

УДК 631.811.98

## ПІДВИЩЕННЯ РЕГУЛЯТОРАМИ РОСТУ ІМУНІТЕТУ РОСЛИН ДО ПАТОГЕННИХ ГРИБІВ, ШКІДНИКІВ І НЕМАТОД

В.А. ЦИГАНКОВА<sup>1</sup>, Я.В. АНДРУСЕВИЧ<sup>1</sup>, О.В. БАБАЯНЦ<sup>2</sup>, С.П. ПОНОМАРЕНКО<sup>3</sup>,  
А.І. МЕДКОВ<sup>3</sup>, А.П. ГАЛКІН<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії Національної академії наук України  
02094 Київ, вул. Мурманська, 1  
e-mail: vTsygankova@ukr.net

<sup>2</sup>Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насіннезнавства та  
сортовивчення Національної академії аграрних наук України  
65036 Одеса, Овідіопольська дорога, 3

<sup>3</sup>Державне підприємство «Міжвідомчий науково-технологічний центр “Агробіотех”  
Національної академії наук України і Міністерства освіти та науки України»  
02160 Київ, Харківське шосе, 50

<sup>4</sup>Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України  
04123 Київ, вул. Осиповського, 2а

У польових дослідах протягом трьох років вивчали антипатогенну активність нових полікомпонентних регуляторів росту рослин (РРР) регоплант і стиму під час вирощування різних сортів озимої та ярої пшениці, ячменю, сої, кукурудзи на інфекційних фонах. Найвищі показники врожайності та стійкості рослин до фітопатогенів отримано за подвійної обробки рослин РРР стиму і регоплант: передпосівна обробка насіння та обприскування посівів у період вегетації, що сприяло збереженню врожаю більш як на 60 % порівняно з контролем (без обробки регуляторами). У рослин другого покоління (які не оброблялись РРР на інфекційному фоні) також встановлено високу життєздатність і підвищену стійкість до патогенних організмів. Методом ДОТ-блот гібридизації виявлено значну різницю ступенів гомології між мРНК контрольних рослин і малими регуляторними si/miРНК, виділеними із проростків пшениці другого покоління, отриманих з насіння рослин, інфікованих та оброблених регуляторами росту регоплант, стиму у першому поколінні. Зроблено припущення, що ця різниця пов'язана з частковим перепрограмуванням геному клітин інфікованих рослин під впливом РРР, що виявляється в індукції синтезу si/miРНК з антипатогенними властивостями.

*Ключові слова:* стійкість рослин до патогенних організмів, регулятори росту, si/miРНК, ДОТ-блот гібридизація si/miРНК з мРНК.

Однією з актуальних проблем сучасного сільського господарства є створення високоефективних, екологічно безпечних агротехнологій, які здатні підтримувати стійкість агросистем, спрямовані на посилення біологічного захисту рослин від шкідливих організмів, а також сприяти поліпшенню якості врожаю. За даними ФАО ООН, щорічні світові втрати урожаю продовольчих культур становлять близько 20—25 %. До найпоширеніших і найнебезпечніших шкідників таких важливих для сільського господарства культур, як пшениця, кукурудза, ячмінь, соя, ріпак, належать: стебловий кукурудзяний метелик, озима совка, шведсь-

© В.А. ЦИГАНКОВА, Я.В. АНДРУСЕВИЧ, О.В. БАБАЯНЦ, С.П. ПОНОМАРЕНКО, А.І. МЕДКОВ, А.П. ГАЛКІН, 2013

ка муха, дротяники, акацієва вогнівка, бульбочкові довгоносики, соєва плодожерка, павутинний кліщ, трипси, ріпаковий квіткоїд, блішка, ріпаковий білан, лучні клопи, попелиці. Не менш актуальною є проблема захисту рослин від таких поширених грибних, бактеріальних і вірусних хвороб, як фузаріоз, церкоспороз, аскохітоз, склеротиніоз, пероноспороз, вертицильозне в'янення, борошниста роса, бура листкова іржа, бактеріальний опік, жовта мозаїка сої та ін. [2, 13]. Сумарні втрати урожаю сільськогосподарських культур від хвороб, спричинених різними патогенними організмами, залежно від умов вирощування та метеоумов року досягають в Україні 15—50 %.

