. / Powell M.J., Davies M.S., Francis D. // *New Phytol.* – 1986. – Vol.102. – P. 419–428.

12. Pribyl P., Cepák V., Zachleder V. Cytoskeletal alterations in interphase cells of the green alga *Spirogyra decimina* in response to heavy metals exposure: I. The effect of cadmium / Pribyl P., Cepák V., Zachleder V. // *Protoplasma.* – 2005. – № 226. – P. 231–240.

13. Shah K. Cadmium elevates level of protein, amino acids and alters activity of proteolytic enzymes in germinating rice seeds / Shah K., Dubey R.S. // *Acta Physiol. Plant.* – 1998. – Vol. 20, № 2. – P. 189–196.

14. Sinclair S.A. The zinc homeostasis network of land plants / Sinclair S.A., Krämer U. // *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2012. – № 1823. – P.1553–1567.

15. Staiger C.J. Actin filament dynamics are dominated by rapid growth and severing activity in the *Arabidopsis* cortical array / Staiger C.J., Sheahan M.B., Khurana P., Wang X., McCurdy D.W. // *J. Cell Biol.* – 2009. – Vol. 184 № 2. – P. 269–280.



16. Street R. A. Toxicity of metal elements on germination and seed growth of widely used medicinal plants belonging to *Hyacinthaceae* / Street R. A., Kulkarni M.G., Stirk W. A., Southway C., Van Staden J // Bull. Environ. Contam Toxicol. – 2007. – Vol.79, №4. – P. 371–376.

17. Tang, J.X. The polyelectrolyte nature of F-actin and the mechanism of actin-bundle formation / Tang J.X., Janmey P.A. // JBC. – 1996. – № 271. – P.8556–8563.

18. Wierzbicka M. Resumption of mitotic activity in *Allium cepa* root tips during treatment with lead salts / Wierzbicka M. // Environ. Exp. Bot. – 1994. – Vol. 34. –P. 173–180.

## ВЛИЯНИЕ ЦИНКА НА ОРГАНИЗАЦИЮ АКТИНОВИХ ФИЛАМЕНТОВ В КЛЕТКАХ КОРНЕЙ *ARABIDOPSIS THALIANA*

И. И. Горюнова, А. И. Емец

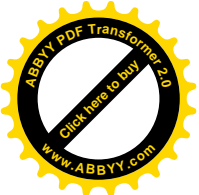
**Аннотация.** Исследовано влияние одного из поллютантов, микроэлемента – цинка ( $Zn^{2+}$ ) - на прижизненную организацию актиновых филаментов (микрофиламентов) разных типов клеток корня *Arabidopsis thaliana* (L.) с помощью лазерной сканирующей микроскопии. Для визуализации микрофиламентов была использована линия *Arabidopsis thaliana*, экспрессирующая химерный ген *gfp-fabd2*. Встановлено, что  $Zn^{2+}$  имеет в незначительной мере стимулирующее влияние на рост главных корней, а также не вызывает изменений в их морфологии. Впервые показано, что  $Zn^{2+}$  в изменяет организацию и ориентацию в клетках корня, як основного органа растений, который первым поддается интоксикации почвенными поллютантами. Показано, что наиболее чувствительными к его действию являются актиновые филаменты эпидермальных клеток переходной зоны, а также клетки зоны дифференциации корня *A. thaliana*.

**Ключевые слова:** клетки корня, цитоскелет, актиновые филаменты, актин, цинк, цитотоксичность

## EFFECT OF ZINC ON ACTIN FILAMENTS ORGANIZATION IN *ARABIDOPSIS THALIANA* PRIMARY ROOT CELLS

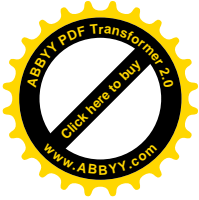
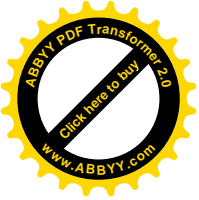
I. I. Horiunova, A. I. Yemets

**Abstract.** The influence of one of the most toxic heavy metals - zinc ( $Zn^{2+}$ ) - actin organization in vivo filaments (microfilaments) different types of *Arabidopsis thaliana* (L.) root cells using laser scanning microscopy. To visualize microfilaments was used *Arabidopsis thaliana* (L.) line, expressed chimeric gene GFP-FABD2. Established:



*Ni<sup>2+</sup> leads to a significant inhibition of growth the main root, and gives his morpho causing swelling epidermal cells and inducing a large number of abnormally long root hairs. For the first time shown that Zn<sup>2+</sup> gives guidance and organization of actin filaments in cells, leading to morphological changes of root plants as the main body, the first intoxication exposed soil pollutants. Found that the most sensitive to its action is actin filaments epidermal cells of root growth zones A. thaliana.*

**Keywords:** *root cells, the cytoskeleton, actin filaments, actin, zinc, cytotoxicity*



УДК 632.38 575.86 634.13

## ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНОЇ СПОРІДНЕНОСТІ ДЕЯКИХ УКРАЇНСЬКИХ ІЗОЛЯТИВ ВІРУСІВ ЯБЛУНІ

**К. М. УДОВИЧЕНКО**, кандидат біологічних наук

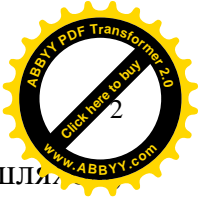
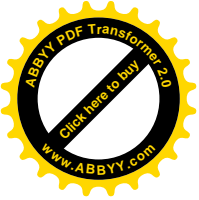
*Інститут садівництва (ІС) НААН України*

*E-mail: sad-institut@ukr.net*

**Анотація.** *Методом ЗТ-ПЛР в насадженнях груші було ідентифіковано віруси ЯДЯ, ХПЛЯ, БДЯ та виділено їх ізоляти. Виявлено високий рівень ідентичності між українськими ізолятами ВБДЯ – 99 % та низький рівень ідентичності між ізолятами ВЯДЯ (89 %) і ВХПЛЯ (87 %). Показано, що нуклеотидна послідовність ізоляту ASPV-39 є найбільш ідентичною з ізолятом з Китаю (89 %), ASPV-42 – з ізолятом з Польщі (96 %), ASGV-44 та ASGV-46 мали найвищий рівень подібності з ізолятами з Чехії, Туреччини та Індії (99 %), ACLSV-43 – з ізолятами з Албанії, Канади, та Японії (94 %), ACLSV-49 – з ізолятом з Канади (93 %).*

**Ключові слова:** *віруси груші, ПЛР, філогенетичний аналіз*

Європейська схема сертифікації садивного матеріалу плодових і ягідних культур передбачає проведення контролю збудників різної природи відповідно до стандартів Європейської організації з захисту рослин. На сьогодні в Україні також впроваджуються новітні схеми стандартизації і сертифікації матеріалу, що відповідають європейським вимогам і передбачають контроль вірусних, фітоплазмових, віроїдних та вірусоподібних захворювань. Зокрема, для груші важливу роль відіграють віруси родини *Flexiviridae*, що передаються із соком рослини: хлоротичної плямистості листя яблуні (ВХПЛЯ, *Apple Chlorotic Leaf Spot Virus*), борознистості деревини яблуні (ВБДЯ, *Apple Stem Grooving Virus*) і ямкуватості деревини яблуні (ВЯДЯ, *Apple Stem Pitting Virus*). Вегетативний спосіб розмноження сортового і підщепного садивного матеріалу груші, відсутність зовнішніх проявів ураження цими вірусами у більшості комерційних сортів і відсутність систематичного фітовірусологічного контролю за насадженнями сприяли накопиченню та поширенню вірусних інфекцій в Україні.

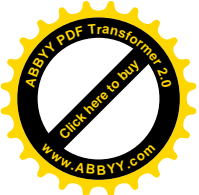


Оскільки ВЯДЯ, ВХПЛЯ і ВБДЯ передаються лише механічним шляхом, найефективнішим способом боротьби з ними є достовірна діагностика їх у вихідному матеріалі, виключення зі схем розмноження вірусифікованого та подальше використання лише безвірусного садивного матеріалу. Розробка ефективних схем діагностики вірусів з використанням сучасних біотехнологічних методів детекції (ІФА, ПЛР) на основі ідентифікації місцевих ізолятів та встановленні їх філогенетичних зв'язків забезпечують високий рівень контролю якості садивного матеріалу. Розробка ефективних схем діагностики вірусів із використанням сучасних біотехнологічних методів детекції (ІФА, ПЛР) для ідентифікації місцевих ізолятів та проведення філогенетичного аналізу для встановлення їх генетичної спорідненості з раніше вивченими ізолятами забезпечить високий рівень контролю якості садивного матеріалу.

**Матеріали і методика досліджень.** Зразки груші для тестування відбирали у плодоносних насадженнях Інституту садівництва НААН. Детекцію вірусів у зразках груші проводили методом ЗТ-ПЛР.

Для виділення тотальної РНК використовували бруньки, що набухли, або молоде листя груші. Екстракцію РНК зі зразків груші проводили за допомогою комерційних наборів «RNeasy Plant Mini Kit» виробництва «Qiagen» (Великобританія) та «DNA Purification kit» виробництва «Fermentas» (Латвія) згідно з рекомендаціями виробника. Контроль якості виділення РНК проводили за допомогою електрофорезу у 2 % агарозному гелі або за допомогою крапельного спектрофотометра NanoDrop 1000.

Для виявлення ВБДЯ, ВЯДЯ та ВХПЛЯ використовували пари праймерів до фрагмента гена капсидного білка вірусів: ACLSV-s, ACLSV-as (677 пн); ASPV-s, ASPV-as (370 пн); ASGV-s, ASGV-as (273 пн) та праймери до внутрішнього контролю *Nad5-s*, *Nad5-as* (181 пн) [1]. Постановку ЗТ-ПЛР для детекції кожного вірусу проводили окремо або з одночасною ампліфікацією внутрішнього контролю *nad5*.

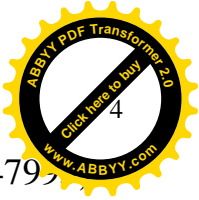
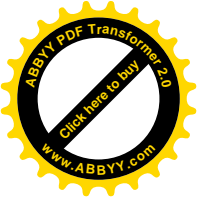


Для проведення ЗТ-ПЛР використовували комерційний набір «Invitrogen SuperScript III One-Step RT-PCR». Постановку реакції проводили відповідно до рекомендацій виробника. Реєстрацію результатів реакції виконували за допомогою електрофорезу отриманих ампліконів у 2 % агарозному гелі з додаванням 0,5 мкг/мл бромистого етидію в однократному TBE буфері.

Після секвенування ідентифікацію і порівняння нуклеотидних та амінокислотних послідовностей досліджуваних вірусів проводили за допомогою родини програм BLAST ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). Множинне вирівнювання послідовностей виконували за допомогою програм CLUSTAL W та MEGA 5 [2]. Побудову філогенетичних дерев ізолятів – за допомогою програми MEGA 5, використовуючи метод приєднання найближчих сусідів (Neighbor-Joining, NJ) [3] та максимальної правдоподібності [4]. Для перевірки достовірності дерев застосовували бутстреп аналіз (1000 реплікацій).

**Результати дослідження та їх обговорення.** Для діагностики досліджуваних вірусів різними авторами підібрано цілий ряд праймерів до генів капсидного білка та РНК-залежної-РНК-полімерази. Через доволі високий рівень мутацій вірусних геномів, для ЗТ-ПЛР необхідно використовувати праймери до найбільш консервативних ділянок. Оскільки, навіть кілька неспівпадінь у нуклеотидних послідовностях праймера та вірусу, особливо у 3`-ділянці праймера, можуть повністю нівелювати ампліфікацію і призвести до появи хибнонегативних результатів. Нами було обрано праймерні пари ASPV-s, ASPV-as, ACLSV-s, ACLSV-as та ASGV-s, ASGV-as до ділянок гена капсидного білка кожного з вірусів [1]. Саме ці праймери давали найбільш достовірні результати і були рекомендовані іншими дослідниками за діагностики українських ізолятів даних вірусів, виділених зі зразків яблуні [5]. Ампліфіковані фрагменти гена капсидного білка ВЯДЯ, ВХПЛЯ і ВБДЯ, отримані за результатами ЗТ-ПЛР, було просеквеновано та проведено філогенетичний аналіз ізолятів.

Два амплікони фрагментів геному вірусу ямкуватості деревини яблуні було просеквеновано і депоновано в базу даних Генбанку: ASPV-39 (JQ898516)



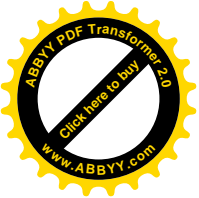
– ізолят, виділений зі зразка сорту Гранд Чемпіон 1-51, ASPV-42 (JQ2479), ізолят зі зразка сорту Улюблена Клаппа 1-59.

За допомогою родини програм BLAST було виявлено, що рівень ідентичності між фрагментами українських ізолятів ВЯДЯ, виділених з інфікованих зразків груші, складає 89 %, що свідчить про високий рівень варіабельності цієї ділянки їх геному.

Подальший пошук гомологічних послідовностей в базі даних Генбанку ([www.ncbi.nlm.gov](http://www.ncbi.nlm.gov)) показав, що амплікон ASPV-39 має найвищий рівень ідентичності нуклеотидної послідовності з ізолятами ВЯДЯ з Китаю (номер доступу NM125159 та EU708018) і Чехії (AJ968944). Найнижчу подібність спостерігали з ізолятами вірусу зірчастої плямистості персика (AF318061, Франція) та латентного вірусу абрикоса (ЛВА, HQ339956, Італія) – 77 і 76 % відповідно. Нуклеотидна послідовність амплікона ASPV-42 була найбільш подібною до ізоляту ВЯДЯ (AF345895), що походить з Польщі – 96 %. Рівень ідентичності 91 % спостерігали з ізолятами ВЯДЯ з Китаю (NM125159) та вірусу пожовтіння жилок груші (PVYV) з Німеччини (D21828). Найнижчий відсоток ідентичності спостерігали з ізолятами латентного вірусу абрикоса (HQ339956, Італія) та вірусу димчастої кільцевої плямистості персика (AF318062, Італія) – 78 %.

Для філогенетичного аналізу отриманих послідовностей з бази даних Генбанку було відібрано послідовності ізолятів ВЯДЯ, що мали з ними найбільший рівень гомології. Аналіз отриманої філодендрограми продемонстрував, що кластеризація більшою мірою віддзеркалює видову приналежність рослин-хазяїв і не відображає географічне походження ізолятів вірусу (Рис.1). Низький рівень ідентичності ізоляту ASPV-39 з відомими та українськими ізолятами може свідчити про циркуляцію в Україні окремого штаму цього вірусу [6].

Найвірогіднішими країнами, звідки можуть походити або, навпаки, куди були завезені українські ізоляти, є Польща, з якою відбувається активний обмін садивним матеріалом, та Китай, з якого Інститутом садівництва міг бути



завезений інфікований садивний матеріал груші групи Наші або пересаджені українські сорти для використання в селекційних програмах.

Порівняння фрагментів амінокислотних послідовностей українських ізолятів ВДЯ з уже відомими виявило вищий рівень ідентичності, який коливався в межах від 91 до 98 %, що свідчить про переважно синонімічні заміни в нуклеотидній послідовності.

Для аналізу українських ізолятів ВБДЯ було просеквеновано і внесено в базу даних Генбанку два амплікони фрагментів гена капсидного білка: ASGV-44 (JQ866624) – ізолят, виділений з гібриду 4-34, та ASGV-46 (JQ866625) – з сорту Юта 1-16.

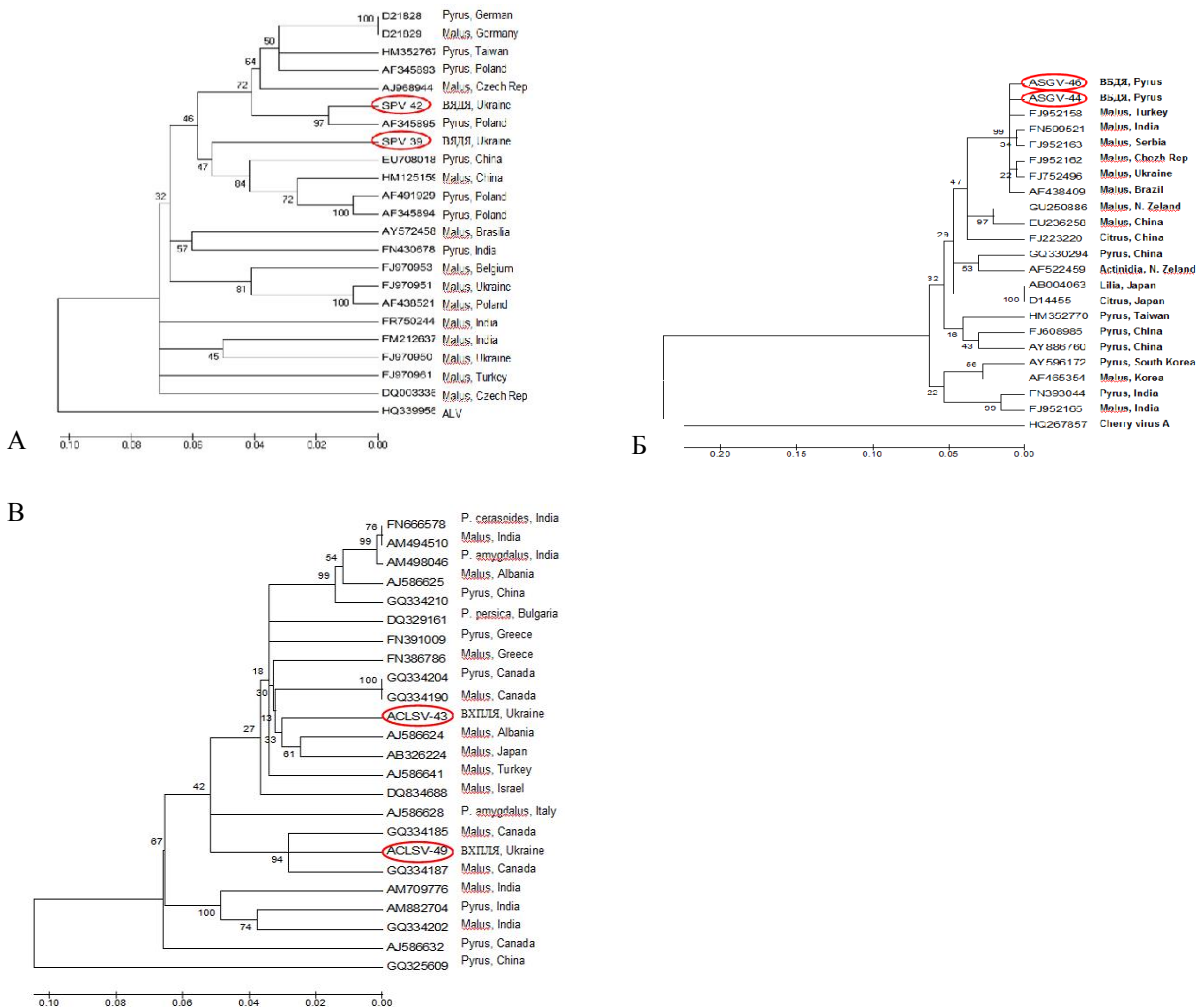
Порівняння нуклеотидних послідовностей ампліконів ASGV-44 та ASGV-46 виявило 99 %-ий рівень їх ідентичності, що є дуже високим і свідчить про консервативність даної ділянки гена капсидного білка.

Пошук відомих послідовностей, гомологічних українським ізолятам, в базі даних Генбанку виявив, що обидва амплікони – ASGV-44 та ASGV-46 мали найвищий рівень подібності з чеським (FJ952162), турецьким (FJ952158) та індійським (FN599521) ізолятами ВБДЯ, виділеними з яблуні – 98-99 %. Найнижчий рівень ідентичності ASGV-44 та ASGV-46 був з ізолятом із Кореї (AF465354) – 83 %.

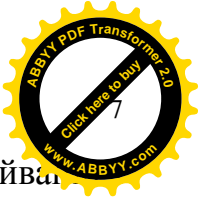
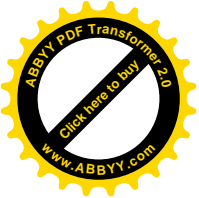
Для проведення філогенетичного аналізу з бази даних Генбанку було відібрано 20 відомих послідовностей ізолятів ВБДЯ та кудлатості листя цитрусових (ВКЛЦ, Citrus tatter leaf virus, CiTLV). За результатами вирівнювання було побудовано філогенетичне дерево (Рис.1). Найбільш близькими до ізолятів ASGV-44 та ASGV-46 виявився ізолят з Туреччини, виділений з яблуні. В цей же кластер потрапили ізоляти з Індії (FN599521), Сербії, Чехії, Бразилії та України, які теж були виділені з яблуні. Цікаво, що українські ізоляти ВБДЯ, виділені з груші та яблуні, згрупувалися в одному кластері і мають високий рівень ідентичності – 98 %. Водночас ізоляти, виділені з груші в інших країнах, згрупувалися в різні субкластери. Ймовірною причиною такого розподілу є те, що всі грушеві ізоляти, сиквенси яких відомі

на сьогоднішній день, походять з країн Східної Азії (Тайваню, КНР, Південної Кореї) та Індії територіально близьких між собою. Таким чином, яблуневі ізоляти зі Східної Європи виявилися менш віддаленими від досліджуваних ізолятів, ніж ізоляти з Південно-Східної Азії.

Наші результати подібні до результатів філогенетичного аналізу ізолятів ВБДЯ з яблуні, японської груші і європейської груші, проведеного Magome et al., який виявив, що амінокислотні послідовності капсидного білка 21 проаналізованого ізоляту мали рівень ідентичності від 92,4 до 100 %, а розподіл у кластерах філогенетичного дерева відбувався незалежно від хазяїна чи країни походження [7].



**Рис. 1. Філогенетичні дерева, побудовані з використанням послідовностей фрагмента гена капсидного білка ізолятів: А – ВДЯ; Б – ВБДЯ; В – ВХПЛЯ.**



В іншому дослідженні, де порівнювали ізоляти переважно з Китаю, Тайваню, Японії, відзначали низьку дивергенцію нуклеотидних послідовностей, хоча ізоляти з груші утворили близькі субкластери, відокремившись від лілійних, цитрусових та яблуневих [8].

Порівняння амінокислотних послідовностей показало вищий рівень подібності між ізолятами в межах 92-100 %, що загалом характерно для гена капсидного білка вірусу борознистості деревини яблуні.

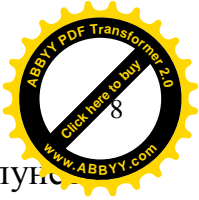
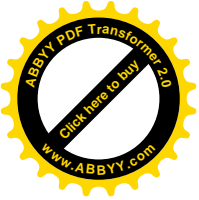
Секвенування нуклеотидних послідовностей фрагмента гена капсидного білка вірусу хлоротичної плямистості листя яблуні було здійснено для двох ампліконів: ACLSV-43 – ізолят, виділений з сорту Конкорд 5-13 та ACLSV-49 – ізолят з сорту Смерічка 12-60. Інформацію про нуклеотидні послідовності даних ізолятів було внесено до бази даних Генбанку та присвоєно номери: ACLSV-43 – JQ866622 та ACLSV-49 – JQ866623.

Рівень ідентичності просеквенованих нуклеотидних послідовностей ВХПЛЯ склав лише 87 %, що свідчить про можливе різне їх походження.

Пошук гомологічних послідовностей за допомогою родини програм BLAST виявив, що амплікон ACLSV-43 на 94 % ідентичний ізоляту M54 виділеному з яблуні в Албанії (AJ586624). Також 94 % подібності спостерігали з ізолятами з Канади (GQ334204, GQ334190) та Японії (AB326224). З ампліконом ACLSV-49 найвищий відсоток подібності мали яблуневі ізоляти з Канади: Malus063 (GQ334187) і Malus097 (GQ334185) – відповідно 93 та 92 % [9].

Для вирівнювання послідовностей і побудови філогенетичного дерева в базі даних Генбанку було відібрано гомологічні послідовності 24 ізоляти ВХПЛЯ, що походять з різних країн світу та виділені з широкого кола господарів (груші, яблуні, сливи, абрикоса, персика та мигдалю) (Рис.1).

На побудованій філограмі українські ізоляти ВХПЛЯ увійшли в різні кластери. Ізолят ACLSV-43 увійшов у субкластер 1 разом з ізолятами з Албанії і Японії, що характеризувались найвищим рівнем ідентичності – 94 %.



Також у цей кластер увійшли грушевий (GQ334204) та яблуня (GQ334190) ізоляти з Канади та ізолят з Туреччини (AJ586641, яблуня). Ізолят ACLSV-49 утворив невеликий субкластер із двома яблуневими ізолятами, що походять з Канади.

Таким чином, філогенетичний аналіз не виявив чіткого розподілу українських і відомих ізолятів вірусу хлоротичної плямистості листя яблуні за певною ознакою – будь то країна походження, чи рослина-хазяїн.

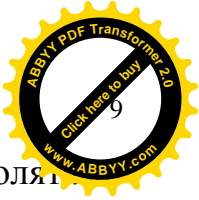
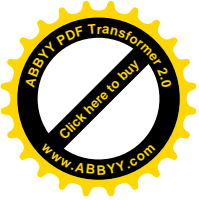
Відомі ізоляти ВХПЛЯ виділені з груші не утворили окремих кластерів, а розподілилися між окремими гілками філогенетичного дерева. Так, ізолят з Греції (FN391009, груша) виявився найбільш спорідненим з ізолятом із Болгарії (FN391009, персик), а ізолят з Індії (AM882704, груша) з ізолятом із Канади (GQ334202, груша).

Аналіз амінокислотних послідовностей досліджуваних ізолятів ВХПЛЯ виявив, що ACLSV-43 та ACLSV-49 на 98 % ідентичні з ізолятом В6 (Японія), який входить до групи ізолятів ВХПЛЯ і характеризується консервативною амінокислотою комбінацією капсидного білка Ser40-Leu59-Tyr75-Thr130-Leu184. Дві амінокислоти, серин та тирозин, у позиціях відповідно 40 та 75, забезпечують і відіграють ключову роль в інфекційності вірусу, впливають на накопичення у інфікованих тканинах вірусної геномної РНК, дволанцюгової РНК та капсидного і білка руху [10].

Таким чином, ізоляти ВХПЛЯ з України продемонстрували досить низьку ідентичність за порівняння між собою і виявилися більш спорідненими з відомими послідовностями, що може свідчити про різні джерела їх походження та циркуляцію в Україні двох штамів цього вірусу.

### **Висновки**

1. Методом ЗТ-ПЛР в насадженнях груші було ідентифіковано віруси родини *Flexiviridae* – ВЯДЯ, ВХПЛЯ, ВБДЯ та виділено їх ізоляти і проведено філогенетичний аналіз українських ізолятів латентних вірусів яблуні, виділених з груші.



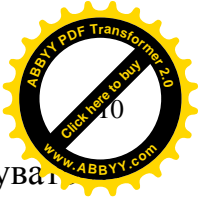
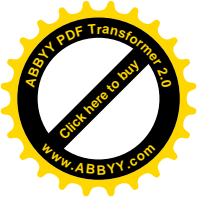
2. Показано високий рівень ідентичності між українськими ізолятами ВБДЯ – 99 % та низький рівень ідентичності між ізолятами ВВДЯ (89 %) і ВХПЛЯ (87 %).

3. Порівняння нуклеотидних послідовностей українських ізолятів вірусів груші з уже відомими ізолятами показало, що ASPV-39 є найбільш ідентичним з ізолятом із Китаю (89 %), ASPV-42 – з ізолятом із Польщі (96 %). Ізоляти ASGV-44 та ASGV-46 мали найвищий рівень подібності з ізолятами з Чехії, Туреччини та Індії (99 %). ACLSV-43 – мав найвищий рівень ідентичності з ізолятами з Албанії, Канади, та Японії (94 %), ACLSV-49 – з ізолятом із Канади (93%).

4. Низький рівень подібності ізоляту ASPV-39 з відомими ізолятами (в т.ч. з українськими) може свідчити про існування окремого штаму даного вірусу.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Menzel W. Detection of four apple viruses by multiplex RT-PCR assays with coamplification of plant mRNA as internal control / W. Menzel, W. Jelkmann, E. Maiss // *Journal of Virological Methods*. – 2002. – Vol. 99 – P. 81–92.
2. Tamura K. MEGA 5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods / K. Tamura, D. Peterson, N. Peterson et al. // *Molecular Biology and Evolution*. – 2011. – doi:10.1093/molbev/msr121.
3. Saitou N. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees / N. Saitou, M. Nei // *Molecular Biology and Evolution*. – 1987. – Vol. 4. – P. 406-425.
4. Tamura K. Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G + C-content biases / K. Tamura // *Molecular Biology and Evolution*. – 1992. – Vol. 9. – P.678-687.
5. Господарик А. В. Діагностика українських ізолятів вірусів яблуні методом ЗТ-ПЛР / [А. В. Господарик, І.Г. Будзанівська, В. П. Поліщук, Д. К. Кундю] // *Науковий вісник НАУ*. – 2008. – №129. – С. 147-163.



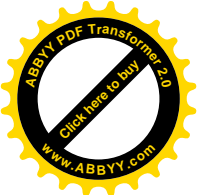
6. Удовиченко К. М. Детекція та філогенетичний аналіз вірусу ямкуват яблуні, виділеного з груші / [К. М. Удовиченко, В. М. Удовиченко, І. Г. Будзанівська, В. П. Поліщук] // Наукові доповіді НУБіП. – 2011. – №7(29).  
Доступ: [http://www.nbuu.gov.ua/e-journals/Nd/2011\\_7/11ukm.pdf](http://www.nbuu.gov.ua/e-journals/Nd/2011_7/11ukm.pdf)
7. Magome H. Molecular variability of the genomes of capilloviruses from apple, Japanese pear, European pear, and citrus trees / H. Magome, N. Yoshikawa, T. Takahashi [et al.] // *Phytopathology*. – 1997. – Vol. 87. – P.389-396.
8. Wu Z.-B. Molecular and biological characterization of an isolate of *apple stem pitting virus* causing pear vein yellows disease in Taiwan / Z.-B. Wu, H.-M. Ku, C.-C. Su [et al.] // *Journal of Plant Pathology*. – 2010. – Vol. 92 (3). – P.721-728.
9. Удовиченко К. М. Молекулярно-філогенетичний аналіз українських ізолятів вірусу хлоротичної плямистості листя яблуні, виділених з груші / К. М. Удовиченко // Вісник аграрної науки. – 2014. – №2. – С. 13-16.
10. Yaegashi H. The combinations of the two amino acids (Ala40 and Phe75 or Ser40 and Tyr75) in the coat protein of apple chlorotic leaf spot virus are crucial for infectivity / H. Yaegashi, M. Isogai, H. Tajima [et al.] // *J. Gen. Virol.* – 2007b. – Vol. 88. – P. 2611-2618.

## ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РОДСТВА НЕКОТОРЫХ УКРАИНСКИХ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСОВ ЯБЛОНИ

К. Н. Удовиченко

**Аннотация.** Методом ОТ-ПЦР в насаждениях груши были идентифицированы вирусы ЯДЯ, ХПЛЯ, БДЯ и выделены их изоляты. Выявлен высокий уровень идентичности между украинскими изолятами ВБДЯ – 99 % и низкий уровень идентичности между изолятами ВЯДЯ (89 %) и ВХПЛЯ (87 %). Показано, что нуклеотидная последовательность изолята ASPV-39 наиболее идентична с изолятом из Китая (89 %), ASPV-42 – с изолятом из Польши (96 %), ASGV-44 и ASGV-46 были наиболее подобны с изолятами из Чехии, Турции и Индии (99 %), ACLSV-43 – с изолятами из Албании, Канады и Японии (94 %), ACLSV-49 – с изолятом из Канады (93 %).

**Ключевые слова:** вирусы груши, ОТ-ПЦР, филогенетический анализ

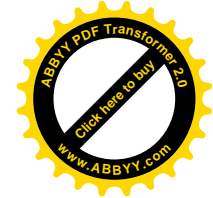
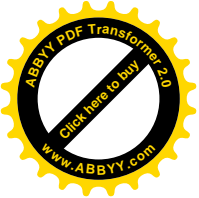


# ASSESSMENT OF GENETIC RELATIONSHIP OF SOME UKRAINIAN ISOLATES OF APPLE VIRUSES

**K. Udovychenko**

**Abstract.** *Detection by RT-PCR and isolation of pear viruses ASPV, ACLSV and ASGV were conducted. High identity level was observed between Ukrainian isolates of ASPV – 99%, and rather low identity level demonstrated Ukrainian isolates of ASPV (89%) and ACLSV (87%). Nucleic sequence of isolate ASPV-39 showed 89% identity with isolate from China, ASPV-42 – 96% identity with isolate from Poland, ASGV-44 and ASGV-46 sequences were 99% identical with isolates from Czech Republic, Turkey and India, ACLSV-43 demonstrated 94% identity with isolates from Albany, Canada and Japan, ACLSV-49 – 93% identity with isolate from Canada.*

**Key words:** *pear viruses, RT-PCR, phylogenetic analysis*



УДК 576.311.348.7

**ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА РІВНІВ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНА АЛЬФА-  
ТУБУЛІНУ (TUBA-2-3) У СОРТІВ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ДЕМЕТРА  
ТА ЕЛЕГІЯ ЗА УМОВ ХОЛОДОВОГО СТРЕСУ**

**Д. Д. БУЙ**, аспірант \*

**А. Є. ДЕМКОВИЧ**, кандидат біологічних наук

**Я. В. ПІРКО**, кандидат біологічних наук

**В. І. КОРХОВИЙ**, кандидат біологічних наук

**Я. Б. БЛЮМ**, доктор біологічних наук, професор

*Державна установа «Інститут харчової біотехнології*

*та геноміки НАН України»*

E-mail: denisbuy90@gmail.com

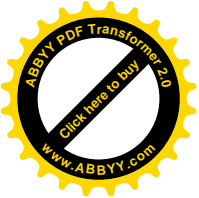
***Анотація.** Проведено порівняння відносних рівнів експресії гена альфа-тубуліну *Ta\_TUBA-2-3* під час перших 10 діб холодової аклімації у двох сортів м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) Деметра (озимий) та Елегія (ярий). Встановлено, що на початкових етапах (1 доба) відбувається підвищення експресії в обох сортів, а після 2-10 діб підвищений рівень експресії зберігається у озимого сорту Деметра.*

***Ключові слова:** *Triticum aestivum*, холодова аклімація, тубулін, TUBA-2-3*

Холодо- та морозостійкість є одними з важливих характеристик для сортів озимої м'якої пшениці. Стійкість до низьких температур забезпечується цілою низкою механізмів [9], з'ясування яких залишається актуальним питанням для створення нових сортів культурних рослин. Відомо, що під час холодової аклімації може різко змінюватись експресія певних генів, відбувається перебудова метаболічних шляхів, залучаються в роботу специфічні сигнальні системи, що призводить до кардинальних клітинно-біологічних та фізіологічних змін. Як наслідок з'являється або підвищується стійкість до низьких температур [2, 3, 5, 8, 10].

---

\*Науковий керівник – академік НАН України, доктор біологічних наук, професор Я. Б. Блюм

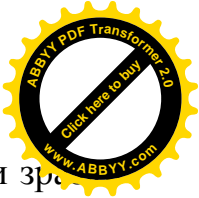
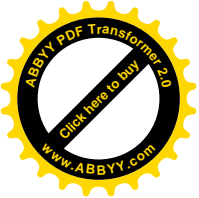


Припускають, що одним з механізмів формування холодо-морозостійкості є перебудова мікротрубочок [4], зміна співвідношення окремих ізотипів тубуліну в їх складі [5, 6], що призводить до формування мікротрубочок, здатних зберігати полімеризований стан за низьких температур. Встановлено, що під час холодової аклімації у пшениці (*Triticum aestivum* L.) змінюється рівень експресії різних ізотипів генів  $\alpha$ -тубуліну [7]. Показано, що між озимими та ярими сортами пшениці є певна відмінність в силі і строках змін експресії генів окремих представників родини альфа-тубуліну [10]. На цей час геном м'якої пшениці повністю сіквеновано, анотовано 15 генів альфа-тубуліну [7].

Відмічено, що за низьких температур рівень експресії гена *TUBA-2-3* різко зростає в перші дні холодової аклімації на кілька порядків відносно контролю у одного з озимих сортів м'якої пшениці [1], що може свідчити про важливість експресії цього гена в формуванні холодостійких мікротрубочок. Аналогічні відомості стосуються одного з ярих сортів [7]. Проте використання різних методів оцінки експресії генів альфа-тубуліну позбавляє можливості прямого порівняння озимих та ярих сортів, а також не дає змоги оцінити зв'язок експресії гена *TUBA-2-3* з рівнем стійкості рослин до низьких температур.

**Метою досліджень** було порівняння рівнів експресії гена *TUBA-2-3* під час довготривалої холодової аклімації у озимого та ярого сортів м'якої пшениці.

**Матеріали та методика досліджень.** Об'єктами експериментів були два вітчизняні сорти м'якої пшениці: озимий сорт Деметра та ярий сорт Елегія. Насіння обох сортів пшениці поверхнево стерилізували шляхом експозиції у 3 %-вому розчині гіпохлориту натрію впродовж 15 хв. Насіння пророщували на вологому фільтрувальному папері за температури 20 °С, далі 7 днів проростки вирощували за 20 °С та довжині світлового дня 16 год, а потім за температури 4 °С та довжині світлового дня 8 год впродовж наступних 10 днів. Для освітлення використовували люмінесцентні лампи потужністю 16 Вт.



Перед початком експерименту і через 1, 2, 3, 7, 10 днів відбирали зріз тканин (надземна частина рослин), заморожували їх у рідкому азоті та зберігали для подальшого аналізу при  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . РНК виділяли з використанням набору GeneJET Plant RNAPurification Mini Kit (Thermo Scientific, США). Чистоту та концентрацію виділеної РНК визначали за допомогою електрофоретичного аналізу та спектрофотометрії (Eppendorf Biophotometer, США). Отриману РНК обробляли ДНКазою (DNase I, RNase-free, Fermentas, США) за стандартним протоколом.

Для отримання кДНК використовували набір RevertAid<sup>TM</sup> Reverse Transcriptase (Fermentas, США). Реакцію проводили за стандартним протоколом. Оцінку відносного рівня експресії гена *TUBA-2-3* проводили за допомогою кількісної ПЛР (ΔΔCt метод). Ампліфікацію специфічного фрагмента гена здійснювали з використанням набору SYBR<sup>®</sup> Green JumpStart<sup>TM</sup>Taq ReadyMix<sup>TM</sup> (Sigma-Aldrich, США). Реакційна суміш загальним об'ємом 25 мкл містила 2 мкл кДНК, 1 мкл прямого та зворотнього праймерів. ПЛР проводили з інтеркалюючим барвником SybrGreen (490 нм) з використанням ампліфікатора iQ5 (Bio-Rad, США) за наступним температурним протоколом: початкова денатурація –  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 2 хв; 40 циклів: денатурація –  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 30 с; відпал праймерів при  $58\text{ }^{\circ}\text{C}$  – 30 с, синтез ДНК при  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  – 1 хв, заключний етап елонгації –  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 2 хв. Рівень флюоресценції вимірювали на стадії синтезу ампліконів.

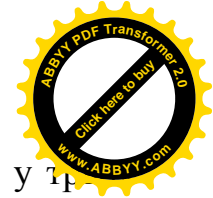
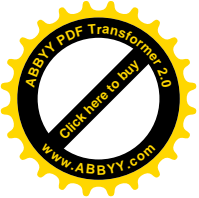
Було використано праймери до кДНК *TUBA-2-3*:

Прямий 5` GAGTATTAAGCCTGCCTCCT 3`;

Зворотній 5` CAAGGTCTTACAACAACAG 3`.

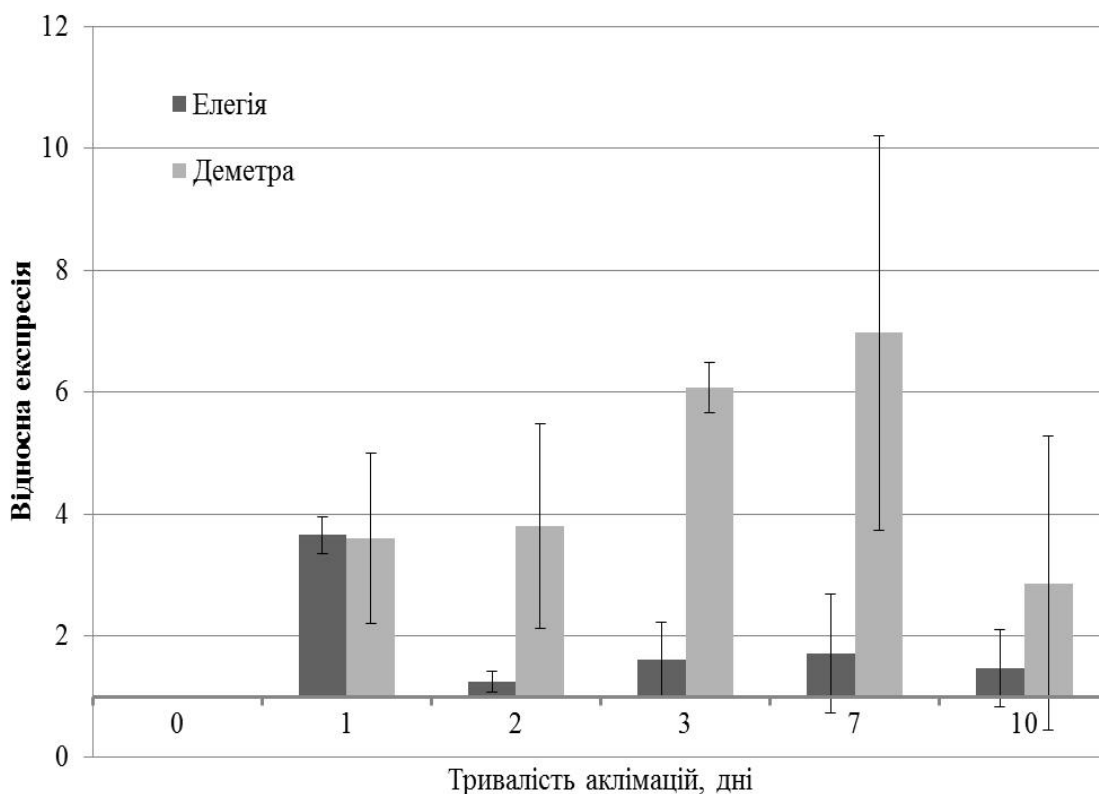
Як референтні гени використовували гени убіхітину та актину.

Після ампліфікації якість продукту перевіряли, досліджуючи криву плавлення продуктів ПЛР та візуально за допомогою електрофорезу в 1,5 %-му агарозному гелі з додаванням бромистого етидію в ультрафіолетовому світлі. Рівень експресії оцінювали окремо для кожної пари праймерів. Для оцінки



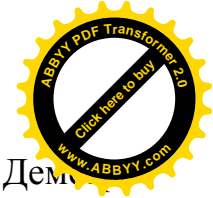
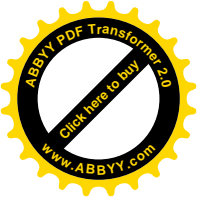
якості та відтворюваності результатів реакції експеримент проводили у трьох повторях.

**Результатидосліджень та їх обговорення.** За умови використання як референтного гена убіхітину спостерігаються схожі профілі експресії гена *TUBA-2-3* у випадку обох сортів. На початковому етапі відбувається підвищення рівня експресії цього гена у кілька разів у порівнянні з початковим рівнем. Після перших 24 год. аклімації рівень експресії гена *TUBA-2-3* у озимого сорту Деметра поступово зростає, досягаючи піку на 7-й день, а у випадку ярого сорту Елегія рівень експресії цього ж гена знижується і надалі залишається на майже початковому рівні (рис.1).

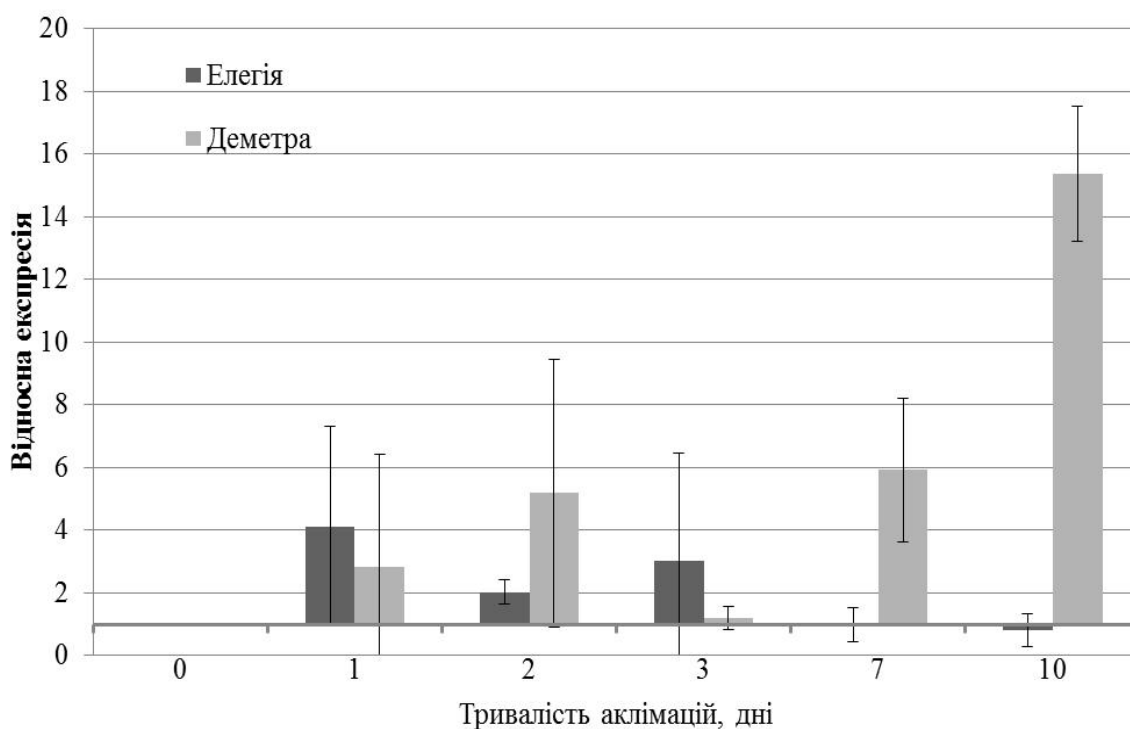


**Рис. 1. Відносні рівні експресії гена *TUBA-2-3* (референтний ген - убіхітин)**

За умов використання як референтного гена актину на початковому етапі відбувається підвищення рівня експресії гена *TUBA-2-3* у кілька разів від початкового рівня у випадку обох сортів. Впродовж наступних дев'яти днів рівень експресії у ярого сорту Елегія знижується, досягаючи початкових

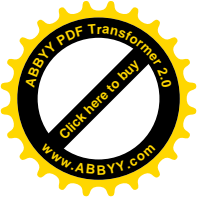


значень на 7-й день. Рівень експресії гена *TUBA-2-3* у озимого сорту Деметра продовжує підвищуватись після 2-х днів аклімації, після чого знижується на 3-й день та знову зростає на 7-10 день (рис. 2).



**Рис. 2. Відносні рівні експресії гена *TUBA-2-3* (референтний ген - актин)**

Таким чином, знайдено відмінності в паттерні експресії гена альфа-тубуліну *TUBA-2-3* між ярим сортом Елегія та озимим сортом Деметра м'якої пшениці. Після 2 днів холодової аклімації відмічені значимо вищі рівні експресії гена *TUBA-2-3* у озимого сорту в порівнянні з ярим, що може свідчити про його роль в процесі відповіді на холодний стрес. Отримані результати частково підтверджуються літературними відомостями щодо характеру змін рівня експресії гена *TUBA-2-3* під дією низьких температур у пшениці [1,7], проте в даному дослідженні не спостерігається початкового пригнічення рівня відносної експресії після перших 24 год холодової аклімації. Для виявлення можливої ролі інших ізоформ гена альфа-тубуліну в холодо- та морозостійкості постає необхідність дослідження їх паттерну експресії у сортів з різним рівнем стійкості до низьких температур.

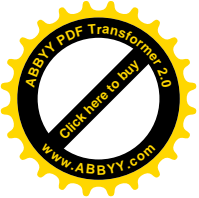


## Висновки

Виявлено загальну тенденцію до збільшення рівня експресії гена *TUBA-2-3* під дією низьких температур. На початкових етапах холодової аклімації (1 день) у обох сортів відбувається підвищення рівня експресії гена *TUBA-2-3* в 3-4 рази в порівнянні з контролем. Подальше збільшення експресії та її збереження на високому рівні виявлено у озимого сорту Деметра, у ярого сорту Елегія рівень експресії протягом 2-10 днів холодової аклімації значимо не відрізняється від контролю. Високі рівні експресії гена *TUBA-2-3* у озимого сорту в порівнянні з ярим може свідчити про зв'язок між рівнем холодостійкості та рівнем експресії гена *TUBA-2-3*.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Christov N.K. Differential expression of two winter wheat alpha-tubulin genes during cold acclimation / N.K. Christov, R. Imai, Y.B. Blume // Cell Biol. Int. – 2008. – Vol. 32. – P. 574–578.
2. Cold acclimation and freezing tolerance: a complex interaction of light and temperature / G.R. Gray // Plant Physiol. – 1997. – Vol. 114. – P. 467–474.
3. Interaction network of proteins associated with abiotic stress response and development in wheat / G. Tardif [et al.] // Plant Mol. Biol. – 2007. – Vol. 63. – P. 703–718.
4. Is microtubule disassembly a trigger for cold acclimation? / A. Abdrakhamanova [et al.] // Plant Cell Physiol. – 2003. – Vol. 44. – P. 676–686.
5. Jian L.C. Studies on microtubule cold stability in relation to plant cold hardiness / L.C. Jian, L.H. Sun, Z.P. Liu // Acta Bot. Sinica. – 1989. – Vol. 31. – P. 737–741.
6. Kerr G.P., Carter J.V. Tubulin isotypes in rye roots are altered during cold acclimation / G.P. Kerr, J.V. Carter // Plant Physiol. – 1990. – Vol. 93. – P. 83–88.
7. Ridha Farajalla M., Gulick P.J. The alpha-tubulin gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.) and differential gene expression during cold acclimation / M. Farajalla Ridha, P.J. Gulick // Genome. – 2007. – Vol. 50. – P. 502–519.



8. The influence of light quality, circadian rhythm, and photoperiod on CBF-mediated freezing tolerance / P. Maibam [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2013. – Vol. 14. – P. 11527–11543.

9. Xiong L. Cell signaling during cold, drought, and salt stress / L. Xiong, K.S. Schumaker, J.K. Zhu // Plant Cell. – 2002. – V. 14. – P. 165–183.

10. Буй Д. Д. Аналіз рівнів експресії генів альфа-тубуліну під час холодової акліматії у ярої та озимої пшениці / Д. Д. Буй, Я. В. Пірко, Я. Б. Блюм // Фактори Експериментальної Еволюції Організмів. – 2015. – Т. 17. – С. 27–30.

## **АНАЛИЗ УРОВНЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА АЛЬФА-ТУБУЛИНА (TUBA-2-3) ВО ВРЕМЯ ХОЛОДОВОЙ АККЛИМАЦИИ У СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ДЕМЕТРА И ЭЛЕГИЯ**

**Д. Д. Буй, А. Е. Демкович, Я. В. Пірко, В. И. Корховой, Я. Б. Блюм**

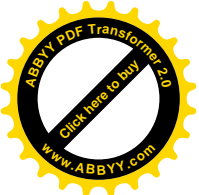
*Аннотация.* Проведено сравнение относительных уровней экспрессии гена альфа-тубулина *Ta\_TUBA-2-3* во время первых 10 суток холодовой акклиматации у двух сортов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Установлено, что на начальных этапах (1 сутки) происходит увеличение экспрессии у обоих сортов, а после 2-10 суток повышенный уровень экспрессии сохраняется у озимого сорта Деметра.

**Ключевые слова:** *Triticum aestivum*, холодовая акклиматация, тубулин, TUBA-2-3

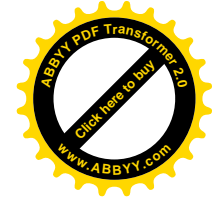
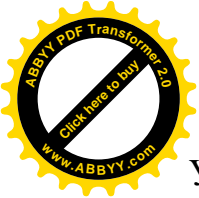
## **ANALYSIS OF GENE EXPRESSION OF TUBA-2-3 DURING COLD ACCLIMATION IN VARIETIES OF SOFT WHEAT DEMETRA AND ELEGIYA**

**D. D. Buy, A. E. Demkovich, Ya. V. Pirko, V.I. Korkhovoy, Ya. B. Blume**

*Abstract.* A comparison of the relative levels of gene expression of alpha-tubulin *Ta\_TUBA-2-3* during the first 10 days of cold acclimation of two varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.) Demetra and Elegiya was studied. It was established that in the initial stages of acclimation (1-st day) the expression of *Ta\_TUBA-2-3* in both varieties are increased, and after 2-10 days the high level of expression of the *Ta\_TUBA-2-3* is stored in the variety of winter wheat Demetra.



**Key words:** *Triticum aestivum*, cold acclimation, tubulin, gene *TUBA*  
expression



УДК 614.842

## ПРОГНОЗУВАННЯ НАСЛІДКІВ ВИЛИВУ (ВИКИДУ) НЕБЕЗПЕЧНИХ ХІМІЧНИХ РЕЧОВИН У РАЗІ АВАРІЙ НА ХІМІЧНО НЕБЕЗПЕЧНИХ ОБ'ЄКТАХ

**О. П. ЯЦЮК**, кандидат хімічних наук

*Український науково-дослідний інститут цивільного захисту*

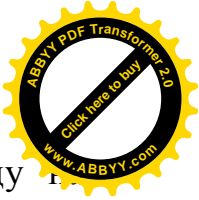
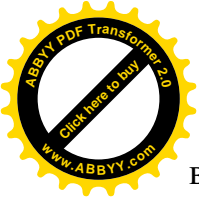
*E-mail: kimakovskaya@ukr.net*

***Анотація.** На основі аналізу стану хімічної безпеки в розвинутих країнах світу та існуючих методів прогнозування наслідків виліву (викиду) небезпечних хімічних речовин у разі аварій на хімічно небезпечних об'єктах, запропоновано методику прогнозування наслідків можливих аварій під час здійснення заходів із ліквідування аварій та їх наслідків. Методика призначена для використання підрозділами служби цивільного захисту й іншими підрозділами з ліквідації аварій на хімічно небезпечних об'єктах*

***Ключові слова:** хімічно небезпечний об'єкт, небезпечні хімічні речовини, аварія, прогнозування наслідків, методика*

Забезпечення хімічної безпеки в Україні, де відмічається величезне техногенне навантаження на навколишнє середовище та людину, обумовлює велику проблему щодо безпечної експлуатації хімічно небезпечних об'єктів (далі – ХНО). Сьогодні в Україні функціонує 931 об'єкт, на яких зберігається або використовується у виробничій діяльності 308,07 тис тонн небезпечних хімічних речовин, у тому числі 4,08 тис тонн хлору, 202,66 тис тонн аміаку та 101,33 тис тонн інших небезпечних хімічних речовин [1]. Проведений аналіз існуючих методологічних підходів до вирішення проблеми оцінки безпеки ХНО показав, що не зважаючи на значні наукові досягнення в даній сфері, на сьогодні не існує чітко сформульованої та ефективною комплексної методики оцінки безпеки, а відповідно, і ризику виникнення аварій на ХНО, тому питання розробки такої методики є актуальним та своєчасним.

Аналіз чинної в Україні методики прогнозування наслідків виліву (викиду) небезпечних хімічних речовин та у разі аварії на ХНО показав, що не дивлячи на те, що методичний підхід, який застосовано в даній методиці, є



важливим і корисним, наявна методика потребує суттєвого перегляду відповідності чинному законодавству, удосконаленню і доповненню відповідно до сучасних вимог і діючих нормативно-правових актів, а також урахування новітніх методичних розробок та механізмів в сфері прогнозування.

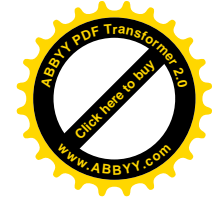
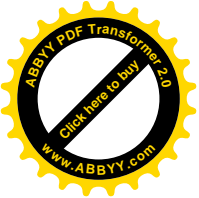
**Мета дослідження** – розробка сучасної Методики прогнозування наслідків вилливу (викиду) небезпечних хімічних речовин у разі аварій на ХНО (далі – Методика), яка б дозволила проведення довгострокового та аварійного прогнозування масштабів забруднення небезпечними хімічними речовинами навколишнього середовища. Основними завданнями було провести аналіз існуючих світових досягнень в сфері прогнозування масштабів та наслідків аварій на ХНО, синтез найкращих підходів такого прогнозування та розробка проекту сучасної методики разом з довідковими матеріалами. При виконанні досліджень використовували аналітичні методи та метод системного аналізу.

#### **Результати дослідження та їх обговорення.**

В основу розробленої методики була покладена «Методика прогнозування наслідків вилливу (викиду) небезпечних хімічних речовин при аваріях на промислових об'єктах і транспорті» [2], що була затверджена наказом МНС, Мінагрополітики, Мінекономіки та Мінприроди 27.03.2001 року. Також були враховані деякі положення «Методики визначення ризиків та прийнятних рівнів для декларування безпеки об'єктів підвищеної небезпеки» [3] затвердженої наказом Мінпраці та соціальної політики України 04.12.2002 року. Під час підготовки нової Методики використовували загальновідомі формули, в тому числі формулу Мацака з рівнянням Клайперона-Клаузіуса. В новій Методиці для прогнозування наслідків вилливу (викиду) небезпечних хімічних речовин за аварій збільшена кількість небезпечних хімічних речовин до 36 сполук. Також дана Методика враховує ландшафтні й кліматичні умови в осередку аварії.

В загальному плані структура Методики складається з таких розділів:

- галузі застосування;
- термінів та визначення понять;

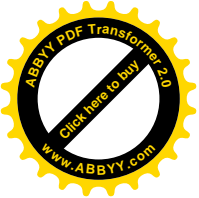


- загальних положень;
- прогнозування масштабу зони хімічного забруднення;
- прогнозування тривалості хімічного забруднення;
- визначення ступеня небезпеки хімічного забруднення;
- класифікація адміністративно-територіальних одиниць та об'єктів господарської діяльності за ступенем хімічної небезпеки;
- додатки.

Методика дозволяє здійснити довгострокове (оперативне) й аварійне прогнозування масштабів забруднення у разі виникнення аварії з виливом (викидом) небезпечних хімічних речовин із технологічних ємкостей на ХНО, автомобільному, річковому, залізничному та трубопровідному транспорті. Також Методика може бути використана для проведення розрахунків масштабів забруднення у разі виникнення аварії на морському транспорті, у разі, якщо хмара НХР може дістати прибережної зони, де мешкає населення. Її дія поширюється на небезпечні хімічні речовини, які, у разі виникнення аварії, переходять у навколишнє середовище у газоподібному, пароподібному й аерозольному агрегатному станах з утворенням первинної та/або вторинної хмари та не поширюється на небезпечні хімічні речовини, які за температури навколишнього середовища і атмосферного тиску не переходять у газоподібний, пароподібний або аерозольний стан.

В Загальних положеннях наведено принципи оцінки хімічної обстановки що передбачають визначення масштабу аварії, розрахунок часу підходу хмари небезпечної хімічної речовини до населених пунктів; прогнозування можливої кількості і структури уражених осіб та проведення класифікації адміністративно-територіальних одиниць і об'єктів господарської діяльності за ступенем хімічної небезпеки. Водночас прийняті такі вихідні дані для прогнозування масштабів зони хімічного забруднення і можливих загальних втрат населення в осередку забруднення:

- загальна кількість небезпечної хімічної речовини на об'єкті та дані щодо розміщення їх запасів у технологічних ємкостях;



- кількість небезпечної хімічної речовини, що потрапила в атмосферу,
- характер виливу на поверхню («вільно», «в піддон» або «в обвалування»);
- висота піддону або обвалування;
- метеорологічні умови: температура повітря, швидкість вітру на висоті 1-10 м, ступінь вертикальної стійкості повітря;
- середня щільність населення у місті та замиській зоні.

В разі проведення довгострокового прогнозування в Методиці рекомендовано приймати:

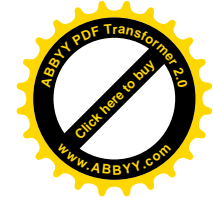
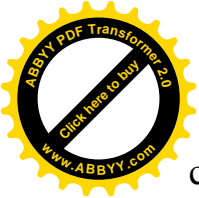
- кількість небезпечної хімічної речовини, що вилілась: - максимальну за об'ємом одиничної ємкості, а для об'єктів, що розташовані у небезпечних районах (на особливий період і для сейсмічних районів тощо) - загальну кількість небезпечної хімічної речовини;
- для залізничних станцій, через які здійснюється перевезення небезпечної хімічної речовини, розглядається аварія з виливом 60 т найбільш небезпечної речовини, що транспортується;
- метеорологічні умови, за яких площа зони можливого хімічного забруднення буде найбільшою: ступінь вертикальної стійкості повітря – інверсія; швидкість повітря – 1 м/с; температура повітря – 20 °С.

Для проведення аварійного прогнозування масштабів забруднення після виникнення аварії застосовували загальновідомі формули Мацака, в тому числі з рівнянням Клайперона-Клаузіуса, в якій використовували такі вихідні данні:

- кількість речовини, що вилілась;
- реальні метеорологічні умови.

Центром зони хімічного забруднення визначається місце аварії. Зовнішні межі хімічного забруднення визначаються за значенням порогової токсодози ( $PC_{150}$ ) у разі інгаляційної дії небезпечної хімічної речовини на організм людини.

Глибина зони хімічного забруднення визначається в залежності від фізико-хімічних властивостей небезпечної хімічної речовини та агрегатного



стану, в якому вони зберігаються або перевозяться:

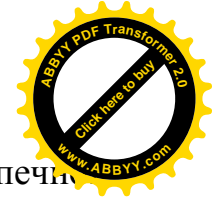
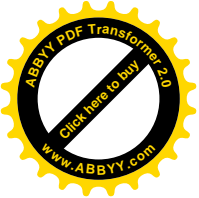
- для газів, які зберігаються або перевозяться у зрідженому стані, – окремо за первинною та вторинною хмарами небезпечної хімічної речовини;
- для газів, які зберігаються або перевозяться під тиском – тільки за первинною хмарою небезпечної хімічної речовини;
- для небезпечних хімічних речовин, які зберігають або перевозять у рідкому стані, а також, температура кипіння яких вище за температуру навколишнього середовища, – тільки за вторинною хмарою небезпечної хімічної речовини.

Також в Методиці використані такі допущення:

- у разі виникнення аварії ємкість з небезпечною хімічною речовиною руйнується повністю;
- кількість викинутої небезпечної хімічної речовини ( $Q$ ) відповідає нормативу заповнення даної ємкості;
- у разі виникнення аварії на газо- та продуктопроводі прийнято розрив трубопроводу – «гільйотинний» з максимальною витратою за максимальної тривалості викиду, а кількість небезпечної хімічної речовини, що вилілась, дорівнює максимальній кількості небезпечної хімічної речовини, яка міститься в трубопроводі між автоматичними відсікачами;
- топографічні особливості місцевості, а також її рельєф, відкритий або закритий (до закритого рельєфу місцевості відносяться великі міста, гори, ліс віком 30 років та більше);
- граничний час перебування людей у зоні хімічного забруднення і тривалість збереження метеорологічних умов незмінними становить 4 год. Після закінчення цього часу прогноз обстановки уточнюється.

Основними показниками, що характеризують масштаб зони хімічного забруднення приймається:

- радіус району аварії  $R_A$  (км);
- глибина  $\Gamma_I$  (км) і площа  $S_I$  (км<sup>2</sup>) поширення первинної хмари небезпечної хімічної речовини;



- глибина  $\Gamma_2$  (км) і площа  $S_2(\text{км}^2)$  поширення вторинної хмари небезпечних хімічних речовин.

Глибину поширення первинної хмари небезпечних хімічних речовин ( $\Gamma_{TI}$ ) на рівнинній місцевості за стандартних температурних умов із граничним значенням порогової токсодози  $PC_{150}$  для деяких небезпечних хімічних речовин наведено у таблиці 1 додатка 1 Методики. Значення глибини поширення первинної хмари небезпечних хімічних речовин ( $\Gamma_{TI}$ ) розраховано для деяких типових об'ємів зберігання небезпечних хімічних речовин з урахуванням їх повної розгерметизації і вилування небезпечних хімічних речовин у піддон (обвалування), вертикальної стійкості повітря та швидкості вітру на висоті 1-10 м.

Глибина поширення первинної хмари небезпечних хімічних речовин  $\Gamma_1$  (км) з урахуванням метеорологічних і топографічних умов, впливу температури повітря на кількість небезпечних хімічних речовин, що переходить у первинну хмару, визначається за формулою 1:

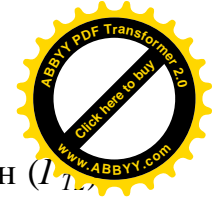
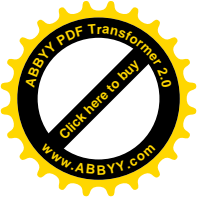
$$\Gamma_1 = \Gamma_{TI} \cdot K_{TI} \cdot K_m \cdot K_k, \quad (1)$$

де:  $\Gamma_{TI}$  – табличне значення глибини поширення первинної хмари небезпечних хімічних речовин на рівнинній місцевості за стандартних зовнішніх температурних умов, км;

$K_{TI}$  – поправочний коефіцієнт, що враховує вплив температури повітря (наведено у таблиці 2 додатка 1 Методики);

$K_m$  – коефіцієнт впливу місцевості (наведено в таблицях 4.1 та 4.2 Методики);

$K_k$  – коефіцієнт пропорційності, що враховує розбіжності маси небезпечних хімічних речовин з типовими об'ємами ємкостей наведено у таблиці 1 додатка 1 Методики. Для його визначення розраховується коефіцієнт перевищення, що представляє собою співвідношення заданої кількості небезпечних хімічних речовин  $Q_z$  (тон) до найближчого значення типової ємкості  $Q_m$  (тон) за даними таблиці 1 додатка 1 Методики. Значення коефіцієнта пропорційності наведено у таблиці 3 додатка 1 Методики.



Глибину поширення вторинної хмари небезпечних хімічних речовин ( $\Gamma_{T_2}$ ) на рівнинній місцевості за стандартних температурних умов із граничним значенням порогової токсодози  $PC_{T50}$  для деяких небезпечних хімічних речовин наведено у таблиці 5 додатка 1 Методики. Значення глибини поширення вторинної хмари НХР ( $\Gamma_{T_2}$ ) розраховано для деяких типових об'ємів зберігання небезпечних хімічних речовин з урахуванням вертикальної стійкості повітря.

