

plant regenerants were obtained. Histochemical analysis showed the presence of β -glucuronidase in the obtained plant material. PCR analysis proved the presence of *bar* gene in plant DNA of the phosphinothricin resistant calli and 6 regenerant lines. Out of 21 maize genotypes, inbred line PLS61 and hybrids F₁ PLS61♀×ДК744♂, PLS61♀×ДК304♂, and ДК959♀×PLS61♂ were the most competent for biolistic transformation. **Conclusions.** After biolistic transformation of immature maize embryos with pAHC25 vector, phosphinothricin resistant calli and plant regenerant lines containing β -glucuronidase have been obtained. The presence of *bar* gene detected by PCR method indicated the transgenic nature of the obtained plant material. Four most responsive for the biolistic transformation genotypes were selected from 21 commercial lines and hybrids grown in Ukraine.

Key words: *Zea mays* L., particle bombardment, β -glucuronidase, *bar* gene, GMO.

УДК 668.52:668.53:61

ПАДАЛКО С.Ф., КАМЕНЧУК О.П., БОБИК Л.В.

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,

Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: kurchii@mail.ru

КОМПОНЕНТНИЙ СКЛАД І БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ЕКСТРАКТІВ ГРИБА *ACREMONIUM SPP.*

Серед нових видів природних субстратів важливе місце займають препарати вермикомпости (біогумуси), які містять гумінові та фульвокислоти, макро- та мікро-елементи і позитивно впливають на ростові процеси сільськогосподарських культур [1]. До того ж макро- і мікро-елементи в біогумусах знаходяться в невеликих кількостях. Цей факт зумовлює недостатню ефективність використання вермикомпосту та перегною на збіднених ґрунтах, тому включення до складу препаратів мікроелементів має суттєво підвищити їх ефективність. Серед недоліків зареєстрованих в Україні препаратів, створених на основі вермикомпосту, можна назвати їх низькі експлуатаційні властивості, пов'язані із значними транспортними витратами та термінами зберігання, обумовленими високими нормами витрат на одиницю площі (12–15 л на 1 га), або маси насіння (15 л на 1 т), що обробляється [2].

Матеріал і методи

Проведено аналіз вмісту біологічно активних речовин в культуральних середовищах гриба *Acremonium spp.* Тест на цитокініни здійснено на сім'ядольних листках 8-денних проростків огірка сорту Ніжинський. Насіння огірка пророщували розділенням сім'ядолей. Сім'ядолі по 10 листків ставили в чашки з досліджуваним розчином на 24 години. Тест на ауксини здійснено на колеоптилях пшениці Альбатрос одеський 1,5 см довжиною, вирізали середину і ставили в розчин на 24 години. Тест на гібереліни проведено на проростках огірків

пророщували, відбирали гіпокотилі довжиною 0,5–1,0 см. По 10 рослин ставили в чашки з досліджуваним розчином в термостат при Т 22 °С на 24 години.

Гриб *Acremonium spp.* вирощували протягом 21 доби при кімнатній температурі в скляних флаконах (матрацах) при 12-ти годинному світловому режимі (4 люмінесцентні лампи по 40 Вт) в рідкому культуральному середовищі наступного складу (мг/л л середовища): K₂HPO₄ – 600, KH₂PO₄ – 1800, MgSO₄ – 400, K₂SO₄ – 200, FeSO₄ – 4, MnSO₄ – 4, Asparagin – 0,02, KJ – 0,02, Vitamin B₁ – 1, Vitamin B₆ – 2, Vitamin PP – 2, MES 2260 – 4520, D-inositol – 100, D-glucose – 16, Pectin – 2000, Gibberellic acid – 0,003, KOH, 5M – 3 краплі.

Екстракцію речовин із міцелію гриба (10 г сирої речовини) проводили трічі 80 %-ним етиловим спиртом і зберігали в холодильнику при 4 °С – (базовий екстракт із міцелію гриба *Acremonium spp.*, БЕА).