Як важливий елемент захисних заходів у світовому рослинництві дедалі частіше використовують препарати біологічного походження — регулятори росту рослин. Вважають за доцільне їх застосування разом із високоякісними оригінальними хімічними препаратами. РРР знижують фітотоксичність хімічних протруйників, стимулюють імунні реакції рослин, унаслідок чого оздоровлюються як товарна продукція, так і насінневий матеріал. Створення таких препаратів є результатом впровадження у виробництво новітніх досягнень мікробіології, мікології, біотехнології, ґрунтознавства та основ захисту рослин.

У цьому напрямі проведено багаторічні дослідження й на Державному підприємстві «Міжвідомчий науково-технологічний центр «Агробіотех» НАН і МОН України» (ДПМНТЦ «Агробіотех») створено нові полікомпонентні препарати біоген, стимулю, регоплант із посиленням біозахисним ефектом та властивостями, що стимулюють ріст і розвиток рослин. Ці препарати є продуктами життєдіяльності в культурі *in vitro* гриба-мікроміцета, вилученого з кореневої системи женьшеню. Вони містять суміш амінокислот, вуглеводів, жирних кислот, полісахаридів, фітогормонів, мікроелементів, а також продуктів метаболізму ґрунтового стрептоміцету *Streptomyces avermitilis*, до складу яких входять аверсектини — комплексні антипаразитарні макролідні антибіотики [2].

Молекулярно-генетичним методом ДОТ-блот (точкової) гібридації раніше ми довели, що позитивні ефекти зазначених РРР досягаються внаслідок кількісних і якісних змін експресії генів, тобто є результатом часткового перепрограмування геному клітин рослин регуляторами росту [1, 3—6, 14]. Ці препарати значно підвищують стійкість рослин до різних патогенів шляхом стимуляції ними синтезу власне клітинних малих регуляторних РНК (small regulatory RNA), що беруть участь у РНК-інтерференції — процесі посттранскрипційного сайленсингу генів (PTGS) у рослин, тварин і грибів [8, 9, 15]. Сайленсинг генів — процес, у результаті якого відбувається або деградація, або блокування трансляції молекул-мішеней мРНК, що має велике значення в забезпеченні резистентності до вірусів, захисті геному проти мобільних елементів ДНК, а також в онтогенетичній регуляції експресії генів. Головну роль у сайленсингу відіграють малі регуляторні si/miРНК розміром 22—24 нуклеотиди [8, 9], що синтезуються відповідно з попередників — pre-miРНК завдовжки ~70 нуклеотидів і подовжених дволанцюгових dsРНК (double-stranded RNA) транскриптів унаслідок ендонуклеазного розщеплення за допомогою подібного до РНКаз-III ферменту Dicer ендорибонуклеази.

Разом із сайтспецифічними ендо- й екзонуклеазами RISC комплексу (RNA-induced silencing complex) si/miРНК або блокують (сайленсингують) трансляцію аберантних і недосконалих за структурою власне клітинних мРНК, а також мРНК патогенів і паразитів, або за взаємодії

із зазначеними ферментами беруть участь у розщепленні цих молекул-мішеней мРНК, що і спричинює їх деградацію [7, 10–12].

Метою нашої роботи було визначення можливості підвищення стійкості рослин до патогенних організмів за допомогою полікомпонентних препаратів у польових і лабораторних дослідах підсиленням синтезу малих регуляторних si/miРНК — основних складових імунної системи рослин.

### Методика

В експериментах ефективність композиційних РРР досліджували на озимій пшениці, ячмені, сої та кукурудзі. Регуляторами росту стимулювали і регоплант обробляли насіння озимої пшениці, ячменю, кукурудзи та сої, регулятором стимулювали посіви озимої пшениці та ячменю наприкінці кушніння, сої — у фазу бутонізації, кукурудзи — у фазу 7–9 листків.