Глибина поширення вторинної хмари небезпечних хімічних речовин  $\Gamma_2$  (км) з урахуванням метеорологічних і топографічних умов, впливу температури повітря на кількість НХР, що переходить у вторинної хмару, визначається за формулою 2:

$$\Gamma_2 = \Gamma_{T_2} \cdot K_{T_2} \cdot K_m \cdot K_k, \quad (2)$$

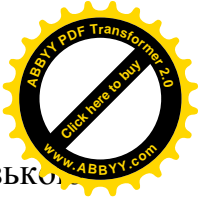
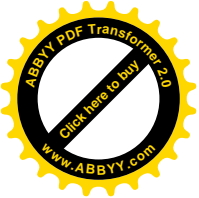
де:  $\Gamma_{T_2}$  – табличне значення глибини поширення вторинної хмари небезпечних хімічних речовин на рівнинній місцевості за стандартних зовнішніх температурних умов, км;

$K_{T_2}$  – поправочний коефіцієнт, що враховує вплив температури повітря наведено у таблиці 6 додатка 1 Методики;

$K_m$  – коефіцієнт впливу місцевості наведено у таблиці 4.1 та 4.2 Методики);

$K_k$  – коефіцієнт пропорційності, що враховує розбіжності маси небезпечних хімічних речовин з типовими об'ємами ємкостей, наведено у таблиці 5 додатка 1 Методики. Визначення коефіцієнту  $K_k$  здійснюється аналогічно випадку поширення первинної хмари небезпечних хімічних речовин. Значення коефіцієнта пропорційності наведено у таблиці 3 додатка 1 Методики.

Район аварії обмежується радіусом  $R_A$  (км), що визначає площу кола, в межах якого уражуючи властивості хмари небезпечної хімічної речовини найбільші. Величина радіусу району аварії залежить від виду небезпечної хімічної речовини і умов його зберігання (використання). Під час проведення розрахунків значення  $R_A$  приймається:



- для зріджених газів і рідких небезпечних хімічних речовин із низькою температурою кипіння, що зберігаються у технологічних ємкостях об'ємом до 100 т – 0,5 км, в інших випадках – 1 км;

- для рідких небезпечних хімічних речовин із високою температурою кипіння у разі руйнування технологічних ємкостей об'ємом до 100 т – 0,2-0,3 км, в інших випадках – 0,5 км.

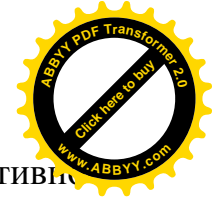
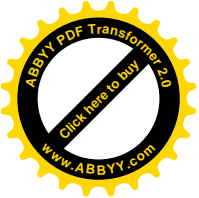
В разі виникнення пожежі радіус району аварії рекомендується збільшувати у 1,5 – 2 рази, що обумовлено можливістю викиду більшої кількості небезпечної хімічної речовини, а також її розкидання за рахунок вибуху.

Під час прогнозування тривалості хімічного забруднення враховується час, протягом якого існує небезпека ураження людей за відсутності засобів індивідуального захисту. Основними показниками, що характеризують тривалість хімічного забруднення є:

- час випаровування небезпечної хімічної речовини з поверхні виливу;
- час підходу забрудненого повітря до об'єкту.

Основним показником, що характеризує ступінь небезпеки хімічного забруднення є кількість людей, які опинилися в осередку ураження. Кількість уражених серед виробничого персоналу об'єкта, де трапилась аварія, та населення, яке мешкає поблизу цього об'єкта, визначається виходячи з кількості людей, які опинилися в осередку ураження та їх захищеності від дії небезпечної хімічної речовини.

Кількість людей, що опинились в осередку ураження, розраховується або шляхом підсумовування кількості виробничого персоналу (населення), що знаходиться на окремих виробничих ділянках (житлових кварталах, населених пунктах), що піддалися дії небезпечної хімічної речовини, або шляхом помноження середньої густини виробничого персоналу (населення), що знаходиться на території об'єкта (населеного пункту) на площу зараженої території.



В Методиці наведено критерії класифікації адміністративних територіальних одиниць та об'єктів господарської діяльності за ступенем хімічної небезпеки. Критеріями класифікації територій та об'єктів щодо їх хімічної небезпеки є кількість населення та розмір площі, що можуть потрапити в зону можливого хімічного забруднення у випадку виникнення аварії на хімічно небезпечному об'єкті (табл. 1).

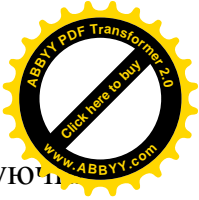
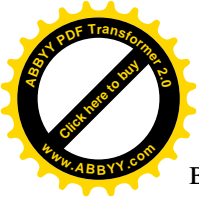
### 1. Критерії класифікації адміністративно-територіальних одиниць і хімічно небезпечних об'єктів (крім залізниць)

Назва об'єкту, що класифікується	Критерії класифікації	Одиниця виміру	Чисельне значення критерію, що використовується для класифікації			
			Ступінь хімічної небезпеки			
			I	II	III	IV
Хімічно небезпечний об'єкт	Кількість населення, яке потрапляє в прогнозовану зону хімічного забруднення у разі виникнення аварії на хімічно небезпечному об'єкті	тис. чол.	більше 3,0	від 0,3 до 3,0	від 0,1 до 0,3	менше 0,1
Хімічно небезпечна адміністративно-територіальна одиниця	Частка території, що потрапляє в зону можливого хімічного забруднення у разі виникнення аварії на хімічно небезпечних об'єктах	%	більше 50	від 30 до 50	від 10 до 30	менше 10

### Висновки

1. Проведений аналіз існуючих методологічних підходів до вирішення проблеми оцінки небезпеки хімічно-небезпечних об'єктів показав, що не зважаючи на значні наукові досягнення в даній сфері, на сьогодні не існує чітко сформульованої та ефективної комплексної методики оцінки небезпеки, а відповідно і ризику виникнення аварій на хімічно-небезпечних об'єктах, тому питання розробки такої методологічної бази є актуальним завданням.

2. Проведені аналітичні дослідження і системний аналіз існуючих підходів до прогнозування наслідків виліву (викиду) небезпечних хімічних речовин у разі аварій на хімічно-небезпечних об'єктах дозволив суттєво



вдосконалити підходи до прогнозування що використовувались в існуючій методиці та по суті розробити нову Методику прогнозування.

3. В розробленій Методиці використані класичні методологічні підходи до прогнозування, однак у новій Методиці для прогнозування наслідків вилливу (викиду) небезпечних хімічних речовин за аварій збільшена їх кількість до 36 сполук. Також дана Методика враховує ландшафтні і кліматичні умови в осередку аварії. Це дозволяє виключити більшість суб'єктивних факторів та суттєво підвищити коректність прогнозу.

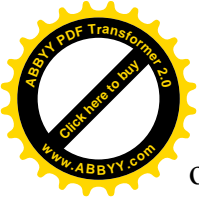
4. Для проведення сучасного прогнозування ймовірності виникнення і визначення тяжкості наслідків аварії на ХНО і підвищення коректності таких прогнозів, а також для оперативного прийняття раціональних управлінських рішень, під час аварії та ліквідації її наслідків, необхідно об'єднати наявні інформаційні ресурси, або створити окрему базу даних, в яку доцільно включити державний реєстр ХНО, базу даних аварій і надзвичайних ситуацій на ХНО, державний реєстр та базу даних документів страхового фонду документації щодо ХНО в електронному вигляді, базу даних планів локалізації і ліквідації аварій на ХНО та деякі інші.

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Національна доповідь про стан техногенної та природної безпеки в Україні у 2014 році. [Електронний ресурс]. //Офіційний веб-портал Державної служби України з надзвичайних ситуацій – Режим доступу: <http://www.mns.gov.ua/content/nasdopov2014.html>.

2. Методика прогнозування наслідків вилливу (викиду) небезпечних хімічних речовин при аваріях на промислових об'єктах і транспорті, затверджена наказом МНС, Мінагрополітики, Мінекономіки, Мінприроди від 27.03.2001 року №73/82/64/122, зареєстрований у Мінюсті України 10.04.2001 року за № 326/5517 (Офіційний вісник України від 27.04.2001– 2001 р., № 15, стор. 261, стаття 681, код акту 18436/2001).

3. Наказ Мінпраці та соціальної політики України "Про затвердження Методики визначення ризиків та прийнятних рівнів для декларування безпеки



об'єктів підвищеної небезпеки" від 04.12.2002 №637. [Електронний ресурс].  
//Інформаційний портал України – Режим доступу: //http://ua-  
info.biz/legal/basene/ua-cmelgt/index.htm.

## ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПОСЛЕДСТВИЙ РАЗЛИВА (ВЫБРОСА) ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В СЛУЧАЕ АВАРИИ НА ХИМИЧЕСКИ ОПАСНОМ ОБЪЕКТЕ

**О. П. Яцюк**

*Аннотация.* На основании анализа состояния химической безопасности в развитых странах мира и существующих методов прогнозирования последствий разлива (выброса) опасных химических веществ в случае аварий на химически опасных объектах, предложена методика прогнозирования последствий возможных аварий при выполнении мероприятий по ликвидации аварий и их последствий. Методика предназначена для использования подразделениями службы гражданской защиты и другими подразделениями по ликвидации аварий на химически опасных объектах.

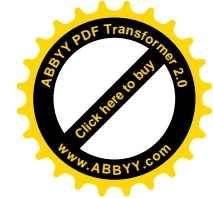
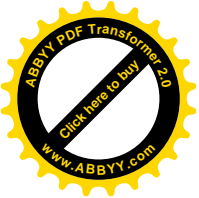
*Ключевые слова:* химически опасный объект, опасные химические вещества, авария, прогнозирование последствий, методика

## PREDICTION CONSEQUENCES SPOUT (RELEASE) OF HAZARDOUS CHEMICALS IN CASE OF ACCIDENTS ON CHEMICALLY HAZARDOUS OBJECTS

**O. Yatsyuk**

*Abstract.* Based on the analysis of chemical safety in developed countries and existing methods for predicting the consequences of the spout (release) of hazardous chemicals in the event of accidents on chemically hazardous objects the method of forecasting the consequences of possible accidents in the implementation of measures for elimination of accidents and their consequences. The technique is intended for use by civil defense units and other units of the liquidation of the chemically hazardous objects

*Key words:* chemically dangerous objects, dangerous chemicals, the accident, forecasting consequences methods



УДК 614.8; 331.46:502.34/.37

## СУЧАСНИЙ СТАН І ПРОБЛЕМИ РАДІАЦІЙНОГО І ХІМІЧНОГО ЗАХИСТУ НАСЕЛЕННЯ ТА ТЕРИТОРІЙ УКРАЇНИ

Л. В. КАЛИНЕНКО,

Л. В. ПЕРЕПЕЛЯТНИКОВА, кандидат біологічних наук,

А. А. СЛЮСАР, Н. О. КИМАКОВСЬКА

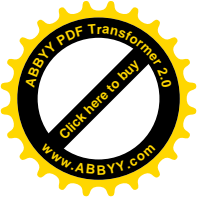
*Український науково-дослідний інститут цивільного захисту*

*E-mail: kimakovskaya@ukr.net*

***Анотація.** Наведено аналіз існуючих нормативно-правових документів, наукових публікацій з питань організації проведення заходів захисту населення та територій у випадку аварій, пов'язаних з виливом (викидом) радіоактивних та небезпечних хімічних речовин, висвітлені проблеми, що потребують вирішення, а також шляхи їх реалізації.*

***Ключові слова:** радіаційний і хімічний захист, заходи, надзвичайні ситуації*

В Україні працює близько 10 тисяч підприємств, установ і організацій, що використовують у своїй діяльності радіаційно-небезпечні технології та джерела іонізуючих випромінювань (ДІВ). На чотирьох атомних електростанціях експлуатуються 15 енергоблоків. На етапі зняття з експлуатації перебувають три неаварійні енергоблоки Чорнобильської АЕС, один із яких, після повного вивантаження ядерного палива, визнаний об'єктом, призначеним для поводження з радіоактивними відходами (РАВ). Також в Україні функціонує 931 об'єкт, на якому зберігається або використовується у виробничій діяльності більше 308 тис тонн небезпечних хімічних речовин, у тому числі близько 4 тис тонн хлору, понад 202 тис тонн аміаку та 101 тис тонн інших небезпечних хімічних речовин [1]. Враховуючи це, з метою захисту населення, зменшення втрат і шкоди економіці в разі виникнення надзвичайних ситуацій, пов'язаних з викидом (випливом) у довкілля радіоактивних та небезпечних хімічних речовин (НХР), держава повинна бути готова до проведення спеціального комплексу захисних заходів, таких як радіаційний та хімічний захист населення і



територій.

**Метою дослідження** є аналіз сучасного стану радіаційного і хімічного захисту населення і територій та виявлення проблем, що існують у цій сфері захисту.

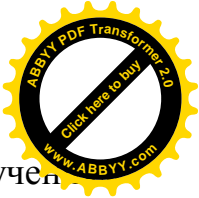
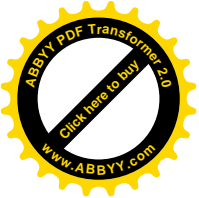
**Матеріали і методи дослідження.** В дослідженні проаналізовано сучасний стан радіаційного і хімічного захисту населення й територій в Україні. Використані наукові публікації, існуючі нормативно-правові документи з питань організації радіаційного і хімічного захисту населення й територій на випадок аварій. Методи досліджень: аналітичний та системного аналізу.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Основні положення щодо радіаційного і хімічного захисту (далі – РХЗ) визначено статтею 35 Кодексу цивільного захисту України [2].

Цей захист включає заходи щодо виявлення і оцінки радіаційного та хімічного стану, організації і здійснення дозиметричного й хімічного контролю, розроблення типових режимів радіаційного захисту, забезпечення засобами колективного й індивідуального захисту, організації та проведення спеціальної обробки тощо.

Важливим для здійснення радіаційного і хімічного захисту є спостереження за радіаційним (хімічним) станом. Обсяг спостережень залежить від режимів функціонування єдиної державної системи цивільного захисту (далі – ЄДСЦЗ).

В режимі *повсякденного функціонування* диспетчерськими службами в межах зони відповідальності об'єкту проводиться постійний приладовий контроль (за допомогою стаціонарних приладів) за станом довкілля з метою ідентифікації перевищень фонові потужності еквівалентної (поглиненої) дози (контроль за радіаційним станом) та періодичний візуальний контроль за станом довкілля щодо випадків появи аномальних явищ на ґрунті, в інших об'єктах довкілля у вигляді нехарактерного забарвлення, запаху, диму, туману тощо (без точного визначення типу отруйних або небезпечних хімічних речовин - контроль за хімічною обстановкою).



В режимі *підвищеної готовності* – посилюється робота (із залученням додаткових сил і засобів), пов'язана з веденням спостережень за радіаційним і хімічним станом в зонах відповідальності й інших небезпечних зонах, залежно від обстановки, та прогнозування наслідків надзвичайної ситуації. Терміни, кількість і місця спостережень визначаються безпосередньо за фактом події та залежно від стану, що складається.

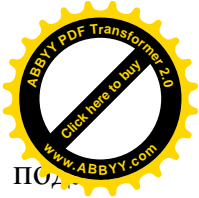
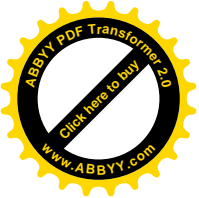
В режимі *надзвичайних ситуацій* – забезпечується здійснення постійного спостереження за радіаційним і хімічним станом в зонах надзвичайних ситуацій. Терміни, кількість і місця спостережень визначаються безпосередньо за фактом події та залежно від стану.

Радіаційне і хімічне спостереження повинне забезпечувати найбільш максимальне охоплення території, де здійснюється діяльність населення; оперативний збір та узагальнення даних щодо радіаційного та хімічного стану; своєчасне оброблення отриманих даних (здійснення відповідних розрахунків можливих масштабів небезпеки тощо); кваліфікований аналіз та оцінку стану для прийняття рішень про реагування та впровадження заходів захисту населення.

Для виконання задач із визначення зон забруднення, контролю забрудненості місцевості, техніки, майна, продовольства, води і фуражу, а також відбору проб забруднених об'єктів для аналізу в лабораторії у місцях розташування і районах дій аварійно-рятувальних формувань цивільного захисту залучаються групи радіаційної розвідки.

Під час організації радіаційної або хімічної розвідки необхідно враховувати умови, що можуть скластися у районах проведення робіт під час зміни зовнішніх параметрів (наприклад, напрямку вітру, інших елементів погоди) або у випадку повторного виливу (викиду) радіоактивних або хімічних речовин.

Для спостереження за радіаційним станом в районах розташування аварійно-рятувальних формувань, а також на об'єктах проведення робіт можуть утворюватися пости радіаційного і хімічного спостереження [3], основними

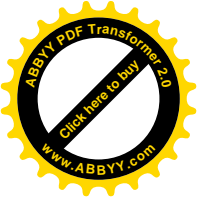


задачами яких є: своєчасне виявлення радіоактивного забруднення і подальше моніторингу сигналів оповіщення; визначення напрямку руху радіоактивної хмари; розвідка ділянок, забруднених радіоактивними речовинами в районі посту, а також метеорологічне спостереження.

В ході хімічної розвідки визначаються межі і зони зараження, робиться оцінка кількості викинутих (пролитих) НХР і щільності зараження ними місцевості, а також напрямку поширення рідкої, газової, аерозольної, парогазової фази; визначаються маршрути підходу до району аварії, виведення і евакуації працюючого персоналу та населення, тварин, обходу району зараження; визначаються масштаби і ступінь зараження повітря, здійснюється контроль за їх зміною в часі; визначаються можливості перебування в районі аварії без засобів захисту після ліквідації зараження; проводиться постійний відбір проб повітря, ґрунту, води, змивів з обладнання, будівель, споруд і техніки.

Проте обладнання, яким оснащені групи радіаційної розвідки, диспетчерські служби, пости радіаційного і хімічного спостереження та розрахунково-аналітичні групи, призначені для здійснення періодичного або постійного радіаційного і хімічного спостереження, морально застаріло та потребує оновлення на сучасне. Наприклад, дозиметри для радіаційної розвідки, що є на забезпеченні цих служб, дозволяють визначати лише експозиційну дозу та її потужність, а рівні втручання, які встановлені Нормами радіаційної безпеки (НРБУ-97), і є основним критерієм прийняття рішень щодо введення тих чи інших захисних заходів у випадку радіаційної аварії, встановлені у термінах поглиненої та еквівалентної доз, які неможливо визначити за допомогою існуючих приладів [4].

Найважливішим елементом радіаційного захисту під час радіаційної аварії є встановлення та підтримання режиму радіаційного захисту. Цей режим забезпечується встановленням особливого порядку доступу в зону аварії; зонуванням району аварії; доцільним відбором учасників ліквідації наслідків аварії з обов'язковим їх медичним оглядом; проведенням аварійно-рятувальних



та інших невідкладних робіт; здійсненням радіаційного контролю в зонах виході в «чисту» зону; забезпеченням спецодягом, засобами індивідуального захисту та медичною допомогою; організацією індивідуального дозиметричного контролю та веденням обліку доз опромінення персоналу і колективних доз опромінення населення; здійсненням дезактиваційних робіт; організацією поводження з радіоактивними відходами.

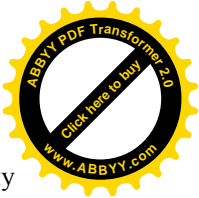
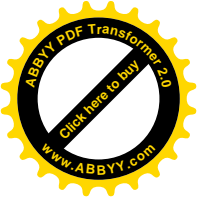
Тривалість дотримування режиму захисту залежить від ряду факторів: рівня радіації; захисних властивостей захисних споруд; захисних властивостей промислових та житлових будівель.

Таким чином, завчасне розроблення і впровадження режимів радіаційного захисту робітників і службовців об'єктів, а також населення та особового складу формувань дає змогу зменшити або повністю виключити ураження людей.

Для захисту населення у випадку ускладнення радіаційної обстановки передбачені тимчасові норми (режими захисту), які наведені у таблицях 1 і 2.

### 1. Критерії для прийняття рішень на ранній фазі розвитку аварії [4, 5]

Контрзахід	Відвернута доза за перші 2 тижні після аварії					
	Межі виправданості			Рівні безумовної виправданості		
	мЗв	мГр		мЗв	мГр	
	на все тіло	на щитоподібну залозу	на шкіру	на все тіло	на щитоподібну залозу	на шкіру
Укриття	5	50	100	50	300	500
Евакуація	50	300	500	500	1000	3000
Йодна профілактика:						
	-	50*	-	-	200*	-
діти	-	200*	-	-	500*	-
дорослі						
Обмеження перебування на відкритому повітрі:						
	1	20	50	10	100	300
діти	2	100	200	20	300	1000
дорослі						



\*Очікувана доза за умови внутрішнього опромінення радіоізотопами йоду, що надходять до організму протягом перших двох тижнів після початку аварії.

## 2. Критерії для прийняття рішень на середній фазі розвитку аварії [5]

Захисний захід	Дозові критерії (доза, що прогнозується за перший рік), мЗв*			
	Все тіло		Окремі органи	
	нижній рівень	верхній рівень	нижній рівень	верхній рівень
Обмеження застосування забруднених продуктів харчування та питної води	5	50	50	500
Переселення або евакуація	50	500	не встановлюється	не встановлюється

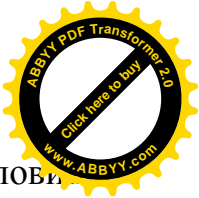
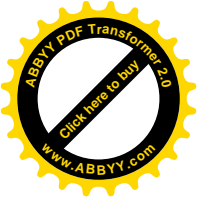
\*Відповідає рекомендаціям МАГАТЕ

Заходи з радіаційного захисту здійснюються спеціальні відомчі (об'єктові) формування, призначені для забезпечення радіаційної безпеки, а в аварійних випадках – сили цивільного захисту ДСНС України. У ліквідації наслідків радіаційних аварій можуть брати участь підрозділи Збройних Сил України.

Заходи з хімічного захисту організовуються міністерствами і відомствами в підвідомчих організаціях та інших організаціях, що входять до складу галузі, якій належать хімічно небезпечні об'єкти, центральними та територіальними органами виконавчої влади, а також органами місцевого самоврядування, у розпорядженні яких знаходяться або на території яких розташовані вказані об'єкти, адміністраціями самих об'єктів.

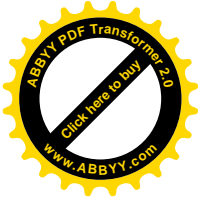
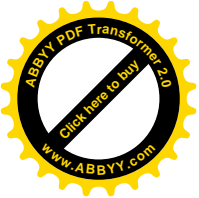
Радіаційний і хімічний захист населення в умовах аварії базується на системі протирадіаційних та протихімічних заходів (контрзаходів), які практично завжди є втручанням в нормальну життєдіяльність людей, а також у сферу нормального соціально-побутового, господарського і культурного функціонування територій.

Під час планування і реалізації втручань, спрямованих на мінімізацію доз і чисельності осіб з населення, які потрапили у сферу дії аварійного опромінення, слід керуватися трьома головними принципами радіаційного



захисту в умовах радіаційної аварії [6], а саме: будь-який контрзахід повинен бути виправданим, тобто отримана користь (для суспільства та особи) від відвернутої цим контрзаходом дози повинна бути більша, ніж сумарний збиток (медичний, економічний, соціально-психологічний тощо), від втручання, пов'язаного з його проведенням (**принцип виправданості**); повинні бути застосовані всі можливі заходи для обмеження індивідуальних доз опромінення на рівні, нижчому за поріг детерміністичних радіаційних ефектів, особливо порогів гострих клінічних радіаційних проявів (**принцип неперевищення**); форма втручання (контрзахід або комбінація декількох контрзаходів), його масштаби та тривалість повинні вибиратися таким чином, щоб різниця між сумарною користю та сумарним збитком була не тільки додатною, але й максимальною (**принцип оптимізації**).

Одним із дуже важливих заходів радіаційного захисту у випадку аварії на ядерних установках є йодна профілактика. Провал йодної профілактики населення України в 1986 році обійшовся тисячами додаткових випадків раку щитоподібної залози і підвищеним рівнем захворюваності на рак щитоподібної залози. Проаналізувавши і узагальнивши світовий досвід реагування на аварії з викидом радіоактивного йоду у довкілля, зокрема Уіндскейл (1957, Сполучене Королівство), Три-Майл-Айленд (1979, США) і Чорнобиль (1986, СРСР), міжнародне співтовариство виробило основні вимоги до організації і проведення йодної профілактики, виконання яких забезпечує ефективність цього заходу: швидкість дій, що забезпечує ефективність; організація зберігання достатньої кількості таблеток йодиду калію (KI) у режимі цілодобової доступності; організація регулярного оновлення запасу таблеток (гарантований термін придатності не менше 5 років за умови зберігання у сухому, темному місці); врахування можливості попереднього розподілу таблеток серед населення навколо АЕС (в зонах аварійного планування згідно з рекомендаціями МАГАТЕ); наявність чітких керівних принципів стосовно виконання блокування щитоподібної залози (включаючи обов'язки щодо прийняття рішень), критеріїв, вікового дозування; готовність до надання



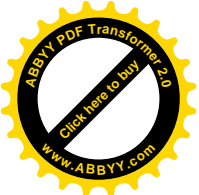
таблеток KI протягом тривалого періоду (понад одну добу) [7].

Слід зазначити, що в Україні не забезпечено на належному рівні виконання цих вимог. За значної кількості препаратів стабільного йоду, що є на фармацевтичному ринку України, окремі населені пункти зон спостереження вітчизняних АЕС, і навіть міста-супутники АЕС, не забезпечені такими препаратами на випадок радіаційної аварії. Регіональні і місцеві органи державної влади і місцевого самоврядування не проявляють належної ініціативи для забезпечення населення відповідних територій препаратами стабільного йоду. Не вирішуються проблеми йодної профілактики за межами зон спостереження АЕС. Досвід аварійних тренувань на АЕС інших країн свідчить про труднощі своєчасного забезпечення населення препаратами йоду навіть за наявності цих препаратів. Основною причиною вищезначених проблем в Україні є організаційна і інструктивно-методична бездіяльність МОЗ України.

Не менш важливим засобом радіаційно-хімічного захисту як рятувальників, так і населення є використання засобів індивідуального захисту, приладів радіаційної і хімічної розвідки, дозиметричного та хімічного контролю. За хімічним складом газоподібних речовин обирається марка (тип) протигазового або комбінованого фільтру (патрона або коробки), а також марка (тип) спеціального захисного одягу. Ізолюючі засоби індивідуального захисту застосовують при роботах у важкодоступних місцях обмеженого об'єму (у цистернах, колодязях, підвалах, трубопроводах тощо), а також при високих концентраціях НХР.

Забезпеченість працюючого населення і невоєнізованих формувань засобами радіаційного і хімічного захисту на сьогодні становить близько 20 % від потреби, а забезпечення непрацюючого населення не перевищує 5%. Крім того, внаслідок розбронювання мобілізаційних запасів радіаційного і хімічного захисту на особливий період непрацююче населення не забезпечене засобами індивідуального захисту від бойових отруйних речовин.

Порядок завчасного накопичення і підтримання у готовності засобів



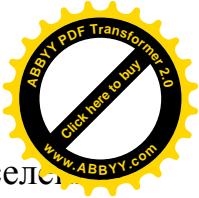
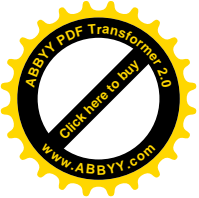
колективного і індивідуального захисту, приладів радіаційної і хімічної розвідки, дозиметричного і хімічного контролю, засобів фармакологічного протирадіаційного захисту для йодної профілактики населення, рятувальників та персоналу радіаційно-небезпечних об'єктів радіоактивними ізотопами йоду з метою запобігання опроміненню щитоподібної залози шляхом закладки його в мобілізаційний резерв.

Резерви створюються заздалегідь з метою використання їх у разі загрози виникнення надзвичайних ситуацій техногенного і природного характеру, ліквідації цих надзвичайних ситуацій та їх наслідків.

Номенклатура матеріальних цінностей державного резерву і норми їх накопичення, в тому числі незнижуваного запасу, затверджуються Кабінетом Міністрів України [8]. Порядок розробки номенклатури матеріальних цінностей державного резерву і норм їх накопичення, у тому числі незнижуваного запасу, встановлюється центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері державного матеріального резерву

Проте досі не існує жодного законодавчого або методичного документа, яким би визначались норми накопичення матеріальних цінностей у державному резерві. ДСНС України у 2014 році було передано до Кабінету Міністрів України на розгляд проект постанови КМУ «Про затвердження Методичних рекомендацій щодо створення та використання матеріальних резервів» та текст вказаних рекомендацій. Проте до цього часу вказані проекти постанови та методичних рекомендацій КМУ не розглянуті, відповідно не прийняті (або відхилені). Таким чином норми накопичення та використання матеріального резерву в Україні законодавчо не визначені. Це створює проблеми у матеріальному забезпеченні аварійно-рятувальних служб, формувань та спеціалізованих служб цивільного захисту, які повинні брати участь у проведенні аварійно-рятувальних та інших невідкладних робіт.

В населених пунктах, де зосереджена значна кількість потенційно-небезпечних об'єктів, що можуть спричинити хімічні або радіаційні аварії, відсутні стаціонарні пункти спеціальної обробки. Кількість суб'єктів

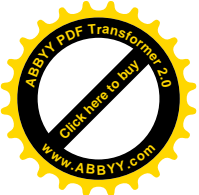


господарювання, що можуть надавати санітарно-гігієнічні послуги населенню (лазні, санітарно-побутові приміщення промислових підприємств, пральні, хімчистки тощо) та могли б бути пристосовані до спецобробки, на сьогоднішній день в містах значно скоротилась. В населених пунктах сільської місцевості вказаних суб'єктів господарювання майже не залишилося.

Санітарна обробка людей, спеціальна обробка одягу, засобів індивідуального захисту, транспортних засобів і обладнання є одним із важливих заходів забезпечення радіаційного та хімічного захисту в організації життєзабезпечення населення в умовах надзвичайної ситуації. Проте, навіть у містах, де зосереджена значна кількість потенційно небезпечних об'єктів, що можуть спричинити аварії, відсутні стаціонарні пункти спеціальної обробки.

Відповідними територіальними органами виконавчої влади з питань цивільного захисту, які опікуються питаннями техногенної безпеки, локалізації та ліквідації можливих аварій, розроблені переліки суб'єктів господарювання, що можуть надавати санітарно-гігієнічні послуги населенню, та укладено з ними цивільно-правові угоди. Під час складання переліку суб'єктів господарювання, що можуть залучатися до проведення санітарної обробки населення та спеціальної обробки одягу, майна і транспорту, повинні бути враховані вимоги державних будівельних норм, санітарних правил і відомчих наказів та інструкцій [9].

На сьогоднішній день коло таких об'єктів в інфраструктурі населених пунктів, особливо у сільській місцевості, дуже скоротилося. Всі вони перейшли у приватну власність і стали використовуватися не за призначенням. Навіть у Києві, великому місті-мільйоннику, залишилася лише одна лазня. Решта будівель, де раніше працювали лазні, зараз використовуються не за призначенням і зовсім не можуть бути пристосовані до санітарної обробки у випадку надзвичайної ситуації. На великих підприємствах автотранспортні цехи, що могли б використовуватися для спеціальної обробки транспорту, зараз здаються в оренду та дуже часто використовуються під торгівельні зали. У населених пунктах сільської місцевості вказаних суб'єктів господарювання



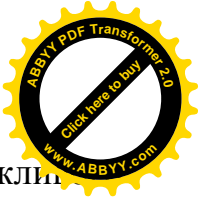
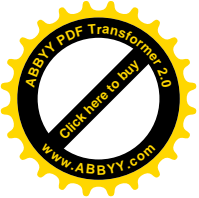
майже не залишилися. Однак, необхідно відмітити, що замість лазень з відкрито велику кількість «руських бань», саун, масажних салонів. Проте ці заклади дуже маломісткі – в основному вони вміщують від 4 до 10 осіб. Набір і розташування (планування) їх приміщень не дозволяє забезпечити дотримання основних вимог щодо проведення санітарної обробки: розмежування «брудних» та «чистих» потоків та недопущення забруднення прилеглих приміщень і територій.

В зв'язку з цим, перед службами, сферою інтересів яких є подолання наслідків надзвичайних ситуацій, постає проблема щодо перегляду підходів до забезпечення санітарної обробки людей і спеціальної обробки одягу, засобів індивідуального захисту, техніки. По-перше, потребує вирішення питання щодо створення у населених пунктах, де є загроза виникнення аварій з виливом (викидом) у довкілля радіоактивних або небезпечних хімічних речовин та біологічних патогенних агентів спеціальних стаціонарних пунктів спеціальної обробки. По-друге, необхідно запровадити інші підходи до проектування таких об'єктів, як побутові, спортивні та фізкультурно-оздоровчі заклади, спортивні зали середніх та вищих навчальних закладів тощо. Проектування таких закладів для населених пунктів, розташованих на території зони спостереження потенційно небезпечних об'єктів, має передбачати можливість переведення об'єкта на режим санітарного оброблення людей у разі вказаної надзвичайної ситуації, з виконанням усіх вимог, що встановлюються до такого роду робіт.

## **Висновки**

1. Обладнання, яким оснащені групи радіаційної розвідки, диспетчерські служби, пости радіаційного та хімічного спостереження і розрахунково-аналітичні групи, призначені для здійснення періодичного або постійного радіаційного та хімічного спостереження, морально застаріло та потребує оновлення на сучасне.

2. Відсутній регламент, або інструкція з проведення йодної профілактики, призначеної для запобігання опроміненню щитоподібної залози рятувальників, які залучаються до ліквідації радіаційної аварії, персоналу радіаційно-



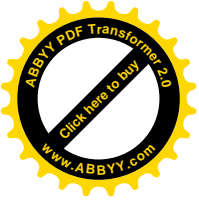
небезпечних об'єктів та населення, яке проживає в зонах можливого забруднення радіоактивними ізотопами йоду. Основною причиною зазначених вище проблем в Україні є організаційна і інструктивно-методична бездіяльність МОЗ України.

3. В Україні досі не існує жодного законодавчого або методичного документа, яким би визначались норми накопичення матеріальних цінностей у державному резерві. Це створює проблеми у матеріальному забезпеченні аварійно-рятувальних служб, формувань та спеціалізованих служб цивільного захисту, які повинні брати участь у проведенні аварійно-рятувальних та інших невідкладних робіт.

Проект постанови «Про затвердження Методичних рекомендацій щодо створення та використання матеріальних резервів» переданий ДСНС України до Кабінету Міністрів України на розгляд не розглянутий і, відповідно, не прийнятий. То ж ні номенклатура, ні норми накопичення та використання матеріального резерву в Україні законодавчо не визначені. Відсутність вказаних документів й економічні проблеми в державі не дають можливості забезпечити населення, яке проживає у зонах небезпечного забруднення АЕС, ні засобами індивідуального захисту, ні препаратами стабільного йоду.

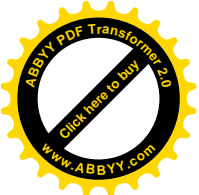
4. Не існує спеціальних законодавчих чи нормативних документів, які б безпосередньо визначали вимоги до спеціальної й санітарної обробки та до об'єктів для її проведення.

Потребує вирішення питання щодо створення спеціальних стаціонарних пунктів спеціальної обробки у населених пунктах, де є загроза виникнення аварій з виливом (викидом) у довкілля радіоактивних чи небезпечних хімічних речовин та біологічних патогенних агентів. Проектування побутових, спортивних, фізкультурно-оздоровчих закладів та спортивних залів у населених пунктах, розташованих на території зони спостереження потенційно небезпечних об'єктів має передбачати можливість переведення об'єкта на режим санітарного оброблення людей у разі виникнення надзвичайної ситуації



## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Національна доповідь про стан техногенної та природної безпеки в Україні у 2014 році [Електронний ресурс] : Web-сайт УкрНДІЦЗ. – Електрон. дан. і прогр. – К. : УкрНДІЦЗ, 2015. – Режим доступу: [http://www.undicz.mns.gov.ua/files/2015/5/18/Vid\\_organizaciyi\\_vykonavcsya.pdf](http://www.undicz.mns.gov.ua/files/2015/5/18/Vid_organizaciyi_vykonavcsya.pdf).
2. Кодекс цивільного захисту України» [Текст] : чинне законодавство із змінами та допов. на 25 липня 2013 року: (Відповідає офіц. текстові) – К.: Аперта 2013. – 102 с.
3. Готовность и реагирование в случае ядерной и радиационной аварийной ситуации. Серия норм безопасности МАГАТЭ № GS-R-2. МАГАТЭ. Вена. 2004.
4. Норми радіаційної безпеки України (НРБУ-97): ДСЕПІН 6.6.1.-079/211.3.9. 001-02. – К., Відділ поліграфії Українського центру держсанепіднагляду України, 1997. – 121 с.
5. Про використання ядерної енергії та радіаційну безпеку: [Закон від 08.02.1995 № 39/95-ВР.] // Відомості Верховної Ради України: – 1995. – № 12. – С. 81.
6. Принципи встановлення рівнів втручання для захисту населення на випадок ядерної аварії або радіаційної аварійної ситуації. МАГАТЕ. Серія видань з безпеки – Відень, 1988. – № 72.
7. Проблеми йодної профілактики в Україні на випадок радіаційної аварії на атомній електростанції / Ю. М. Скалецький, В. Л. Савицький [і ін.] // Вісник проблем біології і медицини – Київ, 2014 - Вип. 3, том 1(10) – С. 321-325.
8. Про державний матеріальний резерв : [Закон України № 51/97-ВР від 24.01.1997] / Відомості Верховної Ради України – 1997. – N 13. – С. 112 : зі змінами та доповненнями на 16.10.2012. – 2014. – N 4. – С. 61.
9. Аварійно-рятувальні та інші невідкладні роботи з ліквідації наслідків радіаційних аварій [Електронний ресурс] / Л. В. Калиненко; Г. П. Перепелятников [та інш.] // Довідник рятувальника. – Режим доступу: [http://www.undicz.mns.gov.ua/files/2015/3/26/1\\_Dovid\\_RA\\_fin.pdf](http://www.undicz.mns.gov.ua/files/2015/3/26/1_Dovid_RA_fin.pdf).



# СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПРОБЛЕМЫ РАДИАЦИОННОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ НАСЕЛЕНИЯ И ТЕРРИТОРИЙ УКРАИНЫ

Л. В. Калининко, Л. В. Перепелятникова, А. А. Слюсар,

Н. А. Кимаковская

*Аннотация.* Приведен анализ существующих нормативно-правовых документов, научных публикаций по вопросам организации проведения мероприятий по защите населения и территорий на случай аварий, связанных с выливом (выбросом) радиоактивных и химически опасных веществ, освещены проблемы, требующие решения, а также пути их реализации.

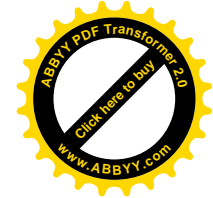
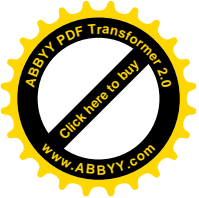
*Ключевые слова:* радиационная и химическая защита, мероприятия, чрезвычайные ситуации

## CURRENT STATUS AND PROBLEMS OF RADIATION AND CHEMICAL PROTECTION THE POPULATION AND TERRITORIES

L. Kalynenko, L. Perepelyatnykova, A. Slyusar, N. Kymakovska

*Abstract.* The analysis of existing normative-legal documents, scientific publications on the issues of organization of activities of protection of population and territories in case of accidents caused by leakage (emissions) radioactive and dangerous chemicals, the problems that require solutions and ways to implement them.

*Key words:* radiation and chemical protection measures, emergency



УДК 577.21:633.52

## ПОШУК І АНАЛІЗ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ ГЕНІВ

### АКТИНУ В ГЕНОМІ ЛЬОНУ

**А. С. ПОСТОВОЙТОВА**, аспірант\*

**Г. Я. БАЄР**, кандидат біологічних наук

**М. О. ПИДЮРА**, інженер

**Н. Л. ПАСТУХОВА**, кандидат біологічних наук

**Я. В. ПІРКО**, кандидат біологічних наук

**А. І. ЄМЕЦЬ**, доктор біологічних наук

**Я. Б. БЛЮМ**, доктор біологічних наук

*ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»*

*E-mail: nastya.postovoytova@gmail.com*

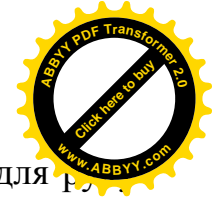
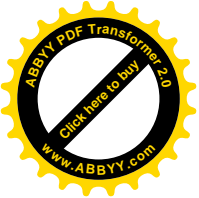
***Анотація.** Здійснено біоінформаційний пошук гомологів генів актину в геномі льону і проведений аналіз відібраних послідовностей. З десяти гомологів генів, що кодують актин більшість має схожу екзон-інтронну структуру – переважно чотири екзони та три інтрони. Встановлено ступінь ідентичності повних послідовностей генів, їх кодуючих ділянок та амінокислотних послідовностей, який становить в середньому – відповідно 80 %, 90,5 % та 97 %. Отримані дані свідчать, що екзони належать до найбільш консервативних ділянок генів, а послідовності інтронів мають суттєві відмінності, тобто їм притаманний високий ступінь поліморфізму.*

***Ключові слова:** льон, актин, локус*

Льон (*Linum usitatissimum* L.) є однією з основних технічних культур, яка здавна забезпечує потреби людини у високоякісному волокні. [1]. Основним полімером льоноволокна є целюлоза, вміст якої може досягати 70 % від маси зрілого волокна. Цей полімер переважно накопичується в клітинах флоєми (луб'яне волокно), де відкладається в клітинній стінці [2]. Припускають, що

---

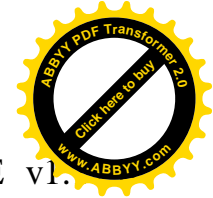
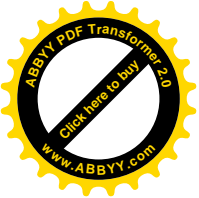
\*Науковий керівник – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник Я. В. Пірко



мікротрубочки та актинові філаменти слугують не лише «матрицею» для Р<sub>2</sub> целюлосинтазних комплексів [3, 4, 5, 6], а є і орієнтиром для їх вбудовування та видалення із плазматичної мембрани [5, 7], що створює передумови для диференціації сортів льону за їх агротехнічними властивостями, а саме здатністю утворювати льоноволокно. Раніше проводилися роботи щодо пошуку й аналізу генів целюлосинтазного комплексу [8] і генів актину,  $\alpha$  – та  $\beta$ -тубуліну в геномах вищих видів рослин та льону, зокрема [9, 10]. Подальше вивчення структури генів білків цитоскелету, зокрема генів, що кодують синтез актину, дослідження механізмів їх коекспресії відкриває широке коло можливостей для вивчення генетичної диференціації сучасних сортів льону.

**Мета дослідження** – проведення біоінформаційного пошуку й аналізу генів, що кодують актин (основний білок мікрофіламентів), в геномі льону для подальшого застосування інформації про структуру генів у селекційно-генетичних дослідженнях.

**Матеріали та методика досліджень.** Пошук генів, що кодують актин, здійснювали на основі анотованої послідовності актину льону (Q5I3E6\_LINUS) за допомогою інструменту TBLASTN версії 2.2.26+ в базі даних Phytozome v9.1 ([www.phytozome.net](http://www.phytozome.net)). Така методика використовувалась у попередніх роботах [8, 9] і передбачає пошук на основі порівняння заданих амінокислотних послідовностей із трансльованою у амінокислотні послідовності базою даних нуклеотидів. Для цього використали налаштування програми TBLASTN за замовчуваннями. Відібрали амінокислотні послідовності, для яких поріг відсіву випадкових співпадінь (e-value) складав не більше  $1^{-10}$ . Отримані послідовності перевіряли за допомогою алгоритму Hidden Markov Model у програмі HMMER3 ([www.hmmer.janelia.org](http://www.hmmer.janelia.org)) із використанням референтної бази даних родин білків Pfam-A (версія 25.0) [11]. Генетичні локуси, транскрибовані послідовності яких були віднесені за даними бази даних Pfam до родини актинів, визначили як гени актину льону. Для вирівнювання генетичних послідовностей і побудови філогенетичного дерева використовували програму Clustal W [12]. Ступінь



гомології (ідентичності) визначали за допомогою програми UGENE v1. [13].

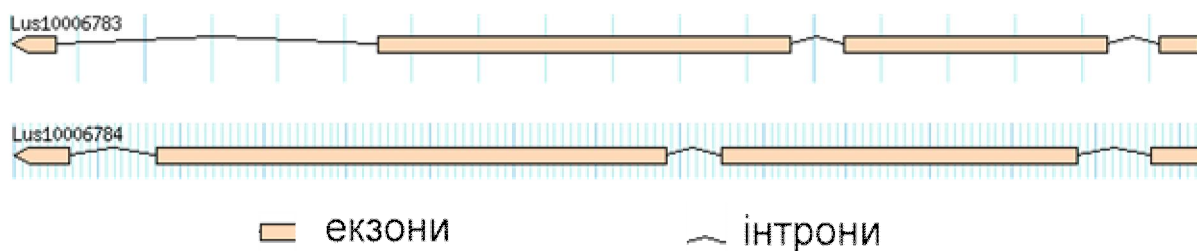
**Результати досліджень та їх обговорення.** В базі даних Uniprot (www.uniprot.org) на даний момент знаходиться дві анотовані послідовності, закодовані у геномі льону (*Linum usitatissimum*), довжиною 375 і 208 амінокислотних залишків, які віднесені до фрагментів послідовностей актину. Середня кількість амінокислот у послідовностях актину *A. thaliana* складає близько 377 амінокислот [14]

В геномі льону було виявлено 10 генів актину. Вони розташовані в локусах Lus10006783, Lus10006784, Lus10001693, Lus10001694, Lus10005457, Lus10004956, Lus10016259, Lus10004169, Lus10040826 і Lus10005163.

Результати проведеного аналізу повних генних послідовностей свідчать про те, що гени актину в геномі *L. usitatissimum* містять переважно по три інтрони і чотири екзони (табл., рис. 1) окрім генів, закодованих у локусах Lus10004169 та Lus10001693, які мають по два інтрони і три екзони. Екзони в відібраних генах містять однакову кількість пар нуклеотидів: 60 (перший), 394 (другий), 614 (третій) та 66 (четвертий) відповідно. Виключенням є локуси Lus10001693 та Lus10004169. В структурі інтронів жодної системності не спостерігається. Загалом, як видно з таблиці, довжини інтронів складають від 66 до 481 п. н., а довжини екзонів – 60 - 761 п. н.

#### Екзон-інтронна структура генів актину *L. usitatissimum* (п. н.)

Локус	Перший екзон	Перший інтрон	Другий екзон	Другий інтрон	Третій екзон	Третій інтрон	Четвертий екзон	Загальна довжина гену
Lus10005163	60	346	394	87	614	94	66	1661
Lus10006783	60	78	394	79	614	481	66	1772
Lus10006784	60	89	427	66	614	105	66	1427
Lus10001693	319	86	614	99	66	-	-	1184
Lus10005457	60	87	394	300	614	93	66	1614
Lus10004956	60	106	394	355	614	85	66	1680
Lus10004169	60	88	394	295	761	-	-	1598
Lus10016259	60	91	394	321	614	89	66	1635
Lus10001694	60	321	394	87	614	94	66	1636
Lus10040826	60	95	394	114	614	79	66	1422

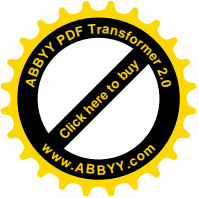


**Рис. 1. Екзон-інтронна структура генів актину в локусах Lus10006783 і Lus10006784 (схематичне зображення)**

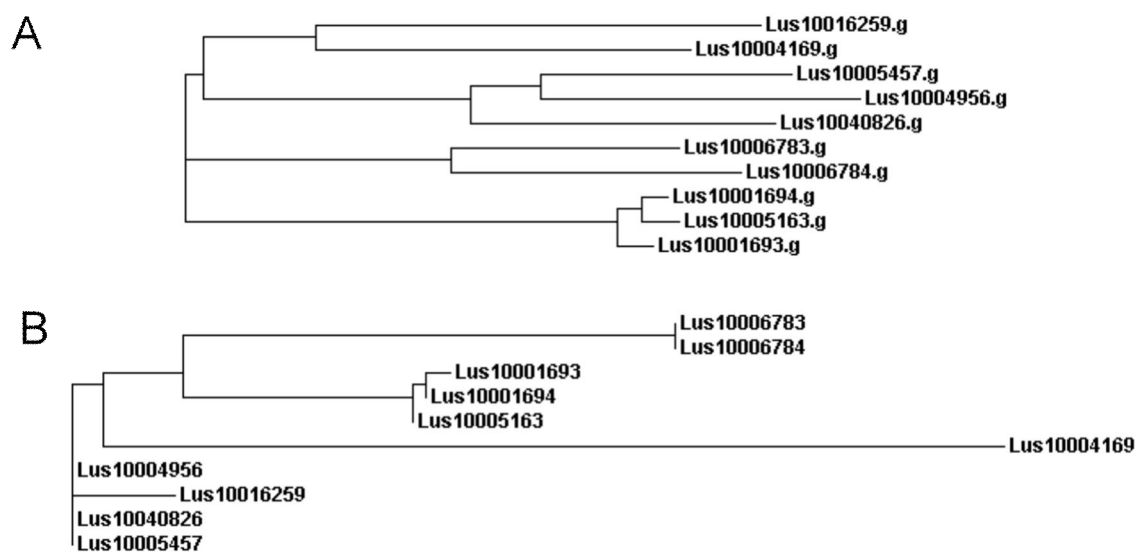
Середня кількість амінокислот у послідовностях, що транлюються на підставі даних про гени актину *A. thaliana*, складає близько 377 амінокислот. Так, наприклад, гени Lus10006783 і Lus10006784 кодують майже ідентичні білкові продукти. Єдиною різницею є те, що у локусі Lus10006783 наявна одна унікальна вставка всередині послідовності, що складає 10 амінокислот. Але відрізняються ці локуси за довжиною ДНК-ланцюга на 345 нуклеотидів (довжина генів 1772 і 1427 нуклеотидів відповідно). Обидва гени містять чотири екзони і три інтрони, але довжина третього інтрона у гені Lus10006783 значно більша.

За результатами проведеного множинного вирівнювання та здійсненого аналізу показано, що ступінь ідентичності повних гомологічних послідовностей генів актину льону складає в середньому 80 %, кодуючих ділянок (лише екзони) - близько 90,5 % та амінокислотних послідовностей – 97 %. На основі подібності послідовностей було побудовано філогенетичне дерево (рис. 2).

З рис.2 видно, що послідовності в локусах Lus10006783 і Lus10006784, а також Lus10004956, Lus10005457 і Lus10040826 кодують практично ідентичні продукти, але Lus10004956 і Lus10006783 мають по одній унікальній вставці всередині послідовності. Амінокислотна послідовність актину, що транлюється з гомолога гена, закодованого в локусі Lus10004169, найбільше відрізняється від інших як за складом амінокислот, так і за їх кількістю. Це



безпосередньо пов'язано з екзон-інтронною структурою даного гену, яка значно відрізняється від структур інших послідовностей, а саме більшою кількістю пар нуклеотидів першого і другого екзонів та відсутністю четвертого (табл.).

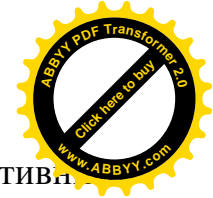
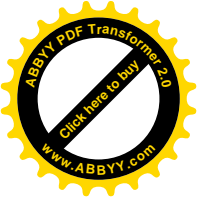


**Рис. 2. А – філогенетичне дерево подібності визначених гомологів генів, що кодують різні форми актину льону; В – філогенетичне дерево подібності продуктів (АК послідовностей) гомологів генів, що кодують різні форми актину льону**

Таким чином, гомологи генів різних форм актину льону, не зважаючи на високий ступінь ідентичності закодованих продуктів, мають значні відмінності за складом та довжиною інтронних фрагментів. Можливо, що в експресії генів різних форм актину льону задіяні складні регуляційні процеси, до яких можуть бути залучені інтрони. Щоправда, дане питання ще потребує додаткового дослідження.

### **Висновки**

1. Визначено і проаналізовано 10 генів, що кодують актин в геномі льону.
2. Встановлено ступінь ідентичності повних послідовностей генів актину льону, кодуючих ділянок та амінокислотних послідовності на рівні відповідно 80 %, 90,5 % та 97 %.



3. Підтверджено, що саме екзони генів є найбільш консервативні ділянками, в той же час гени відрізняються значною мірою за рахунок інтронних фрагментів.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Reddy N. Biofibers from agricultural byproducts for industrial applications / N. Reddy, Y. Yang // Trends in Biotech. – 2005. – 23. – P. 22-27.

2. Titok V. Leontiev V., Shostak L., Khotyleva L. Thermogravimetric analysis of the flax bast fiber bundle / V. Titok, V. Leontiev, L. Shostak, L. Khotyleva // J. Nat. Fibers. – 2006. – 3. – P. 35-41.

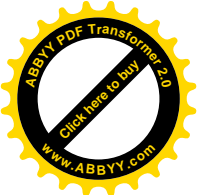
3. Paredez A. R. Visualization of cellulose synthase demonstrates functional association with microtubules / A. R. Paredez, C. R. Somerville, D. W. Ehrhardt // Sci. – 2006. – 312. – P.1491-1495.

4. Emons A. M. C. Microtubules and cellulose microfibrils: how intimate is their relationship? / A. M. C. Emons, H. Hofte, B. M. Mulder // Trends Plant Sci. – 2008. – 12. – P. 279-281.

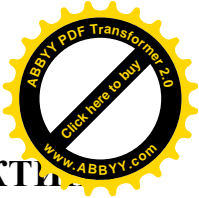
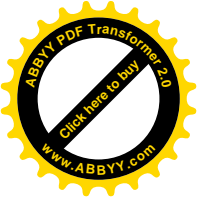
5. Crowell E. F. Pausing of Golgi bodies on microtubules regulates secretion of cellulose synthase complexes in *Arabidopsis* / E. F. Crowell, V. Bischoff, T. Desprez, A. Rolland, Y. D. Stierhof, K. Schumacher, M. Gonneau, H. Hofte // Plant Cell. – 2009. – 21. – P.1141-1154.

6. Chan J. The rotation of cellulose synthase trajectories is microtubule-dependent and influences the texture of epidermal cell walls in *Arabidopsis* hypocotyls / J. Chan, E. Crowell, M. Eder // J. Cell Sci. – 2010. – 123. – P. 3490-3495.

7. Gutierrez R. Arabidopsis cortical microtubules position cellulose synthase delivery to the plasma membrane and interact with cellulose synthase trafficking compartments / R. Gutierrez, J. J. Lindeboom, A. R. Paredez, A. M. Emons, D. W. Ehrhardt // Nat. Cell Biol. – 2009. – 11. – P. 797-806.



8. Пыдюра Н. А. Биоинформационный поиск генов целлюлозосинтазы (*Linum usitatissimum*) и их филогенетический анализ / [Н. А. Пыдюра, Г. Я. Баер, Д. В. Галиновский и др.] // Цитология и генетика - 2015. - 49(5). – P. 3-12.
9. Рабокoнь А. Н Анализ гомологов генов основных белков цитоскелета у различных видов высших растений / [А. Н. Рабокoнь, А. С. Постовойтова, Я. В. Пирко, Я. Б. Блюм] // Фактори експериментальної еволюції організмів – 2014. – 14 – P. 71-76.
10. Баер Г. Я. Біоінформаційний пошук послідовностей генів, що кодують тубуліни у геномі льону / [Г. Я. Баер, М. О. Пидюра, Я. В. Пирко та ін.] // Фактори експериментальної еволюції організмів – 2014. – 14 – P. 14-17.
11. Punta M. The Pfam protein families database / M. Punta, P. C. L. Coggil, R. Y. Eberhardt, J. Mistry, J. Tate, C. Boursnell, N. Pang, K. Forslund, G. Ceric, J. Clements, A. Heger, L. Holm, E. L. L. Sonnhammer, S. R. Eddy, A. Bateman, R.. D. Finn // Nucleic Acids Res. – 2012. – 40. – P.290-301.
12. Thompson J.D. Clustal-W – improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice / J. D. Thompson, D. G. Higgins, T. J. Gibson // Nucleic Acids Res. – 1994. – 22. – P. 4673-4680.
13. Okonechnikov K. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit / K. Okonechnikov, O. Golosova, M. Fursov // Bioinformatics. - 2012. - 28. - P. 1166-1167.
14. Blume Ya. B The Plant Cytoskeleton: Key Tool for Agro-Biotechnology / Ya. B. Blume, W. V. Baird, A. I. Yemets, D. Breviario // Springer-Verlag. - 2008. – P. 457.



## ПОИСК И АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНОВ АКТИНА В ГЕНОМЕ ЛЬНА

**А. С. Постовойтова, Г. Я. Баер, М. О. Пидюра, Н. Л. Пастухова,  
Я. В. Пирко, А. И. Емец, Я. Б. Блюм**

*Аннотация.* Проведен биоинформационный поиск гомологов генов актина в геноме льна и анализ отобранных последовательностей. Из десяти гомологов генов актина большинство имеет похожую экзон-интронную структуру - преимущественно четыре экзона и три интрона. Кроме того, установлено, что степень идентичности полных последовательностей генов, их кодирующих участков и аминокислотных последовательностей составляет в среднем – соответственно 80 %, 90,5 % и 97 %. Полученные данные свидетельствуют о том, что экзоны относятся к наиболее консервативным участкам генов, а последовательности интронов имеют существенные различия, то есть им присуща высокая степень полиморфизма.

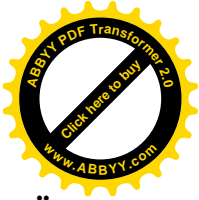
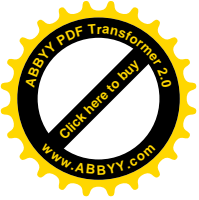
*Ключевые слова:* лен, актин, локус

## SEARCH AND ANALYSIS OF SEQUENCES OF THE ACTIN GENES IN FLAX GENOME

**A. Postovoitova, G. Bayer, N. Pydiura, N. Pastukhova, Ya. Pirko,  
A. Yemets, Ya. Blume**

*Abstract.* The bioinformational search of actin genes homologs and the analysis of selected sequences in the genome of flax were done. Most of ten actin gene homologs have the similar exon-intron structure - four exons and three introns. Also there were found that the degree of identity complete sequences of genes, their coding sites and amino acid sequences on average - 80%, 90,5% and 97% respectively. These data suggest that exons are among the most conserved parts of the genes and introns have significant differences, have a high degree of polymorphism.

*Key words:* flax, actin, locus



УДК 577; 57.088.1

**МЕТОДИ ВІДБОРУ ПРОБ І ПІДГОТОВКИ ЗРАЗКІВ ДЛЯ ДЕТЕКЦІЇ ТА  
ВИЗНАЧЕННЯ ГМО У СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ РОСЛИНАХ І  
ПРОДУКТАХ ХАРЧУВАННЯ, ВИРОБЛЕНИХ ІЗ НИХ**

**В. І. КОРХОВИЙ**, кандидат біологічних наук

**А. І. ЄМЕЦЬ**, доктор біологічних наук, професор

**В. Ю. ЯЦИШИН**, кандидат біологічних наук

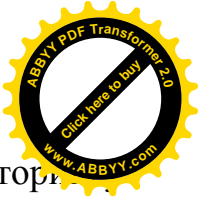
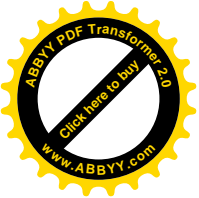
*Державна установа «Інститут харчової біотехнології та  
геноміки НАН України»*

*E-mail: korkhovy\_v@ukr.net*

***Анотація.** Стрімкий ріст кількості генетично модифікованих рослин і значні обсяги розширення площ їх вирощування вимагають розвиненої системи моніторингу. В статті висвітлено загальні принципи перших кроків підготовки зразків для детекції ГМ подій - етапи відбору проб та виділення ДНК.*

***Ключові слова:** генетично модифіковані рослини, відбір проб, виділення ДНК*

З моменту вивільнення генетично модифікованих (ГМ) рослин в навколишнє середовище та їх вирощування в комерційних масштабах минуло майже 20 років. З того часу відбувається збільшення як кількості різних ГМ сільськогосподарських культур, так і площ, на яких вони вирощуються. Так, на кінець 2014 року загальна площа, на якій вирощували отримані за допомогою методів біотехнології рослин становила 181,5 млн га в 28 країнах світу, або ж збільшилась більш ніж в 100 разів – з 1,7 млн га в 1996 році до майже 182 млн у 2014 році) [13]. Незважаючи на досить значну кількість отриманих ГМ рослин - на кінець жовтня 2015 в базі даних International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA) зареєстровано 384 ГМ події, в сільськогосподарському виробництві використовують лише невелику їх частину, а саме: сою, бавовну, кукурудзу та ріпак, які займають основну площу культивованих ГМ культур –99,6 % [14]. Згідно законодавства багатьох країн необхідно маркувати продукцію в якій можуть бути присутніми генетично



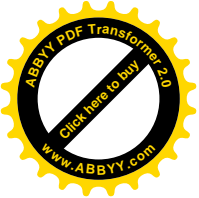
змінені елементи, що в свою чергу вимагає відповідної системи моніторингу для відстеження таких ГМ подій. Паралельно з отриманням тієї чи іншої ГМ культури розробляються і методи її детекції. Однак, часто для виявлення ГМО у продуктах харчування, вироблених з таких рослин, чи насіння, розроблених методів недостатньо. Це пояснюється тим, що під час виробництва харчових продуктів сировина піддається різним способам переробки, що в подальшому ускладнює виявлення ГМ подій. Важливими кроками в детекції ГМО є етапи відбору проб та виділення ДНК.

### **Відбір зразків – розмір зразка, гомогенізація зразка та порогова межа**

В Європі і США було розроблено вимоги щодо інструкцій відбирання зразків для тестування ГМО, які згодом, пройшовши ряд апробацій і коригувань були покладені в основу прийнятого та затвердженого в багатьох країнах Євросоюзу міжнародного стандарту CEN/TS 15568:2006. Цей стандарт незабаром було перекладено українською мовою і затверджено як Національний стандарт України ДСТУ-П CEN/TS 15568:2008.

Однією з основних вимог до відібраного зразка є те, що він повинен бути типовим за відношенням до партії/множини продуктів з яких його було відібрано. В той же час план відбору зразка і його розміри повинні відповідати статистичним вимогам щодо гетерогенності та порогового ліміту, за яких результат буде достовірним. Виходячи з цього, план відбору зразка повинен гарантувати з одного боку, що польовий зразок було відібрано у статистично типовий спосіб і, що особливо важливо, стан гетерогенності зразка. Його розмір повинен бути достатнім, щоб забезпечити надійну детекцію за бажаної чутливості. Репрезентативність зразка має зберігатись протягом переходу польового зразка в лабораторний чи тестовий зразок. В статті Anklam et al. [1] акцентується увага на тому, що варіабельність зразка (часто описується як гетерогенність), а також застосований план відбору зразків залежить від типу матеріалу, що буде аналізуватись.

1. Сировина часто не систематично змішується протягом збирання урожаю, його зберігання тощо, в результаті у шарах це може суттєво



порушувати достовірність висновків, що пов'язано із випадковим відбиранням зразка.

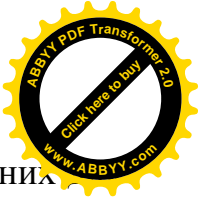
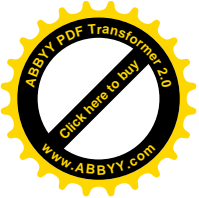
2. Компоненти піддаються переробці і, таким чином, вже демонструють обмежений ступінь вибіркової, оскільки різні партії також можуть мати різні характеристики.
3. Оброблені продукти харчування можуть містити ГМ матеріал лише як джерело одного або декількох компонентів, через це, у багатьох випадках спостерігається розшарування за розподілом варіант. Однак в межах кожного компонента обробленого продукту варіабельність буде низькою.

Чим вищий ступінь гетерогенності, тим більш критичним буде вибір відповідного плану відбирання зразків. Більше того, коли лише низькі рівні ГМО є прийнятними, дозволений розмір зразка буде збільшуватись, щоб бути репрезентативним. Для відбирання зразків продовольчих товарів наявна практика із застосуванням добре досліджених зразкових рослин для вирішення аналогічних завдань детектування [2, 8].

Згідно формули (розроблена для однокрокової процедури відбору зразків та кількісного аналітичного тестування):

$$n = \log(1 - (G/100)) / \log(1 - (P/100)),$$

де:  $n$  – розмір зразка (кількість зернин),  $G$  – можливість відхилення концентрацій у серії,  $P$  – відсоткова концентрація у серії, розмір зразка може становити 299 зернин або бобів, щоб отримати 95 % вірогідності відбраковки серій з 1 % концентрацією ГМО, тобто «ризик покупця» отримати більше 1 % ГМО вмісту становить 5 % [12]. Якщо порогова межа встановлено як 0,5 % ГМО за 95 % вірогідності відбраковки, розмір вибірки повинен збільшитись до понад 598 зерен. Однак за розміру зразка 299 зерен «ризик продавця» отримати відбраковку партії, що містить лише 0,5 % ГМО становить близько 78 %. Отже, щоб забезпечити контроль ринкових ризиків як для покупця, так і для продавця, розроблено множинні плани відбору зразків [12, 17]. Множинний план відбору зразків визначається кількістю зразків що відібрані та протестовані,



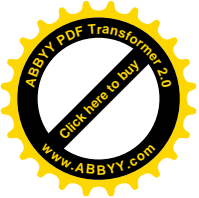
максимальною кількістю позитивних результатів, дозволених і прийнятних партій та кількістю зерен в кожному зразку. Покупець і продавець повинні дійти згоди у цих трьох значеннях і цим самим визначити для себе прийнятний маркетинговий ризик [12].

Окрім всього, інша рекомендація, застосовувана до кількісного аналітичного тестування частки ГМО зерна у партії описує різний розмір зразка, а саме Хюбнер та співавт. [9] вираховали, що для рівномірного розподілу розмір зразка, який перевіряється, повинен становити принаймні 3500 часточок при очікуваному вмісті ГМО в партії 1 %, в такому випадку достовірність становитиме 95 %, а відносна похибка відбору – менше 20 % (відповідно до коефіцієнта варіації 20 %). У випадку «гетерогенного розподілу ГМО частинок» розмір зразка зростає до 10000 часток. Різний розмір зразка тут відображає різні вимоги до якісного та кількісного тестування ГМО.

#### **Підготовка зразка – виділення та очищення аналізів.**

Зважаючи на досить значну стабільність молекули ДНК і чутливість методу детекції ДНК – полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), ДНК є найбільш підходящим аналітом для майже усіх видів зразка (сировина, компоненти, перетворювані продукти). Навіть малі аліквоти (100 мг), які є стандартними для найбільш поширеного методу виділення СТАВ були придатними для виділення ДНК із соєвих продуктів різної глибини переробки [15]. З використанням цього методу були отримані різні кількості - від 31 до 531 ng/μl ДНК, придатної для ПЛР аналізу. Вдосконалення методів виділення і розроблення методик дозволяє на сьогодні виділяти ДНК навіть з таких глибоко перероблених продуктів як рафінована соєва олія [5].

Якість та чистота зразка ДНК значною мірою впливають на ефективність ПЛР. Щодо якості ДНК - вона визначається довжиною фрагмента та ступенем його пошкодження в процесі нагрівання, низького рН та/або нуклеазами, що спричиняють гідроліз, депуринізацію та/або ензиматичну деградацію. Таким чином, якість ДНК варіює залежно від дослідного матеріалу, ступенів переробки зразка та застосованого методу виділення ДНК. Важливо зауважити,

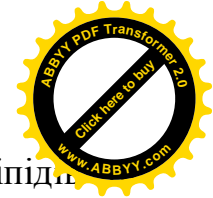
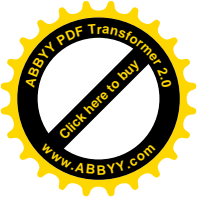


що ДНК, виділена із перероблених продуктів різними методами має до короткі цільові послідовності, наприклад 100-400 пар нуклеотидів для соєвого білка та перероблених томатних продуктів [10], або в іншому випадку 70-774 пар нуклеотидів [3]. Таким чином, потрібно здійснити вибір відповідних праймерів до отриманих коротких ампліконів.

