

УДК 001.92+575+ 575.2+576.312.32:581.143

**ВІДДІЛ ГЕНЕТИКИ КЛІТИННИХ ПОПУЛЯЦІЙ ІНСТИТУТУ
МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ:
ІСТОРІЯ ТА ГОЛОВНІ НАУКОВІ ЗДОБУТКИ
(ДО 30-РІЧЧЯ ВІД ЧАСУ ЗАСНУВАННЯ)**

В. А. КУНАХ

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Україна, 03143, Київ, вул. Академіка Заболотного, 150
e-mail: kunakh@imbg.org.ua

У статті коротко розглянуто основні віхи історії Відділу генетики клітинних популяцій, створеного у 1988 р. в Інституті молекулярної біології і генетики постановою Президії АН УРСР. Саме у цьому Відділі та його попередниці — Лабораторії генетики клітинних популяцій (створеній у 1983 р.) було започатковано і розвинуто новий науковий напрям — генетика клітинних популяцій, яка є теоретичною основою сучасних клітинних і генних технологій. Особливу увагу приділено науковим здобуткам співробітників відділу генетики клітинних популяцій. У контексті отриманих результатів проаналізовано особливості розвитку новітніх напрямів генетики соматичних клітин інтактних рослин та клітин в культурі in vitro, генетики клітинних популяцій, генетичних основ клітинної селекції, клітинної біології і біотехнології розпочинаючи з другої половини минулого століття і донині. Розглянуто наукові досягнення співробітників Відділу у галузі як фундаментальних, так і прикладних досліджень, у впровадженні розробок у промисловість, а також у підготовку наукових кадрів.

Ключові слова: історія науки, генетика клітинних популяцій, культура тканин рослин, біотехнологія рослин, мінливість і пластичність рослинного геному, адаптація рослин.

Понад тридцять років тому назад за ініціативи зав. лабораторією генетики клітинних популяцій Інституту молекулярної біології і генетики АН УРСР (ІМБГ) кандидата біол. наук В. А. Кунаха, підтриманої директором ІМБГ академіком АН УРСР Г. Х. Мацукою, вчена рада ІМБГ прийняла рішення просити Президію АН УРСР створити відділ генетики клітинних популяцій на базі однойменної лабораторії (засідання від 27 червня 1988 р., протокол № 8). Академік АН УРСР Г. Х. Мацука відразу звернувся до Президії АН УРСР з листом від 21.07.1988 р. №109/1274-11 наступного змісту (мовою оригіналу):

«На выполнение Постановления Президиума АН УССР от 18.01.88 г. № 204 «О состоянии и перспективах развития генетических исследований в АН УССР» (п. 3.3.) ИМБГ АН УССР просит разрешить создать отдел генетики клеточных популяций на базе одноименной лаборатории.

Научным направлением отдела считать: — изучение генетических процессов и возможностей управления ими в клеточных популяциях, разработку генетических основ клеточной биотехнологии растений.

Ученый совет института принял соответствующее решение на заседании от 27.06.88 г. (протокол № 8).

Директор института академик АН УССР Г. Х. Мацука».

Бюро Відділення біохімії, фізіології і теоретичної медицини АН УРСР на засіданні від 15.09.1988 р. (протокол № 11) постановило схвалити пропозицію ІМБГ про створення відділу генетики клітинних популяцій на базі однойменної лабораторії, і у газеті «Вечірній Київ» № 42 (850) від 20 жовтня 1988 р. Інститут молекулярної біології і генетики АН УРСР

оголосив конкурс на заміщення посади завідуючого відділом генетики клітинних популяцій.

Для участі в конкурсі було подано одну заяву — від кандидата біол. наук, старшого наукового співробітника, завідувача лабораторією генетики клітинних популяцій В. А. Кунаха.

22 грудня 1988 р. відбулися збори трудового колективу лабораторії генетики клітинних популяцій з порядком дня «Вибори завідувача відділом» (у ті часи завідувачів відділів і лабораторій в інститутах АН УРСР обирали спочатку на зборах трудового колективу наукового підрозділу, а вже потім — шляхом таємного голосування на вченій раді інституту. Рішення вченої ради інституту після розгляду на засіданні бюро відповідного Відділення АН УРСР затверджувалося на засіданні Президії АН УРСР). Від дирекції на зборах трудового колективу брав участь заступник директора інституту з наукової роботи канд. біол. наук М. В. Желтовський. Після досить активної дискусії про можливі наукові напрями новоствореного відділу і обговорення кандидатури В. А. Кунаха на посаду завідувача відділом було одногосно обрано В. А. Кунаха (голосували: 11 — за, проти — немає, утримався — немає).

Вчена рада інституту 27.12.1988 р. шляхом таємного голосування обрала на посаду завідувача відділом генетики клітинних популяцій кандидата біол. наук. В. А. Кунаха. Це рішення було затверджено постановою Бюро Відділення біохімії, фізіології і теоретичної медицини АН УРСР від 24.03.1989 р., і в. о. директора ІМБГ канд. біол. наук М. В. Желтовський 14.04.1989 р. підписав наказ № 66-к про створення відділу генетики клітинних популяцій і визначення науковим напрямом вивчення генетичних процесів і можливостей управління ними в клітинних популяціях, розробка генетичних основ клітинної біотехнології рослин. Завідувачем відділу цим наказом затверджено В. А. Кунаха. Склад відділу затверджено у кількості 16 співробітників, зокрема у штаті, окрім завідувача, було 6 наукових співробітників, це — Л. К. Алпатова, О. Г. Алхімова, О. К. Губар, С. І. Губар, О. В. Захленюк, В. Т. Солов'ян, а також 6 інженерів (зокрема, Т. В. Відмаченко, Т. П. Гулько, О. П. Константинова, К. В. Спірідонова) та 3 старших лаборанти. За відділом наказом були закріплені 9 кімнат у головному корпусі та приміщення в теплиці і кімнати в підвальному приміщенні інституту. Остаточо В. А. Кунаха затверджено на посаді завідуючого відділом генетики клітинних популяцій ІМБГ АН УРСР Постановою Президії АН УРСР № 221 від 14.06.1989 р.

Створенню і початку функціонування відділу генетики клітинних популяцій ІМБГ НАН України передували наступні події і наукові здобутки у цій царині знань.

Започаткування і розвиток в Україні цитогенетичних досліджень культивованих *in vitro* тканин рослин у 1960-х рр.

Перші цитологічні спостереження культивованих *in vitro* рослинних тканин провів французький дослідник Роже Готре (Gautheret, 1957, 1959). У 1935 р. автор встановив, що в культурі тканин бузини та клену мають місце нормальні диплоїдні мітози. При вивченні культури тканин веймутової сосни *Pinus strobus* Р. Готре виявив, що дрібні меристематичні клітини є диплоїдними, в них відбуваються нормальні мітози, тоді як великі клітини були тетраплоїдними, рідше — анеуплоїдними і мали порушення мітозу.

Подальші дослідження показали, що характерними для клітин та тканин рослин, культивованих в ізолюваних умовах, є багатоядерні клітини та порушення мітозу (Buvat, 1944, 1945; Bartos, 1954). Було виявлено диплоїдні та поліплоїдні клітини і в культурі, отриманій із гаплоїдних тканин і клітин (Tulecke, 1957; Melchers, Bergman, 1959). Встановлено, що поліплоїдизація тканин відбувається і за випадків, коли вихідний матеріал є поліплоїдним. Це показано, зокрема, на прикладі культури тканини ендосперму кукурудзи, у якій відмічено також редукцію числа хромосом аж до гаплоїдного рівня (Straus, 1954).

Початок 1960-х років характеризується швидким збільшенням кількості робіт з цитологічного та цитогенетичного вивчення культури тканин і клітин рослин. Це сталося внаслідок удосконалення методу і отримання на його основі значних результатів, зростання інтересу до культури тканин як модельного об'єкту для вирішення загальнобіологічних проблем, зокрема для вивчення механізмів диференціювання-дедиференціювання-редиференціювання і регенерації, неорганізованого росту тощо, а також у зв'язку з появою перспективи застосування культури тканин рослин у господарських цілях, зокрема як джерела біологічно активних речовин, важливих для фармакологічної та харчової і косметичної промисловості, для мікроклонального розмноження, оздоровлення рослин від вірусної інфекції, отримання нових форм рослин тощо. У найвідоміших дослідженнях цього періоду встановлено значні цитологічні порушення в клітинах культури тканин,

показана її генетична нестабільність (подробіці і посилання див.: Бутенко, 1964; Кунах, 2005, 2018).

В Україні робота з культурами ізольованих клітин і тканин вищих рослин розпочалась на початку 1960-х років одночасно в Інституті фізіології рослин і генетики НАН України під керівництвом професора Ф. Л. Калініна (це, в основному, були роботи з вивчення культур тканин пухлинного походження, особливостей їх метаболізму тощо) та в Інституті ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України з ініціативи та під керівництвом кандидата біол. наук П. Г. Сидоренка. У 1964 р. П. Г. Сидоренко створив наукову групу, в якій вивчали біологію рослинних клітин в умовах *in vitro*, у 1968 р. на базі цієї групи було створено лабораторію структури і функції клітини, а у 1970 р. — відділ цитології. Саме тут П. Г. Сидоренко і В. А. Кунах провели перші цитогенетичні дослідження культури тканин тютюну, гаплопаппусу і крепісу (скереди волосистої) (Кунах, 2005, 2018; Фтемова, 2013).

У січні 1968 р. у Москві відбулася «I Всесоюзна конференція по культурі ізолированих органів, тканин і кліток рослин». У рамках цієї конференції працювала секція «Цитогенетика культури тканин», на якій результати власних експериментальних досліджень хромосомної мінливості культивованих клітин і тканин представили Х. І. Каллак і Л. Я. Ярвекюльг (кафедра генетики і дарвінізму Тартуського державного університету, Естонія) «О цитогенетической характеристике каллуса гороха», Т. А. Ковальова (Інститут фізіології рослин АН СРСР, Москва) «Цитоморфологическая характеристика культуры ткани раувольфии», З. Б. Шаміна і Л. В. Фролова (Інститут загальної генетики АН СРСР, Москва) «Цитологическое изучение культуры ткани при длительном культивировании», В. А. Кунах (Інститут ботаніки АН УРСР, Київ) «Цитогенетическая характеристика культуры ткани гаплопаппуса». Дані хромосомної мінливості в культурі тканин тютюну були представлені у доповіді П. Г. Сидоренка (Інститут ботаніки АН УРСР, Київ) «О некоторых аспектах цитологических исследований в культуре тканей растений». Це були результати досліджень, якими, на мою думку, в СРСР було започатковано новий науковий напрям — генетику соматичних клітин рослин *in vitro*. Дещо пізніше, у міру ширшого залучення до досліджень культивованих клітин спеціалістів-генетиків, накопичення нових експериментальних даних та їх комплексного аналізу під різними кутами, перш за все — з генетичної точки зору, виокремився і такий новіт-

ній науковий напрям, як генетика клітинних популяцій рослин. Останній був започаткований в Україні моїми дослідженнями, проведеними спільно з П. Г. Сидоренком в Інституті ботаніки АН УРСР, і продовженими в Інституті молекулярної біології і генетики під керівництвом В. П. Зосимовича (подробіці і посилання див.: Кунах 2005, 2018).

У перших наших дослідях з гаплопаппусом *Haploappus gracilis*, проведених у 1965–1967 рр. в Інституті ботаніки АН УРСР, було встановлено, що за тривалого пасивування сформованого штаму культури тканин спостерігається у постійних умовах середовища відносна збалансованість гетероплоїдної (міксоплоїдної) популяції, що складається з різних клітин — від гаплоїдних до клітин високої плоїдності. Ми висловили припущення про встановлення в популяції культури тканин гаплопаппусу за тривалого пасивування динамічної рівноваги клітин з різним набором хромосом (Кунах, 1970; Сидоренко, Кунах, 1970). За отримання культури тканин гаплопаппусу з різних вихідних експлантів на повністю синтетичному живильному середовищі було встановлено, що штами листового походження протягом 10 пасажів залишалися диплоїдними, а штами стеблового походження вже через 8 пасажів (280 днів культивування) став на 84–91 % поліплоїдним з переважанням тетраплоїдних клітин (50–61 %) (Кунах, 1971). За результатами детальнішого дослідження, виконаного вже у відділі цитогенетики і поліплідії Сектора молекулярної біології і генетики АН УРСР (тепер ІМБГ НАНУ), ми зробили висновок про значний вплив складу живильного середовища і походження вихідного матеріалу на цитогенетичну характеристику популяцій клітин у культурі *in vitro* (Кунах, Можилевская, 1972).

Важливі дані було отримано також при вивченні процесів морфогенезу і регенерації рослин, розпочатому мною ще в лабораторії структури і функції клітини Інституту ботаніки АН УРСР, — на прикладі культури тканин гаплопаппусу *H. gracilis* та крепісу (скереди волосистої *Crepis capillaris*) вперше вдалося показати, що здатністю до спонтанного органогенезу у генетично гетерогенних клітинних популяціях володіють диплоїдні клітини без видимих хромосомних аберацій (Кунах, 1974а). Це виявилось притаманним також і для тютюну *Nicotiana tabacum* та зингерії *Zingiberia biebersteiniana*. Пізніше, вже в Інституті молекулярної біології, на прикладі гороху *Pisum sativum* було встановлено, що такою ж здатністю до регенерації рослин в гетерогенних, тривало культиво-

ваних тканинах володіють і тетраплоїдні клітини. До речі, це були перші у світі успішні дослідження з регенерації рослин гороху із тривало культивованих калюсних тканин (Кунах, Алхимова і др., 1984а).

За порівняльного вивчення особливостей формування пасивованих культур тканин гаплопаппусу і крєпису у процесі отримання і подальшого культивування клітинних штамів було виявлено період, що характеризувався низкою особливостей: зниженням темпу росту калюсу, змінами кількості клітин з абераціями хромосом, інколи змінами плоїдності калюсу, появою клітин зі змінами морфології хромосом, морфологічних відмінностей між штамми тощо. Тривав цей період протягом перших трьох-чотирьох пасажів, який пізніше був названий нами періодом становлення штаму (Сидоренко, Кунах, 1972; Кунах, 1974б).

Хочу підкреслити, що саме в цих, процитованих вище роботах, ми вперше почали розглядати культуру тканин рослин як клітинну популяцію, застосовувати відповідну генетико-популяційну термінологію, виявили, що еволюція генетичної структури клітинних популяцій відбувається у результаті зміни типу (напрямку) й інтенсивності дії клітинного добору. У подальших роботах ми уточнювали, поглиблювали і розширювали як термінологію, так і основні положення цього нового напрямку — генетики клітинних популяцій — див. далі.

Загалом, до середини 1970-х років було встановлено, що більшість «клонів» (згідно тодішньої термінології) культури тканин рослин є міксоплоїдними, вони складаються частіше з поліплоїдних клітин, є цитогенетично не стабільними, в них відбуваються не лише зміни числа хромосом, а й виникають аберації хромосом, частота яких може бути набагато, в рази, вища, ніж це властиво меристемним тканинам інтактних рослин. Причиною поліплоїдизації вважали індукцію поділів диференційованих клітин вихідного експланту, які можуть бути поліплоїдними, наявність ендомітозів у клітинах культури тканин, селективну дію та поліплоїдизувальний і мутагенний ефекти деяких компонентів живильного середовища тощо. Домінувала думка, що генетична стабільність культивованих тканин - досить рідкісне явище, яке зумовлене елімінацією поліплоїдних клітин, утворених при культивуванні (подробіці і посилання див.: Кунах, 2005, розділ 7.2).

Започаткування і розвиток досліджень культури тканин рослин в ІМБГ НАН України у 1970-х рр.

У 1968 р. на базі Сектора генетики при Президії АН УРСР і Сектора вірусології Інституту мікробіології і вірусології АН УРСР було створено Сектор молекулярної біології і генетики Інституту мікробіології АН УРСР (у 1973 р. Сектор реорганізовано в Інститут молекулярної біології і генетики АН УРСР). Відділом цитогенетики і поліплоїдії Сектора молекулярної біології і генетики керував відомий ботанік, генетик і селекціонер рослин, організатор і засновник Сектора генетики у 1966 р., лауреат Ленінської премії, член-кореспондент АН УРСР, доктор біол. наук, професор В.П. Зосимович. Він влітку 1971 р. запросив мене на роботу в очолюваний ним відділ, у якому створювалась наукова група з вивчення культури тканин рослин.

1970-ті роки характеризувались зростанням уваги біологів до методу культури клітин і тканин рослин як можливого джерела принципово нових форм рослин, які можливо було отримувати в культурі *in vitro*, зокрема, з незрілих пиляків і пилку (гаплоїди і подвоєні гаплоїди), у результаті культивування та гібридизації протопластів та соматональної мінливості. Саме до цієї роботи, що розпочиналась за ініціативи і під керівництвом проф. В. П. Зосимовича і було залучено мене, як цитогенетика.

Група дослідників відділу цитогенетики і поліплоїдії у складі 9 чоловік, яку очолював старший науковий співробітник, кандидат біол. наук Б. О. Левенко і до складу якої входив також я, молодший науковий співробітник, під науковим керівництвом В. П. Зосимовича розпочала активне вивчення можливості отримання гаплоїдів різних видів рослин *in vitro* із пиляків та ізольованого незрілого пилку, а також цитогенетичні дослідження отриманих із культивованих пиляків рослин і калюсних тканин. Робота виконувалась у рамках теми «Отримання гаплоїдів в ізольованій культурі», затвердженої на 1971–1973 рр. Держкомітетом з науки і техніки при Раді Міністрів СРСР. Об'єктами дослідження слугували різні види рослин — томати і тютюн, цукровий буряк, пшениця та жито, черешня і полуниця та ін. Із культивованих незрілих пиляків та ізольованого незрілого пилку було отримано значну кількість рослин-регенерантів. Найдетальніше було вивчено регенеранти тютюну, серед яких переважна більшість були гаплоїди, останні були диплоїдними і, зрідка, міксоплоїдними рослинами. Із пиляків

також було індуковано регенерацію окремих рослин цукрового буряка та морфогенних структур томатів, відпрацьовано методика отримання подвоєних гаплоїдів тютюну (подробиці і посилання див. в книзі: «Кунах Віктор Анатолійович. Біобібліографічний покажчик наукових праць за 1966–2016 роки. Тернопіль, 2017).

У 1974–1975 рр. наша наукова група виконувала розділ «Цитогенетичне вивчення калюсної тканини рослин» — складової частини теми наукових досліджень відділу цитогенетики і поліплоїдії. Ми вивчали калюсні тканини, отримані із пиляків томатів і цукрових буряків різних сортів, а також калюси, отримані від первинних експлантів різного походження і різних рівнів плоідності, зокрема від гаплоїдів, диплоїдів і тетраплоїдів томатів, гаплоїдів і диплоїдів тютюну тощо. Було встановлено, що, незалежно від рівня плоідності клітин вихідного експланту в оптимальних умовах вирощування калюсів формуються клітинні лінії (штами), що практично не відрізняються між собою за числом хромосом і які у своїй переважній більшості є міксоплоїдними з модальним класом, що складається з три- та тетраплоїдних клітин. Вперше було виявлено, що на перших етапах культивування *in vitro* поліплоїдних за походженням експлантів (наприклад, фрагментів молодих листків тетраплоїдних рослин томатів) в культивованих клітинах переважають процеси редукції числа хромом, а за культивування гаплоїдних експлантів переважають процеси поліплоїдизації (ендомітозів). Тобто, у процесі культивування калюсних тканин поряд з дивергентною еволюцією числа хромосом може відбуватись і конвергентний тип розвитку за цією ознакою. Клітини з вихідним, зокрема, гаплоїдним числом хромосом стрічаються, як правило, лише на перших пасажах росту (Зосимович и др., 1974, 1978; Кунах и др., 1978; Левенко и др., 1974, 1976, 1977, 1978, 1978a, 1978b; Levenko et al., 1978b).

Таким чином, у цей період багатьма дослідженнями, у тому числі й нашими, було встановлено, що у процесі формування калюсних і суспензійних культур, здатних до тривалого пасивування, може відбуватись дивергенція, а інколи і конвергенція клітинних штамів за рівнем їхньої плоідності, а сформовані штами є гетерогенними за числом хромосом і ця гетерогенність є динамічно стабільною (див. Кунах, 2005, розділ 7.2).

Було встановлено, що в культивованих клітинах рослин стрічаються і структурні перебудови хромосом. Показовим серед відомих на той час є дослідження З. Б. Шаміної із співавторами (1966),

проведене на культурі тканин тютюну. Отримана авторами культура характеризувалася не тільки високою мінливістю числа хромосом, а й надзвичайно високим рівнем їх структурної мінливості: знайдено 66,8 % аберантних ана- та телофаз, що містили хромосомні мости і фрагменти.

Проведене незалежно і майже одночасно наше вивчення рівня, типів і походження абераций хромосом на прикладі культури тканин тютюну, гаплопаппусу і крепісу показало, що сформованим штамам цих культур властивим є постійний рівень і спектр абераций хромосом. Для штамів гаплопаппусу і крепісу характерним є значно нижчий рівень ушкоджених клітин і ступінь їхнього враження, ніж для культури тканин тютюну. Зокрема, вибірка з 25 штамів гаплопаппусу характеризувалась широким розмахом мінливості за частотою анафаз з пошкодженнями хромосом — 0,7–11,7 %, для крепісу виявився характерним низький рівень анафазних абераций хромосом (0,6–1 %), а для тютюну — високий (майже 64 %). 2/3 цих абераций — результат їхнього переживання з мітозу у мітоз за допомогою циклу розрив–злиття–міст. У результаті побудови схеми виникнення і переживання абераций хромосом і проведення на її основі розрахунків ми встановили, що у більшості штамів вивчених культур число репродукцій ушкоджених клітин (клітин з «ушкодженими» хромосомами) у середньому дорівнює 3, а у диплоїдних штамах гаплопаппусу — 2. Також ми виявили зв'язок між числом хромосом у клітині, ступенем її плоідності і рівнем і спектром абераций хромосом. При цьому спектр абераций залежить від співвідношення «свіжих» розривів і «тих, що переживають» перебудов хромосом (Зосимович, Кунах, 1975). Пізніше, у збірнику «Успехи современной генетики» (Н. П. Дубинин (ответств. ред.), М., Наука, 1984, Вып. № 12), я опублікував роботу «Особенности структурного мутагенеза в популяциях культивируемых клеток растений» (Кунах, 1984), у якій було підтверджено і поглиблено основні положення наведеної вище роботи.

Відомі на той час порівняно нечисленні літературні дані збігалися з нашими даними і засвідчували, що культура рослинних тканин *in vitro* характеризується, як правило, досить високою мінливістю не тільки числа, а й структури хромосом. Це іноді призводить до зміни структури каріотипу культивованих клітин в результаті, на думку деяких дослідників, підвищеної життєздатності клітин з деякими перебудово-

вами числа і структури хромосом (подробиці і посилання див. Кунах, 2005, 2018).

У моїй підсумковій роботі 1974 р. наведено і обговорено результати багаторічного вивчення плідного складу клітинних популяцій у процесі формування і тривалого пасивування штамів культури тканин гаплопаппусу, скереди і тютюну (Кунах, 1974б). У статті наведено дані, що підтверджують значну залежність плідності калюсних тканин від вихідного матеріалу (виду рослини та тканинної приналежності первинного експланта), складу живильного середовища, наявності і концентрації у середовищі кінетину. Вперше було показано провідне значення клітинного добору у формуванні основних ознак штамму культивованих тканин рослин, у тому числі й плідного складу клітинної популяції. У завершеному вигляді ці та інші дані, що лягли в основу генетичної теорії клітинних популяцій рослин, викладено в кандидатській дисертації (Кунах, 1974, 1975).

Уже на початок 1970-х рр. було встановлено, що в культурі клітин і тканин рослин під впливом умов культивування може відбуватися як селективне розмноження передіснюючих у вихідному експланті клітин різної (певної) плідності, так і виникнення *de novo* клітин з відмінним числом хромосом. Іноді спостерігали одночасний перебіг обох процесів під впливом однієї речовини, як це показано на прикладі з кінетином. Зміна умов культивування призводить, як правило, до зміни плідності культури тканин (подробиці і посилання див. Кунах, 2005, 2018). Почали з'являтися думки про те, що культивовані калюсні і суспензійні культури — це не просто «клони» чи «звиклі тканини» (за термінологією Р. Г. Бутенко — «привыкшие ткани»), а своєрідні, експериментально створені біологічні системи. Під впливом досліджень культивованих клітин людини і тварин починає зароджуватися погляд на культуру рослинних клітин, як на клітинну популяцію, як на нову біологічну систему. Вперше найбільш чітко ці положення викладено в моїй дисертації на здобуття вченого ступеня кандидата біологічних наук «Цитогенетичне вивчення клітинних популяцій у культурі ізолюваних тканин рослин», захищеній у 1975 р. за спеціальністю «генетика» (Кунах, 1975). Науковим керівником роботи був член-кор. АН УРСР В. П. Зосимович. Це була перша на теренах СРСР дисертація з генетики культивованих клітин рослин.

На основі великої кількості власних результатів вивчення особливостей біології культивованих клітин багатьох видів рослин, зокрема, динаміки росту, мінливості числа хромосом, рівня та спектру хромосомних перебудов, динаміки циркадної ритміки мітозів та деяких інших параметрів мені вдалося вперше виявити, що адаптація клітин до умов ізолюваного росту є багатоступеневим процесом. Разом із колегами я встановив, що на перших етапах культивування *in vitro* відбувається фізіологічна адаптація, пізніше спостерігаються процеси генетичної адаптації, що виражаються у зміні генетичної структури клітинних популяцій, зокрема у зміні числа і морфології хромосом. Виділено три періоди мікроеволюції клітинних популяцій у культурі ізолюваних тканин рослин: період первинної популяції ізолюваних клітин, період становлення та період сформованого штаму (клітинної лінії). У пізніших дослідках мені вдалося показати, що існування цих періодів зумовлено, перш за все, зміною напрямку і жорсткості природного добору, що діє у клітинних популяціях *in vitro*.

Ці дані опубліковано у найпрестижніших на той час наукових журналах СРСР — «Доклады Академии наук СССР», «Генетика», «Цитология», «Цитология и генетика», у авторитетному журналі «Phytomorphology», в авторитетних збірниках наукових праць, вони доповідались на Міжнародних і Всесоюзних наукових конференціях з проблем генетики, генетичних основ селекції, клітинної біології, біотехнології, фізіології рослин, ботаніки тощо. Слід підкреслити, що статті за мого авторства і співавторства у журналі «Доклады Академии наук СССР» представляли академіки АН СРСР Н. П. Дубінін, В. А. Енгельгард, Д. К. Беляєв (подробиці і посилання див. в книзі «Кунах Віктор Анатолійович. Біобібліографічний покажчик наукових праць за 1966–2016 роки», Тернопіль, 2017).

Створення у відділі цитогенетики і поліплоїдії ІМБГ наукової групи генетики клітинних популяцій і її здобутки наприкінці 1970-х – на початку 1980-х рр.

У вересні 1978 р. за ініціатииви директора ІМБГ члена-кореспондента АН УРСР, проф. Г. Х. Мацуки у відділі цитогенетики і поліплоїдії було створено наукову групу генетики клітинних популяцій, що складалась з шести молодих співробітників. До складу групи входили: Л. К. Алпатова, О. В. Кіфорак (Захленюк), В. А. Кунах, В. С. Легейда, О. І. Свідченко,

Т. М. Чеченева. Очолити цю наукову групу доручили мені (перед цим, а саме 1.06.1978 р. мене було переведено на посаду старшого наукового співробітника за результатами конкурсу). Перед групою молодих учених було поставлене завдання спільно з співробітниками новоствореної лабораторії генетики прокариотів (завідувач — кандидат біол. наук С. С. Малюта) та відділом регуляторних механізмів клітини (завідувач — доктор біол. наук, проф. В. А. Кордюм) вивчити можливість перенесення генів, зокрема генів прокариотів, у рослинні клітини і організми та вивчити особливості взаємодії нуклеїнових кислот, перш за все чужинної ДНК, з клітинами про- та еваріотів.

У спільних дослідках співробітників цих наукових підрозділів (до деяких дослідів було залучено московських учених з Інституту біохімії АН СРСР Ю. П. Вінецького, Л. В. Зуєву та О. С. Капіцу) встановлено можливість експресії бактеріальних генів у клітинах рослин на двох експериментальних системах: на культурі клітин тютюну і лактозному опероні кишкової палички, а також на культурі клітин пшениці і триптофановому опероні кишкової палички (Капица и др., 1979). Вперше встановлено можливість тривалого збереження ДНК-послідовностей бактеріофага лямбда у культивованих клітинах тютюну та ссавців, що мало важливе значення для подальшого використання бактеріофага лямбда як вектора для клітин багатоклітинних організмів та як джерела генів бактерій (Лихачев и др., 1979, 1982; Малюта и др., 1981; Топорова и др., 1982). У дослідженнях на культивованих клітинах рослин було встановлено мутагенну дію як бактеріофага лямбда, так і вірусу тютюнової мозаїки. Особливо віруси впливали на геном на рівні хромосом — різко зростала кількість як хромосомних аберацій, так і порушень веретена поділу клітини. Встановлено також, що за обробки бактеріофагом лямбда в міксоплоїдній суспензійній культурі тютюну розмножувались переважно диплоїдні клітини (Кунах и др., 1979). Значна частина отриманих даних з особливостей взаємодії трансдукуючого бактеріофага λ з рослинною клітиною лягли в основу кандидатської дисертації співавтора цих досліджень І. Г. Бух (Бух, 1984). Досліди з вірусом тютюнової мозаїки проведено пізніше спільно з співробітниками Інституту мікробіології і вірусології АН УРСР (Жук и др., 1985).

Співробітники групи генетики клітинних популяцій були також виконавцями розділу «Ви-

вчення хромосомної мінливості в культурі ізольованих клітин рослин» — складової частини теми наукових досліджень відділу цитогенетики і поліплоїдії ІМБГ. Проводили цитогенетичні дослідження на прикладі як модельних рослин — тютюну *N. tabacum*, скереди волосистої (крепісу) *C. capillaris*, гаглопаппусу *H. gracilis*, зингерії *Zingera biebersteniana*, так і пізніше на господарчо-важливих рослинах — раувольфії зміїній і кукурудзі, було розпочато також досліди з введення в культуру *in vitro* різних сортів та ліній гороху посівного *Pisum sativum*.

У процесі виконання цієї теми я критично проаналізував особливості мінливості соматичних клітин рослин у природі як в меристемних тканинах, так і в різних соматичних тканинах в онтогенезі рослин. Розглянув механізми і наслідки геномної мінливості соматичних клітин, адаптивну роль такої мінливості і її можливі причини. Геномні зміни соматичних клітин рослин, як запрограмовані для нормального розвитку організму, так і «випадкові» у разі стресових впливів, на мою, висловлену тоді чи не вперше, думку, регулюються гормональною системою рослинного організму. Порушення корелятивних механізмів організму, перш за все гормональної системи, і лежить в основі тих змін, що ми їх спостерігаємо за впливу різних стресів, у тому числі і в разі введення тканин і клітин в культуру *in vitro* (Кунах, 1978, 1980). Результати узагальнення особливостей природної мінливості соматичних клітин рослин і висловлене припущення про роль гормональної системи у процесі мінливості лягли в основу пошуку регуляторів геномної (і не лише геномної) мінливості культивованих клітин серед фітогормонів й інших регуляторів росту (див далі).

У 1979 р. ми, співробітники групи генетики клітинних популяцій, розпочали цитогенетичні дослідження культури тканин лікарської тропічної рослини раувольфії зміїної *Rauwolfia serpentina* Benth. як можливого джерела гіпотензивних та протиаритмічних алкалоїдів, зокрема аймаліну. Спільно із співробітниками наукової групи культури тканин рослин Ленінградського хіміко-фармацевтичного інституту (тепер Санкт-Петербурзька хіміко-фармацевтична академія, Росія) було започатковано роботи з генетичних основ клітинної біотехнології лікарських рослин та фітопрепаратів.

Вже на перших етапах роботи з культурою тканин раувольфії зміїної нам, разом із співробітниками Ленінградського хіміко-фармацевтич-

ного інституту А. Г. Воллосовичем та І. Є. Кауховою вдалося зробити фундаментальне відкриття — встановити залежність продуктивності культури тканин раувольфії зміїної, перш за все виходу протиаритмічних індолінових алкалоїдів, зокрема аймаліну, від рівня плоідності культивованих клітин. Спільно із співробітниками лабораторії генетики клітинних популяцій Інституту цитології АН СРСР (м. Ленінград, нині Санкт-Петербург, Росія), яку очолював проф. Ю. Б. Вахтін, було відпрацьовано також методику генетико-статистичного аналізу гетерогенності клітинних популяцій раувольфії зміїної за кількісною ознакою — вмістом аймаліну, та встановлено вік культури, під час пересадки якої коефіцієнт успадкованості ознаки «вміст аймаліну» є найвищим. На основі отриманих даних з гетерогенності та значення коефіцієнта успадкованості пізніше було розроблено методологію підтримуючого добору у процесі промислового виробництва аймаліну з біомаси культивованих клітин (Каухова и др., 1981; Кунах и др., 1982, 1983, 1986; Вахтин и др., 1985; Николаева и др., 1985). (Далі результати досліджень культури тканин раувольфії зміїної викладено детальніше, див. також Кунах, 2005, розділ 10).

Ми продовжували також поглиблене вивчення причин і механізмів високої хромосомної мінливості культивованих рослин клітин. Було залучено до роботи такі добре генетично вивчені та важливі сільськогосподарські рослини, як кукурудза та горох. Розпочато роботи із введення в ізольовану культуру цих рослин, підбір умов їх регенерації та цитогенетичного вивчення із залученням методів диференційного забарвлення хромосом (Кунах и др., 1980, 1984а, 1984б; Савченко и др., 1982, 1986; Савченко, Кунах, 1986; Gubar, Kunakh, 1994). Роботи із диференційного забарвлення проведено спільно із співробітниками лабораторії функціональної морфології хромосом Інституту молекулярної біології АН СРСР (Москва) Н. Д. Бадаєвим та завідувачем лабораторії професором А. В. Зеленіним.

Вивчення внеску у хромосомну мінливість умов вирощування культивованих клітин, перш за все складу живильного середовища, показало ключову роль екзогенних фітогормонів, які значно сильніше, ніж мінеральний склад, впливають на рівень і типи хромосомної мінливості (Кунах, 1970, 1974б; Кунах, Зосимович, 1977; Кунах и др., 1977а; Кунах, Алпатова, 1979).

Вперше було виявлено, що застосування екзогенних фітогормонів (найретельніше було вивчено цитокініни кінетин і БАП та ауксини ІОК і 2,4-Д) дозволяє не лише регулювати рівень плоідності культивованих клітин, а й модифікувати поліплоїдогенну активність деяких речовин, а також впливати на процеси деполіплоїдизації в обробленому поліплоїдогенами матеріалі, у тому числі у проростках злаків, зокрема, ячменю (Кунах, Чугункова, Буйдин и др., 1977а). Частину цих даних було використано в кандидатській дисертації В. В. Буйдіна (Буйдин, 1980).

Ґрунтуючись на отриманих даних про селективне розмноження поліплоїдних клітин під впливом кінетину, ми розпочали пошук речовин, що володіють здатністю вибірково стимулювати поділи клітин різної плоідності. Пошук проводили перш за все серед похідних азотистих основ. Ці досліді проводили спільно з співробітниками відділу хімії нуклеозидів, нуклеотидів і нуклеїнових кислот ІМБГ АН УРСР (завідувач відділу — доктор хім. наук В. П. Чернецький). Було синтезовано і знайдено сполуки з фітогормональною активністю, які не впливали на число хромосом і рівень хромосомних аберацій в популяціях культивованих клітин, які підвищували рівень хромосомної мінливості, та сполуки, які приводили до нормалізації числа хромосом (диплоїдизації) клітинних ліній. Деякі з цих речовин і способів було запатентовано (Семенюк и др., 1979; Левенко, Семенюк и др., 1982; Кунах, Захленюк, 1984; Захленюк, Лазуркевич и др., 1985; Лазуркевич и др., 1985, 1985а). Цікаво, що подібним ефектом володіли також нативні та модифіковані екзогенні гетерологічні і гомологічні РНК (Кунах, Потопальский и др., 1982; Кунах, Адонин и др., 1985).

У багатьох випадках важливо мати гаплоїдні штами культивованих клітин рослин. Суттєвою перепоною для цього є спонтанна поліплоїдизація клітинних популяцій. Спираючись на уже відомі дані про гаплоїдизувальну дію парафторфенілаланіну (ФФА), ми разом з О. В. Захленюк (Кіфорак) вивчили динаміку плоідності клітинних штамів, отриманих від гаплоїдних рослин тютюну і встановили, що ФФА гальмує темп поліплоїдизації клітин. Це дозволило застосовувати ФФА для сповільнення процесів поліплоїдизації у культивованій поза організмом гаплоїдній тканині. Ці та інші подібні дані пізніше було опубліковано у престижному американському виданні (Zakhlenjuk, Kunakh, 1988).

Цитогенетичне вивчення дії екзогенних нуклеїнових кислот, їхніх азотистих компонентів і похідних, а також деяких фітогормонів у культурі тканин рослин ми із співробітниками продовжували і в наступні роки. Особливу увагу в подальших дослідках приділяли вивченню можливості регуляції за допомогою названих речовин процесів генетичної мінливості і добору в популяціях культивованих клітин, а також можливості підвищення біосинтезу вторинних речовин важливими для промисловості культурами тканин рослин.

Створення в ІМБГ структурної лабораторії генетики клітинних популяцій, її наукові напрями і здобутки у 1980-х рр.