Польові досліди проводили протягом трьох років (2010–2012) у Селекційно-генетичному інституті — Національному центрі насінництва та сортовивчення НААН України (СГІ—НЦНС) у відділі фітопатології та ентомології, а також в умовах Науково-виробничої фірми «Фунгі» в польових інфекційних розсадниках на штучних інфекційних фонах і на природному фоні інвазій протягом 2010–2012 рр. Другий експериментальний полігон знаходився в дослідному господарстві на півдні Одеської обл. Ділянки площею 10–30 м<sup>2</sup>, облікових рослин — 25–50, повторність — чотириразова, повна рендомізація, з частим контролем (без препаратів). Досліджували сорт озимої пшениці Дальницька, сорт сої — Аркадія одеська, гібрид кукурудзи — Кобза МВ, сорт ячменю — Достойний еліта. Ґрунти дослідного поля СГІ—НЦНС — південні чорноземи, вміст гумусу — 3,2 %. Загальна сума опадів за період вересень 2010 — червень 2011 — 521,8 мм. Ґрунти полігону дослідного господарства — південні малогумусні чорноземи, вміст гумусу — 3,8 %. Загальна сума опадів за аналогічний період — 489,9 мм.

На полігонах порівнювали дію регуляторів росту на стійкість рослин, урожайність культур та якість отриманого насіння.

У тепличних експериментах досліджували ефективність дії регуляторів росту на підвищення стійкості рослин пшениці, сої та кукурудзи до хлібного туруна (*Zabrus tenebrioides*), озимої совки (*Scotia segetum*), злакових мух (*Cloropidae* spp.), пшеничної нематоди (*Anguina tritici*) порівняно з традиційними хімічними препаратами — інсектицидами і фунгіцидами. Досліди проводили в обмеженому просторі 25 × 25 см, повторність — чотириразова. Ґрунт заселяли окремо нематодою, туруном, озимою совкою. В ящик висівали насіння, попередньо оброблене певним препаратом. Облікових рослин — 50. Вивчали насіння озимої пшениці двох сортів: Дальницька та Одеська напівкарликова, насіння сої сорту Аркадія одеська, насіння гібридної кукурудзи — Кобза МВ.

Ефективність РРР проти збудників гнилі та плісені пшениці за впливу таких фітопатогенних грибів, як *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Trichothecium roseum*, вивчали на різних інфекційних фонах: за слабкої — 0,1 г спор/кг насіння і за високої заспореності — 1 г спор/кг насіння.

Молекулярно-біологічні експерименти з визначення методом ДОТ-блот гібридизації відсотка гомології si/miРНК до мРНК [3, 6] кон-

трольних (вирощених з насіння першого покоління рослин, не оброблених регуляторами росту) та дослідних рослин (отриманих з насіння першого покоління рослин, інфікованих патогенним мікроміцетом *F. graminearum* й оброблених регуляторами росту) проводили на двох сортах пшениці: Ластівка і Княгиня Ольга, насіння яких нам передав СГІ—НЦНС НААН України.

### Результати та обговорення

У табл. 1 наведено отримані нами результати польових дослідів щодо впливу регуляторів росту на ростові процеси та елементи структури врожаю ячменю, з яких видно, що в разі обробки кондиційного насіння регуляторами росту вони позитивно діють на всі господарські показники рослин. Вищу позитивну динаміку виявили регулятори стимуло і регоплант — новітні інноваційні препарати, які проходять передреєстраційні випробування.

У варіанті обприскування посівів препаратом регоплант спостерігався вірогідний приріст урожаю. Найвищі показники були у варіанті застосування РРР двічі: за передпосівної обробки насіння та обприскування посівів під час вегетації. Препарати із біозахисним ефектом стимуло і регоплант сприяли підвищенню врожаю майже на 60 % відносно контролю. Інші препарати теж виявились високоефективними.

ТАБЛИЦЯ 1. Регулятори росту рослин, їх вплив на урожайність та елементи структури врожаю ячменю (2010—2012 рр.)

Препарат	Коефіцієнт кушніння	Густина продуктивного стеблостою, шт/м <sup>2</sup>	Число зернин у колосі, шт.	Маса 1 колоса, г	Маса 1000 зернин, г	Урожайність		
						ц/га	± до контролю	
							ц/га	%
Контроль, вода 15 л/т	1,55	532	35	1,25	35,7	31,6	—	—
Передпосівна обробка насіння								
Стимуло, 25 мл/т	2,43	605	43	2,04	47,4	44,2	+12,6	+40
Регоплант, 250 мл/т	2,91	661	47	2,16	46,0	45,1	+13,5	+43
Теріос, 1 л/т	2,45	658	41	2,01	42,7	41,1	+9,5	+30
Передпосівна обробка насіння + обприскування посівів								
Регоплант, 250 мл/т + стимуло, 20 мл/га	2,90	662	46	2,19	47,6	49,8	+18,0	+57
Теріос, 1 л/т + мікроплант, 1,5 л/га	2,44	656	40	2,12	53,0	47,1	+15,3	+48
НІР <sub>0,05</sub>	0,39	15	2,1	0,49	1,3	1,6	0,75	—

Примітка. Тут і в табл. 2—7: середні дані трирічних дослідів. НІР<sub>0,05</sub> — найменша істотна різниця.