На перебіг ПЛР можуть впливати різні забруднюючі речовини, які можуть походити з дослідного матеріалу, наприклад полісахариди, ліпіди та поліфеноли. На чистоту ДНК можуть негативно впливати різні контамінації харчових матриць [19]. Забруднюючі речовини можуть походити або з реактивів для виділення ДНК, як це було описано для цетилтриметиламонійброміду (СТАВ) або гексадецилтриметиламонійброміду, ROSE та лужного методу. Наприклад, Таq-полімераза, ключовий фермент у ПЛР, інгібується полісахаридами, ЕДТА, фенолом, SDS тощо.

Для виділення ДНК наявно багато методів і багато із них було пристосовано для детекції ГМО в рослинному матеріалі та рослинній їжі [4, 6, 7, 11, 16, 18, 19]. Загалом, виділення ДНК з рослинного матеріалу повинно відбуватись за наступним планом :

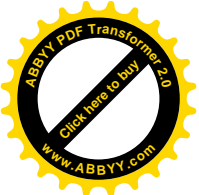
1. Руйнування клітинних стінок, що зазвичай досягається розтиранням тканин у сухому льоді або рідкому азоті.
2. Руйнування клітинних мембран досягається за допомогою детергентів (СТАВ чи SDS), які є (як і ЕДТА та забуферені солі як Трис- HCl) необхідним компонентом буферу для виділення ДНК.
3. а) інактивація ендогенних нуклеаз досягається додаванням детергентів та ЕДТА, які зв'язують  $Mg^{2+}$ , облігатний кофактор багатьох ферментів.  
б) Протеїназа К може додаватись для інактивації та деградації білків, зокрема, в протоколах, використовуючи ДНК-зв'язуючі колонки із силікою.
4. Відділення інгібуючих полісахаридів здійснюється з використанням принципу різної розчинності полісахаридів та ДНК у присутності СТАВ.



5. Відділення гідрофобних клітинних компонентів, наприклад ліпідів та поліфенолів досягається екстракцією із органічним розчинником типу хлороформу.
6. Врешті, відділення від детергента та концентрування ДНК досягається спиртово-сольовим осадженням.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Anklam E. Analytical methods for detection and determination of genetically modified organisms in agricultural crops and plant-derived food products / E. Anklam, F. Gadani, P. H. N. Pijnenburg, G. V. D. Eede // *Eur Food Res Technol.* – 2002. - № 214. – P. 3–26.
2. Berger B. Pesticide residues in products of plant origin in the European Union. Sampling strategy and results from the co-ordinated EU monitoring programmes in 1996 and 1997 / B. Berger, C. von Holst // *Environ Sci Pollut Res Int* - 2001. - 8(2): 109-12.
3. Bernardo G. Di. Comparative Evaluation of Different DNA Extraction Procedures from Food Samples / G. Di Bernardo, S. Del Gaudio, U. Galderisi, A. Cascino, M. Cipollaro // *Biotechnol. Prog.* – 2007 - № 23 –P. 297-301.
4. Branquinho M. R. Use of real-time PCR to evaluate two DNA extraction methods from food / M. R. Branquinho, R. T. B. Ferreira, P. Cardarelli-Leite // *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas* – 2012. - № 32(1) – P. 112-118.
5. Costa J. Detection of genetically modified soybean DNA in refined vegetable oils / J. Costa, I. Mafrá, J. S. Amaral, M. B. P. P. Oliveira // *Eur Food Res Technol.* – 2010. - № 230. – P. 915–923.
6. Cankar K. Critical points of DNA quantification by real-time PCR – effects of DNA extraction method and sample matrix on quantification of genetically modified organisms / K. Cankar, D. Štebih, T. Dreo, J. Žel, K. Gruden // *BMC Biotechnology.* – 2006. - №6. –P. 37.
7. Datukishvili N. Comparative evaluation of DNA extraction methods for food crops / N. Datukishvili, I. Gabriadze, T. Kutateladze, M. Karseladze, B. Vishnepolsky //



International Journal of Food Science and Technology. – 2010. № 45. – P. 1320.

8. Gilbert J. Sampling of raw materials and processed foods for the presence of GMOs / J. Gilbert // Food Control/ - 1999. - №10. - P. 363-365.

9. Hübner P. Validation of PCR Methods for Quantitation of Genetically Modified Plants in Food. / P. Hübner, H.-U. Waiblinger, P. Klaus, P. Brodmann // Journal of AOAC International/ - 2001/- № 6. - P. 1855-1864.

10. Hemmer W. Foods derived from genetically modified organisms and detection methods., Agency for Biosafety Research and Assessment of Technology Impacts of the Swiss Priority Programme Biotechnology of the Swiss National Science Foundation, Basel, Switzerland. BATS-Report 2/1997. – 1997.

11. Hupfer C. The effect of ensiling on PCR-based detection of genetically modified Bt maize / C. Hupfer, J. Mayer, H. Hotzel, K.Sachse, K.H. Engel // European Food Research and Technology. - 1999. - №5. – P. 301-304.

12. <http://www.gipsa.usda.gov/fgis/biotech/sample2.htm>

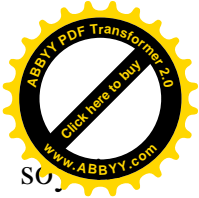
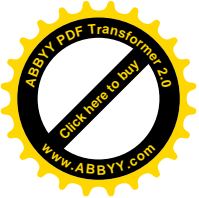
13. James C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2014 Executive Summary brief 49.

14. James C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2013, Executive Summary brief 46.

15. Mandaci M., Çakir Ö., Turgut-Kara N., Meriç S., Ari Ş. Detection of genetically modified organisms in soy products sold in Turkish market. Food Sci. Technol, Campinas, 34(4): 717-722, Oct.-Dec. 2014

16. Ovesná J. Detection of Transgenic Papaya Lines: Extraction Protocol Optimisation and Verification of DNA Quality by PCR Assay / J. Ovesná, J. Hodek / Czech J. Food Sci. -2009.- №2:.. – P.75–81.

17. Remund K. Statistical considerations in seed purity testing for transgenic traits / K. Remund, D. Dixon, D. Wright, L. Holden // Seed Science Research. – 2001. - №11. - P 101 – 119.



18. Sönmezoğlu Ö. A. Determination of genetically modified corn and soya processed food products / Ö. A. Sönmezoğlu, H. Keskin // Journal of Applied Biology & Biotechnology. – 2015. - №3. – P.32-37.
19. Vroh Bi I. Improved RAPD amplification of recalcitrant plant DNA by the use of activated charcoal during DNA extraction / Bi I. Vroh, L. Harvengt, A. Chandelier, G. Mergeai, P. Du Jardin // Plant Breeding . – 1996. - №115. – P.205–206.

**МЕТОДЫ ОТБОРА ПРОБ И ПОДГОТОВКИ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ  
ДЕТЕКЦИИ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГМО В СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ  
РАСТЕНИЯХ И ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, ПРОИЗВЕДЕННЫХ ИЗ НИХ**

**В. И. Корховой, А. И. Емец, В. Ю. Яцишин**

*Аннотация.* Стремительный рост количества генетически модифицированных растений и значительные объемы расширения площадей выращивания требуют адекватной системы мониторинга. В статье отражены общие принципы первых шагов подготовки образцов для детекции ГМ – этапы отбора проб и выделения ДНК

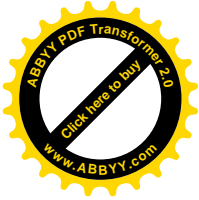
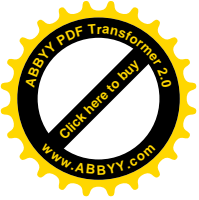
*Ключевые слова:* генетически модифицированные растения, отбор проб, выделение ДНК

**METHODS OF SAMPLING AND SAMPLE PREPARATION FOR  
DETECTION AND IDENTIFICATION OF GMO IN AGRICULTURAL  
PLANTS AND FOODS PRODUCTS**

**V. Korkhovoy, A. Yemets, V. Yatsyshyn**

*Abstract.* The rapid growth in the number of genetically modified plants, and significant amounts of expansion of cultivation areas require adequate monitoring system. The article reflects the general principles of the first steps of preparation of samples for the detection of GM - stages of sampling and DNA extraction

*Key words:* genetically modified plants, sampling, DNA extraction



UDC: 577.11+ 577.16: 582.284: 579.66: 664.66.002.68

**COMPOSITIONAL STUDY OF *SCHIZOPHYLLUM COMMUNE* FR.: FR.  
GROWN ON THE NEW SUBSTRATE BREADCRUMB**

**T. IVANOVA**, leading engineer

*Institute of Food Biotechnology and Genomics NAS of Ukraine*

**L. TITOVA**, PhD

*National Technical University of Ukraine "KPI"*

**G. P. MEGALINSKA**, PhD

*National Pedagogical Dragomanov University*

*E-mail: ivanova\_tatiana\_wat2@bigmi.net*

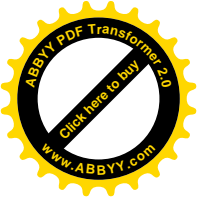
**Abstract.** *The investigation of crude protein, crude fat, carbohydrate, vitamin content as well as ash, gross energy values, amino acid and fatty acid composition of Schizophyllum commune mycelia was performed in submerged cultivation on the new substrate breadcrumb (waste of bread production). The improved content of crude protein, crude fat, essential amino acids, and vitamins in S. commune mycelia comparing to the substrate was established.*

**Key words:** *Schizophyllum commune, breadcrumb, submerged cultivation, amino acid, fatty acid, vitamin composition*

*Schizophyllum commune* Fr.: Fr. is widely distributed in nature wood-decaying medicinal mushroom belonging to phylum *Basidiomycota*. *S. commune* is also a model organism for genetic engineering in mushroom-forming fungi, and its genome is sequenced [1].

Medicinal properties of *S. commune* include antibacterial, antiparasitic, immunomodulating, antiinflammatory, antitumor, and hepatoprotective activities [2]. Schizophyllan is a  $\beta$ -glucan isolated from cultured broth of *S. commune* which have passed clinical trials and currently produced commercially by several Japanese pharmaceutical companies as anticancer agent [3].

Fruiting bodies of *S. commune* are consumed in tropical countries; consequently, there are some studies of fruiting bodies chemical composition [4, 5, 6]. In nature at least 150 genera of woody plants are substrates for *S. commune*, but it also colonizes soft-wood and grass silage [7]. Cultivation of *S. commune* mycelia in laboratories



was performed on synthetic media [8, 9] as well as on natural substrates and wastes of food production, e.g., beer wort, molasses [9], hydrolysate of rice hull [10], coconut water [11], wastes of pasta, cacao [12], and oil production [13].

Waste bread (breadcrumb) is a new substrate for *S. commune* cultivation. Breadcrumb is made from unsold and off-test bread undergone inspection for visible mold, bacterial infection, and contaminations, followed by crumbling and desiccation. Breadcrumb can be assumed as a safe, cheap, and widely available substrate for cultivation of medicinal and edible mushrooms [14].

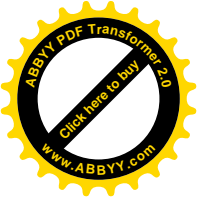
**The aim of study** was to investigate chemical composition of *S. commune* mycelia grown on breadcrumb in submerged conditions.

**Material and methods.** *S. commune* 1768 was kindly supplied by the Culture Collection of Mushrooms from the M.G. Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine (IBK) [15]. The stock culture was maintained on wort agar slants at 4 °C. The culture was inoculated in Petri dish containing glucose-peptone medium, g/l: 25 glucose, 3 peptone, 2 yeast extract, 1 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.25 MgSO<sub>4</sub> × 7 H<sub>2</sub>O, and 20 agar.

The substrate for submerged cultivation (breadcrumb) was donated by Bread Plant № 12 of the Open Joint-Stock Company “Kyivkhib”, Kyiv, Ukraine. The liquid medium with breadcrumb in concentration 60 g/l was autoclaved for 40 min, with 1 atmosphere.

Fully colonized Petri dish with glucose-peptone medium was homogenized and used for 10% (v/v) inoculation of 250 ml flasks containing 50 ml liquid medium with breadcrumb. Submerged cultivated mycelium in active phase of growth (with average diameter of pellets about 0.5 mm) grown on breadcrumb was used for 10% (v/v) inoculation of medium for elimination of the lag phase. The flasks were incubated at 28 ± 2 °C in a rotary shaker (120 rpm). After incubation for 4 days, the fungal mycelium was harvested by filtration, washed three times with water, desiccated at 60 °C, and milled.

The chemical composition of breadcrumb and mycelium of *S. commune*, including moisture, ash, total carbohydrates, crude fat, and crude protein, was



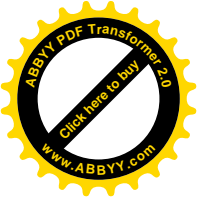
determined according to AOAC methods [16]. To obtain moisture content, samples were dried at 105 °C until constant weight. The ash content was determined by incineration at 600 °C until constant weight.

Nitrogen content was defined by Kjeldahl's method. For the calculation of crude protein, the Nitrogen content was multiplied by a factor of 5.7 for breadcrumb [17] and of 4.38 for mycelium of *S. commune* [18]. In present work we determined crude fat content by extracting a known weight of powdered samples, using a Soxhlet apparatus, with hexane as a solvent for breadcrumb and petroleum ether as solvent for mycelium of *S. commune*. The amount of total carbohydrates was calculated by difference: Total carbohydrates = 100 – (g moisture + g crude protein + g crude fat + g ash) [19]. The energy content was calculated with the following factors: protein 4.0 kcal/g; fat 8.37 kcal/g and carbohydrates 3.48 kcal/g [18].

The content of amino acids was estimated with a T-339 amino acid analyzer ("Mikrotechna", Prague, Czech Republic) [20]. Chemical score was calculated as the ratio of a gram of the limiting amino acid in a test protein to the same amount of the corresponding amino acid in a reference diet (whole-egg protein) multiplied by 100 [21].

To evaluate fatty acid composition, lipids were extracted according to described method [22], and fatty acid content was estimated using gas chromatograph/ mass spectrometer system Agilent 6890N/5973 inert (Agilent technologies, USA) on the capillary column HP-5MS (Agilent technologies, USA).

The method of vitamin B1 (thiamine) evaluation was based on oxidation of thiamine to thiochrome, extraction thiochrome into organic solvent, and measurement of fluorescence [23]. Vitamin B2 (riboflavin) content determined using riboflavin binding apoprotein from chicken eggs [24]. The method of vitamin B3 (PP) estimation was based on hydrolysis, quantitative obtaining of colored glutamic aldehyde derivative, and further colorimetric determination [25]. Vitamin B9 (folic acid) content analyzed by the change in fluorescence intensity before and after oxidation of folates previously purifying them from interfering compounds [26].



Values are mean of three independent experiments done in triplicate and expressed as mean  $\pm$  errors.

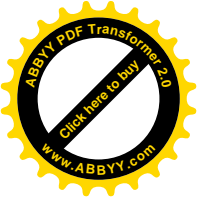
**Results and discussion.** The chemical composition of fungal mycelium depends on the substrate for cultivation. The content of ash was similar in *S. commune* mycelium and in breadcrumb (Table 1). At the same time, *S. commune* mycelium contained three times higher amount of ash (4.5 %) in cultivation on the liquid medium with waste of amaranth oil production (meal after CO<sub>2</sub> extraction), though such substrate had 1.7 times higher content of ash than breadcrumb [27]. Fruiting bodies of *S. commune* collected in Nigeria included 7.46 % of ash [4]; fruiting bodies found in India had similar content of ash – 8 % [5].

### 1. Proximate composition (g/100 g dry matter) and gross energy (kcal/g) values

Sample	Moisture	Ash	Crude protein	Crude fat	Total carbohydrates	Gross energy
Breadcrumb	9.38 $\pm$ 0.03	1.75 $\pm$ 0.04	10.94 $\pm$ 0.60	0.48 $\pm$ 0.01	77.45 $\pm$ 0.68	317.33
<i>S. commune</i> mycelium	10.24 $\pm$ 0.33	1.42 $\pm$ 0.02	18.83 $\pm$ 0.10	3.45 $\pm$ 0.10	66.06 $\pm$ 0.55	334.09

Crude fat and protein content was 7.2 and 1.7 times higher correspondingly in mycelium of fungus than in breadcrumb (Table 1). In cultivation of *S. commune* mycelia on the waste of amaranth oil production higher content of crude fat and protein was obtained (8.4 % and 45.4 % respectively), however such components content was higher in the substrate as well (1.5 % and 15.4 % accordingly) [27]. On the contrary, crude fat content was lower in fruiting bodies of *S. commune* than in mycelia grown on the breadcrumb (1.28% [4] and 2.0 % [5]). Crude protein content significantly altered in fruiting bodies of *S. commune*: from 9.63 % to 27.7 % [4–6].

Gross energy value of *S. commune* in our investigation was comparable to literature data (299–399 kcal/g) [4–6, 27] and similar to gross energy of breadcrumb (Table 1). Approximate calculation of *S. commune* energetic value shows that 100 g of mycelia cultivated on the breadcrumb satisfies 16.7 % of calorie need in average human daily diet 2000 kcal.

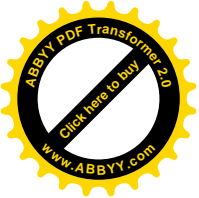


Essential amino acid content varies in mushroom protein from 34 % to + with predomination of Glutamate (12.6–24.0 %), Aspartate (9.1–12.1 %), and Arginine (3.7–13.9 %) [28]. Our results are in agreement with such pattern (Table 2).

## 2. Amino acid composition of *S. commune* and substrate breadcrumb, %

Amino acids	<i>S. commune</i>	Breadcrumb
Lysine	5.38±0.12	1.32±0.11
Threonine	5.23±0.12	2.73±0.11
Valine	6.57±0.12	4.12±0.12
Methionine	1.39±0.11	1.24±0.11
Cystine	3.37±0.11	1.49±0.11
Isoleucine	3.90±0.11	2.42±0.11
Leucine	7.24±0.12	6.06±0.12
Phenylalanine	4.16±0.12	4.23±0.12
Tyrosine	4.16±0.11	3.02±0.11
Histidine	2.18±0.11	1.54±0.11
Arginine	5.98±0.12	2.35±0.12
Aspartate	9.69±0.30	4.59±0.12
Serine	6.25±0.12	5.41±0.12
Glutamate	18.89±0.32	40.35±0.50
Proline	3.87±0.11	12.87±0.21
Glycine	4.82±0.11	3.26±0.11
Alanine	6.91±0.12	3.00±0.11
<b>Total essential amino acids</b>	41.40	26.63
<b>Chemical score</b>	98	24

The percent of essential amino acids in *S. commune* mycelium was 1.6 times higher than in the substrate breadcrumb (Table 2). According to calculations, 100 g of *S. commune* mycelium after desiccation at 60 °C contained 8.7 g of essential amino acids and chemical score 98. Compared to reference whole egg protein, mycelium of *S. commune* is limited in Lysine and Isoleucine; the percent of other essential amino acids was higher in protein of *S. commune* mycelia than in reference protein of whole eggs [21]. According to limiting amino acid Lysine in breadcrumb, the chemical



score of breadcrumb was four times lower than the chemical score of *S. commune* grown on this substrate (Table 2).

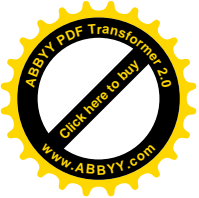
The waste of amaranth oil production had better amino acid composition than breadcrumb with 31.4 % essential amino acids and chemical score 53 according to limiting amino acid Isoleucine, though protein in mycelium of *S. commune* didn't have significantly improved amino acid composition with 33.7 % of essential amino acids and chemical score 56 according to limiting amino acid Valine [27]. The protein in fruiting bodies of *S. commune* had 34 % of essential amino acids with chemical score 28 according to limiting amino acid Methionine [5].

Fatty acid composition of lipids was similar in *S. commune* mycelia and in the substrate breadcrumb (Table 3) with predomination of unsaturated fatty acids. At the same time, in literature data [5, 27] lipids of *S. commune* contained about 10 % higher ratio of unsaturated fatty acids. Palmitic (16:0), Oleic (18:1), and Linoleic (18:2) fatty acids were the main components of *S. commune* lipids and accounted for almost the whole of the fatty acids determined in our investigation (90.5 %) and in references (92.5 % [5], 94.5 % [27]).

### 3. Fatty acid composition of *S. commune* mycelia and breadcrumb, %

Fatty acid (Carbon : double bond ratio)	<i>S. commune</i>	Breadcrumb
16:1	0.34 ± 0.02	0.27 ± 0.02
18:1	27.28 ± 0.30	31.10 ± 0.30
18:2	34.84 ± 0.35	33.79 ± 0.31
22:1	0.32 ± 0.01	-*
15:0	0.36 ± 0.02	-
16:0	21.08 ± 0.25	24.84 ± 0.18
17:0	0.31 ± 0.02	-
18:0	5.97 ± 0.07	5.86 ± 0.10
20:0	0.36 ± 0.02	0.29 ± 0.02
22:0	0.70 ± 0.04	0.67 ± 0.03
24:0	0.38 ± 0.02	0.17 ± 0.01
Total unsaturated fatty acids	62.78	65.16
Total fatty acids	91.94	96.99
<b>% Unsaturated fatty acids</b>	<b>68.28</b>	<b>67.18</b>

Note: \* – fatty acid was not detected in the sample.



The analysis has shown that the amount of vitamins in the mycelia of *S. commune* multiplied 3–23 times if compared to the substrate (Table 4). Among investigated vitamins, the highest amounts were observed for niacin in fungal mycelium and in the substrate. In fruiting bodies of *S. commune* niacin also prevailed among investigated vitamins [4], but its values were 6.4 times lower than in mycelium cultivated on breadcrumb. The level of thiamine was similar to our results in fruiting bodies of *S. commune* [4], although riboflavin amount was 4 times higher in *S. commune* mycelia grown on the breadcrumb.

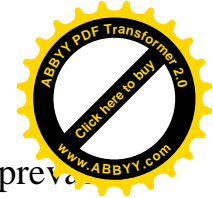
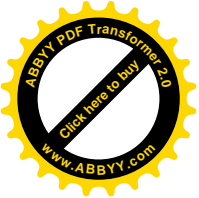
#### 4. Vitamin content, mg / 100 g

Sample	Thiamine	Riboflavin	Niacin	Folic acid
Breadcrumb	0.095 ± 0.005	0.038 ± 0.003	1.13 ± 0.07	0.0130 ± 0.0002
<i>S. commune</i>	0.290 ± 0.025	0.890 ± 0.024	8.29 ± 0.29	0.27 ± 0.02

It should be noted that addition of vitamins to nutrient medium can increase the growth of fungal mycelia. Thus, addition of thiamine and folic acid resulted in 1.8 and 2.6 times higher biomass accumulation of *S. commune* accordingly, and addition of riboflavin and niacin led to lower biomass increase (15 % and 42 % correspondingly) [29]. Despite that fact, the presence of vitamins in the nutrient medium is not essential for *S. commune* growth [30], since this fungus is able to synthesize the vitamins.

#### Conclusions

1. The protein of *S. commune* 1768 mycelium grown on the new substrate breadcrumb can be considered a protein of high value according to ratio of essential amino acids 41.4 % (8.7 g in 100 g of mycelium desiccated at 60 °C) and chemical score 98. Essential amino acids, crude fat, and crude protein content in mycelium of *S. commune* 1768 cultivated on the liquid medium with breadcrumb was 1.6, 7.2, 1.7 times higher correspondingly comparing to substrate breadcrumb.



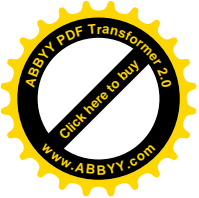
2. In lipids of *S. commune* 1768 mycelium grown on the breadcrumb prevailed unsaturated fatty acids (68.28 %).

3. Mycelium of *S. commune* 1768 grown on the breadcrumb contained vitamins: thiamine, riboflavin, folic acid, and niacin, wherein their contents in mycelium are 3.1, 7.3, 20.8, and 23.4 times accordingly higher than in the substrate.

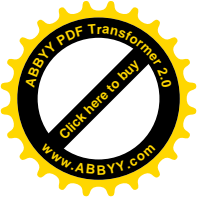
4. On the basis of aforesaid can be summarized that mycelium of *S. commune* grown on the breadcrumb is a source of biologically active substances and may serve as a basis creation of dietary substances and functional foods.

### REFERENCES

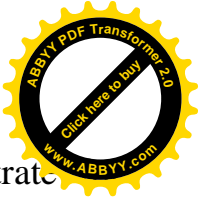
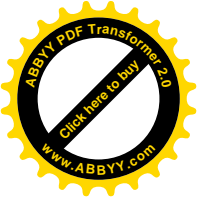
1. Ohm R. A. Genome sequence of the model mushroom *Shizophyllum commune* / R. A. Ohm, J. F. de Jong *et al.* // Nature Biotechnology. – 2010. – 28 (9). – P. 957-963.
2. Wasser S. P. Medicinal Properties of Substances Occuring in Higher Basidiomycetes Mushrooms: Current Perspectives (Review) / S. P. Wasser, A. Weis // International Journal of Medicinal Mushrooms. – 1999. – 1. – P. 31-62.
3. Smith J. E. Medicinal Mushrooms: their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatment / J. E. Smith, N. J. Rowan, R. Sullivan. – London: Cancer Research UK, 2002. 260 p.
4. Okwulehie I. C. Pharmaceutical and Nutritional Prospects of Two Wild Macro-Fungi Found in Nigeria / I. C. Okwulehie, C. P. Nwosu, Ch. J. Okoroafor // Biotechnology. – 2007. – 6 (4). – P. 567-572.
5. Longvah T. Compositional and nutritional studies on edible wild mushroom from northeast India / T. Longvah, Y. G. Deosthale // Food Chemistry. – 1998. – Vol. 63. – Iss. 3. – P. 331-334.
6. Aletor V. A. Compositional studies on edible tropical species of mushrooms / V. A. Aletor // Food Chemistry. –1995. – 54. – P. 265-268.
7. de Jong J. F. Aerial Hyphae of *Schizophyllum commune*: Their Function and Formation. PhD thesis, Univ. – Utrecht, 2006.



8. Dulay R. M. Optimization of liquid culture conditions of Philippine edible mushrooms as potential source of bioactive lipids / R. M. Dulay, R. Ray, Ch. T. Hou // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. – 2015. – Vol. 4. – Iss. 3. – P. 409-415.
9. Linovitska V. M. Growth and biosynthetic activity of *Grifola frondosa* (Dicks: Fr.) S.F. Gray and *Schizophyllum commune* Fr. (Basidiomycota) in the submerged culture / V. M. Linovitska, A. S. Bukhalo // *Ukrainian Botanical Journal*. – 2008. – 65. – P. 116-123 (Ukr.)
10. Shu Ch. H. Production of schizophyllan glucan by *Schizophyllum commune* ATCC 38548 from detoxified hydrolysate of rice hull / Ch. H. Shu, H. J. Hsu // *Journal of Taiwan Institute of Chemistry*. E. – 2008. – 42. – P. 387-393.
11. Reyes R. G. Coconut water as a novel culture medium for the biotechnological production of schizophyllan / R. G. Reyes, W. Grassel, U. Rau // *J. Nature Studies*. – 2009. – 7 (2). – P. 43-48.
12. Krupodorova T. A. Alternative substrates for medicinal and edible mushroom cultivation / T. A. Krupodorova, V. Yu Barshteyn // *Microbiology and Biotechnology*. – 2012. – 5. – P. 47-56. (Ukr)
13. Krupodorova T.A. Alternative substrates for higher mushrooms mycelia cultivation / T. A. Krupodorova, V. Yu Barshteyn // *Journal of BioScience and Biotechnology*. – 2015. – 4 (3). – P. 339-347.
14. Patent UA № 98224, A01G 1/04 (2006.01) Nutrient medium for mushroom cultivation / Ivanova T. S., Bisko N. A., Tsugankov S. P., Novak A. G. 27.04.2015.
15. Bukchalo A. S. Catalogue of Mushroom Culture Collection IBK / A. S. Bukchalo, N. Ju. Mytropolskaja, O. B. Mykchajlova. – 2011. – Kyiv: Alterpress – 100 p. (Ukr).
16. AOAC. Official methods of analysis (16th ed.). – 1995. – Arlighton, VA: Association of Official Analytical Chemists.



17. Nechaev A. P. Food Chemistry / A. P. Nechaev, S. E. Traubenberg, Kochetkova, V. V. Kolpakova, I. S. Vitol, I. B. Kobeleva. – Saint-Petersburg: GIORD, 2007. – p. 119–120. (Ru).
18. Crisan E.V., Sands A. (1978) Nutritional value. In: Chang S.T., Hayes W.A. (Eds.) The biology and cultivation of edible mushrooms. New York: Academic Press, p.137-165.
19. Liu Y. T. Chemical composition of five wild edible mushrooms collected from Southwest China and their antihyperglycemic and antioxidant activity / Y. T. Liu, J. Sun, Z. Y. Luo, Sh. Q. Rao, Y. J. Su, R. R. Xu, Y. J. Yang // Food and Chemical Toxicology. – 2012. – Vol. 50. – P. 1238-1244.
20. Krischenko V.P. Methods of the estimation of plant production quality. – 1983. – Moscow: Kolos. – 192 p. (in Russian).
21. FAO (1970) Amino Acid Contents of Food and Biological Data on Protein. FAO Nutritional studies No. 24. Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO, Rome.
22. Christie W.W. Gas Chromatography and Lipids: A Practical Guide / W. W. Christie. – Bridgwater, Somerset: The Oily Press. –1989. – 307 p.
23. Ostrovsky Yu.M. 1979. Thiamine, pp. 176-223. In Ostrovsky YuM (ed.), Experimental Vitaminology, Nauka i tekhnika, Minsk (Ru).
24. Kodentsova V. M. Isolation of riboflavin-binding apoprotein from chicken egg protein and its use for determining riboflavin in biological samples / V. M. Kodentsova, O. A. Vrzhesinskaia, V. V. Risnik, A. A. Sokolnikov, V. B. Spirichev // Appl. Biochem. Microbiol. – 1994. – 30(4-5). – P. 603-609 (Ru).
25. Stepanova E. N. 1963. On the Colorimetric Determination of Nicotinic Acid in Food Products and Biological Matter / E. N. Stepanova // Vopr. Pitan. – 1963. – 22(4). – P. 66-70 (Ru).
26. Grigoreva M. P. Fluorometric method for determining folic acid in food products / M. P. Grigoreva, E. N. Stepanova, G. A. Sapozhnikova // Vopr. Pitan. – 1969. – 28(3). – P. 65-69 (Ru).



27. Krupodorova T. A. Amaranth Flour as a New Alternative Substrate for *Schizophyllum commune* Fr.: Fr. and *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. Growth / T. A. Krupodorova, V. Yu Barshteyn // Journal of Siberian Federal University. Biology. – 2015. – 8. – P. 32-44.
28. Mushrooms as Functional Foods / ed. by P.C.K. Cheung. – New York: Wiley, 2008. – 256 p.
29. Jonathan S. G. Studies on phytohormones, vitamins and mineral element requirements of *Lentinus subnudus* (Berk) and *Schizophyllum commune* (Fr.: ex. Fr.) from Nigeria / S. G. Jonathan, I. O. Fasidi // Food Chem. – 2001. – 75. – P. 303-307.
30. Adejoye O. D. Physicochemical studies on *Schizophyllum commune* (Fries) a Nigerian edible fungus / O. D. Adejoye, B. C. Adebayo-Tayo, A. A. Ogunjobi, O. O. Afolabi // World Appl. Sci. J. – 2007. – 2. – P. 73-76.

### **ДОСЛІДЖЕННЯ СКЛАДУ *SCHIZOPHYLLUM COMMUNE* FR.: FR., ОТРИМАНОВОГО ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ НА НОВОМУ СУБСТРАТІ СУХАРНІЙ КРИХТІ**

**Т. С. Іванова, Л. О. Тітова, Г. П. Мегалінська**

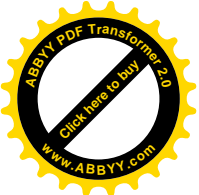
*Анотація.* Досліджений вміст білків, жирів, вуглеводів, вітамінів, а також зольність, енергетична цінність, амінокислотний та жирнокислотний профіль міцелію *Schizophyllum commune*, отриманого за глибинного культивування на новому субстраті сухарна крихта (відходи виробництва хліба). Встановлений покращений вміст білків, жирів, незамінних амінокислот та вітамінів у міцелії *S. commune* в порівнянні із субстратом.

**Ключові слова:** *Schizophyllum commune*, сухарна крихта, глибиннекультивування, амінокислотний, жирнокислотний, вітамінний склад

### **ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА *SCHIZOPHYLLUM COMMUNE* FR.: FR., ПОЛУЧЕННОГО ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА НОВОМ СУБСТРАТЕ СУХАРНОЙ КРОШКЕ**

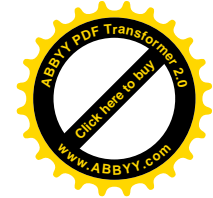
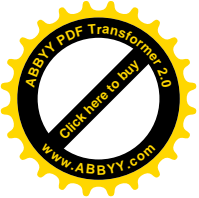
**Т. С. Иванова, Л. А. Титова, А. П. Мегалинская**

*Аннотация.* Исследовано содержание белков, жиров, углеводов, витаминов, а также зольность, энергетическая ценность, аминокислотный и



*жирнокислотный профиль мицелия *Schizophyllum commune*, полученного глубинном культивировании на новом субстрате сухарная крошка (отходы производства хлеба). Установлено улучшенное содержание белка, жиров, незаменимых аминокислот и витаминов в мицелии *S. commune* по сравнению с субстратом.*

**Ключевые слова:** *Schizophyllum commune*, сухарная крошка, глубинное культивирование, аминокислотный, жирнокислотный, витаминный состав



УДК: 577.218:577.29

**АНАЛІЗ ПРОЯВУ ДНК-КОНСТРУКЦІЙ ЗІ САЙТ-СПЕЦИФІЧНОЮ РЕКОМБІНАЗНОЮ СИСТЕМОЮ CRE/LOXP У ДЕКІЛЬКОХ ПОКОЛІННЯХ ТРАНСФОРМАНТІВ *ARABIDOPSIS THALIANA* ЗА ДОПОМОГОЮ МУЛЬТИВАРІАТИВНОГО МЕТОДУ**

**А. С. СЕКАН**, здобувач,

*ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки» НАН України,*

**О. С. МИРОНИЧЕВА**, кандидат сільськогосподарських наук,

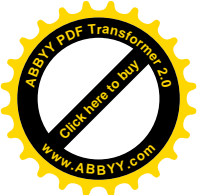
*Таврійський державний агротехнологічний університет*

*E-mail: ehirta3@gmail.com*

***Анотація.** Представлені результати мультиваріативного статистичного аналізу прояву двох векторних ДНК-конструкцій в декількох поколіннях трансформантів *Arabidopsis thaliana*. Розроблено статистичну модель класифікаційного типу, за допомогою котрої можливо достовірно розділити між собою досліджувані конструкції на дві окремих події.*

***Ключові слова.** Мультиваріантний аналіз, метод головних компонент, сайт-специфічна рекомбіназна система Cre/LoxP, генетична трансформація*

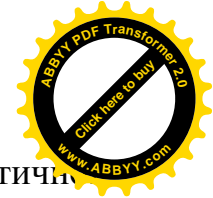
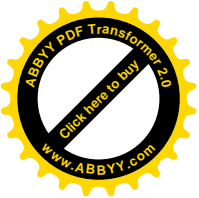
Останнім часом зростає потреба в комп'ютерному моделюванні й адаптації класичних статистичних технологій для універсалізації цих підходів для того, щоб забезпечити більш якісне вирішення відповідних завдань у біологічних дослідженнях [1]. Загалом, для розроблення нової методики в генетичній інженерії створюють різноманітні векторні конструкції з наступним тестуванням на певних рослинах. Проте інколи спостерігається варіація в ефективності використання розроблених конструкцій під час зміни рослинного об'єкту [2]. Це, в свою чергу, викликає труднощі в комерційному застосуванні розробленої методології. Окрім цього, під час отримання трансгенної рослини важливо контролювати вплив різного роду факторів на здійснення процесу трансформації. Таким чином, в кінці проведеної роботи накопичується значний масив даних, що в свою чергу ускладнює відтворення здійсненої роботи та отримання подібних результатів. Тому розроблення емпіричної моделі процесу для класифікації



даних з метою їх масштабування та прогнозування прояву синтезованого конструкту, є важливим завданням під час планування та здійснення експерименту [3]. Моделювання досліджуваного процесу з метою класифікації, або прогнозування отриманих емпіричних даних дає можливість виявити прихований фактор, який впливає на успішність проведення експерименту, а також дає можливість пояснити результати роботи на більш високому професійному рівні [4].

В рослинній біотехнології під час здійснення генетичної трансформації дослідник отримує величезну кількість результатів, що важко аналізувати. Це призводить до втрати інформації, яку можна отримати з емпіричних даних. Разом з тим, за допомогою новітніх статистичних програм, таких як SPSS (statistical package for social science), Statistica та ін. стає можливим структурувати отримані результати з їх наступним аналізом. Окрім побудови зручної статистичної моделі прояву досліджуваного об'єкту з можливістю передбачення та масштабування експерименту стає можливим також і побудова схематичної класифікаційної моделі результатів.

Так, за допомогою методу головних компонент (PCA, Principal Component Analysis) здійснюють розподілення результатів, отриманих в результаті здійснення експериментів, націлених на дослідження прояву обраного об'єкту. Як один із варіантів, вдається знайти можливий прихований взаємозв'язок між, здавалось, зовсім різними факторами, які на перший погляд не мають нічого спільного. Загалом, PCA є класичним методом пониження розмірності набору отриманих даних шляхом їх перетворення в новий набір змінних величин (головних компонент) з метою підсумовування основних ознак даних [5]. Ця технологія застосовується для аналізу величин, які не корелюють між собою, та може бути інтерпретована як напрямок, який максимізує варіацію проєкцій отриманих даних на площині. На сьогоднішній день немає жодної публікації, в якій би описувалось використання мультиваріативного статистичного аналізу

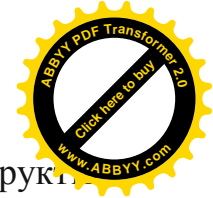
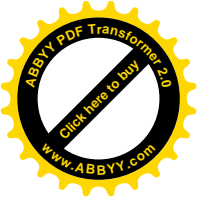


емпіричних даних, отриманих внаслідок проведення генетичної трансформації рослин.

Тому, **метою дослідження** було створення за допомогою методу головних компонент і дискримінантного аналізу статистичної моделі, яка б описала ефективність генетичної трансформації рослин з можливістю прогнозування подальшого розвитку подій для наступних поколінь трансгенів.

**Матеріали та методи дослідження.** Для побудови одноваріантної статистичної моделі використовувались данні досліджень прояву декількох ДНК-конструкцій, які містять сайт-специфічну рекомбіназну систему Cre/loxP. Досліджувані векторні конструкції були створені для трансформації арабідопсису з метою отримання трансгенів, вільних від маркерних або селективних послідовностей. Детально процес трансформації описаний у роботах [6, 7]. Як результат, було створено матрицю даних розміром 120×15 (досліджувалось всього 120 ліній трансформантів у двох поколіннях; протягом цього періоду було здійснено 15 досліджень). Отримані данні обробляли за допомогою мультиваріативного аналізу, а саме за допомогою методу головних компонент (PCA, Principal Component Analysis) та дискримінантного аналізу (PLS-DA, Projection to Latent Structures – Discriminant Analysis). Аналіз даних виконувався в середовищі SIMCA 13,0 (Soft Independent Modelling of Class Analogy, Umetrics AB, Sweden). для обчислення моделі з наступним розмежуванням спостережених груп.

**Результати та їх обговорення.** Як правило, побудова PCA-моделі базується на одночасному визначенні таких параметрів спостережених варіант, як  $R^2X$  (ступінь варіативності досліджуваних даних) і  $Q^2X$  (ступінь потенційного передбачення майбутніх результатів). Ці параметри характеризуються взаємозамінністю та є безрозмірними величинами, однак, без значення  $R^2X$  неможливо визначити  $Q^2X$  та навпаки. Під час побудови моделі важливо  $Q^2X > 0,5$  що дає право стверджувати про її прийнятність. Значення  $Q^2X > 0,9$  характеризує створену модель як відмінну. У випадку



побудови статистичної моделі для прояву двох досліджуваних конструкцій шляхом пророщування трансформантів на селективному середовищі було визначено загальне  $Q^2=0,4$  (табл. 1). Це є недостатнім для створення прийнятної класифікаційної моделі.

### 1. Класифікаційна статистична модель, побудована за допомогою методу PCA

Component	R <sup>2</sup> Cent.	R <sup>2</sup> (cum)	E.value	Q <sup>2</sup>	Limit	Q <sup>2</sup> (cum)
Cre/loxP 1	0,444	0,444	6,66	0,386	0,0703	<b>0,386</b>
Ce/loxP 2	0,136	0,58	2,04	0,0221	0,0745	<b>0,399</b>

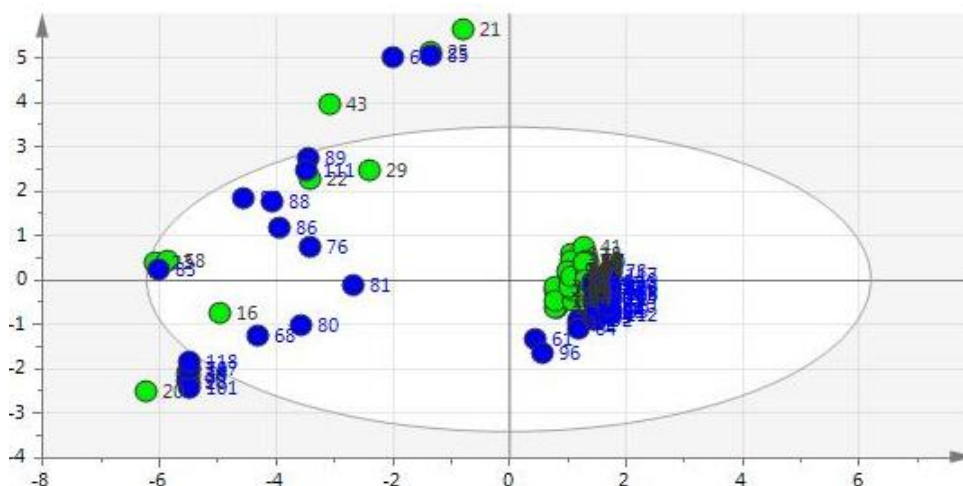
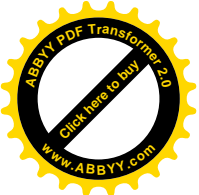


Рис. 1. Проекція результатів селективного відбору трансформантів (кількість резистентних рослин для кожної з трансформованих ліній) з ДНК-конструкціями Cre/loxP1 (точки зеленого кольору) і Cre/loxP2 (точки синього кольору) на селективному середовищі MS з антибіотиком гігроміцином (100 мг/л). Вісь ординат – R<sup>2</sup> значення; вісь абсцис – Q<sup>2</sup> значення.

За допомогою графічного зображення на рис. 1 показано досить чітке кластерне розмежування, що вказує на створення саме класифікаційної моделі. Використання методу PCA в даному випадку дає можливість

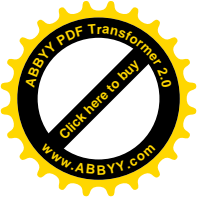




Основним принципом даної методології є виявлення значущих перемінних серед загальної маси отриманих даних. Таким чином, за допомогою PLS-DA вдається встановити, яка частина здійснених експериментів є найбільш значущою з наступним відокремленням її від основної маси латентних даних (ті, в яких спостерігається значна частина викидань) та проведення класифікаційного аналізу саме із цією частиною результатів.

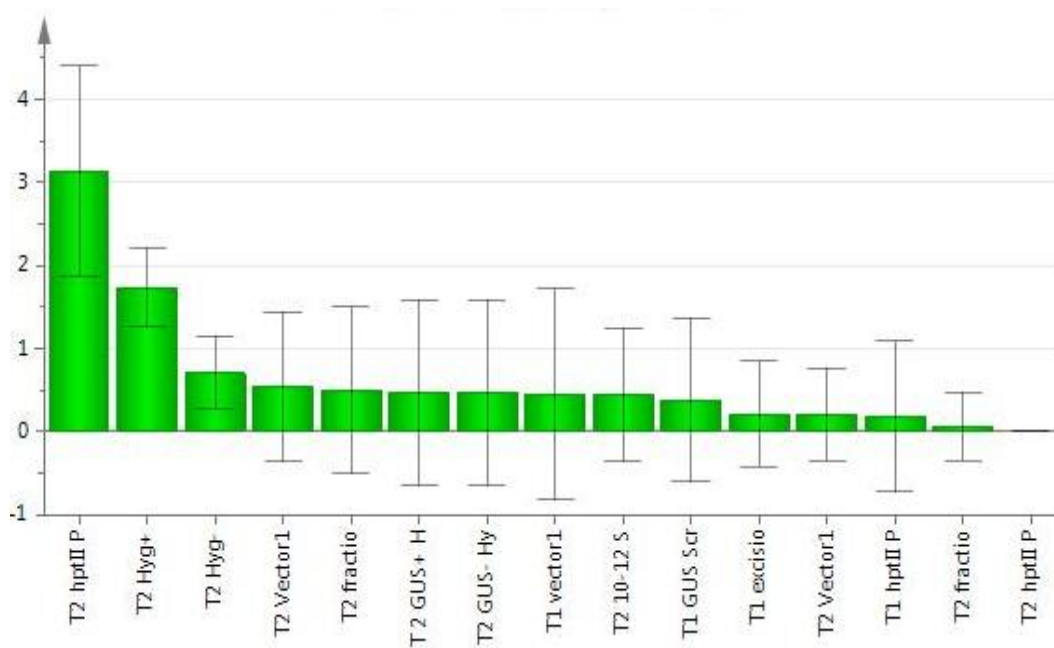
T1 GUS scri – лінії з позитивним результатом GUS-тесту в поколінні T<sub>0</sub>; T1 hptII pos – лінії з позитивним результатом ПЛР-аналізу на присутність T-ДНК в геномі покоління T<sub>0</sub>; T1 ves1 – лінії з позитивним результатом ПЛР-аналізу на присутність *loxP*-обмежених ділянок T-ДНК в геномі покоління T<sub>0</sub>; T1 exci – лінії покоління T<sub>0</sub>, де зафіксовано події видалення *loxP*-обмежених ділянок ДНК за допомогою рекомбінази Cre; T2 Hvg+ – кількість трансформантів на кожен лінійний покоління T<sub>1</sub>, резистентних до антибіотику; T2 Hvg- – кількість трансформантів на кожен лінійний покоління T<sub>1</sub>, резистентних до антибіотику; T2 GUS+ H – лінії трансформантів покоління T<sub>1</sub>, позитивно забарвлені за GUS-тестом на селективному середовищі; T2 GUS- H – лінії трансформантів покоління T<sub>1</sub>, негативно забарвлені за GUS-тестом на селективному середовищі; T2 10-12 S – зразки ліній трансформантів покоління T<sub>1</sub>, перенесених в ґрунт; T2 fractio – лінії трансформантів покоління T<sub>1</sub> з позитивним результатом GUS-тесту за умов вирощування в ґрунті; T2 hptII pos – лінії з позитивним результатом ПЛР-аналізу на присутність T-ДНК в геномі покоління T<sub>1</sub>; T2 hptII neg – лінії з позитивним результатом ПЛР-аналізу на присутність T-ДНК в геномі покоління T<sub>1</sub>; T2 ves1 – лінії з позитивним результатом ПЛР-аналізу на присутність *loxP*-обмежених ділянок T-ДНК в геномі покоління T<sub>1</sub>.

В результаті проектування даних із досліджень двох компонент (ДНК-конструктів) виявлено певне групування деяких результатів. Так, окремою групою із сильним факторним зв'язком виступають результати, отримані від досліджень на резистентність рослин до антибіотику на селективному



середовищі MS, а також результати ПЛР-аналізу на присутність Т-ДНК в геномі трансформанту. Саме за допомогою цих перемінних можливо розділити досліджувані векторні конструкти на окремі спостережені класи. Спостережені класи досліджень резистентності трансформантів та проведення ПЛР-аналізу мають пряму залежність і знаходяться в центрі схеми, чим пояснюють загальне розподілення дисперсії серед інших класів на даному графіку. Також, за допомогою аналізу PLS-DA було підтверджено, що в коефіцієнтному еквіваленті найбільш значущими результати селективного відбору трансформантів покоління  $T_1$  та ПЛР-аналізу на присутність Т-ДНК в геномі (рис. 3). Як результат, нам вдалось визначити найбільш значущу частину виконаних дослідів. Це, в свою чергу, дає нам можливість в подальшому проводити саме ці експерименти. Під час здійснення тестування подібної векторної конструкції, або ж продовження тестування даних конструктів в майбутньому буде достатньо проведення лише ПЛР-аналізу та селективного відбору трансформантів. Використання методології мультиваріативного аналізу (в даному випадку PLS-DA) дає можливість спростити дослідження обраного об'єкту, а отже мінімізувати затрати часу та зусиль для досягнення поставленої мети.

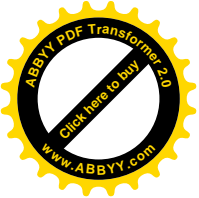
Для моделі PLS-DA (рис. 3) за допомогою SIMCA й відображення коефіцієнтного співвідношення результатів прописано рівняння регресійного характеру, як  $Y = Y_{avg} + xB + F$ , де  $Y_{avg}$  є константою (не відображено на рис. 3),  $B$  – коефіцієнт самої моделі, за яким побудовано рангування на рис. 3,  $F$  – окреме значення для кожного з аналізованих досліджень. За допомогою виведеного рівняння можливо описати взаємозв'язок між спостереженими факторами шляхом порівняння результатів між виконаними дослідженнями. За силою зв'язку всіх спостережених класів (здійснених досліджень), котрі можна описати даним рівнянням, побудовано схему рангування – VIP (Variable Importance for the Projection, рис. 3) [8, 9].



**Рис. 3. Рівень кореляції результатів досліджень з використання ДНК-конструкцій *Cre/loxP1* і *Cre/loxP2* протягом двох поколінь трансформантів.** Вісь ординат – коефіцієнт кореляції спостережених класів; вісь абсцис – проектування результатів прояву Т-ДНК *Cre/loxP1* та *Cre/loxP2* протягом двох поколінь в трансформантах арабідопсису.

Дана схема наглядно описує співвідношення у зв'язку між спостереженими класами і виявляє можливу приховану взаємозалежність між ними. На VIP-схемі демонструються довірчі інтервали для кожного із зображених значень, як правило, при 95 % рівні. Найсильніший взаємозв'язок, як і у випадку аналізу PLS-DA, продемонстрований між спостереженими класами селективного відбору трансформантів та ПЛР-аналізу. Рівень взаємозв'язку між іншими дослідженнями менший за величину 0,5 а отже є незначущим. Окрім цього, виходячи з аналізу PLS-DA та VIP-схеми, не спостерігається жодного зв'язку між успішністю отримання вільних від маркерних послідовностей трансформантів та експресією гену *gus*, хоча в конструкті *Cre/loxP2* маркерний ген *gus* розташований попереду гену рекомбінази.

Оскільки за допомогою методу PLS-DA було виявлено перемінні, які дають найбільший відсоток викидань і тим самим значно впливають на



побудову статистичної моделі, подальший аналіз здійснювали з урахуванням лише трьох перемінних (спостережені класи селективного відбору трансформантів та ПЛР-аналізу). В результаті повторної побудови статистичної моделі за допомогою цього методу, її основні параметри виглядали, як  $Q^2=0,6$  (Табл. 2) для обох ДНК-конструкцій, що дозволяє прийняти дану модель та розділити спостережені класи на два кластери (рис. 4).

## 2. Класифікаційна статистична модель, побудована за допомогою методу PLS-DA

Component	R <sup>2</sup> Cent.	R <sup>2</sup> (cum)	E.nvalue	R <sup>2</sup> Y	R <sup>2</sup> Y (cum)	Q <sup>2</sup>	Limit	Q2 (cum)
Cre/loxP1	0,431	0,431	1,29	0,593	0,593	0,583	0	<b>0,583</b>
Cre/loxP2	0,363	0,794	1,09	0,00841	0,601	0,00667	0	<b>0,586</b>

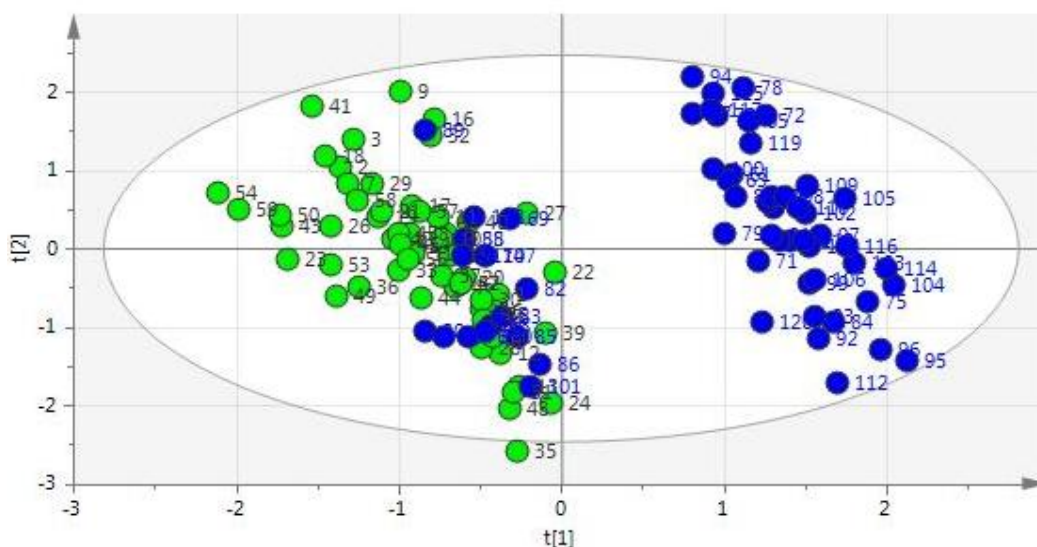
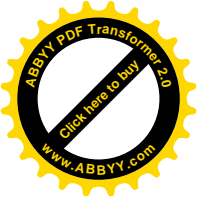


Рис. 4. Результуюча схема кластерного розподілення між двома компонентами *Cre/loxP1* та *Cre/loxP2* на селективному середовищі MS з гігроміцином (100 мг/л).

За допомогою PLS-DA побудовано нове схематичне зображення (рис. 4), що максимально відображає розподілення результатів на дві окремих групи, які й характеризують досліджувані ДНК-конструкції.



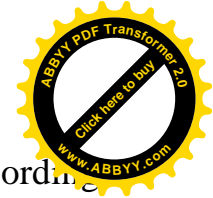
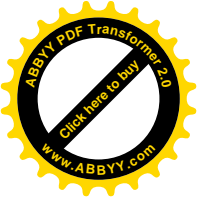
За результатами PCA-аналізу вдалось визначити, що результати досліджень піддаються класифікації. Однак статистична модель, побудована за допомогою PCA-аналізу, недостатньо гарно описує прояв двох ДНК-конструкцій та не має відповідного рівня прогнозування. Тому, з метою побудови класифікаційного типу моделі, яка описує прояв створених векторів, нами було здійснено ще один тип мультиваріативного аналізу – PLS-DA. В результаті вдалось визначити найбільш значущу частину досліджень та відокремити її від загальної кількості здійснених дослідів. Це, в свою чергу, дає нам можливість оптимізувати планування експериментів для подальшого аналізу конструкцій, а також передбачити їх прояв в майбутніх поколіннях без здійснення додаткової серії досліджень. Доведено, що побудована класифікаційна модель дає можливість передбачити розвиток подій на 60 %, що є достатнім для її використання.

### **Висновки**

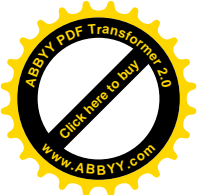
1. В результаті проведеної роботи розроблено статистичну модель класифікаційного типу, котра описує прояв двох ДНК-конструкцій в декількох поколіннях трансформантів арабідопсису.
2. За допомогою мультиваріативного аналізу встановили, що дві досліджувані векторні конструкції можливо достовірно розділити між собою на дві окремих події.
3. За допомогою створеної моделі можливо спрогнозувати майбутній прояв ДНК-конструкцій в наступних поколіннях із точністю 60 %.
4. В результаті здійснення VIP-аналізу встановили, які дослідження є найважливішими, таким чином оптимізувавши планування експериментів для подальшого аналізу ДНК-конструкцій.

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Barnes D.J. Introduction to Modeling for Biosciences / Barnes D.J., Chu D. // Springer. – 2010. – pp. 334.



2. Yang S.-O. Metabolic discrimination of *Catharanthus roseus* calli according to their relative location using H-NMR and principal component analysis/ Yang S.-O., Kim S.-H., Kim Y., Kim H.-S., Chun Y.-J., Choi H. K. // Biosci. Biotechnol. Biochem. – 2009. – Vol.73, No 9. – P. 2032 – 2036.
3. Epstein J.M. Why model? / Epstein J.M. // Jasss. – 2008. – Vol.11, No 4. – P. 12 – 17.
4. Le H. Multivariate analysis of cell culture bioprocess data – lactate consumption as process indicator / Le H., Kabbur S., Pollastrini L., Sun Z., Mills K., Johnson K., Karypis G., Hu W.-Sh. // J. Biotechnol. – 2012. – Vol.162. – P. 210 – 223.
5. Yeng K.Y. Principal component analysis for clustering gene expression data / Yeng K.Y., Ruzzo W.L. // Bioinform. – 2001. – Vol.17, No.9. – P. 763 – 774.
6. Секан А. С. Створення конструкцій з сайт-специфічною рекомбіназною системою Cre/loxP під контролем 35S промотору та їх використання для отримання трансформантів *Arabidopsis thaliana*, вільних від маркерних послідовностей / А. С.Секан, С. В. Ісаєнков // Наукові доп. НУБіП. – 2014. - №5 (47). – Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/j-pdf/Nd\\_2014\\_5\\_3.pdf](http://nbuv.gov.ua/j-pdf/Nd_2014_5_3.pdf)
7. Секан А. С. Ефективність трансформації *Arabidopsis thaliana* ДНК-конструкціями з рекомбіназною системою Cre/loxP / А. С. Секан, С. В. Ісаєнков // Biotech Acta. – 2015. – V.8., №7 – P. 48 – 55.
8. Galindo-Prieto B. Variable influence on projection (VIP) for orthogonal projections to latent structures (OPLS) / Galindo-Prieto B., Eriksson L., Trygg J. // J Chemom. – 2014. – Vol. 28. – P. 623–632.
9. Wei M. Multivariate modeling on biomass properties of cassava stems based on an experimental design / Wei M., Geladi P., Lestander T.A., Xie G., Xiong Sh. // Anal Bioanal Chem. – 2015. – V.207, No.18. – P. 5443 – 52.



# АНАЛИЗ ПРОЯВЛЕНИЯ ДНК-КОНСТРУКЦИЙ С САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕКОМБИНАЗНОЙ СИСТЕМОЙ CRE/LOXP В НЕСКОЛЬКИХ ПОКОЛЕНИЯХ ТРАНСФОРМАНТОВ ARABIDOPSIS THALIANA С ПОМОЩЬЮ МУЛЬТИВАРИАТИВНОГО МЕТОДА

А. С. Секан, Е. С. Мироничева

*Аннотация.* Представлены результаты мультивариативного статистического анализа проявления двух векторных ДНК-конструкций в нескольких поколениях трансформантов *Arabidopsis thaliana*. Разработана статистическую модель классификационного типа, с помощью которой можно достоверно разделить между собой исследуемые конструкции на две отдельные группы.

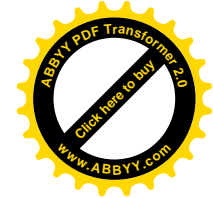
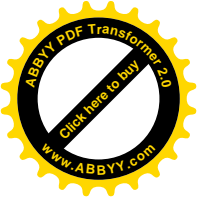
*Ключевые слова.* Мультивариативный метод, анализ главных компонент, сайт-специфическая система Cre/loxP, генетическая трансформация ANALYSIS

## OF DEVELOPED DNA-CONSTRUCTIONS WITH SITE-SPECIFIC RECOMBINASE SYSTEM CRE/LOXP DURING THE SEVERAL GENERATIONS IN ARABIDOPSIS THALIANA TRANSFORMANTS USING THE MULTIVARIATE METHOD

A. Sekan, O. Myronycheva

*Abstract.* Here are represented the results of the development of two vector DNA-constructions during several generations of the *Arabidopsis thaliana* transformants, analyzed by multivariate statistical method. The statistical classification model is developed and allows to significantly divide studied constructions on the two separated events.

*Key words:* multivariate analysis, Principal Component Analysis, site-specific recombinase system Cre/loxP, genetic transformation



УДК 632.4. 633.16.

## УРАЖЕНІСТЬ СОРТІВ ЯЧМЕНЮ ЯРОГО ТВЕРДОЮ САЖКОЮ

**О. Ф. АНТОНЕНКО**, доктор сільськогосподарських наук

**АЛ-ЯСІРІ ХУСАМ МОХАНАД**, аспірант\*

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

***Анотація.** Наводяться результати 3-річних досліджень щодо ураження сортів ячменю ярого твердою сажкою в умовах штучного зараження. Імунних серед досліджуваних сортів не виявлено. Високостійких – 4 сорти з ураженням до 1 %. Решта характеризувалися ураженням від 1 % до 10 % і вище.*

***Ключові слова:** ячмінь ярий, сорти, тверда сажка, збудник *Ustilago hordei* Kell. Et Swing, штучне зараження*

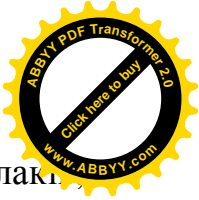
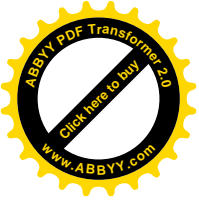
Головний шлях зростання виробництва зерна за стабільного посіву площ зернових культур – постійне підвищення урожайності.

Рішення поставлених завдань успішно можна виконати шляхом підвищення культури землеробства і ефективності засобів технології вирощування сільськогосподарських культур, в яких захист рослин від хвороб і шкідників займає одне із провідних місць. Водночас слід відмітити, що серед методів захисту рослин селекція являється головним. Створення і впровадження у виробництво стійких сортів до хвороб дозволить значно обмежити використання хімічних препаратів і цим знизить забруднення довкілля. Підраховано, що кожна гривня, яка витрачається на селекцію стійких сортів, окупиться в 35-40 і більше разів [3]. Крім того, стійкість сортів проти хвороб є важливим фактором підвищення урожайності сільськогосподарських культур і навіть взагалі може виключити необхідність у хімічній обробці посівів [2].

На важливість стійкості сортів у загальній системі заходів захисту від хвороб, звернув увагу М. І. Вавілов [2]. Він стверджував, що серед заходів захисту рослин від різних захворювань найбільш радикальним засобом є

---

\*Науковий керівник - доктор сільськогосподарських наук, професор О. Ф. Антоненко



впровадження в культуру імунних сортів. У відношенні до хлібних злаків заміна сприятливих сортів стійкими формами є найбільш доступним способом захисту від іржі, борошнистої роси, фузаріозів, плямистості, твердої і летючої сажки тощо.

Інше застосування селекційного методу захисту рослин від хвороб в багатьох випадках залежить від стану вивчення районованих і перспективних сортів культури за ознаками їх стійкості до патогенів.

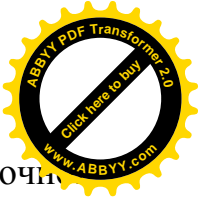
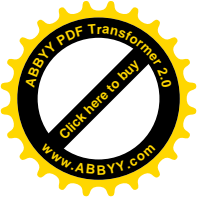
Серед небезпечних хвороб ячменю ярого останніми роками, що характеризується підвищенням температури і зниженням випадання опадів, все більше відмічається поширення і ураження цієї культури збудником твердої (кам'яної) сажки. Відомо, що для розвитку твердої сажки достатніми умовами є відносна вологість повітря 40-60 % і середньодобова температура +5-+10 °С.

Аналіз вивчення твердої сажки ячменю ярого у даній зоні вирощування за результатами літературних джерел свідчить про те, що до нині взагалі відсутні дослідження щодо даного захворювання ячменю ярого; відсутні дані щодо стійкості районованих і перспективних сортів цієї культури. Все це у значній мірі перешкоджає розробці заходів захисту від хвороби.

В зв'язку з цим, нами протягом 2012-2014 рр. проводилися дослідження з вивчення стійкості районованих і перспективних сортів ячменю ярого до збудника твердої сажки в умовах штучного зараження.

**Матеріали і методи досліджень.** Дослідження з вивчення стійкості сортів ячменю ярого до твердої сажки були проведені на “Дослідному полі” в умовах Агрономічної дослідної станції ВП НУБіП України.

Технологія вирощування ячменю ярого в роки проведення дослідження була загальноприйнятою. Перед сівбою зерно сортів ячменю ярого обробляли спорами твердої сажки з розрахунку 2 г спор на 1 кг насіння. Сівбу проводили на ділянках розміром 4 м<sup>2</sup> (2x2 м) в 4-х разовому повторенні. На протязі вегетаційного періоду за рослинами велися регулярні

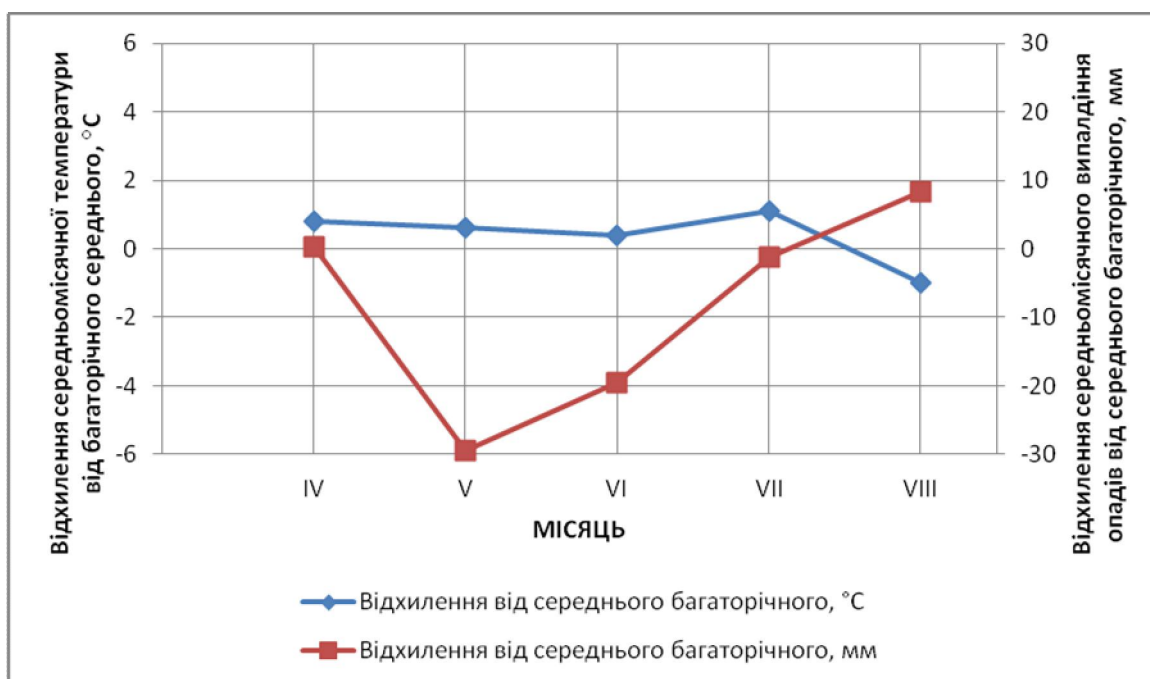


спостереження, а також відмічалися фактори погоди. В фазу молочно-стіглості проводили обліки на ураженість рослин патогеном твердої сажки.