Наприкінці 1970-х років уряд СРСР прийняв постанову про подальший поглиблений розвиток біологічної науки, зокрема генетичної інженерії і біотехнології. Було затверджено низку Всесоюзних наукових програм. Однією з таких програм була «Клітинна селекція» (1979–1983 рр., керівник член-кор. АН СРСР Р. Г. Бутенко), до виконання якої було залучено і наукову групу генетики клітинних популяцій ІМБГ. Результати наших досліджень з цієї тематики аналізувались у Москві на щорічних робочих нарадах по програмі «Клітинна селекція».

Пізніше Президія АН УРСР прийняла постанову з розвитку генетичної інженерії № 127 від 26 березня 1980 р., на основі якої було розроблено Комплексну програму досліджень з генетичної інженерії на 1981–1985 рр. «Генетичне конструювання рослин і мікроорганізмів». Головним у розробці цієї програми було затверджено Інститут молекулярної біології і генетики АН УРСР. Наукова робота групи генетики клітинних популяцій, очолювана мною, дирекцією ІМБГ була націлена на виконання двох завдань Програми.

Слід підкреслити, що цим напрямом досліджень приділялась велика увага і в наступні роки. Так, Постановою ЦК КПРС і Ради Міністрів СРСР від 26 серпня 1985 р. № 807 «Про подальший розвиток нових напрямів біології і біотехнології» у розділі «Препарати для охорони здоров'я» для новоствореної лабораторії генетики клітинних популяцій ІМБГ було поставлене завдання спільно з іншими закладами та низкою заводів на початку 1990-х років налагодити промислове виробництво двох препаратів — аймаліну із культури тканин раувольфії та препарату із культури тканин родіоли рожевої. Від-

повідно, на період 1986-1990 рр. в Україні було затверджено Республіканську програму «Біотехнологія», в якій за лабораторією генетики клітинних популяцій було затверджено до виконання три завдання.

12 травня 1982 р. я подав доповідну записку на ім'я директора ІМБГ Г. Х. Мацуки з обґрунтуванням необхідності створення структурної лабораторії генетики клітинних популяцій. Після моєї доповіді на науковому семінарі інституту, на засіданні вченої ради інституту 19 квітня 1983 р., протокол № 15, було прийнято наступне рішення (мовою оригіналу): «...С целью расширения и углубления генетических исследований клеточных популяций растений, изучения биологических эффектов и скрининга синтезируемых в институте физиологически активных веществ создать в отделе цитогенетики и полиплоидии структурную лабораторию генетики клеточных популяций...». Доповідав на вченій раді директор інституту член-кореспондент АН УРСР Г. Х. Мацука. За прийняття цієї постанови голосували: за — 20, проти — 2, утримався — 1. 20 квітня 1983 р. директор ІМБГ член-кор. АН УРСР Г. Х. Мацука підписав наказ № 92к «Про зміни в структурі Інституту» яким (мовою оригіналу): «...приказываю:

1. Создать в отделе цитогенетики и полиплоидии структурную лабораторию генетики клеточных популяций с 20.04.83 г. в составе: Кунах В. А. — ст. н. сотр., Свидченко А. И. — вед. инж., Захленюк О. В. — ст. инж., Алпатова Л. К. — ст. инж., Алхимова Е. Г. — ст. инж., Савченко Е. К. — инж., Войтюк Л. И. — инж.

2. Передать из отдела химии нуклеозидов, нуклеотидов и нуклеиновых кислот... биологическую группу скрининга на растительных моделях в лабораторию генетики клеточных популяций отдела цитогенетики и полиплоидии с 20.04.83 г. в составе: Лазуркевич З. В. — ст. н. сотр., Шаламай Г. П. — инженер; Губарь С. И. — инженер, Бельтюкова Л. В. — ст. лаб. (без в/о), Повх В. И. — инж.

3. Основными задачами лаборатории считать:

а) изучение генетических процессов и возможностей управления ими в клеточных популяциях растений;

б) получение клеточных линий — продуцентов биологических веществ и поиск путей повышения их продуктивности;

в) скрининг физиологически активных веществ на растительных моделях.

4. Возложить обязанности по руководству лабораторией генетики клеточных популяций на ст. н. сотр. т. Кунаха В. А....».

Пізніше завідувачем лабораторії на конкурсних засадах було обрано канд. біол. наук В. А. Кунаха.

У 1981–1983 рр. у лабораторії виконувалась науково-дослідна тема «Вивчення закономірностей мінливості соматичних клітин і рослин за впливу екзогенних нуклеїнових кислот і фізіологічно активних речовин», а у 1984–1987 рр. — Розділ III «Вивчення дії нуклеїнових кислот, їх компонентів і аналогів на культивовані клітини і інтактні рослини» науково-дослідної теми «Індукована мінливість у культурі клітин рослин», що була спільною з відділом цитогенетики і поліплоїдії.

У результаті виконання цієї теми було вперше вивчено вплив на приріст біомаси та цитогенетичні ефекти нативних і модифікованих гомологічних і гетерологічних РНК, продуктів їхнього діалізу і гідролізу. Було встановлено, що, стимулюючи ріст культури тканини гаплопаппусу, нативні РНК і їхні продукти приводили до збільшення в ній частоти поліплоїдних клітин, підвищували рівень структурних перебудов хромосом. Гомологічна і гетерологічна РНК, модифіковані тіофосфамідом, також стимулювали приріст біомаси тканини, але приводили до нормалізації числа хромосом і зниження рівня хромосомних аберацій у культивованих клітинах. Продукти діалізу і гідролізу модифікованих РНК таких ефектів не спричиняли (Кунах, Потопальський и др., 1982; Кунах, Адонин и др., 1985).

У співпраці з відділом хімії нуклеозидів, нуклеотидів і нуклеїнових кислот ІМБГ продовжували вивчення біологічної дії похідних азотистих основ і їх аналогів. Вперше було виявлено (а спочатку синтезовано) синтетичний препарат — 5-урацил-тіоуреїдоглюкозу (тіацил), що приводив до диплоїдизації міксоплоїдних клітинних популяцій і зберігав (підтримував) диплоїдний стан у культивованих клітинах рослин. На нову речовину і її біологічну дію було отримано Авторське свідоцтво СРСР на винахід (А.с. SU № 1074098 А. МПК С07Н 5/06; А61К 31/70. 5-урацил-тіоуреїдоглюкоза, обладающая свойством регулировать число хромосом в культуре растительной ткани / Кунах В. А., Шаламай А. С., Кифорак О. В., Алексеева И. В., Чернецкий В. П. — Заявл. 01.02.82; Дата регистрации 15.10.1983. — Не подлежит опубликованию

в открытой печати). Результаты цитогенетического вивчення цього препарату опубліковано в статті (Кунах, Захленюк, 1984).

Окрім згаданих вище, синтезовано і вивчено й низку інших препаратів — похідних азотистих основ і їх аналогів як у культурі тканин рослин, так і на інтактних рослинах (Захленюк и др., 1986, 1986а; Захленюк, Кунах, 1987; Губарь, Шаламай и др., 1988). На основі результатів цих досліджень підготовлено і захищено перші в історії лабораторії кандидатські дисертації (мовою оригіналів): — 1. Захленюк Оксана Васильевна. «Изучение цитогенетических эффектов производных азотистых оснований и их аналогов в культуре тканей растений». 03.00.15 — генетика. Спецрада при Інституті молекулярної біології і генетики АН УРСР (1987). 2. Губарь Сергей Иванович. «Рострегулирующая активность производных и аналогов урацила». 03.00.12 — фізіологія рослин. Спецрада при Інституті фізіології рослин і генетики АН УРСР (1989). Науковим керівником обох дисертаційних робіт був канд. біол. наук В. А. Кунах.

Головним досягненням цих робіт було, на мою думку, встановлення наступних нових даних. Показано, що крім кінетину (6-фурфуриламінопурину) поліплоїдизацію культивованих тканин рослин можуть викликати кінетинрибозид і 6-бензиламінопурин (БАП), тоді як природні цитокініни — аденін і зеатин не виявляють подібного ефекту. 6-фуроїламіноіндазол, виявляючи цитокініноподібну дію на ріст тканин, не приводить до їх поліплоїдизації. За проведення комбінованої обробки рослинних тканин поліплоїдогеном (наприклад, колхіцином) і синтетичними цитокінінами (кінетин і 6-бензиламінопурин) для посилення ефекту поліплоїдизації вперше показано, що найефективнішим варіантом є післяобробка цитокініном колхіцинованих тканин. Також вперше встановлено, що нові синтезовані речовини тіацил, тіаглід і гліацидин підвищують частоту низькоплоїдних клітин у міксоплоїдних клітинних популяціях і у низці випадків приводять до значного накопичення диплоїдних клітин. При цьому дані сполуки стимулюють ріст цитокінінзалежних тканин. Встановлено, що всі вивчені сполуки не виявляють мутагенної дії. Аденін і, меншою мірою, 6-фуроїламіноіндазол, проявили антимутагенний ефект (Захленюк, 1987). Вивчення рістрегулювальної активності похідних і аналогів урацилу дозволило виявити сполуки, що регулюють

ріст рослин і які можуть бути використані для подальшого вивчення і використання. Показана можливість застосування урацилу і його похідного 5-N-гліцил-6-азаурацилу (гліацилу) для підвищення виходу індолінових алкалоїдів в культурі тканин раувольфії зміїної (Губарь, 1989).

На основі результатів подальшого вивчення біологічної дії похідних азотистих основ і їх аналогів було розроблено підходи до отримання штамів культури тканин рослин заданих рівнів плоідності, зокрема на прикладі цитогенетично стабільної міксоплоідної з триплоїдним модальним класом культури тканин раувольфії зміїної. Переведення на нижчий рівень плоідності, аж до гаплоїдного, досягалось вирощуванням тканини на середовищі з парафторфеніланіном, переведення на диплоїдний рівень — вирощуванням на середовищі з тіацилом, одержання поліплоїдної тканини досягається вирощуванням на середовищах з підвищеним вмістом кінетину. Відповідно до зміни плоідності, як правило, змінювався і рівень накопичення аймаліну (Кунах и др., 1983; Alkhimova et al., 1984; Kunakh, Alkhimova, 1989; Gubar et al., 1993; Кунах, 1994а).

У дослідах з горохом було отримано калюсні тканини і рослини-регенеранти у різних сортів і ліній з генетичними маркерами за всіма групами зчеплення. Вперше було підібрано умови, що індукували пагоневий органогенез у тривалокультивованій (до 3 років) культурі тканин гороху. Встановлено, що плоідність калюсних тканин гороху залежить від тканинної приналежності вихідного експланту і складу живильного середовища і мало залежить від сорту/лінії рослини. Здатність культивованих клітин до органогенезу визначається генотипом вихідної рослини і залежить від ступеню генетичних порушень, що виникли у процесі росту в ізольованих умовах. Важливим був також той вперше виявлений факт, що здатністю до органогенезу у гороху поряд з диплоїдними володіють також тетраплоїдні клітини. (Слід відмітити, що отримання поліплоїдів гороху іншими відомими методами до тих пір не увінчувалось успіхом). Ці дані було викладено у вітчизняних журналах (Кунах, Войтюк и др., 1984б; Кунах, Алхимова и др., 1984а), а також доповідались на Міжнародній конференції з біотехнології в Чехословаччині (Kunakh et al., 1984).

Державний комітет з науки і техніки при Раді Міністрів СРСР на конкурсних засадах за-

твердив на 1983-1985 рр. для лабораторії науково-дослідну тему «Получить линии культивируемых клеток раувольфии змеиной с повышенным на 60–80 % выходом противоаритмических алкалоидов для использования в медицинской промышленности», № державної реєстрації 10.83.0061268 (Постанова ДКНТ СРСР № 64 від 3.03.1983 р., розпорядження Президії АН УРСР № 656 від 14.04.1983 р.) з відповідним фінансуванням (у тому числі було надано фінансування під нові т.зв. «штатні одиниці»). Науковим керівником теми було призначено В. А. Кунаха. Виконання цієї теми дозволило збільшити штат новоствореної лабораторії до 16 співробітників, а також устаткувати лабораторію сучасними на той час приладами, придбати достатню кількість необхідних матеріалів та обладнання.

Отримані в лабораторії пріоритетні дані щодо шляхів регуляції хромосомної мінливості та виявлення залежності продуктивності культивованих клітин раувольфії зміїної від рівня плоідності дозволили вперше провести широкомасштабну клітинну селекцію на підвищений вміст аймаліну у біомасі культивованих клітин раувольфії зміїної з використанням різних селективних факторів. У результаті були створені нові клітинні штами-надпродуценти індолінових алкалоїдів, у тому числі з використанням екзогенних регуляторів росту і знайдених регуляторів хромосомної мінливості культивованих клітин (див. далі).

Вивчали також вплив на продуктивність культури тканин раувольфії умов вирощування — освітлення, температури, складу живильного середовища, перш за все вмісту цукру та різних регуляторів росту. На основі факторного аналізу розроблено математичну матрицю та проведено вивчення впливу різних комбінацій у різних концентраціях різних фітогормонів. У результаті було розроблено умови, за яких темп росту калюсу раувольфії зростав утричі, а також умови, в яких вміст аймаліну у сухій масі калюсної тканини сягав 19 %, що майже в 100 разів більше, ніж міститься аймаліну в природних коренях раувольфії зміїної (Kunakh, Alkhimova, 1989; Кунах, 1994а).

Співробітниками лабораторії було розроблено методику мікроколоночного хроматографічного аналізу алкалоїдів раувольфії, елеутерозидів елеутерококу колючого і гізенозидів женьшеню, проведено цитобіохімічний аналіз вмісту ДНК в ядрах, вивчено динаміку змін цього

вмісту та залежність біосинтезу аймаліну від вмісту ядерної ДНК в культивованих клітинах раувольфії, вивчено вміст нуклеїнових кислот і білків у різних клітинних штаммах раувольфії, розпочато порівняльне вивчення деяких аспектів первинного і вторинного метаболізму культивованих клітин раувольфії зміїної, зокрема, хроматографічний аналіз деяких ключових білків біосинтезу аймаліну. Проведено порівняльне вивчення інтактною рослини і отриманих штамів культивованих клітин раувольфії. Показано суттєву їх відмінність за вмістом сумарних ДНК, РНК, білків, ядерної ДНК, за гомологією ДНК і кількістю повторюваних послідовностей, за електрофоретичним спектром розчинних білків і естераз — ключових ферментів біосинтезу аймаліну, за спектром і вмістом алкалоїдів, а також за низкою морфологічних, цитологічних і цитогенетичних параметрів (Губарь и др., 1986, 1988а, 1990; Соловьян и др., 1986, 1987, 1990; Kupakh, Gubar et al., 1987). Значна частина результатів цієї роботи лягла в основу кандидатської дисертації О. Г. Алхімової «Генетическое и физиолого-биохимическое изучение высокопродуктивных штаммов культивируемых клеток *Rauwolfia serpentina* Benth.», яку вона захистила за спеціальністю 03.00.15 — генетика (Алхімова, 1990).

Спільно із співробітниками Інституту фізіології рослин ім. К. А. Тімірязєва АН СРСР, Ленінградського хіміко-фармацевтичного інституту та ВНДІ «Біотехнологія» Міністерства медичної промисловості СРСР було розпочато роботу і з культурами тканин багатьох інших цінних лікарських рослин. Вперше було отримано і вивчено автотрофну за ростовими речовинами культуру тканин рути запавної *Ruta graveolens* — над-продуцент рутакридону, якого накопичувалось у сухій біомасі до 2 % (Кузина и др., 1986; Кунах, 2005, розділ 18); отримано і проведено цитогенетичні та фізіолого-біохімічні дослідження культури тканин тропічної особливо цінної лікарської рослини полісціасу папоротелистого *Polyscias filicifolia* — тропічного представника родини аралієвих, проведено широке вивчення біологічних ефектів екстракту його біомаси, у тому числі і на ссавцях (Славинскене и др., 1986; Лекус и др., 1988, 1992; Машанаускас и др., 1990). У результаті було доведено, що отримано новий штам культури тканин полісціасу папоротелистого, екстракти з біомаси якого володіють протистресовою, імунomodуючою і загальностимулюючою дією і який значно пере-

важає за цими параметрами культуру тканин женьшеню. Штам було передано у Всесоюзну колекцію клітинних культур (м. Москва), а пізніше на нього було отримано авторське свідоцтво на винахід (А.с. 1396601. Штамм культивуваних кліток полісціасу папоротелистого *Polyscias filicifolia* (Moore et Fournier) Bailey, используемый для получения тритерпеновых гликозидов (Михайлова Н. В., Слепян Л. И., Кунах В. А., Войтюк Л. И., Мясоедов Н. А., Зориняц С. Э. — Заявл. 19.06.1986; дата регистрации 15.01.1988). На основі цього штаму у Литві, Росії і в Україні було налагоджено промислове виробництво біомаси полісціасу, що використовувалась у виробництві харчових добавок, косметичних засобів тощо (Кунах, 2005, розділ 15).

Результатом спільної роботи із ВНДІ «Біотехнологія» стало створення промислового штаму PP-1 культури тканин родіоли рожевої *Rhodiola rosea* L., авторами якого є від ВНДІ «Біотехнологія» І. В. Александрова та А. Н. Даниліна і від ІМБГ О. І. Свідченко та В. А. Кунах. Штам депоновано у Всесоюзну колекцію культивованих клітин вищих рослин (ВСКК-ВР) в Інституті фізіології рослин ім. К. А. Тімірязєва АН СРСР, м. Москва, у 1988 р. під назвою «Штам ЗК-1», колекційний номер ВСКК-ВР-29. Згодом в ІМБГ методом тривалої клітинної селекції і підтримуючого добору від штаму PP-1 було отримано більш продуктивний штам Rh, який характеризується вирівняним гомогенним ростом, накопичує близько 0,4 % салідрозиду в сухій біомасі, вихід якої становить 10–12 г/л середовища за 20–24 доби росту. Автори цього штаму — В. А. Кунах, В. І. Адонін, О. Г. Алхімова. Штами PP-1 і Rh культури тканин родіоли рожевої слугували сировиною для отримання у промислових масштабах настойки та екстракту, які достатньо широко застосовувались в СРСР у парфумерній і косметичній промисловості, а також як харчові добавки. Біомаса даних штамів характеризувалась широким спектром біологічної дії, подібної до препаратів із нативних кореневих і коренів (деталі і посилання див. Кунах, 2005, розділ 16). За впровадження цієї розробки ІМБГ отримав певні кошти від промислових підприємств (див. далі). Деякі з цих підприємств успішно працюють і нині, у тому числі й в Україні.

Слід підкреслити, що дослідження з культурами тканин і клітин різних видів цінних лікарських рослин ми, співробітники лабораторії генетики клітинних популяцій, проводили у ці роки

і практично до 1993 р. включно у рамках Постанови ЦК КПРС і Ради Міністрів СРСР № 807 від 25 серпня 1985 р. (2 завдання), їх було включено у Єдиний п'ятирічний план проведення досліджень, розробок і дослідних робіт МНТК «Біоген» Академії наук СРСР і Мінмедбіопрому СРСР на 1986–1990 рр. (2 завдання) і в план робіт Республіканської науково-технічної програми «Біотехнологія» (3 завдання на 1986–1990 роки). Наукові звіти за результатами роботи щорічно доповідались на нарадах в МНТК «Біоген» (м. Москва, Росія). За результатами цих робіт отримано 9 авторських свідоцтв на винаходи, розробки демонструвались на багатьох закордонних, Міжнародних і Всесоюзних виставках, нагороджені 1 срібною і 8 бронзовими медалями ВДНГ СРСР, а також грошовими преміями.

26 квітня 1986 р. сталася аварія на Чорнобильській АЕС. Одним із негативних чинників, створених аварією, було радіоактивне забруднення довкілля. Працюючи з рослинами-адаптогенами, співробітники лабораторії не могли не намагатися знайти шляхи зменшення негативних ефектів цього опромінення. У результаті терміново проведених спільних досліджень із співробітниками Київського медичного інституту ім. О. О. Богомольця та Наукової ради з комплексної проблеми «Кібернетика» АН СРСР (м. Москва, Росія) було розроблено та впроваджено рекомендації по застосуванню екстракту елеутерококу для профілактики негативної дії наслідків Чорнобильської аварії (Баренбойм і др., 1987). Паралельно, співробітником лабораторії С. І. Губарем сумісно з московським біофізиком Г. М. Баренбоймом було розроблено нові, досить прості методи кількісного визначення глікозидів елеутерококу (елеутерозидів), які передано заводу «Лубнихімфарм» у середині 1987 р. для контролю за якістю лікарської форми «екстракт елеутерококка жидкий».

Було також розширено роботи з культурами тканин рослин-адаптогенів, введено в культуру *in vitro* елеутерокок колючий *Eleutherococcus senticosus*, аралію манджурську *Aralia mandzhurica*, женьшень справжній *Panax ginseng* (Войтюк і др., 1988, 1988а; Губарь і др., 1991, 1992, 1993, 1993а, 1993б; Гулько і др., 1992), розпочато роботи з різними високопродуктивними сортами і клонами чаю *Thea chinensis* (Вечернина і др., 1989), а пізніше — й з іншими видами лікарських рослин (див. далі).

Найвидатнішим практичним досягненням цього і наступного періоду, на мою думку, було впровадження, розпочинаючи з 1985 р., на заводі «Здоровье трудящимся» Харківського хіміко-фармацевтичного об'єднання «Здоровье» першої у світі технології отримання протиаритмічного алкалоїду аймаліну із біомаси культивованих клітин раувольфії зміїної. Технологію (спочатку дослідно-промисловий, а потім і промисловий регламент) було розроблено у 1985–1990 рр. співробітниками лабораторії генетики клітинних популяцій ІМБГ і співробітниками лабораторії культури тканин рослин Ленінградського хіміко-фармацевтичного інституту спільно із працівниками ЦЗЛ Харківського хіміко-фармацевтичного заводу «Здоровье трудящимся». Технологія ґрунтувалась на використанні двох унікальних клітинних штамів-надпродуктів аймаліну — К-20 та К-27. На ці штами та способи їх одержання отримано низку авторських свідоцтв та патентів зокрема, А.с. SU №1176599 А. МПК С12N 5/00. Штамм *Rauwolfia* К-20, используемый в качестве продуцента аймалина / Николаева Л. А., Кунах В. А., Алпатова Л. К., Алхимова Е. Г., Свидченко А. И., Волосович А. Г. — Заявл. 23.03.84; Дата регистрации 01.05.1985. — Не подлежит опубликованию в открытой печати; А.с. SU №1336563 А1. МПК С12N 5/00. Штамм *Rauwolfia serpentina* Benth., используемый для получения аймалина / Кунах В. А., Каухова И. Е., Алпатова Л. К., Костенюк И. А., Волосович А. Г. — Заявл. 17.12.84; Дата регистрации 08.05.1987. — Для служебного пользования). Отримані штами депоновано у Всесоюзній колекції клітинних культур рослин (ВСКК-ВР, Москва, ИФРГ АН СССР).

Штами накопичували у промислових умовах близько 1–1,2 % аймаліну у сухій біомасі. Це у 5–10 разів перевищувало вміст аймаліну у природній сировині – корі коренів рослин раувольфії зміїної, вирощених у тропіках. (Як відмічено вище, у лабораторних умовах вміст аймаліну в біомасі в окремих випадках перевищував 15 %!). Слід підкреслити, що отримані в лабораторії клітинні штами раувольфії є досить технологічними — вони гормонезалежні (автотрофні за фітогормонами), живильне середовище для їх вирощування досить просте за складом і готується із простих реактивів класу кваліфікації «ч.д.а.», а то й «ч.», джерелом органічного живлення у середовищі є харчовий цукор і т. д. (див. Кунах, 2005, розділ 10).

У середині 1980-х рр. у лабораторії генетики клітинних популяцій було розпочато порівняльні молекулярно-генетичні дослідження геному інтактних рослин і отриманих від них калюсних тканин, а також вивчення молекулярно-генетичних змін, що відбуваються у процесі отримання калюсних тканин, перш за все за дедиференціації клітин, та за їх тривалого вирощування в умовах ізольованої культури, у процесі адаптації до цих умов. Вперше було проведено порівняльне вивчення повторюваних послідовностей ДНК в інтактній рослині та культивованих клітинах раувольфії зміїної та крепісу, проведено порівняльне вивчення продуктивності клітинних штамів та геномної мінливості на молекулярному і хромосомному рівнях (Соловьян и др., 1986, 1987, 1989, 1990; Kunaх et al., 1987). У подальшому молекулярно-генетичні, молекулярно-біологічні і молекулярно-цитогенетичні дослідження, започатковані в лабораторії генетики клітинних популяцій, поглиблювались і поширювались в однойменному відділі, створеному у 1988 р. на базі лабораторії.

Створення в ІМБГ відділу генетики клітинних популяцій і подальша розробка основ клітинної біотехнології лікарських рослин наприкінці 1980-х – у 1990-х рр. Розробка і впровадження у промислове виробництво нових клітинних штамів лікарських рослин.

У період 1987–1995 рр., спочатку в лабораторії, а з 1989 р. — у відділі генетики клітинних популяцій продовжували подальшу розробку генетичних і фізіолого-біохімічних основ клітинної біотехнології лікарських рослин і фітопрепаратів, а також проводили дослідження у рамках наукової проблеми «Організація геному, механізм функціонування», затвердженої Академією наук СРСР на період 1985–2000 рр.

Дослідження у ці роки проводили в рамках бюджетної теми «Вивчення особливостей генетичної мінливості культивованих клітин деяких лікарських рослин» (№ державної реєстрації 01.87.0041933), затвердженої для лабораторії на період 1987–1990 рр. та теми «Вивчення структурно-функціональної мінливості геному в культурі *in vitro* на прикладі модельних і деяких лікарських рослин» (№ державної реєстрації 01.91.0002585), затвердженої для новоствореного відділу генетики клітинних популяцій ІМБГ на період 1991–1995 рр. У 1991–1995 рр. проводили також дослідження за темою «Вивчити особливості мінливості структури і функціонування геному культивованих клітин де-

яких рослин» згідно плану робіт МНТК «Біотехнологія» (№ держреєстрації 0195U019273).

Як уже відмічалось вище, восени 1988 р. було прийнято постанову Президії АН УРСР про створення в ІМБГ наукового відділу генетики клітинних популяцій, і з квітня 1989 р. відділ почав повноцінне функціонування. У квітні того ж 1989 р. захистив дисертацію на здобуття вченого ступеня доктора біологічних наук «Мінливість та добір у популяціях культивованих клітин рослин» за спеціальністю «генетика» у спеціалізованій вченій раді при Інституті цитології і генетики Сибірського відділення АН СРСР (м. Новосибірськ, Росія).

У новоствореному відділі генетики клітинних популяцій продовжували вивчати особливості перебігу процесів геномної мінливості та добору в клітинних популяціях, як основи адаптації до змінних умов існування як у культурі *in vitro*, так і в природі, тобто в інтактних організмах, що зростають переважно в екстремальних умовах. Було проведено порівняльні цитогенетичні дослідження і дослідження на рівні окремих послідовностей ДНК, а також вивчали можливий зв'язок цих змін з продуктивністю і накопиченням вторинних метаболітів у культурах тканин низки видів лікарських і модельних рослин.

Було розширено спектр рослин, на культурах тканин яких проводили такі дослідження. Окрім раувольфії зміїної до роботи були залучені й інші види роду Раувольфія, а саме *R. vomitoria*, *R. verticillata*, *R. chinensis*, *R. cafra*, а також женьшень справжній *Panax ginseng*, полісціас папоротелистий *Polyscias filicifolia*, елеутерокок колючий *Eleutherococcus senticosus*, аралія манджурська *Aralia mandzhurica*, родіола рожева (золотий корінь) *Rhodiola rosea*, макротомія (арнебія) барвна *Arnebia euchroma*, угернія Віктора *Ungernia victoris*, мак приквітниковий *Papaver bracteatum* та деякі інші види рослин (див. Кунах, 2005, спеціальна частина).

На цих об'єктах вивчали дію різних екзогенних чинників, зокрема складових живильного середовища, на біосинтез вторинних метаболітів у культурі тканин. На прикладі культури тканин різних видів рослин було встановлено ключову роль фітогормонів у біосинтезі цільових біологічно активних речовин. Підібрано умови (зокрема, комбінації фітогормонів у живильному середовищі), за допомогою яких регулювали кількість, спектр і співвідношення цільових речовин. Таким чином вперше було індуковано синтез морфінових алкалоїдів у культурі тканин маку приквітникового (Алхимова и др., 1992;

Костенюк и др., 1993; Alkhimova et al., 1993; див. також: Кунах, 2005, розділ 12 та огляди: Кунах, Кацан, 2003, 2004), розроблено умови регуляції кількості і спектру гінзенозидів у культурі тканин женьшеню справжнього (Губарь, Гулько, Кунах, 1992а, 1997), створено кілька унікальних клітинних ліній і штамів культури тканин раувольфії зміїної — монопродуцентів аймаліну, один з яких у певних спеціально підібраних умовах накопичував (синтезував) лише індоліновий алкалоїд аймалін, кількість якого становила понад 15 % у перерахунку на суху біомасу, та в незначній кількості деякі його алкалоїдопопередники (Kunakh, Alkhimova, 1989; Кунах, 1994а; Кунах, 2005, розділ 10).

Проведено всесторонній аналіз отриманих культур тканин і клітин маку приквітникового, макротомії барвної, рути запашної, елеутерококку колючого, родіюли рожевої, полісціасу папоротелистого, женьшеню справжнього та ін., а також проведено клітинну селекцію з метою отримання нових клітинних ліній і штамів-продуцентів. Методами хімічного мутагенезу, клонової селекції, клітинної негативної та позитивної селекції на спеціально розроблених селективних середовищах із застосуванням певних селективних чинників, селекції за ознаками «темпу росту» та «накопичення цільового продукту», підтримуючого добору одержано нові продуктивніші клітинні лінії та штами калюсних тканин та суспензійних культур низки лікарських рослин. Крім уже згаданих штамів раувольфії зміїної — монопродуцентів аймаліну, було отримано клітинні штами елеутерококку колючого *E. senticosus*, що накопичують елеутерозиди, властиві інтактній рослині (Губарь и др., 1991, 1992, 1993; Гулько и др., 1992; див. також Патент СССР № 1792356. Способ получения биологически активных веществ элеутерококка колючего *Eleutherococcus senticosus* Rupr et Maxim / Кунах В. А., Гулько Т. П., Губарь С. И., Войтюк Л. И. — Оpubл. 30.01.93, бюллетень № 4; див. також: Кунах, 2005, розділ 14); маку приквітникового *P. bracteatum*, що накопичують низку медичних алкалоїдів, у тому числі морфінний алкалоїд тебаїн (Алхимова и др., 1992; Костенюк и др., 1993; Alkhimova et al., 1993; див. також: Кунах, 2005, розділ 12 та огляди: Кунах, Кацан, 2003, 2004); арнебії барвної *A. euchroma*, що накопичують шиконін (Zakhlenjuk et al., 1993; див. також: Кунах, 2005, розділ 11) тощо.

Одержано нові високопродуктивні штами калюсних тканин женьшеню, на прикладі яких пізні-

ше показано можливість регуляції синтезу глікозидів в них екзогенними фітогормонами. Зокрема, за тривалого вирощування тканин на живильних середовищах з різним вмістом ауксинів і цитокінінів можна одержати тканини, що містять спектр гінзенозидів, який властивий кореню, стеблу або листку інтактної рослини (Губарь, Гулько, Кунах, 1997; Кунах, 2005, розділ 13).

Як згадувалось вище, було одержано клітинний штам тропічного представника аралієвих полісціасу папоротелистого *P. filicifolia*. Штам було передано у Всесоюзну колекцію клітинних культур (м. Москва), а пізніше на нього було отримано авторське свідоцтво на винахід (А. с. № 1396601. Штамм культивируемых клеток полисциаса папоротниколистого *Polyscias filicifolia* (Moore et Forni?er) Bailey, используемый для получения тритерпеновых гликозидов / Михайлова Н. В., Слепьян Л. И., Кунах В. А., Войтюк Л. И., Мясодев Н. А., Зориняц С. Э. — Заявл. 19.06.1986; дата регистрации 15.01.1988). Спільно із співробітниками Каунаського медичного інституту (Литва) продовжували вивчення біологічних ефектів біомаси культивованих клітин даного штамму на свавцях, зокрема, вивчили вплив біомаси на активність компонентів білоксинтезувальної системи печінки та серця кролів. Було встановлено, що біомаса цього штамму суттєво впливає на процеси біосинтезу білка, модифікуючи експериментальний інфаркт міокарда (Лекус и др., 1988, а також — А. с. СССР № 1690772. Способ перфузии изолированного сердца в эксперименте / Кашауска А. П., Тамулявичус А.-А. Й., Кунах В. А., Лукошявичус Л. Ю., Прашкявичус А. К. — Заявл. 30.06.1989; дата регистрации 15.07.1991). Спільно з Київським НДІ ендокринології і обміну речовин МОЗ УРСР у 1989 р. виконано дослідження, у результаті якого на лабораторних тваринах було встановлено, що культуральна маса *Polyscias filicifolia*, введена *per os*, посилює актопротекторні властивості організму, тобто володіє адаптогенними властивостями за стресу, сприяє підтриманню гомеостазу біогених амінів і виявляє інтерферон-стимулювальну дію (Отчет Киевского НИИ эндокринологии и обмена веществ Министерства здравоохранения УССР о выполнении хозяйственной темы №7 «Проведение исследований по изучению биологической активности культуральной массы *Polyscias filicifolia* и исследование возможности создания пероральной лекарственной формы с целью внедрения в качестве нового фармпрепарата» от 26 декабря 1989 г.). Це дало

підставу рекомендувати використання біомаси цього штаму як антистресового засобу.

Отриманий і охарактеризований клітинний штам полісціасу папоротелистого *P. filicifolia* привернув увагу виробників. На основі цього штаму у Литві, Росії і в Україні було налагоджено промислове виробництво біомаси полісціасу, що використовувалась у виробництві харчових добавок і косметичних засобів як джерело біологічно активних речовин широкого спектру дії, найважливішою серед яких є імуномодулювальна дія (Кунах, 2005, розділ 15).

У результаті подальших досліджень цієї й інших культур продуктивність культури тканин окремих видів рослин було підвищено у 2–4 рази. Було розширено і поглиблено роботи з розробки промислових і дослідно-промислових регламентів на отримання біологічно активних речовин із біомаси нових штамів культивованих клітин рослин. Наприклад, було розпочато спільні дослідження УкрНДІ спирту та біотехнології харчових продуктів за Програмою науково-технічних робіт за темою 3.10/12 «Розробити біотехнологічні основи вирощування клітинної культури макротомії барвлячої — продуцента харчового природного барвника» на 1993–1996 рр., затвердженою ДКНТ України. Деякі із клітинних штамів різних видів рослин і регламенти на їх вирощування передано у промисловість. Саме у цей період (1987–1995 рр.) співробітниками відділу зроблено найбільше впроваджень у реальний сектор економіки — на цілу низку великих і малих підприємств України, Росії, Казахстану було передано високопродуктивні клітинні штами різних лікарських рослин та способи їх вирощування. За ці впровадження розробок ІМБГ отримав реальні кошти у сумі, що перевищувала 500 000 доларів США за тодішнім курсом карбованця (див.: Кунах Віктор Анатолійович. Біобібліографічний покажчик... — Тернопіль: Підручники і посібники, 2017, розділ «Впровадження наукових розробок»). Слід підкреслити, що гроші було зароблено у часи найскрутнішого фінансового стану в Україні, і в інституті зокрема, і практично всі вони пішли на виплату заробітної плати співробітникам інституту.

У 1992 р. в ІМБГ наказом директора інституту було створено власну Колекцію клітинних культур вищих рослин (ККК ІМБГ НАНУ). Науковим керівником Колекції призначено В. А. Кунаха, а відповідальним за Колекцію — Л. П. Можилевську. Ця колекція і на сьогодні виконує функції зберігання та паспортизації клітинних штамів рослин — продуцентів біологічно актив-

них речовин, штамів модельних рослин, а також функції бібліотеки генів особливо цінних рослин. За роки існування ККК ІМБГ розроблено вимоги до паспорту штаму, форми інших документів, умови підтримки штамів у пасивованій культурі, прийнято на зберігання 14 запатентованих клітинних штамів — продуцентів біологічно активних речовин тощо.

Продовжувались роботи з вивчення впливу екзогенних регуляторів росту та деяких стресових факторів, зокрема іонів алюмінію на продуктивність культивованих клітин арнебії барвної *Arnebia euchroma* — джерело цінного нафтохінонового барвника шиконіну (Кунах, 2005, розділ 11). У ці роки виявлено глікозиди женьшеню, синтез яких є ауксинзалежним, цитокінінзалежним, або й гормонезалежним (Губарь, Гулько, Кунах, 1997). Проведено також детальне цитологічне та біохімічне вивчення нових високопродуктивних штамів раувольфії зміїної (2 штами) та арнебії барвної. Складено паспорти на вказані штами, проведено депонування штамів у ККК ІМБГ НАНУ, на кілька з них було отримано патенти (див.: Кунах, 2005).

Спільно із співробітниками ВНПО чаю і субтропічних культур (Анасеулі, Грузія) розпочато роботу з культурою тканин чайної рослини *Thea chinensis* та мікроклонального розмноження рідкісних і цінних форм цієї рослини. Для низки сортів чаю грузинської селекції розроблено способи мікроклонального розмноження з пазушних бруньок та підібрано умови масового ембріогенезу з калюсних тканин, одержаних із сім'ядолей недозрілих насінин (Вечернина і др., 1989; а також А.с. SU №1621825 А1. МПК А01Н4/00. Способу получения растений-регенерантов чая / Вечернина Н. А., Кутубидзе В. В., Таварджиладзе О. К., Кунах В. А. — Заявл. 31.05.1988; дата регистрации 22.09.1990). Роботу з чайною рослиною було завершено кандидатською дисертацією Н. А. Вечерніної (Вечернина, 1993), а після залучення до роботи й низки інших видів рослин і їхнього поглибленого вивчення — докторською дисертацією (Вечернина, 2006). Науковим керівником і науковим консультантом цих дисертацій був В. А. Кунах.