ТАБЛИЦЯ 2. Порівняння ефективності дії регуляторів росту рослин на шкідливу фауну насіння озимої пшениці сорту Дальницька з традиційними хімічними препаратами-протруйниками (2010–2012)

Препарат	Норма витрати, л/т	Нематода пшенична		Турун хлібний		Совка озима		Муха злакова	
		1	2	1	2	1	2	1	2
Контроль, вода	15	42,5	—	36,6	—	15,2	—	39,4	—
Стимпо	0,025	22,5	47	14,6	60	9,9	35	17,1	57
Регоплант	0,25	5,4	87	6,8	81	5,9	61	10,1	74
Юнта квадрат	0,15	3,5	92	0,1	100	0	100	2,1	95
Селест топ	0,2	4,1	90	1,9	95	0	100	2,8	93
Імідаклоприд	1,0	17,9	58	1,1	97	0,6	96	2,1	95
Альфа-циперметрин	0,5	29,9	30	9,6	74	4,5	70	7,1	82
НР <sub>0,05</sub>	—	1,1	—	0,9	—	0,8	—	2,3	—

П р и м і т к а: 1 — число пошкоджених проростків, шт/м<sup>2</sup>; 2 — біологічна ефективність, %.

Протягом 2010–2012 рр. ми досліджували ефективність нових регуляторів росту рослин із біозахисним ефектом на інфекційних фонах вирощування озимої пшениці, ячменю, сої, кукурудзи порівняно із сучасними пестицидами фірми «Bayer Crop Science FG» (Німеччина), фунго-інсектицидами юнта квадрат (діюча речовина — клотіанідин, або тебуконазол, або пропіконазол), імідаклоприд, лямардор (діюча речовина — тебуконазол), селест топ (діюча речовина — триметоксам, або флудіоксоніл, або дифеконазол), інсектицидом альфа-циперметрин фірми «Syngenta» (Швейцарія), мікродобривами теріос і мікроплант. Біозахисний ефект РРР на шкідливу фауну (нематоди, турун хлібний, совки, злакові мухи) насіння озимої пшениці сорту Дальницька виявився доволі високим (табл. 2). Хоча перевершити ефект таких фунго-інсектицидів, як юнта квадрат і селест топ не вдалося, однак визначений нами рівень ефективності в разі застосування препаратів регоплант проти пшеничної нематоди, проти туруна, проти совки, а також усіх досліджених РРР — проти злакових мух і нематод, є цілком задовільним. Тому ми вважаємо перспективним використання препаратів регоплант і стиму для запобігання розвитку й поширенню зазначених шкідників.

РРР регоплант і стиму виявляли також антипатогенну активність проти збудників кореневої гнилі та плісені пшениці сорту Одеська напівкарликова (табл. 3). Однак застосовувати ці препарати як альтернативу хімічним протруйникам ми не вважаємо за доцільне, особливо за високого інфекційного фону тієї чи іншої хвороби. За невисоких інфекційних фонів регулятори росту за рівнем їх потенційної ефективності цілком придатні.

Ми вперше показали, що препарати регоплант і стиму позитивно впливають на ростові процеси рослин сої (табл. 4) і кукурудзи (табл. 5).

В табл. 6 наведено експериментальні результати, що відбивають вплив регопланту й стиму на розвиток найшкідливіших хвороб сої сорту Аркадія одеська, порівняно з хімічними протруйниками. Виявлено ефективність цих РРР проти небезпечних збудників гнилі та плісені насіння сої (див. табл. 6), тобто ці препарати як протруйники позитивно впливають на оздоровлення насіння сої.

ПОВЫШЕНИЕ РЕГУЛЯТОРАМИ РОСТА ИММУНИТЕТА

ТАБЛИЦЯ 3. Порівняння ефективності регуляторів росту рослин з іншими препаратами-протруйниками насіння проти збудників кореневої гнилі та плісені пшениці (2010–2012 рр.)