До схеми дослідів було включено 19 сортів.

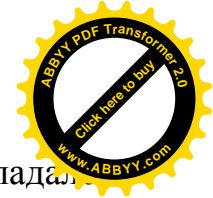
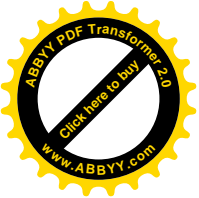
Статистичну обробку даних проводили методами дисперсійного та кореляційного аналізів, керуючись методикою Б. А. Доспехова [3] та за допомогою комп'ютерних програм.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Погодні умови на період постановки дослідів були оптимальними. Відхилення середньодобової температури від середньої багаторічної складало  $+0,5$  °С. Кількість опадів відповідало середній багаторічній. Запас квітневої вологи сприяв успішній вегетації ячменю ярого в травні і червні. Отже, на період зараження ячменю ярого твердою сажкою погодні умови негативного впливу не мали. (Рис. 1).



**Рис. 1. Відхилення середньомісячних погодних факторів від середнього багаторічного (середні дані за 2012 – 2014 рр.)**

За результатами досліджень було встановлено, що серед 19 сортів ячменю ярого імунних до збудника твердої сажки не виявлено. До високостійких сортів слід віднести Фенікс, Цезарь, Аскольд, Партнер. (Табл. 1). Заслуговує на увагу сорт Фенікс, який мав нульовий показник



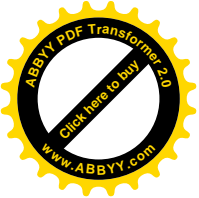
ураження в 2012 і 2013 рр. В 2014 році ураження твердою сажкою складало 0.6 %. Мінімальне ураження було відмічено також на сортах Цезар, Аскольд і Миронівська 86, яке складало відповідно від 0,3 до 0,6 %. Особливо сильне ураження було відмічено на сортах Себастьян і Сталкер, яке складало в середньому за 3 роки від 10,0 до 10,2 %. На решті сортів ураження складало від 1,5 до 5,4 % (середні дані за 2012-2014 рр.). Отже, відмінності, які склалися в ураженні рослин сортів ячменю ярого твердою сажкою, були пов'язані з погодними умовами, а також із особливостями сортів.

### **1. Ураження сортів ячменю ярого збудником твердої сажки, % за штучного зараження**

<b>Сорт</b>	<b>2012</b>	<b>2013</b>	<b>2014</b>	<b>середнє</b>
Водограй	1,2	2,0	4,0	2,4
Еней	3,5	3,0	4,9	3,8
Європрестиж	0,9	1,6	3,5	2,0
Княжич	3,3	4,2	4,5	4,0
Себастьян	9,0	9,6	10,6	10,0
Сталкер	8,6	10	11,7	10,2
Корона	0	0,2	2,2	0,8
Фенікс	0	0	0,6	0,2
Геліос	4,0	5,0	4,8	1,6
Престиж	3,2	5,6	7,4	5,4
Скарлет	1,0	1,2	2,2	1,5
Цезар	0	0,3	1,5	0,6
Адапт	6,1	8,0	11,1	8,4
Аскольд	0	0,6	1,8	0,8
Миронівський 86	0	0,4	1,7	0,7
Максим	1,0	2,2	2,2	1,8
Миронівський 92	2,8	5,1	6,5	1,8
Носівський 21	1,9	3,6	4,1	3,3
Партнер	0	1,2	1,5	0,9
Сонцедар	1,2	2,4	2,7	2,1

### **Висновки**

1. Серед досліджуваних районуваних сортів ячменю ярого імунних не виявлено.



2. До стійких сортів варто віднести Фенікс, Цезар, Асколь, Миронівський 86, в яких ураження твердою сажкою в умовах штучного зараження насіння в середньому за 3 роки не перевищувало 1,0 %.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Горленко М. В. Краткий курс иммунитета растений к инфекционным болезням. / М. В Горленко. : М.,1973 – 340 с.
2. Вавилов М. В. Проблемы иммунитета культурных растений. / М. В. Вавилов // Изб. Труды – Т.1V. – М.П.: Наука. – 1964 – 380 с.
3. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. / Б. А. Доспехов – М.: Агропромиздат.– 1985.– 347 с.
4. Пересыпкин В. Ф. Устойчивость сорта в системе защиты растений./ В. Ф Пересыпкин, И. Д. Шапиро// Защита растений. – №2. – 1976 – С. 5-6.

### ПОРАЖАЕМОСТЬ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ ЯРОВОГО ТВЕРДОЙ ГОЛОВНЕЙ

**О. Ф. Антоненко, Ал-Ясири Хусам Моханад**

*Аннотация.* Приводятся результаты 3-х годичных исследований о поражении сортов ячменя ярового твердой головней в условиях искусственного заражения. Иммуных сортов среди изучавшихся сортов не выявлено. Высокоустойчивых – 4 сорта с поражением до 1 %. Остальные характеризовались поражением от 1 % до 10 % и выше.

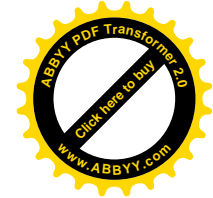
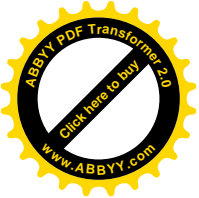
*Ключевые слова:* ячмень яровой, сорта, твердая головня, возбудитель *Ustilago hordei* Kell. Et Swing, искусственное заражение

### SUSCEPTIBILITY OF VARIETIES OF SPRING BARLEY SMUT

**O. Antonenko, Al-Yasiri Husam Mohanad**

*Abstract.* The results of 3-year-long study on the prevalence of varieties of spring barley smut under artificial infection. Immune among studied cultivars were found. Highly resistant - 4 varieties with lesions up to 1%. The rest of the lesion characterized by from 1% to 10% and higher.

*Key words:* spring barley, varieties, bunt, pathogen *Ustilago hordei* Kell. Et Swing, artificial infection



УДК 632:633.853.52

## ВИДОВИЙ СКЛАД КОМАХ-ФІТОФАГІВ НА ПОСІВАХ СОЇ

**Л. П. КАВА**, кандидат сільськогосподарських наук,

**Р. В. ЯКОВЛЄВ**, кандидат сільськогосподарських наук,

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

**С. В. СТАНКЕВИЧ**, кандидат сільськогосподарських наук,

*Харківський національний аграрний університет ім. В. В. Докучаєва*

**В. П. НОВИЦЬКИЙ**, кандидат сільськогосподарських наук,

**П. В. МАЦЬБОРУК**, кандидат сільськогосподарських наук,

*Інституту агроєкології і природокористування НААН*

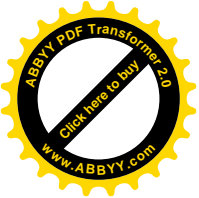
*E-mail: kavalyuda@ukr.net*

***Анотація.** Викладено результати досліджень структури ентомокомплексу посівів сої. В умовах досліджень на культурі виявлено 26 видів комах із шести рядів. Домінували представники ряду Coleoptera. Господарське значення на посівах сої мала акацієва вогнівка.*

***Ключові слова:** соя, шкідники, видовий склад, домінуючі види*

Світове і вітчизняне виробництво соєвих бобів із кожним роком зростає. Цьому сприяє підвищення попиту на них та високі економічні показники вирощування й збуту сої. Інтерес до цієї культури в українських аграріїв виник ще в кінці 1990-х на початку 2000-х років, коли на внутрішньому ринку активно продавалося соєве м'ясо. Нині соя вирощується здебільшого для забезпечення потреб галузі тваринництва. За останні роки вона стала однією з основних експортних культур після пшениці та кукурудзи. Виробляють сою у 75 країнах, найбільшими з яких є Сполучені Штати Америки, Бразилія, Аргентина та Китай. Соєві боби мають найбільшу частку у структурі світового виробництва олійних культур. За підсумками минулого сезону вона становила 61 %, тоді як ріпаку – 14%, а соняшнику – лише 8 %[4].

За даними НААН України соя в структурі посівних площ може займати до 20 %. Україна посіла перше місце в Європі за виробництвом сої, має



значні перспективи розширення її посівів. За прогнозами, до 2017 року посіви сої збільшаться до 2 млн гектарів.

Одержання високих стабільних урожаїв сої обмежується чисельними шкідниками, втрати зерна від яких можуть сягати до 90 % за одночасного зниження його якості. За даними авторів [1, 2, 3, 6, 7], в Україні у різних зонах на посівах сої зустрічається від 68 до 114 видів комах. Основну масу видів фітофагів сої становлять комахи – 96,5 %. За спеціалізацією живлення переважна більшість 85,1 % є поліфагами. Олігофаги представлені 16 видами, що становлять 14 %. До найбільш небезпечних поліфагів належать павутинний кліщ (*Tetranychus urticae* Koch.), тютюновий трипс (*Thrips tabaci* Lind.), до найбільш небезпечних олігофагів – акацієва вогнівка (*Etiella zinckenella* Tr.).

Проте не всі комахи-фітофаги ріпаку суттєво впливають на формування врожаю культури, а їх чисельність і шкідливість залежать від складного характеру взаємодії абіотичних і біотичних факторів.

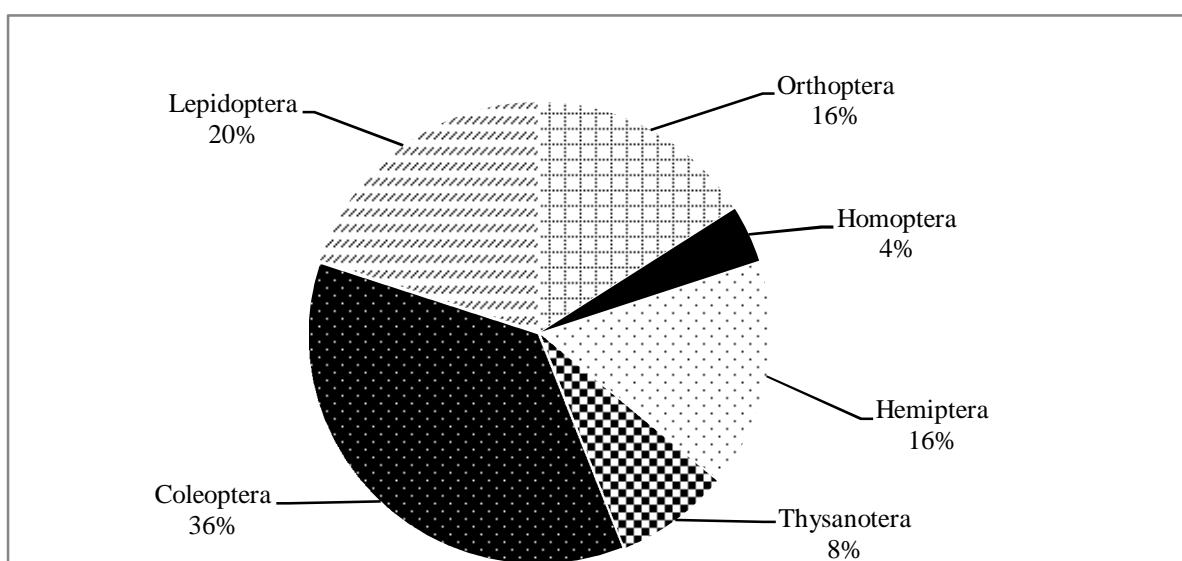
**Метою досліджень** було уточнення видового складу фітофагів сої та визначення домінуючих видів.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження проводили в умовах ВП НУБіП України «Агрономічна дослідна станція» у 2012–2014 рр. на посівах ріпаку ярого.

Видовий склад шкідників у посівах сої вивчали шляхом збору всіх об'єктів з їх подальшим визначенням. Комах збирали за допомогою пасток Бербера, Мйорике, а також використовуючи метод косіння сачком. Зібрані матеріали забезпечували етикетками. Обліки чисельності шкідників проводили згідно загально прийнятих методів[5].

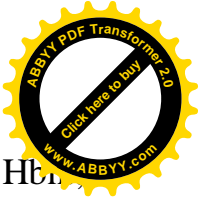
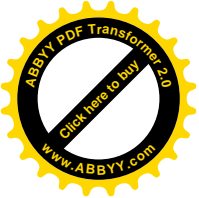
Обстеження здійснювали за загальноприйнятою методикою. Обліки проводили один раз на 5-7 днів: перший раз у другій декаді травня, коли рослини знаходились у фазі сходів. Облікові рослини розміщувались по діагоналі. На дослідній ділянці оглядали по п'ять рослин у 20 місцях.

**Результати досліджень та їх обговорення.** За результатами досліджень було встановлено, що в умовах ВП НУБіП України «Агрономічна дослідна станція» сою пошкоджують 25 видів комах із шести рядів та один вид кліщів. Аналіз їх видового складу показує, що в систематичному відношенні найбільша кількість шкідників від загального числа комах-фітофагів належить до твердокрилих – 36 %. До другої за чисельністю видів групи належать лускокрилі – 20 %. Представники напівтвердокрилих і прямокрилих займають по 16 %, вйчастокрилих – 8 %. Найменш чисельними є рівнокрилі хобітні – 4 % (Рис. 1).



**Рисунок 1. Структура шкідливого ентомокомплексу посівів сої в умовах ВП НУБіП України “Агрономічна дослідна станція” 2012 – 2014 рр.**

Із твердокрилих виявлені хрущі (травневий - *Melolonta melolonta* L. і червневий - *Amphimallon solstitialis* L.), ковалики (смугастий - *Agriotes lineatus* L., широкий - *Agriotes latus* F. і посівний - *A. sputator* L.), чорнотілки (піщаний чорниш - *Opatrum sabulosum* L.), довгоносики (сірий щетинистий бульбочковий довгоносик - *Sitona crinitus* Hrbst., смугастий бульбочковий довгоносик - *Sitona lineatus* L., буряковий сірий - *Tanymecus palliatus* F., люцерновий довгоносик - *Otiorrhynchus ligustici* L.). З лускокрилих зафіксовано п'ять видів: озима совка - *Scotia segetum* Schiff., совка-гамма -



*Autographa-gamma* L., бавовникова совка - *Helicoverpa armigera* Hb., акацієва вогнівка - *Etiella zinckenella* Tr. та кукурудзяний метелик - *Ostrinia nubilalis* Hb. По чотири види відмічено з рядів прямокрилі (медведка - *Gryllotalpa gryllotalpa* L., степовий цвіркун - *Gryllus desertus* Pull., зелений коник - *Tettigonia viridissima* L. і коник сірий - *Decticus verrucivorus* L.) і напівтвердокрилі (люцерновий клоп - *Adelphocoris lineolatus*, лучний клоп - *Lygus pratensis* L., трав'яний клоп - *Lygus rugulipennis* Popp., паломена зелена *Palomena viridissima* Poda.). Найменш чисельними за кількістю видів були такі ряди: війчастокрилі – два види (трипс тютюновий - *Thrips tabaci* Lind. та трипс гороховий - *Kakothrips robustus* Uzel.) та рівнокрилі хобітні – один вид смугаста цикадка - *Psammotettix striatus* L.

Серед фітофагів на сої одні види зустрічаються протягом всього вегетаційного періоду культури, інші – лише на певних фазах її розвитку.

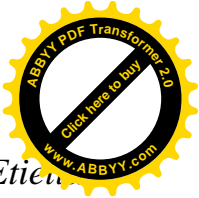
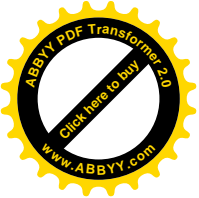
У фазу сходів – 2-3 справжніх листки на посівах відмічали бульбочкових довгоносиків: щетинистий та смугастий за допорогової чисельності (4,2 екз./кв.м). Поодинокі зустрічались гусениці озимої совки (0,2 екз./кв.м), коники сірий і зелений, імаго клопів-сліпняків, піщаного чорниша та трипси (0,9 екз./50 п.с.).

Під час фази бутонізації-цвітіння відзначали на всіх обстежуваних площах клопів-сліпняків за середньої чисельності 3,8 екз./50 п.с., цикадок – 4,6 екз./50 п.с., акацієвої вогнівки – 1,2 екз./роsl., павутинного кліща – 3,6 екз./трійчастий лист. Також відмічали поодинокі екземпляри личинок совок: гамми, бавовникової та лучного, трав'яного та люцернового клопів.

Під час формування бобів і наливу насіння відмічали заселеність посівів акацієвою вогнівкою, чисельність якої перевищувала ЕПШ і становила 2,3 гусениці на квадратний метр.

### **Висновки**

Фауна комах, які пошкоджують сою різноманітна. В 2012-2014 рр. у посівах культури виявлені олігофаги і поліфаги. Домінували представники ряду твердокрилих – 36 % від загального числа комах-фітофагів.



Господарське значення на посівах сої мала акацієва вогнівка (*Etiennella zinckenella* Tr.), яка за досить високої чисельності завдавала суттєвої шкоди.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

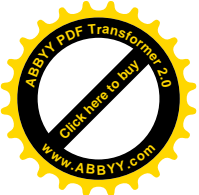
1. Грикун О. А. Вредная энтомофауна сои на Украине / О. А. Грикун, В. И. Сичкаръ // Научно – технич. бюлл. ВСГИ. – 1983. – №2 (48). – С. 50.
2. Грикун О. А. Шкідлива і корисна фауна безхребетних агробіоценозу соєвого поля в Україні / О. А. Грикун, В. М. Лобко // Міжвідомчий тематичний збірник / Захист і карантин рослин.– 2000. – №46. – С. 40.
3. Грикун О. А. Як захистити посіви сої / О. А. Грикун // Аграрні вісті, 2008. – № 6. – С. 26-34.
4. Маслак О. Стабільний ринок сої / О. Маслак // Агробізнес сьогодні. – 2015. – № 21(316) – С. 20-24.
5. Облік шкідників і хвороб сільськогосподарських культур / В. П. Омелюта, І. В. Григорович, В. С. Чабан; за ред. В. П. Омелюти. – К.: Урожай, 1986. – 296 с.
6. Секун М. П., Особливості формування структури шкідливої ентомофауни агроценозу сої у Північному Степу України / М. П. Секун, В. В. Березовська-Бригас // Наукові доповіді НУБіП 2013-1(37) [http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2013\\_1/13smp.pdf](http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2013_1/13smp.pdf)
7. Чабан В. С. Захист сої від шкідників і хвороб у північному Степу України / В. С. Чабан, Н. М. Волошина // Захист і карантин рослин. – 2000. - Вип. 46. - С.116 – 123.

## ВИДОВОЙ СОСТАВ НАСЕКОМЫХ-ФИТОФАГОВ СОИ

**Л. П. Кава, Р. В. Яковлев, С. В. Станкевич, П. В. Мациборук,  
В. П. Новицкий**

*Аннотация.* Изложены результаты исследований структуры энтомокомплекса сои. В условиях исследований на культуре отмечено 26 видов из шести рядов. Доминировали представители ряда Coleoptera. Хозяйственное значение на посевах сои имела акациевая огневка.

**Ключевые слова:** соя, вредители, видовой состав, доминирующие виды

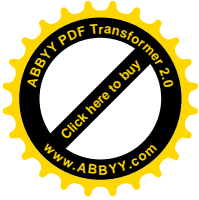
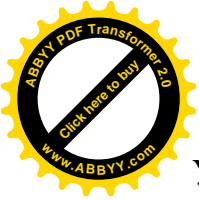


## SPECIFIC COMPOSITION OF HERBIVOROUS PESTS ON SOYBEAN

**L. Kava, R. Yakovlev, S. Stankevich, P. Maziboruk, V. Novytskyi**

***Abstract.** The results of soybean insects' structure complex are expounded. During the investigation on a culture were marked 26 kinds from six rows. The representatives of Coleoptera row prevailed. The economic value to soybean crops had limabean pod borers.*

***Key words:** soyabean, pests, specific composition, dominant kinds*



УДК 632.76:633.853.458

**ЗАЛЕЖНІСТЬ УРОЖАЙНОСТІ РІПАКА ЯРОГО ВІД  
ПОШКОДЖЕНОСТІ СХОДІВ ЖУКАМИ  
ХРЕСТОЦВІТИХ БЛІШОК**

**С. В. СТАНКЕВИЧ**, кандидат сільськогосподарських наук,

*Харківський національний аграрний університет ім В. В. Докучаєва*

**Л. П. КАВА**, кандидат сільськогосподарських наук,

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

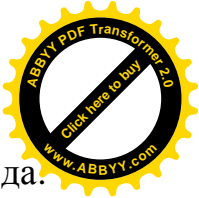
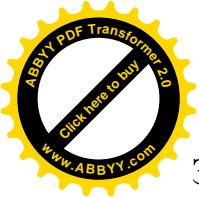
*E-mail: kavalyuda@ukr.net*

***Анотація.** В результаті досліджені проведених на посівах ріпака ярого у Східному Лісостепу України встановлено, що пошкодження сходів культури жуками хрестоцвітих блішок негативно впливає як на загальну врожайність зерна, так і на масу 1000 насінин, тобто погіршує як кількісні, так і якісні показники врожаю. Як на фоні з добривами (N<sub>30</sub>P<sub>30</sub>K<sub>30</sub>), так і на фоні без внесення добрив врожайність ріпака ярого значно залежить від балу пошкодження сходів листогризучими шкідниками.*

***Ключові слова:** ріпак ярий, хрестоцвіті блішки, врожайність, маса 1000 насінин, пошкодженість сходів*

Хрестоцвіті блішки у господарствах Східного Лісостепу України з'являються рано навесні (I–II декади квітня). У всіх видів без винятку шкодять жуки, але спочатку вони живляться переважно різними капустяними бур'янами. За літературними даними [1, 4, 5], з дикорослих капустяних рослин жуки віддають перевагу настурції, сухоребернику, гикавці сірій, кучерявцю Софії, кардарії крупковидній, крамбе, кінському часнику, жовтусі, суріпиці, дикій редьці, матіолам, ярутці та ін. Хвиляста і чорна блішки живляться листям грициків польових, синя — іберійки [2]. В Східному Лісостепу України головними рослинами-резерваторами хрестоцвітих блішок є гірчиця польова, сухореберник, льозеліїв та суріпиця звичайна [4].

З появою сходів ріпака ярого більшість жуків переселяються на них і під час масового розмноження за 2–3 доби повністю знищують сходи. Жуки зішкрібають епідерміс із листочків та виїдають верхівкову бруньку.



Збільшенню шкідливості хрестоцвітих блішок сприяє спекотна і суха погода. Це пояснюється, з одного боку, посиленням активності і ненажерливості жуків для відновлення водного балансу власного організму, а з іншого — тим, що в посушливу погоду рослини є більш ослабленими та чутливими до пошкодження комахами. Жуки завдають шкоду від фази сходів до збирання врожаю [1, 5].

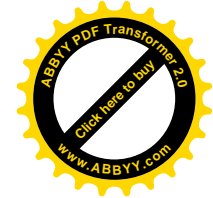
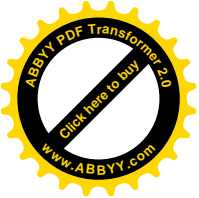
**Мета дослідження** – з'ясувати залежність урожайності ріпака ярого від пошкодженості сходів жуками хрестоцвітих блішок.

**Матеріали і методи досліджень.** З метою захисту сходів ріпаку ярого від хрестоцвітих блішок на полях ДП «ДГ Елітне» Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААНУ закладено дослід щодо впливу різних протруйників на кількість та якість врожаю ріпака ярого на фоні з добривами ( $N_{30}P_{30}K_{30}$ ) та без добрив. Насіння ріпака ярого сорту Отаман за день перед сівбою протруювали препаратами інсектофунгіцидної дії, згідно з Переліком пестицидів та агрохімікатів, дозволених для використання в Україні [3]. Досліди проводили в 2010–2012 рр. за загальноприйнятою методикою [6].

Варіанти дослідів в 2010 році: 1. Роялфло, 48 % в.с.к. (5,0 л/т) + Карате Зеон, 5 % мк.с. (0,15 л/га у фазі сходів); 2. Максим XL 035 FS, 35 % т.к.с. (5,0 л/т) + Карате Зеон, 5 % мк.с. (0,15 л/га у фазі сходів); 3. Роялфло, 48 % в.с.к. + Табу, 50 % к.с. (5,0+6,0 л/т) + Карате Зеон, 5 % мк.с. (0,15 л/га у фазі сходів); 4. Максим XL 035 FS, 35 % т.к.с. + Круїзер, 35 % т.к.с.(5,0 + 4,0 л/т) + Карате Зеон, 5 % мк.с. (0,15 л/га у фазі сходів).

Варіанти дослідів у 2011–2012 рр.: 1. Контроль, вода ( $H_2O$ ) (10,0 л/т) + Карате Зеон, 5 % мк.с. (0,15 л/га у фазі сходів); 2. Роялфло, 48 % в.с.к. (5,0 л/т) + Карате Зеон, 5 % мк.с. (0,15 л/га у фазі сходів); 3. Максим XL 035 FS, 35 % т.к.с. (5,0 л/т) + Карате Зеон, 5 % мк.с. (0,15 л/га у фазі сходів); 4. Роялфло, 48 % в.с.к. + Табу, 50 % к.с. (5,0 + 6,0 л/т) + Карате Зеон, 5 % мк.с. (0,15 л/га у фазі сходів); 5. Максим XL 035 FS, 35 % т.к.с. + Круїзер, 35 % т.к.с. (5,0 + 4,0 л/т) + Карате Зеон, 5 % мк.с. (0,15 л/га у фазі сходів).

Ступінь пошкодження сходів ріпака ярого хрестоцвітими блішками визначали за п'ятибальною шкалою:



0 балів — пошкодження відсутнє;

1 бал — пошкоджено до 25 %;

2 бали — пошкоджено 26–50 %;

3 бали — пошкоджено 51–75 %;

4 бали — пошкоджено більше 75 % листкової поверхні рослини [6].

Середній бал пошкодження сходів ріпаку ярого визначали за формулою 1:

$$B = \sum(n \times v) / \sum n \quad (1),$$

де B — середній бал пошкодження;

$\sum(n \times v)$  — сума пошкодження рослин відповідного балу пошкодження;

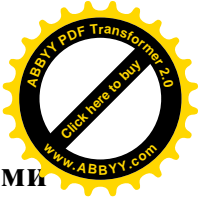
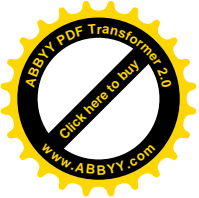
n — загальна кількість рослин в пробі.

Після збирання пробні снопи були обмолочені на машині МЗ-1 і очищені на машині СМ-015 та проведений аналіз врожаю в лабораторії рослинництва і сортовивчення Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААНУ, а отримані дані щодо впливу різних протруйників на ріст і розвиток рослин та захисні властивості препаратів були проаналізовані на предмет достовірності і визначено технічну, господарську та економічну ефективність.

Аналізуючи отримані дані, які в узагальненому вигляді наведено в табл. 1 бачимо, що у 2010–2012 рр. на фоні без добрив середній бал пошкоженості сходів жуками хрестоцвітих блішок становив 2,28. Середня врожайність зерна становила 0,184 т/га, а маса 1000 насінин становила 2,78 г.

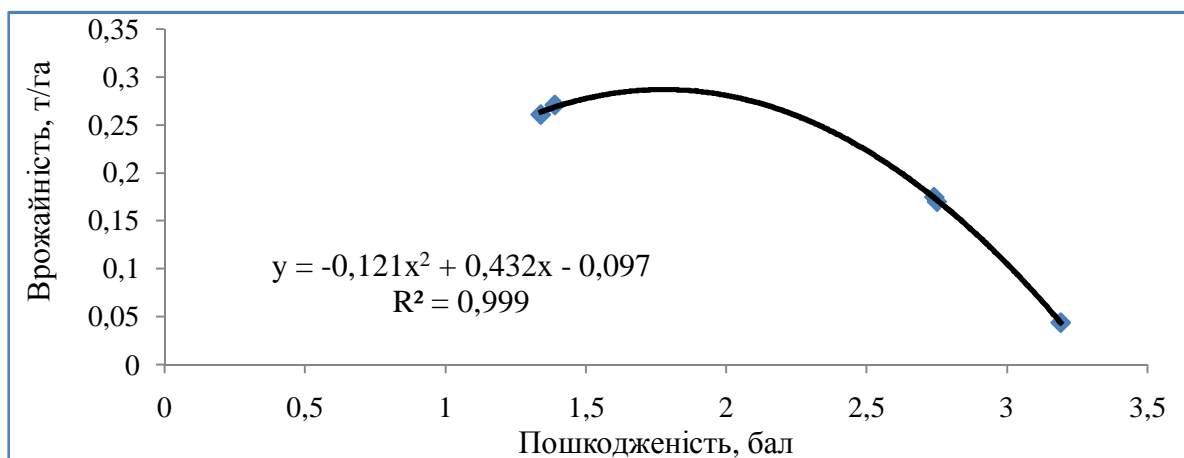
На фоні з добривами (N<sub>30</sub>P<sub>30</sub>K<sub>30</sub>) середній бал пошкоженості сходів жуками хрестоцвітих блішок становив 2,26. Середня врожайність зерна становила 0,226 т/га, а маса 1000 насінин становила 3,02 г (див. таблицю).

За допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel було побудовано графіки залежності врожайності насіння ріпаку ярого та маси 1000 насінин на фоні з добривами (N<sub>30</sub>P<sub>30</sub>K<sub>30</sub>) і без добрив котрі представлено на рис. 1–4.

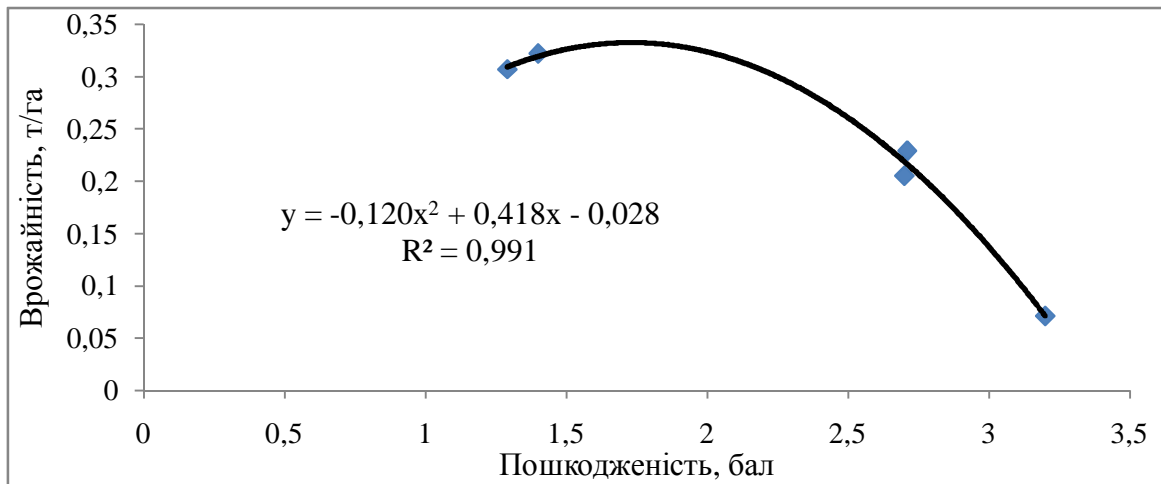
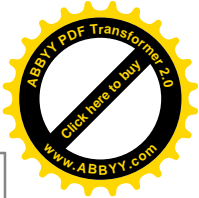
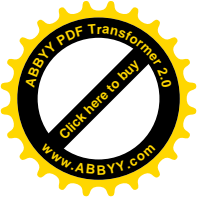


**Вплив протруйників на пошкодженість сходів листогризучими шкідниками, врожайність та масу 1000 насінин ріпака ярого на фоні без добрив та з добривами (N<sub>30</sub>P<sub>30</sub>K<sub>30</sub>) на полі ДП «ДГ Елітне» Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААНУ (2010–2012 рр.)**

Роки	Варіанти дослідів	Середній бал пошкодженості	Врожайність, т/га	Маса 1000 насінин, г
<b>Фон без добрив</b>				
Середнє за 2010–2012 рр.	Контроль, вода (H <sub>2</sub> O) (10,0 л/т)	3,19	0,044	2,45
	Роялфло, 48 % в.с.к. (5,0 л/т)	2,75	0,170	2,70
	Максим XL 035 FS, 35 % т.к.с. (5,0 л/т)	2,74	0,175	2,89
	Роялфло, 48 % в.с.к.+Табу, 50 % к.с. (5,0+6,0 л/т)	1,34	0,261	2,97
	Максим XL 035 FS, 35 % т.к.с.+ Круїзер, 35 % т.к.с. (5,0+4,0 л/т)	1,39	0,271	2,89
<b>СЕРЕДНЄ</b>		<b>2,28</b>	<b>0,184</b>	<b>2,78</b>
<b>Фон без добрив (N<sub>30</sub>P<sub>30</sub>K<sub>30</sub>)</b>				
Середнє за 2010–2012 рр.	Контроль, вода (H <sub>2</sub> O) (10,0 л/т)	3,20	0,071	2,79
	Роялфло, 48 % в.с.к. (5,0 л/т)	2,70	0,205	2,97
	Максим XL 035 FS, 35 % т.к.с. (5,0 л/т)	2,71	0,229	2,97
	Роялфло, 48 % в.с.к.+Табу, 50 % к.с. (5,0+6,0 л/т)	1,29	0,307	3,20
	Максим XL 035 FS, 35 % т.к.с.+ Круїзер, 35 % т.к.с. (5,0+4,0 л/т)	1,40	0,322	3,18
<b>СЕРЕДНЄ</b>		<b>2,26</b>	<b>0,226</b>	<b>3,02</b>

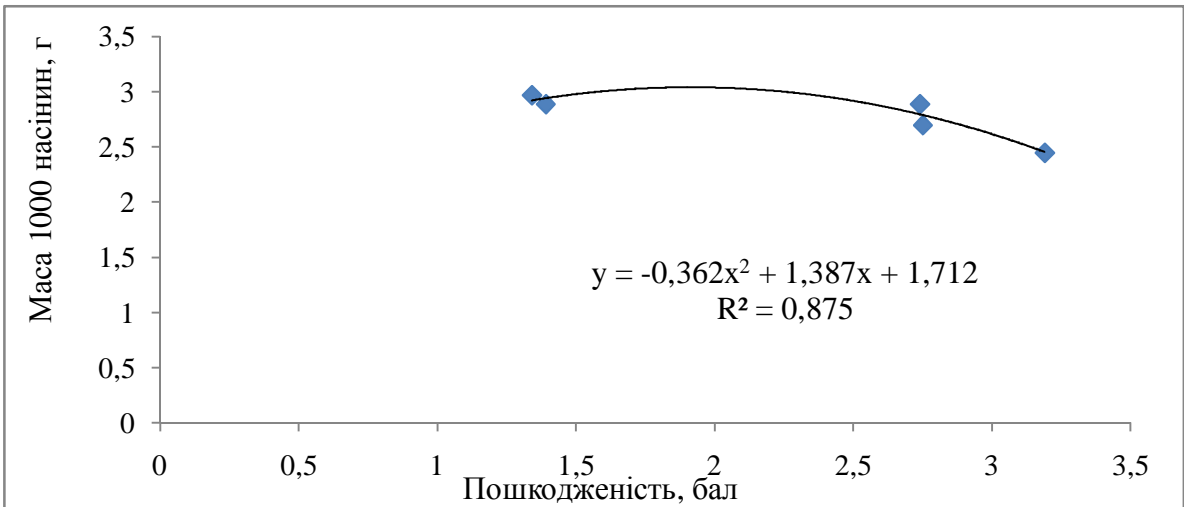


**Рис. 1. Залежність врожайності ріпаку ярого від рівня пошкодження хрестоцвітими блішками у фазі сходів (фон без добрив). ДП «ДГ Елітне» Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААНУ (2010–2012 рр.)**

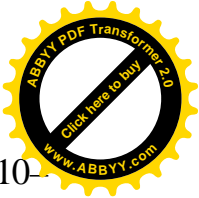
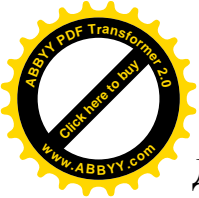


**Рис. 2. Залежність врожайності ріпаку ярого від рівня пошкодження хрестоцвітими блішками у фазі сходів (фон N<sub>30</sub>P<sub>30</sub>K<sub>30</sub>). ДП «ДГ Елітне» Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААНУ (2010–2012 рр.)**

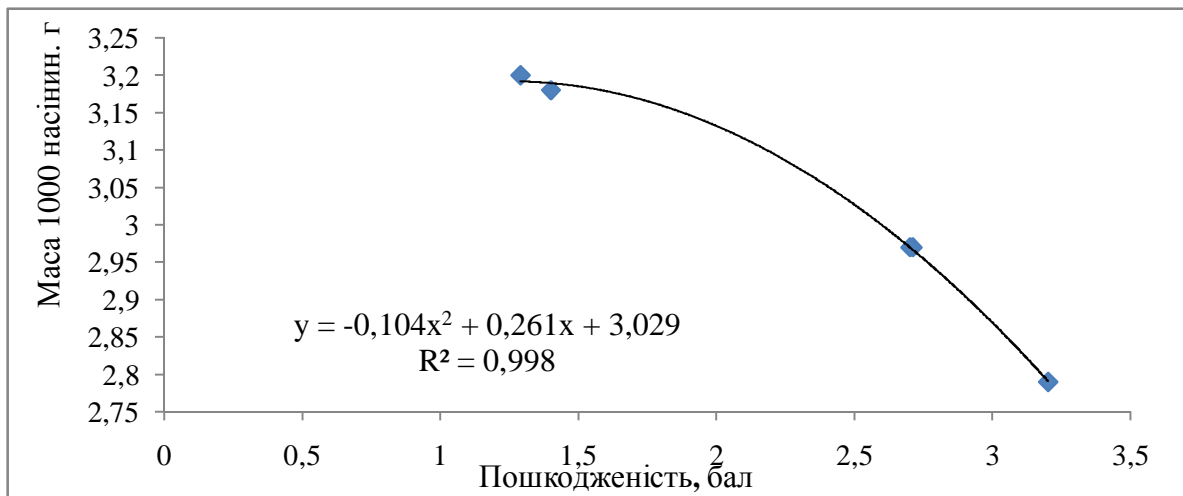
Аналізуючи дані рис. 1 та 2 можна зробити висновок, що врожайність ріпака ярого як на фоні з добривами (N<sub>30</sub>P<sub>30</sub>K<sub>30</sub>), так і на фоні без внесення добрив значно залежить від балу пошкодження сходів листогризучими шкідниками. Дещо вищою вона є на фоні без внесення добрив R<sup>2</sup> = 0,9995 проти R<sup>2</sup> = 0,9911 на фоні з добривами. З даних графіків видно, що критичною точкою, після якої йде стрімке зниження врожаю є пошкодження рослин від двох балів і вище.



**Рис. 3. Залежність маси 1000 насінин ріпаку ярого від рівня пошкодження хрестоцвітими блішками у фазі сходів (фон без добрив).**



ДП «ДГ Елітне» Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААНУ (2010–2012 рр.)

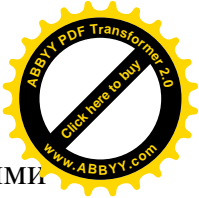
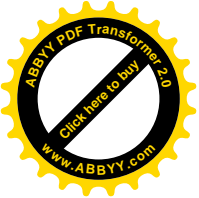


**Рис. 4. Залежність маси 1000 насінин ріпаку ярого від рівня пошкодження хрестоцвітими блішками у фазі сходів (фон  $N_{30}P_{30}K_{30}$ ). ДП «ДГ Елітне» Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААНУ (2010–2012 рр.)**

Аналізуючи дані рис. 3 та 4 можна зробити висновок, що пошкодження сходів ріпака ярого листогризучими шкідниками як на фоні з добривами ( $N_{30}P_{30}K_{30}$ ), так і на фоні без внесення добрив значно впливає на масу 1000 насінин. Дещо меншою вона є на фоні без внесення добрив  $R^2 = 0,875$  проти  $R^2 = 0,9986$  на фоні з добривами. З даних графіків видно, що критичною точкою, після якої йде стрімке зниження маси 1000 насінин на фоні з добривами, є пошкодження рослин від 1,5 балів і вище, а на фоні без внесення добрив маса 1000 насінин знижується починаючи з пошкодження від двох балів і вище.

### **Висновки.**

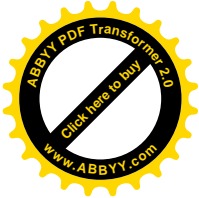
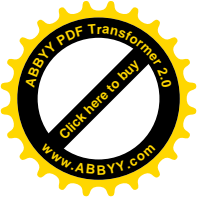
1. Встановлено, що врожайність ріпака ярого як на фоні з добривами ( $N_{30}P_{30}K_{30}$ ), так і на фоні без внесення добрив значно залежить від балу пошкодження сходів листогризучими шкідниками. Дещо вищою вона є на фоні без внесення добрив  $R^2 = 0,9995$  проти  $R^2 = 0,9911$  на фоні з добривами. Критичною точкою, після якої йде стрімке зниження врожаю є пошкодження рослин від двох балів і вище.



2. Виявлено, що пошкодження сходів ріпака ярого листогризучими шкідниками як на фоні з добривами ( $N_{30}P_{30}K_{30}$ ), так і на фоні без внесення добрив значно впливає на масу 1000 насінин. Дещо меншою вона є на фоні без внесення добрив  $R^2 = 0,875$  проти  $R^2 = 0,9986$  на фоні з добривами. Критичною точкою, після якої йде стрімке зниження маси 1000 насінин на фоні з добривами, є пошкодження рослин від 1,5 балів і вище, а на фоні без внесення добрив маса 1000 насінин знижується починаючи з пошкодження від двох балів і вище.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Євтушенко М. Д. Хрестоцвіті блішки, ріпаковий квіткоїд на ріпаку ярому й гірчиці у Східному Лісостепу України: монографія / М. Д. Євтушенко, С. В. Станкевич, В. В. Вільна / Харк. нац. аграр. ун-т ім. В. В. Докучаєва. – Х.: Майдан, 2014. –170 с.
2. Касьянов А. М. Хрестоцвіті блішки. Біологічні особливості в умовах центрального Лісостепу України / А. М. Касьянов // Карантин і захист рослин. — 2011. — № 6. — С. 11–13.
3. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні на 2014 рік — К.: Юнівест Медіа, 2014. —831 с.
4. Сахаров Н. Л. Вредители горчицы и борьба с ними / Н. Л. Сахаров — Саратов: Саратовское краевое гос. изд-во, 1934. — 120 с.
5. Станкевич С. В. Растения-резерваторы вредителей масличных крестоцветных культур / С. В. Станкевич // Бюлетень научных работ БелСХА — Вып. 32. — Белгород, 2012. — С. 22–32.
6. Методики випробування і застосування пестицидів. / С. О. Трибель, Д. Д. Сігарьова, М. П. Секун та ін. — К.: Світ, 2001. — 448 с.



# ЗАВИСИМОСТЬ УРОЖАЙНОСТИ РАПСА ЯРОВОГО ОТ ПОВРЕЖДЕНИЯ ВСХОДОВ РАСТЕНИЙ ЖУКАМИ КРЕТОЦВЕТНЫХ БЛОШЕК

С. В. Станкевич, Л. П. Кава

*Аннотация.* В результате исследований, проведенных на посевах рапса ярового в Восточной Лесостепи Украины, установлено, что повреждение всходов культуры жуками крестоцветных блошек негативно влияет как на общую урожайность зерна, так и на массу 1000 семян, то есть ухудшает как количественные, так и качественные показатели урожая. Как на фоне с удобрениями (N30P30K30) так и на фоне без внесения удобрений урожайность рапса ярового значительно зависит от бала повреждения всходов листогрызущих вредителями.

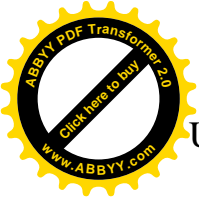
**Ключевые слова:** рапс яровой, крестоцветные блошки, урожайность, масса 1000 семян, поврежденность всходов

## INFLUENCE FLEA BEETLE'S INJURIOUS ON PRODUCTIVITY OF SPRING RAPE PLANTS

S. Stankevich, L. Kava

*Annotation.* Because of research conducted in spring rape crops in the eastern steppes of Ukraine established that damage crops stairs cruciferous flea beetles negative impact on the overall grain yield and the weight of 1000 seeds, that degrades both quantitative and qualitative indicators harvest. As against the backdrop of fertilizers (N30P30K30) and in the background without fertilization of spring oilseed rape yield significantly depends on the damage score ladder leaf-eating pests

**Key words:** spring rape, cruciferous flea beetles, yield, weight of 1000 seeds, damaged seedlings



UDC 631.815.2/816.35/51.01:633.11



# **ECONOMIC EFFICIENCY OF FERTILIZERS' APPLICATION FOR SPRING WHEAT UNDER DIFFERENT SOIL TILLAGE TECHNOLOGIES OF GREYZEM HAPLIC SOIL**

**A. V. BYKIN**, Doctor of agricultural sciences,

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine*

**N. P. BORDYUZHA**, Candidate of agricultural sciences,

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine*

**Y. A. BORYSENKO**, postgraduate<sup>1</sup>

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine*

**O. O. BADIYAKA**, junior researcher

*Ukrainian Institute of Plant Varieties Examination*

*E-mail: yura.nybip@gmail.com*

**Abstract.** *The effect of fertilizers' application for different soil tillage technologies of greyzem haplic soil on economic efficiency of spring wheat has been determined. The ammonium nitrate (AN) and urea-ammonium nitrate solution (UAN) were applied under ploughing and mini-till, as well as under no-till and slit-formation. The minimal process costs were invariant with no-till and UAN application (4902,03 UAH/ha). Maximal revenue (3017,84 UAH/ha) and maximal profitability (58,1 %) were got in UAN application for slit-formation of the greyzem haplic soil*

**Key-words:** *spring wheat, soil tillage, fertilizers, economic efficiency*

Today, market conditions require producers to reduce production costs while ensuring maximum profit. Among the agronomic practices of spring wheat raising, fertilization and tillage usage are among the most expensive sections. Therefore, minimization of tillage, which limits the physical impact of machinery on the soil [1] and over time optimizes physical, agrochemical and other soil properties [3, 5] in this aspect is the most practical.

Implementation of resource-saving cultivation can reduce the cost of fuel-oil materials and payment of labor even up to 60% [2, 4]. Meanwhile, the rejection of plowing significantly increases the amount of tall weed on the fields that may result

---

<sup>1</sup> Research advisor – doctor of agricultural sciences, professor Balaev A. D.



in yield reduction and increased costs for using herbicides. Furthermore, minimization of tillage raises questions about the quality of fertilization used for spring wheat depending on the choice of aggregate [1]. This is a prerequisite for economic relevance of studies of the effectiveness of fertilizers for spring wheat by different methods of cultivation.

**Purpose of research** is to establish the economic efficiency of using fertilizers in spring wheat under different tillage methods in left-bank forest-steppe of Ukraine.

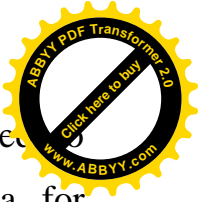
**Research materials and techniques.** Research was carried out within a long-term study at the Dushechkin O.I. chair of agro-chemistry and quality of plant products of NULES of Ukraine in the fields of LLC “Biotech Ltd” of Boryspil region of Kyiv area in conditions of left-bank forest-steppe of Ukraine in 2012–2014.

Soil of the research area is greyzem haplic soil rough-dust light loam soil. Arable soil was characterized by a low supply of easy hydrolysable nitrogen, medium movable compounds of phosphorus and exchange potassium.

Field research with spring wheat was laid in four times repetition of randomized application options. The size of the cultivated area was 416 m<sup>2</sup>, of which accounted – 400 m<sup>2</sup>. Experiments included following fertilizers: ammonium nitrate (N – 34,5 %), ammophos (N:P – 12:42%), potassium chloride (K<sub>2</sub>O – 60%) and carbomide-ammonium mixture (32%).

Zymoyarka Spring wheat was a cultigen. Accounting of yield was performed by sample area technique. Economic efficiency was calculated at 2012-2014 prices.

**Research results.** Our studies showed that the introduction of minimum tillage of greyzem haplic soil, the yield of spring wheat grew by 0,23 t/ha for incorporation of ammonium nitrate into the substance N<sub>100</sub>P<sub>80</sub>K<sub>80</sub> and by 0,45 t/ha for making urea-ammonia mixture compared with the corresponding ploughing tillage for fertilizing soil (Table 1). This also stipulated the growth of yield cost by 421,42 UAH/ha and 824,85 UAH/ha respectively. While using direct seeding of spring wheat, yield of the grain increased by 0,10 t/ha for the use of Naa and decreased by 0,26 t/ha while using carbomide-ammonium mixture compared with the corresponding variants with minimum tillage, which led to the higher yield cost by 183,30 UAH/ha and a decrease by 494,91UAH/ha respectively. Slotting of greyzem haplic soil created an

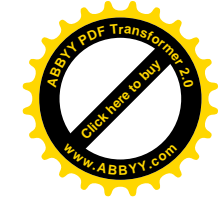
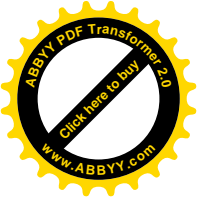


environment of growth and development of spring wheat plants, which led to a maximum yield, 4650 t/ha while using ammonium nitrate and 4,48 t/ha for incorporation of carbomide-ammonium mixture. Yield cost comprised 8,248.50 UAH/ha and 8211,84 UAH/ha respectively.

Minimum tillage provided lower expenses for soil cultivation, which resulted in lower production costs by 710,18 UAH/ha for using ammonium nitrate, and by 482,64 UAH/ha for making urea-ammonium mixture. The introduction of direct sowing significantly reduced the cost of tillage, fuel and oil materials, but increased expenditure on herbicides and depreciation of precision seed drill that stipulated the reduction of production costs by only 242,00 UAH/ha with the use of Naa, and by 239,17 UAH/ha for the introduction of carbomide-ammonium mixture compared with corresponding options in minimum tillage of greyzem haplic soil. Soil slotting stipulated expenses in soil tillage, fuel and oil materials compared to minimum tillage and direct sowing, which contributed to the increase in production costs by 5714.46 UAH/ha by incorporation of ammonium nitrate, and by 5194,00 UAH/ha with the use of carbomide-ammonium mixture, which is 325,35 UAH/ha less while applying Naa, and by 429,84 UAH/ha lower for the use of carbomide-ammonium mixture compared with corresponding options of ploughing tillage.

Production costs for all methods of greyzem haplic soil tillage were higher when using ammonium nitrate, which is associated with lower cost of 1 kg of active ingredient of nitrogen in carbomide-ammonium mixture.

Yield value and production costs for spring wheat have stipulated the minimum income for ploughing tillage of greyzem haplic soil. It comprised 577,32-1616,51 UAH/ha. With minimum tillage, the profit increased by 1,8-3,0 times compared to



**1. Economic efficiency of using different methods of soil tillage and fertilizers for Zymoyarka cultigen spring wheat, mean value for 2012–2014.**

Experiment option	Crop capacity, t/ha	Crop value, UAH/ha	Production costs, UAH/ha	Profit, UAH/ha	Level of profitability, %	Cost recovery, UAH/UAH
plough tillage of soil (25-27 cm)						
N <sub>100</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub> (Naa)	3,61	6617,13	6039,81	577,32	9,56	0,10
N <sub>100</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub> (N UAN)	3,95	7240,35	5623,84	1616,51	28,7	0,29
minimal tillage of soil (12-14 cm)						
N <sub>100</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub> (Naa)	3,84	7038,72	5329,63	1709,09	32,1	0,32
N <sub>100</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub> (N UAN)	4,40	8065,20	5141,20	2924,00	56,9	0,57
without tillage of soil (direct sowing)						
N <sub>100</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub> (Naa)	3,94	7222,02	5087,63	2134,39	42,0	0,42
N <sub>100</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub> (N UAN)	4,14	7570,29	4902,03	2668,26	54,4	0,54
slotting (38-40 cm)						
N <sub>100</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub> (Naa)	4,50	8248,50	5714,46	2534,04	44,3	0,44
N <sub>100</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub> (N UAN)	4,48	8211,84	5194,00	3017,84	58,1	0,58



plowing (1709,09–2924,00 UAH/ha). Direct sowing of crop stipulated the p. growth by 1,7–3,7 times compared to plowing. The maximum level of profit was obtained by slotting of soil. It increased by 1,2 times compared to direct sowing of spring wheat, by 1,9–4,4 times - compared to plowing, and 1,5 times - compared to minimum tillage. When using carbomide-ammonium mixture, profit increased by all methods of cultivation as compared with the use of ammonium nitrate and comprised 1616,51-3017,84 UAH/ha.

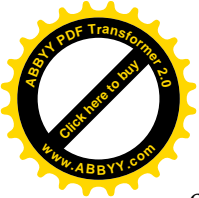
Plough tillage stipulated the minimum level of profitability and comprised 9,56–28,7%. Return expenses amounted to 0,10–0,29 UAH for 1 UAH of expenses. For minimum tillage, this figure increased to 32,1–56,9 %. Direct sowing of crop stipulated profitability at 42,0–54,4% and return expenses – 0,42–0,54 UAH for 1 UAH of expenses. Maximum level of performance achieved by slotting of soil and comprised 44,3-58,1 % and 0,44–0,58 UAH for 1 UAH of expenses respectively. When using carbomide-ammonium mixture, profitability was higher compared to incorporation of ammonium nitrate and comprised 28,7–58,1 %.

### **Conclusion**

Introduction of resource-saving methods of cultivation greyzem haplic soil created conditions that determined the increase in profitability of spring wheat. In addition, the introduction of carbomide-ammonium mixture also stipulated the rise of this index if compared to the use of ammonium nitrate. Namely, incorporating carbomide-ammonium mixture into the substance  $N_{100}P_{80}K_{80}$  for spring wheat by slotting (38-40 cm) of greyzem haplic soil stipulated maximum profit of 3017,84 UAH/ha and profitability by 58.1%.

### **LIST OF REFERENCES**

1. Бикін А. В. Управління родючістю ґрунтів та продуктивністю сільськогосподарських культур за ресурсозберігаючих технологій: методичні рекомендації / А. В. Бикін, А. Д. Балаєв, О. Ф. Антоненко та ін. – К.: НУБіП України, 2014. – 114 с.
2. Гассен Д. Прямой посев дорога в будущее / Д. Гассен, Ф. Гассен. – Днепропетровск: Корпорация «Агросоюз», 2004. – 206 с.



3. Пьер К. Земледелие методом no-till для устойчивого развития сельского хозяйства / К. Пьер, Г. Файерс, Д. Ландерс та ін. – Вашингтон. – 2002. – 73 с.
4. Сайко В. Ф. Системи обробітку ґрунту в Україні / В. Ф. Сайко, А. М. Малієнко // ННЦ «Інститут землеробства УААН». – К.: ВД «ЕКМО». – 2007. – 44 с.
5. Baggs E. M. A short-term investigation of trace gas emissions following tillage and no-tillage of agroforestry residues in western Kenya / E. M. Baggs, J. Chebii, J. K. Ndufa // Soil&Tillage Research. – 2006. – Vol. 90. – P. 69–76.

### **ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ДОБРИВ ПІД ПШЕНИЦЮ ЯРУ ЗА РІЗНИХ СПОСОБІВ ОБРОБІТКУ ТЕМНО-СІРОГО ОПІДЗОЛЕНОГО ҐРУНТУ**

***А. В. Бикін, Н. П. Бордюжа, Ю. А. Борисенко, О.А. Бадяка***

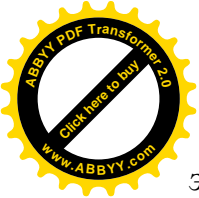
*Анотація.* Вивчено вплив застосування добрив за різних способів обробітку ґрунту на економічну ефективність вирощування пшениці ярої. Вносили аміачну селітру та КАС за полицевого та мінімального обробітку, прямого посіву, цілювання. Мінімальні виробничі витрати було отримано за прямої сівби пшениці ярої за внесення КАС (4902,03 грн./га). Максимальний прибуток (3017,84 грн./га) та рівень рентабельності (58,1 %) було отримано за внесення КАС за цілювання темно-сірого опідзоленого ґрунту

**Ключові слова:** пшениця яра, обробіток ґрунту, добрива, економічна ефективність

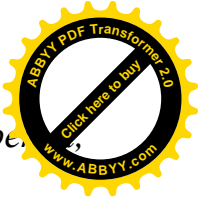
### **ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ УДОБРЕНИЙ ПОД ПШЕНИЦЮ ЯРУЮ ПРИ РАЗНЫХ СПОСОБАХ ОБРАБОТКИ ТЕМНО-СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ**

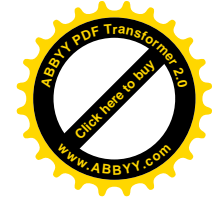
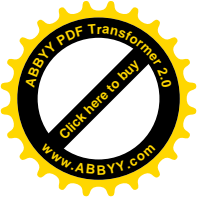
***А. В. Быкин, Н. П. Бордюжа, Ю. А. Борисенко, О. О. Бадяка***

*Аннотация.* Изучено влияние применения удобрений при различных способах обработки почвы на экономическую эффективность выращивания пшеницы ярой. Вносили аммиачную селитру и КАС при вспашке, минимальной обработке почвы, прямом посеве, щелевании. Минимальные производственные затраты были получены при прямом посеве пшеницы ярой при внесении КАС (4902,03 грн./га). Максимальная прибыль (3017,84 грн./га) и уровень рентабельности (58,1 %) были получены при внесении КАС при щелевании темно-серой оподзолённой почвы



*Ключевые слова: пшеница ярая, обработка почвы, удобрение,  
экономическая эффективность*





UDC 631.84:631.5:633.34

**IMPACT OF NITROGEN FERTILIZERS AND FOLIAR PLANT  
NUTRITION ON SOYBEAN GROWTH AND DEVELOPMENT UNDER  
DIFFERENT SOIL CULTIVATION METHODS**

**A. BYKIN**, doctor of agricultural sciences, professor,  
corresponding-member NAAS

**O. KOZACHOK**, postgraduate student \*

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine*

**N. SCHERBYNINA**, senior research fellow

*Ukrainian Institute of Plant Varieties Expertize*

***Abstract.** Presented experiments results of influence of tillage minimization on growth and development of soybeans. It was founded that norm of  $N_{60}P_{60}K_{60}$  with co-application of foliar nutrition of micro fertilizers “Rostoc bobovyi” influences on plant growth stronger whatever soil tillage method is applied. Because of higher soil density in variants with minimal tillage and direct seeding it was recorded plants lag in growth and development, compared to tillage.*

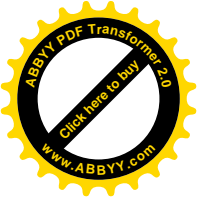
***Key words:** soybeans, direct seeding, minimal tillage, traditional tillage, Nitrogen fertilizer, foliar nutrition.*

**Introduction.** It is known that formation of up ground plant part is result of different physiological processes. Growth and development of plants could be reached only in conditions when number of heat, light and nutrition elements will be optimal. Regulation of nutrition regime is one of the main methods to increase yield and agriculture efficiency. It is proved that efficiency of microelements that were contributed on leaves is higher compared to soil application.

Soybean plants are characterized with bunk accommodation of soy beans on stem. Therefore, height of lower level of soy beans on plant stem is important, it

---

\*Scientific adviser - doctor of agricultural sciences, professor A. Bykin



influences loss of soybeans when yield harvest is conducted. This is determined by sowing method, plant stand density, conditions of mineral nutrition and soil tillage.

Edwards A.C. results show that soil tillage minimization or its non-use increases humid accumulation, increases differentiation of soil layers for nutrition elements and changes activity of microbiota, compared to traditional tillage. This influences on number and availability of nutrients. Research of soil tillage minimization and fertilization on soybean plant growth gives possibility to open reserves that facilitate formation of its productivity.

**Aim of the study.** Define optimal biometrical soybean characteristics under tillage minimization and mineral fertilizers nutrition.

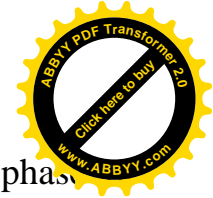
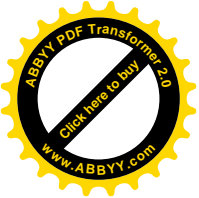
**Methods of research:** Experiments were conducted in 2013-2014 on the experiment field of department of agrochemistry and quality of crop production named after O. Dushechkin of NULES of Ukraine (Kyiv region, Boryspil district). Area of sowing experiment plot was 100 m<sup>2</sup>, accounting area was 54 m<sup>2</sup>, triple recurrence.

Soil of experiment plot was Dark Gray Podzolic rough dusty easy loam on loess soil. It was characterized by light acid reaction, low level of mineral Nitrogen, high level of mobile phosphorus and potassium, middle level of exchangeable calcium and magnesium.

Research optimum biometric indicators soybean was conducted under application of different dozes of nitrogen fertilizer on the background of P<sub>60</sub>K<sub>60</sub> and direct sowing and traditional soil tillage methods. Fertilizers dozes increased from N<sub>20</sub>P<sub>60</sub>K<sub>60</sub> to N<sub>80</sub>P<sub>60</sub>K<sub>60</sub> with fold increase of N<sub>20</sub> in the variants.

Tillage variant included: precursor stubble peeling (10–12 cm), autumn plowing (25–27 cm), preplant cultivation (10–12 cm). Minimal tillage included precursor stubble peeling (10–12 cm), preplant cultivation (10–12 cm). Direct seeding included only fertilizers mixing on the depth of 3–4 cm with Vaderstad Carrier 400.

Sowing of seed of Merlin variety was performed with SuperWalter W1770 seeder.

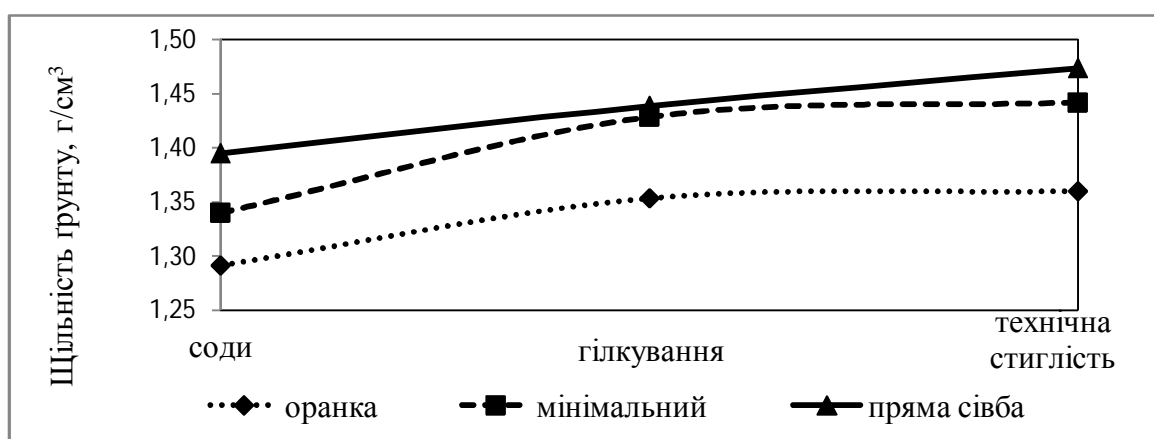


Foliar nutrition with microfertilizer “Rostok bobovi” was done in phase branches growth with 3 liters/ha. Next mineral fertilizers were applied:  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ , KCl.

Soybean sampling, laboratory analysis and biometrical dimensions were conducted according to current methods. Soil density was defined according to Kachynskyi method.

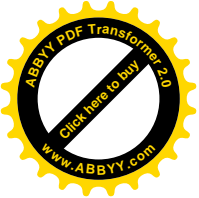
### Research results and its analysis.

It was defined that soil density in variants with minimal tillage and direct seeding compared to traditional technology was higher (Graph 1). Traditional tillage includes stubble peeling, ploughing and pre-seeding tillage. In variant with application of minimal tillage soil density level was lower, compared to direct seeding because discs application for 10-12 cm depth. In variants with application of traditional ploughing in emergence phase soil density (0-30 cm layer) was lower for 3,74% under minimal tillage and for 8% under direct seeding. Gradually up to phase of technical maturity, soil density was  $1,36 \text{ g/cm}^3$ . Minimization of soil tillage made physical parameters worse. Growth of soil density in 0-30 layer detained soybean plant growth and influenced its productivity.



**Fig. 1. Soil density dependence (0-30 cm layer) on tillage method and soybean plant growth phase, average for 2013-2014**

Biometrical plant parameters are integral expression of processes of plant metabolism. Using soybean plant height information, we can make conclusions about

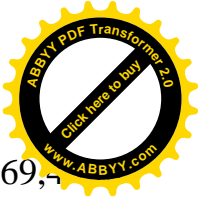
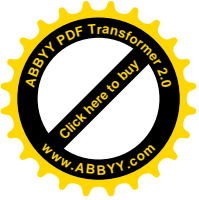


changes in conditions of mineral nutrition. As a rule, high grown plants leaves are bigger and it use sun energy more intensively, creates better microclimate near soil surface.

Mechanical tillage facilitates good plants emergence and quick plant growth in primary phases of development. Traditional tillage method has advantages in preparation of soil surface to seeding. It was set that under minimization of soil ploughing, soybean plants were lower in phase of technical maturity than under traditional ploughing application (Table 1).

### 1. Fertilizers influence on soybean biometrical parameters in phase of technical maturity under allocation of different tilling methods, 2013 – 2014

Tilling method	Experiment variant	Without foliar nutrition		With foliar nutrition	
		Plant height, cm	Height of first husk, cm	Plant height, cm	Height of first husk, cm
Ploughing (control)	P <sub>60</sub> K <sub>60</sub> (control)	66,6	6,76	70,3	7,08
	N <sub>20</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	69,1	8,25	72,3	8,53
	N <sub>40</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	69,7	8,66	72,8	9,20
	N <sub>60</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	71,5	9,64	78,0	9,97
	N <sub>80</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	70,4	9,65	75,6	9,85
Average		69,4	8,59	73,8	8,92
Minimal	P <sub>60</sub> K <sub>60</sub> (control)	46,5	6,00	52,7	6,46
	N <sub>20</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	48,2	6,52	55,1	6,84
	N <sub>40</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	52,4	7,69	57,8	8,08
	N <sub>60</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	55,7	8,69	61,2	9,18
	N <sub>80</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	52,6	8,23	59,7	8,49
Average		51,1	7,42	57,3	7,81
Direct seeding (without tillage)	P <sub>60</sub> K <sub>60</sub> (control)	35,6	5,45	42,0	6,82
	N <sub>20</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	41,4	6,81	44,4	7,60
	N <sub>40</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	43,9	7,09	47,0	8,42
	N <sub>60</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	45,6	8,54	48,7	9,20
	N <sub>80</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	44,9	7,45	45,4	8,49
Average		42,3	7,07	45,5	8,10



In variants with application of traditional ploughing, plant height was 69,7 cm that for 18,3 cm higher than minimal tillage and for 27,1 cm higher than under direct seeding. This influences on height of first husk. With ploughing it was 8,59 cm that for 1.17 and 1.52 cm higher than under minimal tillage and direct seeding.