Так само спільно із співробітниками ВНПО чаю і субтропічних культур було розпочато і завершено роботу з отримання важливих для промислового виробництва соматоклональних варіантів різних видів актинідії — диплоїдного виду *Actinidia chinensis* і гексаплоїдного *A. deliciosa*. Вперше було підібрано умови мік-

роклонального розмноження представників обох видів шляхом індукції стеблового морфогенезу з калюсних тканин листового походження (Зарнадзе и др., 1993; Зарнадзе, Кунах, 1994). Цю роботу завершено кандидатською дисертацією Н. Ж. Зарнадзе, керівником якої був В. А. Кунах (Зарнадзе, 1994).

Проводили також поглиблене вивчення культури тканин раувольфії зміїної, а згодом й інших видів раувольфії. (Попередній етап завершився у середині 1980-х рр. впровадженням технології отримання аймаліну у промисловість, а також кандидатською дисертацією О. Г. Алхімової (Алхімова, 1990)). Для різних видів раувольфії, а саме *Rauwolfia serpentina*, *R. verticillata*, *R. canescens*, *R. vomitoria*, *R. chinensis*, *R. caffra* я особисто розробив спосіб мікроклонального розмноження з пазушних бруньок з одночасним їх оздоровленням від фітопатогенних мікроорганізмів (Патент ССРСР № 1808011. Спосіб мікроклонального розмноження раувольфії / Кунах В. А. — Опубл. 07.04.93, бюллетень № 13), що дало можливість мати інтактні рослини у необхідній кількості для проведення різнопланових досліджень раувольфії як у культурі тканин, так і з інтактними рослинами.

Методами рестрикційного аналізу, дот-блот-гібридизації зі специфічними маркерами встановлено, що в культивованих клітинах раувольфії зміїної відбуваються значні перебудови геному, які за масштабністю перевищують міжвидові відмінності. Вони виявляються в ампліфікації/зменшенні копійності послідовностей, зміні місцезнаходження сайтів упізнання деяких рестриктаз (що свідчить про макромутації, делеції або вставки), зміні характеру метилювання. Встановлені зміни мають не випадковий характер: в умовах *in vitro* перебудовуються перш за все ті послідовності, які зумовлюють міжвидові відмінності (Солов'ян и др., 1986, 1987, 1990, 1994, 1994а, 1994б; Спірідонова та ін., 2000, 2001; Andreev et al., 2005). Тобто, вперше на прикладі вивчення молекулярно-генетичних особливостей різних видів раувольфії у природі та в культурі *in vitro* встановлено каналізований характер змін геному в популяціях культивованих клітин. Виявлено паралелізм природної (популяційної) гетерогенності геному рослин, що виникла у процесі еволюції в природі, і мінливості геному, що відбувається у процесі адаптації клітинних популяцій до тривалого росту в умовах *in vitro* (Солов'ян и др., 1986, 1987, 1990, 1994, 1994а, 1994б; Спірідонова та

ін., 2000, 2001; Kunakh et al., 1987; Andreev et al., 2005). Отримані дані лягли в основу кандидатських дисертацій В. Т. Солов'яна «Изучение геномной изменчивости в культивируемых клетках скерды и раувольфии» за спеціальністю 03.00.15 — генетика (Солов'ян, 1991) та К. В. Спірідонової «Вивчення особливостей геномної мінливості культивованих клітин раувольфії зміїної *Rauwolfia serpentina* Benth.» за спеціальністю 03.00.15 — генетика (Спірідонова, 2000).

Проаналізувавши ці та інші, отримані перш за все у відділі генетики клітинних популяцій експериментальні дані, я висунув положення про те, що принаймні деякі геномні зміни в культивованих клітинах відбуваються згідно закону гомологічних рядів спадкової мінливості М. І. Вавилова (Кунах, 2000, 2001, 2004).

У результаті проведених досліджень на прикладі крєпису *C. capillaris* (О. К. Губар) і часнику *Allium sativum* (О. В. Захленюк) вперше показано, що в культивованих клітинах істотно змінюються не тільки число хромосом, їхня морфологія, але й ядрця і ядерцеві організатори хромосом. Також, методом С-бендінгу вперше показано суттєву зміну кількості і рисунку розподілу конститутивного гетерохроматину у хромосомах крєпису. Спільне з В. Т. Солов'яном вивчення варіабельності послідовностей ДНК у раувольфії зміїної і крєпису показало, що геном тривало культивованих неорганізовано зростаючих калюсних тканин зазнає значних змін, що виявляються у збільшенні загальної частки повторюваних послідовностей. В організмі (ризогенних) калюсних штамів крєпису мало змінювалися молекулярні характеристики геному у порівнянні з вихідною рослиною, залишалися без змін число і морфологія хромосом, проте відбувалися зміни рисунку С-бендів у хромосомах (Губарь Е., Кунах, 1988, 1992; Солов'ян и др., 1989, 1990).

Губар О. К. (Савченко) продовжувала вивчення хромосомної мінливості культивованих клітин різних ліній кукурудзи *Zea mays* та генотипів скереди волосистої *C. capillaris* з використанням С-методу диференційного забарвлення хромосом. На прикладі кукурудзи встановила залежність здатності до росту в ізолюваній культурі і рівня хромосомної мінливості від кількості гетерохроматину і його розподілу у хромосомах. Вперше проведено С-бендінг хромосом обох видів і виявлено особливості його змін у процесі адаптації клітин до умов ізолюваного росту (Савченко,

Кунах, 1986; Савченко и др., 1986; Губарь Е. К., Кунах, 1992; Gubar E. K., Kunakh, 1994). Зокрема, встановлено, що у крeпiса в рiзних хромосомах набору по рiзному змiнюється кiлькiсть i розподiл С-бендiв (конститутивного гетерохроматину) в процесi адаптацiї клiтин до умов росту *in vitro*. На основi цих даних О. К. Губар було пiдготовлено i захищено кандидатську дисертацiю (Губар, 1992).

У вiддiлi вивчали також надмолекулярну структуру ядерного геному (хроматину) методом гель-електрофорезу у пульсуючому електричному полi з використанням сконструйованого I. О. Андреевим приладу для iмпульсного електрофорезу. У дослiдах вперше виявлено упорядковану фрагментацiю iнтактної ядерної ДНК на фрагменти розмiром 50 i 300 т.п.о., якi, очевидно, вiдображують рiзні рiвнi структурної органiзацiї хроматину (Соловьян, Кунах, 1990, 1991; Соловьян и др., 1991, 1993, 1993а; Solov'yan et al., 1997). У подальшому було виявлено значнi перетворення вищих рiвнiв структурної органiзацiї хроматину у функцiонально рiзних тканинах рослин (Андреев и др., 2001, 2001а, 2004). Значна частина результатiв дослiджень особливостей крупноблокової фрагментацiї ДНК в препаратах клiтинних ядер лягла в основу кандидатської дисертацiї I. О. Андреева (Андреев, 1997), а пiзніше була опублiкована у пiдсумковiй статтi (Andreev et al., 2006).

У 1994 р. у журналі «Биополимеры и клетка» (нині — журнал «Biopolymers and Cell») я розпочав друкувати цикл великих наукових оглядiв на основi як власних результатiв дослiджень, так i лiтературних даних пiд загальною назвою «Геномна мiнливiсть соматичних клiтин рослин». Усього протягом 1994–2002 рр. вийшло 7 таких оглядiв (Кунах, 1994, 1995, 1997, 1998, 1999, 2000, 2002). У подальшому цi огляди лягли в основу монографiї: В. А. Кунах «Бiотехнологiя лiкарських рослин. Генетичнi та фiзіолого-бiохiмiчнi основи» (Київ, Логос, 2005 р.).

13 квітня 1994 р. на засiданнi Президiї НАН України було заслухано та обговорено мою наукову доповідь «Клiтинна бiотехнологiя лiкарських рослин i фiтопрепаратiв». Доповiдь було схвалено, створення Колекцiї клiтинних культур на базi IМБГ НАН України схвалено, основними напрямками у цiй галузi в IМБГ НАН України було визначено:

— порiвняльне вивчення структурно-функцiональної мiнливостi геному в популяцiях культивованих клiтин з їх природною мiнливiстю;

— створення клiтинних культур лiкарських рослин-продуцентiв фiзіологiчно активних речовин для бiотехнологiчних виробництв (Постанова Президiї НАН України № 93 вiд 13.04.94).

На перiод 1996–2000 рр. для вiддiлу генетики клiтинних популяцiй було затверджено для виконання науково-дослiдну тему «Вивчення особливостей мiнливостi рослинного геному в культурi iн вітро та пошук шляхiв її регуляцiї», № держ. реєстрацiї 0196U005249. У процесi виконання даної теми було детальнiше дослiджено явище розщеплення ядерної ДНК на високомолекулярнi фрагменти, що спостерiгаються при фракцiонуваннi iмпульсним гель-електрофорезом ядер евкарiотiв, оброблених додецилсульфатом натрiю. Встановлено зв'язок високомолекулярних фрагментiв ДНК з петлевими доменами хроматину — одиницями вищих рiвнiв структурної органiзацiї ядерної ДНК, а також участь у процесi розщеплення асоцiюваної з ядерним матриксом (бiлковими скелетними структурами ядра) ДНК-топоiзомерази II. Пiдтверджено придатнiсть розробленого пiдходу для вивчення структурної органiзацiї ДНК у складi хроматину на вищих рiвнях його упаковки в клiтинному ядрi (Андреев, 1997; Андреев и др., 2000, 2001; Андреев та iн., 2001; Solov'yan et al., 1997).

Методами пiдтримуючого добору, клонування, ступiнчастої селекцiї, оптимiзацiї умов вирощування створено новi, продуктивнiшi клiтиннi культури рiзних видiв лiкарських рослин. Зокрема, використовуючи ступiнчасту селекцiю i застосовуючи пiдтримуючий добiр за ознаками «вмiст iндолинових алкалоiдiв» i «темперостi» отримано варiант калюсної культури тканин раувольфiї змiнної, стiйкий до дози 180 мг/л 5-метилтриптофану (Кунах, 1991; Кунах, Алпатова, 1991; Кунах и др., 1991, 1991а; Алпатова, Кунах, 1992). У процесi подальшого добору на середовищi без селективного тиску на основi стiйкого варiанту отримано новий високопродуктивний штам М калюсної культури раувольфiї. За вирощування на спецiальному живильному середовищi штам М накопичував переважно один алкалоiд аймалiн, вмiст якого у сухiй бiомасi сумi досягав 3,6 %, а в сумi всiх накопичуваних алкалоiдiв становив понад 50 %. Шляхом тривалої селекцiї отримано також рiзнi варiанти суспензiйної культури раувольфiї. З найпродуктивнiшої суспензiї видiлили i вивчили низку клiтинних клонiв. На основi одного з них створено високопродуктивний гормонезалежний штам

R-31 суспензійної культури раувольфії зміїної. Цикл його вирощування більш ніж у 2 рази коротший, ніж вихідної калюсної культури (28–32 і 65–75 днів відповідно), вміст аймаліну в сухій біомасі становив 0,9–1,1 %, швидкість накопичення аймаліну була вдвічі вищою, ніж у вихідній калюсній культурі (3,7–4,6 і 1,9–2,0 мг/л середовища за добу відповідно). Результати цих багаторічних досліджень опубліковано в узагальнюючих статтях, що вийшли друком у журналі «Биотехнология» (Москва) (Кунах, Можилевская и др., 2001, 2001а).

Продовжувались роботи з отримання клітинних штамів — продуцентів цінного нафтохінонового барвника шиконіну (Кунах, Поронник и др., 1999; Поронник и др., 1999, 2000; Кунах, Поронник, 2000; Zakhlenjuk et al., 1993). Зокрема, методами клітинної селекції отримано новий високопродуктивний штам АЕ-3 культивованих клітин арнебії барвної. Він накопичував до 8 % шиконіну у сухій тканині або 1,12 г/л живильного середовища за 14 днів при глибинному вирощуванні і до 15 % шиконіну в сухій тканині за поверхневого вирощування. Загальна продуктивність калюсу за шиконіном складала від 0,7 до 1,5 г/л середовища за добу 50–107 мг шиконіну з 1 л середовища за добу.

Проведено детальний цитологічний, генетико-статистичний та біохімічний аналіз штаму АЕ-3 та інших отриманих штамів калюсних і суспензійних культур арнебії барвної та раувольфії зміїної. Визначено долю спадкової гетерогенності (значення коефіцієнта успадкованості h^2) у мінливості ознак продуктивності та особливості формування популяцій, одержаних від окремих клітин при клонуванні, роль «ефекту засновника» у формуванні генетичної структури клонової популяції та в експресії деяких ознак, що визначають продуктивність та рентабельність клітинних штамів. Отримані результати досліджень частково опубліковано у вигляді розділів у серії спеціалізованих монографій видавництва Springer-Verlag (Kunakh, 1996; Zakhlenjuk, Kunakh, 1998).

Пізніше на основі результатів поглибленого вивчення штаму АЕ-3 культивованих клітин арнебії барвної основним виконавцем цих досліджень О. О. Поронник було підготовлено і захищено кандидатську дисертацію (Поронник, 2001).

У 1996 р. наказом директора ІМБГ НАН України академіка Мацуки Г. Х. із відділу генетичної інженерії до складу відділу генетики клітинних популяцій з метою посилення генетич-

них досліджень було переведено групу генетики мікроорганізмів у складі 5 співробітників, зокрема кандидатів біол. наук Т. П. Перерви і Н. Ю. Мірюти, інженера Г. Ю. Мірюти та двох осіб обслуговуючого персоналу. Співробітники цієї групи активно включились до досліджень відділу, зокрема до вивчення переважно на прокариотних моделях біологічних ефектів екстрактів із біомаси культури тканин лікарських рослин. Зокрема, у 1997 р. спільно з ученими — представниками медичної науки, яких очолював доктор мед. наук, професор І.Р. Барилляк, було розпочате вивчення антимуутагенної, радіопротекторної та протипухлинної дії рослинних препаратів, отриманих із біомаси культивованих клітин низки лікарських рослин. Встановлено, що водноспиртові (40 % та 20 %) екстракти із культивованих клітин женьшеню справжнього, родіоли рожевої, полісціасу папоротелистого та угернії Віктора у тесті Еймса не виявили генотоксичних властивостей, але показали антимуутагенну дію, вираженість якої залежала від конкретного мутагену та штаму сальмонели (Дворник та ін., 1999; Дуган та ін., 1999). Показано можливість використання системи *Escherichia coli* — бактеріофаг λ для вивчення впливу рослинних препаратів на рівень індукованих мутацій. У цілому ж встановлено, що водноспиртові екстракти біомаси культивованих клітин таких лікарських рослин, як женьшень справжній *Panax ginseng*, полісціас папоротелистий *Polyscias filicifolia*, родіола рожева *Rhodiola rosea* та угернія Віктора *Ungernia victoris* не впливали на спонтанний рівень мутантів та пригнічували хімічно індукований мутагенез у тесті Еймса та системі *Escherichia coli* — бактеріофаг λ (Дворник та ін., 2000, 2000а, 2002, 2004, 2004а, Dvornyk et al., 2002). На основі частини цих результатів головний виконавець досліджень особливостей антимуутагенної та генопротекторної дії екстрактів із біомаси лікарських рослин А. С. Дворник підготувала і захистила кандидатську дисертацію (Дворник, 2001).

2001–2005 рр. — Вивчення геномних змін в процесах диференціювання і дедиференціювання клітин рослин та за їх вирощування *in vitro*. Дослідження генів 18S-25S рРНК та 5S рРНК. Розробка нових підходів у регуляції продуктивності клітинних штамів лікарських рослин.

На період 2001–2005 рр. для відділу генетики клітинних популяцій було затверджено для виконання науково-дослідну тему «Дослідження

структурно-функціональної мінливості геному в процесах диференціювання і дедиференціювання клітин вищих рослин в інтактному організмі та при культивуванні *in vitro*», № держ. реєстрації 0101 U000007. Співробітники відділу були залучені також до виконання однієї з тем Державної науково-технічної програми «Біотехнологія рослин та біобезпека» (2002–2006 рр.), а також до виконання додаткової наукової програми Відділення молекулярної біології, біохімії, експериментальної і клінічної фізіології НАН України «Молекулярні основи функціонування геному та його регуляція», затвердженої на період 2002–2006 рр. У процесі виконання цих бюджетних тем ми продовжували вивчення описаних вище культур тканин лікарських та модельних рослин.

У відділі генетики клітинних популяцій у попередні роки було розроблено підхід, який дозволяє досліджувати особливості структурної організації ядерної ДНК у складі хроматину на вищих рівнях упаковки (див.: Соловьян, Кунах, 1991; Соловьян и др., 1991). Було встановлено, що зміни функціональної активності рослинних клітин супроводжуються перебудовами вищих рівнів організації хроматину і проявляються у вигляді варіацій у характері впорядкованого ДСН-залежного розщеплення ядерної ДНК на високомолекулярні фрагменти. Продемонстровано, що ділянки хроматину, які складаються з повторюваних послідовностей, мають свою особливу структурну організацію і значно менше піддаються таким змінам. Цей підхід було застосовано для вивчення змін вищих рівнів структурної організації хроматину за зміни проліферативної активності та у процесах диференціювання, а також за старіння рослинних тканин.

У даний період досліджено особливості фрагментації ядерної ДНК у процесі старіння рослинних клітин на двох моделях: активного старіння, яке завершується програмованою клітинною смертю (клітини колеоптиля злаків), та пасивного старіння метаболічно малоактивних клітин (зародки сухого насіння злаків), — і виявлено відмінності між ними, які проявилися у різному характері змін структурної організації хроматину та активності ядерних нуклеаз. Показано також, що при старінні насіння відбуваються зміни у характері високомолекулярної фрагментації ДНК, що свідчать про зміну інтенсивності вищеплення петлевих доменів хроматину. Основною причиною цих змін є зниження активності нуклеази, яка входить до складу ядерного матриксу. Висловлено припущення, що це топоізомераза II або подібний їй за

своїми властивостями фермент (Соловьян и др., 1991, 1993, 1993а; Андреев и др., 2000, 2004; Андреев та ін., 2004).

Продовжували вивчення генетичних особливостей модельного об'єкту — культури тканин скереди *C. capillaris* та її здатності до регенерації. Встановили, що у процесі дедиференціювання клітин за індукції калюсоутворення та культивування *in vitro* відбуваються зміни морфології хромосом, розташування в хромосомах гетерохроматинових блоків, на молекулярному рівні — перебудови фракції повторюваних послідовностей ДНК. Виявлено відмінності за ступенем гідролізу ДНК як між різними типами диференційованих тканин інтактною рослини, так і в культурі тканин. Зроблено висновок про можливість зміни рівня модифікації нуклеотидів, зокрема метилювання, у процесі диференціювання клітин в онтогенезі і дедиференціювання за культивування тканин *in vitro*. Калюсні тканини, які характеризуються сильним неорганізованим типом росту, складаються переважно з поліплоїдних клітин, рівень плоїдності яких може сягати високих значень — до 30n і більше. У сформованих органогенних, зокрема ризогенних, калюсах переважають клітини з диплоїдним числом хромосом. Серед них значний відсоток складають псевдодиплоїдні клітини. Аналіз таких клітин показав, що структурні зміни можуть відбуватися шляхом переміщення хромосомного матеріалу в межах диплоїдного набору (рекомбінації, делеції, транслокації, дуплікації), який може бути задіяним у культурі *in vitro* як реакція на незвичайні умови існування (Кнутова та ін., 2004, 2006).

Уже було відомо, що особливості генів рРНК — багатокопійність, кластерна організація, висока консервативність кодувальних ділянок і варіабельність спейсерних послідовностей, а також наявність механізмів, що забезпечують узгоджену еволюцію повторів рДНК всередині кластера, роблять їх зручною моделлю для з'ясування питань еволюції геному, екології, популяційної генетики, селекції і систематики. Саме тому з метою виявлення особливостей геномних перебудов, що спостерігаються за культивування клітин рослин в умовах *in vitro*, найсучаснішими на цей час (кінець 1990-х — початок 2000-х рр.) методами дослідження — методами рестрикційного аналізу, блот-гібридизації та полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) із спрямованими праймерами було проведене порівняльне дослідження генів 18S-25S рРНК та 5S рРНК в інтактних рослинах і культивованих клітинах рослин-представників

родів *Rauwolfia* Benth. і *Gentiana* L. Матеріалом для досліджень слугували 3-річні рослини *R. caffra*, *R. verticillata*, *R. canescens*, *R. vomitoria*, *R. chinensis* і *R. serpentina*, які вирощували у теплиці, та 4–5-річні рослини *G. asclepiadea*, *G. lutea*, *G. punctata*, зібрані на місцях їх природного зростання на горі Пожижевська, Чорногірський хребет Карпат, і *G. acaulis* — на горі Туркул того самого хребта.

Ми встановили, що гени 18S-25S та 5S рРНК виявляють між- та внутрішньородовий поліморфізм за довжиною та кількістю типів повторів, якими вони представлені. У досліджених представників роду *Rauwolfia* розмір повтору 18S-25S рДНК складає від 8,0 т.п.н. у *R. verticillata* і *R. chinensis* до 9 т.п.н. у *R. caffra*, а у видів роду *Gentiana* — від 10,5 т.п.н. у *G. asclepiadea* до 14,5 т.п.н. у *G. lutea*. У представників обох родів ця послідовність, як правило, виявляється у вигляді одного домінуючого варіанту, лише у геномах *R. vomitoria* та *G. lutea* вона представлена кількома варіантами повторів, які відрізняються або за наявністю додаткового сайту рестрикції у випадку раувольфії, або за довжиною, у випадку тирличів.

Гени 5S рРНК у геномах видів *Rauwolfia* представлені послідовностями, розмір яких коливається від 0,45 т.п.н. у *R. caffra* до 0,67 т.п.н. у *R. verticillata* і *R. chinensis*. У видів роду *Gentiana* ця послідовність виявляє більшу гомогенність за розміром — у всіх досліджених видів протяжність повтору складає близько 0,55 т.п.н., лише у *G. acaulis* довжина гена дорівнює 0,6 т.п.н. У представників обох родів гени рРНК представлені приблизно в однаковій кількості на геном, лише геном *G. acaulis* характеризується меншим відносним вмістом обох типів рибосомних повторів.

Показано, що у геномах культивованих тканин гени 18S-25S та 5S рРНК видів *Rauwolfia* і *Gentiana*, які вирощували на різних за складом середовищах, характеризуються достатньо високою стабільністю за розміром. Серед видів раувольфії лише для тривало культивованих тканин *R. serpentina* виявлено відмінності від інтактної рослини: тут зменшився розмір обох типів повторів, паралельно з цим спостерігали зниження кількості 18S-25S рДНК.

Подібне зниження кількості цієї послідовності встановлено в калюсних тканинах тирличів. Лише в калюсі *G. lutea* знайдено зміни спектру рибосомних повторів, а саме, появу класу 18S-25S рДНК, не детектованого у геномі інтактної рослини з популяції цього виду, яка була вихідною при отриманні калюсу. Встановлено, що на відміну від

інших досліджених видів, де рибосомні повтори представлені одним мажорним класом, у геномі інтактних рослин *G. lutea* виявляється декілька класів повторів 18S-25S рДНК, представлених приблизно рівною мірою. На основі виявленого зв'язку між внутрішньогеномною гетерогенністю рибосомних повторів і наявністю перебудов у культивованих тканинах ми припустили особливу структурну організацію 18S-25S рДНК *G. lutea*, яка забезпечує більшу ймовірність появи та/або ампліфікації нового класу рибосомних повторів. Вірогідно, це обумовлено існуванням у геномі цього виду кількох окремих кластерів генів 18S-25S рРНК, які містять повтори різної довжини.

Виявлено також міжвидові та міжканинні відмінності у характері метилювання 5S рДНК, а також зміни метилювання цієї послідовності протягом дедиференціювання при введенні в культуру *in vitro* та за подальшого культивування ізольованих тканин у вивчених видів *Rauwolfia* і *Gentiana*.

Результати картування генів 18S-25S рРНК засвідчили, що і міжвидовий поліморфізм довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ), і відмінності, індуквані культивуванням *in vitro*, пов'язані з нетранскрибованим спейсером (НТС) рДНК. Тобто, ділянка НТС 18S-25S рДНК є найваріабельнішою у складі гена: вона характеризується міжвидовим і внутривидовим поліморфізмом в природі, а також піддається змінам *in vitro*.

Аналіз отриманих результатів показав наступні особливості геномних перебудов у культивованих клітинах. Якісні зміни генів рибосомних рРНК відбувалися на початкових етапах введення в ізолювану культуру і в подальшому просто зберігалися в культурі. Послідовність рДНК характеризується міжвидовою варіабельністю за копійністю і, поряд з цим, в ізолюваній культурі відбувається зміна кількості її копій. З іншого боку, у культивованих клітинах перебудовуються саме ті ділянки гена, для яких властива міжвидова варіабельність. У той же час, консервативні серед досліджених видів фрагменти гена лишаються незмінними і в культивованих клітинах. Таким чином, отримано дані, які свідчать про не випадковий характер змін рДНК у геномах культивованих клітин родів *Rauwolfia* і *Gentiana*, а саме — про їхню подібність до змін, які відбувалися у природі в процесі видоутворення. (Слід відмітити, що подібні результати, які вказують на не випадковість перебудов геному в культивованих клітинах, як уже відмічалось вище, було отримано для раувольфії змінної при дослідженні й інших ділянок ге-

ному). Більш детально отримані дані опубліковано в низці експериментальних і узагальнюючих статей (Спиридонова, 2000; Мельник та ін., 2002, 2003, 2004; Андреев та ін., 2004, 2004а, 2004б; Кунах та ін., 2006; Mel'nik et al., 2002; Andreev et al., 2005, 2006). Значна частина даних, отриманих за вивчення варіабельності рДНК різних видів тирличів у природі та в культурі *in vitro*, лягла в основу кандидатської дисертації В. М. Мельника (Мельник, 2005).

У відділі продовжували також поглиблені дослідження біологічних особливостей низки культур тканин лікарських рослин, розроблялись нові підходи у регуляції продуктивності клітинних штамів. Зокрема, роботи з культурою тканин унгернії *Ungernia victoris* було розпочато ще на початку 1990-х рр. (Кунах, Можилевская и др., 1997, Можилевская и др., 1997; Кунах, 2005, розділ 17; Кунах, Можилевська та ін., 2006; Dvornyk et al., 1998). За час роботи з цієї культурою було відпрацьовано умови прямої регенерації *in vitro* з експлантів лусочок 40–50-річної цибулини унгернії, розроблено умови, які дозволяють індукувати калюсоутворення, підтримувати ріст калюсу у пасивованій культурі як на твердому, так і в рідкому живильному середовищі, індукувати регенерацію мікрочибулинок і розмножувати їх *in vitro*. На основі отриманих даних розроблено технологію мікроклонального розмноження унгернії Віктора. Відпрацьована технологія дозволяє, за розрахунками, від однієї цибулини за 1–1,5 року отримати понад 10^6 цибулинок-клонів, розмір і стадія розвитку яких подібні до 6–7-ми річних рослин (див. Кунах, 2005, розділ 17).

Продовжували вивчати також біологічні ефекти екстракту із біомаси культури тканин унгернії Віктора, встановлено її антимуутагенну, генопротекторну, імуномодулювальну та іншу позитивну дію, отримано низку штамів-продуцентів біологічно активних речовин культури тканин цієї рослини (Мирюта и др., 2005; Бублик та ін., 2006; див. також Дворник, 2001; Кунах, 2005, розділ 17). Значну частину отриманих даних з вивчення біологічних ефектів, а також штамів-продуцентів унгернії Віктора було запатентовано в Росії і в Україні (Патент RU №2075947 С1. МПК А23К1/16. Кормовая добавка для птиц и млекопитающих / Музыка В. И., Колонина И. В., Кунах В. А., Алпатова Л. К. — Заявл. 30.09.1994, опубл. 27.03.1997; Декларацийний патент на винахід UA №39572 А. МПК С12N5/04, А61К35/78. Штам культивованих клітин унгернії Віктора *Ungernia victoris* Vved. ex Artjuchenko — продуцент біологічно активних ре-

човин / Кунах В. А., Музыка В. И., Можилевська Л. П., Колонина И. В. — Заявл. 19.10.2000, зареєстровано та опубл. 15.06.2001, бюл. № 5; Декларацийний патент на винахід UA №42982 А. МПК С12N5/00, С12N5/04, А61К35/78. Спосіб одержання біологічно активних речовин унгернії Віктора *Ungernia victoris* Vved. ex Artjuschenko / Кунах В. А., Музыка В. И., Можилевська Л. П., Колонина И. В. — Заявл. 19.10.2000, зареєстровано та опубл. 15.11.2001, бюл. № 10; Патент на винахід UA № 85571 С2. МПК (2009) А01Н4/00, С12N5/04. Спосіб мікроклонального розмноження унгернії Віктора *Ungernia victoris* Vved. ex Artjuschenko / Кунах В. А., Можилевська Л. П., Музыка В. И., Колонина И. В. — Заявл. 02.06.2006, зареєстровано та опубл. 10.02.2009, бюл. № 3; Патент на корисну модель UA № 42939 U. МПК (2009) С12N1/20. Спосіб вирощування культур промислових та лабораторних штамів *Escherichia coli* з використанням живильного середовища Лурія-Бертані / Перерва Т. П., Дворник А. С., Мирюта Г. Ю., Можилевська Л. П., Кунах В. А. — Заявл. 13.03.2009, зареєстровано та опубл. 27.07.2009. Бюл. № 14; Патент на изобретение RU № 2425687. Средство для лечения заболеваний, вызываемых микобактериями, штамм каллусной культуры *Ungernia victoris* UV-22 — продуцент биологически активного комплекса для лечения заболеваний, вызываемых микобактериями, и способ его культивирования (варианты) / Музыка В. И., Кунах В. А., Можилевская Л. П., Колонина И. В. — Приоритет изобретения 05.02.2009 г. Зарег. в Гос. реестре изобретений РФ 10.08.2011 г., тощо). На основі отриманих штамів культури тканин унгернії Віктора фірмою «Унгернія» (РФ) виробляється низка біологічно активних добавок.

Було проведено поглиблене порівняльне цитологічне та фізіолого-біохімічне вивчення різних клітинних штамів женьшеню справжнього *Panax ginseng* у різних умовах вирощування та за впливу деяких зовнішніх чинників. Зокрема, було вивчено відомий промисловий штам культури тканин женьшеню БІО-2, а також отримані у відділі нові клітинні лінії та штами цієї рослини. (Найпродуктивніша із отриманих у нашому відділі культур тканин отримала у свій час статус штаму женьшеню БІО-2МК і з 1990 р. вирощувалась на кількох промислових підприємствах для одержання клітинної біомаси). Було встановлено, що поліплоїдизація калюсних культур женьшеню може приводити до інтенсифікації росту і зумовлювати підвищений вихід біомаси. Однак, найвищий рівень накопичення глікозидів і, особливо, тритер-

пенових глікозидів дамаранового ряду (гінзенозидів) є властивим для клітинних культур, близьких за цитогенетичними параметрами до інтактних рослин (Губарь і др., 1997; Кунах, Можилевская і др., 2003). Було також отримано, описано і запатентовано новий, продуктивніший і технологічніший штам калюсної культури женьшеню (Деклараційний патент України на винахід № 52162А. Штам культивованих клітин женьшеню *Panax ginseng* С. А. Меу — продуцент біологічно активних речовин / Кунах В. А., Можилевська Л. П., Адонін В. І. — Оpubл. 16.12.2002, бюл. № 12), який було впроваджено у виробництво на кількох біотехнологічних промислових підприємствах, зокрема на Кременчуцькому заводі білково-вітамінних концентратів та Степногорському біохімічному заводі (Казахстан).

У відділі продовжували роботи з порівняльного вивчення продуктивності різних штамів культури тканин раувольфії зміїної *R. serpentina* за глибинного та поверхневого вирощування на різних за складом живильних середовищах. Розроблено новий, технологічніший спосіб двохетапного вирощування культури тканин на живильних середовищах без регуляторів росту, першим етапом якого є вирощування на агаризованому середовищі спеціального складу, а другим етапом — вирощування калюсних тканин у глибинній культурі в рідкому живильному середовищі іншого, теж спеціально розробленого складу. (Основу складу цих продукційних середовищ раніше було запатентовано: Патент на винахід UA № 10338 А. МПК С12N5/00, С12N5/02. Живильне середовище для одержання і вирощування калюсних тканин рослин / Кунах В. А., Алпатова Л. К., Можилевська Л. П. — Заявл. 19.03.1993. Оpubл. 25.12.1996, бюл. № 4; див. також: Кунах, Можилевская, 1997).

За розробленого способу швидкість накопичення аймаліну і його кількість в біомасі калюсного штаму К-27 раувольфії зміїної зростають у 2–4 рази, вміст аймаліну в сухій біомасі на 20–25 добу досягає 1,8 % (Кунах, Можилевская і др., 2001; Кунах, Аль-Аммурі і др., 2006; Мирюта і др., 2006, 2006а, Парнікоза та ін., 2006). Розроблені способи вирощування запатентовано (Деклараційний патент України на корисну модель №1 4450. Процес вирощування калюсної культури тканин раувольфії зміїної / Кунах В. А., Юссеф Ал-Аммурі, Можилевська Л. П., Мирюта Н. Ю. — Оpubл. 15.05.2006, бюл. № 5; та Патент України на винахід № 77366. Спосіб вирощування культури калюсних тканин раувольфії зміїної *Rauwolfia serpentina* Benth. — продуцента аймаліну / Ку-

нах В. А., Юссеф Ал-Аммурі, Можилевська Л. П., Мирюта Н. Ю. — Оpubл. 15.11.2006, бюл. № 11). На основі отриманих результатів співвиконавець цих досліджень сирійський аспірант Юссеф Ал-Аммурі підготував і захистив кандидатську дисертацію за спеціальністю «біотехнологія» (Ал-Аммурі, 2006).

Слід також відзначити, що на прикладі культури тканин раувольфії зміїної встановлено можливість застосування термодинамічного підходу для опису цієї культури, як динамічної системи. Оцінка кореляцій між часовими показниками продуктивності та цитологічних і цитоморфологічних параметрів, які розглядали в ролі кандидатів на потоки та сили, дозволила виділити основні сили: часові градієнти кількості окремих класів клітин з певним вмістом ДНК на ядро (показник диференціації) та з певною площею ядерець (показник метаболічної активності), — та основні потоки, які формуються внаслідок їх дії: питомої швидкості накопичення маси, трахеїдних елементів та індолінових алкалоїдів. Математичний аналіз взаємодій основних сил і потоків дозволив описати кожний з основних потоків як середнє арифметичне двох потоків, що визначаються лінійними комбінаціями сил: 1) градієнти окремих класів клітин з певним вмістом ДНК на ядро та 2) градієнти окремих класів клітин з певною площею ядерець (Мирюта і др., 2006, 2006а, Парнікоза та ін., 2006).

У тривалих, спеціально проведених дослідах було доведено принципову можливість тестування біологічної активності рослинних екстрактів у бактеріальних тест-системах (див. Дворник, 2001). У системах *E. coli* — бактеріофаг λ , CaCl_2 трансформація *E. coli* та MS2-індуковані мутанти *E. coli* встановлено наявність в екстрактів лікарських рослин протекторної, антимутагенної, регенеруючої та антипухлинної активностей. Вивчені бактеріальні тест-системи можуть бути використані для спрямованого пошуку біологічно активних речовин з наперед заданими властивостями (Деклараційний патент України на корисну модель № 5653. Бактеріальна тест-система для первинного скринінгу препаратів на протипухлинну активність / Перерва Т. П., Дворник А. С., Мирюта Г. Ю., Можилевська Л. П., Кунах В. А. — Оpubл. 15.03.2005, бюл. № 3; див. також: Дворник та ін., 2002, 2004а; Мирюта А. і др., 2005; Перерва і др., 2007; Dvornyk et al., 2002).

На основі результатів власних досліджень та розроблених і прочитаних мною спеціальних курсів лекцій з клітинної селекції, клітинної та моле-

кулярної біології, біотехнології у Київському національному університеті імені Тараса Шевченка та низці інших університетів України, я, у співавторстві із співробітниками Національного університету біорізноманіття і природокористування, написав і видав у 2003 р. перший на теренах Європи підручник для вищих навчальних закладів: М. Д. Мельничук, Т. В. Новак, В. А. Кунах «Біотехнологія рослин», К., ПоліграфКонсалтинг, 2003, 520 с. Цей підручник отримав схвальну оцінку провідних учених і викладачів ВНЗ як в Україні, так і за кордоном (див.: Кунах Віктор Анатолійович. Біобібліографічний покажчик... 2017, розділ «Витяги з вибраних рецензій на підручник та монографії В. А. Кунаха»). Підручник був удостоєний Державної премії України у галузі науки і техніки за 2005 р.

Узагальнюючи власні дослідження і результати своїх учнів та інших співробітників відділу генетики клітинних популяцій за всі попередні роки, я написав і у 2005 р. опублікував монографію: В. А. Кунах «Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи», Київ, Логос, 2005, 724 с. Ця монографія, як і підручник, визнані як значний внесок у розвиток сучасної біотехнології і отримали схвальну оцінку провідних учених світу (див. Кунах Віктор Анатолійович. Бібліографічний покажчик... 2017, розділ «Витяги з вибраних рецензій на підручник та монографії В. А. Кунаха»). У 2007 р. я за цю монографію, у сукупності з роботами інших авторів, був удостоєний премії ім. М. Г. Холодного НАН України. Премійована робота мала назву «Цикл робіт «Фіторесурси України: раціональне використання та біотехнологія» (співавтори — Лебеда А. П., Собко В. Г.)