Результати та обговорення

Цитокінінову активність екстрактів міцелію гриба *Acremonium spp.*, яку визначили за допомогою тестів на сім'ядольних листках 8-денних проростків огірка сорту Ніжинський, представлено в таблиці 1.

Таким чином, найвищу ефективність проявив нерозведене середовище культивування міцелію гриба.

Проведено аналіз вмісту ауксинів в культуральних середовищах гриба *Acremonium spp.* (табл. 2).

Таблиця 1. Специфічна цитокінінова активність культуральних живильних середовищ гриба-ендофіта роду *Acremonium spp.*

Варіанти	Маса сирі речовини проростків	
	мг	%
Контроль (дистильована вода, д.в.)	0,045 ± 0,008	100
БАП, 10 ⁻⁵ М	0,075 ± 0,012	164,7
Культуральне середовище (нерозведене, перший пасаж)	0,053 ± 0,026	116,2
Культуральне середовище (нерозведене, другий пасаж)	0,062 ± 0,010	137,5
Культуральне середовище (1:10, перший пасаж)	0,057 ± 0,005	126,5
Культуральне середовище (1:10, другий пасаж)	0,064 ± 0,004	141,9
Культуральне середовище (1:50, перший пасаж)	0,051 ± 0,002	112,5
Культуральне середовище (1:50, другий пасаж)	0,050 ± 0,002	109,6
Культуральне середовище (1:100, перший пасаж)	0,065 ± 0,014	142,6
Культуральне середовище (1:100, другий пасаж)	0,053 ± 0,005	116,2
Культуральне середовище (1:150, перший пасаж)	0,043 ± 0,002	95,6
Культуральне середовище (1:150, другий пасаж)	0,043 ± 0,005	94,9
Культуральне середовище (1:200, перший пасаж)	0,045 ± 0,006	99,3
Культуральне середовище (1:200, другий пасаж)	0,036 ± 0,006	79,4

Таблиця 2. Ауксинова активність культуральних рідин гриба *Acremonium spp.*

Варіант	Довжина колеоптилів	
	мм	%
1	2	3
Контроль (д. в.)	9,7 ± 0,27	100
Індолілоцтова кислота, 10 ⁻⁵ М	11,6 ± 0,21	120,2
Культуральне середовище (нерозведене, перший пасаж)	11,4 ± 0,43	117,8
Культуральне середовище (нерозведене, другий пасаж)	10,9 ± 0,33	112,4
Культуральне середовище (1:10, перший пасаж)	10,3 ± 0,26	106,8
Культуральне середовище (1:10, другий пасаж)	9,9 ± 0,15	102,1
Культуральне середовище (1:50, перший пасаж)	9,8 ± 0,22	101,4
Культуральне середовище (1:50, другий пасаж)	9,2 ± 0,28	95
Культуральне середовище (1:100, перший пасаж)	9,3 ± 0,21	96,5
Культуральне середовище (1:100, другий пасаж)	9,7 ± 0,32	99,8
Культуральне середовище (1:150, перший пасаж)	10,2 ± 0,21	105,1
Культуральне середовище (1:150, другий пасаж)	9,6 ± 0,23	99
Культуральне середовище (1:200, перший пасаж)	9,9 ± 0,23	102,5
Культуральне середовище (1:200, другий пасаж)	9,3 ± 0,23	96,2

Проведено аналіз вмісту гіберелінів в культуральних середовищах гриба *Acremonium spp.* Найвищий вміст гіберелінів виявлено в культуральних середовищах другого пасажу (табл. 3).

Досліджено дію екстрактів із гриба *Acremonium* на ріст проростків кукурудзи (табл. 4) і пшениці (табл. 5).

Досліджені препарати проявляли як гальмівну, так стимулюючі дії на розвиток фітопатогенних грибів. При цьому гальмівна дія препаратів зберігалась при розбавленні вихідної

(базової) концентрації до 10⁻⁹ розведення.

Досліджено вплив препаратів на ріст і розвиток грибів *F. graminearum*, *C. sativus* і *Rhizoctonia in vitro* на твердому поживному середовищі (табл. 6).