Nitrogen fertilizers with application of Phosphorus-Potassium fertilizers influenced on growth and plant development in all ploughing variants. It was defined correlative dependency on plant height and first husk height ( $r^2 = 0,64$ ).

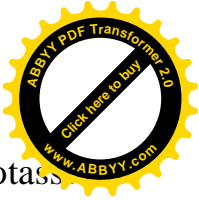
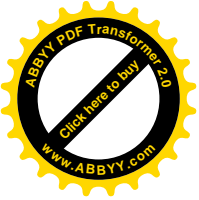
It should be noted that highest soybean plant biometrical parameters were with  $N_{60}P_{60}K_{60}$ . Under traditional tillage height was 71,5 cm that was for 15,8 cm higher than under minimal tillage and for 25,9 cm higher for direct seeding. This tendency was formed also for height of first husk. In  $N_{80}P_{60}K_{60}$  variant it was lower compared to  $N_{60}P_{60}K_{60}$ . We think that this amount of Nitrogen fertilizer had negative impact on growth and soybean plant development.

It was defined that foliar nutrition with micro fertilizer “Rostok bobovi” of 3 liters/ha positively influenced on growing processes. Without difference of tillage methods, height of plants was higher than in variants with application of only mineral fertilizers. Under application of traditional ploughing it was higher for 5,96%, under minimal for 10,8%, under direct seeding – for 7,03%. We think that microelements and Molybdenum especially that is present in this fertilizer, facilitates Nitrogen nutrition and can facilitate growth of plant vegetative parts.

It was defined that traditional tillage facilitated better soybean development because of less dense 0-30 cm soil layer in experiments. In variant of  $N_{60}P_{60}K_{60}$  and foliar nutrition application it was obtained the highest yield capacity of 4,71 t/ha, under minimal tillage – 4,35 t/ha, under direct seeding – 3,88 t/ha that was for 1,49, 1,09, 0,87 t/ha higher than in control variant ( $P_{60}K_{60}$ ).

### **Conclusions**

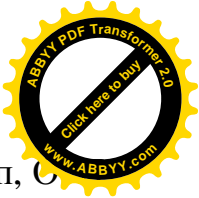
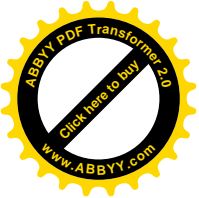
Under minimization of soil tillage, plants lag behind in growth compared to ploughing because of higher soil density in 0-30 cm layer. This influenced on plants height and height of first husk. With ploughing application plants were higher, under direct seeding – lower. Under minimization of tillage, yield was lower compared to



traditional tillage. Application of nitrogen fertilizers with Phosphorus-Potassium fertilizers and foliar nutrition in 3 liters/ha of “Rostoc bobovi” facilitated growth of plant height and height of first husk.

## REFERENCES

1. Афанасьева Л. М. О целесообразности использования минерального азота при возделывании бобовых культур / Л. М. Афанасьева, Л. М. Доросинский; А. П. Кожемяков // Сельскохозяйственная биология – 1983. – № 4. – С. 6–8.
2. Басибеков Б. С., Кадук А. С. Влияние удобрений на урожай сои / Б. С. Басибеков, А. С. Кадук // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана. – 1980. – № 2. – С. 37–38.
3. Ресурсозберігаючі технології механічного обробітку ґрунту в сучасному землеробстві України / [І. Д. Примак, В. О. Єщенко, Ю. П. Манько та ін.] – К.: “КВІЦ”, 2007–272 с., іл.
4. Канівець В. І. Життя ґрунту / В. І. Канівець. – К.: Аграрна наука. – 2001. – 132 с.
5. Особливості позакореневого підживлення сільськогосподарських культур мікроелементами . – 2012. – № 6 (229). – Режим доступу до журн.: <http://www.agro-business.com.ua/agronomiia-siogodni/964-osoblyvosti-pozakorenevogo-pidzhyvlennia-silskogospodarskykh-kultur-mikroelementamy.html>
6. Щелко Л. Г. Мировой генофонд сои – источник исходных форм для селекции сои на иммунитет / Л. Г. Щелко // СОВАСХНИЛ Новосибирск. – 1986. – С. 15–19
7. Арабаджиев С. Д., Ваташки А., Гора К. Соя / Пер. с болг. Е. С. Сигаевой. – М.: Колос, 1981. – 197 с.
8. Медведев В. В. Нульовий обробіток ґрунту в європейських країнах / В. В. Медведев – Харків: ТОВ «ЕДЕНА», 2010. – 202 с.
9. Агрохімічний аналіз: підручник / [М. М. Городній, В. П. Каленський, А. В. Бикін та ін.]. – К: Арістей, 2007. – 487 с.



10. Косолап М. П. Система землеробства No-till / М. П. Косолап, С. Кротінов. – К.: Логос, 2011. – С. 352.
11. Практикум по агрохимии: Учеб. Пособие. – 2-е изд., перераб. и доп. / Под ред. академика РАСХН В. Г. Минеева. – М.: Изд-во МГУ, 2001. – 689 с.

### **ВПЛИВ АЗОТНИХ ДОБРИВ ТА ПОЗАКОРЕНЕВИХ ПІДЖИВЛЕНЬ НА РІСТ ТА РОЗВИТОК СОЇ ЗА РІЗНИХ СПОСОБІВ ОБРОБІТКУ ҐРУНТУ**

**А. В. Бикін, О. Л. Козачок, Н. П. Щербиніна**

***Анотація.** Висвітлено результати досліджень щодо впливу удобрення на ріст і розвиток сої за мінімізації обробітку ґрунту. Встановлено, що норма  $N_{60}P_{60}K_{60}$  із сумісним застосуванням позакореневого підживлення мікродобривом «Росток бобовий» більш суттєво впливає на рослини сої незалежно від способу обробітку. Проте через підвищену щільність ґрунту у варіантах із мінімальним обробітком і прямою сівбою рослини децю відставали у рості та розвитку порівняно з оранкою.*

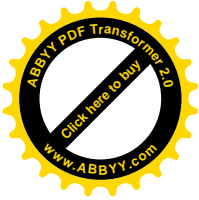
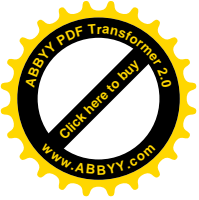
***Ключові слова:** соя, пряма сівба, мінімальний обробіток, традиційний обробіток, азотні добрива, підживлення*

### **ВЛИЯНИЕ АЗОТНЫХ УДОБРЕНИЙ И ВНЕКОРНЕВЫХ ПОДКОРМОК НА РОСТ И РАЗВИТИЕ СОИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ОБРАБОТКИ ПОЧВЫ**

**А. В. Быкин, А. Л. Козачок, Н. П. Щербинина**

***Аннотація.** Представлены результаты исследований влияния удобрения на рост и развитие сои при минимизации обработки почвы. Установлено, что норма  $N_{60}P_{60}K_{60}$  с совместным применением внекорневой подкормки микроудобрения «Росток бобовый» более существенно влияет на растения сои независимо от способа обработки. Однако из-за повышенной плотности почвы в вариантах с минимальной обработкой и прямым севом растения несколько отставали в росте и развитии по сравнению со вспашкой.*

***Ключевые слова:** соя, прямой сев, минимальная обработка, традиционный обробіток, азотные удобрения, подкормки*



УДК 58.036.2:632.51-026.564

## ВПЛИВ ПРИРОДНОГО ТЕПЛОВОГО СТРЕСУ НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ НАСІННЯ БУР'ЯНІВ

Є. О. БАБЕНКО, аспірант,

Ю. П. МАНЬКО, доктор сільськогосподарських наук, професор

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

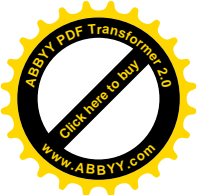
*E-mail: babenkotosi@bigmir.net*

*Анотація.* Встановлений істотний летальний вплив на насіння бур'янів чергування двох циклів зміни температури середовища їхнього перебування  $+10^{\circ}\text{C}$  з наступним зниженням до  $-10 - 20^{\circ}\text{C}$ . За таких температурних коливань у ґрунтовому середовищі ймовірно зменшення життєздатності насіння бур'янів у ньому до 2 разів залежно від їхнього видового складу.

*Ключові слова:* тепловий стрес, життєздатність, насіння бур'янів, ендогенний і екзогенний спокій, тетразольно-топографічний метод

Дослідженнями вітчизняних [1, 2, 3, 4] і зарубіжних [6] гербологів виявлені екологічні умови, що сприяють появі сходів і розвитку рослин бур'янів у агрофітоценозах. Серед цих умов визначальним чинником виступає тепло, за реакцією на яке бур'янові види віднесені до біологічних груп ярих, озимих чи зимуючих [7, 8]. Поява сходів рослин цих груп видів бур'янів значною мірою пов'язана з наявністю відповідних температурних показників екологічного середовища. Відомо також про летальний ефект впливу високих температур на вегетуючі рослини бур'янів та їх насіння, який використаний у проектах фізичних засобів їх контролю [5].

В природних умовах насіння бур'янів у ґрунті зазнає впливу істотно мінливо теплового режиму. Еволюційні зачатки бур'янів набули стійкості до такої природної мінливості і зберігають життєздатність. Проте в останнє століття частіше спостерігаємо екстремальні коливання температури, що виражене зростанням сезонної континентальності клімату і стресовими перепадами від сильних морозів  $-10 - 20^{\circ}\text{C}$  до відлиг з температурою  $+10^{\circ}\text{C}$  в зимовий і весняний сезон. Оскільки актуальна забур'яненість посівів

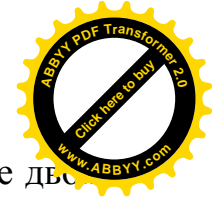
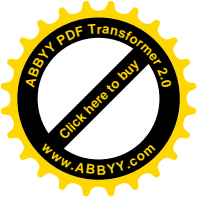


культурних рослин детермінована потенційною забур'яненістю рілля. Інформація про вплив таких перепадів на життєздатність насінневих зачатків бур'янів небайдужа для практичної гербології. Важливість цієї інформації і недостатність її в науковій літературі спонукали до проведення дослідження.

**Мета дослідження** полягає у виявленні змін в якісному складі насіння бур'янів під впливом теплових стресів.

**Матеріали і методи дослідження.** Об'єктом проведеного дослідження стало насіння трьох поширених видів бур'янів: раннього ярого, гірчиці польової (*Sinapis arvensis* L.) і двох пізніх ярих, щиріці зігнутої (*Amaranthus retroflexus* L.) та плоскухи звичайної (*Echinochloa crus galli* L.).

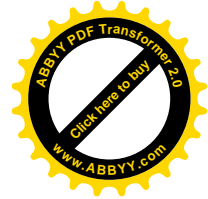
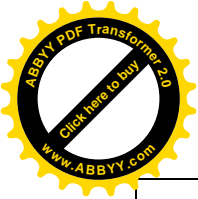
Дослідження виконане лабораторним методом [5]. Змістом досліджених варіантів обрали режим температури в термостаті та холодильній камері протягом 30 діб пророщування насіння. На контрольному варіанті насіння перебувало в термостаті весь час в умовах постійної температури +20 °С. На дослідних варіантах проби насіння бур'янів зазнавали протягом 30 діб стресових впливів індукованих наближених до природних умов за тривалістю і величиною перепадів температури [10] середовища (див. таблицю). Для пророщування відбирали по 50 шт. насінин досліджуваних видів бур'янів у триразовій повторності і висівали їх у чашки Петрі, застелені двома шарами фільтрувального паперу. Після цього в кожену чашку з висіяним насінням заливали 10мл води і витримували в термостаті за температури +20 °С три доби для набубнявіння насіння. Підготовлені таким чином проби насіння бур'янів протягом наступних 30 днів пророщували в температурних режимах, передбачених варіантами досліду. Облік проростання насінин проводили кожні 5 діб наростаючим підсумком, видаляючи проростки із чашок. Визначення життєздатності непророслого після 30 діб насіння здійснювали тетрозольно–топографічним методом за допомогою доданого в кожену чашку 1мл 0,5 %-го розчину трифенілтетразолію хлористого через 24 години експозиції. В присутності цього індикатора живі тканини насіння набувають червоного кольору, а



мертві – коричневого. Насіння вважають життєздатним, якщо не менше дві третин зародка стають червоного кольору. Таке насіння не проростає тому, що воно перебуває у стані ендogenous природного спокою, обумовленого біохімічними причинами, пов'язаними з неадекватним станом метаболізму в тканинах. Частина непророслого насіння, маючи непроникні для індикатора покривні тканини, після їх механічного руйнування виявляє вміст тканин білого кольору. Таке насіння перебуває у стані екзогенного природного спокою.

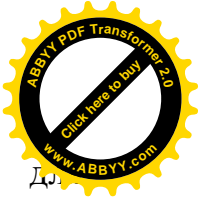
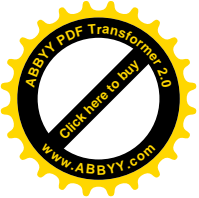
**Результати дослідження та їх обговорення.** Аналіз результатів проведеного дослідження свідчить про істотні зміни життєздатності насіння бур'янів під впливовим фактором цього стресу виявилась тривалість стресового підвищення температури середовища з наступним її зниженням. Таким варіантом досліду стало дворазове чергування підвищення температури до  $+10\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 10 діб з наступним її зниженням до  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 5 діб (див. таблицю). Під впливом таких температурних коливань частка живого насіння досліджених видів бур'янів зменшувалась у 2 рази, а мертвого відповідно збільшувалась порівняно з контролем.

Зменшення тривалості дії підвищеної до  $+10\text{ }^{\circ}\text{C}$  температури до 5 діб з наступним впливом морозів  $-10\text{ }^{\circ}\text{C} - 20\text{ }^{\circ}\text{C}$  в два рази зменшує летальний ефект теплового стресу. Вказану різницю в реакції насіння бур'янів на дію теплового стресу залежно від її тривалості можна пояснити змінами фізіолого-біохімічного стану тканин зародка. В стані вимушеного спокою, обумовленого відсутністю екологічних умов для активного росту, насіння бур'янів наділене властивістю довговічності вираженого збереженням життєздатності протягом певного часу.



## Якісний склад насіння бур'янів після дії теплового стресу в умовах лабораторного досліджу

Варіанти досліджу	Вид бур'яну	Частка якісних складових у пробі, %				
		Проросле	У спокої		Мертве	Живе
			ендогенному	екзогенному		
1. Температура +20 °C 30 діб постійно (контроль)	щириця зігнута	8	4	60	28	72
	плоскуха звичайна	36	14	18	32	68
	гірчиця польова	22	22	26	30	70
	в середньому	22	13	35	30	70
2. Чергування -10 °C і +10 °C по 5 діб два цикли та +20 °C до закінчення 30 діб	щириця зігнута	14	0	50	36	64
	плоскуха звичайна	8	10	4	78	22
	гірчиця польова	16	38	14	32	68
	в середньому	13	16	23	49	52
	± % до контролю	-41	+23	-34	+60	-26
3. Чергування -20 °C і +10 °C по 5 діб два цикли та +20 °C до закінчення 30 діб	щириця зігнута	14	4	48	34	66
	плоскуха звичайна	0	26	10	64	36
	гірчиця польова	6	50	4	40	60
	в середньому	7	27	20	46	54
	± % до контролю	-68	+108	-40	+53	-23
4. Чергування -20 °C 5 діб, +10 °C 10 діб два цикли та +20 °C до закінчення 30 діб	щириця зігнута	0	10	22	68	32
	плоскуха звичайна	0	12	6	82	18
	гірчиця польова	12	40	6	42	58
	в середньому	4	21	11	64	36
	± % до контролю	-82	+62	-69	+113	-49
5. Чергування -20 °C і +10 °C по 5 діб три цикли	щириця зігнута	2	24	12	62	38
	плоскуха звичайна	0	30	4	66	34
	гірчиця польова	16	56	12	16	84
	в середньому	6	37	9	48	52
	± % до контролю	-73	+185	-74	+60	-26



Якщо в цьому стані насіння зазнає впливу оптимальних температур проростання упродовж відповідного періоду, відбувається перехід до стану його проростання. Дослідженням встановлено тривалість цього періоду не менше 10 діб, протягом яких завершуються незворотні процеси проростання насіння, що стає фатальним для нього в умовах наступних морозів, обумовлюючи втрату життєздатності.

Виявлена також видова особливість реакції насіння бур'янів на теплові стреси.

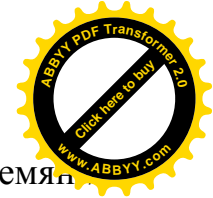
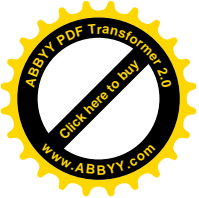
Серед досліджених видів, найбільш чутливих до перепадів температури середовища, стало насіння плоскухи звичайної, у пробі якого після двох циклів чергування по 5 діб температури  $+10^{\circ}\text{C}$  і  $-10^{\circ}\text{C}$  частка мертвого становила 78 %, перевищуючи контроль у 2 рази, а після двох циклів по 5 діб температур  $+20^{\circ}\text{C}$  і 10 діб  $-20^{\circ}\text{C}$  – 82 %. В зв'язку з цими фактами знаходиться ймовірне пояснення явище мінливості видового спектру бур'янів на полях в роки з різними тепловими умовами зимового і весняного періодів.

### **Висновки**

Ймовірні в природних умовах коливання температури ґрунту у зимовий і весняний сезон від  $+10^{\circ}\text{C}$  до  $-10 - 20^{\circ}\text{C}$  справляють істотний стресовий вплив на насіння бур'янів, що перебуває в ньому. Провідними причинами такого впливу виявилась тривалість теплового періоду вказаної амплітуди коливань не менше 5 – 10 діб. Дворазове повторення циклу цих температурних коливань у ґрунтовому середовищі викликає зменшення життєздатності насіння бур'янів до 2 разів, залежно від їхнього видового спектру.

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Котт С. А. Прорастание семян сорняков / С. А. Котт // Советская агрономия, 1947 – М.:Сельхозгиз. – №4, – С. 86-88.

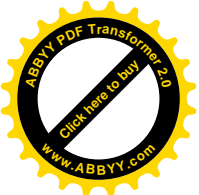


2. Попцов А. В. Влияние температурного фактора в прорастании семян  
А. В. Попцов // Журнал общей биологии. – М.:1961. – Т. 22, №6. –  
С. 425-435.
3. Зеленчук Т. К. Схожість і особливості проростання насіння польових  
бур'янів з орного шару ґрунту / Т. К. Зеленчук / /Вісник с.-г. науки.-  
К.:1977. – №5. – С. 26-29.
4. Макодзеба И. А. Влияние температуры на набухание и проростания  
семян сорных растений и борьба с засоренностью почвы /  
И. А. Макодзеба, Л. А. Матюха / /Доклады ВАСХНИЛ. – М.:1971, –  
№2. – С. 19-20.
5. Патент №2797. Установка для термічної обробки ґрунту на посівах  
сільськогосподарських культур / М. Г. Самойленко // Опубл.: Бюл. №8,  
2004р.
6. Сапанкевич П. В. Методика изучения биологических свойств семян  
сорных растений / П. В. Сапанкевич // М.:Колос. – 1964. – С. 37.
7. Zarcher W. Stress bei Pflanzten/W.Zarcher//Naturwissenschaften.-1987  
(4).-р. 158-167.
8. Фисюнов А. В. Сорные растения /А. В. Фисюнов//М.:Колос, 1984. –  
320 с.
9. Бур'яни та заходи їх боротьби з ними / [Ю. П. Манько. І. В.  
Веселовский, Л. В. Орел, С. П. Танчик]//К.: Лібра, 1998. – 240 с.
10. Агроклиматический справочник по Полтавской области. – Л.:  
Гидрометеоиздат, 1958. – 183 с.

## **ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНОГО ТЕПЛООВОГО СТРЕССА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ СЕМЯН СОРНЯКОВ**

**Е. А. Бабенко, Ю. П. Манько**

*Аннотация.* Установлено существенное летальное влияние на семена сорняков чередования двух циклов переменной температуры среды их пребывания  $+10^{\circ}\text{C}$  из последующем снижением до  $-10 -20^{\circ}\text{C}$ . В этих условиях



*в почвенной среде вероятно двукратное уменьшение жизнеспособности семян сорняков в зависимости от их видового состава.*

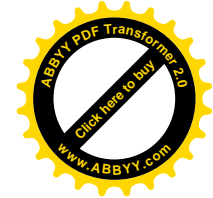
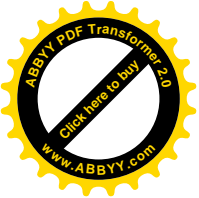
**Ключевые слова:** *тепловой стресс, жизнеспособность, семена сорняков, эндогенный и экзогенный покой, тетразольно-типографический метод*

## **EFFECT OF NATURAL HEAT STRESS ON WEED SEEDS VITALITY**

**E. Babenko, Yu. Manko**

**Annotation.** *Established a significant lethal effect on weed seeds two cycles of alternating temperature changes of their habitats from + 10°C with a subsequent decrease to -10 -20°C. Under these temperature changes in the soil environment likely reduce the viability of weed seeds in it to 2 times depending on their species composition.*

**Key words:** *heat stress, viability, weed seeds, endogenous and exogenous peace, tetrazolno-topographical method.*



UDC 664.165

**EXPERIMENTAL DESIGN AND DEVELOPMENT OF RECIPES  
FOR OBTAINING OF FRUCTOSE-FREE JAMS**

**M. KILIAN**

*University of Applied Sciences Hof, Engineer Science, Machinery, Hof, Germany*

**Y. SHEVCHENKO, E. GROSS, I. SMETANSKA\***

*University of Applied Sciences Weihenstephan-Triesdorf, Agricultural Faculty,  
Weidenbach, Germany*

**V. VOYTSEKHIVSKIY**

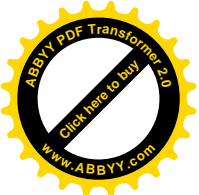
*National University of Life and Environmental Sciences, Kiev, Ukraine*

*E-mail: iryna.smetanska@hswt.de*

**Abstract.** *Artical present the develop the receipts for jams with low sugar particularly fructose content. The best result was obtained in jams with sugar alcohol erythritol, particularly in product taste (135 while for sugar 140 points) and consistence (120, while for sugar 145 points). It is conceivable that the sugar as well as particularly fructose could be replaced in jams with such sweeteners as erythrol, Nevella, sucrofin, but not with stevia, blackberry leaves and Lou Han Guo.*

**Key words:** *jams, sweeteners, composition, quality*

The aim of this work was the production of jams with reduced fructose content. These products can be especially used by fructose intolerance. At the same time they should fit the tastes of consumers. For this purpose we have developed an experimental design for production and evaluating of raspberry and currant jams in combination with nine different sweet-testing substances as sugar (control), glucose syrup, lactose, erythritol as well as sweeteners Nevella, Sucofin, Luo Han Guo, Stevia leaves, and sweet blackberry leaves. To achieve the proper volume of the end product, we have used different pectins [1, 2, 9]. The jams were analyzed for pH, color, and Brix content. We also have determined stability, differences in color, and dry matter contents of the products. To evaluate the acceptance of the product for the consumers, we have provided questioning. The best results were achieved by



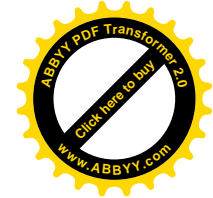
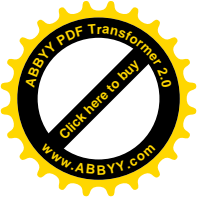
application of sugar alcohol erythritol, especially by raspberry jam. Therefore conclude that erythriol could be an alternative to sugar. Moreover, it is a natural product without side effects.

Nowadays, consumers tend to obtain proper balanced high-quality nutrition. Statistic shows that more as twenty five present of the world population possess various food intolerances [6, 7]. Especially lactose and fructose can cause allergic reactions. The demand for fructose-reduced food is therefore rather high [8, 19]. It is necessary to take into account also hidden fructose in products. It can be found not only in fruits, fruit juices, and jams, but also in many ready-to-eat fast-food products. Also sugar beet, cane and honey contain fructose. It can be found in small quantities even in vegetables and grains [11]. Fructose is industrially obtained from corn syrup and has many beneficial features for the food technology: it has a high sweetening power and stability, acts as humectants and intensifies food color.

People with fructose intolerance will get abdominal pain, nausea, and bloating after its consuming. Currently, according to statistical studies 2 of 100 people are affected from fructose intolerance. According to the WHO classification system ICD-10, fructose intolerance is a disorder of carbohydrate intake [18]. By this metabolic disorder fructose cannot be absorbed insufficiently. The intake of fructose is slow, its concentration increases in the intestine. Intestinal bacteria convert fructose into carbon dioxide and hydrogen [15]. Fructose intolerance symptoms especially depend on the ratio of fructose to glucose: the higher is the amount of glucose as compared to fructose, the better the product can be tolerated [11] (Table 1).

Especially promising strategy of the production of sweet jams is to replace or reduce sugar, especially fructose and to ensure a good distribution of fructose and glucose in jams.

Therefore, the aim of this work was to substitute fructose in jams through various sweet-testing substances. The important aspect was also to develop the product, acceptable for the consumer in its appearance, taste, and texture.



## 1. Content and ratio of fructose and glucose, g

Culture	Fructose in g	Glucose in g	Ratio F : G
Apricot	0,86	1,73	1 : 2,01
Kiwi	4,41	4,71	1 : 1,07
Apple	5,74	2,04	1 : 0,35
Prune	6,75	1,67	1 : 0,25
White bread	0,03	0,03	1 : 1,04

**Materials and methods.** This research work has been provided at the Agricultural Faculty of the University of Applied Sciences Weihenstephan-Triesdorf (Germany) in collaboration with University of Applied Sciences Hof (Germany) and with National University of Life and Environmental Sciences in Kiev (Ukraine).

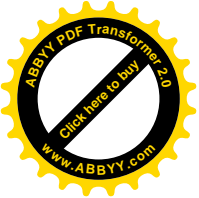
Raw Materials. In order to produce raspberries and currants jams, we have developed the experiment design with three pectin's and nine sweeteners. The fructose : glucose ratio of raspberries is 1: 0.87 and of currants 1: 0.81.

As the gelling agents we have selected NE pectin "Amid CF 005" and "Amid AF 015-A" [9] (Table 2), used usually only for industrial production of jams.

## 2: Comparison of pectin usage in terms of their dry matter content (DM), esterification (ES) and grade of amidisation (A), as well as their characteristics and application areas

Pectin Type	DM	ES°	A°	Characteristic Properties	Products
Amid CF 005	>55%	32-40%	10-16%	Amidated Citrus-pektin, low Ca Reactivity	Jams, low-caloric fruit mixtures (pH 3,0-3,5)
Amid AF 005-A	<55%	30-38%	7-14%	Amidated Applepectin, low Ca Reactivity	

To achieve the same level of dry matter content in fructose-reduces jams as in convenient analogue products, we have applied two different amidated low-methoxyl pectin products. These pectin products are relatively stable by the low pH, which is especially important for production of products with high content of organic acids, as raspberries and currant. After selection of suitable alternative sweet-testing



substances, jams were cooked in Thermomix (Overwork) under the same conditions as temperature and cooking time.

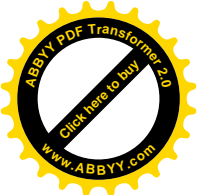
As sweet-testing agents we have used some sugar alcohols. They are carbohydrates as well as sugar, but they possess about 40% energy in comparison to sugar. They are less sweet than sugar and cannot or can only partially be digested [16]. For our experiment we have selected erythritol, isomalt, lactitol, mannitol, maltitol, sorbitol, and xylitol.

Since sugar alcohols are absorbed into the small intestine, in comparison with sugar they increased consumption (from 10 to 20 grams) can cause abdominal pain. Therefore it is necessary to find the optimal amount. It has also to be regulated according to the Additive Approval Regulation and EU Directive 94/35.

During our studies we have selected erythriol as the most suitable substitution of sugar. Sweetener erythritol occurs naturally in a small amount in some fruits, mushrooms, and cheese. It can also be produced by genetically modified microorganisms. Metabolic studies have shown that erythritol is one of the sugar alcohols, which is up to 95% absorbed by the small intestine and excreted unchanged by the kidney. Since only about 5% of the sugar alcohol pass through the large intestine, higher amounts may be eaten without unpleasant side effects such as digestive discomfort.

**Sweeteners.** This class of low-caloric or calorie-free substances includes chemically different, natural or synthetic substances with very high sweetness as compared to sugar. Because of the sweetness they are used sparingly in food and therefore cannot replace the mass and volume of sugar. Another characteristic of sweeteners are that they are not metabolized or not great role on human organism. Hence, after consuming any insulin secretion is induced [12]. For our experiments we have selected some traditionally used sweeteners as aspartame, but also some novel as Nevella, Sucofin, Luo Han Guo, Stevia leaves, and sweet blackberry leaves.

**Aspartame.** The sweetener aspartame is a dipeptide, which is obtained from aspartic acid and phenylalanine. It is used by a human organism and provides low



energy. Because aspartame is used not only in very small quantities, there for appreciable contribution to total energy supply guaranteed [14]. Since aspartame enhances fruit flavors, it is often used in confectionery to flavor improvement.

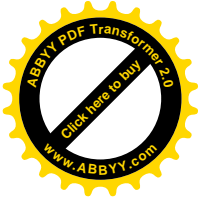
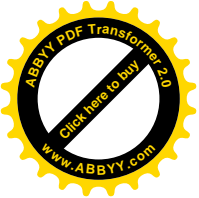
**Stevia.** Steviosides are a group of natural, non-caloric sweeteners from the plant *Stevia rebaudiana* Bertoni. The main ingredient in the fraction of stevia leaf is stevioside A, which is about 300 times sweeter than sugar. Stevia leaf content in the dry matter reach 20%. Therefore dry leaves of stevia are 15 to 30 times sweeter properties than sucrose [17].

**Sweet blackberry leaves.** The leaves of Chinese bramble (*Rubus suavissimus* S. Lee) contain up to 8% of the sweet glycoside rubusoside, which chemical structure is similar to the stevioside in Stevia. In traditional Chinese medicine, sweet blackberry has been popular for decades, it has a proven antioxidant action and is used to treat high blood pressure and diabetes [5].

**Luo Han Guo** is a sweet tropical fruit of the plant *Siraitia grosvenorii*, which is grown in China, where it is used for a long time in traditional Chinese medicine for coughs and pharyngitis [14]. The ingredient mogroside, a sugar-like compound, gives sweet taste to it.

**Determination of the sweet power.** As we have used different substances with individual sweetening power, we had to find out the required amount of the sweeteners. Table 3 provides an overview of the sweet power and the amount of sweeteners that are necessary to achieve the sweetness like sugar. Therefore we compared the sweet power of sugar (as 1) to the other substances.

Biochemical analysis and statistical data processing was carried out by commonly accepted methods [2, 3].



### 3. Characteristics of sweet testing substances

Sweetener	Sweet power (Factor 1 is sugar)	Amount (g)
Mono- and Disaccharides		
Sugar	1	100
Glucose syrup	0,6	167
Lactose	0,3	333
Sugar alcohols		
Erythrit	0,6-0,8	167-125
Sweeteners		
Stevioside	300-450	0,3-0,2
Luo Han Guo	300	0,3
Rubusoside	200	0,5
Aspartam	180-200	0,6-0,5
Stevia leaves	30	3

**Results and discussion.** The sensor evaluations were conducted with 50 test people, including 14 males and 36 females, at the age from 19 to 58 years. It was a blind tasting carried out via answering questions concerning jams with different sweet-tasting substances. Finally, we have evaluated the willingness to buy the product and price expectations.

During the acceptance tests we have investigated such criteria as appearance, consistency, and distribution and taste limits of the respective 9 recipes.

The evaluation of the sensor quality of raspberry jam is possible to see in the figure 1.

The comparison of points has shown that sugar was evaluated as the best product with the average score of 149 and Luo Han Guo as the worst one with the average score 81 (Table 4).

Sugar was the sweet-testing substance in the category of carbohydrates with 160 points for spreading and 140 points for taste, however erythrol has shown also relatively good spreading as 130 and taste as 135 point. The lowest scores for spreading the consumers gave to blackberry leaves (90) and the worst taste scores became Luo Han Guo (35). The best results in the category odor reached sweetener Nevella with 140 points, while stevia reached 120 points, and lactose only 80 points.

The sugar reached the best average score with 149. The last place has Luo Han Guo sweetener with 81 points.

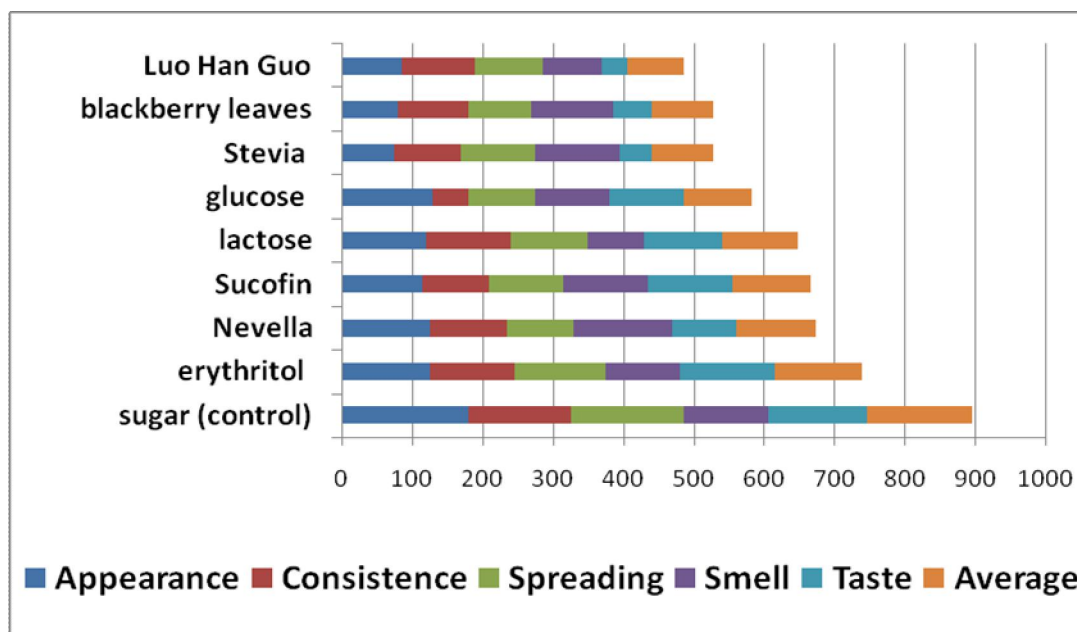
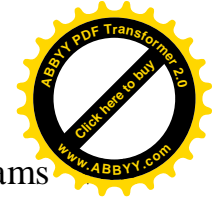
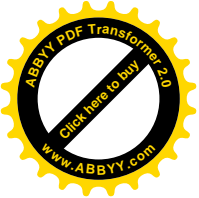


Figure 1. Acceptance test of fructose-reduced raspberry jams

#### 4. Evaluation of Appearance, Consistence, Spreading, Odor, and Taste of fructose-reduced raspberry jam, points

Components	Appearance	Consistence	Spreading	Odor	Taste	Average
Sugar (control)	180 ± 6	145 ± 3	160 ± 5	120 ± 4	140 ± 7	149 ± 5
Erythritol	125 ± 8	120 ± 7	130 ± 2	105 ± 5	135 ± 6	123 ± 3
Nevella	125 ± 11	110 ± 7	95 ± 1	140 ± 7	90 ± 2	112 ± 6
Sucofin	115 ± 10	95 ± 3	105 ± 2	120 ± 2	120 ± 4	111 ± 3
Lactose	120 ± 7	120 ± 10	110 ± 4	80 ± 5	110 ± 5	108 ± 7
Glucose	130 ± 3	50 ± 3	95 ± 1	105 ± 10	105 ± 10	97 ± 2
Stevia	75 ± 5	95 ± 6	105 ± 6	120 ± 2	45 ± 3	88 ± 4
Blackberry leaves	80 ± 4	100 ± 8	90 ± 3	115 ± 4	55 ± 1	88 ± 2
Luo Han Guo	85 ± 2	105 ± 2	95 ± 3	85 ± 2	35 ± 1	81 ± 10

Erythritol had good with 123 points, Nevella with 112 points, and Sucrofin with 111 points.



Unexpected was the fact, that the estimation of consistency of jams glucose syrup reached only to 50 points. The negative assessment of the consistency of glucose syrup is understandable on the basis of sensory tests. After comparison of other sweet-testing agents, it became noticeable that the jams with glucose syrup were much less viscous than the other products. The addition of a relatively high amount of the syrup which has a weak viscous consistency, the jams was not completely solidified.

The negative assessment of the lactose (80 points) in terms of odor may possibly be due to the fact that during storage lactose can change the odors of the products [17]. In our tests, it was found that lactose jams had slightly "milky" note. This property of jams affects negatively on odor and taste.

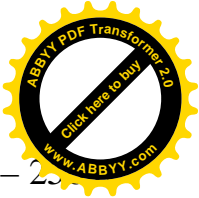
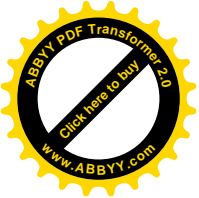
The results have shown that 36 persons were ready to buy currant jams with sugar-substitutes and 40 persons were ready to buy raspberry jams. 29 persons agreed to buy currant jams for at least 2 € per 250g and 26 persons were ready to spend this amount of money for raspberry jams.

### **Conclusions**

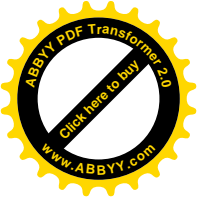
The best result was obtained in jams with sugar alcohol erythritol, particularly in product taste (135 while for sugar 140 points) and consistence (120, while for sugar 145 points). The average estimation of jams with erythrol has reached 123 point, when for sugar 149 points. Application of Luo Han Guo is not promising, because according to the consumer estimation this product has become only 81 point in comparison to 149 by sugar. Especially negative evaluated was the taste of the products: only 35 point in comparison to 140 by sugar. It is conceivable that the sugar as well as particularly fructose could be replaced in jams with such sweeteners as erythrol, Nevella, sucrofin, but not with stevia, blackberry leaves and Lou Han Guo.

### **LIST LITERATURE**

1. Подпрятков Г. И. Товарознавство продукції рослинництва / Г. И. Подпрятков, Л. Ф. Скалецька В. І. Войцехівський. – К.:Арістей. – 2005. – 256 с.
2. Технохімічний контроль продукції рослинництва: Навч. посіб. /



- Н. Т. Савчук, Г. І. Подпряттов, Л. Ф. Скалецька та ін. – К.: Арістей, 2005. – 25
3. Франс Дж. Математические модели в сельском хозяйстве / Дж. Франс, Дж. Х. М. Торнли / Пер. с англ. А. С. Каменского; под ред. Ф. И. Ерешко. – М.: Агропромиздат, 1987. – 400 с.
  4. Aspartame administered in feed, beginning prenatally through life span, induces cancers of the liver and lung in male Swiss mic / Soffritti Morando, Belpoggi Fiorella, Manservigi Marco, Tibaldi Eva, Lauriola Michelina, Falcioni Laura, Bua Luciano // *Am. J. Ind. Med.* – 2010. – Vol. 53 (12). - S. 1197–1206.
  5. Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR). Stevia - BfR. 2014. – [khttp://www.bfr.bund.de/de/a-z\\_index/stevia-5033.html](http://www.bfr.bund.de/de/a-z_index/stevia-5033.html).
  6. BVL - Novel Food. [http://www.bvl.bund.de/DE/01\\_Lebensmittel/03\\_Verbraucher/06\\_NovelFood/Im\\_NovelFood\\_node.html](http://www.bvl.bund.de/DE/01_Lebensmittel/03_Verbraucher/06_NovelFood/Im_NovelFood_node.html).
  7. Derndorfer Eva. Lebensmittelsensorik. - Wien: Facultas, 2012. – 188 s.
  8. European Commission: EUROPA-Food Safety-Novel Foods Introduction.süße Brombeerblätter / Luo Han Guo. <http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/novelfood>. 2009
  9. Firma Herbstreith&Fox: Konfitüren und andere Fruchtaufstriche. 2014. -7s.
  10. Flemmer Andrea. Echt süß! Gesunde Zuckeralternativen im Vergleich; mit Ernährungstipps. - Kirchzarten bei Freiburg: VAK-Verlags-GmbH (VAK vital). 2013. -112 s.
  11. Fritzsche Doris. Fruktose-Unverträglichkeit - München: Gräfe und Unzer (GU plus). 2011. –128 s.
  12. Kaufmann Gabriele. Zucker, Sirupe, Honig, Zuckeraustauschstoffe und Süßstoffe / Kaufmann Gabriele, Tummel Birgitta.. - Bonn: AID, 2011. -142s.
  13. Liu Haibo. Fructose induces transketolase flux to promote pancreatic cancer growth / Liu Haibo, Huang Danshan, McArthur David L., Boros Laszlo G., Nissen Nicholas, Heaney Anthony P. // *Cancer Res.* - 2010. - Vol. 70 (15). - S. 6368–6376.



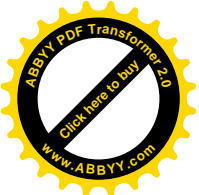
14. Müller Sven-David. Mythos Süsstoff. Die ganze Wahrheit über künstliche und natürlichen Zuckerersatz / Müller Sven-David, Schwarz Jasmin. Wien: Kneipp-Verl. – 2010. – 125s.
15. Nesterenko Sigi. Fructoseintoleranz. krank durch Obst, Gemüse und Süßigkeiten. Fruchtzuckerunverträglichkeit - eine oft übersehene Ursache für viele gesundheitliche Probleme! / Sigi Nesterenko. - Schrobenshausen: Rainer Bloch Verlag. – 2010. – 221s.
16. Poschwatta-Rupp Sabine. Von Abführstoff bis Zauberkraut: Aktuelle Übersicht der Süßungsmittel / Poschwatta-Rupp Sabine // *Verband für Ernährung und Diätetik*. – 2013. - Vol. 134. - S. 8–14.
17. Rosenplenter K. Süßungsmittel: Handbuch / Rosenplenter K., von Rymon Lipinski. - Nöhle: Behr's Verlag, 2007. – 221s.
18. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. Safety evaluation of certain food additives // *Who Food additives* (54). – 2006. [http://libdoc.who.int/publications/2006/9241660546\\_eng.pdf](http://libdoc.who.int/publications/2006/9241660546_eng.pdf).
19. Wolzt Michael. Gesund essen & trotzdem krank. Gluten-, Lactose-, Fructose-, Histamin-Intoleranz / Wolzt Michael, Ring Johannes Feffer Silvia. - Nachdr. Wien: Verl.-Haus der Ärzte, 2008. – 124s.

## **РОЗРОБКА РЕЦЕПТУРИ ДЖЕМІВ З ВИКОРИСТАННЯМ ЦУКРОЗАМІННИХ КОМПОНЕНТІВ**

**M. Kilian, Y. Shevchenko, E. Gross, I. Smetanska, V. Voytsekhivskiy**

*Анотація.* У статті наведено результати досліджень з розробки рецептури джемів з низьким вмісту цукром зокрема фруктози. Найкращий результат було отримано у зразках із застосуванням цукрового спирту ерітрітол, особливо у смаку продукту. Додавання ерітролу, Невела, цукрофін під час виготовлення натуральних фруктових джемів спроможне ефективно замінити цукор і фруктозу, а використання листя стевії, ожини і Лу Хань Го менш менш ефективно.

**Ключові слова:** джем, підсолоджувачі, рецептура, якість

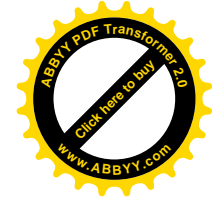
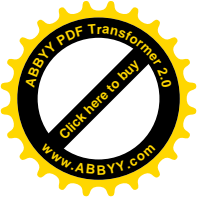


## РАЗРАБОТКА РЕЦЕПТУРЫ ДЖЕМОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕ САХАРОЗАМЕНИТЕЛЕЙ

**M. Kilian, Y. Shevchenko, E. Gross, I. Smetanska, V. Voytsekhivskiy**

*Аннотация.* В статье изложены результаты исследований по разработке рецептуры фруктовых джемов с низким содержанием сахара и фруктозы. Наилучший результат получено в образцах с использованием сахарного спирта эритрола, особенно во вкусе продукта. Добавление эритрола, Невела, цукрофина при изготовлении натуральных фруктовых джемов эффективно заменяет сахар и фруктозу, и использование листьев стевии, ежевики и Лу Хань Го менее аффективно.

**Ключевые слова:** джем, подсластители, рецептура, качество



УДК 631.84:551.524:633.491 (477.72)

**ПРОДУКТИВНІСТЬ РОСЛИН КАРТОПЛІ В КУЛЬТУРІ *IN VITRO*  
ЗА РІЗНОЇ КИСЛОТНОСТІ ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ТА  
ФОТОПЕРІОДУ КУЛЬТИВУВАННЯ**

**Ю. О. ЛАВРИНЕНКО**, доктор сільськогосподарських наук, професор,

**Г. С. БАЛАШОВА**, кандидат сільськогосподарських наук

*Інститут зрошуваного землеробства НААН*

*E-mail: lavrin52@mail.ru*

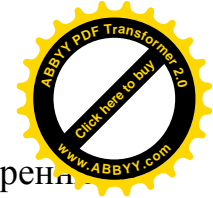
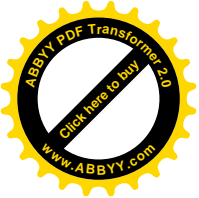
*Анотація.* Визначено вплив фізичних факторів культивування на мікроклональне розмноження оздоровленого в культурі *in vitro* вихідного матеріалу картоплі. Максимальні показники продуктивності забезпечує культивування за 16-годинного фотоперіоду, інтенсивності освітлення 2500 лк та рН живильного середовища 5,3.

*Ключові слова:* культура *in vitro*, мікроклональне розмноження, фотоперіод, інтенсивність освітлення, кислотність, продуктивність, мікробульби

На мікроклональне розмноження і ріст рослин впливає кислотність середовища, що визначає доступність для них поживних речовин. Відомо, що дуже кислі або лужні середовища лімітують надходження деяких елементів, наприклад, фосфору і заліза, роблячи їх відносно нерозчинними, і обмежують тим самим ріст рослин. У той же час при високій кислотності інші елементи переходять у розчинений стан і стають токсичними для експлантів [4]. Дуже важливо, щоб всі процеси проходили при визначеній кислотності. Зокрема, це необхідно для нормального функціонування біологічних каталізаторів – ферментів (при виході за ці межі їх активність може різко уповільнюватись).

**Мета дослідження** – визначити продуктивність рослин картоплі в культурі меристем *in vitro* залежно від кислотності живильного середовища та фотоперіоду культивування.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження базувались на комплексному використанні лабораторного, математично-статистичного, розрахунково-порівняльного методів та системного аналізу

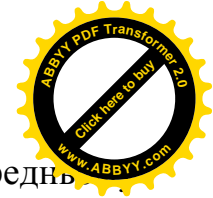
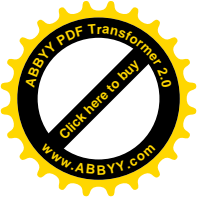


Для визначення найбільш оптимального режиму бульбоутворення культури *in vitro* середньораннього сорту картоплі Невська в 2013-2014 рр. був проведений трифакторний дослід, в якому вивчались такі фактори: А – фотоперіоди (10 та 16 годин); В – інтенсивність освітлення (1500 та 2500 лк); С – рН живильного середовища (4,3; 4,8 та 5,3).

Дослідження виконувались згідно загальноприйнятих методик. Для отримання вихідних оздоровлених біотехнологічним методом рослин картоплі *in vitro* застосовували метод термо-хіміотерапії у поєднанні з культурою апікальних меристем згідно «Методичних рекомендацій щодо проведення досліджень з картоплею» [5], методичних рекомендацій «Оптимизация процессов оздоровления, размножения и защиты семенного картофеля от вирусной инфекции» [6] та «Биотехнологические методы получения и оценки оздоровленного картофеля» [1]. Математичну обробку експериментальних даних здійснювали за загальноприйнятими методиками дисперсійного та регресійного аналізу [2, 3]; економічну ефективність виробництва оздоровленого вихідного матеріалу в культурі *in vitro* розраховували виходячи з фактичної собівартості мікробульб згідно технологічних карт.

**Результати досліджень.** Спостереження за ростом та розвитком рослин засвідчили, що на 20-ий день культивування висота рослин за 16-ти годинного режиму освітлення, в середньому за фактором, становила 4,3 см, що на 0,4 см більше, ніж за 10-ти годинного культивування. За всіма фотоперіодами і режимами освітлення, в середньому за фактором, висота рослин становила 4,3-4,4 см, за виключенням рослин, які культивувалися за освітлення протягом 10-ти годин з інтенсивністю 2500 лк і мали висоту 3,5 см.

В середньому за роками, найбільший приріст висоти рослин *in vitro* середньораннього сорту картоплі Невська (4,4 см) був відзначений за рН живильного середовища 4,3 у порівнянні з рН 4,8 та 5,3 (відповідно 4,1 та 3,9 см.). За взаємодії факторів, максимальний приріст висоти рослин (5,3 см) на 20-й день культивування відмічено за 16-ти годинах освітлення з інтенсивністю 1500 лк і рН 4,3.

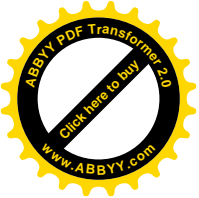


Кількість міжвузлів складала за 10-ти годин культивування в середньому за фактором 3,0 шт., за 16-ти годин – 4,0 шт. За інтенсивності освітлення 1500 та 2500 люкс кількість міжвузлів майже однакова - 3,7 та 3,6 шт. За 16-ти годинного освітлення, незалежно від його інтенсивності, кількість міжвузлів становила 4,0 шт. За використання рН живильного середовища 4,3 рослин *in vitro* сформували на 3,2; 9,7 % більше міжвузлів, ніж за рН відповідно 4,8; 5,3.

На 20-у добу культивування за фотоперіоду 10 годин 3,0 % рослин *in vitro* утворили мікробульби проти 4,7 % за 16-ти годин в середньому за фактором.

Інтенсивність освітлення значно впливає на темпи бульбоутворення. Так, за 10-ти годин освітлення з інтенсивністю 1500 лк 1,3 % рослин утворили мікробульби, в той час як за 2500 лк – 4,7 %. За 16-ти годин освітлення з інтенсивністю 1500 лк мікробульби були на 5,0 % рослин, а за 2500 лк лише на 4,3 %. В середньому за фактором, за інтенсивності 1500 лк утворено мікробульби на 3,2 % рослин, а за 2500 лк – на 4,5 %. За використання рН живильного середовища 4,8; 4,3; 5,3 мікробульби були сформовані відповідні на 2,8; 3,8 та 5,0 % рослин *in vitro*.

На 40-у добу культивування приріст висоти рослин *in vitro* був більшим на 40,0 % за 16-ти годин освітлення, ніж за 10-ти годин і складав 2,9 см. Кількість міжвузлів складала відповідно 6,2 і 5,3 шт. Вона майже не відрізнялась за однакових фотоперіодів в межах інтенсивності освітлення: за 10-ти годин освітлення з інтенсивністю 1500 лк вона становила 5,2 шт., 2500 лк – 5,4 шт.; за 16-ти годин – відповідно 6,3 і 6,0 шт.. В середньому за фактором, за інтенсивності освітлення 1500 лк приріст рослин складав 2,4 см, 2500 лк – 2,6 см. Кількість міжвузлів була однаковою – 5,7 шт. На 40-у добу культивування тривалість фотоперіоду майже не впливала на формування мікробульб. За 16-ти годин 11,8 % рослин утворили мікробульби, за 10-ти – 13,5 %. За 10-ти годин і освітлення 1500 лк 10,7 % рослин утворили мікробульби, що на 5,6 % менше ніж за освітлення 2500 лк. За 16-ти годин і освітлення 1500 лк 9,3 % рослин утворили мікробульби, що в 1,5 рази менше ніж за освітлення 2500 лк.

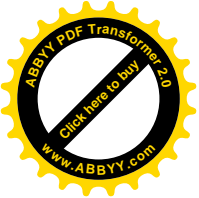


На 60-у добу культивування спостерігається формування мікробулб 28,5 % рослин за 16-ти годин та відповідно 22,5 % – за 10-ти годинного фотоперіоду. В межах 16-ти годинного фотоперіоду за рН 4,8 20,5 % рослин утворили мікробулби за рН 5,3 – 33,5 %, рН 4,3 – 31,5 %. За 10-годинного освітлення – відповідно 33,5; 23,0 і 12,0 %. В середньому за 16-ти годин освітлення з інтенсивністю 2500 лк 37,7 % рослин утворили мікробулби, що в 1,9 рази більше ніж за освітлення 1500 люкс, а за 10-ти годин відповідно 26,3 та 19,3 %.

На 60-у добу культивування кращі показники бульбоутворення отримано за використання 10 годинного фотоперіоду, інтенсивності освітлення 2500 лк і рН живильного середовища 4,8 – 48,0 % та за 16-ти годинного фотоперіоду з такою ж інтенсивністю освітлення і рН 4,3 – 43,0 %.

На 80-у добу культивування продуктивність рослин картоплі сорту Невська в культурі *in vitro* значно зростає. Вплив взаємодії досліджуваних факторів на показники продуктивності був сильний, індекс множинної кореляції становив 0,890; 0,895; 0,866 та 0,926 (табл. 1).

На формування мікробулб значною мірою впливала інтенсивність освітлення ( $r=0,764\pm 0,204$ ): за 2500 лк в середньому за фактором 78,1 % рослин сформували мікробулби проти 50,3 % за 1500 лк. Маса середньої мікробулби і маса мікробулб на одну рослину за 2500 лк освітлення склали 387,9 мг та 307,6 мг, що на 105,2 мг і 150,1 мг більше, ніж за інтенсивності освітлення відповідно 1500 лк. Інтенсивність освітлення чинила середній вплив на масу середньої мікробулби, коефіцієнт кореляції ( $r$ ) становив  $0,313\pm 0,300$ .

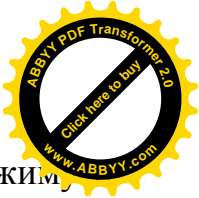
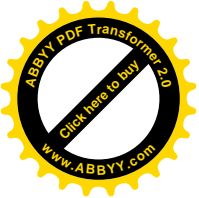


**1. Продуктивність рослин картоплі сорту Невська в культурі *in vitro* залежно від кислотності (рН) живильного середовища, фотоперіоду та інтенсивності освітлення, 2013-2014 рр.**

Фотоперіод, год	Інтенсивність освітлення, лк	рН живильного середовища	Маса середньої мікробульби, мг	Маса мікробульби на 1 рослину, мг	Вихід мікробульб масою понад 350 мг, %	Кількість рослин, що утворили мікробульби, %
10	1500	4,8	176,3	109,6	12,5	56,0
		4,3	92,4	28,7	0,0	31,0
		5,3	120,0	54,6	0,0	46,0
	2500	4,8	183,6	150,6	9,0	83,0
		4,3	304,8	180,6	35,3	60,0
		5,3	413,2	343,1	51,8	84,0
16	1500	4,8	399,7	176,1	46,1	45,0
		4,3	352,6	168,3	41,4	50,0
		5,3	555,4	407,8	71,4	74,0
	2500	4,8	447,1	334,9	57,2	77,0
		4,3	309,1	217,4	34,0	72,0
		5,3	669,8	619,0	80,0	92,5
Індекс множинної кореляції			0,890	0,895	0,866	0,926
NIP <sub>05</sub> , мг	A		49,6	58,8		
	B		13,9	44,5		
	C		30,5	23,3		

Спостерігався середній зв'язок між інтенсивністю бульбоутворення, масою середньої мікробульби, масою мікробульб на одну рослину та рН живильного середовища (відповідно  $r=0,469\pm 0,279$ ;  $0,425\pm 0,286$ ;  $0,528\pm 0,269$ ). Найменше мікробульб утворили рослини *in vitro*, які культивувались за рН живильного середовища 4,3 – 53,3 %, що на 12,0 та 20,9 % менше, ніж відповідно за рН 4,8 та 5,3. Мікробульби з найменшою масою сформувались за використання рН живильного середовища 4,3 – 264,7 мг проти 301,7 мг та 439,6 мг за відповідно рН 4,8 та 5,3. Така ж сама залежність спостерігалась і під час формування маси мікробульб на рослину – 148,8 мг проти 192,8 та 356,1 мг.

Регресійний аналіз отриманих даних дозволив одержати лінійні математичні моделі залежності продуктивності рослин *in vitro*



середньораннього сорту картоплі Невська залежно від взаємодії фоторежиму, кислотності живильного середовища (табл. 2).

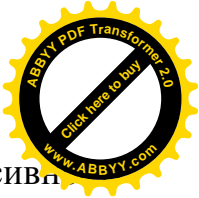
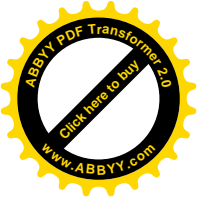
**2. Рівняння регресії залежності показників продуктивності рослин *in vitro* середньораннього сорту картоплі Невська від фотоперіоду ( $X_1$ ), інтенсивності освітлення ( $X_2$ ), рН живильного середовища ( $X_3$ ), 2013-2014 рр.**

Показник	Вид рівняння
Маса середньої мікробульби, мг	$Y = -1235,69 + 40,09X_1 + 0,11X_2 + 174,88X_3$
Маса мікробульб на рослину, мг	$Y = -1444,45 + 29,34X_1 + 0,15X_2 + 207,38X_3$
Вихід мікробульб масою понад 350 мг, %	$Y = -186,39 + 6,15X_1 + 0,016X_2 + 23,13X_3$
Кількість рослин, що утворили мікробульби, %	$Y = -109,73 + 1,4X_1 + 0,0277X_2 + 20,88X_3$

Собівартість однієї мікробульби за застосування 16-годинного освітлення зростає на 13,0 % у порівнянні з 10-годинним в середньому за фактором (табл. 3).

**3. Економічна ефективність вирощування мікробульб картоплі середньораннього сорту Невська в культурі *in vitro* залежно від фотоперіоду та кислотності живильного середовища, 2013-2014 рр.**

Фотоперіод, год.	Інтенсивність освітлення, лк	рН живильного середовища (С)	Кількість мікробульб на одну рослину, шт.	Собівартість, грн/мікр.	Рентабельність, %
10	1500	4,8	0,56	10,71	49
		4,3	0,31	19,68	-19
		5,3	0,46	13,48	19
	2500	4,8	0,83	7,65	109
		4,3	0,60	10,75	49
		5,3	0,84	7,80	105
16	1500	4,8	0,45	14,00	14
		4,3	0,50	12,80	25
		5,3	0,74	8,78	82
	2500	4,8	0,77	8,64	85
		4,3	0,72	9,38	71
		5,3	0,93	7,37	117



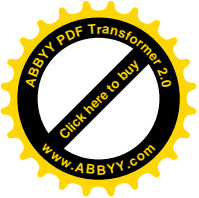
За використання під час культивування рослин *in vitro* інтенсивності освітлення 2500 лк собівартість знижувалась на 35,1 %, а за рН живильного середовища 5,3 вона була на 8,7 та 28,9 % нижчою, ніж за рН 4,8 та 4,3.

### **Висновки**

Максимальні показники продуктивності рослин *in vitro* середньораннього сорту картоплі Невська отримані за 16-годинного фотоперіоду, інтенсивності освітлення 2500 лк та рН живильного середовища 5,3: інтенсивність бульбоутворення – 92,5 %, маса середньої мікробульби – 669,8 мг, маса мікробульб на одну рослину – 619,0 мг, кількість мікробульб масою понад 350,0 мг – 80 %, собівартість мікробульби – 7,37 грн. за рентабельності виробництва 117 %.

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Биотехнологические методы получения и оценки оздоровленного картофеля: методические рекомендации / [Л. Н. Трофимец, В. Б. Бойко, Т. В. Зейрук и др.]. – М: ВО «Агропромиздат», 1988. – 37 с.
2. Дисперсійний і кореляційний аналіз у землеробстві та рослинництві : навчальний посібник / [В. О. Ушкаренко, В. Л. Нікіщенко, С. П. Голобородько, С. В. Коковіхін]. – Херсон : Айлант, 2008. – 272 с.
3. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов . – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
4. Клональное микроразмножение растений [Электронный ресурс]: учебно-методическое пособие / О. А. Тимофеева, Ю. Ю. Невмержицкая. – Казань: Казанский университет, 2012. – 56 с. – Режим доступа: <http://kpfu.ru/portal/docs/F842595683/KLONALNOE.MIKRORAZMNOZHENIE.pdf>. – Загл. с экрана.
5. Методичні рекомендації щодо проведення досліджень з картоплею / [В. С. Куценко, А. А. Осипчук, А. А. Подгаєцький та ін.] // Ін-т картоплярства. – Немішаєве, 2002. – 183 с.



6. Оптимизация приемов оздоровления, размножения и защ  
семенного картофеля от вирусной инфекции: метод. указания / БелНИИЗР. –  
Минск, 1996. – 16 с.

**ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*  
ПРИ РАЗЛИЧНОЙ КИСЛОТНОСТИ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ И  
ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ФОТОПЕРИОДА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ**

**Ю. О. Лавриненко, Г. С. Балашова**

*Аннотация.* Изучено влияние физических факторов культивирования на микроклональное размножение оздоровленного в культуре *in vitro* исходного материала картофеля. Максимальные показатели продуктивности обеспечивает культивирование при 16-часовом фотопериоде, интенсивности освещения 2500 лк и рН питательной среды 5,3.

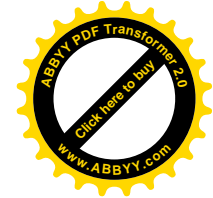
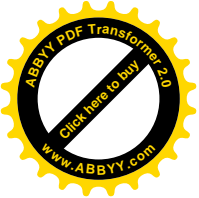
**Ключевые слова:** культура *in vitro*, микроклональное размножение, фотопериод, интенсивность освещения, кислотность, продуктивность, микроклубни

**PRODUCTIVITY OF POTATO PLANTS *IN VITRO* UNDER DIFFERENT  
LEVELS OF ACIDITY OF THE NUTRITION ENVIRONMENT  
AND THE PHOTOPERIOD OF CULTIVATION**

**Yu. Lavrynenko, G. Balashova**

*Abstract.* The paper analyzes the impact of physical factors of cultivation on microclonal reproduction of the potato propagation material improved *in vitro*. The maximum indices of plant productivity *in vitro* of the medium early variety Nevska were obtained under 16 hours' photoperiod, light intensity of 2500 lux and pH of the nutrition environment – 5,3.

**Key words:** *in vitro* culture, microclonal reproduction, photoperiod, light intensity, acidity, productivity, microbulbs



УДК 63.633:31/.37

## **ОЦІНКА ПЛАСТИЧНОСТІ ТА СТАБІЛЬНОСТІ НОВИХ СОРТІВ СОЇ В РІЗНИХ ҐРУНТОВО-КЛІМАТИЧНИХ ЗОНАХ**

**Л. М. ПРИСЯЖНЮК**, старший науковий співробітник

**Н. П. ЩЕРБИНІНА**, старший науковий співробітник

**Л. В. ШАЮК**, кандидат біологічних наук

**Л. В. КОРОЛЬ**, старший науковий співробітник

**С. О. ГОНЧАРОВА**, науковий співробітник

**А. В. КОСТЕНКО**, науковий співробітник

**І. І. КОРОВКО**, науковий співробітник

**А. В. ЗІРНЗАК**, старший науковий співробітник

*Український інститут експертизи сортів рослин*

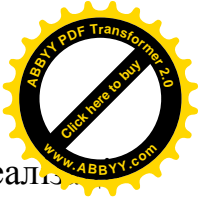
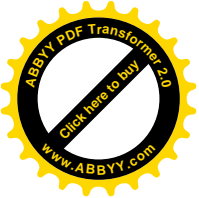
*E-mail: [prysiazhniuk\\_1@ukr.net](mailto:prysiazhniuk_1@ukr.net)*

***Анотація.** Наведено результати аналізу нових сортів сої (*Glycine max* (L.) Merr.) української та іноземної селекції за вмістом та збором білка, масою 1000 насінин та врожайністю. Досліджено закономірності зміни цих показників залежно від умов навколишнього середовища. Виділено сорти з високими показниками адаптивності перспективні для селекційного та практичного використання.*

***Ключові слова:** сорт, соя, показники якості, адаптивність, стабільність, пластичність*

Соя - найважливіша білково-олійна культура світового значення. Її насіння містить 37-42 % білка, 19-22 % олії і до 30 % вуглеводів; вегетативна маса, зібрана у фазу наливання бобів, багата білками (16-18 %), вуглеводами і вітамінами. За амінокислотним складом протеїн сої близький до білка курячих яєць, а масло відноситься до легкозасвоюваного і містить жирні кислоти, які не синтезуються організмом тварин і людини [1]. Білок сої розглядається як найбільш високоякісне і дешеве рішення проблеми білкового дефіциту в світі, що обумовлює постійне збільшення значення сої в світовій економіці [5].

Конструювання адаптивних біосистем кожного регіону вирощування сої є передумовою підвищення потенційної її продуктивності та екологічної

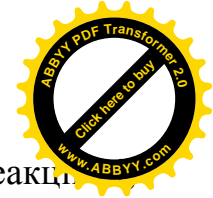
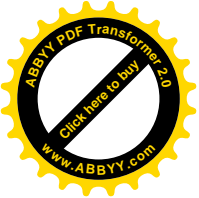


стійкості, яка базується на розміщенні їх у найбільш сприятливих для реалізації потенційної продуктивності агрокліматичних умовах [2]. Тому, для виявлення високопластичних сортів, здатних забезпечувати добрі результати в різних ґрунтово-кліматичних зонах потрібно вивчати стабільність і пластичність ознак сортів сої, оскільки вони дозволяють виявити дію абіотичних і біотичних факторів певного середовища на генотип і встановити ступінь їх впливу на ріст, розвиток і врожайність.

**Мета дослідження** - вивчення стабільності й агроекологічної пластичності, за якими оцінюють потенціал адаптивності нових сортів сої ранньостиглої групи в умовах Степу, Лісостепу та Полісся, а також виокремлення серед них найбільш перспективних сортів.

**Матеріали і методи дослідження.** Матеріалом для досліджень слугували 10 сортів сої ранньостиглої групи: Кіото, Кассіді, Рапсодія, Дана, Відра, Бісер, Тріада, НС Зеніт, Діадема Поділля, Софія, внесені до Державного реєстру сортів, придатних для поширення в Україні в 2014-2015 рр. Експериментальні польові дослідження проводились у чотирьох установах державної системи охорони прав на сорти рослин, які розташовані в різних ґрунтово-кліматичних зонах (Вінницька, Городенківська Дніпропетровська та Полтавська дослідні станції), лабораторні – у відділі лабораторних досліджень із кваліфікаційної експертизи сортів рослин Українського інституту експертизи сортів рослин у відповідності з методикою проведення державної науково-технічної експертизи та кваліфікаційної (технічної) експертизи сортів рослин із визначення показників придатності до поширення впродовж 2011-2014 рр. [3]. Аналіз стабільності і пластичності показників урожайності, вмісту та збору білка, маси 1000 насінин проводили за методикою Ебергарда-Рассела [8].