Слід також відмітити, що у 2002 р. Президія НАН України присудила мені у складі колективу учених премію ім. В. Я. Юр'єва за роботу «Генетичні основи клітинної селекції, інженерії рослин та селекційні білкові маркери» (співавтори — Блюм Я. Б., Лісневич Л. О.).

У цей період окрім чотирьох кандидатських дисертацій, вказаних вище (Пороннік, 2001; Дворник, 2001; Мельник, 2005; Ал-Аммурі, 2006) було захищено виконані за мого наукового консультування дві докторські дисертації за спеціальністю 03.00.15 — генетика (Чеченєва Т. М. Спонтанна та індукована мінливість кукурудзи *in vitro*. 03.00.15 — генетика (2004) та Дубровна О. В. Мінливість геному буряків (*Beta vulgaris*) за інбридингу та в культурі *in vitro*. 03.00.15 — генетика (2005).

2006–2010 рр. — Порівняльне вивчення геномної мінливості рослин у природі і в культурі *in vitro*. Отримання нових високопродуктивних клітинних ліній лікарських рослин і вивчення їхніх особливостей.

На період 2006–2010 рр. для відділу генетики клітинних популяцій було затверджено для виконання бюджетну науково-дослідну тему «Порівняльне вивчення геномної мінливості рослин в природі та в культурі *in vitro*», № державної реєстрації 0105U005344. Співробітники відділу продовжували також виконання подовженої на наступний період загальноінститутської бюджетної теми «Молекулярні основи функціонування геному та його регуляція» («Геном»), затвержену на період 2007–2011 рр. У цій темі ми виконували розділ «Молекулярно-генетичне та цитогенетичне вивчення мінливості культивованих клітин рослин». Розпочали роботу також над проектом «Порівняльна геноміка у діагностиці генофонду деяких рідкісних видів рослин України» у рамках цільової програми наукових досліджень комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України «Фундаментальні основи молекулярних та клітинних біотехнологій» (2010–2014 рр.).

У цей період, окрім описаних вище культур, вивчали також введені в культуру *in vitro* й нові об'єкти, зокрема відновили роботу з кукурудзою. Отримали і досліджували культуру тканин від дев'яти інбредних ліній, а також деяких мутантних та соматоклональних ліній і гібридів кукурудзи, відмінних між собою за фенотиповими ознаками, а також за здатністю до регенерації рослин *in vitro*. Виявлено залежність рівня молекулярно-генетичних перебудов кукурудзи у культурі *in vitro* від генотипу вихідної рослини та від тривалості культивування *in vitro*. Зокрема, проведено RAPD-ПЛР аналіз соматоклональних ліній кукурудзи з підвищеною регенераційною здатністю, одержаних раніше шляхом селекції в культурі *in vitro* з наступною регенерацією (див.: Чеченєва, 2004), та отриманих від них калюсних тканин. Показано, що клітинна селекція в культурі *in vitro*, спрямована на підвищення регенераційної здатності, призводить до зростання геномної мінливості (геномної нестабільності), яка зберігається у потомстві рослин-регенерантів та отриманих від них калюсних культурах. З метою з'ясування питання локалізації на хромосомах ділянок геному кукурудзи, що зазнають змін в умовах культури *in vitro*, про-

ведено дослідження двох ліній кукурудзи, а саме ВІР-27 і отриманої з неї шляхом мутагенезу (під дією стрептоміцину) лінії ЧК-218. Оскільки раніше у відділі цитогенетичними дослідженнями показано, що лінії ВІР-27 і ЧК-218 відрізняються за розмірами і кількістю гетерохроматинових ділянок (Савченко, Кунах, 1986; Савченко и др., 1986; Gubar, Kunakh, 1994), було проведено ПЛР-аналіз ДНК зазначених ліній із застосуванням RAPD- і SSR-праймерів. Для всіх RAPD-праймерів, що виявили поліморфізм у спектрі ампліконів ліній ВІР-27 і ЧК-218 знайдено значну кількість гомологічних ділянок (від 1 до 62) в складі послідовностей, локалізованих у чітко визначених центромерних ділянках хромосом кукурудзи. Висловлено припущення, що виявлені поліморфні амплікони відносяться до зазначених ділянок хромосом.

Загалом було вивчено геноми дев'яти інбредних ліній кукурудзи, для їх усіх встановлено невелику кількість геномних перебудов в підібраних умовах вирощування калюсних тканин *in vitro*. Більшу частину перебудов спостерігали в період становлення штаму на перших етапах культивування (до двох місяців). Значна частина перебудов, зафіксованих у цей період, має нестабільний характер і не виявляється в тих же калюсних тканинах після чотиримісячного культивування (в період сформованого штаму). При цьому частина виявлених змін — це переважно зміна кількості певних послідовностей ДНК у геномах культивованих клітин. Висловлено припущення про існування «гарячих точок» геномної мінливості *in vitro*, тобто локусів, які найчастіше зазнають змін, а також про появу в геномах деяких інбредних ліній значної кількості гетерозиготних алелей внаслідок культивування *in vitro* (Майданюк и др., 2006, 2007, 2007а, 2007б, 2008). В узагальненому вигляді ці, та отримані пізніше додаткові експериментальні дані опубліковано у статті (Андреев и др., 2009). На основі отриманих даних Дмитром Майданюком, основним виконавцем цих досліджень, було підготовлено і захищено кандидатську дисертацію (Майданюк, 2008).

Вивчення понад 30 рослин унгернії Віктора *U. victoris* — 40–60-річних цибулин, зібраних з двох місць зростання на південних відрогів Гісарського хребта, Паміро-Алай, Таджикистан, методами ПЛР-аналізу показало, що генетичні відстані за Неї між дослідженими рослинами склали від 32,5 % до 53,3 %. Обраховані на підставі коефіцієнту подібності Жаккарда генетичні відстані між окремими рослинами склали у середньому 0,576. Встановлено майже повну

подібність між рослинами, зібраними з окремих гнізд — лише для однієї з 11 вивчених пар рослин з одного «гнізда» знайдено відмінності за одним ампліконом. Використання аналізу молекулярної варіації (AMOVA) показало, що частка міжгрупових відмінностей у загальній мінливості (Φ_{ST}) складає 16,9 %, а внутрішньогрупових — 83,1 %. Таке досить низьке значення показника Φ_{ST} свідчить про обмеженість перенесення генів між дослідженими групами рослин, що узгоджується з літературними даними про переважання в унгернії Віктора самозапилення та низьку мобільність насіння. Висока гомогенність рослин, зібраних в окремих «гніздах» свідчить також про важливу роль вегетативного розмноження цибулинами в репродукції цього виду. У цілому, отримані дані свідчать про високу мінливість геному даного виду у природі, що може бути наслідком адаптивних процесів і забезпечувати виживання у суворих кліматичних умовах (Бублик та ін., 2008).

Визначено оптимальні співвідношення стимуляторів росту (ауксинів і цитокинінів) для прямої регенерації, індукції калюсоутворення, тривалого вирощування калюсних тканин зі збереженням морфогенного потенціалу і вирощування регенерантів унгернії Віктора *in vitro*. Цитогенетичний аналіз клітинних ліній унгернії показав, що вони є міксоплоїдними клітинними популяціями з розмахом за числом хромосом від гаплоїдного до гіпероктаплоїдного з максимальним набором, що сягав 32n. При цьому не виявлено впливу компонентів середовища, у тому числі й фітогормонального складу, на особливості хромосомного поліморфізму клітинних популяцій унгернії. Відсутність залежності рівня плоідності культивованих клітин від складу живильного середовища та умов вирощування (поверхневі або глибинні) було пояснено дивергентною еволюцією генетичної структури клітинних ліній на основі стохастичних процесів мінливості *in vitro*. Разом з тим, рівень поліморфізму продуктів RAPD-ПЛР в отриманій культурі тканин унгернії Віктора *in vitro* був значно нижчим, ніж у популяції природних рослин. Так, генетичні відстані між геномами рослини-донора та її однорічного калюсу склали 0,3 %, а дворічного — 0,6 %. За умов більш тривалого культивування (9 років) калюсних тканин, які походять від однієї рослини, на різних за складом середовища генетичні відстані між геномами окремих калюсних ліній склали 0,3–1,9 %. Зроблено висновок про те, що і в культурі тканин цього виду основна частина змін (перебудов) відбувається на перших етапах культивування *in vitro*. При цьому

змінам піддаються лише одиничні RAPD-фрагменти. Калюсні культури з різним типом росту (різним типом організації) відрізнялись за характером мінливості — ступінь генетичних змін неморфогенної культури був вищим, ніж морфогенної. Виявлено поліморфні фрагменти (послідовності) ДНК, спільні для всіх калюсних тканин, що дозволило припустити існування в геномі *U. victoris* так званих «гарячих точок» мінливості — нестабільних ділянок з підвищеною здатністю до мутацій (Бублик та ін., 2006, 2008а, 2008в).

Методом RAPD-аналізу досліджено рослини *U. victoris*, отримані шляхом прямої регенерації з фрагментів лусок цибулини та непрямой регенерації з калюсної культури віком 7 років. Встановлено, що генетичні відстані між рослиною-донором експлантів та «прямими» регенерантами у середньому складали 0,5 %, а середнє значення відстаней між регенерантами — 0,8 %. Рівень генетичних відмінностей «непрямих» регенерантів від вихідної клітинної лінії був дещо вищим. Зокрема, відмінності рослин-регенерантів від материнської калюсної лінії склали від 1,4 до 7,0 % (у середньому — 4,2 %), а генетичні дистанції між окремими регенерантами — від 0 до 6,2 % (у середньому — 2,5 %). Для порівняння — значення генетичних дистанцій між калюсними лініями віком 7 років спільного походження разом із лінією, використаною для індукції регенерації, коливалися у межах від 1,4 до 4,9 %, у середньому 2,9 %. Той факт, що рівень гетерогенності у групі регенерантів виявився нижчим за рівень відмінностей від вихідної клітинної лінії свідчить про те, що формування регенерантів відбувається із клітин з певними генетичними характеристиками (Бублик та ін., 2008в; див. також: Бублик та ін., 2011, 2011а, 2012; Bublik et al., 2012).

На основі частини отриманих результатів вивчення особливостей соматклональної мінливості унгернії Віктора основний виконавець цієї роботи Олена Бублик підготувала і захистила кандидатську дисертацію за спеціальністю 03.00.15 — генетика (Бублик, 2009).

Проведено комплексне вивчення отриманих у відділі і культивованих понад 30 років п'яти (K-20, K-27, M, A, R-31) штамів-продуцентів індолінових алкалоїдів раувольфії зміїної *Rauwolfia serpentina* (Кунах, Аль-Аммури і др., 2006; Мирюта Н. і др., 2006). Було підібрано RAPD-маркери, які дозволяють відрізняти (диференціювати) окремі штамми на молекулярно-генетичному рівні. Генетична відстань за Nei між штамми, обчислена на основі RAPD-аналізу, складала від 4 до 9 %.

Групування штамів методом UPGMA в цілому узгоджується з генеалогією вивчених штамів, які мають спільне коріння, а саме походять від клітинної лінії А (Адноф і др., 2007; Андреев, Адноф і др., 2007). На основі ПЛР-аналізу ДНК, взятих для дослідження з інтервалом у 14 років, встановлено, що геном сформованих штамів K-20 і K-27 за тривалого культивування в стандартних умовах, у тому числі і за промислового вирощування, зберігає високу стабільність. Так, між зразками тканини штаму K-20 відмінностей не було виявлено взагалі, а генетичні відстані між зразками штаму K-27 склали 0,4 та 0,8 % (Спиридонова і др., 2007; Kunakh, 2005; Andreev, Adhoff et al., 2007).

Методом RAPD-ПЛР вивчено тканини тривало пасивованого штаму K-27 *R. serpentina*, який вирощували в умовах поверхневої та глибинної культури протягом декількох пасажів на середовищах різного складу. Встановлено, що зміна умов вирощування не викликала істотних змін геному штаму K-27 на молекулярному рівні. Це дало можливість зробити висновок про те, що розроблений раніше спосіб вирощування тканин штаму в глибинній культурі впродовж декількох пасажів, як більш технологічний, може бути застосований для промислового нарощування біомаси без значного ризику його генетичних змін (Парнікоза та ін., 2008, 2008а; Спиридонова і др., 2008).

Два із основних виконавців цієї роботи, аспіранти із Сирії, на основі отриманих результатів захистили кандидатські дисертації. Це Юссеф Ал-Аммурі «Відпрацювання технології глибинного вирощування калюсних тканин раувольфії зміїної *Rauwolfia serpentina* Benth. — продуцента індолінових алкалоїдів» за спеціальністю 03.00.20 — біотехнологія (2006 р.) та Даніель Адноф Мунір «Вплив умов вирощування на стабільність геному клітинних штамів *Rauwolfia serpentina* Benth.» за спеціальністю 03.00.22 — молекулярна генетика (2008 р.).

Проводили також молекулярно-генетичний аналіз міжвидової мінливості рослин роду *Rauwolfia* за допомогою методу RAPD-ПЛР. Вивчено представників шести видів роду з колекції рослин відділу, що зростали в оранжереї, а саме: *R. serpentina* Benth., *R. vomitoria* Afz., *R. Canescens* L., *R. caffra* Soud., *R. verticillata* (Lour.) Baill. та *R. chinensis* Hemsl. Розраховані на основі коефіцієнтів подібності Жаккарда (D_{Jy}) генетичні відстані між окремими видами склали від 0,126 до 0,919, у середньому — 0,813. Побудовано дендрограму генетичної подібності, на якій

виділилися два кластери. До першого кластеру ввійшли *R. vomitoria* та *R. canescens*, а до другого — *R. serpentina* Benth., *R. verticillata* та *R. chinensis*. Вид *R. caffra* виявився дещо відокремленим від інших. Аналіз систематичного положення окремих видів роду Раувольфія показав, що два види з досліджених, між якими виявлено найменші відмінності ($D_{Jxy} = 0,126$), а саме *R. verticillata* та *R. chinensis*, розглядаються ботаніками як синоніми (Андреев, Спірідонова, Кунах, 2004; Андреев, Спірідонова, та ін., 2004а; Кунах, Андреев, Спірідонова, 2006; Andreev et al., 2005).

Подібний аналіз проведено спільно із співробітниками лабораторії екології і біотехнології Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка (завідувач лабораторії проф. Н. М. Дробик (Страшнюк)) і на рослинах роду тирлич *Gentiana* L. Метою було дослідити особливості внутрішньовидової та міжвидової мінливості рослин семи видів цього роду, а саме: *G. lutea*, *G. punctata*, *G. acaulis*, *G. asclepiadea*, *G. pneumonanthe*, *G. cruciata* і *G. verna*. Використання методу RAPD-ПЛР дозволило диференціювати на молекулярно-генетичному рівні види тирличів флори України та встановити генетичні взаємозв'язки між ними. Отримані результати свідчать про віддаленість окремих таксонів роду *Gentiana*, міжвидова варіабельність у межах якого складала 0,54. Виявлено унікальні амплікони, що можуть бути використані для видової ідентифікації рослин роду *Gentiana*. Слід підкреслити, що отримані результати оцінки міжвидового поліморфізму даного роду узгоджуються з основними класифікаціями, що ґрунтуються на анатомо-морфологічних, онтогенетичних та еколого-географічних критеріях (Твардовська та ін., 2010). Аналіз внутрішньовидової мінливості показав, що *G. punctata*, *G. acaulis*, *G. cruciata* характеризуються різним рівнем мінливості у природі. Рівень варіабельності зменшується у напрямку *G. acaulis* > *G. punctata* > *G. cruciata* і, очевидно, залежить від біологічних особливостей виду (екологічна пластичність, спосіб розмноження та ін.) і місця зростання (*G. acaulis* і *G. punctata* — гірські види, а *G. cruciata* — рівнинний вид) (Мельник та ін., 2007).

Встановлено, що вирощування тканин *G. lutea*, *G. punctata*, *G. acaulis* та *G. asclepiadea* в умовах *in vitro* призводить до цитогенетичних змін. У досліджених калюсних тканинах виявлено варіабельність числа хромосом та її зростання зі збільшенням термінів культивування. Однак, мода-

льним класом у клітинних лініях всіх видів, окрім *G. punctata*, були диплоїдні клітини. Показано високу здатність культивованих клітин *G. punctata* до поліплоїдизації — у цього об'єкта за тривалого багаторічного культивування значно зростала кількість поліплоїдних клітин, як автополіплоїдних, так і анеуплоїдних. Наявність порівняно великої частки анеуплоїдних клітин була властивою для калюсних культур *G. lutea*, *G. asclepiadea* та *G. cruciata*. Висловлено припущення, що однією з причин значних хромосомних змін у калюсній тканині *G. cruciata* є природна здатність геному цього виду до варіабельності числа хромосом — в апікальній меристемі корінців проростків цього виду виявлено міксоплоїдію. У всіх культур тканин тирличів виявлено також хромосомні аберації (5,6–15,7 %) у вигляді одиночних, парних та комбінованих мостів в анафазах мітозу (Страшнюк та ін., 2004, 2005, 2008; Твардовська та ін., 2006, 2008).

Методом RAPD-ПЛР проведено молекулярно-генетичний аналіз культивованих калюсних тканин кореневого походження *G. acaulis*, *G. cruciata* і *G. verna*. Встановлено, що рослини цих видів, вирощені *in vitro* з насіння та отримані від них культури тканин віком 7–11 пасажів (близько року культивування) мають подібні, але не ідентичні RAPD-спектри. Рівень генетичних відмінностей за Неї культур тканин від рослин-донорів експлантів становив 10,6–35,0 % для різних видів. У процесі подальшого культивування рівень генетичних відмінностей калюсних тканин різних видів тирличів від вихідної рослини практично не змінювався. Найвищий рівень соматональної мінливості спостерігали у *G. verna*, найнижчий — у *G. acaulis*. Поряд з цим, відмічено значну внутрішньовидову гетерогенність: у *G. cruciata* з різних локалітетів рівень генетичних відмінностей відрізнявся майже вдвічі. Було виявлено також цікаву особливість — між рівнем хромосомних змін та перебудов ДНК у культурі тканин *G. cruciata* та *G. punctata* спостерігається обернена залежність. У культурі тканин *G. acaulis* у процесі тривалого вирощування на фоні суттєвого зростання відсотка поліплоїдних клітин та рівня структурних перебудов хромосом практично незмінною залишалась кількість анеуплоїдних клітин, незначно відрізнялись і RAPD-спектри (Твардовська та ін., 2007, 2009; Дробик та ін., 2011).

За отриманими даними виконавець цих робіт Мар'яна Твардовська підготувала і захистила кандидатську кандидатську дисертацію «Мінливість геному тирличів (*Gentiana* L.) у природі та в

культури *in vitro* за спеціальністю 03.00.15 — генетика (Твардовська, 2009).

Також спільно із співробітниками лабораторії екології і біотехнології Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка проведено біохімічні дослідження деяких із отриманих культур тканин тирличів. За вивчення динаміки приросту біомаси калюсу *G. acaulis* та синтезу в ньому ксантонів і флавоноїдів виявлено обернено пропорційну залежність між цими показниками. Вміст ксантонів і флавоноїдів був максимальним на 40 добу пасажу і в кілька разів перевищував такий у коренях і надземній частині інтактних рослин *G. acaulis*, що зростають у природних умовах (Страшнюк та ін., 2006, 2008а). Розроблено умови прямого і непрямого (з калюсних тканин) органогенезу деяких видів роду Тирлич (*Gentiana* L.) флори України. Встановлено, що для розробки системи ефективної регенерації необхідно враховувати комплекс чинників: вихідний генотип, тип експланту та склад живильного середовища, вміст і співвідношення фітогормонів. У результаті вивчення та порівняльного аналізу рослинного геному в культивованих тканинах, рослинах регенерантах та в природі було виявлено деякі особливості геномної мінливості в період становлення та в період сформованої культури тканин. Виявлено, що регенеранти, отримані з культури тканин, мають відмінності від вихідного геному, які є результатом накопичення перебудов при культивуванні тканин *in vitro*. Встановлено, що культивування *in vitro* здатне викликати дестабілізацію геному, віддалені наслідки якої часто проявляються в підвищеній генетичній мінливості потомства рослин-регенерантів в поколіннях.

Невипадковість мінливості окремих RAPD-фрагментів і в культурі тканин тирличів підтверджує припущення про існування в геномі багатьох видів рослин нестабільних ділянок. Подібність характеру геномних перебудов при культивуванні *in vitro* та відмінностей між рослинами тирличів у природі також підтверджує раніше висловлене нами припущення про реалізацію в культурі *in vitro* тих самих механізмів геномної мінливості, які функціонують в природі (Страшнюк та ін., 2006а; Конвалюк та ін., 2010, 2011).

Значна частина результатів цих досліджень ввійшла до кандидатської дисертації Ірини Конвалюк «Культура тканин і органів *Gentiana lutea* L. та *Gentiana pneumonanthe* L.: отримання та молекулярно-генетична характеристика», яку вона захистила за спеціальністю 03.00.20 — біотехнологія (Конвалюк, 2011). Цю роботу було присвячено

отриманню калюсних тканин, культури органів і рослин регенерантів двох вищеназваних видів тирличів, а також дослідженню їхньої соматоклональної мінливості з використанням молекулярно-генетичних маркерів (RAPD та ISSR). Основні результати, які, зокрема, свідчать про відносну стабільність геному отриманих культур тканин, органів і рослин-регенерантів, а також про те, що рівень соматоклональної мінливості досліджених культур *in vitro* не виходить за межі внутрішньовидового поліморфізму *Gentiana lutea* L. та *Gentiana pneumonanthe* L. в природі, викладено в низці публікацій (Страшнюк, Кравець та ін., 2009; Твардовська та ін., 2009, 2010; Конвалюк та ін., 2010, 2011, 2011а).

Таким чином, результатом спільної роботи співробітників відділу генетики клітинних популяцій ІМБГ та лабораторії екології і біотехнології Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка із вивчення фізіолого-біохімічних та генетичних особливостей видів роду *Gentiana* L. флори України стала розробка та наукове обґрунтування технології мікроклонального розмноження, отримання культури тканин та ізольованих коренів, а також їхнього тривалого вирощування *in vitro*. У культивованих тканин встановлено відносно низький рівень мінливості на хромосомному і молекулярно-генетичному рівнях та здатність до синтезу біологічно активних речовин. Значну частину отриманих даних було запатентовано (див.: Кунах Віктор Анатолійович. Бібліографічний покажчик... 2017, розділ «Патенти та авторські свідоцтва»), на їх основі Надія Дробик (Страшнюк) підготувала і захистила докторську дисертацію «Фізіолого-біохімічні та генетичні основи біотехнології рослин видів роду *Gentiana* L.» за спеціальністю 03.00.20 — біотехнологія (Дробик, 2009).

Порівняльні дослідження отриманих у відділі культур тканин і клітин від низки рослин з родини Boraginaceae показали, що на перших етапах культивування *in vitro* нафтохіноновий барвник шиконін і його похідні синтезували лише калюси синяка *Echium plantagineum*. У процесі тривалої клітинної селекції від цієї рослини отримано клітинну лінію, яка накопичує понад 2 % шиконіну у перерахунку на суху масу і має продуктивність близько 200 мг/л шиконіну при швидкості його накопичення 12–14 мг/л середовища за добу. Отримана клітинна лінія отримала назву ЗЕр культури тканин синяка *Echium plantagineum*. Ця лінія за ростовими, біосинтетичними, морфологічними та цитологічними особливостями є сформо-

ваним, високопродуктивним штамом-продуцентом і може бути рекомендована для біотехнологічного виробництва шиконіну. За вирощування у спеціальних умовах у рідкому живильному середовищі у сухій біомасі клітин цього штаму може накопичуватись до 3 % шиконіну. (Поронник, Кунах, 2005; Поронник та ін., 2008, 2008а, 2008б).

На підставі математичного аналізу перебігу біологічних процесів у клітинних популяціях у стабільних умовах та за зміни умов вирощування зроблено припущення, що стан клітинної популяції як біологічної системи на пасажному та циркадному рівні визначає мережа взаємодій динамік груп клітин з певними характеристиками, та показано, що застосування біотехнологічних методів та прийомів підвищення продуктивності дослідженої культури клітин ґрунтується на використанні механізмів динамічної (або функціональної = структурної + динамічної) спадкової пам'яті. Зокрема, з метою розробки теоретичних основ існування культури тканин як біологічної системи досліджено кількісні аспекти динаміки популяцій клітин *in vitro* штаму К-27 раувольфії зміїної, які спеціалізуються на синтезі індолінових алкалоїдів, за різних умов вирощування. Основою для такого популяційного дослідження стали наші експерименти, які показали генетичну стабільність штаму і його вирівняність за ознакою «накопичення індолінових алкалоїдів». У популяційному дослідженні клітинної системи культури тканин раувольфії зміїної використовували прийоми системного аналізу з метою побудови емпіричних моделей, що мають описувати кількісно: 1) внесок субпопуляцій клітин з різними цитоморфометричними характеристиками в основні біотехнологічні характеристики (пасажний ієрархічний рівень); 2) внесок субпопуляцій клітин з різними типами поділів у субпопуляції клітин з різними цитоморфометричними характеристиками у динаміці (добовий ієрархічний рівень). На основі проведених досліджень, записаних систем динамічних рівнянь для різних умов вирощування і літературних даних було висунуто гіпотезу про керування системою за допомогою динамічної спадкової пам'яті і про алгоритм її «клітинно-популяційної» реалізації. У результаті надано математичне обґрунтування процесам, що відбуваються у клітинних популяціях *in vitro* в стабільних умовах вирощування та за їхньої зміни. Отримані результати підтверджують точку зору, що застосовані біотехнологічні методи та прийоми збільшення продуктивності дослідженої культури тканин використовують механізми динамічної спадкової пам'яті,

яка, імовірно, є додатковим еволюційним механізмом формування спадкових програм онтогенезу. Для всіх досліджених варіантів проведено аналіз стійкості системи за показниками Ляпунова, які дають змогу передбачати напрям розвитку системи залежно від умов вирощування (Мірюта і др., 2006, 2006а; Парнікоза та ін., 2006, 2008а, 2008б, 2008в; Мірюта, Кунах, 2011, 2011а, 2012).

На основі частини отриманих даних один із виконавців цього дослідження Іван Парнікоза підготував і захистив кандидатську дисертацію «Динаміка клітинних популяцій раувольфії зміїної за зміни умов вирощування *in vitro*» за спеціальністю 03.00.11 — цитологія, клітинна біологія, гістологія (Парнікоза, 2009). У дисертації, зокрема, наведено і обговорено результати вивчення пасажної та добової динаміки структури клітинної популяції штаму К-27 культури тканин раувольфії зміїної за вмістом ДНК в ядрі та площею ядерця за зміни складу та типу живильного середовища. Виявлено, що показники продуктивності: накопичення сухої біомаси, індолінових алкалоїдів, трахеїд — у різних варіантів вирощування забезпечується різною комбінацією внесків клітин з різною кількістю ДНК, що характеризуються певними розмірами ядерця.

У відділі продовжували вивчення біологічної дії екстрактів із біомаси деяких лікарських рослин у спеціально створених високочутливих прокаріотних тест-системах, частину яких було запатентовано (Деклараційний патент України на корисну модель № 5653. Бактеріальна тест-система для первинного скринінгу препаратів на протипухлинну активність / Перерва Т. П., Дворник А. С., Мірюта Г. Ю., Можилевська Л. П., Кунах В. А. — Оpubл. 15.03.2005, бюл. № 3; та Патент України на корисну модель № 30865. Спосіб тестування сполук природного походження на наявності у них антимутагенної та антиканцерогенної активності / Перерва Т. П., Мірюта Г. Ю., Можилевська Л. П., Кунах В. А. — Оpubл. 11.03.2008, бюл. № 5). Вивчали, зокрема, дію екстрактів із цілісних рослин та із отриманих від них калюсних тканин.

Із використанням бактеріальних систем показано, що екстракти деяких лікарських рослин та екстракти біомаси їхніх культур тканин взаємодіють з білками зовнішньої клітинної оболонки і можуть проникати всередину клітини через канали поринів, розриви в ліпідному шарі оболонки та РНВ/Ca²⁺polyP комплекси цитоплазматичної мембрани, внаслідок чого відбуваються зміни в метаболізмі бактеріальної клітини в цілому. Протекторний ефект екстрактів деяких лікарських рослин і

отриманих від них калюсних тканин (вивчали, зокрема, *Panax ginseng*, *Polyscias filicifolia*, *Ungernia victoris*, *Rhodiola rosea*, *Gentiana asclepiadea*, *G. punctata*) стосовно компетентних клітин не пов'язаний з активністю лектинів цих рослин, а також із загальним вмістом вуглеводів та білків. Біологічно активні компоненти екстрактів *P. filicifolia*, *U. victoris*, *R. rosea* взаємодіють з білком OmpC зовнішньої мембрани клітинної оболонки кишкової палички *E. coli* і не взаємодіють з її іншими поверхневими структурами — ліпополівуглеводним комплексом, білками LamB та OmpA. Припускається, що виявлені ефекти є наслідком впливу всього комплексу як первинних, так і вторинних метаболітів вивчених рослин, і що і в еукаріотних системах первинний контакт компонентів вивчених рослинних екстрактів з клітинними структурами відбувається за принципом специфічної взаємодії речовини зі специфічним поверхневим рецептором (Дворник та ін., 2004; Мирюта А. и др., 2005; Перерва и др., 2007, 2009, 2010, 2010а, 2011, 2012, 2013).

Отримані результати мали практичний інтерес і були запатентовані (див.: Патент України на корисну модель № 42939. Спосіб вирощування культур промислових та лабораторних штамів *Escherichia coli* з використанням живильного середовища Лурія-Бертані / Перерва Т. П., Дворник А. С., Мирюта Г. Ю., Можилевська Л. П., Кунах В. А. — Зареєстровано 27.07.2009. Бюл. № 14, 2009 р.; Патент України на корисну модель № 42940. Спосіб вирощування культур промислових та лабораторних штамів *Escherichia coli* з використанням збагаченого живильного середовища на сольовій основі М9 / Перерва Т. П., Дворник А. С., Мирюта Г. Ю., Можилевська Л. П., Кунах В. А. — Зареєстровано 27.07.2009. Бюл. № 14, 2009 р.).

У цей же період я підготував і опублікував низку робіт з історії розвитку генетики в Україні. Це, зокрема, серія наукових статей, присвячених біографіям видатних учених - біологів, генетиків, селекціонерів, а також монографія «Розвиток генетики в Національній академії наук України» (Київ, Академперіодика, 2009). Розширений варіант цієї монографії видано у вигляді книги: Кунах В. А., Демидов С. В., Козерецька І. А., Толчій Н. М. Історія генетики в Україні. — К.: Фітосоціоцентр, 2009., де разом із співробітниками кафедри загальної і молекулярної генетики Київського національного університету імені Тараса Шевченка проаналізовано історичні дані становлення генетики і сучасний стан цієї науки в Україні.

У цілому, на мою думку, період 2006–2010 рр. був для відділу надзвичайно продуктивним. Зокрема, як уже відмічалось, співробітники відділу опублікували дві монографії, 5 статей в «Енциклопедії Сучасної України», 79 наукових статей у провідних вітчизняних та закордонних наукових журналах та збірниках, 35 тез та матеріалів доповідей на міжнародних конференціях як в Україні, так і за кордоном, отримано 9 патентів. Підготовлено і захищено виконані за наукового консультування В. А. Кунаха дві докторські дисертації (Вечернина, 2006; Дробик, 2009), а за його ж наукового керівництва — 6 кандидатських дисертацій (див. Кунах Віктор Анатолійович. Біобібліографічний покажчик... 2017, розділ «Дисертаційні роботи на здобуття наукового ступеня доктора/кандидата біологічних наук, виконані за науковою консультацією/керівництвом В. А. Кунаха»).

Важливими подіями вважаю те, що у 2007 р. Президія НАН України присудила мені у складі колективу авторів премію ім. М. Г. Холодного за роботу «Фіторесурси України: раціональне використання та біотехнологія» (автори — В. А. Кунах, А. П. Лебеда та В. Г. Собко), а також звання «Винахідник року НАН України». Хочу також відмітити, що співробітник відділу, кандидат біол. наук В. М. Мельник у 2008 р. отримав премію Президента України для молодих учених за цикл праць «Особливості еволюції рослинного і тваринного геному *in vitro*: дослідження на експериментальних моделях».

2011–2015 рр. — Молекулярно-екогенетичні та генетико-популяційні дослідження рослин-екстремофілів, зокрема *Deschampsia antarctica* Desv. Введення в культуру *in vitro* та мікроклональне розмноження цих рослин.

У цей період для відділу генетики клітинних популяцій було затверджено для виконання бюджетну тему «Вивчення генетичного поліморфізму і пластичності геному рослин в екстремальних умовах довкілля» (2011–2015), № державної реєстрації 0110U000689, а також один з розділів цільової програми наукових досліджень Відділення біохімії, фізіології і молекулярної біології НАН України «Функціональна геноміка і метаболоміка в системній біології» (проект «Структурна та функціональна геноміка для вивчення ряду проблем функціонування вірусів, бактерій, та вищих еукаріот») (2012–2016). Співробітники продовжували виконання проекту «Порівняльна геноміка у діагностиці генофонду деяких рідкісних видів рослин

України» у рамках цільової програми наукових досліджень комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України «Фундаментальні основи молекулярних та клітинних біотехнологій» (2010–2014). У 2011 р. у відділі генетики клітинних популяцій розпочато спільні з Національним антарктичним науковим центром МОН України роботи з виконання науково-технічних проєктів, спрямованих на виконання завдань та заходів Державної цільової науково-технічної програми проведення досліджень в Антарктиці на 2011–2020 рр., затвердженої постановою Кабінету Міністрів України від 3 листопада 2010 р. №1002, за напрямом «Біологічні дослідження». Продовжували започатковані ще у 2009 р. спільні з Інститутом охорони природи Польської АН екогенетичні, молекулярно-біологічні, цитогенетичні, генетико-популяційні дослідження наземних систем Антарктики. Зокрема, у 2009–2011 рр. виконували тему «Вплив змін навколишнього середовища на розповсюдження, кількість та різноманіття живих організмів наземних екосистем прибережної зони Антарктики», у 2012–2014 рр. — «Вивчення екогенетичних та популяційно-екологічних механізмів адаптації рослин до екстремальних умов довкілля», а у 2015–2017 рр. — «Адаптивні стратегії взаємодії організмів в екстремальних умовах довкілля». Виконували також деякі інші, «дрібніші», конкурсні проєкти, у тому числі один з проєктів третього спільного конкурсу Державного фонду фундаментальних досліджень і Російського фонду фундаментальних досліджень (конкурс Ф53) спільно з Санкт-Петербурзьким університетом, державний реєстр роботи 0113U002830, строки виконання 2011–2015. (У 2014 р. цю роботу припинено у зв'язку з агресією Росії проти України).

У ці роки дослідження співробітників відділу було сконцентровано на проблемах молекулярної екогенетики рослин, зокрема хромосомного та молекулярно-генетичного поліморфізму природних популяцій рослин, що зростають у різних екстремальних умовах (Антарктика, Памір, високогірні райони Карпат, посушливі регіони Степу тощо), дослідженні ролі та внеску пластичності геному, зокрема епігеномних змін, у процеси адаптації рослинних угруповань до змінних, у тому числі стресових, умов зростання. Ці напрями робіт були і є комплексними, проводяться у рамках міжнародного співробітництва з Польською академією наук, з провідними ученими у цій галузі із США, Великої Британії, Польщі, Росії, Німеччини тощо, а також у

співробітництві з лабораторією екогенетики і біотехнології Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка (завідувач лабораторії доктор біол. наук, професор Н. М. Дробик).

Хочу особливо підкреслити, що з метою вивчення наземних екосистем Антарктики співробітник відділу Іван Парнікоза, розпочинаючи з 2013 р., практично щорічно проводив дослідження в Антарктиці у складі сезонних експедицій Українського національного Антарктичного центру, вивчаючи, зокрема, флору на місцях її зростання і збираючи матеріал для лабораторних досліджень, що проводились і проводяться у відділі генетики клітинних популяцій ІМБГ НАН України. Співробітники І. О. Андреев, В. М. Мельник, І. Ю. Парнікоза збирали дослідний матеріал також у Карпатах і Степу під час короточасних літніх експедицій, організованих, переважно, за власні кошти дослідників.

Об'єктом досліджень відділу у даний період слугували природні популяції рослин, інтактні рослини та культури тканин видів роду тирлич, зокрема тирлич жовтий (*Gentiana lutea* L.), півник низький (*Iris pumila* L.), щучник антарктичний (*Deschampsia antarctica* Desv.), а також, у деяких дослідках, низка інших видів рослин, описаних вище. На перших етапах дослідження було охарактеризовано деякі аспекти екологічних умов зростання та популяційні параметри природних популяцій рослин *I. pumila*, *G. lutea* та *D. antarctica*.

Було вивчено п'ять природних популяцій *I. pumila*, географічне розміщення яких охоплює широти від південного Криму до північної межі поширення виду в Україні. Встановлено, що значна частина вивчених популяцій степової рослини півника низького *I. pumila* української флори внаслідок розорювання Степу ізольована від інших та малочисельна. У популяціях домінують дорослі генеративні екземпляри, насіннєве поновлення має нерегулярний характер. Така ситуація, що складається під впливом природних умов, додатково посилюється внаслідок постійного несприятливого впливу антропогенних чинників. Вид має вузьку екологічну амплітуду за низкою екологічних факторів, що становить потенційну загрозу для нього внаслідок приуроченості до зникаючих степових угруповань (Парнікоза, Бублик та ін., 2012, 2014; Бублик та ін., 2013; Андреев, Бублик та ін., 2015; Parnikoz et al., 2017).