Елін екстра, комерційний препарат, розчин 2,4-епібрасиноліда (0,025 г/л), гормонального регулятора росту рослин, здатний підвищувати стійкість рослин до хвороб та несприятливих факторів навколишнього середовища [3].

Таблиця 3. Гіберелінова активність культурального середовища гриба *Acremonium spp.*

Варіант	Довжина колеоптилів	
	мм	%
Контроль (д. в.)	32,5 ± 0,77	100
Гіберелова кислота (ГК ₃), 50 мкг/мл	36,4 ± 1,17	111,8
Культуральне середовище (нерозведене, перший пасаж)	31,8 ± 1,16	97,8
Культуральне середовище (нерозведене, другий пасаж)	32,6 ± 1,21	100,2
Культуральне середовище (1:10, перший пасаж)	34,5 ± 1,35	106,2
Культуральне середовище (1:10, другий пасаж)	39,5 ± 1,31	121,5
Культуральне середовище (1:50, перший пасаж)	31,3 ± 1,42	96,2
Культуральне середовище (1:50, другий пасаж)	49,9 ± 1,52	153,4
Культуральне середовище (1:100, перший пасаж)	34,4 ± 1,17	105,8
Культуральне середовище (1:100, другий пасаж)	29,9 ± 1,13	92,0
Культуральне середовище (1:150, перший пасаж)	32,0 ± 1,11	98,5
Культуральне середовище (1:150, другий пасаж)	28,7 ± 0,86	88,3
Культуральне середовище (1:200, перший пасаж)	25,2 ± 0,99	77,5
Культуральне середовище (1:200, другий пасаж)	35,0 ± 1,47	107,7

Таблиця 4. Вплив препаратів на ріст проростків кукурудзи сорту Росава (в варіанті 50 насінин)

Варіант	К-ть пророслого насіння, шт	Вага 1 проростка, г	Вага 1 проростка, %	Вага 1 кореня, г	Вага 1 кореня, %
Контроль (д. в.)	40 ± 4	0,2945 ± 0,01	100	0,2256 ± 0,01	100
Акремоніум, 10 ⁻⁸	47 ± 3	0,3185 ± 0,01	97,8	0,2799 ± 0,01	94,8
Акремоніум, 10 ⁻⁹	48 ± 2	0,3545 ± 0,01	108,8	0,3445 ± 0,01	116,7

Таблиця 5. Вплив препаратів на ріст проростків пшениці сорту Альбатрос одеський (в варіанті 100 насінин)

Варіант	К-ть пророслого насіння, шт	Вага 1 проростка, г	Вага 1 проростка, %	Вага 1 кореня, г	Вага 1 кореня, %
Контроль (д. в.)	88 ± 3,1	0,0529 ± 0,01	100	0,0559 ± 0,01	100
Акремоніум, 10 ⁻⁸	84 ± 2,4	0,0605 ± 0,01	114,3	0,0666 ± 0,01	119,2
Акремоніум, 10 ⁻⁹	84 ± 3,6	0,0627 ± 0,01	118,4	0,0638 ± 0,01	114,3

Таблиця 6. Вплив препаратів на розвиток грибів *Fusarium graminearum*, *Coeliobolus sativus* і *Rhizoctonia spp.*

Варіанти	<i>Fusarium graminearum</i>		<i>Coeliobolus sativus</i>		<i>Rhizoctonia spp.</i>	
	Діаметр колонії, мм	%	Діаметр колонії, мм	%	Діаметр колонії, мм	%
Контроль (поживне середовище)	90 ± 3,3	100	38 ± 1,3	100	22 ± 1,1	100
Поживне середовище +Акремоніум, 10 ⁻⁸	84 ± 2,4	93	35 ± 1,1	91	20 ± 2,2	93
Поживне середовище +Акремоніум, 10 ⁻⁹	75 ± 2,6	83	36 ± 2,1	93	13,7 ± 0,9	62
Епін-екстра, 10 ⁻⁸	90 ± 4,4	100	34 ± 1,7	89	13 ± 2,3	59
Епін-екстра, 10 ⁻⁹	90 ± 4,7	100	38 ± 1,9	98	23 ± 2,4	105