Коефіцієнт регресії досліджуваної ознаки сорту, отриманий з урахуванням індексів середовища, оцінених через середній показник усіх сортів, що були вирощені в цих умовах, прийнято називати коефіцієнтом екологічної пластичності ( $b$ ), яка відображає регресію сорту на зміну умов

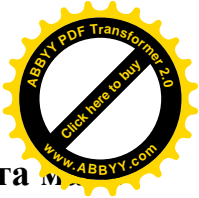
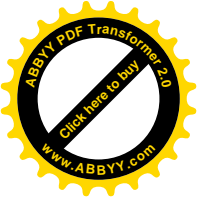


середовища, а відношення дисперсії до регресії – стабільністю ( $W$ ) реакції [7].

За відхиленням коефіцієнта регресії від середньо групового значення визначають пластичність досліджуваних сортів: з коефіцієнтом  $b > 1$  відносять до високопластичних, за  $1 > b = 0$  сорт відносять до відносно низькопластичних. Якщо показник пластичності сорту не відрізняється від одиниці, тоді сорт за реакцією на зміну умов середовища не відрізняється від середньої групової. Низькопластичні сорти з низьким значенням  $W$  є широко адаптованими генотипами, оскільки вони не знижують значення ознаки в лімітованих умовах факторів середовища та безлімітному середовищі, але вони є нерентабельними для вирощування та відносяться до екстенсивних сортів. Високопластичні сорти з низьким значенням  $W$  відносяться до сортів інтенсивного типу, з позитивною стабільною реакцією на покращення умов вирощування [6; 9].

Дослідження з екологічної пластичності й стабільності проводились з використанням програмного забезпечення *MS Excel* і *MathCAD*.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Результати аналізу екологічної пластичності і стабільності досліджуваних ознак сортів сої вказують на реакцію генотипів на сукупну дію і ступінь впливу абіотичних та біотичних факторів середовища. Це зумовлює адаптаційну здатність до лімітуючих факторів та стресових явищ, толерантність й стійкість до негативних чинників, мінливість певних кількісних ознак, зростання якості продукції. Отримані показники екологічної пластичності та стабільності досліджуваних сортів в різних зонах України (Степ, Лісостеп, Полісся) за показниками урожайності, масою 1000 насінин, вмістом та збором білка представлені в табл. 1 і 2.

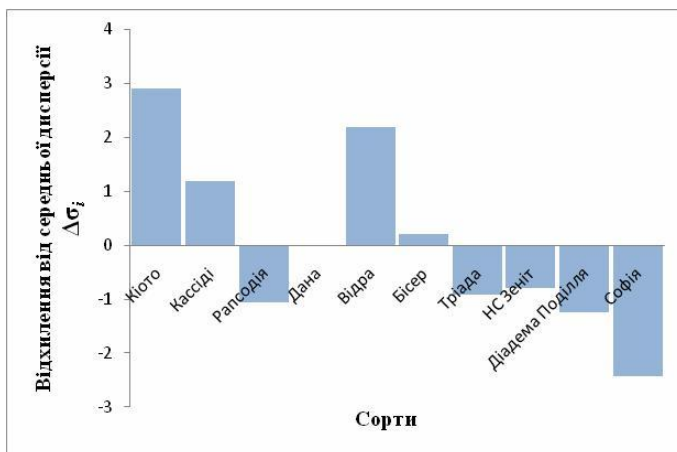


# 1. Показники пластичності та стабільності ознак урожайності та маси

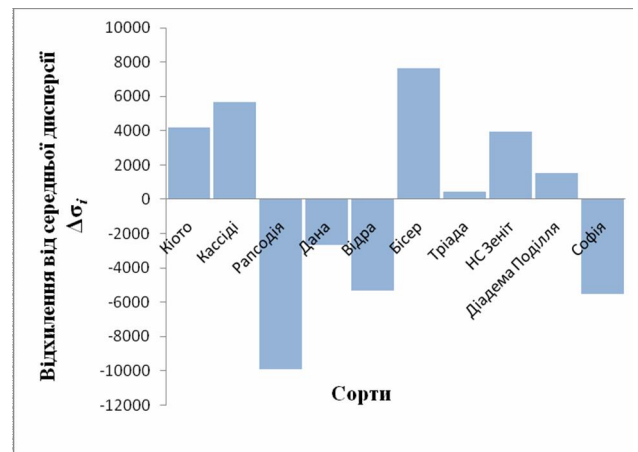
## 1000 насінин сої в різних ґрунтово-кліматичних зонах

Сорт	Урожайність, т/га		Маса 1000 насінин, г	
	b	W	b	W
Кіото	0,863	$5,416 \times 10^5$	-0,022	$3,423 \times 10^9$
Кассіді	0,785	$5,522 \times 10^5$	-0,00052	$3,41 \times 10^9$
Рапсодія	0,586	$5,674 \times 10^5$	0,061	$3,575 \times 10^9$
Дана	1,159	$5,834 \times 10^5$	1,299	$3,537 \times 10^9$
Відра	1,374	$5,75 \times 10^5$	1,335	$3,571 \times 10^9$
Бісер	1,244	$5,879 \times 10^5$	1,828	$3,471 \times 10^9$
Тріада	1,032	$5,838 \times 10^5$	1,379	$3,507 \times 10^9$
НС Зеніт	1,008	$5,807 \times 10^5$	1,534	$3,487 \times 10^9$
Діадема Поділля	1,073	$5,904 \times 10^5$	1,031	$3,478 \times 10^9$
Софія	0,876	$5,948 \times 10^5$	1,555	$3,593 \times 10^9$

Згідно отриманих даних за показником урожайності можна виділити високопластичні сорти Кіото, Кассіді, Відра, відносно низькопластичними є сорти Рапсодія, Тріада, НС Зеніт, Діадема Поділля, Софія. Високопластичними сортами за ознакою маси 1000 насінин виявились Кіото, Кассіді, Бісер, НС Зеніт, Діадема Поділля, низькопластичним є сорт Рапсодія. Це підтверджується і графічним матеріалом, а саме – аналізом відхилень від середньогрупової дисперсії (рис. 1 а-б). Так, високопластичні сорти істотно відрізняються від решти матеріалу, і їх дисперсії розташовані в верхній частині шкали.



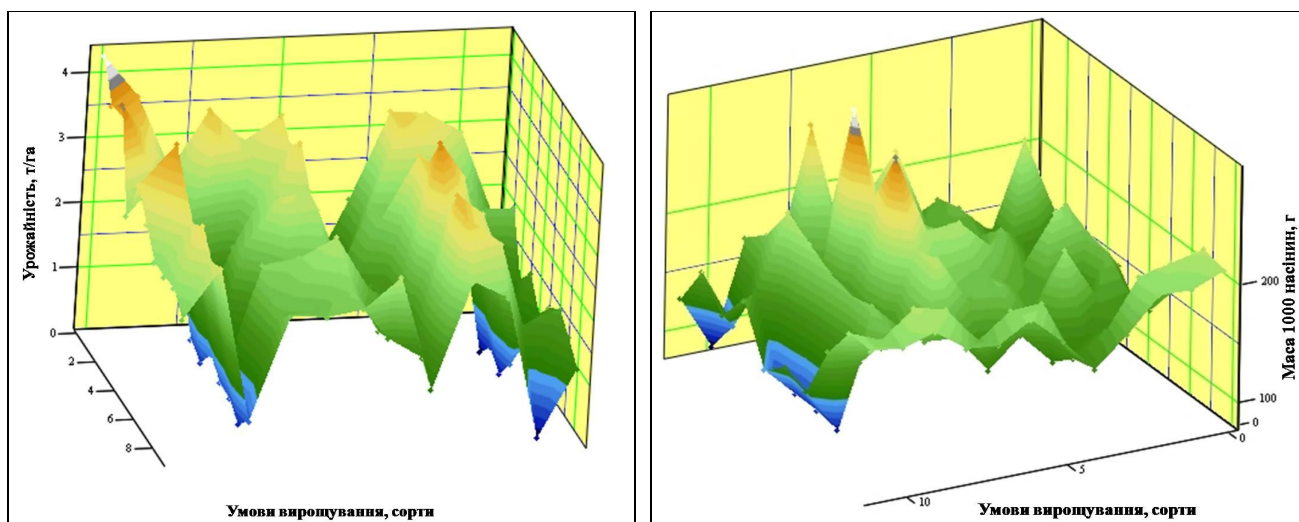
а)



б)

**Рис. 1. Аналіз відхилень від середньої дисперсії за а) врожайністю та б) масою 1000 насінин сортів сої**

На основі отриманих даних побудовано тривимірні графіки залежності урожайності і маси 1000 насінин досліджуваних сортів сої від сортових особливостей та умов вирощування в різних ґрунтово-кліматичних зонах. Графічний аналіз поверхонь відгуку показав, що високопластичні сорти сої впродовж трьох років формують стабільно високу урожайність та масу 1000 насінин (рис. 2 а-б).



а)

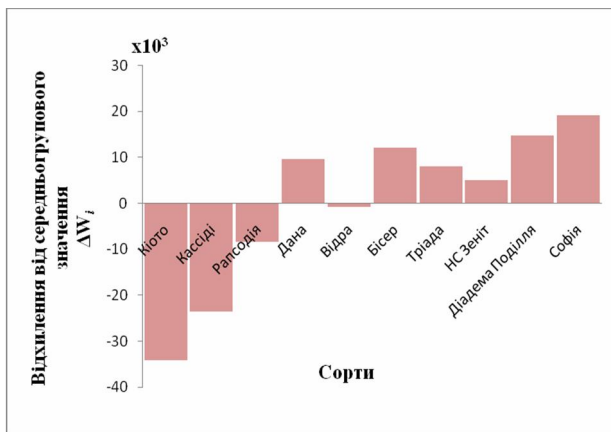
б)

**Рис. 2. Залежність а) урожайності та б) маси 1000 насінин сортів сої від умов вирощування та сортових особливостей**

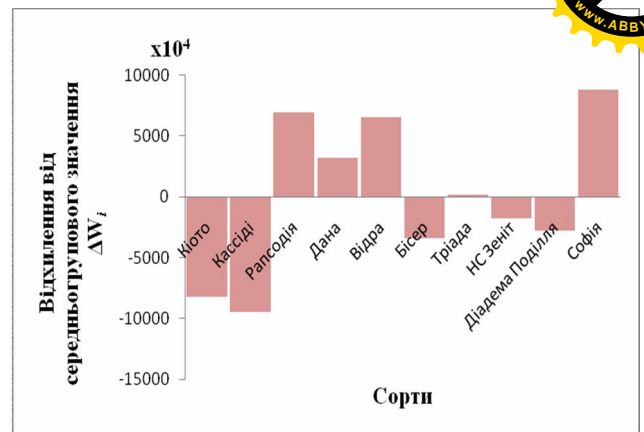
Аналіз відхилення ознаки стабільності також є інформативним за визначення середньо групової константи. Це пояснюється умовністю показника стабільності на фоні пластичності, оскільки за порівняння з нормою реакції інших генотипів можна виділити в групі кращі й гірші сорти сої.

Результати проведеного дослідження свідчать, що за ознаками врожайності та маси 1000 насінин до сортів інтенсивного типу належать сорти Кіото та Кассіді (рис. 3 а-б).

Показники відхилень ознаки врожайності для сорту Відра та маси 1000 насінин для сортів Бісер, НС Zenit та Діадема Поділля свідчать про те, що вони належать до сортів інтенсивного типу, які максимально придатні для інтенсивних технологій.



а)



б)

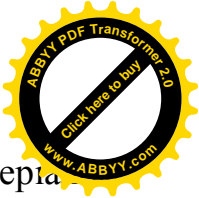
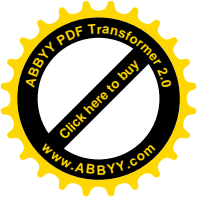
**Рис. 3. Відхилення ознаки стабільності а) урожайності та б) маси 1000 насінин сортів сої**

Як свідчать результати аналізу, на стабільність та пластичність досліджуваних сортів сої за ознаками вмісту і збору білка високопластичними виявились сорти Киото, Кассіді, Відра та Бісер (табл. 2).

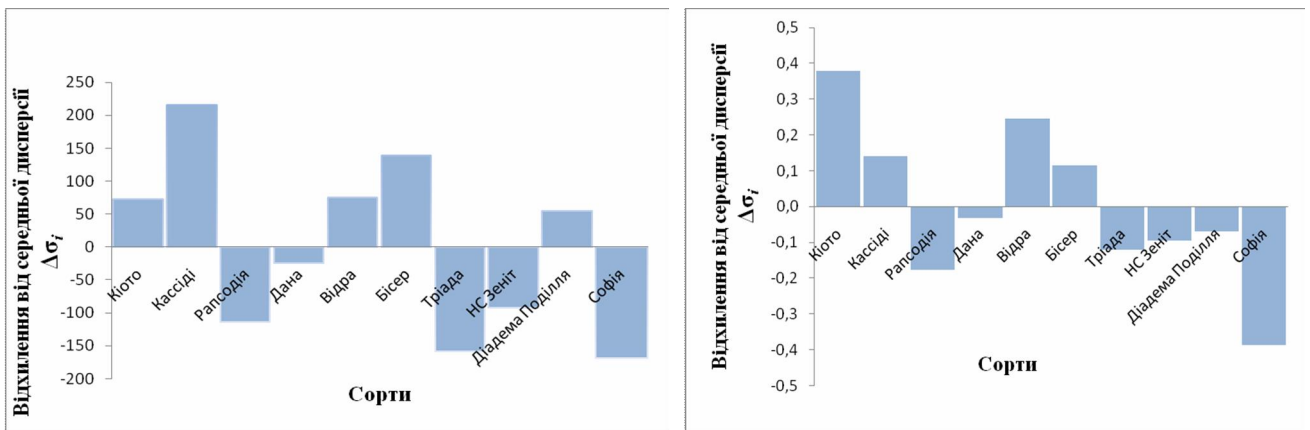
**2. Показники пластичності та стабільності ознак вмісту та збору білка сої в різних ґрунтово-кліматичних зонах**

Сорт	Вміст білка, %		Збір білка, т /га	
	b	W	b	W
Киото	0,76	1,818×10 <sup>8</sup>	0,975	6,241×10 <sup>4</sup>
Кассіді	0,419	1,803×10 <sup>8</sup>	0,797	6,34×10 <sup>4</sup>
Рапсодія	0,354	1,839×10 <sup>8</sup>	0,501	6,513×10 <sup>4</sup>
Дана	1,071	1,829×10 <sup>8</sup>	1,117	6,704×10 <sup>4</sup>
Відра	1,713	1,82×10 <sup>8</sup>	1,343	6,592×10 <sup>4</sup>
Бісер	1,155	1,812×10 <sup>8</sup>	1,286	6,692×10 <sup>4</sup>
Тріада	0,75	1,844×10 <sup>8</sup>	1,052	6,744×10 <sup>4</sup>
НС Зеніт	1,286	1,837×10 <sup>8</sup>	1,025	6,686×10 <sup>4</sup>
Діадема Поділля	1,278	1,821×10 <sup>8</sup>	1,109	6,733×10 <sup>4</sup>
Софія	1,214	1,846×10 <sup>8</sup>	0,794	6,898×10 <sup>4</sup>

За даними таблиці 2, до низькопластичних сортів за ознакою вмісту білка належать сорти Рапсодія, Тріада, НС Зеніт та Софія. Аналіз відхилень від середньогрупової дисперсії ознаки збору білка показав, що низькопластичними сортами виявились сорти Рапсодія, Дана, Тріада, НС Зеніт, Діадема Поділля та Софія. Віднесення досліджуваних сортів сої до різного типу за відхиленням від



середньогрупового значення дисперсії підтверджуються графічним матеріалом (рис. 4 а-б).



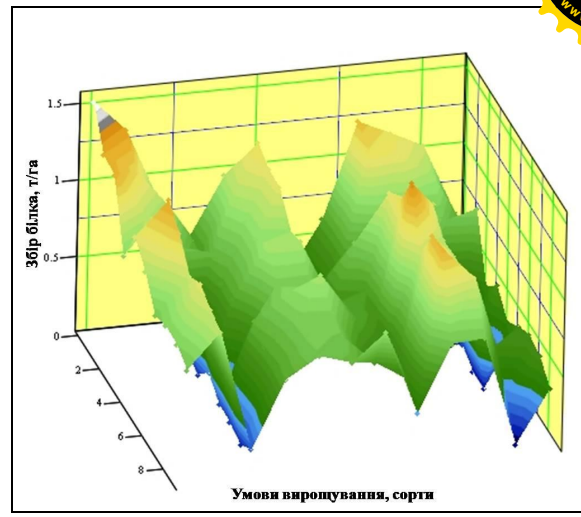
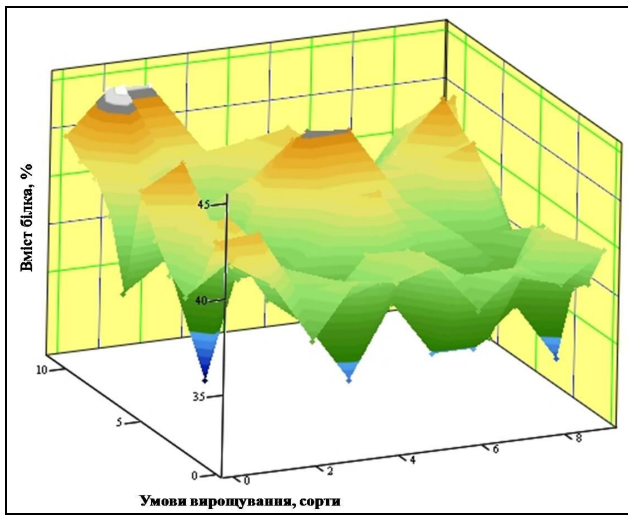
а)

б)

**Рис. 4. Аналіз відхилень від середньої дисперсії за а) вмістом білка та б) збором білка сортів сої**

Згідно отриманих даних, за ознакою вмісту білка високопластичним генотипом виявився також сорт Діадема Поділля. Деякі з досліджуваних сортів сої за своїм значенням пластичності досліджуваних ознак не відрізняються від групового стандарту і даний показник знаходиться в межах одиниці, або є дуже близьким до одиниці.

Графічний аналіз тривимірних графіків залежностей, побудованих на основі залежності вмісту білка і збору білка досліджуваних сортів сої від особливостей генотипу та умов вирощування в різних ґрунтово-кліматичних зонах свідчить, що високопластичні сорти сої впродовж трьох років формують стабільно високі показники вмісту та збору білка (рис. 5 а-б).

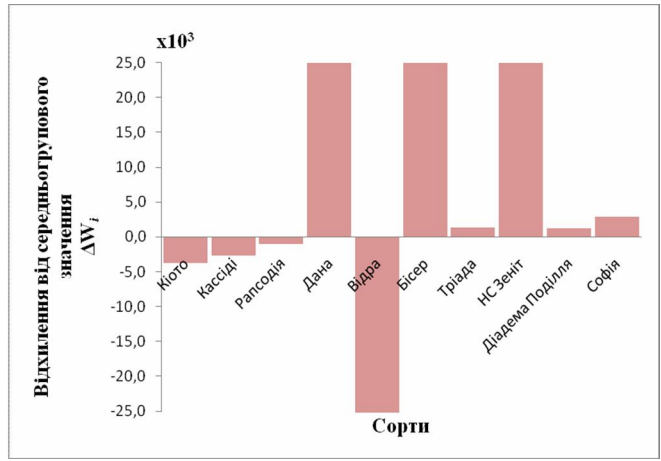
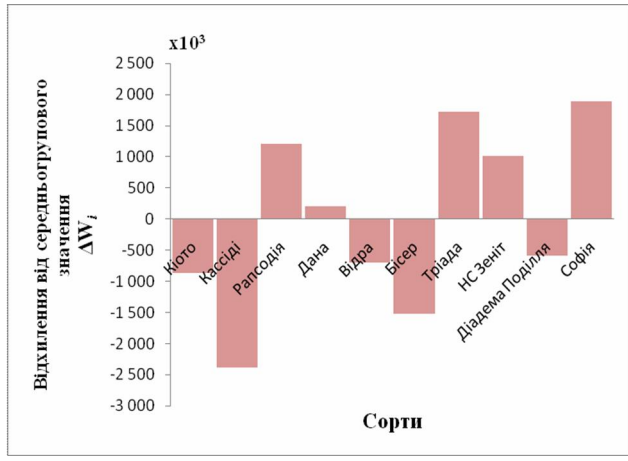


а)

б)

**Рис. 5. Залежність а) вмісту білка та б) збору білка сортів сої від умов вирощування та сортових особливостей**

В результаті наших досліджень показників пластичності і стабільності за ознаками вмісту та збору білка до сортів інтенсивного типу належать сорти Кіото, Кассіді та Відра. Аналіз відхилення від середньогрупового значення стабільності свідчить, що до сортів інтенсивного типу за ознакою вмісту білка належать також сорти Бісер та Діадема Поділля (рис. 6 а-б).

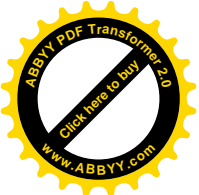


а)

б)

**Рис. 6. Відхилення ознаки стабільності за а) вмістом білка та б) збором білка сортів сої**

Слід також відмітити, за ознакою збору білка на основі отриманих даних, сорт Рапсодія є не тільки низько пластичним, а має також низьке значення  $W$ ,



що вказує на його приналежність до сортів екстенсивного типу. Це свідчить те, що він є широко-адаптованим генотипом, оскільки не знижує значення ознаки в умовах ліміту факторів середовища та в безлімітному середовищі. Проте, варто враховувати, що вирощування таких сортів є доцільним за умов низького рівня агротехнологій та обмеження факторів живлення. Сорти екстенсивного типу при застосуванні інтенсивних технологій, не забезпечують суттєвого приросту значень господарсько-цінних показників, тому можуть виявитись нерентабельними.

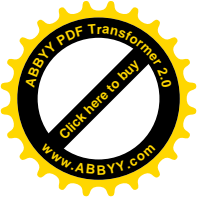
На основі аналізу стабільності та пластичності досліджуваних сортів за показниками урожайності, маси 1000 насінин, вмісту та збору білка встановлено, що сорти Кіото та Кассіді відносяться до сортів інтенсивного типу з позитивною реакцією на покращення умов вирощування, формуючи зерно з вищим вмістом білка та масою 1000 насінин, а також високими показниками урожайності та збором білка.

### **Висновки**

Оцінка пластичності і стабільності сортів сої, які були внесені в Державний реєстр сортів, придатних до поширення в Україні в 2014-2015 рр., дозволяє виділити сорти, які належать до інтенсивного типу. За результатами досліджень виявлено сорти, які здатні успішно адаптуватися до лімітуючих факторів життєзабезпечення і стресових явищ у різних ґрунтово-кліматичних зонах. Таким чином, в умовах застосування інтенсивних технологій вирощування доцільно висівати сорти Кіото і Кассіді, які належать до сортів інтенсивного типу за ознаками урожайності, масою 1000 насінин, вмістом та збором білка в різних ґрунтово-кліматичних зонах.

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Заостровных В. И. Экологическая пластичность коллекционных образцов сои различных групп спелости / В. И. Заостровных, М. С. Ракина // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2010. - № 9 (71). – С. 40-43.



2. Іванюк С. В. Формування сортових ресурсів сої відповідно біокліматичного потенціалу регіону вирощування / С. В. Іванюк // Корми і кормо виробництво. Виробництво та використання сої у тваринництві і птахівництві. – 21012. - №71. – С. 34-40.

3. Методика проведення експертизи та державного випробування сортів рослин зернових, круп'яних та зернобобових культур / Охорона прав на сорти рослин: офіц. бюл. – К.: Алефа, 2003. – Вип. 2, Ч. 3. – 241 с.

4. Присяжнюк О. І. Стабільність та пластичність сортів гороху селекції Уладово-Люлинецької дослідно-селекційної станції / О. І. Присяжнюк, Е. А. Калюжна, В. В. Українець, О. П. Шевченко // Цукрові буряки. - 2013. - № 6. - С. 19-20.

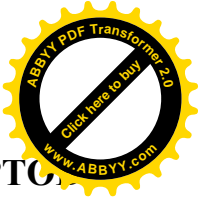
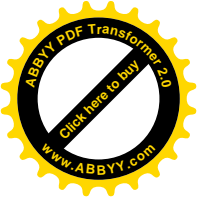
5. Ракина М. С. Экологическая пластичность образцов сои из мирового генофонда коллекции ВИР по основным показателям качества семян / М. С. Ракина // Достижения науки и техники АПК. – 2011. - №2. – С. 12-14.

6. Сокол Т. В. Екологічна пластичність та стабільність зразків генофонду гороху за стійкістю до хвороб та шкідників / Т. В. Сокол, В. П. Петренкова, Л. Н. Кобизева // Селекція і насінництво. - 2012. – Вип. 101. – С. 20-29.

7. Улич Л. І. Екологічна пластичність нових сортів озимої пшениці за різних ґрунтово-кліматичних умов / [Л. І. Улич, О. Л. Улич, Г. М. Каражбей, С. М. Гринів] // Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва. - 2014. - Вип. 85. - С. 73-78.

8. Namorato H. Comparing Biplot Multivariate Analyses with Eberhart and Russell' method for genotype x environment interaction Crop / H. Namorato, G.V. Miranda, L.V. de Souza, L.R. Oliveira, R.O. DeLima, Eder E. Mantovani // Breeding and Applied Biotechnology. – 2009. - №9. – P. 299-307.

9. Temesgen T. Yield stability and relationships among stability parameters in faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes / T. Temesgen, G. Keneni, T. Sefera, M. Jarso // The Crop Journal. – 2015. – Vol. 3. - №3. – P. 258–268.



## ОЦЕНКА ПЛАСТИЧНОСТИ И СТАБИЛЬНОСТИ НОВЫХ СОРТОВ СОИ В РАЗНЫХ ПОЧВЕННО-КЛИМАТИЧЕСКИХ ЗОНАХ

Л. М. Присяжнюк, Н. П. Щербинина, Л. В. Шаюк, Л. В. Король,  
С. А. Гончарова, А. В. Костенко, И. И. Коровко, А. В. Зирзак

*Аннотация.* Приведены результаты анализа новых сортов сои (*Glycine max* (L.) Merr.) украинской и зарубежной селекции по содержанию и сбору белка, массе 1000 семян и урожайности. Исследованы закономерности изменения этих показателей в зависимости от условий окружающей среды. Выделены сорта с высокими показателями адаптивности перспективные для селекционного и практического использования.

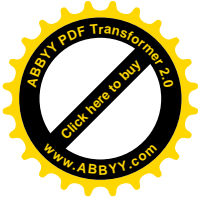
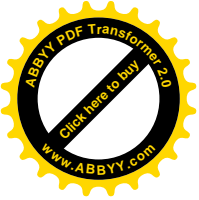
**Ключевые слова:** сорт, соя, показатели качества, адаптивность, стабильность, пластичность

## ESTIMATION OF PLASTICITY AND STABILITY OF NEW VARIETIES OF SOYBEAN IN DIFFERENT SOIL-CLIMATIC ZONES

L. Prysiazhniuk, N. Shcherbynina, L. Shaiuk, L. Korol,  
S. Honcharova, I. Korovko, A. Kostenko, A. Zirzак

*Abstract.* The results of the analysis of new Ukrainian and foreign breeding soybean varieties (*Glycine max* (L.) Merr.) of the contents of protein, weight of 1000 seeds and productivity are presented. The regularity of these parameters were studied depending on environmental conditions. Varieties with high adaptability promising were allocated for selection and practical use.

**Keywords:** variety, soybeans, quality, adaptability, stability, plasticity



УДК 631.468:631.81:579.64

**ВПЛИВ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ПІДВИЩЕННЯ  
АГРОХІМІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТОВАНОГО  
ОРГАНІЧНОГО ДОБРИВА**

**М. Й. ШЕВЧУК**, доктор сільськогосподарських наук

*Волинський національний університет імені Лесі Українки*

**Н. С. КОВАЛЬЧУК**, старший викладач,

**Т. М. КОЛЕСНИК**, кандидат сільськогосподарських наук

*Національний університет водного господарства та природокористування*

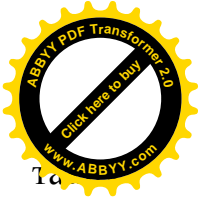
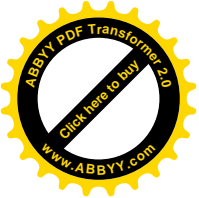
*E-mail: [n.s.kovalchuk@nuwm.edu.ua](mailto:n.s.kovalchuk@nuwm.edu.ua)*

***Анотація.** Проаналізовано ефективність дії біопрепаратів в комплексі з органо-мінеральною системою удобрення на агрохімічні показники родючості дерново-слабопідзолистих піщаних ґрунтів, яка виявляється в підвищенні агрохімічних показників родючості до 28,6 % у прямій дії і до 41,6 % у післядії.*

***Ключові слова:** агрохімічна ефективність післядії добрив, ферментоване органічне добриво, ґрунт, фракційний склад мінеральних фосфатів*

Проблема оптимізації живлення сільськогосподарських культур і відтворення родючості ґрунтів набуває особливої актуальності в сучасних умовах сільськогосподарського виробництва, перед яким ставляться завдання стабільної підтримки високої продуктивності агроecosystem та мінімізація техногенного навантаження з метою отримання екологічно безпечної сільськогосподарської продукції. Тому, інтенсивне землеробство із застосуванням високих норм міңдобрив і системами хімічного захисту рослин поступово втрачає свої позиції.

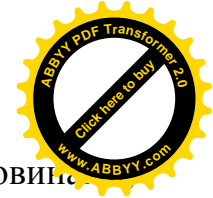
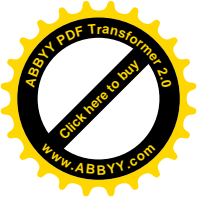
Натомість нині в Україні й більшості державах світу критично не вистачає традиційних органічних добрив, застосування яких дає відносно невисокі показники енергоефективності функціонування агроecosystem в цілому. Тому біоферментація органічних відходів з метою отримання високоякісних органічних добрив та вловлювання енергії у вигляді біогазу є досить перспективним шляхом підвищення енергоефективності



сільськогосподарського виробництва. Але навіть застосування високоякісних органічних добрив як продукти біоферментації органічних відходів рослинництва та тваринництва не вирішує проблеми забезпечення збалансованого живлення сільськогосподарських культур.

Загальновідомо, що органічні добрива характеризуються високим вмістом вуглецю, азоту, більшості мікроелементів, але вміст таких важливих макроелементів мінерального живлення як фосфор та калій є недостатнім для забезпечення збалансованого живлення сільськогосподарських культур. Тому необхідно додавати ці елементи у формі мінеральних добрив, надаючи перевагу орґано-мінеральним системам удобрення. Водночас невирішеною залишається проблема непродуктивних втрат фосфатів міндобрив за рахунок ретроградації та втрат азоту міндобрив за рахунок інтенсивної денітрифікації. Тому застосування біопрепаратів на основі ефективних мікроорґанізмів, які сприяли б регулюванню процесів непродуктивних втрат фосфору та азоту добрив, а також мобілізації поживних речовин ґрунтових резервів, є досить актуальним питанням.

Дослідженнями впливу мікробіологічних препаратів у комплексі із ферментованими органічними добривами на поживний режим ґрунтів займалися М. М. Городній [1], А. М. Головка [2], А. С. Кузьменко [3], В. Б. Гаврилюк, Г. М. Гаврилюк, Ю. М. Кух, В. А. Бортняк [4]. Вчені дійли висновків про високу ефективність застосування мікробіологічного препарату «Поліміксобактерин» щодо мобілізації доступних рослинам фосфатів ґрунту та добрив, який у комплексі із стимулятором росту і розвитку «Агростимулін» та азотфіксуючим мікробним препаратом «Діазофіт» здатен не лише підвищувати стійкість рослин до захворювань та стресових факторів, збільшувати врожайність, покращувати якість вирощеної продукції, а й забезпечити вищу економічну ефективність порівняно з використанням мінеральних добрив [5]. Біопрепарат «АГАТ 25» оцінюється вченими як ефективний біофунгіцид і стимулятор росту й розвитку рослин. Біопрепарат «Байкал ЕМ-1» позиціонується виробниками, агрономами і вченими як унікальний комплекс ефективних мікроорґанізмів, між якими існують тісні асоціації муталістичного симбіозу, тобто має місце явище



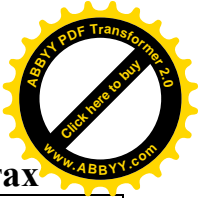
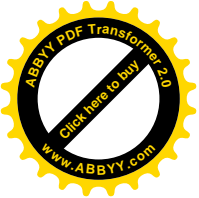
синтропії – взаємного забезпечення потрібними речовинами зокрема вітамінами, стимуляторами тощо. Тому вивчення механізму біологічної дії мікробів препарату «Байкал ЕМ-1» становить значний науковий і практичний інтерес.

Останні дослідження вчених підтверджують високу ефективність вживання ряду біопрепаратів в комплексі з органічними і органо-мінеральними системами удобрення не лише з метою оптимізації живлення рослин і підвищення енергетичної і економічної ефективності землеробства, але і при необхідності понизити токсичність ґрунтів, яка сформувалася в результаті монокультури і при забрудненні ґрунтів нафтопродуктами, пестицидами і важкими металами унаслідок техногенної діяльності людини [6, 7, 8, 9].

**Мета досліджень** - оцінка найбільш ефективного типу мікробіологічного препарату і способу його застосування у поєднанні із органо-мінеральною системою удобрення на основі ФОД для покращення агрохімічних показників дерново-слабопідзолистого ґрунту.

**Матеріали і методи досліджень.** Дослідження агрохімічної ефективності застосування мікробіологічних препаратів в комплексі із органо-мінеральною системою удобрення на основі ферментованого органічного добрива (ФОД) проводилися у вегетаційному досліді, де вирощувався овес на зелену масу. Післядію добрив і біопрепаратів вивчали у тих же вегетаційних посудинах в умовах вирощування редьки олійної на зелену масу. Повторність дослідів – триразова. Схему застосування добрив і мікробіологічних препаратів у вегетаційному досліді наведено у таблиці 1.

Ферментоване органічне добриво (ФОД) виготовлено на основі торфу і курячого посліду (співвідношення торф:послід – 2:1). Вміст основних поживних елементів у ФОД : N – 2,76 %; P – 3,23 %; K – 1,12 %, органічної речовини – 70 %. Вміст фосфору в даному добриві є досить високим задля забезпечення умов відтворення фосфатного режиму ґрунту, враховуючи мінімальний рекомендований вченими вміст  $P_2O_5$  в органічних добривах не менше 0,3 % [6].



## 1. Схема вегетаційного дослідження на дерново-слабопідзолистих ґрунтах

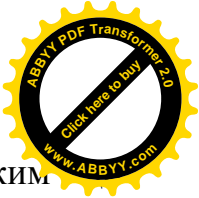
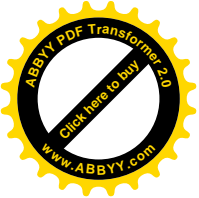
№ варіанта	Варіант дослідження	Надходження із добривами, кг/га				Співвідношення у системі застосування добрив		
		N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	C	C:N	N:P	K:P
1	Контроль (без добрив)	-	-	-	-	-	-	-
2	ФОД– 10 т/га + N <sub>120</sub> K <sub>120</sub> - фон	244	145	170	1827	7,48	1,68	1,17
3	Фон + P* <sub>90</sub>	244	235	170	1827	7,48	1,04	0,72
4	Фон + P <sub>90</sub>	244	235	170	1827	7,48	1,04	0,72
5	Фон + P <sub>90</sub> + АГАТ-25К - (о.г.)	244	235	170	1827	7,48	1,04	0,72
6	Фон + P <sub>90</sub> + АГАТ-25К - (о.н.)	244	235	170	1827	7,48	1,04	0,72
7	Фон + P <sub>90</sub> + Байкал ЕМ-1 - (о.г.)	244	235	170	1827	7,48	1,04	0,72
8	Фон + P <sub>90</sub> + Байкал ЕМ-1 - (о.н.)	244	235	170	1827	7,48	1,04	0,72
9	Фон + P <sub>90</sub> + Поліміксобактерин - (о.г.)	244	235	170	1827	7,48	1,04	0,72
10	Фон + P <sub>90</sub> + Поліміксобактерин - (о.н.)	244	235	170	1827	7,48	1,04	0,72

**Примітки:** P\*<sub>90</sub> - в якості фосфатного мінерального добрива застосовували суперфосфат простий гранульований; P<sub>90</sub> - у якості фосфатного мінерального добрива застосовували зернисті фосфорити (род. Милятин); о.н. - обробка насіння мікробіологічним препаратом, о.г. - обробка ґрунту мікробіологічним препаратом.

Як показують результати розрахунків надходження елементів живлення із добривами та відповідних співвідношень між елементами живлення у досліді, маємо значне перевищення надходження фосфатів із добривами на варіантах 3-10. Оптимальне співвідношення надходження елементів живлення із добривами для дерново-підзолистих ґрунтів становить: N:P:K=1,3:1:1,3, а надходження добрив у вегетаційному досліді (варіанти 3-10) створює перевищення оптимального співвідношення P:N на 20 % та перевищення оптимального співвідношення P:K на 80 %.

Проведення досліджень передбачало виконання агрохімічних аналізів досліджуваного ґрунту вегетаційних посудин за методиками: вміст аміачного та нітратного азоту – за ДСТУ 4729: 2007; визначення рухомих сполук фосфору і калію - методом Кірсанова в модифікації ННЦ ІГА, рухомого фосфору - за Олсеном, МР визначення рухомих форм фосфору в ґрунті, Москва, 1975 р., рН<sub>сол</sub> – потенціометрично.

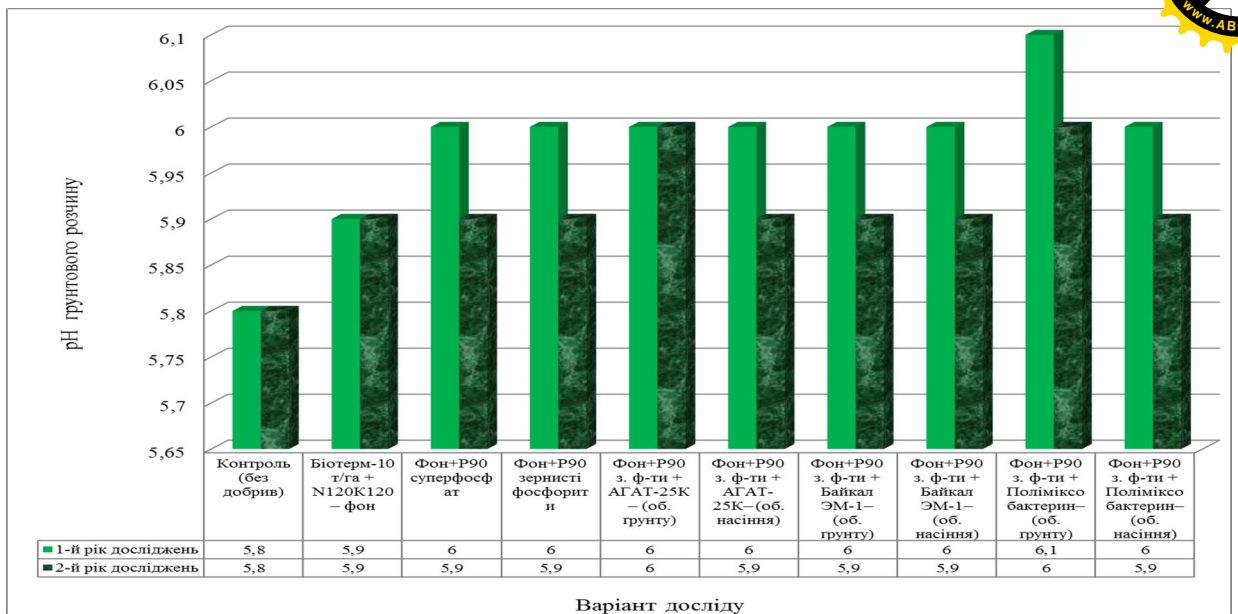
**Результати досліджень та їх обговорення.** Окисно-відновні умови дерново-слабопідзолистого ґрунту без застосування добрив на кінець 1-го року



вегетаційних досліджень (див. рис. 1) характеризувалися близьким нейтрального значенням  $pH_{KCl}$  (5,8 од.), водночас мало місце зменшення  $pH_{KCl}$  на 6,5 % відносно моменту закладання досліджу. Варіанти удобрення позитивно вплинули на окисно-відновні умови, стримуючи підкислення ґрунту і забезпечуючи на 1,72-5,17 % більші показники  $pH_{KCl}$  відносно контролю. Серед досліджуваних варіантів найбільший ефект оптимізації окисно-відновних умов відмічено за обробки ґрунту поліміксобактерином, що зумовлено мікробіологічним складом даного біопрепарату, який дозволяє мобілізувати малорозчинні фосфати ґрунту та органічних добрив, які і стабілізують  $pH_{KCl}$ .

На кінець 1-го року післядії досліджуваних біопрепаратів і органо-мінеральної системи удобрення відмічено зменшення показника  $pH_{KCl}$  до 1,7 % відносно року прямої дії. Слід зауважити, що на контролі даний показник не змінився. Не відбулося зменшення  $pH_{KCl}$  і на варіанті 5 (Фон+P<sub>90</sub> з. ф-ти + АГАТ-25К – (обробка ґрунту)), що свідчить про досить високу здатність біопрепарату АГАТ-25К оптимізувати та стабілізувати окисно-відновні умови ґрунту.

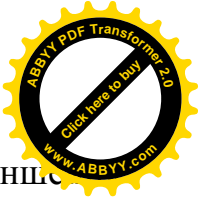
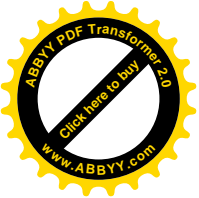
Аналіз змін вмісту суми мінеральних сполук азоту (див. рис. 1) на варіантах вегетаційного досліджу на кінець періоду вегетації та прямої дії добрив та біопрепаратів показав наступне. На контролі вміст суми мінеральних сполук азоту становив 10 мг/кг (склад мінеральних форм азоту: N-NH<sub>4</sub>-70 %, N-NO<sub>3</sub>-30 %). Застосування добрив спричинило збільшення вмісту азоту мінеральних сполук на 40-50 % до контролю. Разом з тим застосування фосфору у формі зернистих фосфоритів виявилось більш ефективним (на 10 %) відносно фосфору у формі суперфосфату.



**Рис. 1. Вплив біопрепаратів та органо-мінеральної системи удобрення на  $pH_{KCl}$  ґрунтового розчину дерново-слабопідзолистих ґрунтів (1-й рік досліджень:  $Sx = \%$ ,  $HP_{05} = \text{од. pH}$ ; 2-й рік досліджень:  $Sx = \%$ ,  $HP_{05} = \text{од. pH}$ .)**

Застосування біопрепаратів у комплексі з досліджуваною органо-мінеральною системою удобрення спричинило зростання вмісту суми мінеральних форм азоту у дерново-слабопідзолистому ґрунті на 40-100 % до контролю. Найбільший ефект відмічено за застосування АГАТ-25К для обробки ґрунту (приріст до контролю становив 100 %), тоді як обробка насіння цим же препаратом в комплексі із органо-мінеральною системою удобрення забезпечила приріст вмісту суми мінеральних форм азоту на 70 % до контролю. На другому місці за агрохімічною ефективністю щодо збільшення вмісту суми мінеральних форм азоту виявився поліміксобактерин, обробка ґрунту яким в комплексі із органо-мінеральною системою удобрення забезпечила приріст до контролю на рівні 90 %, тоді як обробка насіння – лише на 70 %. Найменшу агрохімічну ефективність щодо підвищення вмісту суми мінеральних форм азоту відмічено за застосування біопрепарату Байкал ЕМ-1, в результаті чого приріст відповідного показника до контролю відповідно становив 70 % за обробки ґрунту та 40 % за обробки насіння.

Якщо відстежити вплив добрив і біопрепаратів на співвідношення між амонійною і нітратною формами азоту, то слід відмітити, що органо-мінеральна система удобрення в цілому сприяла перегрупованню форм азоту в напрямку



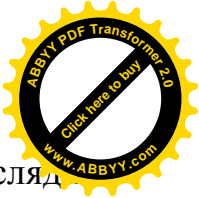
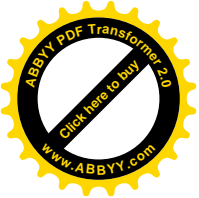
збільшення частки азоту амонійних сполук до 53 % та відповідного зменшення частки азоту нітратних сполук до 47 %. Застосування біопрепаратів посилило цей ефект, в результаті чого вдалося збільшити частку азоту амонійних сполук до 55-64 % та зменшити частку азоту нітратних сполук до 45-36 %. Загалом обробка насіння всіма досліджуваними біопрепаратами посилювала ефект такого перегрупування мінеральних сполук азоту в напрямку зростання частки амонійного азоту над часткою нітратного азоту. Найбільш ефективним серед досліджуваних біопрепаратів створив Байкал ЕМ-1.

Якщо взяти до уваги біохімічний ланцюг перетворення азотистих сполук ґрунту, то процес амоніфікації передуює процесові нітрифікації. Тому збільшення частки амонійних сполук азоту свідчить про уповільнення процесів нітрифікації, що є досить ефективним для попередження непродуктивних втрат азоту добрив із ґрунту. Тому, на даному етапі неможливо виявити найбільш ефективний біопрепарат щодо відтворення родючості дерново-слабопідзолистого ґрунту.

Дослідження 1-го року післядії біопрепаратів у комплексі із органо-мінеральною системою удобрення на вміст мінеральних форм азоту у дерново-слабопідзолистому ґрунті показали наступне. На контролі вміст мінеральних форм азоту становив 7,0 мг/кг, що свідчить про його зменшення на 30 % відносно показника першого року досліджень. Разом з тим у складі мінеральних форм азоту відбулося несуттєве збільшення частки азоту амонійних сполук за рахунок зменшення частки азоту нітратних сполук, що може свідчити про деяку тенденцію до стабілізації азотного фонду ґрунту в майбутньому без застосування добрив.

На варіанті фону (ФОД-10 т/га+N<sub>120</sub>K<sub>120</sub>) зменшення сумарного вмісту азоту мінеральних сполук до першого року досліджень становило 20 %, водночас відмічено тенденцію до зменшення частки азоту амонійних сполук за рахунок зростання частки азоту нітратних сполук.

Додавання фосфору міндобрив до фонові схеми удобрення не сприяло істотному збільшенню вмісту азоту мінеральних сполук, при цьому на кінець року прямої дії добрив більш ефективним щодо непрямого регулювання



азотного фонду ґрунту виявилися зернисті фосфорити, тоді як у післяд  
навпаки – суперфосфат. Тому зернисті фосфорити та суперфосфат мають  
приблизно рівноцінний ефект щодо непрямого регулювання вмісту азоту  
мінеральних сполук у дерново-слабопідзолистих ґрунтах.

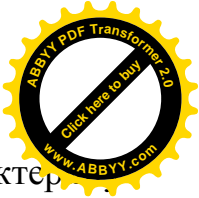
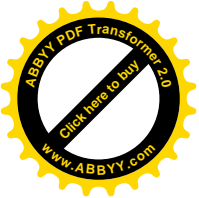
Окремі біопрепарати (зокрема АГАТ-25К за обробки насіння та  
поліміксобактерин за обробки ґрунту) стримували процеси зменшення вмісту у  
ґрунті азоту мінеральних сполук відносно варіанту 4 (Фон+P<sub>90 з. ф-ти</sub>) до 8,2-9,5 %.  
Водночас найбільш ефективним виявилось застосування поліміксобактерину  
для обробки ґрунту.

Наступним завданням вегетаційних досліджень була оцінка ефективності  
біопрепаратів в комплексі із органо-мінеральною системою удобрення щодо  
регулювання вмісту рухомих форм фосфору у дерново-слабопідзолистих  
ґрунтах. Рухомі форми фосфору у ґрунті досліджувалися паралельно за двома  
методиками – Олсена та Кірсанова. Було отримано досить відмінні як абсолютні,  
так і відносні показники.

Так, результати досліджень, отримані за методикою Кірсанова, показали  
наступне. На кінець першого року досліджень на контролі вміст P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Кірс.  
становив 80 мг/кг (зменшився на 8 % до моменту закладання досліді). На інших  
варіантах досліді вміст P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Кірс. коливався в межах 85-106 мг/кг (на 6,3-32,5 %  
більше до контролю). Серед варіантів удобрення найменший приріст вмісту  
P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Кірс. забезпечив варіант фону (ФОД-10 т/га+N<sub>120</sub>K<sub>120</sub>). Додаткове  
застосування мінеральних фосфатних добрив (варіанти 3 і 4) забезпечило  
приріст вмісту P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Кірс. до контролю на рівні 17,5 %, що на 11,2 % більше від  
варіанту фону.

Застосування біопрепаратів в комплексі з досліджуваною  
орґано-мінеральною системою удобрення забезпечило приріст у ґрунті вмісту  
P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Кірс. на 17,5-32,5 % до контролю. Разом з тим обробка ґрунту біопрепаратами  
була на 5,0-6,2 % більш ефективною порівняно із обробкою насіння.

Серед досліджуваних біопрепаратів найбільший ефект на підвищення  
вмісту у ґрунті P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Кірс. (32,5 % до контролю) справило застосування АГАТ-25К

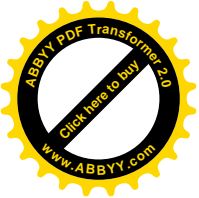


(обробка ґрунту), тоді як відповідне застосування Поліміксобактерин забезпечило приріст відповідного показника до контролю на 30,0 %, а застосування Байкал-ЕМ1 – лише на 22,5 %.

Дослідження післядії 1-го року органо-мінеральної системи удобрення в комплексі із біопрепаратами на вміст у дерново-слабопідзолистому ґрунті  $P_2O_{5\text{Кірс}}$  показали наступні результати. На контролі вміст  $P_2O_{5\text{Кірс}}$  стабілізувався на тому ж рівні, що і на кінець першого року досліджень (34 мг/кг).

Відповідні результати на кінець 1-го року досліджень, отримані за методикою Олсена, свідчать про приріст вмісту рухомих форм фосфору на контролі на 7 % відносно моменту закладання досліду. Водночас ефективність застосування добрив та біопрепаратів оцінюється приростом вмісту  $P_2O_5$  Олс. у ґрунті відносно контролю на рівні 8,7-28,3 %. Максимальною ефективністю щодо підвищення вмісту у ґрунті  $P_2O_{5\text{Олс}}$  характеризується Поліміксобактерин (обробка ґрунту), тоді як АГАТ-25К поступається йому на 4,4 %, а Байкал-ЕМ1 – на 17,4 %. В цілому ефективність обробки ґрунту перевищує відповідну ефективність обробки насіння біопрепаратами на 2,2-13,2 %. Максимальну різницю за ефективністю способу застосування біопрепаратів відмічено для Поліміксобактерину (13,1 %), а мінімальну – для Байкал-ЕМ1 (2,2 %), тоді як для АГАТ-25К – 6,5 %.

Результати вегетаційних досліджень впливу органо-мінеральної системи удобрення і біопрепаратів на вміст калію обмінного у дерново-слабопідзолистих ґрунтах показали наступне. На кінець першого року досліджень на контролі вміст  $K_2O$  зменшився на 26,5 % до моменту закладання досліду. На досліджуваних варіантах систем застосування добрив вміст  $K_2O$  перевищив контроль на 8,0-40,0 %. Разом з тим варіант фону (ФОД-10 т/га+N<sub>120</sub>K<sub>120</sub>) забезпечив приріст  $K_2O$  до контролю на рівні 12 %. Варіанти застосування різних форм фосфатного мінерального добрива суттєво відрізнялися щодо ефективності впливу на вміст  $K_2O$  у дерново-слабопідзолистому ґрунті (зернисті фосфорити виявилися на 8,0 % більш ефективними порівняно із суперфосфатом).

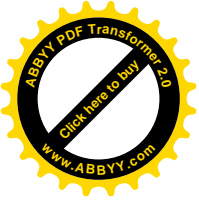


Дослідження впливу біопрепаратів на ефективність досліджуваної системи удобрення щодо регулювання вмісту  $K_2O$  у дерново-слабопідзолистому ґрунті показали приріст досліджуваного показника до контролю на рівні 16,0-40,0 %. Водночас для препарату Байкал-ЕМ1 ефективність обробки ґрунту і насіння не відрзнялися, тоді як для АГАТ-25К ефективність обробки ґрунту перевищила відповідну ефективність обробки насіння на 8,0 %, а для Поліміксобактерину – на 16,0 %.

Серед досліджуваних біопрепаратів найбільш ефективним щодо підвищення вмісту  $K_2O$  у дерново-слабопідзолистому ґрунті виявився Поліміксобактерин (обробка ґрунту), який забезпечив приріст вмісту  $K_2O$  у ґрунті на 40 % до контролю, тоді як АГАТ-25К був менш ефективним на 16 %, а Байкал-ЕМ1 – на 20 %.

## 2. Вплив мікробіологічних препаратів на фоні органо-мінеральної системи удобрення на поживний режим дерново-слабопідзолистого ґрунту

№ варіанта	Варіант досліджу	Пряма дія						Післядія 1-го року					
		рН <sub>KCl</sub>	Вміст, мг/кг					рН <sub>KCl</sub>	Вміст, мг/кг				
			N-NH <sub>4</sub>	N-N O <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -К Кірс	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -О Олс.	K <sub>2</sub> O		N-N H <sub>4</sub>	N-N O <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -К Кірс	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -О лс.	K <sub>2</sub> O
1	Контроль (без добрив)	5,8	7,2	3,1	80	46	25	5,8	5,2	2,1	76	41	20
2	ФОД- 10 т/га + N <sub>120</sub> K <sub>120</sub> - фон	5,9	8,1	7,0	85	50	28	5,9	6,0	6,1	82	46	24
3	Фон + P* <sub>90</sub>	6,0	7,0	7,0	94	55	27	5,9	6,2	6,0	90	50	23
4	Фон + P <sub>90</sub>	6,0	8,2	7,1	94	55	29	5,9	6,1	6,0	87	52	25
5	Фон + P <sub>90</sub> + АГАТ-25К - (о.г.)	6,0	11,0	9,0	106	57	31	6,0	8,2	9,0	103	55	25
6	Фон + P <sub>90</sub> + АГАТ-25К - (о.н.)	6,0	10,3	7,0	101	54	29	5,9	7,1	8,0	92	52	24
7	Фон + P <sub>90</sub> + Байкал ЭМ-1 - (о.г.)	6,0	10,1	7,1	98	51	30	5,9	6,0	7,2	90	46	23
8	Фон + P <sub>90</sub> + Байкал ЭМ-1 - (о.н.)	6,0	9,0	5,1	94	50	30	5,9	6,0	5,2	88	44	22
9	Фон + P <sub>90</sub> + Поліміксобактерин - (о.г.)	6,1	10,3	9,0	104	59	35	6,0	8,0	9,0	105	58	28
10	Фон + P <sub>90</sub> + Поліміксобактерин - (о.н.)	6,0	10,1	7,0	99	53	31	5,9	7,1	6,0	95	51	25
НСР <sub>05</sub>		0,10	1,2	0,8	2,3	1,5	1,3	0,10	1,1	0,7	2,1	1,6	1,5



## Висновки

1. Максимальний ефект покращення фосфатного поживного режиму дерново-слабопідзолистих ґрунтів на кінець 1-го року післядії забезпечує органо-мінеральна система удобрення  $N_{90}P_{60(з.ф.)}K_{120}$ +Біотерм-С-10 т/га, яка дозволяє збільшити вміст усіх фракцій мінеральних фосфатів та забезпечує максимальний рівень їх доступності рослинам за рахунок створення приросту вмісту фракцій рих.зв.-Р та СаР на 53,4 % та 15,8 % в орному шарі і на 45,8 % та 8,3 % у підорному шарі.

2. Задля оптимізації фосфатного режиму дерново-слабопідзолистих ґрунтів, враховуючи ефект 1-го року післядії, за впровадження органо-мінеральної системи удобрення на основі ФОД перевагу слід надавати зернистим фосфоритам над фосфоритним борошном, які є більш ефективними щодо створення приросту вмісту суми мінеральних фосфатів на 36,5-43,8 % і приросту вмісту фракції рих.зв.-Р на 19,2 % у орному шарі та на 13,3 % у підорному шарі відносно фосфоритного борошна.

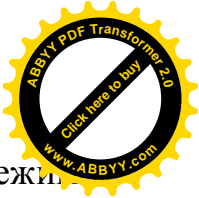
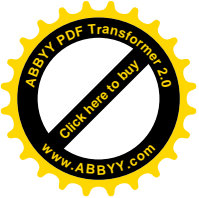
## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Городній М. М. Біотехнологічний енергетично-автономний комплекс переробки й утилізації органічних відходів/ М. М. Городній // Матеріали науково-практичної конференції «Вищі навчальні заклади – Києву», 12 березня 2004 р. – Спец. випуск. – Київ, 2004. – Ч. 1. – С. 66–72.

2. Головка А. М. Використання мікроміцетів для одержання біологічних препаратів з фунгіцидними властивостями / А. М. Головка, Г. П. Лемещенко, В. Г. Скрипник // Вісник аграрної науки УААН. – 2004. – № 3 – С. 43–45.

3. Кузьменко А. С. Вплив мікробіологічних препаратів на врожайність суцвіть / А. С. Кузьменко // Вісник аграрної науки УААН. – 2004. – № 3. – С. 76–78.

4. Гаврилюк В. Б. Вплив органічного добрива Проферм на еколого-агрохімічний стан ґрунту та врожайність картоплі / [В. Б. Гаврилюк, Г. М. Гаврилюк, Ю. М. Кух, В. А. Бортняк] // Агроекологічний журнал. – 2009. – № 2. – С. 58–63.



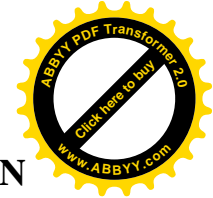
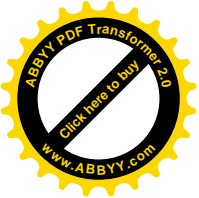
5. Гаврилюк В. А. Управління поживним режимом дерново-слабо-підзолистих ґрунтів за допомогою ферментованого органічного добрива / В. А. Гаврилюк, Н. С. Ковальчук, Т. М. Колесник // Вісник Харківського національного аграрного університету. – Харків, 2012. – № 3 – С. 139–142.
6. Неклюдов А. Д., Интенсификация процесса компостирования при помощи аэробных микроорганизмов (обзор) / А. Д. Неклюдов, Г. Н. Федотов, А. Н. Иванкин // Прикладная биохимия и микробиология. – 2008. – Т. 44, № 1. – С. 9–23.
7. Волкогон В. В. Мікробіологія у сучасному аграрному виробництві / В. В. Волкогон // Сільськогосподарська мікробіологія: Міжвід. темат. наук. зб. – Чернігів, 2005. – Вип. 1–2. – С. 6–29.
8. Гаценко М. В. Вплив *Pseudomonas putida* 17 на накопичення фітогормонів у вермикомпості / М. В. Гаценко, М. В. Волкогон, Н. В. Луценко, В. В. Волкогон // Сільськогосподарська мікробіологія. – 2011. – Вип. 13 – С. 82–91.
9. Иваница В. А. Микробиологические аспекты трансформации органических отходов и производства биогумуса / В. А. Иваница // Достижения науки и техники. – 1992. – № 4. – С. 19.

## **ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ПОВЫШЕНИЕ АГРОХИМИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТИРОВАННОГО ОРГАНИЧЕСКОГО УДОБРЕНИЯ**

**М. И. Шевчук, Н. С. Ковальчук, Т. Н. Колесник**

*Аннотация.* Освещена эффективность воздействия биопрепаратов в комплексе с органо-минеральной системой удобрения на агрохимические показатели плодородия дерново-слабоподзолистых песчаных почв, которая проявляется в повышении агрохимических показателей плодородия до 28,6 % в прямом действии и до 41,6 % в последствии. Наивысшей эффективностью владеет Полмиксобактерин, наименьшей - Байкал ЭМ-1.

*Ключевые слова:* микробиологические препараты, ферментированное органическое удобрение, почва, плодородие, питательный режим

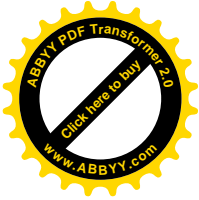
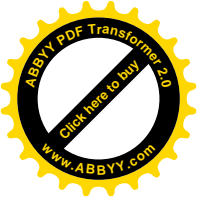


# IMPACT OF MICROBIOLOGICAL PREPARATIONS ON IMPROVING AGROCHEMICAL EFFICIENCY OF FERMENTED ORGANIC MANURE

**M. Shevchuk, N. Kovalchuk, T. Kolesnyk**

***Abstract.** The effective impact of biological preparations in combination with organo-mineral system of fertilization on fertility of soft sod-podzolic sandy soils is elucidated, which manifests itself in increasing the agrochemical indices of the soil fertility up to 28,6 % in direct action and up to 41,6 % in the after-effect. The most efficiency biological preparation is Polymixobacterin, the lowest efficiency is Baikal EM-1.*

***Key words:** microbiological preparations, fermented organic manure, soil, fertility, nutrient regime*



УДК 636.087.26

## ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРЕМІКСУ «ДНІПРОВСЬКИЙ» В СКЛАДІ КОМБІКОРМІВ ДЛЯ КУРЕЙ–НЕСУЧОК

О. І. МУСІЧ, кандидат сільськогосподарських наук

*Дніпропетровський державний аграрно–економічний університет*

E-mail: Olya\_Musich@i.ua

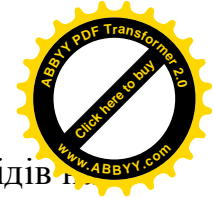
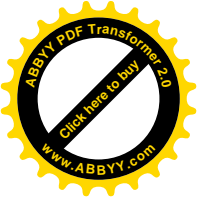
*Анотація.* Проведено дослідження ефективності включення кормових добавок мікробіологічного походження (вітатону, органічного селену) у складі преміксу «Дніпровський» для курей–несучок породи Ломанн Браун. Встановлено, що застосування преміксу підвищує яєчну продуктивність, позитивно впливає на перетравність протеїну і жиру, знижує коефіцієнт перетравлення клітковини на 4,34 %, сприяє становленню резистентності організму курей–несучок, за рахунок збільшення концентрацію загального білка, лізоцимної активності.

**Ключові слова:** кури–несучки, премікс, кормові добавки мікробіологічного походження

На сучасному етапі оптимізація годівлі курей–несучок повинна супроводжуватися вирішенням наступних актуальних питань: створення та апробація нових стійких форм вітамінних препаратів і антиоксидантів, вивчення дії ферментних препаратів та інших біологічно активних речовин на організм птиці.

Зокрема проблема мінеральної і вітамінної годівлі вирішується комплексно як за рахунок заготівлі, та використання повноцінних кормів, так і застосування кормових добавок, в тому числі за допомогою пошуку нетрадиційних джерел вітамінів, макро– і мікроелементів та інших БАП [7]. До них відносяться, зокрема, і такі кормові добавки мікробіологічного походження як біомаса вітатона, каротиноїдні дріжджі, органічний селен (сел–плекс).

**Мета дослідження** – розробити премікс Дніпровський з кормовими добавками мікробіологічного походження та визначити ефективність його введення до складу комбікормів курей–несучок.

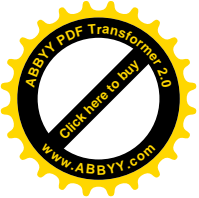


Під час організації науково–господарського і фізіологічного дослідів птиці керувалися методичними вказівками ВНДІТІП [3]. Перша (контрольна) і дослідні групи курей отримували протягом облікового періоду (181 день) комбікорм, виготовлений в умовах комбікормового заводу птахофабрики «Агроцентр» Дніпропетровської області. Для цього сформували 3 групи птиці, враховуючи вік, живу масу, походження – по 100 курей в кожній групі. Основна кормосуміш (ОК) складалась із кормів, характерних для умов Степу України: зерно кукурудзяне та ячмінне, шрот соняшниковий, висівки пшеничні, просо, м'ясо–кісткове борошно, а також мінеральні добавки, премікс. ОК збалансували за основними поживними речовинами згідно з рекомендаціями фірми Ломанн Браун, але був надлишок ізолейцина та недолік фосфору – 7,6 % в порівнянні з нормами. Енергопротеїнове співвідношення складало 154–156. Разом з тим використовували як фактичну поживність кормів, так і дані про поживність кормів Степу України [8]. Схема експерименту представлена в таблиці 1.

### 1. Схема науково–господарського дослідів

Група	Кількість курей–несучок у групі	Характер годівлі курей
1(контроль)	100	Основний раціон (ОР) із преміксом Ломанн Бран
2	100	ОР +премікс «Дніпровський»
3	100	Премікс «Дніпровський» + 2 % цеоліту

Є відомості про те, що вітаміни поглинаються неорганічними наповнювачами і тим самим створюються передумови для кращого зберігання перших [1]. Тому, в кормосуміш курей–несучок третьої групи ми ввели цеоліт і спробували з'ясувати наскільки цеоліт в перспективі може бути наповнювачем для преміксу, оскільки такі повідомлення з'явилися [1, 2]. Вітамінний склад яєць визначали за методикою [9]. Вивчення перетравності поживних речовин комбікормів у балансових дослідів, проводили за



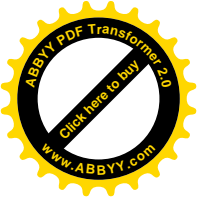
методичними вказівками ВНДІГП [3]. Хімічний склад продуктів обміну речовин вивчали за методикою [5]. Імунний статус піддослідної птиці виявляли за такими показниками крові як, вміст загального білка, його фракції, лізоцимна активність [4].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Рецепт експериментального преміксу «Дніпровський» розробили в розрахунку на один кілограм: 40 г вітатону з вітаміном А 600 тис. МО/кг; вітаміну Д3 – 250 тис. МО/кг; вітаміну Е – 1200 мг; К3 – 300 мг; В1 – 100 мг; В2 – 400 мг; В3 – 800 мг; В4 – 40г; В6 – 300 мг; В12 – 1,5 мг; цинка–6000 мг; міді – 500мг; кобальту – 20 мг; йоду – 50 мг; сел–плексу – 30 г; марганцю – 5000 мг. Найвища яєчна продуктивність відмічена за згодовування кормосуміші з преміксом «Дніпровський» плюс 2 % цеоліту: яєчна продуктивність курей дослідних груп перевищувала контрольну групу відповідно на 1,93; 6,09 %. Встановлений позитивний вплив преміксу «Дніпровський» на збереженість поголів'я: 2 група – 90; 3 група – 91; порівняно з контролем – 88 %.

## 2. Продуктивність курей–несучок у науково–господарському досліді

Показники	Група		
	1(контрольна)	2	3
На початкову несучку	116,4	118,7	123,5
на середню несучку	132,2	131,8	140,1
Середня маса яйця, г	61,93±0,17	61,46±0,24	60,8±0,16
Отримано яйцемаси, кг	8,18	8,10	8,52
Конверсія корму, кг			
на 1 кг яйцемаси	2,54	2,56	2,44
на 10 яєць	1,79	1,75	1,68

Високі показники одиниць Хау яєць визначені в групі курей–несучок, котрій згодовували комбікорм із преміксом «Дніпровський» + 2 % цеоліту. Застосування нетрадиційних кормових добавок не викликало також достовірних змін ( $P < 0,05$ ) товщини шкаралупи. Вміст холестерину, вітамінів А, В<sub>2</sub>, а також каротиноїдів у жовтку яєць курей–несучок у середині експерименту був задовільним і відповідав нормам. До початку наших



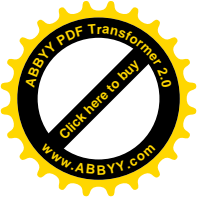
досліджень визначення ефективності кормових добавок мікробіологічного походження (вітатон, сел-плекс) в годівлі птиці не супроводжувалося вивченням перетравності поживних речовин в організмі птиці [2], що не дозволяло в належній мірі пояснити причини підвищення продуктивності у птиці. Тому ми вважали за необхідне перевірити цей факт.