Досліджено дев'ять популяцій *G. lutea* флори України (Українські Карпати), місцезростання яких

приурочені до схилів різної експозиції та крутизни у межах висот 1300–1930 м над р. м. Популяції *G. lutea*, які сформувалися в заповідній зоні та в умовах незначного затінення й задерніння ґрунту (полонина Лемська, гори Шешул–Павлик, Піп Іван), є нормальними повночленними. Їм властиві висока щільність, дифузне розташування особин, переважання генеративного розмноження над вегетативним. За віталітетною структурою вони є процвітаючими, а за індексом відновлення та класифікацією «дельта-омега» належать до молодих. Штучно створена популяція на г. Пожижевська характеризується переважанням іматурних особин у віковому спектрі, найвищими показниками щільності та індексу відновлення. Вона належить до молодих і процвітаючих. Помірне та інтенсивне пасторальне навантаження, а також затінення високими чагарниками й задерніння ґрунту щільнодернинними злаками призводить до зсуву піку чисельності особин на віргінільні (пол. Рогнеска, г. Петрос, г. Ворожеска) або до переважання рослин вегетативного походження (г. Трояска–Татарука, пол. Крачунеска); зміни характеру просторового розташування особин на компактно-дифузне або компактне, зниження щільності. Усе це в комплексі спричиняє зниження життєздатності популяцій і перехід їх до рівноважного (полонини Рогнеска та Крачунеска) або депресивного (гора Ворожеска) станів (Мосула та ін., 2013, 2014; Андреев, Бублик и др., 2015).

Щучник антарктичний *D. antarctica* — багаторічний злак, один із двох видів судинних рослин, поширених в Антарктиці — унікальному регіоні з особливо суворими умовами існування біологічних об'єктів. Генетична й біохімічна обумовленість таких ознак, як морозостійкість, стійкість до світлового стресу, високий рівень фотосинтезу за низьких температур та можливість існування в умовах підвищеної ультрафіолетової радіації робить згаданий вид надзвичайно цікавим об'єктом дослідження. Рослина не лише вегетує, а й вільно розмножується в цих екстремальних умовах (Parnikoza et al., 2007, 2015; Parnikoza, Kozeretska, Kunakh, 2011; Парнікоза и др., 2013; Парнікоза та ін., 2009, 2013; Ожередова та ін., 2015).

Зважаючи на практичну неможливість збору достатньої кількості природного рослинного матеріалу, несприятливі умови і складність проведення експериментів в Антарктиці, доцільним було введення цієї рослини в культуру *in vitro*. Наявність рослин *D. antarctica* в колекції *in vitro* надає можливість за потреби завжди мати матеріал для

вивчення цього виду без нанесення шкоди його природним популяціям. Проблему отримання достатньої кількості рослинного матеріалу було вирішено шляхом мікроклонування, а також підбором умов для індукції та росту культури тканин і рослин-регенерантів *D. antarctica*, що й було зроблено у цей період досліджень (Загричук та ін., 2011–2012, 2013). Паралельно такі самі дослідження проведено й з іншим об'єктом — півником низьким *I. pumila* (Твардовська, Кунах, 2013). У результаті визначено оптимальні умови та склад живильних середовищ для отримання проростків із насіння *in vitro* та подальшого культивування і мікроклонального розмноження рослин *I. pumila* та *D. antarctica*, а також індукції калюсоутворення та тривалого вирощування калюсних тканин і регенерантів цих видів *in vitro*. Отримані дані створили підґрунтя для вивчення особливостей генетичної мінливості у цих видів рослин в контрольованих умовах за дії окремих стресових чинників.

Проведено розробку ДНК-маркерів для дослідження генетичного поліморфізму вищезазначених екстремофільних видів рослин. У подальшому за допомогою спеціально підібраних ДНК-маркерів різних типів проведено аналіз генетичного різноманіття та генетичної структури популяцій вищезазначених видів рослин, обраних як модельні для дослідження особливостей генетичної мінливості рослин за дії стресових чинників доквілля (Твардовська та ін., 2009, 2010; Volkov et al., 2010; Bubyk et al., 2013; Mosula et al., 2015).

Аналіз отриманих даних дозволив встановити деякі особливості популяцій *G. lutea* в Українських Карпатах. Рівень генетичного поліморфізму досліджених популяцій *G. lutea* був подібним за показниками (P, He, S) до рівня генетичного поліморфізму популяцій *G. lutea* L. var. *aurantiaca* з Кантабрійських гір (останні — це літературні дані). За результатами ISSR-ПЛР розподіл загальної генетичної мінливості на між- та внутрішньопопуляційну у випадку карпатських популяцій України та у випадку популяцій, що зростають в Піренеях, був майже ідентичним (57 % / 43 % та 58 % / 42 % відповідно). Отримані значення показника індексу Шеннона на популяційному рівні для *G. lutea* були близькими до значень цього показника для рослин, які є ендеміками (0,200). Досліджені популяції умовно розділено на 3 групи: чорногірські (гори Шешул-Павлик, полонина Лемська, г. Гутин Томнатик), свидовецькі (пол. Крачунеска, г. Трояска-Татарука) і г. Пожижевська. Остання, яка є агропопуляцією, характеризується найни-

жчими показниками генетичного поліморфізму та найменшими генетичними відстанями між рослинами. Причиною цього, очевидно, був ефект засновника – для створення цієї популяції у 70-х роках ХХ століття було взято невелику кількість генотипів із популяції, яка знаходиться між вершинами гір Шешул та Павлик. Популяції *G. lutea* з хребта Чорногора характеризувалися дещо вищим рівнем генетичної гетерогенності, порівняно із свидовецькими. Найбільша в Українських Карпатах за площею і чисельністю популяція *G. lutea* на г. Шешул-Павлик, середня за розміром на пол. Лемська та мала популяція на г. Гутин Томнатик характеризувалися схожими високими показниками генетичного поліморфізму. Таким чином, у випадку виду *G. lutea* чітко проявилася закономірність, характерна для більшості рідкісних видів рослин, і видів, які перебувають під загрозою зникнення, а саме велика диференціація їх популяцій. *G. lutea* у цілому характеризується високим рівнем генетичної гетерогенності. Водночас, як свідчать результати аналізу молекулярної варіанси, значна частина її (65%) припадає на міжпопуляційні відмінності, а генетичне різноманіття окремих популяцій є порівняно низьким. Велика частка загальної генетичної мінливості, що припадає на відмінності між популяціями, є свідченням їх значної дивергенції і поступового генетичного збіднення. Отримані дані опубліковано в низці статей (Мосула та ін., 2013, 2014, 2014а, 2014б; Mosula et al., 2015). Значну частину цих даних було використано в кандидатській дисертації співробітниці Тернопільського національного педагогічного університету Мар'яни Мосули, яку вона захистила за спеціальністю 03.00.15 — генетика (Мосула, 2015), а також при підготовці практичних рекомендацій зі збереження та охорони популяції тирличу жовтого *G. lutea* (Мосула та ін., 2016).

Результати багаторічних всесторонніх досліджень різних видів тирличів з Українських Карпат — екологічних, молекулярно-біологічних, біохімічних, цитологічних, фізіологічних, отримання і вивчення їхніх культур тканин та органів, а також біотехнологічні аспекти, у тому числі технології отримання біологічно активних речовин тирличів, та обговорення цих результатів опубліковано в низці закордонних монографій та у вигляді оглядів результатів власних досліджень (Mel'nyk et al., 2014; Drobyk et al., 2015, 2015а, 2018; Kunakh, Mel'nyk et al., 2015).

Для дослідження генетичного різноманіття *I. pumila* використали рослини з п'яти природних популяцій, географічне розміщення яких охоплює широти від південного Криму до північної межі поширення виду в Україні. Для ПЛР-аналізу використали відібрані праймери різних типів, що давали багаті спектри ампліфікації, виявляли високий відсоток поліморфних фрагментів та мали достатню роздільну здатність. За результатами AMOVA розподіл генетичної мінливості між популяціями та в межах популяцій склав відповідно 24 % та 76 % за використання ISSR-праймерів, 33 % та 67 % за використання МГЕ- і 18 % та 82 % для LP-PCR-аналізу. Тобто, встановлено переважаючу внутрішньопопуляційну мінливість над міжпопуляційною, що є типовим для перехреснозайманих видів, до яких належить *I. pumila*. У цілому, диференціація між популяціями та регіонами є порівняно низькою, незважаючи на значні географічні відстані між ними. *I. pumila* має рівень генетичного різноманіття на внутрішньопопуляційному і на внутрішньовидовому рівнях близький або вищий порівняно з іншими видами роду. Зроблено висновок, що, незважаючи на статус уразливого, вид володіє достатніми генетичними ресурсами і має сприятливий прогноз щодо виживання та можливостей адаптації і сталого існування за відсутності значних змін довкілля і подальшого скорочення ареалу.

З метою пошуку зв'язку генетичного поліморфізму популяцій і умов зростання визначали коефіцієнти рангової кореляції Спірмена між частотами алелей у межах популяцій *I. pumila* та параметрами довкілля — географічною широтою, низкою температурних показників, показниками доступності вологи та радіаційного режиму. Для аналізу використано усереднені кліматичні дані для територій, де розташовані популяції. Встановлено невідповідний характер мінливості частот деяких алелей — 16,2 % ISSR-, 15,7 % МГЕ- та 9,8 % LP-PCR-локусів виявили достовірну кореляцію з варіюванням кліматичних параметрів місць зростання — температурними, доступності вологи, радіаційним режимом, а також географічною широтою.

Для з'ясування адаптивної складової у генетичній структурі популяцій було застосовано метод, що визначає локуси-аутсайтери, а саме локуси, які мають неочікувано високу або низьку генетичну диференціацію, тобто знаходяться під впливом добору або зчеплені з адаптивними генами. У п'яти популяціях *I. pumila* загалом

виявили 10,9 % аутсайдерів серед ISSR-, 12,2 % серед МГЕ- і 8,7 % серед LP-PCR-локусів. Результати дослідження можуть свідчити про адаптивний характер частини генетичної мінливості *I. pumila*, пов'язаний із добором найбільш пристосованих до певних кліматичних умов генотипів. Отже, поряд із стохастичними процесами нейтральної мінливості, тиск направлено добору відіграє значну роль у формуванні генетичної структури виду. Виявлені локуси можуть бути кандидатами для майбутнього дослідження з пошуку генів, пов'язаних із відповіддю на дію чинників довкілля та пристосуванням видів рослин до глобальних кліматичних змін. Отримані при вивченні півників експериментальні дані, їх аналіз та обговорення детально викладено в наступних публікаціях (Бублик та ін., 2013; Твардовська, Кунах, 2013; Парнікоза та ін., 2014; Bublik et al., 2013; Parnikova et al., 2017).

Для дослідження генетичного поліморфізму щучника антарктичного *D. antarctica* спочатку було використано рослини (зразки) з популяцій, розташованих у двох ділянках морської Антарктики, що відстоять одна від одної у довготному напрямі (північ-південь) приблизно на 350 км: 1) острови, що входять до складу Аргентинського архіпелагу та розташовані неподалік один одного на відстані від 0,5 до 18 км (о-ви Галіндез, Скуа, Ялур, Уругвай, Дарбо, Пітерман, Берселот, Расмуссен); 2) два з Південних Шетлендських островів, розташованих на відстані понад 100 км один від одного (о. Лівінгстон та о. Кінг Джордж). Для виділення ДНК використали рослини, отримані із насіння, пророщеного *in vitro*, та гербарний матеріал, зібраний під час Українських антарктичних експедицій.

Дослідження показало відмінності між двома групами зразків з району Аргентинських островів та Південних Шетлендів за показниками генетичного різноманіття, які дорівнювали, відповідно: частка поліморфних ампліконів (P) — 40,8 % і 53,9 %; індекс Шеннона (S) — $0,205 \pm 0,024$ і $0,264 \pm 0,025$; очікувана гетерозиготність (He) — $0,137 \pm 0,017$ і $0,175 \pm 0,017$; середні генетичні відстані Жакарда між рослинами в межах групи — 0,157 і 0,227. Отримані дані свідчать про відмінності за рівнем генетичного різноманіття між групами рослин, які зростають в різних широтах Антарктики, що може бути зумовлено відмінностями у локальних кліматичних умовах і, відповідно, у величині тиску добору. Аналіз молекулярної дисперсії (АМО-

ВА) показав, що на відмінності між двома групами рослин припадає трохи менше половини (48 %) загального генетичного різноманіття, тоді як решта (52 %) — на внутрішньопопуляційний поліморфізм, що свідчить про помірну диференціацію популяцій *D. antarctica*, зважаючи на велику відстань, яка їх розділяє. Генетична відстань за Nei, розрахована з частот алелей окремих локусів, для груп рослин з двох районів Антарктики, віддалених приблизно на 400 км, дорівнювала 0,180, а для двох популяцій з Південних Шетлендів, розташованих на відстані 110 км, — 0,147. Кореляція генетичних і географічних відстаней, визначена в тесті Мантела, становила 0,635. На дендрограмі, побудованій методом UPGMA, окремі генотипи *D. antarctica* згрупувалися у три виразних кластери, відповідно до їхнього місця зростання. Один з них включає рослини з району Аргентинського архіпелагу, два інших — рослини з двох різних островів Південних Шетлендів.

Детальніший аналіз розподілу зразків з окремих островних популяцій на дендрограмі показав відсутність чіткої диференціації ізольованих популяцій окремих островів, які можуть бути віддалені на відстань від 0,5 до 18 км, імовірно зумовлену інтенсивним обміном генетичним матеріалом між ними. Цей результат можна зрозуміти, якщо прийняти до уваги два факти. По-перше, один з шляхів розповсюдження *D. antarctica* в морській Антарктиці, який мабуть є переважним, — це рознесення рослини птахами, які використовують її як будівельний матеріал для гнізд, а саме домініканським мартином (*Larus dominicanus*). Це припущення знайшло своє підтвердження в орнітологічних дослідженнях складу гніздового матеріалу цього виду птахів, проведених за безпосередньої участі співробітників відділу в Антарктиці. По-друге, досліджені острови Аргентинського архіпелагу, на відміну від островів Південних Шетлендів, розташовані на значно меншій (в 5-20 разів) відстані один від одного, мають набагато меншу (в сотні і тисячі разів) площу і, відповідно, територію придатну для заселення *D. antarctica*, кількість та чисельність популяцій цієї рослини значно нижчі, що має спонукати птахів до збору рослинного матеріалу на більшій площі та перенесення зібраних рослин на більшій відстані. Інше можливе пояснення відсутності ознак дивергенції ізольованих островних популяцій — практично одночасне заселення їх у відносно

недавньому минулому (Парнікоза, Абакумов і др., 2014, 2015; Parnikoza, Rozhok et al., 2018).

Таким чином, з використанням низки молекулярних маркерів співробітниками відділу генетики клітинних популяцій встановлено порівняно низький рівень генетичного різноманіття *D. antarctica* в морській Антарктиці, помірну диференціацію груп рослин з двох віддалених в довготному напрямі районів та їх відмінності за рівнем генетичного різноманіття. Ці дані опубліковано в наступних роботах (Андреев і др., 2010; Андреев та ін., 2011–2012; Volkov et al., 2010; Navrotska et al., 2016).

Отримані результати популяційно-генетичних досліджень рослин-екстремофілів можливо підсумувати наступним чином.

На рівень генетичного різноманіття та генетичну структуру популяцій вивчених видів рослин в умовах фрагментації ареалу та скорочення чисельності можуть впливати різноманітні чинники, серед яких особливості біології, механізми розповсюдження виду (так звана «генетична рухливість»), час, що минув з моменту фрагментації ареалу та скорочення чисельності, і особливості локальних умов, які разом визначають глибину і спрямованість дивергенції популяцій, а також зміни внутрішньопопуляційного поліморфізму. Свій вклад можуть вносити також особливості ландшафтів, які поділяють залишкові популяції, завдяки здатності підтримувати обмін генетичним матеріалом між ними.

Було проведено також цитогенетичні дослідження вказаних видів рослин.

Цитогенетичний аналіз тирличу жовтого *G. lutea* з різних умов зростання показав, що його диплоїдний набір становить $2n = 40$, що збігається з літературними даними, отриманими на популяціях цього виду, які зростають в інших країнах (Mel'nyk et al., 2014). У результаті каріологічного аналізу клітин апікальної меристеми корінців проростків ірисів карликових *I. pumila* з різних екологічних територій України встановлено хромосомне число $2n = 32$, яке збігається з літературними даними, отриманими на інших популяціях цього виду. Проте значна частина вивчених проростків були міксоплоїдними — поряд із диплоїдними клітинами у таких проростках спостерігали й клітини з іншими числами хромосом. Розмах мінливості за числом хромосом у різних проростків був різним (від 16 до 50 хромосом). Варіабельність хромосомних чисел спостерігали як між окремими рослинами, так і в популяціях меристемних клітин індивідуальних рослин. Таким чином, цитогенети-

чний аналіз рослин *I. pumila* з території України показав наявність внутрішньовидового хромосомного поліморфізму. Виявлено також порівняно високий рівень анафазних аберацій хромосом (до 9,2%). Причиною відмінностей між вивченими популяціями за рівнем міксоплоїдії, а також за часткою анеуплоїдних клітин та відсотком анафазних аберацій можуть бути різні величини антропогенного навантаження та різниця у кліматичних умовах в місцях зростання, а також гібридне походження виду *I. pumila* (Твардовська та ін., 2014, 2015).

Цитогенетичний аналіз рослин щучника антарктичного *D. antarctica* з досліджених локалітетів Прибережної Антарктики виявив у каріотипах $2n = 26$ хромосом, розмір яких був у межах 3–10 мкм. Це збігається з літературними даними, отриманими для представників інших популяцій цього виду, зокрема для рослин *D. antarctica* з території Фолклендських островів та о. Кінг Джордж (Південні Шетлендські о-ви). Рослини *D. antarctica* з трьох локалітетів (о-ви Галіндез і Лехіл, мис Расмусен) були диплоїдами, вони мали набір з 26 хромосом. У деяких зразках із двох інших місць зростання цього виду (о-ви Дарбо і Ялур) виявлено міксоплоїдію. Так, розмах мінливості за числом хромосом у деяких рослин з о. Дарбо був у межах від 13 до 28 хромосом при $2n = 26$. Ця група рослин мала модальне хромосомне число 26 хромосом. Частка анеуплоїдних клітин складала від 7,7 до 26,7%. У інших рослин з о. Дарбо, поряд із клітинами з 26 хромосомами, виявлено метафази, які містили 27–29 хромосом, що зумовлено наявністю у каріотипі поряд із хромосомами основного набору (А-хромосоми) 1–3 додаткових (В хромосоми). Більшим був розмах мінливості за числом хромосом у рослин *D. antarctica* з о. Великий Ялур, він становив від 13 до 39 хромосом. У двох зразках модальний клас був 26 (диплоїдне число $2n = 26$); у третьому — його складали клітини, які мали 36 та 39 хромосом ($3n = 39$), поряд із якими були виявлені клітини з 37 та 38 хромосомами (Навроцька та ін., 2014; Navrotska et al., 2014). Молекулярно-генетичний аналіз із застосуванням поліморфних ISSR-маркерів показав, що відмінності між рослинами з різним числом хромосом не виходять за межі внутрішньопопуляційного поліморфізму, властивого рослинам із дослідженого регіону (Твардовська та ін., 2014а).

У спільних дослідках з працівниками кафедри анатомії і цитології рослин Сілезького університету, завідувач проф. Роберт Хастерок

(R. Hasterok, Катовіці, Польща) та лабораторії функціональної морфології хромосом Інституту молекулярної біології РАН, завідувач доктор біол. наук О. В. Муравенко (Москва, Росія) методами молекулярної цитогенетики з використанням молекулярних маркерів і методів диференційного забарвлення хромосом було встановлено, що каріотип *D. antarctica* з 38 хромосомами містить Робертсонівське злиття двох акроцентричних хромосом, тобто по суті такі клітини теж містять триплоїдний набір хромосом. У цих дослідженнях також вперше описано морфологію хромосом *D. antarctica* диплоїдних та триплоїдного каріотипів на основі сучасних методів молекулярно-цитогенетичного дослідження (Amosova et al., 2015).

Таким чином, у результаті цитогенетичних досліджень було виявлено нові, раніше невідомі форми хромосомного поліморфізму щучника антарктичного — наявність В-хромосом, поліплоїдних та міксоплоїдних форм рослин різних рівнів плоїдності. Наявність нових форм хромосомного поліморфізму у *D. antarctica*, що не були виявлені іншими дослідниками на Південних Шетлендських островах, імовірно, є результатом підвищеної нестабільності геному в суворіших умовах Аргентинських островів, розташованих на 350–400 км південніше (подроблиці див.: Навроцька та ін., 2014; Navrotska et al., 2014). Я схиляюсь до думки, що міксоплоїдія і поява у каріотипі В-хромосом є поширеною і, очевидно, адаптивною реакцією рослинного геному на стресові умови росту, як це описано для багатьох видів рослин і проаналізовано мною в низці публікацій (Кунах, 1995, 2005, 2008, 2010, 2011, 2013).

Підсумовуючи результати досліджень відділу генетики клітинних популяцій у період 2011–2015 рр., слід підкреслити наступне.

У результаті популяційно-генетичних досліджень із застосуванням методів цитогенетичного та молекулярно-біологічного аналізу вперше встановлено деякі особливості генетичної мінливості двох рідкісних видів флори України тирличу жовтого (*Gentiana lutea* L., Gentianaceae), півників низьких (*Iris pumila* L., Iridaceae) та рослини-аборигена Антарктики — щучника антарктичного (*Deschampsia antarctica* Desv., Poaceae) з популяції на південному краю його ареалу в Антарктиці. Рівень генетичного різноманіття та генетична структура популяцій досліджених видів в умовах фрагментації ареалу та скорочення чисельності знаходяться під

впливом низки чинників, серед яких особливості біології, механізми розповсюдження виду, історія формування популяцій і особливості локальних умов, які разом визначають глибину і спрямованість дивергенції популяцій, а також відмінності за рівнем внутрішньопопуляційного поліморфізму.

За показниками генетичного різноманіття, розрахованими для загальної вибірки рослин, найнижче генетичне різноманіття характерне для *D. antarctica*. *G. lutea* та *I. pumila* мають удвічі вищі показники генетичного поліморфізму за генетичними відстанями між особинами за Жакардом (D_{Jav}), водночас за показниками індекс Шеннона (S) та очікувана гетерозиготність (H_e) *G. lutea* переважає *I. pumila*, що свідчить про більшу кількість алелей з низькою частотою та нижчу імовірність зустрічі гетерозигот у останнього. Окремі популяції вивчених видів загалом мають значно нижчий рівень генетичного різноманіття порівняно із внутрішньовидовим, і це особливо помітно у *G. lutea*.

Аналіз кореляції між частотами алелей поліморфних ПЛР-локусів в окремих популяціях *I. pumila* та параметрами довкілля показав, що від 5 до 15 % локусів виявляють достовірний зв'язок з такими факторами довкілля, як доступність вологи, температурний і радіаційний режими. Для частини локусів кожного з типів виявлено кореляції одночасно з кількома параметрами довкілля, що імовірно пов'язано із взаємозв'язком останніх. За використання іншого методу статистичного аналізу, який дозволяє визначити локуси-аутсайтери, відмінності частот яких між популяціями вищі, ніж очікується за моделлю нейтральної еволюції, встановлено, що близько 6 % поліморфних ПЛР-локусів зазнають дії спрямованого добору та близько 7 % — стабілізуючого добору. Отримані дані вказують на те, що мінливість хоча б частини з аналізованих поліморфних локусів має адаптивний характер. Отже, додатково до стохастичних процесів нейтральної мінливості тиск добору відіграє значну роль у формуванні генетичної структури виду.

У цілому за період 2011–2015 рр. за результатами наукових досліджень співробітниками відділу опубліковано 2 монографії (Кунах В. А. Онтогенетическая пластичность генома как основа адаптивности растений. — Жебраковские чтения. III. Минск : Право и экономика, 2011 та Кунах В. А. Мобільні генетичні елементи і пластичність геному рослин. — Київ :

Логос, 2013), 4 розділи у двотомній монографії: The *Gentianaceae*. V.1. Characterization and Ecology. J. J. Rybczynski et al. (eds). Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg. — 2014 та The *Gentianaceae*. V. 2. Biotechnology and applications. J. J. Rybczynski et al. (eds). Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg. — 2015 (див.: Mel'nyk et al., 2014; Drobyk et al., 2015, 2015a; Kunakh, Mel'nyk et al., 2015); понад 80 наукових статей у провідних вітчизняних та закордонних наукових журналах та збірниках та 36 тез і матеріалів доповідей на міжнародних конференціях як в Україні, так і за кордоном, отримано 6 патентів України та Російської Федерації. У даний період було виконано і захищено кандидатську дисертацію Іриною Конвалюк «Культура тканин і органів *Gentiana lutea* L. та *Gentiana pneumonanthe* L.: отримання і молекулярно-генетична характеристика» за спеціальністю 03.00.20 — біотехнологія.

У 2012 р. двом співробітникам відділу — О. М. Бублик та І. Ю. Парнікозі — було присуджено премію Президента України для молодих учених за роботу «Біорізноманіття та адаптаційні механізми рослин і тварин до екстремальних умов довкілля», а у 2015 р. Президія НАН України присудила В. А. Кунаху премію ім. С. М. Гершензона за монографію «Мобільні генетичні елементи і пластичність геному рослин. — Київ : Логос, 2013».

2016–2019 рр. — Продовження вивчення особливостей структурно-функціональної мінливості геному рослин в екстремальних умовах зростання.

У 2016 р. розпочато виконання нової бюджетної теми «Мінливість геному рослин в екстремальних умовах зростання» (2016–2020 рр.), державний реєстраційний номер роботи 0115U003743. Продовжуються також дослідження у рамках Державної цільової науково-технічної програми проведення досліджень в Антарктиці на 2011–2020 рр., а також спільні з Інститутом охорони природи Польської АН екогенетичні дослідження наземних екосистем Антарктики за темою «Адаптивні стратегії взаємовиживання організмів в екстремальних умовах довкілля» (2015–2017 рр.).

У процесі виконання цих робіт спільно із співробітниками кафедри генетики Саратовського федерального університету, завідувач проф. В. С. Тирнов (Росія), вивчали можливі адаптації системи репродукції щучника *D. antarctica* і колобантуса *Colobanthus quitensis*

(Kunth) Bartl. до несприятливих умов середовища. Провели також порівняльний цитоембріологічний аналіз рослин *D. antarctica*, що зростали в районі Аргентинських островів (Морська Антарктика), з рослинами спорідненого виду *D. beringensis* Hult. з півострова Камчатка (Росія). Встановлено, що обидва види характеризуються статевим способом репродукції, подібним розміром пилкових зерен, однаковими особливостями будови зародкових мішків, процесів ембріо- та ендоспермогенезу. Міжвидові відмінності стосувалися розміру зрілих мегагаметофітів ($326,8 \pm 12,8$ і $161,7 \pm 10,4$ мкм відповідно), ступеню дефектності пилку ($86,1 \pm 8,9$ і $35,3 \pm 9,2$ %) і його кількості у пиляках ($140 \pm 15,3$ і $1578 \pm 88,6$). Якихось унікальних адаптацій системи репродукції, притаманних виключно *D. antarctica*, не виявили. Репродуктивна стратегія виду базується на сполученні автогамії (і її крайньої форми клейстогамії) з утворенням надлишкової для даного способу запилення кількості пилку. Виявлені ембріологічні особливості *D. antarctica* дозволили констатувати, що забезпечення стійкості і надійності статевого способу репродукції у цього виду ґрунтується на універсальних для всіх живих систем принципах: резервування (надлишковість) структур і поліваріантність процесів. Слід підкреслити, що ембріологічні ознаки відносяться до числа найстабільніших і тих, що найменше змінюються у процесі еволюції. Очевидно, саме це є основною причиною не лише подібності ембріології близькоспоріднених видів *D. antarctica* і *D. beringensis*, але й того, що адаптація системи насінневого розмноження рослин *D. antarctica* відбувається, в основному, за рахунок зміни лабільнішої ознаки — способу запилення (Юдакова і др., 2012, 2016).

Вивчили також адаптаційні особливості системи насінневого розмноження іншого аборигена Антарктики — єдиної для цього регіону дводольної рослини колобантуса *C. quitensis*. Вперше досліджено рослини, що зростають на острові Дарбо в центральній частині Морської Антарктики. Встановлено, що у вивчених рослин тип розвитку і будова зародкових мішків, пилкових зерен, зародка і ендосперму є типовими для родини Saurophyllaceae. Разом з тим виявлено деякі біологічні і ембріологічні особливості, що сприяють досягненню репродуктивного успіху колобантуса в умовах Антарктики. Це короткий вегетаційний період, клейстогамія, формування зав'язей із сидючими приймочками, оперкулула сім'язачатків і

багатоклітинного суспензора зародків. Виявлені адаптації не є унікальними для колобантуса, й ними складно пояснити ексклюзивність поширення даного виду в дослідженому регіоні. Крім того, низькі температури у період вегетації не дозволяють рослинам повністю реалізувати свій репродуктивний потенціал. У вивчених рослин дегенерувало від 10,2 до 64,5 % пилку в пиляках і 21,8 % сім'язачатків (Юдакова и др., 2017).

Продовжували вивчати особливості динаміки зведеного латентного показника пристосованості (ЗЛПП) популяцій *D. antarctica* о. Галіндез (Аргентинські о-ви, Морська Антарктика), на якому знаходиться Українська антарктична станція «Академік Вернадський». Для шести дослідних популяцій впродовж п'яти послідовних років (2012–2017 рр.) проводили дослідження (отримали набір експертних оцінок) проективного покриття, морфометричних показників (довжина листка, довжина суцвіття, довжина квітки, кількість квіток у суцвітті) і вмісту окремих фракцій запасних та захисних білків насіння. Проективне покриття виявилось показником, який не зазнає швидких змін: перші два роки досліджень він змінювався незначно, останні три роки — практично не змінювався. Довжина листка та інші морфометричні показники (довжина суцвіття, довжина квітки, кількість квіток у суцвітті) є мінливими показниками, відповідно до мікроумов зростання та загальних кліматичних умов конкретного сезону. Усі досліджені популяції характеризувалися якісно подібними профілями динаміки частки різних білків, проте відрізнялися за кількісними значеннями частки кожного з них. За математично обрахованим значенням ЗЛПП вивчені популяції утворили три групи по дві популяції в кожній — група, в якій тренд проходить через максимум, група, в якій тренд проходить через мінімум та група, в якій тренд описує коливальний процес. У результаті ми висловили припущення, що тренд кожної дослідженої популяції за ЗЛПП може виявитись коливальним з різними періодом та фазою коливань. Це надає можливість для їх адекватного порівняння з трендами динаміки кліматичних показників, що вже й розпочали робити співробітники відділу спільно із співробітниками Національного Антарктичного наукового центру (Мірюта Н. та ін., 2015, 2017; Парнікоза та ін., 2018).

Спільно із співробітниками лабораторії екології та біотехнології Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка

вивчали мутагенну дію іонів кадмію на *D. antarctica* із використанням генетично ідентичних рослин, отриманих мікроклональним розмноженням *in vitro*. Досліджували вплив Cd^{2+} у діапазоні концентрацій 0,1–10 мМ. Встановили, що рослина-екстремофіл *D. antarctica*, у якій внаслідок адаптації до існування в жорстких умовах Прибережної Антарктики сформувались механізми стійкості до різноманітних стресових впливів, характеризується підвищеною стійкістю до іонів кадмію порівняно із іншими видами судинних рослин. Пригнічення росту відбувається при концентраціях Cd^{2+} від 0,1 мМ і вище, а припинення росту та загибель рослин — за концентрацій 1 мМ і вище. Мутагенний вплив на *D. antarctica* виявлено при концентраціях Cd^{2+} вище 0,4 мМ. За тривалого вирощування рослин (впродовж 3–8 місяців) в присутності 0,1–0,4 мМ іонів кадмію генетичних змін методом ПЛР-аналізу з різними молекулярними маркерами не знайдено (Спірідінова та ін., 2016).

Спільно із співробітниками лабораторії функціональної морфології хромосом Інституту молекулярної біології ім. В. А. Енгельгардта РАН (м. Москва) проведено порівняльне молекулярно-цитогенетичне вивчення рослин, отриманих з природного насіння семи видів роду *Deschampsia*, що зростають в обох півкулях Землі, а саме *D. antarctica*, *D. cespitosa*, *D. danthonioides*, *D. flexuosa*, *D. elongata*, *D. parvula*, *D. sukatschewii*. Встановлено, що хоча поліплоїдія і гібридизація відіграють важливу роль у видоутворенні, процеси реорганізації геному видів *Deschampsia* під час еволюції скоріше за все пов'язані з різними типами хромосомних перебудов, зокрема транслокаціями і Робертсонівськими злиттями хромосом. Унікальний каріотип *D. antarctica* зазнав значних хромосомних перебудов (порівняно з *D. cespitosa*). Каріотип *D. parvula* з Фолклендських островів є найбільш близьким (з деякими варіаціями) до *D. antarctica* і теж значно відрізняється від ядра роду. Виявлені відмінності в каріотипі *D. danthonioides* (Північна Америка) вказують на необхідність проведення порівняльного молекулярно-цитогенетичного аналізу популяцій *D. cespitosa* з різних місцезростань, зокрема, з різних континентів або з північної і південної півкуль. Каріотип *D. flexuosa* істотно відрізняється від решти досліджених видів; однак присутність загальних повторів ДНК в хромосомах показує, що цей вид пов'язаний з комплексом *D. cespitosa* або вони мають спільного предка (Amosova et al., 2017). Вважаю, що отримані результати допоможуть

з'ясувати взаємозв'язки в межах роду *Deschampsia*, що може бути основою для подальших генетичних і біотехнологічних досліджень, досліджень закономірностей змін каріотипу за отримання і вирощування культури тканин і мікроклонального розмноження, а також для вивчення мезанізмів толерантності рослин до екстремальних середовищ існування.

Проаналізовано культивовані тканини, отримані від рослин щучника *D. antarctica* з різним числом хромосом: диплоїдів ($2n = 26$), міксоплоїда з диплоїдним модальним класом і наявністю В-хромосом ($2n = 26 + 1-3B$), міксоплоїда з білятриплоїдним модальним класом ($2n = 36, 38$). В калюсних тканинах усіх рослин 2–4-го пасажів виявлено міксоплоїдію, наявність поліплоїдних і анеуплоїдних клітин. Модальний клас в усіх досліджених культурах тканин формували диплоїдні клітини та анеуплоїдні клітини з білядиплоїдним набором хромосом. Встановлено залежність цитогенетичної структури клітинних популяцій калюсних тканин від особливостей каріотипу рослини-донора. Найбільший розмах мінливості за числом хромосом (від 18 до 63) мали клітини калюсної культури, отриманої від диплоїдної рослини ($2n = 26$) походженням з острова Галіндез, а найвищу частоту поліплоїдних (близько 47 %) та анеуплоїдних клітин — культура тканин міксоплоїдної рослини з білятриплоїдним модальним класом з острова Великий Ялур (Кунах, Навроцька та ін., 2016).

З метою встановлення придатності розробленої раніше методики мікроклонального розмноження для отримання генетично однорідного матеріалу *D. antarctica*, методом ПЛР-аналізу з використанням ISSR-маркерів і цитогенетичного аналізу досліджено генетичну мінливість рослин у процесі мікроклонального розмноження та вирощування отриманих клонів *in vitro*. Вивчено клональне потомство рослин, які відрізнялися за молекулярно-генетичними маркерами й цитогенетичними характеристиками, зокрема за числом хромосом (див. вище, а також Навроцька та ін., 2014; Navrotska et al., 2014). Порівняльним аналізом рослин на різних етапах розмноження (1–6-й, 24–26-й, 49–79-й пасажі, або цикли мікроклонального розмноження) не виявлено генетичних відмінностей між клонами спільного походження й вихідним генотипом за ISSR-маркерами. Встановлено також збереження цитогенетичних характеристик рослин (Спірідонова та ін., 2016). У подальших дослідженнях було показано, що рослини щучника

антарктичного за мікроклонального розмноження в розроблених умовах *in vitro* зберігають й інші свої властивості. Це, зокрема, збереження унікальності за комплексною пристосовуваністю різних генотипів (Мірюта Н. та ін., 2016).

У цілому отримані результати підтвердили, що розроблена методика забезпечує збереження генетичних і біохімічних характеристик *D. antarctica* в процесі тривалого культивування *in vitro* і може бути використана для отримання генетично однорідного рослинного матеріалу. Більшість подальших дослідів проводили на мікроклонально розмножених рослинах щучника різних генотипів, перш за все з різними цитогенетичними характеристиками. Значна частина отриманих результатів лягла в основу кандидатської дисертації співробітниці Тернопільського національного педагогічного університету Оксани Загричук «Отримання культури *in vitro* *Deschampsia antarctica* Desv. та її фізіолого-генетичне вивчення», що вона її підготувала і захистила за спеціальністю 03.00.20 — біотехнологія (Загричук, 2017).