Препарат	Норма витрати, л/т	<i>Fusarium</i> sp.		<i>Alternaria</i> sp.		<i>Bipolaris sorokiniana</i>		Комплекс грибів зберігання*		<i>Bacillus</i> sp.**	
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Контроль, вода	15	18,5	—	21,5	—	13,5	—	45,5	—	9,5	—
Стимпо	0,025	8,5	54	10,5	47	4,5	67	16,5	64	1,5	16
Радостим	0,25	6,5	65	9,0	58	9,0	33	19,5	57	2,5	74
Регоплант	0,25	4,0	78	5,0	77	3,5	74	11,0	76	1,0	89
Ламардор	0,2	0,5	97	0	100	0	100	0	100	1,5	84
Юнта квадро	1,5	0,5	97	0	100	0	100	0	100	1,5	16
Мікро-плант	1,5	19,5	-5	12,5	42	7,5	44	34,5	24	6,5	32
НІР <sub>0,05</sub>	—	0,4	—	0,9	—	0,6	—	4,2	—	3,2	—

Примітка: 1 — кількість інфікованих зернівок; 2 — біологічна ефективність, %.  
\*Гриби *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Trichothecium roseum*.  
\*\*Збудники бактеріальної кореневої гнилі.

ТАБЛИЦЯ 4. Вплив регуляторів росту рослин на врожайність та елементи структури врожаю сої (2010–2012 рр.)

Препарат	Енергія проростання насіння, %	Схожість насіння, %	Кількість квіток у китиці, шт.	Кількість бобів на рослині, шт.	Маса 1000 насінин, г	Урожайність		
						ц/га	± до контролю	
							ц/га	%
Контроль, вода 15 л/т	72	67	7–8	40–42	154,5	14,8	—	—
Передпосівна обробка насіння								
Стимпо, 25 мл/т	74	79	12–13	44–46	159,9	17,4	+2,6	17,5
Регоплант, 250 мл/т	76	81	14–15	52–54	167,1	19,9	+5,1	34,5
Теріос, 1 л/т	74	81	14–15	61–62	159,9	17,9	+3,1	20,9
Передпосівна обробка насіння + обприскування посівів								
Контроль, 200 л/га	69	65	6–7	38–40	149,9	14,9	—	—
Регоплант, 250 мл/т + стиму, 20 мл/га	76	80	14–16	52–54	174,1	26,9	+12,0	80,5
Теріос, 1 л/т + мікро-плант, 1,5 л/га	74	80	14–15	61–62	171,1	22,6	+7,7	51,7
НІР <sub>0,05</sub>	1,7	1,9	1,6	2,8	1,5	1,4	—	—

ТАБЛИЦЯ 5. Вплив регуляторів росту рослин на врожайність та елементи структури врожаю кукурудзи (2010–2012 рр.)

Препарат	Енергія проростання насіння, %	Схожість насіння, %	Число качанів на рослині, шт.	Маса 1000 зернин, г	Урожайність		
					ц/га	± до контролю	
						ц/га	%
Контроль, вода 15 л/т	67	68	1,1–1,6	256,1	22,6	—	—
Передпосівна обробка насіння							
Стимпо, 25 мл/т	74	94	2,4–2,6	298,4	36,9	+14,3	63,2
Регоплант, 250 мл/т	76	96	2,6–2,8	301,1	37,9	+15,3	67,7
Передпосівна обробка насіння + обприскування посівів							
Регоплант, 250 мл/т + стиму, 20 мл/га	76	96	2,6–2,8	309,7	39,9	+17,8	80,5
НІР <sub>0,05</sub>	1,7	1,9	0,8	1,3	0,9		

ТАБЛИЦЯ 6. Порівняння ефективності регуляторів росту рослин з іншими препаратами-протруйниками насіння проти збудників гнилі та плісені насіння сої (2010–2012 рр.)

Препарат	Норма витрати, л/т	<i>Fusarium</i> sp.		<i>Botrytis cynerea</i>		<i>Alternaria</i> sp.		Комплекс грибів зберігання*	
		1	2	1	2	1	2	1	2
Стимпо	0,025	12,8	71	8,1	72	1,1	89	8,9	73
Регоплант	0,25	1,8	96	0,6	98	0,5	95	4,5	86
Ламардор	0,2	1,5	96	0	100	0	100	0	100
Юнта квадрат	1,5	0	100	0	100	0	100	0	100
НІР <sub>0,05</sub>	—	0,8	—	0,7	—	0,6	—	1,4	—

Примітка: 1 — число інфікованих бобів; 2 — біологічна ефективність, %.  
\*Гриби *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Trichothecium roseum*.