Отримані дані свідчать, що речовини, синтезовані грибом *Acremonium*, є токсичними для грибів *Fusarium graminearum*, *Coeliobolus*

sativus, *Rhizoctonia spp.* Найвищі концентрації речовин в екстрактах представлені природними регуляторами росту рослин. Нами зроблено

висновок, що можливо ці речовини являються токсичними для досліджуваних грибів. При дослідженні дії екстрактів на розвиток борошнистої роси на рослинах озимої пшениці встановлено значне зниження розвитку фітопатогенна (табл. 7).

Досліджено дію екстракту з гриба

Acremonium на стійкість озимої пшениці сорту Київська 8 до фузаріозу та гельмінтоспоріозу (визначення проводили на 20-у добу від закладки досліду) (табл. 8). Отримані дані свідчать про відсутність інгібіторної дії препарату на ріст і розвиток рослин.

Таблиця 7. Вплив препаратів на розвиток борошнистої роси (*Blumeria graminis f. sp. tritici*) на 30-денних рослинах пшениці с. Подолянка в лабораторних умовах

Варіанти	Ступінь розвитку борошнистої роси, % ураженої поверхні
Контроль (обробка д. в.)	45,1 ± 3,94
Екстракт з <i>Acremonium spp</i> , 10 ⁻⁸	33,3 ± 2,64

Таблиця 8. Вплив екстракту із гриба *Acremonium* на стійкість озимої пшениці сорту Київська 8 до фузаріозу та гельмінтоспоріозу

Варіанти	Без зараження		Інокуляція <i>F. graminearum</i>		Інокуляція <i>C. sativus</i>	
	Маса сирі речовини 1 проростка, г	Маса сирі речовини 1 кореневої системи, г	Маса сирі речовини 1 проростка, г	Маса сирі речовини 1 кореневої системи, г	Маса сирі речовини 1 проростка	Маса сирі речовини 1 кореневої системи, г
Контроль (д. в.)	0,110	0,044	0,054	0,022	0,119	0,030
<i>Acremonium</i> , 10 ⁻⁸	0,132	0,051	0,037	0,018	0,0124	0,039
<i>Acremonium</i> , 10 ⁻⁹	0,146	0,064	0,066	0,025	0,0111	0,045
НІР _{0,05}	0,008	0,005	0,009	0,001	0,007	0,002

Висновки

Вперше в літературі встановлено, що гриби роду *Acremonium spp.* продукують природні регулятори росту ауксин, гіберелін і цитокінін. Екстракти речовин із міцелію гриба

проявляли стимулюючу дію на рослини пшениці і кукурудзи, а також інгібіторну на фітопатогенні гриби *Fusarium graminearum*, *Cochliobolus sativus* і *Rhizoctonia spp.*

Література

1. Турецкая Р.Х. Физиология корнеобразования у черенков и стимуляторы роста. – М.: АН СССР. – 1961. – 278 с.
2. Тутельян В.А., Кравченко Л.В. Микотоксины (Медицинские и биологические аспекты). – М.: Медицина, 1985. – 320 с.
3. Яворська В.К. та ін. Регулятори росту на основі природної сировини та їх застосування в рослинництві. – К.: Логос, 2006. – 176 с.

PADALKO S.F., KAMENCHUK O.P., BOBYK L.V.