Продовжували дослідження з рослинами роду півники *Iris*. Зокрема, провели підбір умов для введення в культуру *in vitro* двох видів: *Iris attica* та *I. pseudopumila* — для отримання асептичних проростків з наступною реінтродукцією в природне середовище, а також цитогенетичний аналіз отриманих рослин. Отримали асептичні проростки, які активно росли на середовищі МС/2 без фітогормонів. Проведені експерименти з адаптації досліджених видів до умов закритого ґрунту виявили високий рівень приживання рослин. Встановлено хромосомне число $2n = 16$ для рослин обох видів. Рослини характеризувалися міксоплоїдією, рівень якої для *I. pseudopumila* становив 10,9 %, а для *I. attica* — 30,4 %. Анафазний аналіз виявив 2,6 % клітин з хромосомними порушеннями у клітинах меристеми корінців проростків *I. pseudopumila*, у *I. attica* хромосомних перебудов не виявлено (Твардовська та ін., 2018).

Проведено всесторонній комплексний аналіз рослин щучника з різним числом хромосом. Зокрема вивчали з використанням молекулярно-цитогенетичних, морфометричних та біохімічних методів різні хромосомні форми, включаючи диплоїди ($2n = 26$), гіпотриплоїди ($2n = 36 - 38$) і генотип, що містив В-хромосому ($2n = 26 + 0-1B$). FISH-аналіз виявив варіації в кількості ділянок рДНК між диплоїдними і гіпотриплоїдними рослинами. Розмір геному варіював серед

рослин з різним числом хромосом і становив в середньому 10,88 пг/2С для диплоїдів і 16,46 пг/2С для гіпотриплоїдів. Середні значення довжини листків рослин, вирощених *in vitro*, варіювали в межах 5,23–9,56 см. Загальний вміст фенолів становив від 51,10 до 105,40 мг/г, а загальний вміст флавоноїдів становив від 1,22 до 4,67 мг/г. Кількість фенольних сполук в листках вивчених рослин між генотипами істотно не відрізнялася, а вміст флавоноїдів був дещо відмінним у одного з диплоїдів і у генотипу з В-хромосоною. Диплоїди з різних островів не відрізнялися значно між собою за кількістю локусів рДНК, але дещо відрізнялися за розміром їхніх геномів. Рослини, що несуть хромосому В, були подібні до інших диплоїдів за розміром їхнього генома, але статистично відрізнялися більшою довжиною листків. Гіпотриплоїд мав як більшу кількість сайтів рДНК, так і більший розмір геному. Не було виявлено статистичних кореляцій між розміром геному і довжиною листків, або розміром геному і накопиченням фенольних сполук і флавоноїдів. Результати цього дослідження свідчать про те, що вивчені рослини *D. antarctica*, що походять з південного краю ареалу виду, характеризуються неоднорідністю досліджених параметрів, тобто є гетерогенними практично за всіма вивченими параметрами (Мірjuta та ін., 2017; Парнікоза, Мірjuta та ін., 2017; Пороннік та ін., 2017; Navrotska et al., 2018), відрізняються різні генотипи і на рівні анатомії листків (Nuzhyna et al., 2018).

Методом ISSR- та IRAP-ПЛР аналізу показано, що генетичні дистанції між вивченими рослинами *D. antarctica* з різних островів за Жаккардом були у межах 0,1803–0,0323, причому відмінності між зразками з нетиповим каріотипом та диплоїдами не перевищували відмінності всередині групи диплоїдів. Рослини з різним числом хромосом відрізнялися за довжиною листка та ефективністю калюсоутворення. Отримані дані вказують на існування зв'язку між числом хромосом, дослідженими морфометричними параметрами та ефективністю калюсоутворення у проаналізованих рослин *D. antarctica*. (Навроцька та ін., 2017). На основі значної частини отриманих і викладених вище даних Дар'я Навроцька підготувала і захистила кандидатську дисертацію «Мінливість геному *Deschampsia antarctica* Desv. у природі та в культурі *in vitro*» за спеціальністю 03.00.22 — молекулярна генетика (Навроцька, 2018).

Продовжували вивчати поліморфізм природних популяцій як щучника, так і тирличів за допомогою різних молекулярних маркерів. Зокрема, дослідили поліморфізм міжгенного спейсера генів 5S рибосомної ДНК рослин *G. acaulis*, *G. lutea* та *G. asclepiadea*, зібраних з природних місць зростання в Україні. Визначили нуклеотидну послідовність клонованих ПЛР-фрагментів НТС генів 5S рДНК цих видів. Порівняльним аналізом отриманих даних та послідовностей, наявних у GenBank для інших видів тирличів, встановили особливості будови ділянки НТС генів 5S рДНК низки представників роду. На основі послідовності НТС 5S рДНК побудували філограму видів роду тирлич. Зробили висновок про те, що еволюція послідовності НТС гена 5S рДНК досліджених азійських та європейських видів роду відбувалася незалежно в різних напрямках упродовж тривалого періоду, наслідком чого стала значна їх дивергенція за цією ознакою. Крім того, у досліджених видів встановлено тенденцію до збільшення довжини міжгенного спейсера: лише в одного виду вона становить трохи більше 200 п.н., у решти — від 300 до 500 п.н. (Андрєєв, Мельник та ін., 2017).

Спільно із співробітниками кафедри молекулярної генетики та біотехнології Чернівецького національного університету ім. Ю. Федьковича, завідувач проф. Р.А. Волков, продовжували вивчати молекулярну організацію 5S рибосомної ДНК *D. antarctica* та можливість застосування 5S рДНК як молекулярного маркера для вивчення впливу на генетичний поліморфізм таких факторів еволюції як ізоляція, міграція та адаптація до нових умов навколишнього середовища. З цією метою клонували цю геномну область та розшифрували її послідовність для рослин з трьох популяцій цього виду з Морської Антарктики. Було показано, що в геномі *D. antarctica* присутні щонайменше два структурних класи 5S рДНК, які відрізняються численними замінами нуклеотидних основ і вставками/делеціями у міжгенному спейсері. На основі цього структурного поліморфізму ми запропонували застосовувати цю ділянку для оцінки внутрішньовидової генетичної різноманітності *D. antarctica* (Іщенко та ін., 2018; Ishchenko et al., 2018). Такі дослідження наразі активно проводяться для різних видів родів *Deschampsia* та *Gentiana* спільно з співробітниками Чернівецького національного університету та Тернопільського національного педагогічного університету.

Спільно з співробітниками Інституту харчових технологій і геноміки НАН України (директор акад. НАН України Я. Б. Блюм) вперше провели вивчення поліморфізму довжини інтронів генів тубуліну у щучника з різних регіонів морської Антарктики. У цих досліджах не вдалося виявити будь-яких відмінностей між вивченими острівними популяціями *D. antarctica* за довжиною ПЛР-продуктів. Жоден із застосованих варіантів методу аналізу поліморфізму генів тубулінів (ТВР, h-ТВР, c-ТВР та c-ТВР із специфічними праймерами) не виявив поліморфізму в дослідженій вибірці рослин. Це ще раз підтвердило низький рівень молекулярно-генетичного різноманіття *D. antarctica* з досліджених популяцій двох віддалених регіонів морської Антарктики (Рабоконт та ін., 2017). Проведені пізніше детальніші дослідження інтронів β-тубулінових генів для декількох віддалених одна від однієї популяцій щучника антарктичного морської Антарктики показали, що перший інтрон гена β-тубуліну містить маркери, здатні розрізнити субпопуляції *D. antarctica* субпопуляцій в морській Антарктиці. Ми зробили висновок, що послідовність інтрона 1 гена β-тубуліну можна використовувати для більш детальних генетико-популяційних досліджень щучника антарктичного (Rabokon et al., 2018).

Було розпочато дослідження геному *D. antarctica* із використанням методів біоінформатики. Зокрема, вперше для *D. antarctica* ідентифіковані *in silico* два гени, що кодують стрес-індуковані транскрипційні фактори з групи DREB2, залучені до регуляції експресії генів відповіді на абіотичні стреси. У нуклеотидній послідовності *DaDREB2B* виявлено відмінності, які передбачають можливість виключення консервативного для багатьох генів-ортологів інших злаків механізму регулювання експресії шляхом альтернативного сплайсингу. Нефункціональна в інших злаків конститутивна форма транскрипта цього гена у *D. antarctica* перетворилася на функціональну внаслідок однонуклеотидної заміни, що привела до утворення нового старт-кодону. Зроблено висновок, що виявлена мутація потенційно забезпечує конститутивну експресію захисних генів регулону *DaDREB2B* та може бути одним з проявів адаптації виду до екстремальних умов довкілля (Бублик та ін., 2016, 2016а). Наразі дослідження генів, що можуть забезпечувати високу толерантність щучника до низки абіотичних чинників

довкілля у відділі інтенсифікуються і поглиблюються.

За результатами екологічних, екогенетичних, фізіологічних, цитогенетичних, біохімічних, біотехнологічних досліджень виконавець цих робіт Іван Парнікоза підготував і подав до захисту у 2019 р. докторську дисертацію «Екологічні механізми адаптації щучника антарктичного (*Deschampsia antarctica* E. Desv.) за зміни кліматичних умов Антарктики» за спеціальністю 03.00.16 — екологія, а молоді виконавці Ірина Конвалюк та Мар'яна Твардовська отримали премію Президента України для молодих учених 2016 року «За наукові засади збереження і відновлення флористичного різноманіття».

Варто також згадати, що я продовжував публікувати статті з історії генетики і, зокрема, з історії розвитку генетики клітинних популяцій (Кунах, 2017, 2018), підготував низку статей до Великої Української Енциклопедії, Енциклопедії Сучасної України, а також кілька статей до ювілеїв видатних генетиків, селекціонерів, біотехнологів, до інших наукових ювілеїв.

Хочу підкреслити, що, розпочинаючи з 2002 р., коли мене обрали першим віцепрезидентом Українського товариства генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова (УТГіС), а особливо з 2007 р. і донині, коли я є президентом УТГіС, саме співробітники відділу генетики клітинних популяцій ІМБГ забезпечують на громадських засадах організаційну і науково-організаційну роботу УТГіС. Це перш за все забезпечення регулярного виходу в світ друкованих органів Товариства — наукового журналу «Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів» і збірника наукових праць «Фактори експериментальної еволюції організмів», які затверджені МОН України як фахові видання, організація і проведення щорічних Міжнародних конференцій «Фактори експериментальної еволюції організмів», з'їздів УТГіС тощо.

Наразі відділ генетики клітинних популяцій налічує, після низки скорочень в останні роки, 11 наукових співробітників, а саме: В. А. Кунах, завідувач відділу, доктор біол. наук, проф., член-кор. НАН України; І. О. Андрєєв, провідний науковий співробітник, кандидат біол. наук; старші наукові співробітники, кандидати біол. наук О. М. Бублик, В. М. Мельник, І. Ю. Парнікоза, О. О. Пороннік, М. О. Твардовська; наукові співробітники, кандидати біол. наук І. І. Конвалюк та Д. О. Навроцька; наукові співробітники А. Ю. Мірюта та Л. П. Можилевська.

Основною метою відділу на наступні 3–5 років є дослідження на рівні геному реакції та потенційних механізмів адаптації рослин до екстремальних умов довкілля в природі та в експерименті. Наразі зміни клімату та посилення антропогенного навантаження на природу визнаються людством як загроза № 1, а одними із головних завдань визначено поглиблене вивчення і збереження генетичного (біологічного) різноманіття та пошук шляхів стабілізації сільськогосподарського рослинництва в змінних (усе частіше — стресових) умовах довкілля. На перший план виходить вивчення особливостей генотипової і фенотипової стабільності і пластичності рослин, стратегії адаптації як популяцій, так і окремих рослинних організмів в онтогенезі до несприятливих змін довкілля. Важливість вивчення генетичного поліморфізму разом із структурними та функціональними змінами геному рослин в екстремальних умовах зростання зумовлена тим, що саме там, за посиленої дії і постійного впливу стресових чинників довкілля, найвиразніше виявляються особливості адаптації організму до несприятливих умов. Дослідження в цьому напрямі дозволять наблизитися до розуміння механізмів пластичності геному рослин на хромосомному і молекулярному рівнях, виявити особливості його структурних і функціональних змін у відповідь як на певні стресові чинники, так і на сукупність несприятливих умов зростання. Це дасть можливість як оцінювати і враховувати, так і цілеспрямовано змінювати параметри стабільності і пластичності рослинного організму та у перспективі створювати нові форми рослин із заданими властивостями, зокрема, форми рослин, стійких до різких кліматичних змін та інших стресових чинників.

Досліди *in vitro* дозволять не лише розмножувати унікальні генотипи, а й вивчати реакцію різних генотипів на стрес, їхню стабільність/пластичність за впливу будь-якого окремого стресового чинника чи їх комбінації у контрольованих умовах. Ці дослідження нададуть можливість не лише констатувати, а й прогнозувати як мінливість генофонду конкретного виду (екотипу, організму) за зміни екологічних умов, так і моделювати стратегію популяції за дії конкретного екологічного чинника. Крім того, вирощування рослин і тканин *in vitro* дозволить отримувати у потрібній кількості біомасу рідкісних рослин, що зростають в екстремальних умовах у природі. Біохімічний аналіз та вивчення біологі-

чної дії складових цієї біомаси з подальшою метою її використання як можливого джерела біологічно активних речовин, перспективних для застосування як лікувальних і профілактичних засобів у медицині, косметології, як БАД, є і буде ще одним з напрямів роботи відділу.

Підсумок

Відділ генетики клітинних популяцій Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, створений у 1988 р., був першою на теренах СРСР і до цих пір є науковою структурою, що розробляє наукові основи теорії клітинних популяцій, генетичні і фізіолого-біохімічні основи біотехнології рослин, перш за все лікарських рослин, впроваджує свої розробки як у біотехнологічну промисловість у вигляді технологій отримання біологічно активних речовин із біомаси культивованих клітин і штамів-продуцентів, так і у вигляді рекомендацій, підручників, програм наукових курсів для ВНЗ і аспірантів тощо. На цей час співробітниками відділу опубліковано 14 підручників, монографій та рекомендацій, 15 статей в Енциклопедії Сучасної України та Великої Української Енциклопедії, 16 розділів в англійськомовних закордонних монографіях, понад 350 статей в наукових журналах, книгах та збірниках наукових праць, понад 300 тез і матеріалів наукових конференцій, отримано 49 патентів і авторських свідоцтв на винаходи, підготовлено у відділі і захищено 6 докторських і 26 кандидатських дисертацій. У низці книг та наукових статей викладено розроблені у відділі генетичні основи генетики і еволюції клітинних популяцій як в культурі *in vitro*, так і в інтактних організмах (див., зокрема, Кунах, 2000, 2001, 2002, 2003, 2005, 2011, 2013, 2017, 2018; Kunakh, 1996, 2013).

На основі теоретичних розробок у відділі отримано низку клітинних штамів-продуцентів цінних лікарських рослин та розроблено технології їх вирощування, які наприкінці 1980-х — у 1990-х рр. впроваджено в біотехнологічну промисловість України, Росії, Литви, Казахстану. На основі розроблених у відділі технологій промисловими підприємствами було налагоджено випуск медичних препаратів «Біоженьшень» та «Аймалін», а також низку товарів для косметичної промисловості та БАД на основі біомаси культур тканин женьшень, родіоли рожевої, полісціасу папоротелистого, унгернії Віктора.

За наукові досягнення співробітникам відділу присуджено Державну премію України у

галузі науки і техніки 2005 р. (В. А. Кунах); 3 премії Президента України для молодих учених — 2008 р. (В. М. Мельник), 2012 р. (О. М. Бублик, І.Ю. Парнікоза), 2016 р. (І.І. Конвалюк, М. О. Твардовська). Президія НАН України присудила В. А. Кунаху 3 премії імені видатних учених України — премію ім. В. Я. Юр'єва за 2002 р., премію ім. М. Г. Холодного за 2007 р., премію ім. С. М. Гершензона за 2015 р. Низка співробітників відділу нагороджені дипломами, грамотами та іншими відзнаками Президії НАН України та Національного Антарктичного наукового центру, низки державних установ та громадських наукових і екологічних організацій тощо.

Основним напрямом діяльності відділу залишається вивчення особливостей структурно-функціональної мінливості геному рослин у природі та в клітинних популяціях *in vitro* як основи адаптації до змінних умов існування, спрямоване на дослідження реакції рослинного організму та популяцій рослин на несприятливі умови довкілля у природі та в умовах експерименту. Ведеться пошук шляхів регуляції цієї мінливості з метою розробки молекулярно-генетичних та фізіолого-біохімічних основ біотехнології рослин, створюються клітинні штамми-продуценти, перспективні як нове джерело цінної лікарської сировини, а також технології отримання цієї сировини. Науково-дослідна робота концентрується переважно на рідкісних і цінних видах рослин, що зростають у природних екстремальних умовах — в умовах Антарктики, на високогір'ї, у посушливому антропогенно переважаному Степу.

Нині зусилля співробітників відділу спрямовані на подальше поглиблене вивчення особливостей відповіді генофонду рослинних популяцій і реакції геному окремих рослин на хромосомному і молекулярному рівнях на дію стресових чинників довкілля, на молекулярно-генетичні та еколого-генетичні дослідження особливостей рослинних популяцій в екстремальних умовах зростання, на пошук молекулярних механізмів адаптації рослин до стресових умов зростання, а також на подальшу розробку теоретичних основ біотехнології рослин і конкретних технологій отримання біотехнологічним шляхом біологічно активних речовин рослинного походження, важливих, зокрема, для медичної, харчової і косметичної промисловостей.

Перелік літератури

1. *Адноф Д. М.* Вплив умов вирощування на стабільність геному клітинних штамів *Rauwolfia serpentina* Benth.: автореф. дис. ... канд. біол. наук. (03.00.22 — молекулярна генетика). Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, К., 2008. 20 с.
2. *Адноф Д. М., Спирідонова К. В., Андреев І. О., Кунах В. А.* Стан геному клітинних штамів-продуцентів *Rauwolfia serpentina* Benth. після більше десяти років культивування. В кн.: Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології. В. А. Кунах та ін. (ред.). Київ. Логос. 2007. Т. 2. С. 437–440.
3. *Ал-Аммурі Юссеф.* Відпрацювання технології глибинного вирощування калюсних тканин раувольфії зміїної *Rauwolfia serpentina* Benth. — продуцента індолінових алкалоїдів: автореф. дис. ... канд. біол. наук. (03.00.20 — біотехнологія). Інститут молекулярної біології і генетики НАН України. К. 2006. 20 с.
4. *Алпатова Л. К., Кунах В. А.* Получение клеточных линий раувольфии змеиной, устойчивых к некоторым физиологически активным веществам и их продуктивность. VI съезд Украинского общества генетиков и селекционеров им. Н. И. Вавилова. (Полтава, 1991). Тезисы докладов. Киев, АН Украины. 1992. Т. 3. С. 116.
5. *Алхимова Е. Г.* Генетическое и физиолого-биохимическое изучение высокопродуктивных штаммов культивируемых клеток *Rauwolfia serpentina* Benth.: автореф. дис. ... канд. биол. наук. (03.00.15 — генетика). Інститут фізіології рослин і генетики АН УРСР. К. 1990. 16 с.
6. *Алхимова Е. Г., Кунах В. А., Бузук Г. Р.* Уровень дифференциации клеток и синтез алкалоидов в культурах клеток мака *Papaver bracteatum*. *Цитология*. 1992. Т. 34, № 9. С. 48.
7. *Андреев І. О.* Дослідження крупноблокової фрагментації ДНК в препаратах клітинних ядер: автореф. дис. ... канд. біол. наук. (03.00.03 — молекулярна біологія). Інститут молекулярної біології і генетики НАН України. К. 1997. 20 с.
8. *Андреев І. О., Адноф Д. М., Спирідонова Е. В., Кунах В. А.* Стабильность генома высокопродуктивных клеточных линий раувольфии змеиной при длительном выращивании *in vitro*. *Доповіді НАН України*. 2007. № 10. С. 147–152.
9. *Андреев І. О., Бублик Е. Н., Мосула М. З., Спирідонова Е. В., Дробык Н. М., Кунах В. А.* Влияние фрагментации ареала на генетическое разнообразие растений на примере двух редких видов флоры Украины *Gentiana lutea* L. и *Iris pumila* L. 3б.: Фактори експериментальної еволюції організмів. 2015. Т. 17. С. 284–289.
10. *Андреев І. О., Волков Р. А., Козерецька І. А., Парнікоза І. Ю., Спирідонова К. В., Кир'яченко С. С., Майданюк Д. М., Кунах В. А.* Географічний градієнт генетичного поліморфізму *Deschampsia antarctica* Desv. із Прибережної Антарктики. *Український ан-*

- тарктичний журнал. 2011–2012. № 10–11. С. 282–288.
11. Андреев І. О., Мельник В. М., Мирюта Г. Ю., Кунах В. А. Поліморфізм міжгенного спейсера генів 5S рРНК деяких видів роду *Gentiana*. Зб.: *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2017. Т. 20. С. 42–46.
 12. Андреев І. О., Солов'ян В. Т., Кунах В. А. Дослідження структурно-функціональної організації ядерної ДНК рослин за допомогою імпульсного електрофорезу. В кн.: *Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть*. В. В. Моргун та ін. (ред). Т. 1. Київ : Логос. 2001. С. 141–150.
 13. Андреев І. О., Солов'ян В. Т., Спиридонова Е. В., Кунах В. А. Особенности доменной организации субтеломерных областей хроматина ржи. *Доповіді НАН України*. 2001а. № 4. С. 165–170.
 14. Андреев І. О., Спиридонова Е. В., Кирьяченко С. С., Парникоза І. Ю., Майданюк Д. Н., Волков Р. А., Козерецька І. А., Кунах В. А. Популяционно-генетический анализ *Deschampsia antarctica* из двух регионов приморской Антарктики. *Вестник Московского университета, сер. 16, биология*. 2010. № 4. С. 88–91. (Andreev I. O., Spiridonova E. V., Kuryachenko S. S., Parnikozha I. Yu., Maidanyuk D. N., Volkov R. A., Kozeretcka I. A., Kunakh V. A. Population-genetic analysis of *Deschampsia antarctica* from two regions of Maritime Antarctica. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*. 2010. V. 65, N 4. P. 208–210).
 15. Андреев І. О., Спиридонова К. В., Кунах В. А. Перестройки рослинного геному в культурі *in vitro*. *Біополімери і клітина (Biopol. Cell)*. 2004. Т. 20, № 1–2. С. 42–49.
 16. Андреев І. О., Спиридонова Е. В., Кунах В. А., Солов'ян В. Т. Старение и утрата всхожести семян ржи сопровождается уменьшением фрагментации ядерной ДНК по границам петлевых доменов. *Физиология растений*. 2004. Т. 51, № 2. С. 269–277. (Andreev I. O., Spiridonova E. V., Kunakh V. A., Solov'yan V. T. Aging and loss of germination in rye seeds is accompanied by a decreased fragmentation in nuclear DNA at loop domain boundaries. *Russian Journal Plant Physiol.* 2004. V. 51, N 2. P. 241–248).
 17. Андреев І. О., Спиридонова Е. В., Майданюк Д. Н., Кунах В. А. Генетические эффекты культивирования *in vitro* тканей кукурузы. *Физиология и биохимия культ. растений*. 2009. Т. 41, № 6. С. 487–495.
 18. Андреев І. О., Спиридонова К. В., Мельник В. М., Кунах В. А. Міжвидовий поліморфізм та зміни в культурі *in vitro* генів 5S рРНК у представників роду Тирлич (*Gentiana* L.). *Доповіді НАН України*. 2004а. № 6. С. 189–192.
 19. Андреев І. О., Спиридонова Е. В., Солов'ян В. Т., Кунах В. А. Эндогенное расщепление ядерной ДНК на высокомолекулярные фрагменты на ранних этапах роста растений кукурузы. *Доповіді НАН України*. 2000. № 1. С. 173–177.
 20. Андреев І. О., Спиридонова Е. В., Солов'ян В. Т., Кунах В. А. 18S-25S рДНК некоторых видов рода *Rauwolfia*: межвидовой полиморфизм и перестройки в культуре *in vitro*. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2004а. Т. 2, № 2. С. 163–170.
 21. Баренбойм Г. М., Чекман І. С., Голота Л. Г., Кунах В. А. Информационное письмо. Выпуск I по проблеме «Фармакология». О стимулирующем и адаптогенном действии экстракта элеутерококка жидкого. Утверждено РПК «Фармакология». Протокол № 2 от 16.09.1986 г. Заведующему отделом здравоохранения облисполкома. Киев. 1987. 4 с.
 22. Бублик О. М. Особливості соматональної мінливості угернії Віктора (*Ungernia victoris* Vved. ex Artjuschenko): автореф. дис. ... канд. біол. наук. (03.00.15 — генетика). Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України. К. 2009. 20 с.
 23. Бублик Е. Н., Адонин В. И., Кунах В. А. Цитогенетическая изменчивость клеточных линий *Ungernia victoris* при выращивании на питательных средах различного состава. *Цитология и генетика*. 2008а. Т. 42, № 1. С. 29–36. (Bublyk E. N., Adonin V. I., Kunakh V. A. Cytogenetic variability of cell lines of *Ungernia victoris* grown in nutrient media of different compositions. *Cytol. Genet.* 2008а. V. 42, N 1. P. 23–29.)
 24. Бублик О. М., Андреев І. О., Кунах В. А. Ідентифікація та аналіз *in silico* генів транскрипційних факторів DREB2 у *Deschampsia antarctica* Desv. Зб.: *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2016. Т. 19. С. 202–207.
 25. Бублик О. М., Андреев І. О., Кунах В. А. Біоінформаційне передбачення генів індукованих холодом транскрипційних факторів CBF/DREB1 та DREB4 у *Deschampsia antarctica* Desv. *Український антарктичний журнал*. 2016а. № 15. С. 81–95.
 26. Бублик О. М., Андреев І. О., Парникоза І. Ю., Троїцька Т. Б., Кунах В. А. Комплексна оцінка стану популяцій *Iris pumila* L. України. Зб.: *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2013. Т. 13. С. 18–23.
 27. Бублик О. М., Андреев І. О., Спиридонова К. В., Кунах В. А. Мінливість морфогенної та неморфогенної культури тканин *Ungernia victoris* за результатами RAPD-аналізу. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2008б. Т. 6, № 1. С. 44–51.
 28. Бублик О. М., Андреев І. О., Спиридонова К. В., Кунах В. А. Соматональна мінливість *Ungernia victoris*. необхідність комплексного генетичного аналізу. *Біополімери і клітина (Biopol. Cell)*. 2008в. Т. 6, № 6. С. 487–493.
 29. Бублик О. М., Андреев І. О., Спиридонова К. В., Кунах В. А. Мінливість ПЛР-маркерів на основі генів стійкості до хвороб та відповіді на абіотичний стрес в культурі тканин *Ungernia victoris*. Зб.: *Фактори експериментальної еволюції*. 2011. Т. 11. С. 213–218.
 30. Бублик О. М., Андреев І. О., Спиридонова К. В., Можилевська Л. П., Кунах В. А. Вивчення геномної мінливості культури тканин *Ungernia victoris* за до-

- помогою RAPD-маркерів. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2006. Т. 4, № 1. С. 3–11.
31. Бублик О. М., Андреев І. О., Спіридонова К. В., Можилевська Л. П., Кунах В. А. Живильні середовища для культивування *in vitro* тканин *Ungernia victoris* Vved. ex Artjuschenko. *Біотехнологія (Biotechnologia Acta)*. 2011а. Т. 4, № 6. С. 68–73.
 32. Бублик Е. Н., Андреев І. О., Спіридонова Е. В., Можилевская Л. П., Кунах В. А. Получение генетически однородного материала унгернии Виктора (*Ungernia victoris* Vved. ex Artjuschenko) путем микрклонального размножения. Сб.: Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры. В. Н. Решетников и др. (ред.). Минск. 2012. Ч. 2. С. 380–383.
 33. Бублик О. М., Андреев І. О., Спіридонова К. В., Музика В. І., Колоніна І. В., Кунах В. А. Генетична гетерогенність рідкісного ендемічного виду *Ungernia victoris* (*Amaryllidaceae*): RAPD-аналіз. *Український бот. журнал*. 2008. Т. 65, № 3. С. 445–452.
 34. Буйдин В. В. Сравнительное изучение особенностей действия некоторых полиплоидогенных веществ: автореф. дис. ... канд. биол. наук (03.00.15 — генетика). Институт молекулярной биологии и генетики АН УССР. К. 1980. 22 с.
 35. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. М., Наука, 1964, 272 с.
 36. Бух И. Г. Взаимодействие трансдуцирующего бактериофага λ с растительной клеткой: автореф. дис. ... канд. биол. наук (03.00.03 — молекулярная биология). Институт молекулярной биологии и генетики АН УССР. К. 1984. 20 с.
 37. Вахтин Ю. Б., Гужова И. В., Николаева Л. А., Кунах В. А. Гетерогенность культуры ткани раувольфии змеиной по содержанию аймалина. *Цитология*. 1985. Т. 27, № 6. С. 717–720.
 38. Вечернина Н. А. Каллусогенез и регенерационная способность тканей чайного растения (*Camelia sinensis* L.) *in vitro*: автореф. дис. ... канд. биол. наук (03.02.02 — биохимия, 03.01.08 — физиология и биохимия растений). Институт биохимии растений им. С. Дурмишидзе АН Грузии. Тбилиси. 1993. 26 с.
 39. Вечернина Н. А. Сохранение биологического разнообразия редких, исчезающих видов, уникальных форм и сортов растений методами биотехнологии: автореф. дис. ... докт. биол. наук (03.00.05 — ботаника, 03.00.12 — физиология и биохимия растений). Центральный сибирский ботанический сад СО РАН. Новосибирск, 2006. 32 с.
 40. Вечернина Н. А., Таварткиладзе О. К., Кутубидзе В. В., Мезенцев А. В., Кунах В. А. Использование методов культуры клеток, тканей и органов в селекции чайного растения. В сб.: *Вегетативное размножение высокопродуктивных сортов и клонов чая*. Озургети — Анасеули: ВНПО ЧСК и ЧП. 1989. С. 112–126.
 41. Войтюк Л. И., Губарь С. И., Кунах В. А. Введение элеутерококка (*Eleutherococcus senticosus* Rupr. et Maxim) в культуру тканей. Всесоюзная конференция «Новые направления биотехнологии». (3–5 октября 1988 г. Пущино). Тезисы докладов. С. 82–83.
 42. Войтюк Л. И., Губарь С. И., Кунах В. А. Получение культуры элеутерококка как возможного источника адаптогенов. Вторая республиканская конференция по медицинской ботанике. (Киев). Тезисы докладов. Киев. 1988а. С. 108.
 43. Губарь Е. К., Кунах В. А. Изменения в распределении гетерохроматина в хромосомах диплоидных клеток *Crepis capillaris* L. Wallr. в культуре *in vitro*. *Доклады АН УССР, серия Б*. 1988. № 9. С. 66–69.
 44. Губарь Е. К., Кунах В. А. Кариотипическая изменчивость культивируемых клеток скерды (*Crepis capillaris* L. Wallr). *Генетика*. 1992. Т. 28, № 6. С. 51–61.
 45. Губарь О. К. Вивчення каріотипічної мінливості клітин рослин на прикладі *Crepis capillaris* L. Wallr та *Zea mays* L.: автореф. дис. ... канд. біол. наук (03.00.15 — генетика). Інститут фізіології рослин і генетики АН України. К. 1992. 16 с.
 46. Губарь С. И. Рострегулирующая активность производных и аналогов урацила: автореф. дис. ... канд. биол. наук (03.00.12 — физиология растений). Институт физиологии растений и генетики АН УССР. К. 1989. 16 с.
 47. Губарь С. И., Алхимова Е. Г., Лазуркевич З. В., Кунах В. А. Содержание нуклеиновых кислот и белков в клеточных штаммах *Rauwolfia serpentina* Benth. *Физиология растений (Russian Journal Plant. Physiol.)* 1988а. Т. 35, № 1. С. 113–121.
 48. Губарь С. И., Гулько Т. П., Кунах В. А. Биосинтез фенольных гликозидов в интактном растении и адаптированной к условиям роста *in vitro* культуре тканей элеутерококка колючего. IV Всесоюзная научная конференция: «Экологическая генетика растений, животных, человека». (Кишинев, 20–21 ноября 1991 г.) Тезисы докладов. Кишинев, Штиинца. 1991. С. 408.
 49. Губарь С. И., Гулько Т. П., Кунах В. А. Получение и некоторые особенности культивируемых *in vitro* клеток элеутерококка колючего *Eleutherococcus senticosus*. *Биотехнология*. 1992. № 3. С. 28–31.
 50. Губарь С. И., Гулько Т. П., Кунах В. А. Накопление гликозидов в культуре тканей и в растении женьшеня *Panax ginseng*. *Цитология*. 1992а. Т. 34, № 9. С. 65.
 51. Губарь С. И., Гулько Т. П., Кунах В. А. Культивируемые клетки аралиевых: получение, накопление вторичных метаболитов, перспективы. Научно-практическая конференция «Перспективы создания и производства лекарственных средств в Украине». (Одесса, 4–8 октября 1993 г.). Тезисы докладов. Харьков. 1993. С. 21–22.
 52. Губарь С. И., Гулько Т. П., Кунах В. А. Накопление вторичных метаболитов в культивируемых клетках аралиевых. II Российский симпозиум «Новые методы биотехнологии растений». (Пущино, 18–20 мая 1993 г.) Тезисы докладов «Plant biotechnology and

- molecular biology». Пуцино, 1993а. — С. 127. (Gubar S. I., Gulko T. P., Kunakh V. A. Accumulation of secondary metabolites in cultured Araliaceae cells. In: Plant Biotechnology and Molecular Biology. Abstr. Second symposium «Trends in plant biotechnology», (Russia, May 18-20, 1993. Pushchino). 1993а. С. 368).
53. Губар С. І., Гулько Т. П., Кунах В. А. Порівняльне вивчення накопичення глікозидів у культурі клітин та інтактних рослинах аралієвих на прикладі *Panax ginseng* і *Eleutherococcus senticosus*. II з'їзд Українського товариства фізіологів рослин. (Київ). 1993б. Тези доповідей. Т. І. С. 51.
 54. Губарь С. И., Гулько Т. П., Кунах В. А. Рост и накопление гликозидов в каллусной культуре тканей женьшеня при длительном воздействии экзогенных фитогормонов. *Физиология растений*. 1997. Т. 44, № 1. С. 97–103. (Gubar' S. I., Gulko T. P., Kunakh V. A. Growth and glycoside accumulation in ginseng callus tissue culture under a longterm action of exogenous phytohormones. *Russian Journal Plant Physiol.* 1997. V. 44, N 1. P. 83-89.)
 55. Губарь С. И., Константинова Е. П., Кунах В. А. Количественное определение индольных алкалоидов в культивируемых клетках раувольфии с использованием микроколоночной хроматографии. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 1990. Т. 6, № 3. С. 78–80.
 56. Губарь С. И., Лазуркевич З. В., Кунах В. А. Количественное определение суммарных нуклеиновых кислот в культуре ткани и интактных растениях *Rauwolfia serpentina* Benth. В кн: *Методы молекулярной биологии*. К.: Наукова думка. 1986. С. 165–169.
 57. Губарь С. И., Шаламай А. С., Лазуркевич З. В., Усенко Л. С., Кунах В. А. Сравнительное изучение рострегулирующей активности производных урцила и его 6-азааналога. Сб.: *Физиологически активные вещества*. К.: Наукова думка. 1988. Вып. 20. С. 46–49.
 58. Гулько Т. П., Губарь С. И., Кунах В. А. Цитогенетическая и биохимическая характеристики культуры тканей элеутерококка. VI съезд Украинского общества генетиков и селекционеров им. Н. И. Вавилова. (Полтава, 1991). Тезисы докладов. Киев, АН Украины. 1992. Т. 3. С. 145–146.
 59. Дворник А. С. Дослідження антимутагенних властивостей екстрактів біомаси культивованих клітин деяких лікарських рослин: автореф. дис. ... канд. біол. наук (03.00.15 — генетика). Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України. К., 2001. 16 с.
 60. Дворник А. С., Дуган О. М., Кунах В. А. Антимутагенна дія екстрактів із біомаси культивованих клітин деяких лікарських рослин. *Доповіді НАН України*. 1999. № 7. С. 166–169.
 61. Дворник А. С., Перерва Т. П., Кунах В. А. Антимутагенна дія рослинних екстрактів у тест-системі *Escherichia coli* — бактеріофаг λ в умовах *in vitro*. *Доповіді НАН України*. 2000. № 7. С. 188–190.
 62. Дворник А. С., Перерва Т. П., Кунах В. А. Скринінг препаратів, отриманих із культури тканин лікарських рослин, на антимутагенну активність у системі *Escherichia coli* — бактеріофаг λ . *Цитология и генетика (Cytol. Genet)*. 2002. Т. 36, № 2. С. 3–10.
 63. Дворник А. С., Перерва Т. П., Кунах В. А. Антимутагенез як система захисту організму від ушкоджуючих факторів ендogenous та екзогенного походження. *Цитология и генетика (Cytol. Genet)*. 2004. Т. 38, № 5. С. 62-71.
 64. Дворник А. С., Перерва Т. П., Можилевська Л. П., Кунах В. А. Вивчення активності рослинних екстрактів у системі нестабільних мутантів *Escherichia coli*. *Цитология и генетика (Cytol. Genet)*. 2004а. Т. 38, № 4. С. 9–13.
 65. Дворник А. С., Перерва Т. П., Мойса Л. М., Кунах В. А. Використання системи *Escherichia coli* — бактеріофаг λ для вивчення антимутагенної дії рослинних екстрактів. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 2000а. Т. 16, № 1. С. 69–74.
 66. Дробик Н. М. «Фізіолого-біохімічні та генетичні основи біотехнології рослин видів роду *Gentiana* L.: автореф. дис. ... докт. біол. наук (03.00.20 — біотехнологія). Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, К., 2009. 40 с.
 67. Дробик Н. М., Конвалюк І. І., Мельник В. М., Твардовська М. О., Кунах В. А. Мінливість геному деяких видів *Gentiana* L. на перших етапах вирощування *in vitro*: RAPD-аналіз. Зб.: *Фактори експериментальної еволюції*. 2011. Т. 11. С. 248–252.
 68. Дубровна О. В. Мінливість геному буряків (*Beta vulgaris* L.) за інбридингу та в культурі *in vitro*: автореф. дис. ... докт. біол. наук (03.00.15 — генетика). Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, К., 2005. 41 с.
 69. Дуган О. М., Бариляк І. Р., Нестер Т. І., Дворник А. С., Кунах В. А. Дослідження антимутагенної активності екстрактів із біомаси культивованих клітин деяких лікарських рослин у тесті Еймса. *Цитология и генетика (Cytol. Genet)*. 1999. Т. 33, № 6. С. 19-25.
 70. Жук І. П., Кунах В. А., Грабченко Н. І. Влияние вируса табачной мозаики на митотическую активность и хромосомный аппарат культуры клеток томата. *Цитология и генетика (Cytol. Genet)*. 1985. Т. 19, № 5. С. 331–334.
 71. Загричук О. М. Отримання культури *in vitro* *Deschampsia antarctica* Desv. та її фізіолого-генетичне вивчення: автореф. дис. ... канд. біол. наук (03.00.20 — біотехнологія). Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ, 2017. 22 с.
 72. Загричук О. М., Герц А. І., Дробик Н. М., Кунах В. А. Калюсогенез та регенерація рослин *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae) в культурі *in vitro*. *Biotechnology Acta*. — 2013. V. 6, N 6. P. 77–85.
 73. Загричук О. М., Дробик Н. М., Козерецька І. А., Парнікоза І. Ю., Кунах В. А. Введення в культуру *in vitro* *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae) з двох