ТАБЛИЦЯ 7. Порівняння ефективності регуляторів росту рослин з іншими препаратами-протруйниками насіння проти збудників гнилі та плісені зерна кукурудзи (2010–2012 рр.)

Препарат	Норма витрати, л/т	<i>Fusarium</i> sp.		<i>Alternaria</i> sp.		<i>Nigrospora</i> sp.		Комплекс грибів зберігання*	
		1	2	1	2	1	2	1	2
Стимпо	0,025	10,3	53	2,6	80	4,6	61	27,1	59
Регоплант	0,25	9,1	58	0,7	95	0,6	95	13,6	79
Ламардор	0,2	0	100	0	100	0	100	0	100
Юнта квадрат	1,5	0	100	0	100	0	100	0	100
НІР <sub>0,05</sub>	—	0,5	—	0,8	—	0,6	—	3,1	—

Примітка: 1 — число інфікованих зернівок; 2 — біологічна ефективність, %.  
\*Гриби *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Trichothecium roseum*.

Встановлено, що РРР регоплант і стимпо позитивно впливають на ріст і розвиток насіння кукурудзи гібриду Кобза МВ (табл. 7): зменшують вплив найшкідливіших патогенних організмів на розвиток насіння, знімають інфекційне навантаження на товарне зерно. Тому ми вважаємо перспективним застосування цих препаратів у технології вирощування кукурудзи в великих господарствах України.

У лабораторних і тепличних експериментах ми дослідили ефект післядії регуляторів росту (тобто показник стійкості рослин пшениці другого покоління до патогенного мікроміцету *F. graminearum*). Встановлено, що і в другому поколінні рослини, не оброблені регуляторами росту, зберігали високі життєздатність і продуктивність, близькі до отриманих у рослин першого покоління (мабуть, унаслідок запобігання регуляторами проникненню патогенів у клітини рослин і накопиченню в них токсинів в період формування і дозрівання насіння).

Методом ДОТ-блот гібридизації [3, 6] виявлено значну різницю ступенів гомології між малими регуляторними si/miРНК, виділеними з рослин другого покоління обох сортів пшениці, отриманих із насіння рослин, інфікованих та оброблених регуляторами росту регоплант, стимпо у першому поколінні, та мРНК, виділеними з контрольних рослин другого покоління (табл. 8). Спостерігались також сортові відмінності в ефектах післядії різних регуляторів росту за ступенями гомології між si/miРНК і мРНК у контрольних та досліджуваних рослин пшениці різних сортів. Ця різниця дає підставу стверджувати, що в ембріогенезі у процесі формування насіння дослідних рослин геном їх зародків частково перепрограмується в напрямі інтенсифікації синтезу специфічних антипатогенних si/miРНК порівняно з гомологічними si/miРНК контрольних рослин.

На нашу думку, основний механізм дії досліджених регуляторів росту в клітинах рослин полягає в індукції синтезу si/miРНК зі специфічними антипатогенними властивостями. Це підтверджують результати раніше проведених нами дослідів [3] на інших сільськогосподарських культурах (ріпак, цукровий буряк) щодо наявності антипатогенної активності si/miРНК у безклітинних системах білкового синтезу на матрицях мРНК, виділених з інфікованих патогенними мікроорганізмами рослин, і відсутності інгібувальної дії si/miРНК на процеси трансляції мРНК контрольних рослин.

Отже, згідно з результатами випробувань регуляторів росту регоплант і стимпо, проведених у польових і лабораторних умовах, ми вважаємо

ТАБЛИЦЯ 8. Рівні гомології (%) між si/miРНК дослідних (інфікованих патогенним мікроміцетом *Fusarium graminearum* та оброблених регуляторами росту) й мРНК контрольних (неінфікованих і не оброблених регуляторами росту) рослин пшениці

Сорт	Контроль (si/miРНК та мРНК контрольних проростків)	si/miРНК дослідних проростків, отриманих з насіння рослин першого покоління, інфікованих та оброблених регулятором росту	
		Регоплант	Стимпо
Ластівка	98±1,4 %	82±1,6* (~16 %)	86±1,2* (~12 %)
Княгиня Ольга	98±1,6 %	84±1,4* (~14 %)	88±0,96* (~10 %)

Примітка. Ступінь гомології між si/miРНК дослідних і мРНК контрольних рослин пшениці визначали методом ДОТ-блот (точкової) гібридизації.