Institute of Plant Physiology and Genetics of NAS of Ukraine, Ukraine, 03022, Kiev, Vasylkivska str., 31/17, e-mail: kurchii@mail.ru

COMPONENT COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF EXTRACTS FROM *ACREMONIUM SSP.* FUNGI

Aims. The aim of this research was to study the substances produced by fungus *Acremonium* and their biological activity. **Methods.** This study was performed using culture cells of fungi and the tests intended to detect the nature of substances extracted from fungi. **Results.** It is detected the composition and biological

activity of extracts from *Acremonium* fungi. In extracts was found natural growth regulators cytokinins, auxines and gibberellines. The received extracts showed antifungal activity against fungi *Fusarium graminearum*, *Coeliobolus sativus* i *Rhizoctonia spp.* and stimulatory activity for wheat and corn plants. **Conclusions.** For the first time it is found that *Acremonium* fungi produce the natural plant growth regulators auxins, gibberellins and cytokinins. The extracts obtained from *Acremonium* fungi were individually estimated against some phytopathogenes.

Key words: *Acremonium*, *Fusarium graminearum*, *Coeliobolus sativus*, *Rhizoctonia spp.*, biological activity.

УДК 616.5:616-089.843

ПАПУГА А.Е.¹, САМЧЕНКО Ю.М.², УЛЬБЕРГ З.Р.², РУБАН Т.А.¹, КОЗИНЕЦ Г.П.³, ЛУКАШ Л.Л.¹

¹ *Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Украина, 03680, г. Киев, ул. Акад. Заболотного, 150, e-mail: alexander.papuga@gmail.com*

² *Институт биокolloидной химии им. Ф.Д. Овчаренко НАН Украины, Украина, 03142, г. Киев, бульв. Акад. Вернадского, 42*

³ *Центр термических поражений и пластической хирургии Киевской городской клинической больницы № 2, Украина, 02094, г. Киев, ул. Краковская, 13*

ИСКУССТВЕННЫЙ ЭКВИВАЛЕНТ КОЖИ НА ОСНОВЕ АКРИЛОВЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ С ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА И КЛЕТКАМИ ЧЕЛОВЕКА

По данным ВОЗ ожоги в мире занимают третье место среди травм разного генеза, и число потерпевших в последнее время растёт, особенно в промышленно развитых регионах. Наблюдается тенденция относительного возрастания числа тяжёлых ожоговых повреждений. Общая летальность при этом составляет 8–10%. В Украине, где достаточно развита металлургическая, угледобывающая и химическая промышленность, проблема ожоговых повреждений весьма актуальна. Ежегодно в Украине требуется стационарное лечение ожоговой болезни для 20000 взрослых и 10000 детей.

При лечении глубоких массивных ожогов требуется хирургическое вмешательство, включающее аутотрансплантации кожи. Однако, если поверхность раны превышает 30–40% поверхности тела, дефицит донорских ресурсов заставляет прибегать к использованию биотехнологических раневых покрытий (временных или постоянных), которые предотвращают проникновение микроорганизмов, потерю влаги, впитывают экссудат, выделяемый раневой поверхностью и могут содержать различные лекарственные препараты, способствующие процессу регенерации тканей и/или снижению болевых ощущений [1].

Мы сосредоточили своё внимание на создании эквивалентов дермального слоя кожи,

поскольку в процессе хирургического лечения тяжёлых ожоговых ран наиболее актуальным является быстрое закрытие раневых поверхностей и восстановление слоя дермы с целью обеспечения эффективного приживания аутотрансплантатов.

В Украине зарубежные биотехнологические эквиваленты кожи практически не используются, поскольку они являются слишком дорогими и поэтому недоступны для большинства пациентов. На базе ИМБГ НАНУ с 2001 года проводятся исследования по разработке дермальных эквивалентов кожи, имеющих в своём составе стволовые клетки человека. Эти биоконструкции способны действовать как временные биологически активные покрытия для раны, обеспечивающие компоненты экстрацеллюлярного матрикса, цитокины и факторы роста [2, 3]. Благодаря этому стимулируется миграция клеток организма-реципиента в область раны, их пролиферация, регенерация дермального слоя и реэпителизация раны, «кондиционирование» ложа раны для использования кожных трансплантатов. Благодаря этому по сравнению с бесклеточными биоактивными раневыми покрытиями снижается время заживания раны и ингибируется шрамообразование [4].

В качестве носителей клеток (scaffolds) используются разнообразные материалы как синтетического, так и естественного