- регіонів Прибережної Антарктики. *Український антарктичний журнал*. 2011-2012. № 10-11. С. 289-295.
74. Зарнадзе Н. Ж. Введение в культуру *in vitro* и получение соматоклональных вариантов актинидии (*Actinidiaceae*): автореф. дис. ... канд. биол. наук (03.01.01 — биология клетки и биология развития). Институт биохимии растений им. С. Дурмишидзе АН Грузии. Тбилиси, 1994. 26 с. (грузинською мовою).
 75. Зарнадзе Н. Ж., Кунах В. А. Регенерация растений в культуре соматических тканей актинидии *deliciosa* и *chinensis*. *Субтропические культуры*. 1994. № 1-2. С. 1-11.
 76. Зарнадзе Н. Ж., Кутубидзе В. В., Кунах В.А. Получение каллусных тканей от актинидии *chinensis* и *deliciosa*. *Субтропические культуры*. 1993. № 1-2. С. 17-24.
 77. Захленюк О. В. Изучение цитогенетических эффектов производных азотистых оснований и их аналогов в культуре тканей растений.: автореф. дис. ... канд. биол. наук. (03.00.15 — генетика). Институт молекулярной биологии и генетики АН УССР. К. 1987. 16 с.
 78. Захленюк О.В., Алексеева И.В., Чернецкий В.П., Кунах В.А. Влияние кинетина и глиацидина на культуру тканей табака. В кн: *Культура клеток растений и биотехнология*, М.: Наука. 1986. С. 37-41.
 79. Захленюк О.В., Кунах В.А. Цитофизиологические и цитогенетические эффекты производных аденина в культуре тканей *Naplorappus gracilis*. *Физиология растений (Russian Journal Plant. Physiol.)* 1987. Т. 34, № 3. С. 584-593.
 80. Захленюк О.В., Кунах В.А., Лазуркевич З.В., Костенюк И.А. Цитофизиологические и цитогенетические эффекты производных 6-азаурацила и 6-азацитидина в культуре тканей гаглопаппуса. *Физиология и биохимия культ. растений*. 1986а. Т. 18, № 5. С. 493-501.
 81. Захленюк О.В., Лазуркевич З.В., Кунах В.А., Губарь С.И., Шаламай Г.П., Усенко Л.С., Шаламай А.С. Ростостая активность 5-урацилил-тиоуреидоглюкозы (тиацила). *Физиология и биохимия культ. растений*. 1985. Т. 17, №4. С. 343-351.
 82. Зосимович В.П., Кунах В.А. Частота, типы и происхождение аберраций хромосом в культуре тканей растений. *Генетика*. 1975. Т. 11, № 6. С. 37-46.
 83. Зосимович В.П., Левенко Б.А., Кунах В.А., Лавриненко Л.Ю. Культура пыльников *Nicotiana tabacum in vitro*. Сообщение I. Цитогенетический анализ растений, образовавшихся из пыльников. *Генетика*. 1974. Т. 10, №6. С. 30-36.
 84. Зосимович В. П., Левенко Б. А., Кунах В. А., Юркова Г. Н. Цитогенетическое изучение каллусных тканей томата от растений различной пloidности. В кн.: *Культура клеток растений*. Р.Г. Бутенко и др. (ред.). К.: Наукова думка, 1978. С. 97-104.
 85. Капица О. С., Зуева Л.В., Винецкий Ю. П., Лихачев В. Т., Бух И. Г., Кунах В. А., Легайда В. С., Машута С. С. Природа β-галактозидазы в культуре клеток табака в связи с экспериментами по трансгенезу Lac⁺ признака *Escherichia coli*. *Доклады АН СССР*. 1979. Т. 245, №2. С. 465-468
 86. Каухова И.Е., Кунах В.А., Легайда В.С., Воллосевич А.Г. Цитологическое изучение высокопродуктивной клеточной линии *Rauwolfia serpentina* Benth. при глубинном выращивании. *Цитология и генетика (Cytol. Genet)*. 1981. Т. 15, № 3 С. 33-37.
 87. Кнутова Ю. Ф., Андреев I. О., Спиридонова К. В., Мирюта Н. Ю., Адонін В. I., Кунах В. А. Особливості змін геному *Strepis capillaris* в культурі *in vitro* на цитологічному та молекулярному рівні. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2006. Т. 4, № 1. С. 40–52.
 88. Кнутова Ю. Ф., Мирюта Н. Ю., Адонін В. I., Кунах В. А. Порівняльне дослідження морфометричних параметрів хромосом інтактних рослин та культури тканин *Strepis capillaris* L. *in vitro*. Зб.: *Фактори експериментальної еволюції організмів*. — Київ : Аграрна наука. 2003. С. 351-356.
 89. Конвалюк I. I. Культура тканин і органів *Gentiana lutea* L. та *Gentiana pneumonanthe* L.: отримання та молекулярно-генетична характеристика: автореф. дис. ... канд. біол. наук (03.00.20 – біотехнологія). Інститут молекулярної біології та генетики НАН України. К. 2011. 20 с.
 90. Конвалюк I. I., Грицак Л. Р., Мельник В. М., Дробик Н.М., Кунах В.А. Отримання та характеристика культури ізольованих коренів рослин роду Тирлич (*Gentiana* L.). *Біотехнологія (Biotechnologia Acta)*. 2011. Т. 4, № 3. С. 29-35.
 91. Конвалюк I.I., Кравець Н.Б., Дробик Н.М., Мельник В.М., Кунах В.А. Прямий органогенез *in vitro* тирличу жовтого (*Gentiana lutea* L.). *Біотехнологія (Biotechnologia Acta)*. 2010. Т. 3, № 5. С. 66-73.
 92. Конвалюк I.I., Мельник В.М., Дробик Н.М., Кравець Н.Б., Твардовська М.О., Кунах В.А. RAPD- та ISSR-аналіз генетичної мінливості у культурі тканин та органів тирличу звичайного *Gentiana pneumonanthe* L. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2011а. Т. 9, № 1. С. 22-31.
 93. Костенюк И.А., Любарец О.Ф., Кунах В.А. Ритмика митотической активности и содержания ядерной ДНК в культуре тканей мака прицветникового (*Papaver bracteatum* Lindl.). *Цитология и генетика (Cytol. Genet)*. 1993. Т. 27, № 6. С. 32-30.
 94. Кузина Е.Н., Кузовкина И.Н., Свидченко А.И., Кунах В.А. Физиологическая характеристика каллусной ткани руты, автотрофной по ростовым веществам. *Физиология растений (Russian Journal Plant. Physiol.)* 1986. Т. 33, №3. С. 551-558.
 95. Кунах В.А. Цитогенетическая характеристика культуры ткани гаглопаппуса. В кн.: *Культура изолированных органов, тканей и клеток растений*. Р.Г. Бутенко (ред.). М.: Наука. 1970. С. 155-158.
 96. Кунах В.А. Цитогенетическая разнокачественность штаммов листового и стеблевого происхождения культуры тканей *Naplorappus gracilis* (Nutt.) Gray.

- Цитология и генетика (Cytol. Genet)*. 1971. Т. 5, №3. С. 241-249.
97. Кунах В.А. Цитогенетическое изучение клеточных популяций в культуре изолированных тканей растений: дис. ... канд. биол. наук (03.00.15 – генетика). Институт молекулярной биологии и генетики АН УССР – К., 1974. 176 с.
98. Кунах В.А. О связи между плоидностью штаммов *Strepis capillaris* и *Harporarpus gracilis* и спонтанным органогенезом. *Цитология и генетика (Cytol. Genet)*. 1974а. Т. 8, № 4. С. 303-308.
99. Кунах В. А. Полиплоидия в культуре клеток *in vitro* и ее возможные причины. В кн.: Экспериментальная полиплоидия у культурных растений. В.П. Зосимович и др. (ред). К.: Наукова думка, 1974б. С. 39-57.
100. Кунах В.А. Цитогенетическое изучение клеточных популяций в культуре изолированных тканей растений: автореф. дис. ... канд. биол. наук (03.00.15 – генетика). Киевский государственный университет им. Т.Г. Шевченко — К., 1975. 24 с.
101. Кунах В.А. Изменчивость числа хромосом в онтогенезе высших растений. *Цитология и генетика (Cytol. Genet)*. 1978. Т. 12, №2. С. 160-173.
102. Кунах В.А. Геномная изменчивость соматических клеток растений и факторы, регулирующие этот процесс. *Цитология и генетика (Cytol. Genet)*. 1980. Т.14, № 1. С. 73-81.
103. Кунах В.А. Особенности структурного мутагенеза в популяциях культивируемых (клеток растений). Сб.: *Успехи современной генетики*. Н.П. Дубинин (ред.). 1984. Вып.12, М., Наука. С. 30-62.
104. Кунах В.А. Изменчивость и отбор в популяциях культивируемых клеток растений: дис. ... докт. биол. наук (03.00.15 – генетика). Для служебного пользования. Институт молекулярной биологии и генетики АН УССР – К., 1987. – 379 с. + приложение (микротографии) - 95 с.
105. Кунах В.А. Изменчивость и отбор в популяциях культивируемых клеток растений: автореф. дис. ... докт. биол. наук (03.00.15 – генетика). Для служебного пользования. Институт цитологии и генетики СО АН СССР. Новосибирск. 1988. 32 с.
106. Кунах В.А. Создание высокопродуктивных клеточных штаммов раувольфии, перспективных в качестве источника препаратов, нормализующих сердечную деятельность. I Всесоюзная конференция по направлению «Генная и клеточная инженерия». (Пущино на Оке, ноябрь-декабрь 1990г.) Тезисы докладов. Москва. 1991. С. 109-110.
107. Кунах В.А. Геномная изменчивость соматических клеток растений. 1. Изменчивость в онтогенезе. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 1994. Т. 10, № 6. С. 5-35.
108. Кунах В.А. Геномная изменчивость и накопление индольных алкалоидов в культуре клеток раувольфии змеиной, *Rauwolfia serpentina* Venth. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 1994а. Т. 10, № 1. С. 3-30.
109. Кунах В.А. Геномная изменчивость соматических клеток растений. 2. Изменчивость в природе. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 1995. Т. 11, № 6. С. 5-40.
110. Кунах В.А. Геномная изменчивость соматических клеток растений. 3. Каллусообразование *in vitro*. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 1997. Т. 13, № 5. С. 362-371.
111. Кунах В.А. Геномная изменчивость соматических клеток растений. 4. Изменчивость в процессе дедифференцировки и каллусообразования *in vitro*. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 1998. Т. 14, № 4. С. 298-319.
112. Кунах В.А. Геномная изменчивость соматических клеток растений. 5. Изменчивость роста и митотического режима в процессе адаптации к условиям выращивания *in vitro*. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 1999. Т. 15, № 5. С. 343-359.
113. Кунах В.А. Изменчивость растительного генома в процессе дедифференцировки и каллусообразования *in vitro*. *Физиология растений*. 1999а. Т. 46, №6. С. 919-930. (Kunakh V.A. Plant genome variation in the course of *in vitro* dedifferentiation and callus formation. *Russian Journal Plant. Physiol. Engl. Tr.* 1999а. V.46, №6. P. 808-817).
114. Кунах В.А. Геномная изменчивость соматических клеток растений. 6. Изменчивость и отбор в процессе адаптации к условиям выращивания *in vitro*. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 2000. Т. 16, № 3. С. 159-185.
115. Кунах В.А. Еволюція геному рослин в культурі клітин *in vitro*: особливості, причини, механізми та наслідки. В кн.: Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. В.В. Моргун та ін. (ред). Т.1., Київ, Логос, 2001. С. 53-67.
116. Кунах В.А. Геномна мінливість соматичних клітин рослин. 7. Мінливість популяційно-генетичних параметрів у культурі *in vitro*. *Биополимеру і клітина (Biopol. Cell)*. 2002. Т. 18, № 5. С. 377-393.
117. Кунах В.А. Механізми та деякі закономірності соматоклональної мінливості рослин. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2003. №1. С.101-106.
118. Кунах В.А. Закон гомологических рядов Н.И. Вавилова в соматоклональной изменчивости растений. Генетика в XXI веке: современное состояние и перспективы развития. III съезд ВОГИС. (Москва, 6-12 июня 2004.). Москва. 2004. Т.1. С.73.
119. Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні і фізіолого-біохімічні основи. К., Логос, 2005. 724 с.
120. Кунах В.А. Розвиток генетики в Національній академії наук України. Київ, Академперіодика. 2009. 102 с.
121. Кунах В.А. Додаткові або В-хромосоми рослин. Походження і біологічне значення. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2010. Т.8, № 1. С. 99-139.
122. Кунах В.А. Онтогенетическая пластичность генома как основа адаптивности растений. Жебраковские чтения. III. Минск: Право и экономика, 2011. 56 с.

123. Кунах В.А. Мобільні генетичні елементи і пластичність геному рослин. Київ: Логос, 2013. 299 с.
124. Кунах В.А. Аберації хромосом. Велика Українська Енциклопедія, К., 2016а. Т. 1. С. 48-49.
125. Кунах В.А. Автополіплоїдія. Велика Українська Енциклопедія, К., 2016б. Т. 1. С. 226-227.
126. Кунах В.А. Акроцентрична хромосома. Велика Українська Енциклопедія, К., 2016. Т. 1. С. 529.
127. Кунах В.А. Основні напрями моїх наукових досліджень за 50 років (1966-2016 рр.) В кн.: Кунах Віктор Анатолійович. Біобібліографічний покажчик наукових праць за 1966-2016 роки. Уклад.: Л.П. Можилевська, М.З. Мосула, І.О. Андреев; наук. редактор Н.М. Дробик. Тернопіль: Підручники і посібники, 2017. С. 25-95.
128. Кунах Віктор Анатолійович. Біобібліографічний покажчик наукових праць за 1966-2016 роки. Уклад.: Л.П. Можилевська, М.З. Мосула, І.О. Андреев; наук. редактор Н.М. Дробик. Тернопіль: Підручники і посібники, 2017. 236 с.
129. Кунах В.А. Генетика клітинних популяцій: започаткування, головні результати та положення. До 50-річчя від часу заснування. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2018. Т. 16, №1. С. 75-103.
130. Кунах В.А., Адонін В.І., Алпатова Л.К., Ткачук З.Ю., Потопальский А.И. Цитогенетические последствия действия нативных и модифицированных тиофосфамидом РНК на культуру тканей *Narlorappus gracilis*. *Цитология*. 1985. Т. 27, №4. С. 476-487.
131. Кунах В.А., Адонін В.І., Ожередов С.П., Блюм Я.Б. Міксоплоїдія у диких та культурних видів хрестоцвітних, здатних до гібридизації з ріпаком *Brassica napus*. *Цитология и генетика*. 2008. Т. 42, № 3. С. 81-86. (Kunakh V.A., Adonin V.I., Ozheredov S.P., Blyume Ya.B. Mixoploidy in wild and cultivated species of Cruciferae capable of hybridizing with rapeseed *Brassica napus*. *Cytol. Genet.* 2008. V. 42, №3. P. 204-209.)
132. Кунах В.А., Алпатова Л.К. Роль фитогормонов в изменчивости числа хромосом в культуре тканей *Narlorappus gracilis*. *Доклады АН СССР*. 1979. Т. 245, №4. С. 967-970.
133. Кунах В.А., Алпатова Л.К. Клеточные линии раувольфии змеиной, устойчивые к 5-метилтриптофану. Селекция и продуктивность. Всесоюзная конференция «Генетические механизмы устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды». (Иркутск, 8-12 июля 1991 г.). Тезисы докладов. Новосибирск. 1991. С. 101.
134. Кунах В.А., Алпатова Л.К., Константинова Е.П., Губарь С.И. Новые клеточные линии раувольфии змеиной. Получение и характеристика. I Всесоюзный симпозиум «Новые методы биотехнологии растений». (Пушино, 20-22 ноября 1991 г.) Тезисы. С.71. (Kunakh V.A., Alpatova L.K., Konstantinova E.P., Gubar S.I. Novel *Rauwolfia serpentina* cell lines. Establishment and characterization. First Symposium «Trends in plant Biotechnology», USSR. (Pushchino, November, 20-22, 1991.) P. 169.)
135. Кунах В.А., Алхимова Е.Г., Войтюк Л.И. Изменчивость числа хромосом в каллусных тканях и регенерантах гороха. *Цитология и генетика (Cytol. Genet)*. 1984а Т. 18, №1. С. 20-25.
136. Кунах В.А., Аль-Аммури Ю., Мирюта Н.Ю., Можилевская Л.П. Накопление индолиновых алкалоидов клеточными линиями раувольфии змеиной при поверхностном и глубинном выращивании. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 2006. Т.22, № 2. С.149-156.
137. Кунах В.А., Андреев І.О., Спирідонова К.В. Міжвидовий поліморфізм і мінливість генів 18S-25S та 5S рРНК в культурі тканин *Rauwolfia Benth.* і *Gentiana L.* *Физиология и биохимия культ. растений*. 2006. Т. 38, № 2. С. 110-123.
138. Кунах В.А., Войтюк Л.И., Алхимова Е.Г., Алпатова Л.К. Получение каллусных тканей и индукция органогенеза у *Pisum sativum L.* *Физиология растений (Russian Journal Plant. Physiol.)*. 1984б. Т. 31, №3. С. 542-548
139. Кунах В.А., Губарь С.И., Константинова Е.П., Захленюк О.В., Алпатова Л.К., Спирідонова Е.В., Губарь Е.К., Видмаченко Т.В. Получение пассируемых клеточных культур некоторых видов раувольфии и их продуктивность. I Всесоюзный симпозиум «Новые методы биотехнологии растений». (Пушино, 20-22 ноября 1991а г.) Тезисы. – С.72. (Kunakh V.A., Gubar S.I., Konstantinova E.P., Zakhlenjuk O.V., Alpatova L.K., Spiridonova E.V., Gubar E.K., Vidmachenko T.V. Establishment of passage cultures from some *Rauwolfia* species and their productivity. First Symposium «Trends in plant biotechnology», USSR. (Pushchino, November, 20-22, 1991а.). Abstracts. P. 169-170.)
140. Кунах В.А., Демидов С.В., Козерецька І.А., Топчій Н.М. Історія генетики в Україні. К.: Фітосоціоцентр, 2009. 140 с.
141. Кунах В.А., Захленюк О.В. Диплоидизация культуры ткани растений с помощью 5-урацилп-тиоуреидоглюкозы (тиацила). *Доклады АН СССР*. 1984. Т. 279, №5. С. 1241-1244.
142. Кунах В.А., Зосимович В.П. Влияние кинетина на уровень и типы аберраций хромосом в культуре тканей *Narlorappus gracilis*. *Генетика*. 1977. Т. 13, №8. С. 1355-1365.
143. Кунах В.А., Каухова И.Е., Алпатова Л.К., Воллосович А.Г. Особенности поведения клеток в культуре тканей *Rauwolfia serpentina Benth.*. *Цитология и генетика (Cytol. Genet.)*. 1982. Т. 16, №5. С. 6-10.
144. Кунах В.А., Каухова И.Е., Николаева Л.А., Алпатова Л.К., Алхимова Е.Г., Воллосович А.Г. Зависимость продуктивности клеточных линий раувольфии змеиной от уровня пloidности культивируемых клеток. *Доклады АН СССР*. 1983. Т. 270, №4. С. 979-982.
145. Кунах В.А., Кацан В.А. Биосинтез изохинолиновых алкалоидов мака в природе и в культуре *in vitro*. 1. Мак снотворный, *Papaver somniferum L.* *Український біохім. журнал*. 2003. Т. 75, № 5. С. 41-54.
146. Кунах В.А., Кацан В.А. Биосинтез изохинолиновых алкалоидов мака в природе и в культуре *in vitro*. 2.

- Мак прицветниковый (*Papaver bracteatum* Lindl.). *Український біохім. журнал*. 2004. Т. 76, № 5. С. 29-44.
147. Кунах В.А., Костенюк И.А., Воллосович А.Г. Увеличение количества ядерной ДНК при биосинтезе алкалоидов в культуре тканей раувольфии. *Доклады АН УССР. Серия биология*. 1986. №7. С. 62-65.
148. Кунах В.А., Левенко Б.А., Зосимович В.П. Культура *in vitro* пыльников *Nicotiana tabacum*. Сообщение II. Цитогенетический анализ длительно пассируемой ткани, образовавшейся из пыльников. *Цитология*. 1978. Т. 20, №2. С. 166-172.
149. Кунах В.А., Легайда В.С., Бух И.Г., Лихачев В.Т., Малюта С.С. Цитогенетический эффект бактериофага λ в культуре клеток табака. Сб.: *Молекулярная биология*. К.: Наукова думка. 1979. Вып. 24. С. 27-31.
150. Кунах В.А., Можилевская Л.П. Влияние исходного материала и питательной среды на хромосомную изменчивость клеток *Nicotiana glauca* в культуре *in vitro*. В сб.: Вопросы молекулярной биологии и генетики. Материалы второй конференции молодых ученых. К.: Наукова думка. 1972. С. 17-18.
151. Кунах В.А. Можилевская Л.П. Новая питательная среда для получения и выращивания клеточных культур - продуцентов биологически активных веществ. Международная конференция «Пути решения проблем и перспективы развития биотехнологии в декоративном садоводстве и плодородстве». (25-26 сентября 1997, Ялта, Украина.) Тезисы докладов. Ялта. 1997. С. 19. (Kunakh V.A., Mozhilevska L.P. New nutrient medium for production and maintenance of the cell cultures – producers of biologically active compounds. International conference «Problems and perspectives of biotechnology development in ornamental gardening and horticulture». (September, 25-26, Yalta, Ukraine.) Abstracts. Yalta, 1997. P.66.)
152. Кунах В.А., Можилевская Л.П., Адонин В.И., Губарь С.И. Продуктивность и генетическая структура клеточных популяций женьшеня *Panax ginseng* С.А. Мей в культуре *in vitro*. *Биотехнология*. 2003. №3. С. 25-35.
153. Кунах В.А., Можилевская Л.П., Алпатова Л.К., Губарь С.И. Устойчивость к 5-метилтриптофану и накопление алкалоидов в каллусной культуре раувольфии змеиной *Rauwolfia serpentina* Benth. *Биотехнология*. 2001. № 3. С. 3-10.
154. Кунах В.А., Можилевська Л.П., Бублик О.М., Колонина І.В., Музика В.І. Мікроклональне розмноження *Ungernia victoris* Vved. ex Artyushenko. Зб.: *Авхтонні та інтродуковані рослини України*. 2006. Вип. 2. С. 113-122.
155. Кунах В.А., Можилевская Л.П., Губарь С.И. Особенности получения и продуктивность суспензионных культур и клеточных клонов раувольфии змеиной *Rauwolfia serpentina* Benth. *in vitro*. *Биотехнология*. 2001а. № 4. С. 9-21.
156. Кунах В.А., Можилевская Л.П., Музыка В.И., Колонина И.В. Культура тканей *Ungernia victoris* – перспективный источник биологически активных веществ. *Биотехнология. Теория и практика*. Алматы. 1997. №3. С. 78.
157. Кунах В.А., Навроцька Д.О., Твардовська М.О., Андреев І.О. Особливості хромосомної мінливості в культурі тканин *Deschampsia antarctica* Desv. з різним числом хромосом. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2016. Т. 16, № 1 С. 36-43.
158. Кунах В.А., Поронник О.О. Гетерогенність за вмістом шиконіну і підтримуючий добір у культурі клітин арнебії барвлячої *Arnebia euchroma*. *Доповіді НАН України*. 2000. № 7. С. 191-195.
159. Кунах В.А., Поронник О.А., Захленюк О.В., Адонин В.И. Получение и характеристика новых клеточных линий арнебии красящей *Arnebia euchroma* (Royle) Jonst., продуцентов шиконина. *Физиология и биохимия культ. растений*. 1999. Т. 31, № 3. С.208-213.
160. Кунах В.А., Потопальский А.И., Ткачук З.Ю., Алпатова Л.К. Нормализация измененного кариотипа в популяции культивируемых клеток гаплопаппуса под влиянием модифицированных РНК. Сб.: *Молекулярная биология*. К.: Наукова думка, 1982. Вып. 32. С. 52-56.
161. Кунах В.А., Сидоренко П.Г., Зосимович В.П. Влияние кинетина на репродукцию клеток различной ploidy. В кн.: Успехи полиплоидии. В.П. Зосимович и др. (ред.). – К.: Наукова думка. 1977а. С. 203-215.
162. Кунах В.А., Чеченева Т.Н., Моргунов В.В. Получение каллусных тканей от разных по генотипу растений кукурузы. *Физиология растений (Russian Journal Plant. Physiol.)*. 1980. Т. 27, № 2. С. 339-403.
163. Кунах В.А., Чузункова Т.В., Буйдин В.В. Влияние экзогенных фитогормонов на динамику ploidy проростков ячменя, обработанных полиплоидогенами. Третий съезд Всесоюзного общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова. Тезисы докладов. Ленинград: Наука, 1977а. С. 249.
164. Лазуркевич З.В., Губарь С.И., Захленюк О.В., Шаламай А.С., Усенко Л.С., Кунах В.А. Ростовая активность 5-тиоуреидопроизводных урацила. *Доклады АН УССР, сер. Б*. 1985. №4. С. 67-71.
165. Лазуркевич З.В., Губарь С.И., Шаламай А.С., Захленюк О.В., Алексеева И.В., Кунах В.А., Чернецкий В.П. Ростовая активность замещенных 6-азаурацилов. *Физиология и биохимия культ. растений*. 1985а Т. 17, №1. С. 48-54.
166. Левенко Б.А., Кунах В.А., Юркова Г.Н. Цитогенетическое изучение каллусной ткани гаплоидного происхождения. В кн.: Экспериментальная полиплоидия у культурных растений. В.П. Зосимович и др. (ред.). К.: Наукова думка, 1974. С. 173-180.
167. Левенко Б.А., Кунах В.А., Юркова Г.Н. Культивирование пыльников томата *in vitro*. Сообщение II. Цитологический анализ на первых этапах культивирования. В сб.: Апомиксис и цитозембриология растений. С.С. Хохлов и др. (ред). Саратов: Изд. Саратовского университета. – 1978б. Вып.4. С. 69-70.
168. Левенко Б.А., Легайда В.С., Березенко Н.П., Кунах В.А., Лиферова В.В., Щибря Г.Р. Цитогенетическое изучение каллусной ткани из пыльников чере-

- шни и земляники. В кн.: Культура клеток растений. Р.Г. Бутенко и др. (ред.). К.: Наукова думка, 1978. С. 120-123.
169. Левенко Б.А., Юркова Г.Н., Кунах В.А. Культивирование пыльников томата *in vitro*. Сообщение I. Изучение условий каллусообразования. В сб.: Апомиксис и цитозембриология растений. С.С. Хохлов и др. (ред). Саратов: Изд. Саратовского университета. 1978а. Вып.4. С. 67-68.
170. Левенко Б.А., Юркова Г.Н., Кунах В.А., Зосимович В.П. Малохромосомный злак *Zingeria* - новый модельный объект для культуры клеток и тканей растений. Доклады АН СССР. 1976. Т. 228, №1. С. 209-210.
171. Левенко Б.А., Юркова Г.Н., Кунах В.А., Легейда В.С. Поведение пыльников пшеницы и ржи в изолированной культуре. В кн.: Экспериментальная генетика растений. В.П. Зосимович и др. (ред.). К.: Наукова думка. 1977. С. 123-130.
172. Левенко Б.А., Семенюк Д.В., Кунах В.А., Алпатовва Л.К., Чернецкий В.П. Изучение влияния производных азациитидина на рост изолированных тканей растений. В кн.: Экспериментальная генетика растений. В.П. Зосимович и др. (ред). К., Наукова думка. 1982. С. 65-74.
173. Лекис А.В., Машанаскас Т.К., Иванов Л.Л., Лукошявичус Л.Ю., Кунах В.А., Коваленко М.И., Прашкявичюс А.К., Ельская А.В. Влияние культивируемых клеток полисиаса на биосинтез белка в печени кроликов. Химико-фармацевтический журнал. 1988. №8. С. 970-973.
174. Лекис А.В., Машанаскас Т.К., Мозурайтис Р.Ю., Иванов Л.Л., Кунах В.А. Влияние культивируемых клеток полисиаса на активность компонентов белоксинтезирующей системы печени кроликов. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1992. №1. С. 49-51.
175. Лихачев В.Т., Бух И.Г., Кунах В.А., Легейда В.С., Малюта С.С. Изучение природы β-галактозидазной активности в клетках табака в связи с опытами по трансгенезу. Сб.: Молекулярная биология. К.: Наукова думка. 1979. Вып. 24. С. 23-26.
176. Лихачев В.Т., Бух И.Г., Малюта С.С., Кунах В.А., Терентьев А.Г. Определение природы λ-галактозидазы в обработанных бактериофагом λ клетках табака методами иммунорадиометрического анализа и афинной хроматографии. Сб.: Молекулярная биология. К., Наукова думка. 1982. Вып. 30. С. 28-34.
177. Майданюк Д.М. Особливості геномної мінливості кукурудзи в культурі *in vitro*: автореф. дис. ... канд. біол. наук. (03.00.15 – генетика) Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України. К. 2008. 20 с
178. Майданюк Д.Н., Андреев И.О., Кунах В.А. Сравнительный анализ линий кукурузы ВІР-27 и ЧК-218 с использованием SSR- и RAPD-маркеров. Цитология и генетика. (Cytol. Genet). 2007. Т. 41, № 6. С. 18-25.
179. Майданюк Д.М., Андреев И.О., Спиридонова К.В., Кунах В.А. Генетичний поліморфізм соматональ-
- них ліній кукурудзи, отриманих від лінії Р346. Біополімери і клітина (Biopol. Cell). 2007а. Т. 23, № 4. С. 324-331.
180. Майданюк Д.М., Андреев И.О., Спиридонова К.В., Кунах В.А. Геномна мінливість у калюсних культурах кукурудзи лінії Р346 і отриманих від неї соматональних ліній. Біополімери і клітина (Biopol. Cell). 2007б. Т. 23, № 5. С. 416-424.
181. Майданюк Д.М., Андреев И.О., Спиридонова К.В., Кунах В.А. Низька геномна мінливість в культурі *in vitro* лінії кукурудзи Black Mexican Sweet Corn С456. Доповіді НАН України. 2008. № 1. С. 161-164.
182. Майданюк Д.Н., Андреев И.О., Спиридонова Е.В., Чеченева Т.Н., Кунах В.А. Геномна изменчивость линии кукурузы Black Mexican Sweet Corn С456 в культуре *in vitro*: результаты RAPD-анализа. Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. 2006. Т.4, № 1. С. 58-67.
183. Малюта С.С., Колотуха Н.Я., Лихачев В.Т., Кунах В.А., Бух И.Г. Обнаружение фаговых последовательностей в препаратах ДНК, выделенных из клеток млекопитающих и растений, инкубированных с бактериофагом лямбда кишечной палочки. Доклады АН УССР, сер. Б. 1981. №3. С. 76-79
184. Машанаскас Т.К., Лекис А.В., Иванов Л.Л., Кунах В.А., Дзея П.П., Богдонайте Д.А. Влияние биомассы культивируемых клеток полисиаса на уровень АТФ, АДФ и АМР в печени кроликов при экспериментальной ишемии миокарда. Биополімери і клітина (Biopol. Cell). 1990. Т. 6, №3. С.75-76.
185. Мельник В.М. Варіабельність рДНК деяких видів роду *Gentiana* L. у природі та в культурі *in vitro*: автореф. дис. ... канд. біол. наук. (03.00.15 — генетика) Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України. К. 2005. 20 с.
186. Мельник В.М., Андреев И.О., Спиридонова К.В., Кунах В.А. Рестрикційне картування та варіабельність 18S-25S рибосомних генів деяких видів роду *Gentiana* L.. Цитология и генетика (Cytol. Genet). 2003. Т. 35, №5. С. 65-71.
187. Мельник В.М., Спиридонова К.В., Андреев И.О., Страшнюк Н.М., Кунах В.А. Дослідження геномів деяких видів роду *Gentiana* в природі та в культурі *in vitro*. Цитология и генетика (Cytol. Genet). 2002. Т 36, № 6. С. 28-34.
188. Мельник В.М., Спиридонова К.В., Андреев И.О., Страшнюк Н.М., Кунах В.А. Варіабельність ядерної 18S-25S рДНК *Gentiana lutea* L. в природі та в культурі тканин *in vitro*. Цитология и генетика (Cytol. Genet.). 2004. Т. 38, № 3. С. 16-21.
189. Мельник В.М., Андреев И.О., Спиридонова К.В., Страшнюк Н.М., Кунах В.А. Зміни 18S-25S рДНК у культурі тканин деяких видів тирличів *Gentiana* L.. Цитология и генетика. 2007. Т. 41, № 2. С. 19-23. (Mel'nyk V.M., Andreev I.O., Spiridonova K.V., Strashnyuk N.M., Kunakh V.A. Changes in 18S-25S rDNA in a tissue culture of some *Gentiana* L. species. Cytol. Genet. 2007. V. 41, N2. P. 82-85.
190. Мирюта А.Ю., Перерва Т.П., Можилевская Л.П., Кунах В.А. Влияние экстракта культивируемых клеток *Ungernia victoris* и катионов некоторых метал-