\*Наявність вірогідних відмін від контролю,  $P < 0,05$ ,  $n = 3$ .

жаємо, що ці препарати є перспективними для використання в Україні на зернових колосових культурах.

1. Галкін А.П., Цыганкова В.А., Пономаренко С.П. та ін. Особливості змін експресії генів в клітинах рослин під впливом екзогенних регуляторів росту // *Фізіологія рослин, проблеми та перспективи розвитку*. Т. 2. — К.: Логос, 2009. — С. 576—584.
2. Пономаренко С.П., Терек О.И., Грицаенко З.М. и др. Биорегуляция роста и развития растений // *Биорегуляция микробно-растительных систем*. — Киев: Ничлава, 2010. — С. 251—291.
3. Цыганкова В.А., Галкін А.П., Галкіна Л.О. та ін. Збільшення синтезу малих регуляторних РНК з імуномодуючими властивостями в клітинах рослин під впливом регуляторів росту // *Цукрові буряки*. — 2011. — **82**, № 4. — С. 10—12.
4. Цыганкова В.А., Галкін А.П., Галкіна Л.А. и др. Экспрессия генов при стимулируемом регуляторами росте и развитии растений // *Биорегуляция микробно-растительных систем*. — Киев: Ничлава, 2010. — 472 с.
5. Цыганкова В.А., Мусатенко Л.И., Галкіна Л.А. и др. Особенности действия регуляторов роста на экспрессию генов в клетках зародышей семян в раннем постэмбриогенезе // *Біотехнологія*. — 2008. — **1**, № 2. — С. 81—92.
6. Цыганкова В.А., Мусатенко Л.И., Пономаренко С.П. и др. Изменение популяций функционально активных цитоплазматических мРНК в клетках растений под влиянием регуляторов роста и биотехнологические перспективы бесклеточных систем белкового синтеза // *Біотехнологія*. — 2010. — **3**, № 2. — С. 19—31.
7. Chisholm S.T., Coaker G., Day B., Staskawicz B.J. Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response // *Cell*. — 2006. — **124**, N 4. — P. 803—814.
8. Filipowicz W., Jaskiewicz L., Kolb F.A., Pillai R.S. Post-transcriptional gene silencing by siRNAs and miRNAs // *Curr. Opin. Struct. Biol.* — 2005. — **15**. — P. 331—341.
9. Hamilton A., Voinnet O., Chappell L., Baulcombe D. Two classes of short interfering RNA in RNA silencing // *EMBO J.* — 2002. — **21**, N 17. — P. 4671—4679.
10. Jin H. Endogenous small RNAs and antibacterial immunity in plants // *FEBS Lett.* — 2008. — **582**. — P. 2679—2684.
11. Katiyar-Agarwal S., Morgan R., Dahlbeck D. et al. A pathogen-inducible endogenous siRNA in plant immunity // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 2006. — **103**. — P. 18002—18007.
12. Padmanabhan Ch., Zhang X., Jin H. Host small RNAs are big contributors to plant innate immunity // *Curr. Opin. Plant Biol.* — 2009. — **12**. — P. 465—472.
13. Stevens M., May M.J. Pests, diseases and weeds review 2009 // *British Sugar Beet Rev.* — 2010. — **78**, N 1. — P. 7—10.
14. Tsygankova V.A., Galkin A.P., Galkina L.O. et al. Gene expression under regulators' stimulation of plant growth and development // *New plant growth regulators: basic research and technologies of application*. — К.: Nichlava, 2011. — P. 94—152.
15. Voinnet O. Post-transcriptional RNA silencing in plant-microbe interactions: a touch of robustness and versatility // *Curr. Opin. Plant Biol.* — 2008. — **11**, N 4. — P. 464—470.