### 3 Коефіцієнти перетравності поживних речовин, %

Група	Суха Речовина	Органічна речовина	Протеїн	Жир	Клітко-вина	БЕВ
1	51,74	61,13	80,19	68,43	20,25	61,58
2	58,44	62,58	81,27	69,12	20,61	63,91
3	52,05	68,37	82,43	72,29	19,37	66,57

Дані таблиці 3 свідчать про те, що використання в комбикормах преміксу «Дніпровський» викликало незначне збільшення перетравності протеїну в організмі дослідних груп курей-несучок. Позитивний вплив цеолітів на перетравність протеїну і жиру, очевидно, пояснюється їх сорбційними, іонообмінними властивостями, наявністю ряду макро- і мікроелементів [6], стабілізацією шлункового соку, поглинанням і подальшим виносенням токсинів кормів [2]. Однак в наших дослідженнях підключення до преміксів «Дніпровський» ще й цеоліту пригнічувало процеси перетравлення клітковини. Такий висновок збігається з думкою деяких дослідників [1, 6] про те, що добавки цеоліту не завжди покращують перетравність спожитої клітковини в організмі тварин. У курей-несучок 3-ї дослідної групи, якій згодовували комбикорм із включенням 2 % цеоліту, ми виявили зниження коефіцієнта перетравлення клітковини на 4,3 4 %.

Кров, як відомо, підтримує тісний взаємозв'язок між окремими органами, будучи одночасно "дзеркалом", що відображає всі життєві процеси в організмі. Лімфоцити, як відомо, мігрують з крові в інші тканини, перетворюючись на макрофаги і плазматичні клітини, які беруть участь в імунологічних реакціях. Тому, дані про показники крові дозволяють судити



про направлення обміну речовин, стан здоров'я птиці й, у відомих межах, її характер продуктивності.

#### 4. Вплив преміксу «Дніпровський» на імунні показники крові курей–несучок

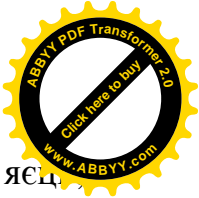
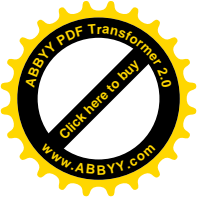
Показник	Група		
	I (контр)	II	III
Загальний білок, г/л	53,50±2,81	54,11±1,37	62,36±5,02
Білкові фракції, г%:			
α	20,45±0,60	18,73±0,20	26,40±1,2
β	9,9±1,83	13,93±0,05*	20,33±0,49
γ	4,87±1,10	6,40±0,13	7,93±0,14
Альбуміни, г/л	17,66±0,49	17,40±0,13	18,6±0,73
Лізоцимна активність, мкг/мл	147,3±5,88	160,5±5,88	169,1±1,95
Лімфоцитів	40,33±3,34	38,33±1,57	29,33±0,41
Моноцитів	4,66±0,81	4,69±0,25	3,66±0,28

Разом з тим встановлено достовірне ( $P < 0,05$ ) збільшення β-глобулінових фракцій крові в порівнянні з контрольною групою – свідчення позитивного впливу випробовуваних кормових добавок на статус імунітету піддослідної птиці.

#### Висновки

1. Науково–господарським, фізіолого–біохімічним й економічним дослідженнями розроблено вітамінно–мінеральний премікс «Дніпровський» для курей–несучок, його використання супроводжується інтенсифікацією несучості курей на 6,1 %, покращенням конверсії кормів – 5,2 % та підвищенням збереженості поголів'я курей на 2 – 3 %.

2. Застосування преміксу "Дніпровський" і цеоліту в складі комбікормів з економічної точки зору не викликає сумнівів, оскільки рентабельність виробництва яєць в дослідних групах вище на 1,3 – 6,8 %. Водночас сприяє підвищенню загального білку, лізоцимній активності, що



значно поліпшує резистентність організму птиці; покращує якість яєць, позитивно впливає на перетравність протеїну і жиру та знижує коефіцієнт перетравлення клітковини на 4,34 %.

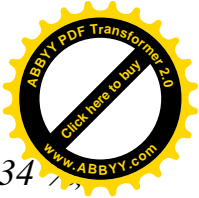
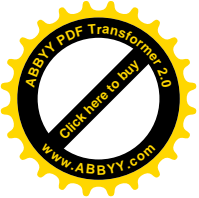
## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрианова Е. Премиксы с цеолитами для бройлеров / Е. Андрианова, Е. Хребтова – Птицеводство, 2006. – №8. – С.12–13.
2. Донченко О. А. Обоснование норм и способов применения природного цеолита в птицеводстве // Автореф. дис...канд. с.-г. наук: 06.02.03. – Новосибирск, 1999. – 23 с.
3. Имангулов Ш. А. Рекомендации по кормлению сельскохозяйственной птицы / Ш. А. Имангулов, Т. М. Околелова – Сергиев Посад. – 2000. – 67 с.
4. Козырь В. С. Практические методики исследования в животноводстве / В. С. Козырь, А. И. Свеженцов, В. И. Немировский – Днепропетровск, “Арт – Пресс”, 2002. – 280 с.
5. Петухова Е. А. Зоотехнический анализ кормов / Е. А. Петухова – М.: Колос, 1990. – 256 с.
6. Подобед Л. И. Руководство по кальций–фосфорному питанию сельскохозяйственных животных и птицы: Монография / Л. И. Подобед – Печатный дом, Одесса, 2005. – 409 с.
7. Свеженцов А. И. Нетрадиционные кормовые добавки для животных и птицы / А. И. Свеженцов, В. Н. Коробко – АРТ–ПРЕСС, 2004. – С. 238–252.
8. Свеженцов А. И. Программы нормированного кормления птицы / А. И. Свеженцов – Днепропетровск, Арт – Пресс, 1999. – 164 с.
9. Сурай П. Ф. Биохимические методы контроля метаболизма в органах и тканях птиц и их витаминная обеспеченность / П. Ф. Сурай, И. А. Ионов – Харьков, 1990. – 138 с.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕМИКСА ДНЕПРОВСКИЙ" В КОМБИКОРМАХ ДЛЯ КУР–НЕСУШЕК

**О. И. Мусич**

*Аннотация.* Проведено исследование эффективности включения кормовых добавок микробиологического происхождения (витатона, органического селена) в составе премикса «Днепровский» для кур–несушек породы Ломанн Браун. Установлено, что применение премикса повышает яичную продуктивность, положительно влияет на переваримость протеина



и жира, снижает коэффициент переваривания клетчатки на 4,34% и способствует становлению резистентности организма кур–несушек за счет увеличения концентрации общего белка, лизоцимной активности.

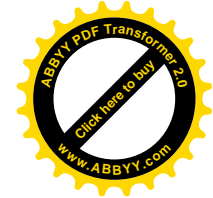
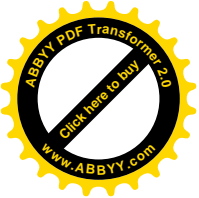
**Ключевые слова:** куры–несушки, премикс, кормовые добавки микробиологического происхождения

## EFFICIENCY OF PREMIX "DNIPROVSKIY" IN THE COMPOSITION OF FEED FOR LAYING HENS

**O. Musich**

**Abstract.** *It was investigated effectiveness of inclusion microbial feed supplements (vitaton, organic selenium) in the composition of premix "Dniprovskiy" for laying hens breed Lohmann Brown. It was established that the use of premix increases egg productivity, has positive effect on digestibility of protein and fat, reduces the cellulose digestion coefficient to 4.34%, is conducive to resistance of laying hens organism, due to increasing the concentration of total protein and lysozyme activity.*

**Keywords:** *laying hens, premix, microbial feed supplements*



УДК 639:591.05:577.115.3:639.3.034

**ВМІСТ НЕТЕРИФІКОВАНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ У ПЕЧІНЦІ ТА  
ВІДТВОРНА ЗДАТНІСТЬ КОРОПІВ-ПЛІДНИКІВ ЗА РІЗНОГО  
РІВНЯ ВІТАМІНУ А В КОМБІКОРМІ**

**М. Б. МАЛЕТИЧ**, аспірант<sup>\*</sup>,

**Й. Ф. РІВІС**, доктор сільськогосподарських наук

*Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН,*

**Н. І. ЦЬОНЬ**, кандидат сільськогосподарських наук

*Львівська дослідна станція Інституту рибного господарства НААН*

*E-mail: nattcon@ukr.net*

***Анотація.** Встановлено, що в печінці самок і самців плідників коропа дослідних груп, які в переднерестовий період у складі стандартного гранульованого комбікорму отримували підвищені кількості вітаміну А, зростає вміст неетерифікованих жирних кислот.*

*Вміст неетерифікованих жирних кислот у печінці плідників коропа дослідних груп збільшується за рахунок насичених жирних кислот з парною та непарною кількістю вуглецевих атомів у ланцюгу, мононенасичених жирних кислот родин  $\omega$ -7 і  $\omega$ -9 та поліненасичених жирних кислот родин  $\omega$ -3 і  $\omega$ -6.*

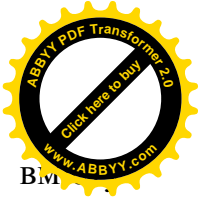
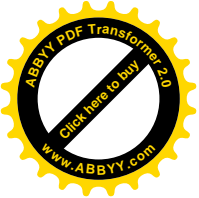
***Ключові слова:** плідники коропа, печінка, неетерифіковані жирні кислоти, вітамін А, переднерестовий період*

Для плідників коропа найбільш відповідальним є переднерестовий період. В цей час пришвидшуються обмінні процеси в їх організмі і потреба у вітамінах, в тому числі жиророзчинних, зростає [2, 9]. Основним джерелом надходження їх в організм є корми. Причому не природні, а штучні корми становлять основу раціону для плідників коропа.

Особливе місце за функціональною важливістю життєдіяльності живого організму коропа займає вітамін А [13]. В переднерестовий період для плідника коропа важливою є не стільки зорова як системна функція даного вітаміну: робота репродуктивної, антиоксидантної та імунної систем організму [10].

---

<sup>\*</sup>Науковий керівник - доктор сільськогосподарських наук, професор Й. Ф. Рівіс



Залежно від біохімічного складу раціону коропів, в тому числі вмісту вітаміну А, змінюється біохімічний склад їх крові, органів і тканин. Як і інші жиророзчинні вітаміни, вітамін А найбільше накопичується у печінці. Межі коливань показників можуть бути великі [11]. Відсутність і нестача даного вітаміну в раціоні коропа веде до значних зворотних і незворотних патологій (поганий ріст, зміни кольору, зміни слизового покриву та ін. [1].

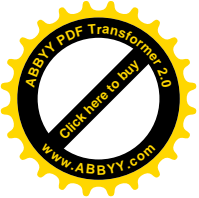
Однак, до цього часу невідомими залишаються питання впливу екзогенного вітаміну А на вміст неетерифікованих жирних кислот у печінці самиць і самців плідників коропа.

Виходячи із наведеного вище, **метою дослідження** було встановити вплив підвищеної кількості вітаміну А в раціоні на вміст неетерифікованих жирних кислот у печінці самиць і самців плідників коропа.

**Матеріали і методи досліджень.** Дослід проведено у ставках Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства НААН. Були сформовані три групи любінських лускатих плідників коропа (*Cyprinus carpio* L.) шестирічного віку. В кожній групі було двадцять риб різної статі (10 самиць та 10 самців).

Кожна група коропів утримувалася у ставках з незалежним водопостачанням. Годівлю здійснювали щоденно о 8<sup>00</sup>-й годині ранку впродовж одного місяця. Коропи кожної групи отримували гранульований комбікорм стандартної рецептури для переднерестової годівлі з підвищеним вмістом протеїну – 45 %. Годували з розрахунку 4 % комбікорму від маси тіла риб [3]. Перша група коропів була контрольною та отримувала наведений вище комбікорм з нанесеною на нього соняшниковою олією в кількості 3 %. Друга та третя групи коропів були дослідними та додатково отримували в складі згадуваного вище комбікорму вітамін А в кількості відповідно 2500 і 5000 ІО/кг (у формі ретинілацетату виробництва ЗАТ “Технолог” м. Умань) із соняшниковою олією в кількості 3 %.

Для лабораторних досліджень від чотирьох самиць і самців із кожної групи відбирали зразки печінки, в яких згідно з методами Й. Ф. Рівіса і Р. С. Федорука визначали вміст неетерифікованих жирних кислот [7].

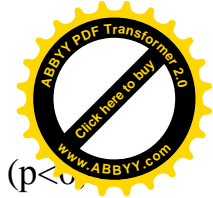
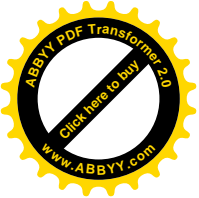


Всі втручання і забій риб проводили з дотриманням вимог “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей”, виданих у Страсбурзі (1986) [12], та ухвали Першого національного конгресу з біоетики у м. Києві (2001) [4].

Отриманий цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента за методикою М. А. Плохінського [6]. Вираховували середні арифметичні величини ( $M$ ), помилки середніх величин ( $\pm m$ ) і вірогідність різниці між середніми величинами ( $p$ ). Зміни вважалися вірогідними за  $p < 0,05$ . Розрахунки проводили за допомогою стандартного пакету статистичних програм *Microsoft Excel*.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Встановлено, що в печінці самиць і самців плідників коропа дослідних груп, які в переднерестовий період у складі стандартного гранульованого комбікорму отримували додаткові кількості вітаміну А, порівняно з печінкою самиць і самців плідників коропа контрольної групи, що отримували комбікорм без добавок, вірогідно та дозозалежно зростає вміст неетерифікованих жирних кислот ( $p < 0,05-0,001$ ) (табл.1, 2).

З наведених даних видно, що вміст неетерифікованих жирних кислот у печінці самиць і самців плідників коропа дослідних груп, порівняно із самками і самцями контрольної групи, зростає за рахунок насичених, мононенасичених (МНЖК) і поліненасичених жирних кислот (ПНЖК). Разом з цим вміст неетерифікованих насичених жирних кислот у печінці плідників коропа дослідних груп збільшується за рахунок жирних кислот з парною (у самиць першої та другої дослідних груп відповідно до 211,80 і 211,85 проти 206,45 г<sup>3</sup>/кг сирової маси у контролі, а у самців – 227,26 і 227,10 проти 222,37) та непарною (у самиць першої та другої дослідних груп відповідно до 3,14 і 3,19 проти 2,76, а у самців – 3,14 і 3,16 проти 2,82) кількістю вуглецевих атомів у ланцюгу ( $p < 0,05-0,001$ ). Зростає вміст МНЖК – родин  $\omega-7$  (у самиць першої та другої дослідних груп відповідно до 10,69 і 10,73 проти 9,72, а у самців – 10,43 і 10,48 проти 9,39) і  $\omega-9$  (у самиць першої та другої дослідних груп відповідно до

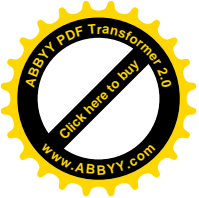


329,64 і 331,06 проти 320,43, а у самців – 306,38 і 309,15 проти 300,96) ( $p < 0,001$ ). Збільшується вміст ПНЖК – родин  $\omega$ -3 (у самиць першої та другої дослідних груп відповідно до 366,96 і 367,70 проти 331,57, а у самців – 333,99 і 334,49 проти 309,41) і  $\omega$ -6 (у самиць першої та другої дослідних груп відповідно до 276,91 і 277,55 проти 255,55, а у самців – 255,06 і 255,58 проти 234,78  $\text{г}^{-3}/\text{кг}$  сирової маси у контролі) ( $p < 0,05$ - $0,001$ ). Такі зміни вказують на збільшення енергетичного потенціалу організму плідників коропа [14].

### 1. Концентрація неестерифікованих жирних кислот у печінці самиць плідників коропа, $\text{г} \times 10^{-3}$ на 1 кг сирової маси, $M \pm m$ , $n=4$

Жирні кислоти та їх код	Групи риб		
	контрольна	I дослідна (2500 ІО віт. А в комбікормі)	II дослідна (5000 ІО віт. А в комбікормі)
Каприлова, 8:0	0,96±0,022	1,08±0,023***	1,10±0,021***
Капринова, 10:0	2,06±0,053	2,35±0,046***	2,39±0,048***
Лауринова, 12:0	3,13±0,061	3,39±0,032*	3,41±0,027***
Міристинова, 14:0	4,91±0,145	5,51±0,082*	5,56±0,077***
Пентадеканова, 15:0	2,76±0,088	3,14±0,058*	3,19±0,049***
Пальмітинова, 16:0	52,57±1,697	56,93±0,248*	57,02±0,224*
Пальмітоолеїнова, 16:1	9,72±0,302	10,69±0,083*	10,73±0,088*
Стеаринова, 18:0	140,87±4,171	140,63±4,211	140,49±4,221
Олеїнова, 18:1	318,76±7,875	328,22±7,021*	329,30±7,106*
Лінолева, 18:2	135,30±4,476	146,98±0,227*	147,20±0,209*
Ліноленова, 18:3	101,71±3,262	115,86±1,920***	116,06±1,887***
Арахінова, 20:0	1,95±0,051	1,91±0,041	1,88±0,040
Ейкозаснова, 20:1	1,67±0,064	1,72±0,066*	1,76±0,060*
Ейкозациснова, 20:2	2,30±0,059	2,55±0,039*	2,58±0,038***
Ейкозатриснова, 20:3	27,50±0,699	29,57±0,181*	29,64±0,183*
Арахідонова, 20:4	48,98±1,499	52,95±0,211*	53,06±0,200*
Ейкозапентаєнова, 20:5	84,67±2,425	94,23±2,071*	94,49±2,038*
Докозациснова, 22:2	13,97±0,382	15,21±0,121*	15,31±0,115*
Докозатриєнова, 22:3	15,15±0,396	16,37±0,161*	16,48±0,136*
Докозатетраєнова, 22:4	27,50±0,628	29,65±0,171*	29,76±0,174*
Докозапентаєнова, 22:5	57,64±1,945	62,86±0,217*	62,93±0,203*
Докозагексаєнова, 22:6	72,40±1,849	77,64±0,214*	77,74±0,209*
Загальна кількість жирних кислот	1127,48	1199,44	1202,08
у т. ч. насичені	209,21	214,94	215,04
мононенасичені	330,15	340,63	341,79
поліненасичені	587,12	643,87	645,25
$\omega$ -3/ $\omega$ -6	1,29	1,32	1,32

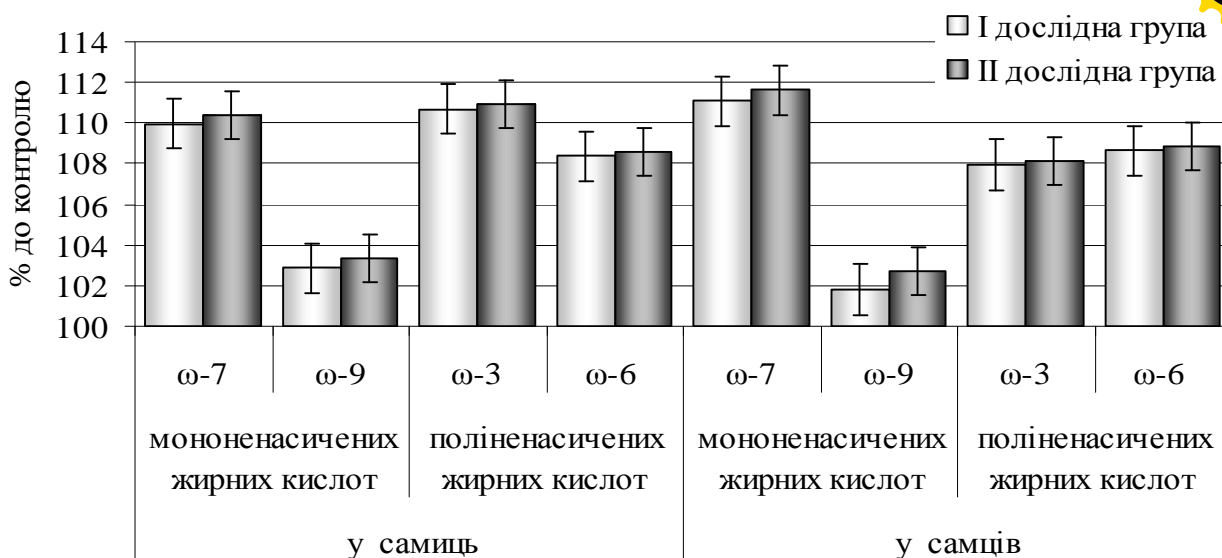
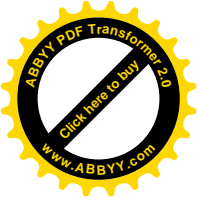
Примітка: тут і в наступних таблицях вірогідність відмінностей у порівнянні з відповідними показниками у контрольній групі: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ .



## 2. Концентрація неетерифікованих жирних кислот у печінці самців плідників коропа, $г \times 10^{-3}$ на 1 кг сирової маси, $M \pm m$ , $n=4$

Жирні кислоти та їх код	Групи риб		
	контрольна	I дослідна (2500 ІО віт. А в комбікормі)	II дослідна (5000 ІО віт. А в комбікормі)
Каприлова, 8:0	1,00±0,034	1,12±0,009*	1,13±0,007*
Капринова, 10:0	2,14±0,073	2,40±0,018*	2,42±0,016*
Лауринова, 12:0	3,18±0,077	3,42±0,017*	3,44±0,014*
Міристинова, 14:0	4,79±0,154	4,54±0,043	4,59±0,035
Пентадеканова, 15:0	2,82±0,098	3,14±0,027*	3,16±0,029*
Пальмітинова, 16:0	56,16±1,873	61,30±0,104*	61,38±0,090*
Пальмітоолеїнова, 16:1	9,39±0,281	10,43±0,083*	10,48±0,072***
Стеаринова, 18:0	153,01±3,462	152,46±3,575	152,16±3,586
Олеїнова, 18:1	299,38±9,821	304,74±10,431*	307,47±10,326*
Лінолева, 18:2	128,36±3,813	138,99±0,436*	139,24±0,424*
Ліноленова, 18:3	96,33±3,008	104,16±0,132*	104,28±0,140*
Арахідова, 20:0	2,09±0,059	2,02±0,060	1,98±0,045
Ейкозаєнова, 20:1	1,58±0,053	1,64±0,054*	1,68±0,052*
Ейкозадиєнова, 20:2	2,16±0,082	2,48±0,036*	2,51±0,033***
Ейкозатриєнова, 20:3	24,26±0,713	26,68±0,116*	26,73±0,102*
Арахідонова, 20:4	42,27±1,113	45,92±0,114*	45,97±0,099*
Ейкозапентаєнова, 20:5	79,36±2,403	85,98±0,218*	86,09±0,205*
Докозадиєнова, 22:2	12,44±0,230	13,40±0,071***	13,47±0,066***
Докозатриєнова, 22:3	14,02±0,333	15,18±0,101*	15,27±0,085*
Докозатетраєнова, 22:4	25,29±0,744	27,59±0,099*	27,66±0,095*
Докозапентаєнова, 22:5	52,43±1,484	56,50±0,095*	56,58±0,089*
Докозагексаєнова, 22:6	67,27±2,021	72,17±0,118*	72,27±0,155*
Загальна кількість жирних кислот	1079,73	1136,26	1139,96
у т. ч. насичені	225,19	230,40	230,26
мононенасичені	310,35	316,81	319,63
поліненасичені	544,19	589,05	590,07
$\omega$ -3/ $\omega$ -6	1,31	1,30	1,30

Виявлено, що в плідників коропа дослідних груп, які у переднерестовий період в складі гранульованого комбікорму отримували додаткові кількості вітаміну А порівняно з печінкою плідників коропа контрольної групи, що отримували комбікорм без добавок, більш інтенсивно зростає вміст неетерифікованих ПНЖК родини  $\omega$ -3 у самиць (на 10,7-10,9 %) і МНЖК родини  $\omega$ -7 у самців (на 11,1-11,6 %) ( $p < 0,05$ ) (див. рисунок). Такі відмінності пов'язані з особливостями обміну неетерифікованих жирних кислот в організмі коропів-плідників різної статі [8].



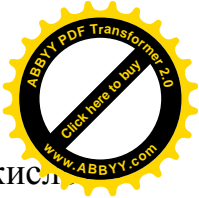
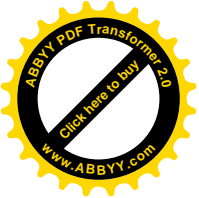
**Рис. Зміни вмісту неетерифікованих жирних кислот у печінці плідників коропа**

В переднерестовий період їх роль особливо велика: неетерифіковані ПНЖК родини ω-3 запобігають запальним процесам в організмі плідників, зпускають тромболітичні механізми організму, процеси синтезу статевих гормонів андрогенів та естрогенів [15]. ПНЖК родини ω-3 беруть участь у формуванні фосфоліпідного складу клітинних мембран, що важливо для організму плідників, та ще важливіше для оболонок ікри.

Отже, виявлені зміни під дією збалансованої годівлі із підвищеним вмістом вітаміну А вказують на успішне проходження процесу підготовки організму коропів-плідників до відтворення і дають позитивні практичні результати: нами встановлено, що застосування ретинілацетату в кількості 2500 і 5000 ІО/кг корму, підвищує робочу плодючість самиць коропів на 6,0-7,5 %, їх відносну плодючість на 25,4-29,7 %, а у самців коропа зростає об'єм молоків на 15,4-19,5 %.

### **Висновки**

1. В печінці самиць і самців плідників коропа першої і другої дослідних груп, які в переднерестовий період в складі стандартного гранульованого комбікорму отримували вітамін А в кількості 2500 і 5000 ІО/кг корму, зростає

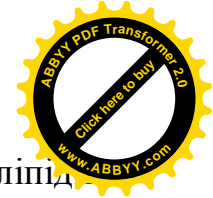
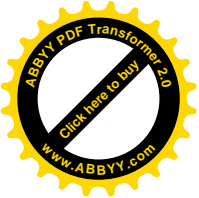


вміст неетерифікованих жирних кислот за рахунок насичених жирних кислот парною та непарною кількістю вуглецевих атомів у ланцюгу, мононенасичених жирних кислот родин  $\omega$ -7 і  $\omega$ -9 та поліненасичених жирних кислот родин  $\omega$ -3 і  $\omega$ -6.

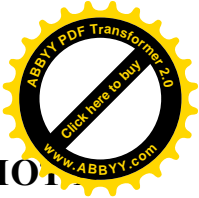
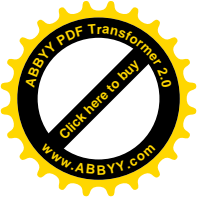
2. В печінці самиць і самців плідників коропа, яким у переднерестовий період у складі гранульованого комбікорму додатково згодовували вітамін А у кількості 2500 і 5000 ІО/кг корму, більш інтенсивно зростає вміст неетерифікованих поліненасичених жирних кислот родини  $\omega$ -3 у самиць (на 10,7-10,9 %) і мононенасичених жирних кислот родини  $\omega$ -7 у самців (на 11,1-11,6 %) ( $p < 0,05$ ).

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Воробьев Д. В. Физиолого-биогеохимические основы применения микроэлементов в аквакультуре. / Д. В. Воробьев, Т. Д. Искра, Н. В. Кириллов, В. И. Воробьев. — Астрахань : Изд. ООО ЦНТЭБ, 2008. — 360 с.
2. Грициняк І. І. Науково-практичні основи раціональної годівлі риб / І. І. Грициняк. — К. : Рибка моя, 2007. — 306 с. — ISBN 978-966-2990-02-7.
3. Желтов Ю. А. Методичні вказівки з проведення дослідів по годівлі риб / Ю. А. Желтов // Рибне господарство. – К., 2003. — Вип. 62. — С. 23–28.
4. Кундієв Ю. І. Біоетика — веління часу [Електронний ресурс] / Ю. І. Кундієв // Вісник Національної академії наук України (Перший національний конгрес з біоетики: Тези доповідей). — 2001. — № 11. — С. 11-16. — Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/j-pdf/vnanu\\_2001\\_11\\_4.pdf](http://nbuv.gov.ua/j-pdf/vnanu_2001_11_4.pdf)
5. Плохинский Н. А. Биометрия / Н. А. Плохинский — М.: Изд-во МГУ. — 1970. — 367 с.
6. Попик І. М. Вплив годівельних чинників на пероксидні процеси й активність ферментів антиоксидантної системи в печінці коропа / І. М. Попик, Н. П. Олексюк, В. Г. Янович // Біологія тварин. — 2011. — Т. 13, № 1–2. — С. 227–231.



7. Рівіс Й. Ф. Кількісні хроматографічні методи визначення ліпідних жирних кислот у біологічному матеріалі. Методичний посібник / Й. Ф.Рівіс, Р. С. Федорук. — Львів: СПОЛОМ, 2010. — 109 с.
8. Смолянінов К. Б. Біологічна роль поліненасичених жирних кислот / К. Б. Смолянінов, Р. П. Параняк, В. Г. Янович // Біологія тварин. — 2002. — Вип. 4, № 1–2. — С. 16–30.
9. Смолянінов К. Б. Вплив добавок вітаміну А до раціону коропа на вміст продуктів пероксидації та стан системи антиоксидантного захисту в їх організмі / [К. Б. Смолянінов, О. І. Віщур, Н. П. Олексюк, І. М. Попик] // Вісник ЖНАЕУ. — 2012. — Вип. 2 (33), Т. 2. — С. 205–207.
10. Сурай П. Ф. Жырорастворимые витамины / П. Ф. Сурай, А. А. Бужин, Ф. А. Ярошенко, И. А. Ионов. — Черкасы, 1997. — 296 с.
11. Clagett-Dame M. Vitamin A in reproduction and development / M. Clagett-Dame, D. Knutson // Nutrients. — 2011. — № 3. — R. 385–428.
12. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the Approximation of the Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Regarding the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes // Official Journal of the European Communities. — L 358. — P. 1-29.
13. Harrison E. H. Mechanisms of digestion and absorption of dietary vitamin A / E. H. Harrison // Annu. Rev. Nutr. — 2005. — V. 25. — P. 87–103.
14. Marchetti J. M., Errazu, A. F., Esterification of free fatty acids using sulfuric acid as catalyst in the presence of triglycerides / J. M. Marchetti, A. F. Errazu // Biomass and Bioenergy. — 2008. — V. 32. — P. 892–895.
15. Verrecchia F. Nongenomic steroid action: Inhibiting effects on cell-to-cell communication between rat ventricular myocytes / F. Verrecchia, D. Sarrouilhe, J. C. Hervé // Experimental and Clinical Cardiology. — 2001. — V. 6(3).— P. 124–131.



# СОДЕРЖАНИЕ НЕЭСТЕРИФИЦИРОВАННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ПЕЧЕНИ И ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНАЯ СПОСОБНОСТЬ КАРПОВ- ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ПРИ РАЗНЫХ УРОВНЯХ ВИТАМИНА А В КОМБИКОРМЕ

**М. Б. Малетыч, Й. Ф. Ривис, Н. И. Цьонь**

*Аннотация.* Установлено, что в скелетных мышцах самок и самцов производителей карпа опытных групп, которые в преднерестовый период составе стандартного гранулированного комбикорма получали витамин А в количестве 2500 и 5000 ИО/кг корма, возрастает содержание неэстерифицированных жирных кислот.

Содержание неэстерифицированных жирных кислот в печени производителей карпа групп растет за счет насыщенных жирных кислот с четным и нечетным числом углеродных атомов в цепи, мононенасыщенных жирных кислот семейств  $\omega$ -7 и  $\omega$ -9 и полиненасыщенных жирных кислот семейств  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6.

**Ключевые слова:** производители карпа, печень, неэстерифицированные жирные кислоты, витамин А, преднерестовый период

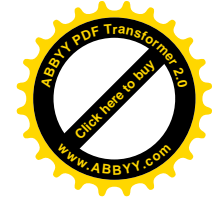
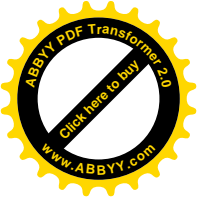
# THE CONTENT OF NONESTERIFIED FATTY ACIDS IN THE LIVER AND THE REPRODUCTIVE ABILITY OF CARPS-BREEDERS UNDER THE DIFFERENT LEVELS OF VITAMIN A IN THE MIXED FEED

**M. Maletich, J. Ravis, N. Tcon**

*Abstract .* It is found that in the skeletal muscle of male and female carp manufacturers test groups which prespawning periods standard granulated feed composition obtained vitamin A in an amount of 2500 and 5000 IE / kg feed, increases the content of non-esterified fatty acids.

The content of non-esterified fatty acids in the liver manufacturers carp groups increases due to saturated fatty acids with odd and even numbers of carbon atoms in the chain monounsaturated fatty acid families 7 and  $\omega$ - $\omega$ -9 polyunsaturated fatty acids and  $\omega$ -3 families i  $\omega$ -6.

**Key words:** carps-breeders, the liver, nonetherified fatty acids, vitamin A, before the spawning period



УДК 619:602.9:611.018:636.92

**ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ  
КЛІТИН КІСТКОВОГО МОЗКУ КРОЛЯ НА РАННІХ ПАСАЖАХ  
КУЛЬТИВУВАННЯ ПРИ ДИСОЦІАЦІЇ КЛІТИННОГО МОНОШАРУ ЗА  
ДОПОМОГОЮ ЕТИЛЕНДІАМІНТЕТРАОЦТОВОЇ КИСЛОТИ**

**А. Й. МАЗУРКЕВИЧ**, доктор ветеринарних наук, професор

**М. О. МАЛЮК**, кандидат ветеринарних наук, доцент

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

**Л. Ф. СТАРОДУБ**, кандидат сільськогосподарських наук

*Інститут розведення і генетики тварин НААН України.*

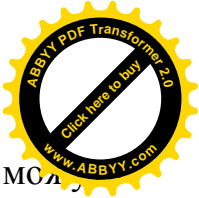
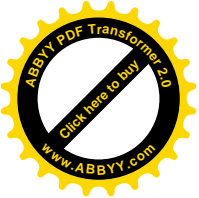
*E-mail: nikolai\_malyuk@ukr.net*

***Анотація.** За допомогою цитогенетичного аналізу встановлено кількісні (анеуплоїдія, поліплоїдія) і структурні порушення хромосом у культурі мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку кролів I–V пасажів. Прояв анеуплоїдних клітин не перевищував спонтанний рівень соматичного мутагенезу, характерного для ссавців. Поліплоїдія клітин першого пасажу не перевищувала спонтанний рівень цієї мінливості, а частка метафазних пластинок із поліплоїдією IV–V пасажів у 1,7 раз вище спонтанної хромосомної мінливості, характерної для ссавців. Результати мікроядерного тесту показали, що у популяціях мезенхімальних стовбурових клітин кроля частота клітин із мікроядром першого пасажу становила 3 ‰, другого і третього — 5 ‰, четвертого і п'ятого — 7 ‰. Різниця кількості двоядерних клітин у популяціях МСК кроля залежно від номера пасажу не спостерігалася.*

***Ключові слова:** мезенхімальні стовбурові клітини, цитогенетичний аналіз, мікроядерний тест, двоядерні клітини, клітини із мікроядром, поліплоїдія, анеуплоїдія*

Культивування *in vitro* мезенхімальних стовбурових клітин проводять не тільки з ціллю збільшення їх кількості, але і для звільнення від клітин іншого фенотипу або ціленаправленого диференціювання у відповідному напрямку.

Однак за культивування *in vitro* можуть з'являтися клітини з аберантним каріотипом, які володіють більш високим рівнем проліферативної активності порівняно з іншими клонами мезенхімальних стовбурових клітин. Хромосомні



зрушення у клітинах, які характеризуються аберантним каріотипом, можуть впливати на схильність до розвитку онкологічних захворювань у тварин-реципієнтів, тим самим являючись прямою причиною злоякісної трансформації [12, 21].

Разом з тим ряд робіт із дослідження каріотипової стабільності МСК в процесі культивування говорять на користь довготривалого культивування до 25 пасажу. Разом з цим не спостерігається розвиток хромосомних відхилень, або відхилень генетичної стабільності клітин навіть після долання ліміту Хейфліка [8, 14, 19].

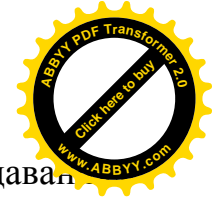
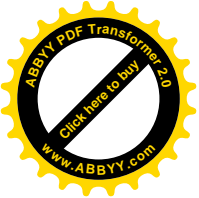
У зв'язку із суперечливими науковими результатами, отриманими рядом авторів, єдиної думки щодо збереження у стовбурових клітин нормального хромосомного набору за пасажування до цього часу не існує [1, 6, 10, 20].

Суперечливість літературних джерел може бути обумовлена декількома причинами. Однією з них являється біологічні властивості МСК, іншою причиною може бути застосування авторами різних методик культивування і пасажування клітин. Так, за довготривалого ензиматичного пасування клітин показано виникнення хромосомних аберацій в культурах МСК, а за механічного пасування аномалій каріотипу в культурах клітин не спостерігається [9, 11, 16, 18].

Отже, проведення цитогенетичного аналізу мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку кролів на ранніх пасажах культивування *in vitro* за пасажування клітинного матеріалу без використання ферментативної дисоціації має науково-практичне значення і є досить актуальним.

**Мета дослідження** - встановити закономірності хромосомної мінливості мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку кроля на ранніх пасажах культивування за дисоціації клітинного матеріалу за допомогою АДТА (етилендіамінтетраоцтової кислоти).

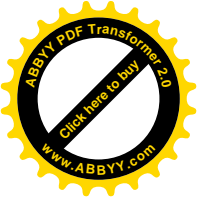
**Матеріали і методи дослідження.** Мезенхімальні стовбурові клітини одержували з аспірату кісткового мозку стегнової кістки кролів [4]. Одержану клітинну масу культивували у стандартному середовищі: DMEM – 80 %,



сироватка ембріонів телят – 20 % (виробництва “Sigma”, США) із додаванням 10 мкл/см<sup>3</sup> середовища антибіотика-антимікотика. Культивування проводили у CO<sub>2</sub>-інкубаторі за 37 °С та 5 % концентрації CO<sub>2</sub>. При цьому МСК осідали, прикріплюючись до поверхні культуральних чашок Петрі і розпластувались. Суспензовану культуру гемопоетичних клітин згодом видаляли, після чого продовжували культивувати лише ті клітини, що мають адгезивні властивості. Після культивування отримували суспензію клітин, використовуючи 0,02 % розчин ЕДТА. Мікроскопічний аналіз і оцінку культури здійснювали за допомогою інвертованого мікроскопа Axiovert 40 (Карл Цейс).

Цитогенетичний скринінг включав аналіз 30 метафазних пластинок стовбурових клітин кроля першого – п’ятого пасажів. Для отримання препаратів хромосом використовували модифікацію стандартного цитогенетичного методу [7, 17]. Фіксацію хромосом проводили через 48 години після посіву клітин. Колхіцин додавали у культуральне середовище із розрахунку 0,05-0,5 мкг/мл та інкубували 1,5-2 години за температури 37 °С. Зняття клітин із чашок Петрі та отримання клітинної суспензії здійснювали шляхом інкубації протягом 1-5 хв за температури 37 °С у 0,02 % розчині ЕДТА. Для руйнування клітин їх інкубували протягом 30 хв за температури 37 °С у теплому гіпотонічному розчині КСІ (0,56%) із розрахунку 1 мл клітинної суспензії до 9 мл гіпотонічного розчину (1:9). Фіксацію хромосом проводили три – чотири рази по 10-20 хв у свіжоприготовленому охолодженому фіксаторі (метанол : крижана оцтова кислота, 3:1). Отримані препарати хромосом забарвлювали протягом 40 хв у 20 %-му розчині барвника Гімза (“Merck”, Німеччина). Аналіз метафазних пластинок здійснювали за допомогою мікроскопа AxioStar plus (Carl Zeiss, Німеччина), збільшення x400 та x1000.

В процесі досліджень враховували: кількісні порушення хромосом – анеуплоїдію (А), поліплоїдію (ПП) та структурні аберації – розриви хромосом (ХР) і хроматид (ХМ). На цих самих препаратах провели мікроядерний тест: підраховували кількість двоядерних (ДЯ) клітин, клітин із мікроядром (МЯ),



мітотичний індекс (МІ), апоптозні клітини (АП). Частоту ДЯ, МЯ, МІ, вираховували на 1000 клітин (‰).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Аналіз каріотипу 30 метафазних пластинок популяції мезенхімальних стовбурових клітин I – V пасажу кісткового мозку кролів показав, що для них характерні кількісні порушення (анеуплоїдія та поліплоїдія) та структурні порушення хромосом.

**1. Результати цитогенетичного контролю (кількісна і структурна мінливість хромосом) МСК кроля на різних пасажах культивування ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

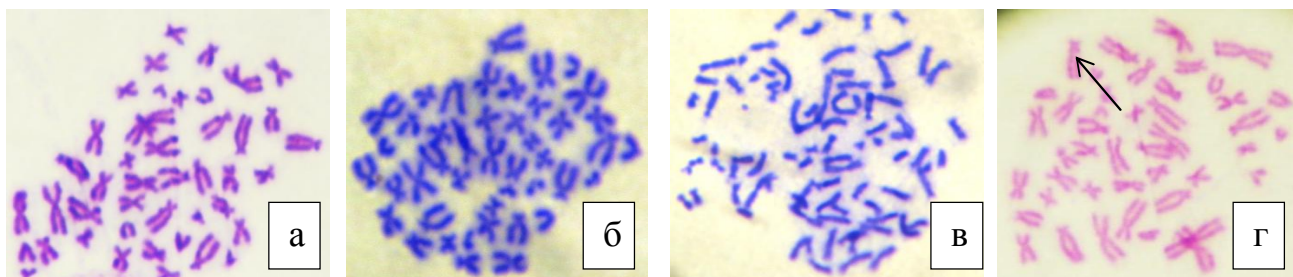
№ пасажу	Анеуплоїдія, %	Поліплоїдія, %	Хромосомні розриви
I	11,1±2,1	5,5±0,9	5,5±1,2
II	12,5±1,9	-	-
III	11,7±1,5	-	-
IV	10,6±2,0	25±2,5***	-
V	12,0±1,5	26±2,0***	-

Примітка: \*-  $p < 0,05$ ; \*\*-  $p < 0,01$ ; \*\*\*-  $p < 0,001$

Прояв анеуплоїдних клітин спостерігався від першого до п'ятого пасажу із концентрацією від 10,6 % до 12,5 %. Цитогенетичну мінливість (анеуплоїдію) в основному становили гіпоплоїдні клітини, каріотип яких дорівнював ( $2n=39$ ;  $2n=43$ ) хромосом. Різниця середніх величин за цією ознакою у популяціях клітин I – V пасажу була недостовірною і не перевищувала спонтанний рівень соматичного мутагенезу, характерного для ссавців [5].

Кратне збільшення числа хромосом (поліплоїдія) проявилось у популяції клітин I, IV, V пасажів. Поліплоїдія каріотипу клітин першого пасажу становила 5,5 %, що не перевищувала спонтанний рівень (від 6 % до 15 %) цієї мінливості, характерний для ссавців [5]. Частота поліплоїдних клітин IV і V пасажів становила 25 % та 26 %, що у 1,7 рази вище спонтанної хромосомної мінливості за цією ознакою, характерною для ссавців. Поліплоїдні клітини були в основному тетраплоїдні, каріотип яких дорівнював  $4n=88$ . На даний момент пояснення механізму появи поліплоїдних клітин є гіпотетичним. Більшість вчених пропонує «клітинну спіральну модель» старіння клітин, пояснюючи

механізм утворення багатоядерних і поліплоїдних клітин. Поліплоїди пов'язують із зменшенням мітотичного потенціалу клітини і втратою цитоплазматичної здатності до поділу [15].

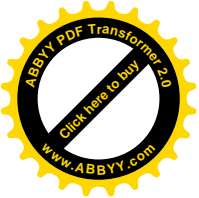


**Рис. 1 - Каріотип мезенхімальних стовбурових клітин кроля: а – норма  $2n=44$ ; б - анеуплоїдія  $2n=42$ ; в – поліплоїдія  $2n=88$ ; г – структурні порушення (хромосомний розрив).  $\times 1000$**

Структурні порушення каріотипу МСК кроля I пасажу проявилися у вигляді хромосомних розривів, концентрація яких дорівнювала 5,5 %, що не перевищувала спонтанний рівень соматичного мутагенезу, характерного для ссавців. В популяціях МСК кроля II - V пасажу структурних порушень хромосом виявлено не було.

Для оцінки дестабілізації каріотипу МСК кроля був проведений мікроядерний тест (табл. 2).

Результати мікроядерного тесту показали, що у популяціях мезенхімальних стовбурових клітин кроля частота клітин із мікроядром знаходилася у межах 3-7 %. Концентрація цих клітин підвищувалася з кожним наступним пасажем. Частота клітин із мікроядром першого пасажу становила 3 %, другого і третього – 5 %, та четвертого і п'ятого – 7 %. Різниця середніх величин за цією ознакою у популяції клітин I та IV, V пасажів була достовірною. Рівень цитогенетичної мінливості (частка клітин з мікроядром) у МСК кроля IV, V пасажів вищий за спонтанну мінливість, характерну для ссавців (при нормі 1,6 % - 5,6 % [22]). Підвищення частки клітин відповідно номеру пасажу може відобразити не стільки інтенсивність виникнення нових соматичних мутацій скільки нагромадження їх у часі [3]. Різниця кількості двоядерних клітин у популяціях МСК кроля залежно від номера пасажу не



спостерігалася. Отже, величина цієї мінливості є видоспецифічною популяції МСК кроля і не залежить від генотоксичного впливу.

## 2. Результати мікроядерного тесту МСК кроля на різних пасажах культивування ( $M \pm m$ , $n=5$ )

№ пасажу	Клітини з мікроядром, ‰	Двоядерні клітини, ‰	Мітотичний індекс, ‰	Апоптозні клітини
I	$3 \pm 0,9$	-	$3 \pm 2,1$	-
II	$5 \pm 1,3$	$3 \pm 0,5$	$4 \pm 1,3$	-
III	$5 \pm 1,5$	$3 \pm 0,7$	$4 \pm 2,3$	-
IV	$7 \pm 1,2^*$	$4 \pm 1,2$	$3 \pm 0,8$	-
V	$7 \pm 1,4^*$	$4 \pm 1,8$	$4 \pm 0,5$	$2 \pm 0,3$

Примітка: \*-  $p < 0,05$ ; \*\*-  $p < 0,01$ ; \*\*\*-  $p < 0,001$

Мітотичний індекс популяцій МСК кроля I - V пасажів становив 3-4 ‰, що не перевищував рівень спонтанної мінливості (норма 2,9-4,1 ‰) [5]. Також нами було встановлено, що апоптоз клітин спостерігався лише на п'ятому пасажі (2 ‰) і його рівень не перевищував межу спонтанної мінливості.

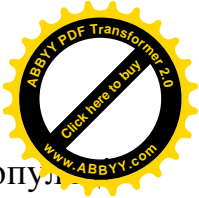
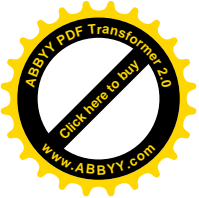
### Висновки

1. Цитогенетична мінливість (анеуплоїдія) мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку кроля на I – V пасажах не перевищувала спонтанний рівень соматичного мутагенезу, характерного для ссавців.

2. Встановлено, що частота поліплоїдії для мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку кроля I-III пасажів відповідає спонтанному рівню, характерному для ссавців.

3. Аналіз каріотипу мезенхімальних стовбурових клітин отриманих на IV – V пасажах показав, що частка метафазних частинок із поліплоїдією у 1,7 рази вище спонтанної хромосомної мінливості за цією ознакою, характерною для ссавців.

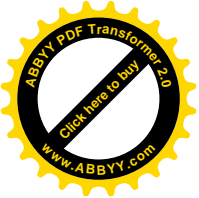
4. Частота клітин із мікроядром для мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку кроля I-III пасажів знаходилася у межах норми.



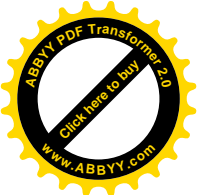
5. Кількість двоядерних клітин є видоспеціфічною для популяції мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку кроля і не залежить від генотоксичного впливу.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бочков Н. П. Хромосомная изменчивость мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток человека / Н. П.Бочков, Е. С. Воронина, Н. В. Косякова и др. // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2007. – №1. – С. 11 – 15.
2. Виленчик М. М. Молекулярные механизмы старения / М. М. Виленчик // М.: Наука, 1970-168 с.
3. Глазко Т. Т. Мікроядерний тест у великої рогатої худоби / Т. Т.Глазко// Вісник аграрної науки. – 2001. – 39 – С. 45-48.
4. Патент на корисну модель № 86839 «Спосіб прижиттєвого отримання кісткового мозку у дрібних тварин» / А. Й. Мазуркевич, М. О. Малюк, С. М. Ткаченко, Ю. О. Харкевич. Опубл. Бюл. № 1 від 10.01.2014
5. Эрнст Л. К. Мониторинг генетических болезней животных в системе крупномасштабной селекции / Л. К. Эрнст, А. И. Жигачев – М., 2006. – 383 с.
6. Baker D.E. et al. Adaptation to culture of human embryonic stem cells and oncogenesis in vivo/ Baker D.E., Harrison N.J., Maltby E., Smith K. et al. // Nat. Biotechnol. 2007. T. 25. № 2. P. 207–215.
7. Barch M.J. Cytogenetics laboratory manual. / Barch M.J., Knutsen T., Spurbeck J.L. // – Lippincot – Raven. – 1997. – 668 p.
8. Bernardo M. E. Human bone marrow derived mesenchymal stem cells do not undergo transformation after long-term in vitro culture and do not exhibit telomere maintenance mechanisms / Bernardo, M. E., Zaffaroni, N., Novara, F., Cometa, A. M., // Cancer Res. 2007. T. 67. № 19. С. 9142–9149.
9. Buzzard J.J. et al. Karyotype of human ES cells during extended culture / Buzzard J.J., Gough N.M., Crook J.M. et al. // Nat. Biotechnol. 2004. – T. 22. № 4. – P. 381–382.



10. Caisander G. et al. Chromosomal integrity maintained in five human embryonic stem cell lines after prolonged in vitro culture / Caisander G., Park H., Frej K., Lindqvist J., Bergh C., // *Chromosome Res.* 2006. T. 14. № 2. P. 131–137.
11. Cowan C.A. et al. Derivation of embryonic stem-cell lines from human blastocysts / C. A. Cowan, I. Klimanskaya, J. McMahon et al.// *N. Engl. J. Med.* – 2004. – T. 350. – № 13. – P. 1353–1356.
12. Duesberg P. et al. Multistep carcinogenesis: a chain reaction of aneuploidizations/ Duesberg P., Li R. // *Cell Cycle.* 2003. T. 2. № 3. C. 202–210.
13. Inzunza J. et al. Comparative genomic hybridization and karyotyping of human embryonic stem cells reveals the occurrence of an isodicentric X chromosome after long-term cultivation / Inzunza J., Sahlén S., Holmberg K. et al. // *Mol. Hum. Reprod.* 2004. – T. 10. № 6. – P. 461–466.
14. Mareschi K. et al. Expansion of mesenchymal stem cells isolated from pediatric and adult donor bone marrow / Mareschi K., Ferrero I., Rustichelli D., Aschero S. et al. // *J. Cell. Biochem.* 2006. T. 97. № 4. P. 744–754.
15. Matsyara T. Multinucleation and polyploidization of aging human cells in culture // *Aging phenom. relation. differ. level. organ: Proc. Naito found symp. aging (Tokio, Aug. 27-29, 1978)*- NEW YORK, London, 1980.- P. 31- 38.
16. Mitalipova M.M. et al. Preserving the genetic integrity of human embryonic stem cells / Mitalipova M.M., Rao R.R., Hoyer D.M., Johnson J.A. et al.// *Nat. Biotechnol.* 2005. – T. 23. – № 1. – P. 19–20.
17. Moorhead P.S. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. / Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.I. et al // *Exp. Cell Res.* – 1960. – Vol. 20, N 3. – P. 613 – 616.
18. Shiras A. et al. Spontaneous transformation of human adult nontumorigenic stem cells to cancer stem cells is driven by genomic instability in a human model of glioblastoma / Shiras A., Chettiar S.T., Shepal V., Rajendran G. et al. // *Stem Cells.* 2007. – T. 25. – № 6. – P. 1478–1489.

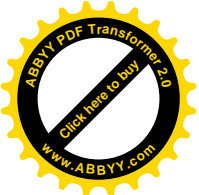


19. Soukup T. Mesenchymal stem cells isolated from the human marrow: cultivation, phenotypic analysis and changes in proliferation kinetics // Acta Medica (Hradec Kralove). 2006. T. 49. № 1. P. 27–33.
20. Suemori H. et al. Efficient establishment of human embryonic stem cell lines and long-term maintenance with stable karyotype by enzymatic bulk passage / Suemori H., Yasuchika K., Hasegawa K., Fujioka T. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2006. – T. 345. – № 3. – P. 926–932.
21. Tolar J. et al. Sarcoma derived from cultured mesenchymal stem cells / Tolar J, Nauta A.J., Osborn M.J. et al. // Stem Cells. 2007. T. 25. № 2. P. 371–379.
22. Xikum X. Observations on micronuclei germ cells / X. Xikum, S. Liming. Zool. Res. – 1990. – Y. 11. - №4. – P.343.

**ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ  
КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА КРОЛИКОВ  
НА РАННИХ ПАССАЖ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПРИ  
ДИССОЦИАЦИИ КЛЕТОЧНОГО МОНОСЛОЯ С ПОМОЩЬЮ  
ЭТИЛЕНДИАМИНТЕТРАУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ  
А. Й. Мазуркевич, М. О. Малюк, Л. Ф. Стародуб**

***Аннотация.** С помощью цитогенетического анализа установлено количественные (анеуплоидия, полиплоидия) и структурные нарушения хромосом в культуре стволовых клеток костного мозга кролей I-V пассажей. Наличие анеуплоидных клеток не превышало спонтанный уровень соматического мутагенеза, характерного для млекопитающих. Полиплоидия клеток первого пассажа не превышала спонтанный уровень этой изменчивости, а наличие метафазных пластинок из полиплоидией IV и V пассажей у 1,7 раз выше спонтанной хромосомной изменчивости, характерной для млекопитающих. Результаты микроядерного теста показали, что у популяциях мезенхимальных стволовых клеток кролей частота клеток с микроядром первого пассажа становится 3 %, второго и третьего – 5 %, четвертого и пятого – 7 %. Разница количества двуядерных клеток у популяции МСК кролей зависимо от номера пассажа не наблюдалась.*

***Ключевые слова:** мезенхимальные стволовые клетки, цитогенетический анализ, микроядерный тест, двуядерные клетки, клетки с микроядром, полиплоидия, анеуплоидия*

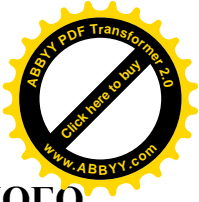


# CYTOGENETIC ANALYSIS OF RABBIT BONE MARROW MESENCHYMAL STEM CELLS AT EARLY CULTIVATION PASSAGES UNDER DISSOCIATION MONOLAYER CELL USING ETHYLENEDIAMINETETRAACETIC ACID

**A. Mazurkevych, M. Malyuk, L. Starodub**

***Abstract.** During the research, we determined the quantitative breach of chromosomes - aneuploidy, polyploidy and structural aberrations of mesenchymal stem cells I- V passage of the bone marrow of rabbits. The manifestation of aneuploid cells did not exceed the level of spontaneous somatic mutagenesis characteristic for mammals. Polyploidy karyotype of first passage cells does not exceed spontaneous level of this variability and frequency of polyploid cells at passages IV and V is 1.7 times higher than spontaneous chromosomal variability for this trait typical for mammals. Micronucleus test results showed that in populations of rabbit mesenchymal stem cells the frequency of cells with micronuclei at first passage was 3 ‰, at second and third - 5 ‰, at fourth and fifth - 7 ‰. The difference in the number of binucleated cell populations of rabbit MSCs depending on the number of passage was not observed.*

***Key words:** mesenchymal stem cells, cytogenetic analysis, micronucleus test, binucleated cells, cells with micronuclei, polyploidy, aneuploidy*



УДК: 630\*232: 630\*17:582.632.2

## ВПЛИВ СПОСОБІВ ЗБЕРІГАННЯ ЖОЛУДІВ ДУБА ЗВИЧАЙНОГО НА ЯКІСТЬ СІЯНЦІВ

**В. М. БІЛОУС**, кандидат сільськогосподарських наук

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

*E-mail: valikbelous@ukr.net*

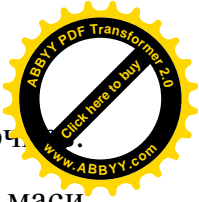
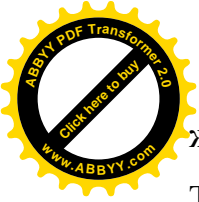
**Анотація.** *Встановлено, що за біометричними показниками кращими значеннями характеризувалися сіянці дуба звичайного, які вирости із жолудів, збережених у зимовий період траншейним способом та у проточній воді. Наведено, що більший вихід стандартного садивного матеріалу спостерігався за зберігання жолудів траншейним способом та у проточній воді, а менший відсоток стандартних сіянців відмічено за зберігання жолудів у підвалі.*

**Ключові слова:** *стандартні сіянці, жолуді, Quercus robur, зберігання, садивний матеріал*

Під час вибору місця під розсадник необхідно враховувати природні й господарсько-економічні умови району розміщення підприємства. Із природних умов найбільший вплив на ріст рослин мають місцезнаходження, рельєф і водний режим ділянки, а також її захищеність від вітру [5, 6].

Значна увага приділяється ґрунтовим умовам, оскільки ріст і розвиток рослин багато в чому залежить від ґрунтових умов [2]. Ґрунтова органічна речовина (гумус), в межах 2–3 % (підзолисті ґрунти) до 12–15 % (чорноземи), визначає водний, солевий, мікробний режим ґрунту і є летоксикатором, тобто знешкоджує надлишок мінеральних добрив. Дружність появи сходів, ріст і розвиток сіянців у рік посіву залежить від поверхневого горизонту ґрунту.

Ріст – це процес новоутворення елементів структури рослинного організму. Як відомо, під елементами структури розуміють як органи рослини, так і клітини, а також субмікроскопічні елементи структури протоплазми. Ріст багаторічних рослин характеризується черговістю процесів активного росту і спокою. Роботи А. П. Щербакова (1958, 1960) показують, що у сіянців деревних і кущових порід ритмічні не тільки процеси лінійного росту вегетативних органів рослини, але і накопичення органічних речовин і елементів кореневого



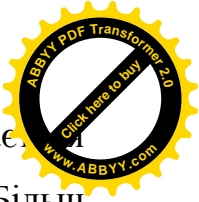
живлення протікають нерівномірно, періодично посилюючись і знижують.

Тривалість періодів уповільненого й інтенсивного накопичення органічної маси надземних органів у різних порід неоднакова, що пояснюється перш за все особливостями рослин та умовами їх місцезростання [5].

Періоди видимого відставання росту необхідні для відновлення в меристемних тканинах, сприятливих для росту співвідношень між вмістом нуклеопротейдів й інших речовин. В кореневій системі відбувається утворення фітогормонів росту, які визначають підтримування меристем рослини в діючому стані. Під час переходу до стану спокою вміст нуклеїнових кислот в меристемі точок росту бруньок зменшується, а перед початком росту збільшується. Накопичення нуклеїнових кислот є необхідною умовою для початку росту і воно відбувається не протягом всього періоду, а безпосередньо перед розпусканням бруньки і в ході цього процесу. Успішне існування рослинного організму визначають початкові стадії онтогенезу [4].

Співвідношення органічних речовин між окремими органами сіянців до кінця вегетаційного періоду весь час змінюється. Спочатку іде посилення утворення листового апарата, потім поступово збільшується кількість органічної маси стовбурців і коренів. На початку осені основна частина пластичних речовин витрачається на збільшення маси коренів. Загальна закономірність витрати асимілянтів і елементів кореневого живлення у різних деревних порід має свою специфіку, яка обумовлена різною реакцією останніх на безперервно змінні умови зовнішнього середовища. В результаті впливу періодично змінних умов зовнішнього середовища, в рослині виробляється певна ритмічність фізіологічних і біохімічних процесів, які визначаються поступальним ростом і накопиченням органічної речовини. В умовах помірного клімату річний цикл розвитку деревних рослин можна розділити на 3 періоди: період росту, період глибокого спокою і вимушеного спокою, який залежить від умов зовнішнього середовища.

Початок стадії проростка визначають моментом проростання насіння, а закінчення – розвертанням верхівкової бруньки [8]. Відмітною рисою проростків хвойних, як і будь-яких епігіяльних рослин, є наявність зародкових



листочків – сім'ядолей. Після розростання верхівкової бруньки починає стадія сходів, яка триває у хвойних до відмирання сім'ядолей [10]. Більш широкою віковою категорією рослин, яка включає в себе і фазу сходів, є фаза сіянцю – від початку росту бруньки, яка формує епикотильний пагін і утворює систему головного кореня, до ініціації гілкування первинного пагона і первинних скелетних коренів.

В річному циклі росту і розвитку однорічних сіянців деревних порід на лісових розсадниках Г. І. Редько (1980), Д. В. Воробйов, Б. Ф. Остапенко (1981) виділяють наступні фази:

1) проростання насіння, тобто «накльовування» насіння закінчується розривом оболонки і виходом корінця наверх. На даній фазі безпосередній вплив мають такі екологічні фактори вегетації як вода, теплота, кисень;

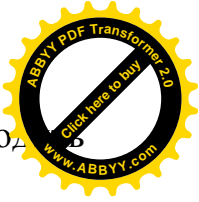
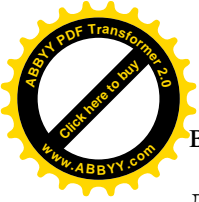
2) формування проростка (сім'ядольна фаза) у сосни триває 20–25 днів (вирішальні фактори – вода, теплота, кисень). Іноді її ще називають фазою появи сходів. Відбувається ріст корінця і гіпокотеля та вихід сім'ядолей на поверхню ґрунту. Запасні речовини, які є в насінні, повністю витрачаються і рослина переходить до мінерального живлення за рахунок речовин, які вбираються з ґрунту кореневою системою. Набуває значення фактор трофності;

3) листова фаза триває приблизно місяць після формування проростка. Неприятливі умови середовища, що викликають загибель рослин на даному етапі розвитку, заключаються в недостатчі або надлишку ґрунтової вологи. Встановлюються більш тісні контакти з біотичним середовищем;

4) стовбурна або коренева (перехідна) фаза. Відбувається інтенсивне нагромадження сухої речовини в стовбурцях і коренях сіянців. Умови фотосинтезу і транспірації починають складуватися під впливом світлового фактора, тепла і вологості. Формується коренева система, відбувається її гілкування, поглиблення та розширення;

5) в заключній фазі відбувається здерев'яніння стовбурців і остаточне формування однорічних сіянців.

Основною метою зберігання насіння є недопущення погіршення його посівних якостей з часом, яке часто зумовлює необхідність збільшення норми



висіву, зменшення ефективності всіх попередніх робіт і тим самим призводять до нераціонального використання насіннєвого матеріалу.

Основними показниками якості насіння є його схожість, енергія проростання і чистота. Із крупного насіння формуються сіянці, які ростуть інтенсивніше і є більші за розміром. Проте їх схожість знаходиться в зворотній залежності від норми висіву на одному погонному метрі в розсадниках. Тому абсолютна вага і схожість суттєво впливають на затрати, пов'язані з вирощуванням посадкового матеріалу, тобто ці показники якості насіння мають важливе господарське значення.

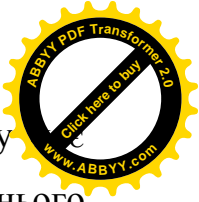
На думку дослідників, на якість насіння суттєво впливають температура і кількість опадів в літній період. В цей час насіння розвивається найбільш інтенсивно. Насіння, яке дозріло в найбільш холодне і дощове літо з максимальною кількістю атмосферних опадів за червень – серпень і мінімальною сумою середніх температур, має найменшу вагу.

**Метою дослідження** було вивчення і порівняння впливу різних способів зберігання жолудів дуба звичайного у зимовий період на якісні показники сіянців.

**Матеріали і методика досліджень.** Для висіву в польових умовах використовували жолуді I класу якості. Висів жолудів проводили на території тимчасового розсадника. Але дані роботи проводились в різний діапазон часу, оскільки весна першого року проведення досліджень була ранньою, тому жолуді висіяли в середині квітня, а останнього року дослідження – пізньою і жолуді були висіяні тільки на початку травня. Ширина міжрядь становила 40 см з нормою висіву 40 шт./м. п.

Кількість і якість садивного матеріалу визначали після закінчення вегетації рослин, але до опадання листя (на виробництві інвентаризація проводиться у вересні-жовтні). Вона передбачає уточнення загальної і продуктивної площі лісового розсадника, її розподіл за видами користування, видами деревних рослин, за віком і якістю садивного матеріалу.

За діючим стандартом, висота сіянців дуба має перевищувати 15 см, а діаметр кореневої шийки – бути не меншим 4 мм, довжина кореневої системи,



яка при садінні лісових культур в умовах надмірного зволоження ґрунту бути не меншою 10 см, нормального зволоження – 15 см, недостатнього зволоження – 20 см [1, 11].

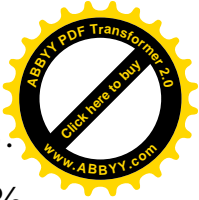
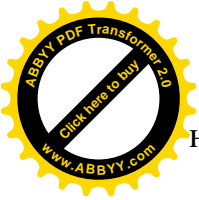
**Результати досліджень та їх обговорення.** Впродовж досліджуваних років першими давали сходи жолуді, збережені в проточній воді, на 20–25 добу з’являлись поодинокі сіянці. Поява сходів тривала впродовж місяця. Після траншейного способу зберігання поодинокі сіянці утворились на 25–30 добу, поява сходів також тривала місяць. Найгірший результат показали, жолуді збережені рештою способами. Сходи з’явилися на 40–45 добу після висіву і термін появи сходів був досить розтягнутим.

За даними отриманих результатів проведених досліджень щодо вирощування садивного матеріалу дуба звичайного в контрольованому середовищі В. О. Манойло зі співавторами вказують, що поодинокі сходи сіянців утворилися на 22-у дрбу вирощування [7]. Водночас вони створювали умови, наближені до оптимальних для вирощування сіянців дуба.

Відомо, що придатною для росту сіянців вважають температуру в межах 10–30 °С, причому оптимальною – 20–25 °С, мінімальною – 6–8 °С, максимальною – 37–37,5 °С [9].

Ріст сіянців у розсаднику значно відрізняється від умов росту дерев і їх кореневого живлення. Тимчасові розсадники функціонують незначний період часу і мають більш родючий ґрунт, який не встигає виснажитися і менше накопичує збудників хвороб і шкідників, завдяки короткочасності використання. Під час закладки тимчасових розсадників відсутня необхідність систематичного внесення добрив, менша вірогідність ураження збудниками хвороб, пошкодження личинками хруща *Melolontha hippocastani* F., значно знижується кількість доглядів [3].