Отримано 03.09.2012

#### ПОВЫШЕНИЕ РЕГУЛЯТОРАМИ РОСТА ИММУНИТЕТА РАСТЕНИЙ К ПАТОГЕННЫМ ГРИБАМ, ВРЕДИТЕЛЯМ И НЕМАТОДАМ

В.А. Цыганкова<sup>1</sup>, Я.В. Андрусевич<sup>1</sup>, О.В. Бабаянц<sup>2</sup>, С.П. Пономаренко<sup>3</sup>, А.И. Медков<sup>3</sup>,  
А.П. Галкін<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии и нефтехимии Национальной академии наук Украины, Киев

<sup>2</sup>Селекционно-генетический институт — Национальный центр семеноведения и сортоизучения Национальной академии аграрных наук Украины, Одесса

<sup>3</sup>Государственное предприятие «Межведомственный научно-технологический центр «Агробиотех» Национальной академии наук Украины и Министерства образования и науки Украины», Киев

<sup>4</sup>Институт пищевой биотехнологии и геномики Национальной академии наук Украины, Киев

В полевых опытах на протяжении трех лет изучали антипатогенную активность новых поликомпонентных регуляторов роста растений (PPP) регоплант и стимпо при выращива-

нии разных сортов озимой и яровой пшеницы, ячменя, сои, кукурузы на инфекционных фонах. Самые высокие показатели урожайности и устойчивости растений к фитопатогенам получены при двойной обработке растений PPP стиму и регоплант: предпосевная обработка семян и опрыскивание посевов в период вегетации, что способствовало сохранению урожая более чем на 60 % по сравнению с контролем (без обработки регуляторами). У растений второго поколения (которые не обрабатывались PPP на инфекционном фоне) также установлены высокая жизнеспособность и повышенная устойчивость к патогенным организмам. Методом ДОТ-блот гибридизации обнаружена значительная разница степеней гомологии между мРНК контрольных растений и малыми регуляторными si/miРНК, выделенными из проростков пшеницы второго поколения, полученных из семян растений, инфицированных и обработанных регуляторами роста регоплант, стиму в первом поколении. Сделано предположение, что указанная разница связана с частичным перепрограммированием генома клеток инфицированных растений под влиянием PPP, что проявляется в индукции синтеза si/miРНК с антипатогенными свойствами.

INCREASE OF PLANT IMMUNE PROTECTION AGAINST PATHOGENIC FUNGI, WRECKERS AND NEMATODES BY GROWTH REGULATORS

*V.A. Tsygankova<sup>1</sup>, Ya.V. Andrusevich<sup>1</sup>, O.V. Babayants<sup>2</sup>, S.P. Ponomarenko<sup>3</sup>, A.I. Medkov<sup>3</sup>, A.P. Galkin<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine

1 Murmanskaya St., Kyiv, 02094, Ukraine

<sup>2</sup>Selection and Genetic Institute — the National Centre of Seed-growing and Variety Study, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

3 Ovidiopolska road, Odesa, 65036, Ukraine

<sup>3</sup>National Enterprise «Interdepartmental Science and Technology Center «Agrobiotech» of National Academy of Sciences and Ministry of Education and Science of Ukraine»

50 Kharkivske Av., Kyiv, 02160, Ukraine

<sup>4</sup>Institute of Food Biotechnology and Genomics, National Academy of Sciences of Ukraine  
2a Osipovskogo St., Kyiv, 04123, Ukraine

Antipathogenic activity of new polycponent plant growth regulators (PGRs) Regoplant and Stimpo at cultivation of different varieties of winter and spring wheat, barley, soya and corn on infectious backgrounds had been investigated in field experiments during three years. The best indices of plant productivity and resistance to phytopathogens were obtained at double treatment of plants by PGRs Stimpo and Regoplant by presowing treatment of seeds and spraying of crops in vegetation period that promoted preservation of yield more than 60 % according to control (without treatment by PGRs). The high viability and the increased resistance to pathogenic organisms are observed for plants of the second generation (which was not treated by PGRs on infectious background). The considerable difference between mRNA of control plants and small regulatory si/miRNA, isolated from wheat seedlings of the 2<sup>nd</sup> generation, obtained from seeds of the 1<sup>st</sup> generation plants, infected and treated by PGRs Stimpo and Regoplant, was found using DOT-blot hybridization method. It is supposed that indicated differences are connected with partial reprogramming genome of infected plant cells under the impact of PGRs that is expressed in induction of synthesis si/miRNA with antipathogenic properties.

*Key words:* plant resistance to pathogenic organisms, growth regulators, si/miRNA, DOT-blot hybridization si/miRNA with mRNA.