Як вказано вище ґрунтова схожість є найдостовірнішою. В результаті проведених досліджень отримали найвищий показник ґрунтової схожості на варіанті збереження жолудів траншейним способом 87,0 % (табл. 1) за потенційної схожості насіння 36 шт. (встановлено в лабораторних умовах). Відповідно найнижчий показник ґрунтової схожості за потенційної схожості



насіння 28 шт. після зберігання жолудів дуба звичайного у підвалі – 61,0 %.

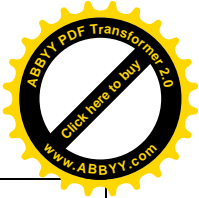
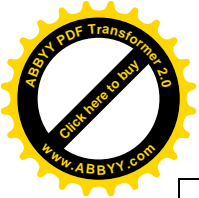
### 1. Ґрунтова схожість і вихід стандартного садивного матеріалу, %

Спосіб зберігання жолудів	Кількість жолудів на 1 п. м. рядка, шт.	Потенційна схожість жолудів, шт.	Ґрунтова схожість, %	Вихід стандартних сіянців, %
Відстань між рядами 40 см				
Траншейний	40	36	87,0±4,4	89,0±4,5
У проточній воді	40	35	85,0±4,3	85,7±4,3
У підвалі	40	28	61,0±3,1	43,1±2,2
У снігу	40	32	76,0±3,8	65,7±3,3

Проаналізувавши дані, наведені у таблиці 1, можна сказати, що найвищий вихід стандартного садивного матеріалу спостерігався за зберігання жолудів траншейним способом та у проточній воді і становив відповідно 89,0 % і 85,7 %. Найменший відсоток стандартних сіянців відмічено за зберігання жолудів у підвалі – 56,9 % сіянців виявилися нестандартними. Проте варто зазначити, що навіть за відсутності ураженості сіянців під час зберігання їх у снігу, вихід стандартного садивного матеріалу становить лише 65,7 %.

Для розподілу його за категоріями стану і визначення кількості стандартного садивного матеріалу ми використовували суцільний перелік сіянців, котрі проросли з жолудів, збережених різними варіантами для отримання відповідних результатів (табл. 2).

Як видно з даних таблиці 2, більший відсоток здорових сіянців і загиблих мають сіянці, що проросли із жолудів, які зберігались в снігу. Менший відсоток здорових сіянців проросло з жолудів, які зберігались у воді, а більший загиблих – сіянці, які проросли із жолудів, що зберігались в погребі.



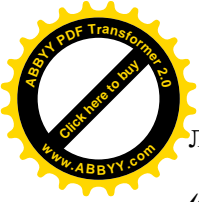
## 2. Розподіл сіянців *Quercus robur* за категоріями стану

Спосіб зберігання жолудів	Здорові, %	Пошкоджені, %	Загиблі, %
Траншейний	77,2±3,8	6,3±0,3	16,5±0,8
У проточній воді	66,1±3,3	16,4±0,8	17,5±0,9
У підвалі	68,0±3,4	2,6±0,13	29,4±1,5
У снігу	86,6±4,3	0	13,4±0,7

Сіянці, які відносяться до категорії пошкоджених, мали пошкодження кореневої системи ґрунтовими шкідниками, а саме личинками *Melolontha melolontha* L. та *Gryllotalpa gryllotalpa* L., в результаті чого сіянці загинули. Борошнистої роси на сіянцях в роки вирощування виявлено не було, оскільки кліматичні умови не відповідали умовам розвитку збудника вказаної хвороби.

В результаті проведених досліджень впливу способу зберігання жолудів дуба звичайного у зимовий період на кількість і якість сіянців встановлено, що за біометричними показниками кращими значеннями характеризувалися сіянці дуба звичайного, які вирости із жолудів, збережених у зимовий період траншейним способом та у проточній воді (табл. 3). Вищими виявились сіянці після траншейного способу зберігання, а нижчими – після зберігання у підвалі, відповідно 20,5 см і 10,1 см. Високе значення показника діаметра кореневої шийки спостерігалось у сіянців, вирощених із жолудів, збережених у проточній воді, низьким – збережених у підвалі, відповідно 5,3 мм і 2,4 мм. Разом з цим більшу довжину коренів мали сіянці, вирощені з жолудів, збережених траншейним способом, меншу – сіянці, утворені з жолудів, збережених у підвалі, відповідно 29,6 см і 14,8 см.

В даний час за розробки технологій вирощування високоякісного садивного матеріалу різних деревних порід і створення лісових культур все більше уваги приділяється садивному матеріалу із закритою кореневою системою [8]. В Західних регіонах нашої держави, зокрема Львівській і Волинській областях, налагоджене вирощування садивного матеріалу хвойних і



листяних порід із закритою кореневою системою за норвезькою технологією «Джиффі-7-Форестрі»: вирощування сіянців відбувається у торф'яних таблетках на піддонах або спеціальних касетах в умовах контрольованого середовища [12].

### 3. Біометричні показники сіянців дуба звичайного

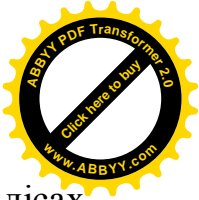
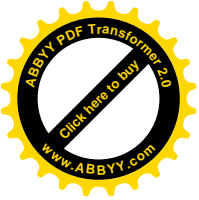
Спосіб зберігання жолудів	Висота сіянця, см			Діаметр кореневої шийки, мм			Довжина коренів, см
	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>M</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>M</i>	
Траншейний	40,1	8,0	20,5±1,0	9,2	2,1	4,8±0,2	29,6±1,5
У проточній воді	38,4	8,6	18,8±0,9	9,4	2,3	5,3±0,3	27,5±1,4
У підвалі	23,5	3,7	10,1±0,5	6,3	1,2	2,4±0,1	14,8±0,7
У снігу	28,1	5,2	15,4±0,8	5,3	1,0	3,1±0,2	22,5±1,1

Примітка: *max* – максимальне значення; *min* – мінімальне значення; *M* – середнє значення.

### Висновки

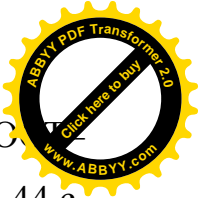
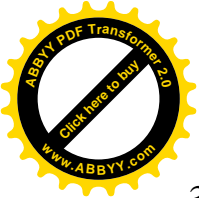
Отже, кращу збереженість жолудів і вищий вихід стандартного садивного матеріалу спостерігається за зберігання жолудів традиційним траншейним способом та у проточній воді – 89,0 та 85,7 %. Меншу збереженість та вихід стандартних сіянців відзначено за зберігання жолудів у підвалі – 56,9 % сіянців виявилися нестандартними. Проміжне положення за цими показниками займали жолуді після зберігання їх у природних умовах у снігу, вихід стандартного садивного матеріалу – 65,7 %.

Вищі біометричні показники мали сіянці, вирощені із жолудів після траншейного способу їх зберігання, а найнижчі – після зберігання жолудів у підвалі, відповідно 20,5 і 10,1 см. Високий показник діаметра кореневої шийки встановлено у сіянців, вирощених із жолудів, збережених у проточній воді, низький – у сіянців, вирощених із жолудів, збережених у підвальному приміщенні, відповідно 5,3 і 2,4 мм. Разом з цим більшу довжину коренів мали сіянці, вирощені з жолудів, збережених траншейним способом, меншу – сіянці з жолудів, збережених у підвалі, відповідно 29,6 і 14,8 см.



## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вакулук П. Г. Лісовідновлення та лісорозведення в рівнинних лісах України / П. Г. Вакулук, В. І. Самоплавський– Фастів: Поліфаст, 1998. – 506 с.
2. Влияние интенсивного использования почв лесных питомников на их лесорастительные свойства / [З. С. Чурагулова, Ф. Х. Хазиев, Ф. В. Садыкова, Я. М. Агафарова] // Лесное хозяйство. – 2000. – № 2. – С. 27–29.
3. Гладкий Н. П. Питомник декоративных деревьев и кустарников. – 2-е, переработанное и дополненное / Н. П. Гладкий. – Л.: Из-во литературы по строительству, 1971. – 323 с.
4. Журавлев И. И. Практические указания по борьбе с полеганием сеянцев в питомниках / И. И. Журавлев, Л. А. Софян. – Ереван: АН Армянской ССР, 1954. – 48 с.
5. Косников Б. И. Теоретические и практические основы организации сортового семеноводства и выращивание посадочного материала для агромелиоративных производств / Б. И. Косников. – Барнаул: Алтайское книжное издание, 1990. – 208 с.
6. Котов А. И. Об основах и особенностях лесоустройства / А. И. Котов. – К.: УАСХН, 1961. – 119 с.
7. Манойло В. О. Вирощування садивного матеріалу дуба звичайного у контрольованому середовищі / [Манойло В. О., Борисова В. В., Фатєєв В. В., Тільна І. О.] // Лісівництво і агролісомеліорація. – Х.: 2008. – Вип. 113 – С. 86–92.
8. Маурер В. М. Забезпеченість садивним матеріалом робіт з відтворення лісів: сучасний стан, проблеми та першочергові завдання / В. М. Маурер // Науковий вісник НУБіП України: серія «Лісівництво та декоративне садівництво». – 2011. – Вип. 164, Ч. 1. – С. 195–201.
9. Редько Г. И. Лесные питомники России / Г. И. Редько, Н. А. Бабич, Н. Г. Редько– Вологда: 1996. – 415 с.
10. Серебряков И. Г. Экологическая морфология растений / И. Г. Серебряков. – М.: Высшая школа, 1962. – 368 с.



11. Сеянцы деревьев и кустарников. Технические условия: ГОСТ 3317–90. [Дествующий 991-07-01]. – М.: Издательство стандартов, 1990. – 44 с. – (Государственный стандарт Союза ССР).

12. Біометричні показники дуба звичайного із закритою кореневою системою залежно від режимів їхнього вирощування / [Угаров В. М., Манойло В. О., Фатеев В. В. та ін.] // Лісівництво і агролісомеліорація. – Х.: 2012. – Вип. 121 – С. 129–133.

## **ВЛИЯНИЕ СПОСОБОВ ХРАНЕНИЯ ЖЕЛУДЕЙ ДУБА ОБЫКНОВЕННОГО НА КАЧЕСТВО СЕЯНЦЕВ**

**В. М. Белоус**

*Аннотация.* Установлено, что по биометрическим показателям лучшими значениями характеризовались сеянцы дуба обыкновенного, которые выросли из желудей, сохранных в зимний период траншейным способом и в проточной воде. Доказано, что больший выход стандартного посадочного материала наблюдался при хранении желудей траншейным способом и в проточной воде, а меньший процент стандартных сеянцев отмечен при хранении желудей в подвале.

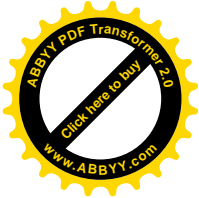
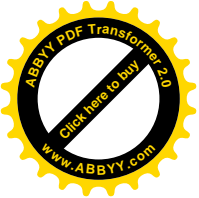
*Ключевые слова:* стандартные сеянцы, желуди, *Quercus robur*, хранения, посадочный материал

## **INFLUENCE OF METHODS OF STORAGE OF ACORNS OF OAK ORDINARY IS ON QUALITY OF SEEDLINGS**

**V. M. Bilous**

*Abstract.* It is set that on biometrical indexes the best values were characterize the seedlings of oak ordinary, which grew from acorns, stored in a winter period a trench method and in running water. It is resulted, that the greater output of standard landing material was observed at storage of acorns a trench method and in running water, and the less percent of standard seedlings is marked at storage of acorns in basement.

*Key words:* standard seedlings, acorns, *Quercus robur*, storages, landing material



УДК 621.791.927.7

## ВІБРАЦІЙНА ПОТОКОВА ЛІНІЯ ДЛЯ ІНДУКЦІЙНОГО НАПЛАВЛЕННЯ ТОНКИХ ДИСКІВ

**Ч. В. ПУЛЬКА**, доктор технічних наук, професор  
**В. М. БАРАНОВСЬКИЙ**, доктор технічних наук, доцент  
**В. С. СЕНЧИШИН, В. Я. ГАВРИЛЮК, М. В. ШАРИК**

*Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя*

*E-mail: baranovskyvm@rambler.ru*

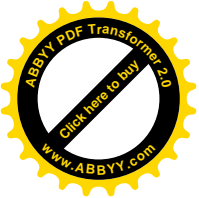
***Анотація.** В статті наведено будову та принцип роботи автоматичної лінії для індукційного наплавлення робочих поверхонь тонких сталевих дисків з прикладанням механічної горизонтальної вібрації. Спосіб відновлення поверхонь робочих органів дозволяє підвищити зносостійкість наплавленого металу в 1,5 рази порівняно з наплавленням без застосування вібрації, покращити якість наплавленого шару металу, зменшити затрати електроенергії на 15...25% та усунути деформацію тонких фасонних дисків відносно великих розмірів і складної конфігурації.*

***Ключові слова:** індукційне наплавлення, потокова лінія, кільцевий індуктор, механічна вібрація, енергозатрати*

У теперішній час для відновлення робочих органів сільськогосподарської техніки широко застосовують нові методи індукційного наплавлення робочих поверхонь порошкоподібними твердими сплавами, які характеризуються задовільними стійкими властивостями та значно підвищують ресурс та надійність роботи механізмів, робочі органи яких працюють в агресивних середовищах [7].

Залежно від потреби в номенклатурі відновлювальних деталей цей процес постійно вдосконалюється у напрямку розробки інтенсифікованих способів індукційного наплавлення із застосуванням додаткових операцій, які дозволяють підвищити технологічно-експлуатаційні показники роботи відновлених робочих органів.

**Метою досліджень** є підвищення зносостійкості наплавленого шару металу під час індукційного відновлення деталей шляхом введення додаткової технологічної операції у вигляді горизонтальної вібрації.

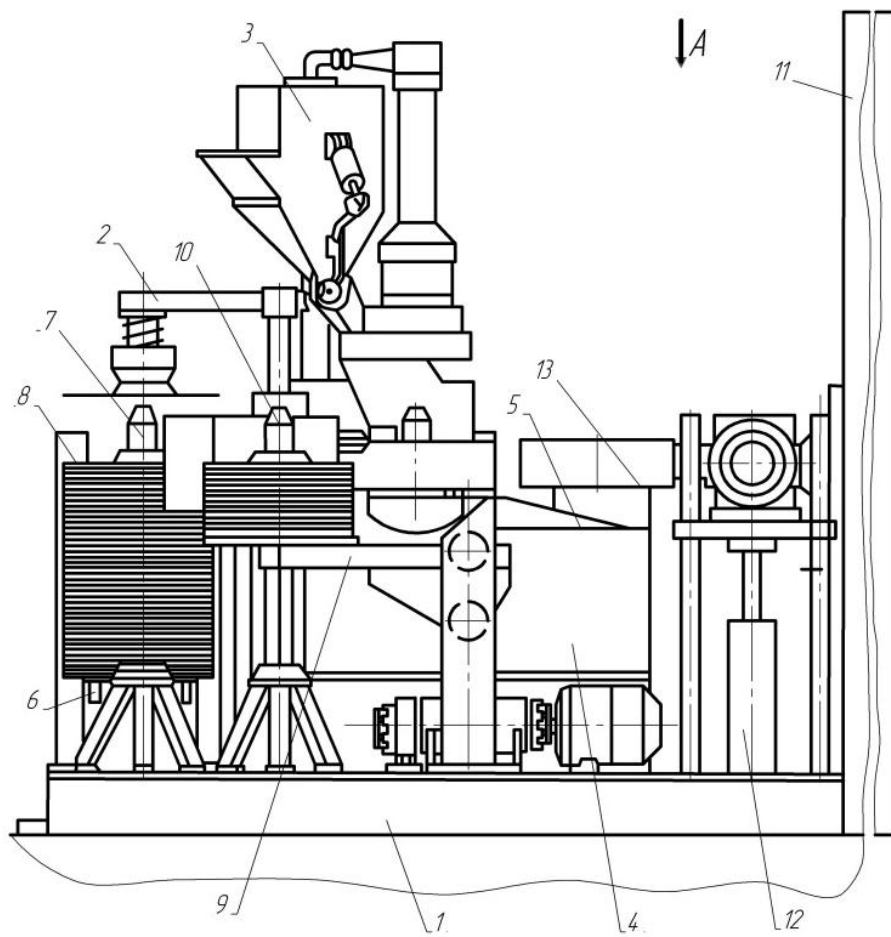


**Матеріали і методика досліджень.** Для наплавлення ножів-гичкор дисккових викопувальних робочих органів машин для збирання коренеплодів розроблено лінію для послідовно-неперервного способу їх відновлення, що в повному аспекті забезпечило механізацію всіх процесів наплавлення тонких фасонних дисків [1, 6].

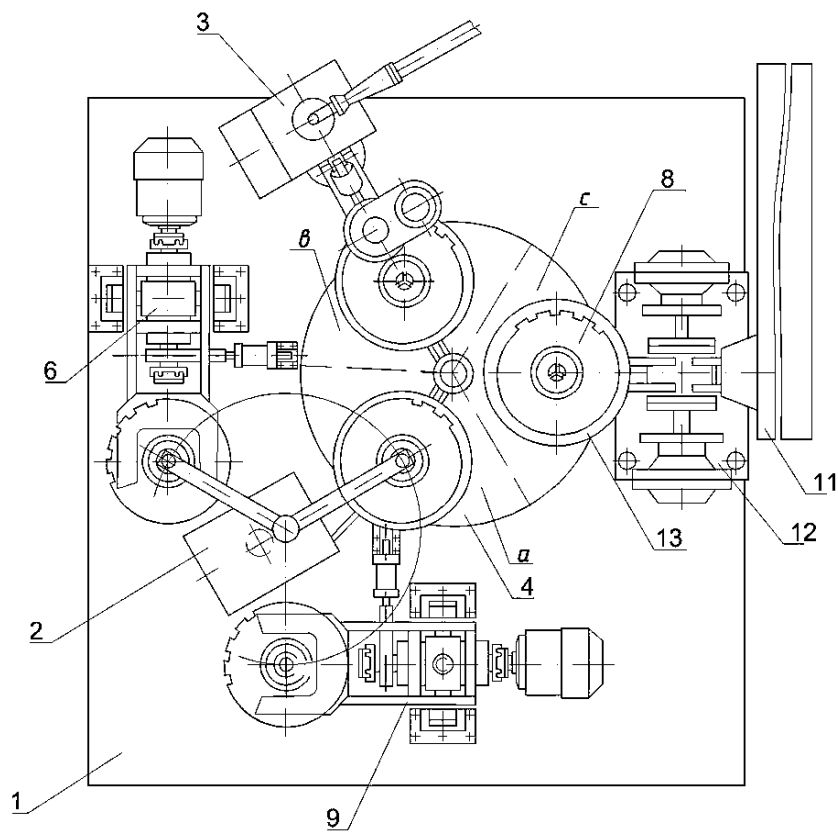
Проте існуючої лінії мають ряд суттєвих недоліків, основними з яких є: порівняно низька продуктивність процесу наплавлення порошкоподібних сплавів (час наплавлення одного ножа-гичкоріза становить більше 3 хв); велика енергоємність, яка пов'язана з режимами наплавлення, а також переміщенням значних мас горизонтально-рухомої платформи з устаткуванням до індуктора; короблення деталей, для усунення якої необхідна додаткова операція рихтування.

З метою ліквідації вищезгаданих недоліків була модернізована існуюча лінія послідовно-неперервного способу для одночасного індукційного наплавлення тонких фасонних дисків по всій робочій поверхні з використанням двовиткового кільцевого індуктора [5], яка підвищує продуктивність процесу наплавлення в 4-5 рази. Водночас за значенням енергозатрат було обґрунтовано раціональний режим наплавлення робочих поверхонь, який змінюється за експоненціальним законом [8] і дозволяє зменшити затрати електроенергії на 15...25% залежно від застосованих матеріалів для наплавлення та способів одночасного індукційного наплавлення [2].

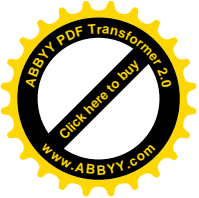
**Результати дослідження та їх обговорення.** Для вдосконалення процесу нами запропонована нова технологія індукційного наплавлення тонких фасонних дисків із прикладанням вертикальної, або горизонтальної механічної вібрації під час процесу наплавлення. Застосування вібрації у процесі наплавлення призводить до подрібнення структури наплавленого шару металу, що підвищує його зносостійкість в 1,3...1,5 рази порівняно з традиційним методом [4].



*Рис. 1. Схема автоматичної лінії (вигляд спереду)*

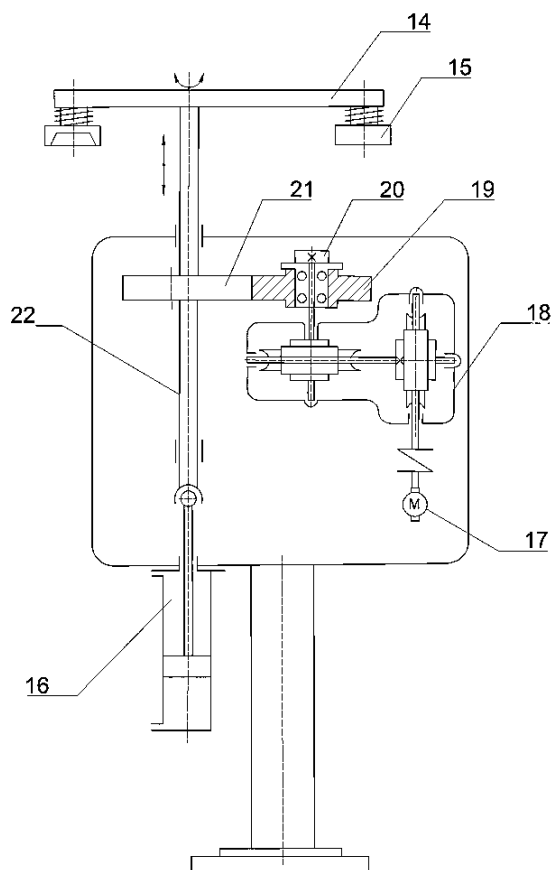


*Рис. 2. Схема автоматичної лінії (вигляд зверху)*

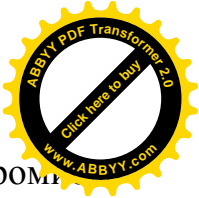
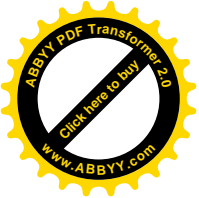


На основі результатів досліджень нової технології було встановлено переваги застосування горизонтальної вібрації перед вертикальною [3], водночас було вдосконалено існуючу автоматичну лінію, яка б забезпечила надання додаткової технологічної операції під час процесу індукційного наплавлення матеріалів у вигляді горизонтальної механічної вібрації.

Автоматична потокова лінія для наплавлення тонких дисків складається із встановлених на основній рамі 1 (рис. 1, рис. 2) наступних складових одиниць: механізм завантаження-розвантаження дисків 2; механізм засипання і повернення шихти 3; механізму переміщення дисків 4; механізму горизонтальних коливань 5; механізму поштучного видавання 6, що має змінну касету 7 із тонкими дисками 8; механізму приймання готових дисків 9, що має пусту змінну касету 10; високочастотного генератора 11; пристрою 12 для під'єднання клем високочастотного генератора 11; двовиткових кільцевих індукторів 13.

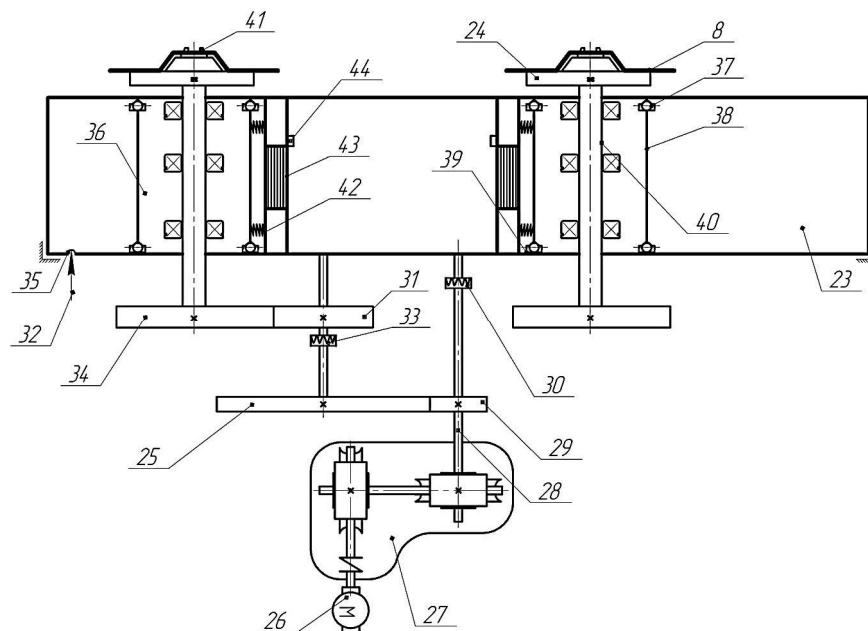


**Рис. 3. Кінематична схема механізму завантаження та розвантаження дисків**



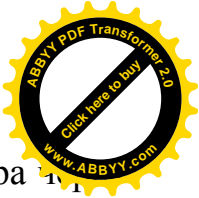
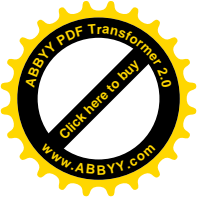
Механізм завантаження-розвантаження дисків складається із коромисла 14 (рис. 3), на кінцях якого розміщено електромагніти 15 із трапецієподібним заглибленням, що дозволяє виконувати зручне встановлення та знімання дисків 8, силового циліндра 16, електродвигуна 17, черв'ячного редуктора 18. Механізм завантаження-розвантаження дисків за допомогою силового циліндра може переміщуватися вертикально або повертатися за рахунок наявності електродвигуна та черв'ячного редуктора, на вихідному валу якого встановлено шестерню 19 і електромагнітну муфту 20. Шестерня, яка вільно обертається взаємодіє із шестернею 21 вала 22 коромисла.

Механізм переміщення дисків виконано у вигляді обертового стола 23 (рис. 4) із трьома поворотними планшайбами 24 для базування дисків і вмонтованими в столі двовитковими кільцевими індукторами 24, кількість яких дорівнює кількості поворотних планшайб. Він умовно розділений на три позиції (рис. 2): *a* – завантаження-розвантаження дисків; *b* – засипання шихти; *c* – наплавлення матеріалу.



**Рис. 4. Кінематична схема механізму переміщення дисків та механізму горизонтальних механічних коливань**

Обертовий стіл складається із привідного двигуна 26, редуктора 27, на вихідному валу якого закріплено шестерню 29 та муфту 30, за допомогою яких



проводиться цикл повороту стола з позиції на позицію. Рух від редуктора зубчасту пару 29, 25, муфту 33 та зачеплення 31, 33 передається валу 40, який знаходиться у корпусі механізму горизонтальних коливань 36. Корпус підпружинений пружинами 42 встановлений у столі на опорах кочення 37 та гнучких ланок 38, що забезпечує можливість його переміщення у горизонтальній площині по напрямних 39. Зазор між столом та корпусом 36 становить 8 мм. У корпусі встановлено шпindel з тризубим фіксатором 41 і електромагніт 43.

Пристрій 12 (рис. 1, рис. 2) для під'єднання клем високочастотного генератора 11 до індукторів 13 встановлено на основі 1 між обертовим столом 23 та високочастотним генератором 11. Водночас витки кожного кільцевого індуктора 13 розташовано співвісно осі обертання поворотної планшайби 24 (рис. 4) та по обидві сторони її базової площини.

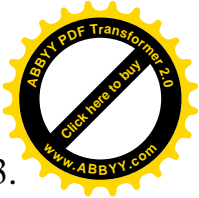
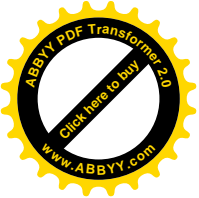
Принцип роботи лінія для наплавлення дисків наступний.

На автоматичну лінію подається змінна касета 7 з дисками 8 і пуста змінна касета 10, встановлених, відповідно, у механізм поштучного видавання 6 та механізм приймання дисків 9.

За допомогою силового циліндра 16 (рис. 3) виконується переміщення коромисла 14 вверх-вниз разом з електромагнітами 15, які захоплюють диски 8 та доставляють їх на позицію *a* завантаження-розвантаження та знімання готових дисків. Стіл 23 повертають за допомогою обертаючого механізму 4 (рис. 2), при цьому відбувається подача диска на позицію засипання шихти 3, де диск із шихтою направляється на позицію наплавлення *c*, а після виконання наплавлення відновлений диск поступає на позицію завантаження-розвантаження *a*, де відбувається його знімання.

В механізмі засипання і повернення шихти 3, диск притискається до шпинделя 24 та фіксується тризубим фіксатором 41 з метою запобігання можливості його повороту відносно шпинделя під час засипання шихти.

З метою підвищення зносостійкості наплавленого шару металу використовують горизонтальну вібрацію, яка здійснюється електромагнітом 43



на позиції наплавлення *c* без загального коливання обертаючого стола 23.

На позиції засипання шихти *b* шпindel 40 з шестернею 34 з'єднаний з електроприводом 26. Потім обертаючий стіл 23 повертається на 120° на позицію наплавлення *c*, при цьому шпindel із шестернею 34 від'єднуються від шестерні 31, що з'єднана з електроприводом 26. На позиції наплавлення *c* включається високочастотний генератор 11 та подається струм на індуктор 13, де відбувається нагрівання диска 8. Коли температура порошкоподібного сплаву досягає температури його плавлення, включається електромагніт 43 і здійснюється коливання диска 8 в горизонтальному напрямку. Датчик 44 включає часового реле, яке встановлює час роботи електромагнітного приводу коливання заготовки в процесі наплавлення. Електромагніт 43 вимикається після наплавлення диска 8 з витримкою в часі 10 с.

Диск 8 поступає на позицію завантаження-розвантаження *a*, після чого готовий наплавлений диск 8 знімається, а новий подається на обертаючий стіл 23 і так цикл роботи автоматичної потокової лінії повторюється заново.

### **Висновки**

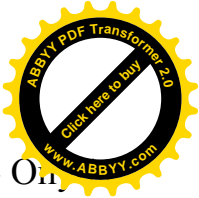
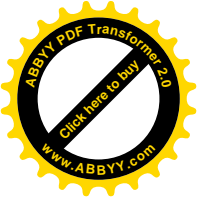
Модернізована лінія одночасного індукційного наплавлення тонких фасонних дисків із прикладанням механічної вібрації дозволяє підвищити зносостійкість наплавленого шару металу в 1,5 рази, покращити його якість, зменшити затрати електроенергії 15...25 %, а також деформацію тонких сталевих дисків відносно великих розмірів і складної конфігурації.

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. А.с. 1544543 ССРСР, МКИ<sup>5</sup> В 23 К 37/04. Автоматическая поточная линия для наплавки фасонных дисков / З. В. Шкуль, Ч. В. Пулька, О. Е. Божемский и др. – Оpubл. 23.02.90. – Бюл. № 7.

2. А. с. 1619571 ССРСР, МКИ В 23 К 13/00. Способ наплавки тонкостенных фасонных дисков / Ч. В. Пулька, О. Н. Шаблий, Б. П. Будзан, В. М. Скочило. Оpubл. 08.09.90. – Бюл. № 17.

3. Пат. 94727 UA, МПК В23К 13/00. Автоматична потокова лінія для наплавлення тонких дисків / Ч. В. Пулька, В. Я. Гаврилук, В. С. Сенчишин,



М. В. Шарик; заявник і власник Тернопіл. нац. техн. ун-т ім. І. Пулюя. – Оп.  
25.11.2014. – Бюл. № 22.

4. Влияние вибрации на структуру и свойства металла наплавленного индукционным методом / Ч. В. Пулька, О. Н. Шаблей, В. С. Сенчишин и др. // Автомат. сварка. – 2012. – № 1. – С. 27–29.

5. Пулька Ч. В. Енергозберігаюча автоматизована лінія для одночасного індукційного наплавлення тонких фасонних дисків / Пулька Ч. В // Вісник ТДТУ ім. І. Пулюя. – 2002. – Т. 7. – №3. – С.41–48.

6. Пулька Ч. В. Механізована лінія для неперервно-послідовного індукційного наплавлення тонких фасонних дисків / Ч. В. Пулька // Вісник ТДТУ ім. І. Пулюя. – 2002. – Т. 7. – № 2. – С. 83–90.

7. Ткачев В. Н. Износ и повышение долговечности деталей сельскохозяйственных машин / В. Н. Ткачев– М.: Машиностроение, 1971. – 264 с.

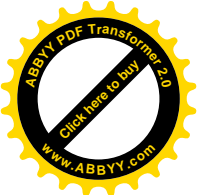
8. Шаблей О. Н. Оптимизация энергозатрат при индукционной наплавке тонкостенных дисков / О. Н. Шаблей, Ч. В. Пулька, Б. П. Будзан // Автомат. сварка. – 1987. – № 1. – С. 36–39.

## **ВИБРАЦИОННАЯ ПОТОКОВАЯ ЛИНИЯ ДЛЯ ИНДУКЦИОННОЙ НАПЛАВКИ ТОНКИХ ДИСКОВ**

**Ч. В. Пулька, В. Н. Барановский, В. С. Сенчишин, В. Я. Гаврилюк,  
М. В. Шарик**

***Аннотация.** В статье приведена конструкция и принцип работы автоматической линии для индукционной наплавки рабочих поверхностей тонких стальных дисков с применением механической горизонтальной вибрации. Способ восстановления поверхностей рабочих органов позволяет повысить износостойкость наплавленного металла в 1,5 раза в сравнении с наплавкой без применения горизонтальной вибрации, улучшить качество наплавленного шара металла, уменьшить затраты электроэнергии на 15...25 % и устранить деформацию тонких фасонных дисков относительно больших размеров и сложной конфигурации.*

***Ключевые слова:** индукционная наплавка, поточная линия, кольцевой индуктор, механическая вибрация, энергозатраты*



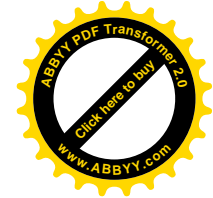
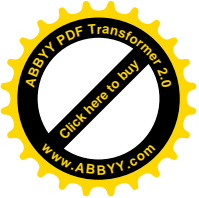
## OSCILLATION STREAM LINE FOR INDUCTION

### WELDING ON OF THIN DISKS

**Ch. Pulka, V. Baranovskiy, V. Senchishin, V. Gavrilyuk, M. Sharyk**

***Abstract.** The article describes the structure and principle of the automatic line for working surfaces induction welding of thin steel wheels with by applying horizontal mechanical vibration. Method restoration work surfaces can increase the wear resistance of the weld metal 1.5 times compared to the use of welding without vibration, improve the quality of the deposited metal layer, reduce electricity costs by 15 ... 25% and eliminate the deformation of thin disc shaped relatively large size and complex configuration.*

***Key words:** induction welding, production line, ring inductor, mechanical vibration, power consumption.*



УДК 661.722 : 663.15 : 664.788.2

**ВИРОЩУВАННЯ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE M5* НА ОСНОВІ  
СОКУ ЦУКРОВОГО СОРГО В УМОВАХ ДІЮЧОГО ПІДПРИЄМСТВА З  
ВИРОБНИЦТВА БІОЕТАНОЛУ**

**О. І. ВОЛОДЬКО**, провідний інженер

**С. П. ЦИГАНКОВ**, доктор технічних наук

*Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки  
Національної академії наук України»*

*E-mail: vilforn@gmail.com*

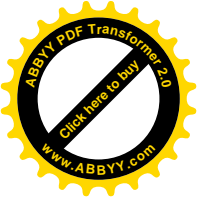
***Анотація.** Показана можливість прямого використання соку для вирощування виробничих дріжджів за умови пастеризації соку. Наведені кінетичні характеристики росту дріжджів і параметри контролю процесу дріжджогенерування, що можуть бути основою для складання технологічної карти процесу. Дані рекомендації з використання соку для підприємства*

***Ключові слова:** дріжджогенерування, соргоцукровий сік, біоетанол*

В останні десятиріччя підвищений інтерес викликають поновлювальні джерела енергії. Виробництво рідкого палива з біомаси збільшилося більше ніж в 6 разів з 2003 до 2013 рр. Виробництво біоетанолу збільшилось за цей період в 3 рази і в 2013 році склало біля 44,4 млн тонн у нафтовому еквіваленті (87,0 млрд л спирту) [1].

Основною сировиною для українського біоетанолу є бурякоцукрова меляса, запаси якої обмежені, що стримує розвиток біоетанольної індустрії. Тому виникає потреба у нових джерелах цукрів, яким може бути цукрове сорго.

Сік, отриманий із сорго є натуральним середовищем, воно потребує внесення незначних кількостей поживних солей нітрогену та фосфору, але показана можливість зброджування і без внесення будь-яких солей [2 – 5]. Головною відмінністю соргоцукрового соку від бурякоцукрової меляси є гетерогенний склад цукрів (крім сахарози, 10-50 % інвертного цукру), що може ускладнювати процес контролю ферментації [6]. З метою використання соргоцукрового соку для отримання біоетанолу ведуться роботи з оптимізації



умов дріжджогенерування та зброджування соку, а також пошук шт. дріжджів, що максимально зброджують цукри сорго [7 – 10].

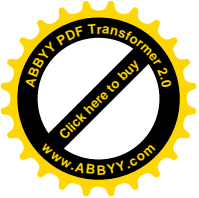
У співробітництві науковців нашого інституту із промисловцями, відбулося практичне впровадження анаеробної фази ферментації соргоцукрового соку в суміші з бурякоцукровою мелясою на Будильському експериментальному заводі в Сумській області. Дріжджогенерування на соку сорго проводилося в окремому ферментері з барботажем повітря в наукових цілях та для подальшого використання у промисловості. Застосування соргоцукрового соку для вирощування виробничих біоетанольних дріжджів дає додаткову можливість використовувати сік без необхідності його тривалого зберігання. Також, при заміні дріжджогенерування з використанням меляси на сік сорго, зникає необхідність витратити воду для розведення густої меляси з 78 – 85 % СР до 12 – 14 % СР.

**Метою дослідження** було адаптувати процес дріжджогенерування *Saccharomyces cerevisiae* M5 на основі соку цукрового сорго, отриманого за допомогою промислового пресу на діючому підприємстві для подальшого використання у виробництві біоетанолу (ОМПА) з цукрового сорго та бурякоцукрової меляси.

#### **Матеріали і методи дослідження.**

##### *Стеблини цукрового сорго та сік.*

Цукрове сорго сорт «Мамонт» був вирощений на сільгоспугіддях Лебединського району, Сумської обл. в 2013 р. (північний схід України). Фітомаса рослини (середня врожайність зрізаних стебел на висоті 0,5 м з листям та волоттю) складала 80 т/га використовувалась для перероблення в оксигенат моторного палива, в якому етанол складав близько 95 % об. Середньорічна кількість опадів в регіоні біля 590 мм та середньомісячна температура в літні місяці 20 °С [11]. Рослини з поля збирали в жовтні (фаза зернової стиглості) силосозбиральним комбайном. Подрібнену фітомасу відтискали на промисловому трьохвальцевому пресі потужністю 50 тонн на



годину. Вихід соку складав близько 45-55 % загальної маси в залежності від вологості стебла.

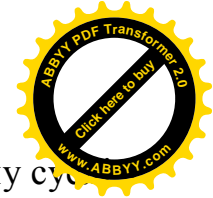
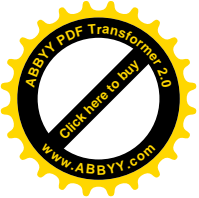
Соргоцукровий сік аналізували за такими показниками: забрудненість мікроорганізмами; загальний вміст сухих речовин (СР), % мас., за допомогою цукрометра або рефрактометра УРЛ – 1; загальну кислотність (титрування з NaOH); вміст загального нітрогену по К'ельдалю [12]; редукуючі речовини, сахарозу, загальні цукри в перерахунку на глюкозу (сума редукуючих речовин та сахарози) та крохмалі визначали пристосованим до соргоцукрового соку методом Лейна та Ейтона (ISO 5377:1981) [13], після освітлення соку 30 % ацетатом свинцю, інверсією сахарози та гідролізом крохмалю. Інверсію сахарози проводили за допомогою соляної кислоти при температурі 68-70 °С впродовж 5 хв. [14]. Крохмаль гідролізували за допомогою розведеної соляної кислоти при нагріванні на водяній бані впродовж 3 годин [15]. Якість соку визначали відношенням зброджуваних цукрів до загальних СР соку. рН вимірювали рН-метром рН-150М. За необхідності зразки соку зберігали для подальших експериментів в морозильній камері за - 20 °С.

#### *Дріжджогенерування.*

В роботі використовували промисловий штам *S. cerevisiae* M5 з колекції штамів мікроорганізмів та ліній рослин Державної установи „Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України”.

Дріжджогенерування проводили в середовищі на основі соргоцукрового соку в ферментері – апараті чистої культури (АЧК), об'ємом 7,5 м<sup>3</sup> за температури 28 – 30 °С та аерацією повітрям інтенсивністю 3 м<sup>3</sup>/м<sup>3</sup> годину. Початкове рН корегували розведеною сірчаною кислотою до 4,2. Процес контролювали вимірюванням видимої густини – показник цукрометра за робочої температури процесу (28 – 30 °С), % СР.

Пастеризацію соку проводили за нагріванні до 90 °С, витримання 30 хв. Засівну культуру вносили 20 % об. Засівний матеріал дріжджів отримували з робочих дріжджогенераторів підприємства, що працює за безперервним способом ферментації м'ясного суслу підвищеної концентрації. Відповідно до

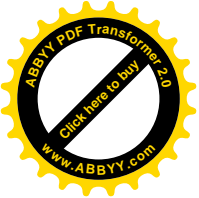


технологічного регламенту заводу, дріжджі вирощувалися на м'ясоному суслі 15 % СР, з додаванням 0,15 % ортофосфорної к-ти та 0,1 % карбаміду до маси м'яса. За періодичного дріжджогенерування АЧК заповнювали на 60 %. За дріжджогенерування з підживленням початкова порція соку становила 2 м<sup>3</sup> (25 % об'єму АЧК). Наступні порції соку вносили коли видима густини дріжджового суслу знижувалася до 6,0. Культивування проводили до досягнення стаціонарної фази, коли кількість живих клітин дріжджів не змінювалась. Кількість дріжджових клітин та їх стан контролювали мікроскопіюванням в камері Горяєва з барвником метиленовим синім. Дріжджогенерування проводили протягом тижня – один цикл за 1 добу.

Швидкість росту дріжджів характеризували максимальною швидкістю росту клітин ( $\mu_{\max}$ , год<sup>-1</sup>). В культуральній рідині визначали вміст етанолу та початкову концентрацію СР, яка вираховується за стандартною методикою (складається із суми істинних СР культуральної рідини помножену на питому вагу розчину цукрів при даній концентрації СР та СР, що були використані на утворення біоетанолу). Істинні СР культуральної рідини – показник сахариметра у фільтраті культуральної рідини після відгонки етанолу та доведення дистильованою водою до попереднього його об'єму [16].

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

**Характеристика отриманого соку.** Нативний соргоцукровий сік являє собою зелено-сіру суспензію. Під час відстоювання виділяється рихлий осад, що складається із мезги та білків. На полях, прилеглих до заводу, вирощували декілька сортів сорго. Соргоцукровий сік дуже відрізнявся як між сортами так і в різних партіях одного й того ж сорту. Вміст цукрів коливався від 15 % до 8 %, якість нативного соку змінювалась від 85 % до 65 %. Якщо різниця між сортами обумовлена їх особливістю, то різниці партій одного й того ж сорту пояснюється різними термінами збирання врожаю. Нажаль, основну масу рослин (з технічних причин) збирали в пізній осінній період із періодичними дощами, що безумовно знизило якість соку. Основні дослідження проводили із соком сорту «Мамонт». Склад соку, на час дослідження наведено в таблиці 1.



В нативному соку цукрового сорту «Мамонт», отриманому у промислових умовах, СР нецукрів складала 32 – 36 %. Решта СР – цукри, в яких співвідношення редуруючих речовин та сахарози приблизно 1:1. Неочищений, нативний сік за якістю виявився подібним до меляси. Склад соку залежить від сорту сорго, ґрунтово-кліматичних умов, кількості внесених добрив та строків збирання. Може відрізнятися за співвідношенням цукрів та вмістом інших поживних речовин [17]. Для отримання більш якісного соку потрібно очищати стеблини від волоті та листя. Характерною ознакою нативних соків є кисле рН за рахунок органічних кислот циклу Кребса. Кількість виявленого нами крохмалю є незначною, за збільшення його кількості можливо стане доцільним використання амілолітичних ферментів.

## 1. Показники соргоцукрового соку, що використовувався в дослідженнях

Показник	Соргоцукровий сік
СР по цукрометру, %	11,5 ± 0,8
Редукуючі р-ни, %	3,8 ± 0,3
Сахароза, %	4,0 ± 0,3
Загальний цукор, %	7,8 ± 0,6
Якість, %	68 ± 11
рН	4,4 ± 0,05
Кислотність, град	0,55 ± 0,05
Загальний нітроген, мг/л	0,7 ± 0,07
Крохмаль, %	0,5 ± 0,07

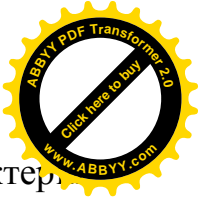
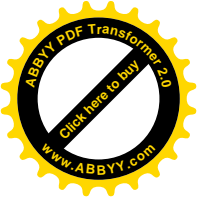
Примітка: n=3, ± стандартне відхилення

Проведені мікробіологічні дослідження показали досить сильну забрудненість соку мікрофлорою (табл. 2). Самозакисання соку за кімнатної температури 20 °С відбувалось за одну добу.

## 2. Показники забрудненості саку сорго мікроорганізмами

Сік	Вміст мікроорганізмів в 1мл, КУО×10 <sup>6</sup>		
	плісняві гриби	дріжджі	мезофіли
Соргоцукровий сік	0,7	0,11	3.6

Відомо, що в умовах сучасного спиртового виробництва можуть розвиватися лише деякі мікроорганізми. Сторонні мікроорганізми для



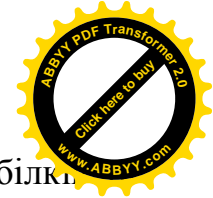
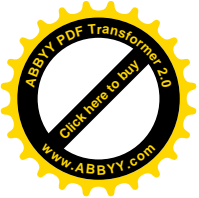
спиртового бродіння особливої безпеки не становлять. Більшість бактеріоцидних шкідників спиртового виробництва – гинуть. Найбільш небезпечні для спиртового виробництва є різноманітні кислотоутворюючі бактерії, особливо молочнокислі, для яких характерна висока кислото- та спиртостійкість. У сировину мікроорганізми можуть потрапляти як під час виділення цукрів з рослин, так і під час транспортування та зберігання, а також із повітря і води.

За даними американських вчених свіжий сік, отриманий із цукрового сорго містить  $10^8$  мікроорганізмів на мл. Домінантною бактерією є *Leuconostoc mesenteroides* [18]. Інші мікроорганізми *Lactobacillus*, дріжджі і непатогенні бактеріальні коки, кожний з яких складає приблизно 1 % від популяції мікроорганізмів. Також у незначній кількості присутні плісняві гриби.

Псування соку супроводжується появою кислого запаху, знебарвленням та піноутворенням, що відбувається між 5 та 12 годинами за літніх температур (25 °C). Псування супроводжується зниженням рН з 4,9 до 4,5. Сік можна зберігати впродовж 14 днів за 4 °C за своєчасного заморожування без втрат його якості.

Ефект пастеризації за температури 85–90 °C для соргового соку, що інфіковані молочнокислими та спороутворюючими бактеріями, може бути неефективним, особливо за тривалого безперервного процесу. З практики переробки м'яса відомо, що практично повна стерилізація досягається за температур 120–130 °C протягом короткого часу – біля однієї хвилини [19].

Під час проведення температурної обробки соку сорго відбувається теплова коагуляція високомолекулярних сполук, зокрема білків та хлорофілу. Водночас спостерігається відкладання характерного нальоту на стінках апарату, що обумовлює необхідність його промивання після кожної порції пастеризованого соку. Для зменшення цього явища можна використати двостадійне підігрівання соку або інші фізико-хімічні методи очищення соку від білків та колоїдів. Наприклад зміною рН до ізоелектричної точки білку або центрифугуванням. Цікаво, що етанол, володіючи водовідемною здатністю,



накопичуючись в культуральній рідині може знижувати розчинність білків інших високомолекулярних сполук.

**Дріжджогенерування *S. cerevisiae* M5 на соргоцукровому соку.** Питома швидкість розмноження дріжджів залежить від багатьох факторів – складу середовища, рН та способу підживлення, інтенсивності масообміну, наявності інгібіторів та стимуляторів росту, фізіологічного стану, кількості засівних дріжджів та ін. [2, 7].

Соргоцукровий сік, що надходив впродовж тижня проведення експериментів відрізнявся в незначних межах – таблиця 1. Оскільки сік сорго із промислового пресу має багато нецукрів, що знаходиться у зваженому стані, то визначення біомаси дріжджів шляхом фільтрування відповідного об'єму сусла з наступним зважуванням фільтрів з біомасою дріжджів було неможливо – білковий осад дуже погано фільтрується. Для контролю інтенсивності росту дріжджів використовували мікроскоп та камеру Горяєва.

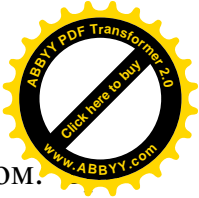
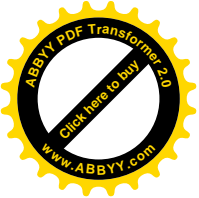
Показники вихідного дріжджового сусла, утвореного після внесення до пастеризованого соргоцукрового соку дріжджового інокуляту та показники сусла після досягнення біомаси дріжджів 150 – 170 млн/мл (зрілі дріжджі) без підживлення наведено в таблиці 3.

### **3. Параметри соргоцукрових сусел при дріжджогенеруванні без підживлення**

Показник	Дріжджогенерування	
	Вихідне дріжджове сусло	Зрілі дріжджі
Біомаса дріжджів, кл/мл	$0,3 \times 10^8 \pm 7,5 \times 10^5$	$1,6 \times 10^8 \pm 1,5 \times 10^7$
Видима густина 30° С, град	$9,5 \pm 0,3$	$5,0 \pm 0,2$
Концентрація етилового спирту, % об.	$0,8 \pm 0,01$	$3,2 \pm 0,02$
Істинні СР бражки, %	$10,2 \pm 0,6$	$6,4 \pm 0,4$
Початкова концентрація СР, %	$11,8 \pm 0,9$	$11,7 \pm 0,9$
рН	$4,14 \pm 0,05$	$4,2 \pm 0,05$
Кислотність, град	$0,9 \pm 0,05$	$0,9 \pm 0,05$

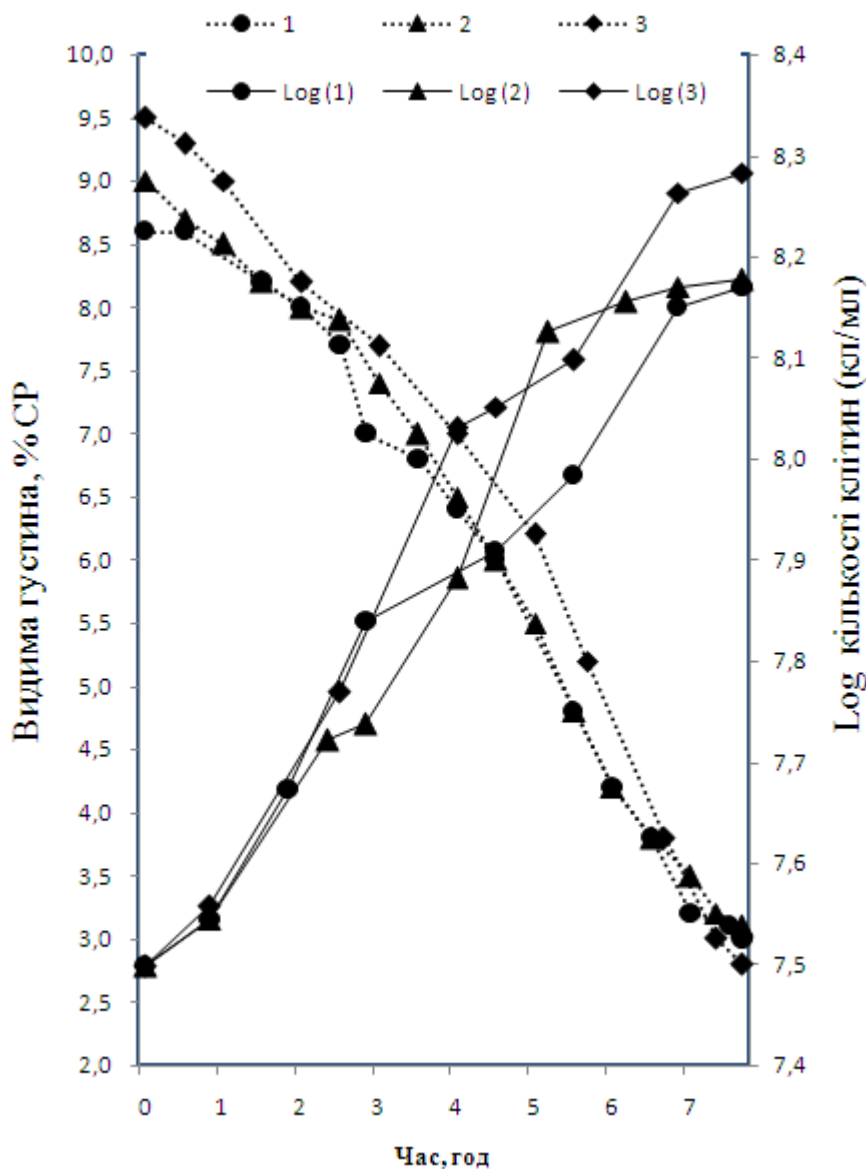
Примітка: n=3, ± стандартне відхилення

Під час дріжджогенерування в результаті асиміляції дріжджами цукрів сусла на ріст біомаси і виділенням невеликої кількості етанолу (ефект Кребтрі),

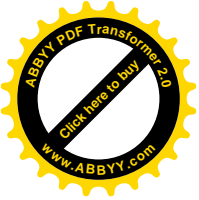


густина культуральної рідини знижується, що фіксується сахариметром.

криві зниження видимої густини з часом за періодичного дріжджогенерування та наростання кількості живих клітин дріжджів (логарифм) показано на рисунку 1. Спостерігається кореляція зниження густини і росту клітин дріжджів за дріжджогенерування. В таблиці 4 зазначені максимальні швидкості їх росту.



**Рис. 1. Криві зниження видимої густини (- - -) та Log накопичення біомаси дріжджів (—) за дріжджогенерування**



#### 4. Значення максимальних швидкостей росту

Крива на графіку	1	2	3
Максимальна швидкість росту для 3 кривих, $\mu$ (год <sup>-1</sup> )	0,2	0,27	0,31

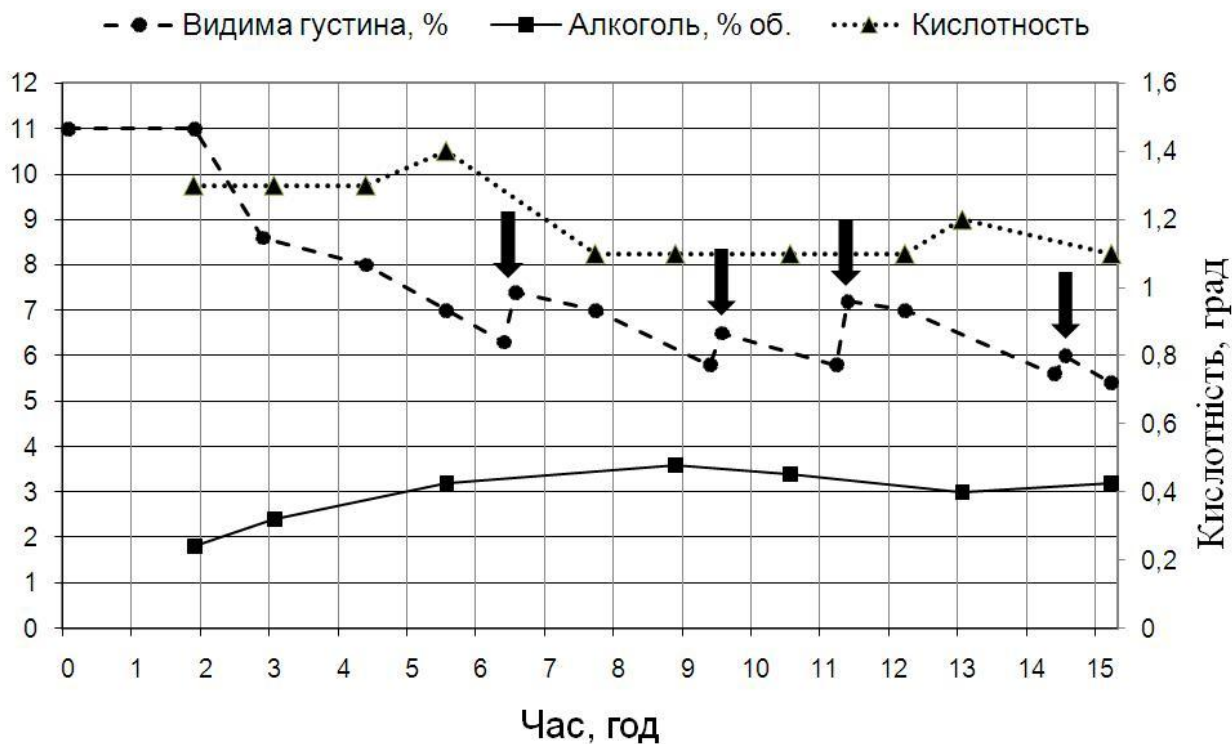
З рисунка 1 видно, що на соку з більшим вмістом СР максимальна швидкість росту найбільша, відповідно на соку з найнижчим вмістом СР – швидкість росту дріжджів найнижча. Автори, що досліджували співвідношення СР та цукрів соргоцукрового сорго виводили лінійну закономірність – із збільшенням СР зростає вміст цукрів [20, 21]. Тому можна припустити, що більш інтенсивне споживання цукрів (швидший приріст біомаси) у більш концентрованому соку відбулось за правилом збільшення градієнту концентрації цукрів навколо мембран клітини призводить до більш інтенсивного споживання субстрату [19].

Таїландські дослідники під час вирощування дріжджів *S. cerevisiae* NP 01 на соргоцукровому соку з додавання сахарози на середовищах з 24 % та 28 % СР в залежності від вихідної кількості дріжджів отримали максимальну швидкість росту 0,36 год<sup>-1</sup> за початкової концентрації дріжджів  $1,45 \times 10^6$  кл/мл, 0,15 год<sup>-1</sup> при  $1,45 \times 10^7$  кл/мл та 0,08 год<sup>-1</sup> при  $0,95 \times 10^8$  кл/мл. Наш результат дещо вищий – 0,31 год<sup>-1</sup> при  $0,3 \times 10^8$  кл/мл [2].

Необхідна біомаса дріжджів 150 млн/мл була отримана за зниження видимої густини на 5,0 % за сахарометром. Тривалість дріжджогенерування становила 6 – 7 годин. В нашому досліді максимальна швидкість росту *S. cerevisiae* M5 наближена до стандарту розмноження на м'ясному суслі – у випадку високої якості м'яса, швидкість росту дріжджів збільшується до 0,27 – 0,3 год<sup>-1</sup> [19].

На рисунку 2 наведено діаграми, що характеризують дріжджогенерування на нативному соргоцукровому соку з підживленням. Стрілками вказані час додавання нативного соку. За внесення підживлення на деякий час збільшується видима густина сусли, зменшується біомаса дріжджів та вміст біоетанолу. Разом з цим відбувається поступове збільшення титрованої

кислотності з 1,3 до 1,1. Під час мікроскопіювання дріжджів виявляю поодинокі паличкоподібні бактерії, що підтверджує розвиток контамінації.

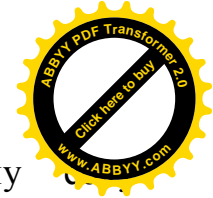
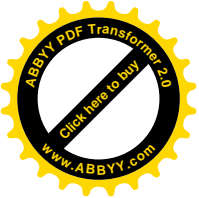


**Рис. 2.** Діаграми залежності видимої густини, вмісту етанолу та титрованої кислотності за безперервного дріжджогенерування на нативному соргоцукровому соку

### Висновки

1. Сік сорго забруднений сторонньою мікрофлорою і тому має дуже короткий термін зберігання. Самозакисання соку відбувається приблизно за добу в залежності від забрудненості нативної соргоцукрової фітомаси. Для захисту від мікробної контамінації рекомендується проводити пастеризацію нативного соку або додавати антисептики.

2. Під час теплової обробки нативного соку відбувається коагуляція високомолекулярних сполук, зокрема білків та хлорофілу. Водночас спостерігається відкладання характерного нальоту на стінках апарату. Для зменшення цього явища рекомендується проводити попередню очистку соку сорго.

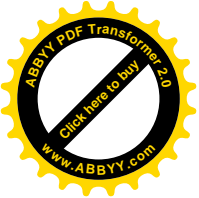


3. За безперервного дріжджогенерування на нативному відбувається наростання кислотності, що вказує на контамінацію середовища; в пастеризованому соку кислотність не наростає. Контамінація підтверджується мікроскопіюванням.

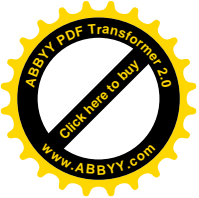
4. Максимальна швидкість росту дріжджів *S. cerevisiae* M5 становила  $0,31 \text{ год}^{-1}$ , що співставно з результатами закордонних робіт. Необхідна біомаса дріжджів 160 млн/мл була отримана за зниження видимої густини на 5,0 % за сахариметром. Тривалість дріжджогенерування 6 – 7 годин. Вміст етанолу в дріжджах за досягнення 150 млн/мл знаходився в межах 3 % об.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- 1 BP Statistical Review of World Energy June 2014 <http://www.bp.com>, <http://www.ethanolrfa.org/pages/annual-industry-outlook>
- 2 Khongsay N., Laopaiboon L., Laopaiboon P. Growth and batch ethanol fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on sweet sorghum juice under Normal and Very High Gravity conditions // *Biotechnology*. 9(1). 2010. p.- 9-16
- 3 Mutepe R.D., Marx S, P van der Gryp. Ethanol production from sweet sorghum. 2010. – Інтернет ресурс - <http://www.crses.sun.ac.za>
- 4 Liu S., Liang C. Chen T.H. Biomass yield, juice quality and alcohol production of Sweet Sorghum// *Agriculture research*-33(3). 1984. p. 236-246
- 5 Левандовський Л. В. Використання соку цукрового сорго для біосинтезу спирту / Л. В. Левандовський, С. Т. Олійнічук, Л. В. Ткаченко, А. Ф. Ткаченко // *Вісн. аграр. науки* . - 2004. - № 7. - С. 63-65
- 6 Phowchinda O., Strehaiano P. Utilization of Mixed Sugars for Alcoholic Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. // *ThammasaInt t.J . Sc.T ech*. Vol.4, No.2, July 1999
- 7 Bulawayo B., Vvochora J. M., Muzondo M. I., Zvauya R. Ethanol production by fermentation of sweet-stem sorghum juice using various yeast strains// *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 12, Is. 4, P. 357-360 (1996)



- 8 Jasman, Irfan Dwidya Prijambada, Chusnul Hidayat and Donny Widada. Selection of Yeast Strains for Ethanol Fermentation of Glucose-Fructose-Sucrose Mixture// Indonesian Journal of Biotechnology. Vol. 17, No. 2, pp.114-120, 2012
- 9 Xiaorong Wu, Scott Staggenborg et al. Features of sweet sorghum juice and their performance in ethanol fermentation// Industrial Crops and Products. Vol. 31, Is. 1, P. 164–170, 2010
- 10 Ariyajarearnwong P., Laopaiboon L., Jaisil P., Laopaiboon P. Repeated-batch ethanol fermentation from sweet sorghum juice by free cells of *Saccharomyces cerevisiae* NP 01 // African Journal of Biotechnology Vol. 10 (63), pp. 13909-13918, 17 October, 2011
- 11 [http://meteo.gov.ua/ua/33345/climate/climate\\_stations](http://meteo.gov.ua/ua/33345/climate/climate_stations)
- 12 Фертман Г. И. Химико-технологический контроль спиртового и ликерно-водочного производства / Г. И. Фертман, М. И. Шойхет– М.: Пищ. пром.– 1975. – 440
- 13 [http://www.nprb.ru/reducing\\_ability\\_DE.htm](http://www.nprb.ru/reducing_ability_DE.htm)
- 14 Инструкция по технохимическому контролю ликероводочного производства / В. Ф. Комарова, А. Н. Грацианов, М. Л. Рупневская и др. — М.: Пищепромиздат, 1960 — 379 с.
- 15 Цытович И. К. Химия с сельскохозяйственным анализом / И. К. Цытович– М.: Колос. – 1974. – 527 с.].
- 16 Инструкция по технохимическому и микробиологическому контролю спиртового производства. – М.: Агропромиздат, 1986. – 398 с.
- 17 Смиловенко Л. А. Накопление сахаров / Л. А. Смиловенко // Кукуруза и сорго. – 1988. – № 2. –С. 27-26.
- 18 Mark A. Daeschel, J. Orvin Mundt, and Ivon E. McCartyv. Microbial Changes in Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor*) Juices// Applied and environmental microbiology, Vol. 42, No. 2. 1981, p. 381-382.
- 19 Технологія спирту / В. О. Маринченко, В. А. Домарецький, П. Л. Шиян, В. М. Швець, П. С. Циганков, І. Д. Жолнер. /Під ред. проф. В.О.Маринченка. – Вінниця: “Поділля-2000”, 2003. – 496 с.



- 20 Guigou M, Lareo C, Perez L.V., Lluberas M.E, Vazquez D, Mario D, Ferrari M.D. Bioethanol production from sweet sorghum: Evaluation of post-harvest treatments on sugar extraction and fermentation. // Biomass Bioenergy 35 (2011): 3058 – 3062
- 21 Dutra D, Neto B.G, Barros de Souza R, Marcos Antonio de Morais J. M., Tabosa N.J, Cezar Menezes R.S. Ethanol Production from the Stem Juice of Different Sweet Sorghum Cultivars in the State of Pernambuco, Northeast of Brazil. // Sugar Tech 15(3) (2013):316 – 321

**ВЫРАЩИВАНИЕ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* M5 НА ОСНОВЕ  
СОКА САХАРНОГО СОРГО В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВУЮЩЕГО  
ПРЕДПРИЯТИЯ ПО ПРОИЗВОДСТВУ БИОЭТАНОЛА**

**А. И. Володько, С. П. Цыганков**

*Аннотация.* Показана возможность прямого использования сока для выращивания производственных дрожжей, при пастеризации сока. Приведены кинетические характеристики роста дрожжей и параметры контроля процесса дрожжегенерации, которые могут быть основой для составления технологической карты процесса. Даны рекомендации по использованию сока для предприятия

**Ключевые слова:** дрожжегенерирование, сок сахарного сорго, биоэтанол

**CULTIVATION OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* M5 ON SWEET  
SORGHUM JUICE AT OPERATING PLANT OF BIOETHANOL  
PRODUCTION**

**O. Volodko, S. Tsygankov**

*Abstract.* The possibility of direct sweet sorghum pasteurized juice implementation for cultivation of industrial yeasts was demonstrated. The kinetic pattern of yeast growth and parameters of yeast generation control, which may serve as a basis for assembly process technological map, were shown. The recommendations on the use of sweet sorghum juice for enterprise were given.

**Key words:** generation of yeast, sweet sorghum juice, bioethanol