- лов на ефективність трансформації кліток *Escherichia coli* плазмидної ДНК. *Цитологія і генетика (Cytol. Genet)*. 2005. Т. 39, № 6. С. 24-29.
191. Мирюта Н.Ю., Аль-Аммурі Ю., Ревякіна О.Ю., Можилевська Л.П., Кунах В.А. Изменчивость параметров продуктивности при поверхностном и глубинном выращивании каллусных тканей раувольфии змеиной – продуцента индолиновых алкалоидов. *Биотехнология*. 2006. № 4. С. 64-73.
192. Мирюта Н.Ю., Кунах В.А. Динаміка клітинних систем *in vitro*. I. Організація у часі та стабільність системи культури тканин раувольфії зміїної на добовому рівні організації. *Биотехнология (Biotechnologia Acta)*. 2011. Т. 4, № 5. С. 25-38.
193. Мирюта Н.Ю., Кунах В.А. Динаміка клітинних систем *in vitro*. II. Організація у часі та стабільність системи культури тканин раувольфії зміїної на пасажному рівні. *Биотехнология (Biotechnologia Acta)*. 2011а. Т. 4, № 6. С. 18-30.
194. Мирюта Н.Ю., Кунах В.А. Динаміка клітинних систем *in vitro*. III. Гіпотеза самокерування процесами диференціації клітин та її феноменологічна реалізація на прикладі культури тканин раувольфії зміїної. *Биотехнология (Biotechnologia Acta)*. 2012. Т. 5, № 3. 40-51.
195. Мирюта Н.Ю., Парнікоза І.Ю., Аммури Ю., Кунах В.А. Применение термодинамического подхода для изучения динамики клеточных популяций *in vitro* на примере культуры тканей *Rauwolfia serpentina* Benth. – продуцента индолиновых алкалоидов. *Биотехнология*. 2006а. № 2. С. 78-95.
196. Мирюта Н., Парнікоза І., Олійник, Сметана Є., Мирюта Г., Пороннік О., Кунах В. П'ятирічна динаміка зведеного латентного показника пристосованості популяцій *Deschampsia antarctica* Desv. (Rosaceae) острова Галіндез (Аргентинські острови, Морська Антарктика). *Український антарктичний журнал*. 2017. № 16. С. 129-142.
197. Мирюта Н., Парнікоза І., Пороннік О., Мирюта Г., Кунах В. Рослини *Deschampsia antarctica* Desv. з різним числом хромосом в умовах вирощування *in vitro*. Ймовірнісні зв'язки трьох показників пристосованості між собою та з розміром геному. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2017. Т. 20. С. 293-298.
198. Мирюта Н., Парнікоза І., Швидун П., Мирюта Г., Пороннік О., Козерецька І., Кунах В. Порівняльний аналіз зведеного латентного показника пристосованості популяцій *Deschampsia antarctica* Desv. у районі острова Галіндез протягом трьох сезонів. *Український антарктичний журнал*. 2015. № 14. С. 78-97.
199. Мирюта Н., Пороннік О., Грахов В., Мирюта Г., Козуб Н., Созінов І., Кунах В. Збереження унікальності за комплексною пристосованістю різних генотипів *Deschampsia antarctica* Desv. в умовах стандартизованого вирощування *in vitro*. *Український антарктичний журнал*. 2016. № 15. С. 60-80.
200. Можилевська Л.П., Кунах В.А., Дворник А.С., Музыка В.И. Получение и результаты изучения культуры тканей *Ungernia victoris*. Четверта міжнародна конференція з медичної ботаніки: тези доповідей. (Київ, 1997.) С. 337-338.
201. Мосула М.З. Популяційно-генетичний аналіз тирличу жовтого (*Gentiana lutea* L.) з Українських Карпат: автореф. дис. ... канд. біол. наук. (03.00.15 – генетика). Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України. К. 2015. 24 с.
202. Мосула М.З., Конвалюк І.І., Мельник В.М., Андреев І.О., Бублик О.М., Дробик Н.М., Кунах В.А. Генетичне різноманіття популяції *Gentiana lutea* L. з хребта Свидівець Українських Карпат. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2013. Т. 13, № 2. С. 250-259.
203. Мосула М.З., Конвалюк І.І., Мельник В.М., Бублик О.М., Андреев І.О., Дробик Н.М., Кунах В.А. Аналіз генетичного різноманіття популяцій *Gentiana lutea* L. методом маркування міжтранспозонових послідовностей (IRAP-ПЛР). *Физиология раст. и генетика*. 2014а. Т. 46, № 1. С. 45-55.
204. Мосула М.З., Конвалюк І.І., Мельник В.М., Дробик Н.М., Царик І.В., Нестерук Ю.Й., Кунах В.А. Генетичний поліморфізм популяцій *Gentiana lutea* L. (Gentianaceae) з Чорногорського масиву Українських Карпат. *Цитологія і генетика*. 2014б. Т. 48, № 6. С. 33-39. (Mosula M.Z., Konvalyuk I.I., Melnyk V.M., Drobyk N.M., Tsaryk Y.V., Nesteruk Yu.Y., Kunakh V.A. Genetic polymorphism of *Gentiana lutea* L. (Gentianaceae) populations from the Chornogora Ridge of the Ukrainian Carpathians. *Cytol. Genet*. 2014в. V.48, №6. P. 371-377.)
205. Мосула М.З., Майорова О.Ю., Дробик Н.М., Кунах В.А. Збереження та охорона популяцій тирличу жовтого (*Gentiana lutea* L.) в Українських Карпатах: практичні рекомендації. – Тернопіль, Вектор, 2016, 16 с.
206. Мосула М.З., Мельник В.М., Конвалюк І.І., Дробик Н.М., Андреев І.О., Кунах В.А. Генетична структура і диференціація *Gentiana lutea* (Gentianaceae) в Українських Карпатах. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2014. Т. 12, № 2. С. 174-183.
207. Навроцька Д.О. Мінливість геному *Deschampsia antarctica* Desv. у природі та в культурі *in vitro*: автореф. дис. ... канд. біол. наук. (03.00.22 – молекулярна генетика). Інститут молекулярної біології і генетики НАН України. К. 2018. 26 с.
208. Навроцька Д.О., Андреев І.О., Парнікоза І.Ю., Спіридонова К.В., Пороннік О.О., Мирюта Г.Ю., Мирюта Н.Ю., Загричук О.М., Дробик Н.М., Кунах В.А. Комплексна характеристика культивованих *in vitro* рослин *Deschampsia antarctica* E. Desv. з різним числом хромосом. *Цитологія і генетика (Cytol. Genet.)*. 2017. Т. 51, № 6. С. 12-21.
209. Навроцька Д.О., Твардовська М.О., Андреев І.О., Загричук О.М., Парнікоза І.Ю., Дробик Н.М., Кунах В.А. Хромосомний поліморфізм рослин *Deschampsia antarctica* Desv. з районів Аргентинських островів (Прибережна Антарктика). *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2014. Т. 12, № 2. С. 184-190.
210. Николаева Л.А., Вахтин Ю.Б., Гужова И.В., Смирнова И.И., Кунах В.А. Поддерживающий отбор в ку-

- льтуре ткани *Rauwolfia serpentina* Benth. Доклады АН УССР, сер. Б. 1985. №7. С. 73-75.
211. Ожередова І.П., Парнікоза І.Ю., Поронник О.О., Козерецька І.А., Демидов С.А., Кунах В.А. Механізми адаптації судинних рослин Антарктики до абіотичних факторів довкілля. *Цитологія і генетика*. 2015. Т. 49, № 2. С. 72-79. (Ozheredova I.R., Parnikoza I.Yu., Poronnik O.O., Kozeretka I.A., Demidov S.A., Kunakh V.A. Mechanisms of Antarctic vascular plant adaptation to abiotic environmental factors. *Cytol. Genet.* 2015. V. 49, N 2. P. 139-145.)
212. Парнікоза І.Ю. Динаміка клітинних популяцій раувольфії зміної за зміни умов вирощування *in vitro*: автореф. дис. ... канд. біол. наук. (03.00.11 — цитологія, клітинна біологія, гістологія). Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України. К. 2009. 21 с.
213. Парнікоза І.Ю., Абакумов Е.В., Дикий І.В., Пилипенко Д.В., Швидун П.П., Поронник О. А., Козерецька І.А., Кунах В.А. Орнітогенные локалитеты *Deschampsia antarctica* в районе Аргентинских островов (Прибережная Антарктида). *Русский орнитологический журнал*. 2014. Т. 23. Экспресс-выпуск, № 1056. С. 3095-3107.
214. Парнікоза І.Ю., Абакумов Е.В., Дикий І.В., Пилипенко Д.В., Швидун П.П., Козерецька І.А., Кунах В.А. Влияние птиц на пространственное распределение *Deschampsia antarctica* Desv. острова Галиндез (Аргентинские острова, Прибережная Антарктика). *Вестник Санкт-Петербургского университета*. 2015. Серия 3, вып. 1. С. 78-97.
215. Парнікоза І.Ю., Бублик О.М., Андреев І.О., Спіридонова К.В., Голембевська Й., Кубяк М., Кучинська А., Мистковська К., Оленджицька Н., Урасінська Б., Гурняк М., Сьлезак-Парнікоза А., Войцехівський К., Дідух Я.П., Кунах В.А. Комплексна оцінка стану популяції степових багаторічників України на прикладі *Iris pumila* L.. *Укр. бот. журнал*. 2014. Т. 71, № 4. С. 471-479.
216. Парнікоза І.Ю., Бублик О.М., Андреев І.О., Спіридонова К.В., Тройцька Т.Б., Кунах В.А. Вплив фрагментації ареалу на стан популяції степових ксерофітів України на прикладі *Iris pumila* L.. Зб.: Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології. В.А. Кунах та ін. (ред.), К.: Логос. 2012. Т. 3. С. 526-530.
217. Парнікоза І.Ю., Козерецька І.А., Андреев І.О., Кунах В.А. *Deschampsia antarctica* Desv. в Прибережной Антарктике: видова унікальність или довгочасові адаптивні стратегії? *Укр. бот. журнал*. 2013. Т. 70, № 5. С. 614-623.
218. Парнікоза І.Ю., Мірюта Н.Ю., Адонін В.І., Кунах В.А. Вплив зміни умов культивування на циркадну динаміку структури клітинних популяцій *Rauwolfia serpentina* Benth. *in vitro*. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2008а. Т.6, № 1. С. 98-107.
219. Парнікоза І.Ю., Мірюта Н.Ю., Адонін В.І., Кунах В.А. Циркадна динаміка структури клітинних популяцій *Rauwolfia serpentina* Benth. за різних умов культивування *in vitro*. *Біополімери і клітина (Biopol. Cell)*. 2008б. Т. 24, № 6. С. 476-486.
220. Парнікоза І.Ю., Мірюта Н.Ю., Ал-Аммурі Ю., Адонін В.І. Кунах В.А. Особливості процесів проліферації та диференціації в культурі тканин раувольфії зміної *Rauwolfia serpentina* Benth.. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2006. Т.4, № 2. С. 210-216.
221. Парнікоза І.Ю., Мірюта Н.Ю., Ал-Аммурі Ю., Кунах В.А. Динаміка клітинних популяцій *Rauwolfia serpentina* Benth. за різних умов культивування *in vitro*. *Біополімери і клітина (Biopol. Cell)*. 2008. Т. 24, № 4. С. 300-309.
222. Парнікоза І.Ю., Мірюта Н.Ю., Іванець В.Ю., Дикий Є.О. Визначення зведеного латентного показника пристосовуваності (ЗЛПП) із врахуванням внеску деяких показників довкілля для популяції *Deschampsia antarctica* Desv. острова Галиндез (Морська Антарктика) в сезон 2017-2018. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2018. Т. 16, №2. С. 190-202.
223. Парнікоза І.Ю., Мірюта Н.Ю., Ройек М., Бетехтін А.А., Поронник О.О., Мірюта Г.Ю., Навроцька Д.О., Хастерок Р., Кунах В.А. Рослини *Deschampsia antarctica* Desv. з різним числом хромосом в умовах вирощування *in vitro*. Зв'язок розміру геному та двох показників пристосовуваності. Зб. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2017. Т. 20. С. 304-309.
224. Парнікоза І., Ожередова І., Мірюта Н., Козерецька І., Смикла Дж., Кунах В.А. Порівняльний аналіз показників популяційної успішності *Deschampsia antarctica* в районі Адміральської бухти (о. Короля Георга, Прибережна Антарктика). *Український антарктичний журнал*. 2013. № 12. С. 186-198.
225. Парнікоза І.Ю., Смикла Є., Козерецька І.А., Кунах В.А. Особливості антарктичної трав'янистої тундри в умовах двох різних екологічних градієнтів. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2009. Т.7, № 2. С. 218-226.
226. Перерва Т.П., Дворник А.С., Мірюта А.Ю., Можилевська Л.П., Кунах В.А. Бактериальная тест-система для первичного скрининга веществ с потенциальной противоопухолевой активностью. *Цитология и генетика (Cytol. Genet.)*. 2007. Т. 41, № 4. С. 59-65.
227. Перерва Т.П., Дробик Н.М., Мельник В.М., Кунах В.А. Біологічна активність рослинного екстракту як можливий показник рівня адаптованості виду. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2013. Т.11, № 1. С. 112-119.
228. Перерва Т.П., Кобозев Ю.А., Мойса Л.Н., Дворник А.С., Мірюта А.Ю., Можилевська Л.П., Кунах В.А. Повышение продуктивности рекомбинантных штаммов *Escherichia coli* обогащением питательной среды добавкой растительного происхождения. *Биотехнология (Biotechnologia Acta)*. 2012. Т. 5, № 1. С. 42-46.
229. Перерва Т.П., Мірюта А.Ю., Мойса Л.Н., Можилевська Л.П., Кунах В.А. Взаимодействие компонентов растительных экстрактов с белком-поринном на

- ружної мембрани бактеріальної клітки. *Вісн. Укр. тов.-ва генетиків і селекціонерів*. 2009. Т.7, № 2. С. 227-233.
230. Перерва Т.П., Мирюта А.Ю., Мойса Л.Н., Можилевская Л.П., Кунах В.А. Взаимодействие растительных экстрактов *Ungernia victoris*, *Rhodiola rosea* и *Polyscias filicifolia* с бактериальной клеткой. *Цитология и генетика (Cytol. Genet.)*. 2010а. Т. 44, № 4. С. 34-40.
231. Перерва Т.П., Мирюта Г.Ю., Кунах В.А. Використання бактеріальної тест-системи для попереднього скринінгу хімічних речовин як потенційних антипуплинних препаратів. *Вісник проблем біології і медицини*. 2010. Вип. 2. С. 23-27.
232. Перерва Т.П., Мирюта Г.Ю., Дворник А.С., Можилевская Л.П., Кунах В.А. Оптимизация бактериальных питательных сред экстрактом *Ungernia victoris*. *Биотехнология (Biotechnologia Acta)*. 2011. Т. 4, № 4. С. 59-63.
233. Поронник О.О. Одержання і характеристика нового високопродуктивного штаму культивованих клітин арнебії барвної *Atebia euchroma* (Royle) Jonst.: автореф. дис. ... канд. біол. наук. (03.00.20 – біотехнологія). Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, К., 2001. 20 с.
234. Поронник О.А., Кунах В.А. Биосинтез нафтохиноновых пигментов в растениях семейства Boraginaceae в природе и в культуре *in vitro*. *Укр. біохім. журнал*. 2005. Т. 77, № 6. С. 24-36.
235. Поронник О.А., Кунах В.А., Адонин В.И. Накопление шиконина и цитологические особенности высокопродуктивного клеточного штамма *Atebia euchroma* при поверхностном и глубинном выращивании. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 1999. Т. 15, № 6. С. 501-509.
236. Поронник О.О., Кучма М.Д., Кунах В.А. Отримання калюсної культури *Echium plantagineum* L. – продуцента шиконіну. *Вісн. Укр. тов.-ва генетиків і селекціонерів*. 2008. Т.6, № 2. С. 282-286.
237. Поронник О.О., Мирюта Н.Ю., Адонин В.И. Динаміка клітинних популяцій арнебії барвлячої при глибинному і поверхневому вирощуванні *in vitro*. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2000. Т. 32, № 5. С. 377-385.
238. Поронник О.О., Мирюта Н.Ю., Кунах В.А. Вплив гіпотермії на продуктивність калюсної культури арнебії барвної. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2008а. Т. 40, № 1. С. 49-55.
239. Поронник О.О., Парнікоза І.Ю., Мирюта Н.Ю., Мирюта Г.Ю., Грахов В.П., Навроцька Д.О., Кунах В.А. Рослини *Deschampsia antarctica* Desv. з різним числом хромосом в умовах вирощування *in vitro*. Довжина листків та вміст флавоноїдів у культурі *in vitro* та в природі. Зб.: *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2017. Т. 20. С. 310-313.
240. Поронник О.О., Шаблій В.А., Кунах В.А. Одержання культури тканин синяка подорожничкового (*Echium plantagineum* L.) – продуцента шиконінових пігментів. *Биотехнология (Biotechnologia Acta)*. 2008б. Т.1, № 3. С. 56-63.
241. Рабокоть А.М., Демкович А.С., Пірко Я.В., Андреев І.О., Парнікоза І.Ю., Козерецька І.А., Кунах В.А., Блюм Я.Б. Поліморфізм довжини інтронів генів β -тубуліну у *Deschampsia antarctica* Desv. з морської Антарктики. Зб.: *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2017. Т. 20. С. 1043-108.
242. Савченко Е.К., Бадаєва Е.Д., Бойко Е.В., Бадаєв Н.С., Кунах В.А., Моргун В.В., Зеленин А.В. Каріотипический анализ различных генотипов кукурузы. *Генетика*. 1986. Т. 22, №1. С. 95-101.
243. Савченко Е.К., Кунах В.А. Сравнительная характеристика культуры тканей двух родственных линий кукурузы, различающихся по количеству гетерохроматину. В кн.: *Культура клеток растений и биотехнология*. М.: Наука. 1986. С. 214-218.
244. Савченко О.К., Бадаєва К.Д., Кунах В.А., Бадаєв М.С. Каріотипічний поліморфізм споріднених ліній кукурудзи. *Доповіді АН УРСР, серія Б*. 1982. – №7. С.69-72. (Савченко Е.К., Бадаєва Е.Д., Кунах В.А., Бадаєв Н.С. Каріотипічний поліморфізм родственных линий кукурузы. *Доклады АН УССР, серия Б*. 1982. №7. С.69-72.).
245. Семенюк Д.В., Чернецкий В.П., Левенко Б.А., Кунах В.А., Алпатова Л.К. Новые производные 6-азациитидина с цитокининовой активностью. В сб.: *Физиологически активные вещества*. К.: Наукова думка, 1979. Вып.11. С. 72-75.
246. Сидоренко П.Г., Кунах В.А. Характер изменчивости каріотипа в популяції кліток культури ткани *Harporappus gracilis* при длительном пассировании. *Цитология и генетика (Cytol. Genet.)*. 1970. Т. 4, №3. С. 235-241.
247. Сидоренко П.Г., Кунах В.А. Получение культуры изолированных тканей *Harporappus gracilis* и *Crepis capillaris* и их цитогенетическая характеристика. *Цитология и генетика (Cytol. Genet.)*. 1972, Т. 6, №6. С.483-486.
248. Славинскене Р.Ю., Лукошявичус Л.Ю., Кунах В.А., Слепян Л.И., Коваленко М.И., Иванов Л.Л. Влияние биомассы культивируемых клеток *Polyscias filicifolia* Bailey на активность тРНК и аминоксил-тРНК-синтетаз печени кроликов. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 1986 Т. 2, №3. С. 152-153.
249. Соловьян В.Т. Изучение геномной изменчивости в культивируемых клетках скерды и раувольфии: автореф. дис. ... канд. биол. наук (03.00.15 – генетика). Інститут фізіології рослин і генетики АН України. К. 1991. 16 с.
250. Соловьян В.Т., Андреев И.О., Кунах В.А. Фракционирование ДНК эукариот в пульсирующем электрическом поле. II. Дискретные фрагменты ДНК и уровни структурной организации хроматина. *Молекулярная биология*. 1991. Т. 25, № 6. С. 1483-1491.
251. Соловьян В.Т., Андреев И.О., Кунах В.А. Функциональная организация ядерной ДНК растений. I. Данные в пользу существования ДНК-топоизомеразного комплекса. *Молекулярная биология*. 1993. Т. 27, вып. 6. С. 1245-1251.
252. Соловьян В.Т., Андреев И.О., Кунах В.А. Фракционирование ДНК эукариот в пульсирующем электрическом поле. I. Ядерная ДНК как составная часть

- ДНК-топоізомеразного комплексу. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 1993а. Т. 9, № 5. С. 44-51.
253. Соловьян В.Т., Захленюк О.В., Кунах В.А. Перестройка генома раувольфии в процессе культивирования *in vitro*. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 1990. Т. 6, № 1. С. 103-106.
254. Соловьян В.Т., Костенюк И.А., Кунах В.А. Изменение генома культивируемых *in vitro* клеток раувольфии змеиной. *Генетика*. 1987. Т. 23, № 7. С. 1200-1208.
255. Соловьян В.Т., Кунах В.А. Фракционирование ДНК эукариот в пульсирующем электрическом поле. I. Обнаружение дискретных геномных фрагментов. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 1990. Т. 6, № 3. С. 97-99.
256. Соловьян В.Т., Кунах В.А. Фракционирование ДНК эукариот в пульсирующем электрическом поле. I. Обнаружение и свойства дискретных фрагментов ДНК. *Молекулярная биология*. 1991. Т. 25, № 4. С. 1071-1079.
257. Соловьян В.Т., Кунах В.А., Вершинин А.В., Шумный В.К. Сравнение степени гомологии ДНК и количества повторяющихся последовательностей у интактного растения и культивируемых клеток *Rauwolfia serpentina* Benth. *Доклады АН СССР*. 1986. Т. 287, № 4. С. 998-1000.
258. Соловьян В.Т., Попович В.А., Кунах В.А. Переустройство генома культивируемых клеток *Strepis capillaris* L. (Wallr). *Генетика*. 1989. Т. 25, № 6. С. 1768-1775.
259. Соловьян В.Т., Спиридонова Е.В., Кунах В.А. Геномные перестройки в культивируемых клетках *Rauwolfia serpentina*. I. Множественный характер геномных изменений. *Генетика*. 1994. Т. 30, № 2. С. 250-254.
260. Соловьян В.Т., Спиридонова Е.В., Кунах В.А. Геномные перестройки в культивируемых клетках *Rauwolfia serpentina*. II. Связь с межвидовой изменчивостью. *Генетика*. 1994а. Т. 30, № 3. С. 399-403.
261. Соловьян В.Т., Спиридонова Е.В., Кунах В.А. Особенности геномной изменчивости культивируемых клеток *Rauwolfia serpentina*. *Цитология и генетика*. 1994б. Т. 28, № 5. С. 21-25. (Solovyuan V.T., Spiridonova Ye. V., Kunakh V.A. Special features of genomic variation of cell culture of *Rauwolfia serpentina*. *Cytol. Genet.* 1994. V.28, N5. P. 24-31).
262. Спиридонова К.В. Вивчення особливостей геномної мінливості культивованих клітин раувольфії зміїної *Rauwolfia serpentina* Benth.: автореф. дис. ... канд. біол. наук (03.00.15 – генетика). Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України – Київ, 2000. 20 с.
263. Спиридонова Е.В., Адноф Д.М., Андреев И.О., Кунах В.А. Стабильность генома высокопродуктивной клеточной линии K-27 *Rauwolfia serpentina* Benth. при изменении условий выращивания. *Биополимеры и клетка (Biopol. Cell)*. 2007. Т. 23, № 2. С. 86-92.
264. Спиридонова Е.В., Адноф Д.М., Андреев И.О., Кунах В.А. Динамика изменений генома каллусных тканей раувольфии змеиной при переводе в условия глубинного выращивания. *Цитология и генетика (Cytol. Genet.)*. 2008. Т. 42, № 2. С. 35-41.
265. Спиридонова К.В., Андреев И.О., Загривчук О.М., Дробик Н.М., Кунах В.А. Підвищена стійкість *Deschampsia antarctica* Desv. до мутагенної дії іонів кадмію. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2016. Т. 16, № 1 С. 63-71.
266. Спиридонова К.В., Андреев И.О., Загривчук О.М., Навроцька Д.О., Твардовська М.О., Дробик Н.М., Кунах В.А. Генетична стабільність отриманих мікроклональним розмноженням рослин *Deschampsia antarctica* Desv. за тривалого культивування *in vitro*. *Физиология растений и генетика*. 2016. Т. 48, № 6. С. 498-507.
267. Спиридонова К.В., Андреев И.О., Соловьян В.Т., Кунах В.А. Особливості перебудови деяких генів у культурі клітин *in vitro* раувольфії зміїної *Rauwolfia serpentina* Benth. *Доповіді НАН України*. 2000. № 2. С. 165-170.
268. Спиридонова К.В., Андреев И.О., Соловьян В.Т., Кунах В.А. Молекулярно-біологічні особливості перебудов в культивованих *in vitro* клітинах раувольфії зміїної. В кн.: Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. В.В. Моргун та ін. (ред). Т.1., Київ, Логос, 2001. С. 422-427.
269. Страшнюк Н.М., Грицак Л.Р., Леськова О.М., Мельник В.М. Введення в культуру *in vitro* деяких видів роду *Gentiana* L.. *Физиология и биохимия культ.растений*. 2004. Т. 36, № 4. С. 327-334.
270. Страшнюк Н.М., Грицак Л.Р., Леськова О.М., Мельник В.М. Види роду *Gentiana* L. флори України у природі та в культурі *in vitro*. *Укр. бот. журнал*. 2005. Т. 62, № 3. С. 337-348.
271. Страшнюк Н.М., Кравець Н.Б., Конвалюк І.І., Мельник В.М. Органогенез в культурі тканин видів роду Тирлич (*Gentiana* L.). *Зб.: Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2009. Т.7. С. 184-189.
272. Страшнюк Н.М., Леськова О.М., Загривчук Г.Я., Мельник В.М., Кунах В.А. Біологічно активні речовини видів роду *Gentiana* L. 1. Біосинтез та фізіологічна дія. *Фітотерапія. Часопис*. 2006а. № 3. С. 82-87.
273. Страшнюк Н.М., Леськова О.М., Мельник В.М., Кунах В.А. Отримання та біохімічний аналіз культури тканин тирличу безстеблового (*Gentiana acaulis* L.). *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2006. Т.4, № 1. С. 89-95.
274. Страшнюк Н.М., Леськова О.М., Мельник В.М., Твардовська М.О., Конвалюк І.І., Кунах В.А. Біологічно активні речовини видів роду *Gentiana* L. 3. Вміст флавоноїдів у культурі тканин. *Фітотерапія. Часопис*. 2008а. № 3. С. 82-87.
275. Страшнюк Н.М., Твардовська М.О., Мельник В.М. Каріологія європейських видів роду *Gentiana* L. (*Gentianaceae*). *Укр. бот. журнал*. 2008. Т.65, № 6. С. 836-848.
276. Твардовська М.О. Мінливість геному тирличів (*Gentiana* L.) у природі та в культурі *in vitro*: автореф. дис. ... канд. біол. наук (03.00.15 – генетика). Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України. К. 2009. 20 с.

277. Твардовська М.О., Андреев І.О., Амосова А.В., Спіридонова К.В., Навроцька Д.О., Саматадзе Т.Е., Зошук С.А., Муравенко О.В., Кунах В.А. Вивчення геномів рослин *Deschampsia antarctica* Desv. за допомогою хромосомних та молекулярних маркерів. Зб.: Фактори експериментальної еволюції організмів. 2014а, Т. 14, С. 133-137.
278. Твардовська М.О., Андреев І.О., Кунах В.А. Каріотипи видів роду *Iris* флори України. *Укр. бот. журнал*. 2014. Т. 71, № 5. С. 581-589.
279. Твардовська М.О., Андреев І.О., Кунах В.А. Внутрішньовидовий хромосомний поліморфізм *Iris pumila* L. з території України. *Цитология и генетика*. 2015. Т. 49, № 5. С. 55-61. (Twardovska M.O., Andreev I.O., Kunakh V.A. Intraspecific chromosome polymorphism of *Iris pumila* L. from the territory of Ukraine. *Cytol. Genet.* 2015. V. 49, N 5. P. 322-327.)
280. Твардовська М.О., Андреев І.О., Кунах В.А. Введення в культуру *in vitro* та цитогенетичний аналіз рослин *Iris attica* та *Iris pseudopumila* Tineo. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2018. Т. 16, № 2. С. 203-211.
281. Твардовська М.О., Кунах В.А. Введення в культуру *in vitro* півників низьких (*Iris pumila*). *Інтродукція рослин*. 2013. № 3. С. 29-33.
282. Твардовська М.О., Страшнюк Н.М., Мельник В.М., Адонін В.І., Кунах В.А. Мінливість числа хромосом та рівень хромосомних аберацій в культурі тканин тирличу безстеблового (*Gentiana acaulis* L.). *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2006. Т. 4, № 2. С. 204-209.
283. Твардовська М.О., Страшнюк Н.М., Мельник В.М., Адонін В.І., Кунах В.А. Хромосомна мінливість в культурі тканин рідкісних видів роду тирлич (*Gentiana* L.). *Цитология и генетика (Cytol. Genet.)*. 2008. Т. 42, № 4. С. 12-17.
284. Твардовська М.О., Страшнюк Н.М., Мельник В.М., Конвалюк І.І., Кунах В.А. RAPD-аналіз геномного поліморфізму деяких видів роду *Gentiana* L. флори України. *Доповіді НАН України*. 2009. № 5. С. 200-204.
285. Твардовська М.О., Дробик Н.М., Мельник В.М., Конвалюк І.І., Кунах В.А. Геномна мінливість деяких видів роду *Gentiana* L. у природі та у культурі *in vitro*: RAPD-аналіз. *Biopol. Cell*. 2010. V. 26, N 6. P. 499-507.
286. Твардовська М.О., Страшнюк Н.М., Мельник В.М., Кунах В.А. Аналіз генетичної мінливості культури тканин деяких видів роду *Gentiana* L. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2007. Т. 5, № 1-2. С. 104-111.
287. Топорова Е.К., Чеченева Т.Н., Кунах В.А., Труханов В.А., Кордюм В.А. Изучение проникновения, состояния и возможности экспрессии плазмидной ДНК в протопластах табака. В сб.: Молекулярная биология, Киев, Наукова думка, 1982. Вып. 32. С. 39-44.
288. Фтемова Л.В. Витоки розвитку біотехнології рослин в Інституті ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Зб. наук. праць «Гілея: науковий вісник». Київ, 2013, вип. 79, с. 75-79.
289. Чеченева Т. М. Спонтанна та індукована мінливість кукурудзи *in vitro*: автореф. дис. ... докт. біол. наук (03.00.15 – генетика). Інститут фізіології рослин і генетики НАН України. К., 2003. 44 с.
290. Шамина З.Б., Бутенко Р.Г., Тарасов В.А. Цитологическое изучение культуры тканей табака. *Генетика*. 1966, №1, с. 70-76
291. Юдакова О.И., Тырнов В.С., Кунах В.А., Козерецкая И.А., Парникоза И.Ю. Специфика адаптации системы семенного размножения *Deschampsia antarctica* E. Desv к условиям Прибрежной Антарктики. *Онтогенез*. 2016. Т. 37, № 3 С. 170-180. (Yudakova O.I., Tyrnov V.S., Kunakh V.A., Kozeretzkaya I.A., Parnikozha I.Yu. Adaptation of the seed reproduction system to conditions of Maritime Antarctic in *Deschampsia antarctica* E. Desv. *Russian Journal Development Biol.* 2016. V. 47, N 3. P. 138-146).
292. Юдакова О.И., Черкасова Е.И., Кунах В.А., Козерецкая И.А., Парникоза И.Ю. Адаптационные особенности системы семенного размножения *Colobanthus quitensis* (Caryophyllaceae) в условиях морской Антарктики. *Бот. журнал*. 2017. Т. 102, № 7. С. 922-935.
293. Юдакова О.И., Шакина Т.Н., Тырнов В.С., Кунах В.А., Козерецкая И.А., Парникоза И.Ю. Качество пыльцы и особенности структуры микрогаметофита у антарктических популяций *Deschampsia antarctica* E. Desv. *Бюллетень бот. сада Саратовского гос. университета*. Саратов. Изд-во Саратовского университета. 2012. Вып. 10. С. 203-207.
294. Alkhimova E.G., Adonin V.I., Kunakh V.A. Production of medicinal alkaloids by *Papaver bracteatum* cultured cells. *Acta Horticulturae*. 1993. V. 330. P. 287-292.
295. Alkhimova E.G., Kunakh V.A., Smirnov V.A. Effects of growth regulators on ajmaline production in tissue culture. Plant tissue and cell culture application to crop improvement. Proc. International Symposium. (Prague. 1984). P. 573-574.
296. Amosova A.V., Bolsheva N.L., Samatadze T.E., Twardovska M.O., Zoshchuk S.A., Andreev I.O., Badaeva E.D., Kunakh V.A., Muravenko O.V. Molecular Cytogenetic Analysis of *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae), Maritime Antarctic. *PLoS ONE*. 2015. V. 10, № 9. P. 1-17. — e0138878. doi: 10.1371/journal.pone.0138878.
297. Amosova A.V., Bolsheva N.L., Zoshchuk S.A., Twardovska M.O., Yurkevich O.Yu., Andreev I.O., Samatadze T.E., Badaeva E.D., Kunakh V.A., Muravenko O.V. Comparative molecular cytogenetic characterization of seven *Deschampsia* (Poaceae) species. *PLoS ONE*. 2017. 12(4): e0175760. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175760>.
298. Andreev I.O., Adnof D., Spiridonova K.V., Kunakh V.A. Long-term stability of two *Rauwolfia serpentina* cell strains. *Catrina*. 2007. V. 2, N2. P. 133-136.
299. Andreev I.O., Spiridonova K.V., Kunakh V.A., Solovyan V.T. Changes in the pattern of HMW-DNA fragmentation accompanying the differentiation and ageing of plant cells // In: Cell biology and instrumentation: UV-radiation, nitric oxide and cell death in plants. Ya. Blume,

- D.J. Durzan, P. Smertenko (Eds). – Amsterdam et cet., IOS Press. 2006. P. 307-314.
300. Andreev I.O., Spiridonova K.V., Solovyan V.T., Kunakh V.A. Variability of ribosomal RNA genes in *Rauwolfia* species: parallelism between tissue culture-induced rearrangements and interspecies polymorphism. *Cell Biol. Internat.* 2005. V.29, N1. 21-27.
301. Bartos J. Dělení bunek v kulturach casti korene mrkve (*Daucus carota*). *Českosl. biol.* 1954. No. 3. P.206-211.
302. Bublyk O.M., Andreev I.O., Kalendar R.N., Spiridonova K.V., Kunakh V.A. Efficiency of different PCR-based marker systems for assessment of *Iris pumila* genetic diversity. *Biologia*. 2013. V. 68, N 4. P. 613-620.
303. Bublyk O.M., Andreev I.O., Spiridonova K.V., Kunakh V.A. Genetic variability in regenerated plants of *Ungernia victoris*. *Biologia plantarum*. 2012. V. 56, N 2. P. 395-400.
304. Buvat R. Recherches sur la dedifferentiation des cellules vegetales. *Ann. Sc. Nat. Bot. Biol. veg.* 1944. No. 5. P. 1-130.
305. Buvat R. Recherches sur la dedifferentiation des cellules vegetales. *Ann. Sc. Nat. Bot. Biol. veg.* 1945. No. 6. P. 1-119.
306. Drobyk N.M., Hrytsak L.R., Mel'nyk V.M., Kravets N.B., Konvalyuk I.I., Twardovska M.O., Kunakh V.A. Chapter 2. *In vitro* manipulation and propagation of *Gentiana* L. species from Ukrainian flora. In: The *Gentianaceae*. V. 2. Biotechnology and Applications. J.J. Rybczynski et al. (eds). Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg. 2015. P. 45-79.
307. Drobyk N.M., Mel'nyk V.M., Hrytsak L.R., Kravets N.D., Konvalyuk I.I., Twardovska M.O., Kunakh V.A. Establishment and analysis of tissue band fast-growing normal root cultures of four *Gentiana* L. species, rare highland medicinal plants. *Biopol. Cell*. 2018. V.34, N 6. P. 461-476.
308. Drobyk N.M., Mel'nyk V.M., Twardovska M.O., Konvalyuk I.I., Kunakh V.A. Chapter 13. Tissue and organ cultures of *Gentiana* as potential sources of xanthenes and flavonoids. In: The *Gentianaceae*. V. 2. Biotechnology and Applications. J.J. Rybczynski et al. (eds). Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg. 2015a. P. 307-317.
309. Dvornyk A.S., Dugan A.M., Mozhylyvska L.P., Kunakh V.A. Estimation of antimutagenic activities of the extracts from the biomass of cultured cells of some medicinal plants. II International Symposium on Plant Biotechnology. (4-8 October 1998, Kyiv, Ukraine). Abstracts. Kyiv. 1998. P. 35.
310. Dvornyk A.S., Pererva T.P., Kunakh V.A. Elaboration of the *Escherichia coli* – bacteriophage λ system to study the plant extract antimutagenic activity. *Бюлетень державного Никітського бот. саду*. 2002. Вип. 86. С. 7-10.
311. Ishchenko O.O., Panchuk I.I., Andreev I.O., Kunakh V.A., Volkov R.A. Molecular organization of 5S ribosomal DNA of *Deschampsia antarctica*. *Cytol. Genet.* 2018. V. 52, N 6. P. 416-421.
312. Gautheret R.J. Histogenesis in plant tissue cultures. *J. Nat. Cancer Inst.* 1957. Vol. 19. P. 555-564.
313. Gautheret R.J. La culture des tissus vegetaux. *Techniques et realisations*. Paris, 1959. 868 p.
314. Gubar E.K., Kunakh V.A. V.8. C-banding in *Zea mays*. In: Biotechnology in agriculture and forestry. V. 25. Maize. Y.P.S. Bajaj (ed.). Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, New York etc. – 1994. P. 366-381.
315. Gubar S.I., Konstantinova E.P., Kunakh V.A. *Rauwolfia* cultured cells: production of indole alkaloids and their determination. *Acta Horticulturae*. 1993. V. 330. P. 281-286.
316. Kunakh V.A. II.7. Somaclonal variation in *Rauwolfia* // In: Biotechnology in agriculture and forestry. – V. 36. — Somaclonal variation in crop improvement II. Y.P.S. Bajaj (ed.). – Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, New York etc. – 1996. – P. 315-332.
317. Kunakh V.A. Twenty five years long stable biosynthesis of ajmaline by related hormone-independent *Rauwolfia serpentina* cell lines. Euromedica - Hannover - 2005. International Congress and Exhibition. Medizinische Botanik und Phytoterapie. (Hannover, 16-17 Juni 2005). Programm, Abstracts. Hannover. 2005. P. 22.
318. Kunakh V.A. Evolution of cell populations *in vitro*: peculiarities, driving forces, mechanisms and consequences. *Biopol. Cell*. 2013. V. 29, N 4. P. 295-310.
319. Kunakh V. A., Alkhimova E. G. XXII. *Rauwolfia serpentina*: *In vitro* culture and the production of ajmaline. In: Biotechnology in agriculture and forestry. V. 7. Medicinal and aromatic plants II. Y.P.S. Bajaj (ed.). Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, New York etc. 1989. P. 398-416.
320. Kunakh V.A., Alkhimova E.G., Voityuk L.I., Alpatova L.K. Obtaining of tissue cultures and organogenesis induction in *Pisum sativum* L. Plant tissue and cell culture application to crop improvement. Proc. Internat. Symp. (Prague. 1984). P.135-136
321. Kunakh V.A., Gubar S.I., Alpatova L.K., Alkhimova E.G., Konstantinova E.P., Lazurkevich Z.V., Kostenjuk I.A., Solovjan V.T. Genome variability and some aspects of primary and secondary metabolism in *Rauwolfia serpentina* Benth. cell cultures. *Die Pharmazie* (Berlin). – 1987. B. 42, N 3. P. 218.
322. Kunakh V.A., Mel'nyk V.M., Drobyk N.M., Andreev I.O., Spiridonova K.V., Twardovska M.O., Konvalyuk I.I., Adonin V.I. Chapter 9. Genetic variation induced by tissue and organ culture in *Gentiana* species. In: The *Gentianaceae*. V. 2. Biotechnology and Applications. J.J. Rybczynski et al. (eds). Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg. 2015. P. 199-238.
323. Levenko B.A., Kunakh V.A., Yurkova G.N. Studies of callus tissue from anthers. I. Tomato. *Phytomorphology*. 1978. V. 27, N 4. P. 377-383.
324. Melchers G., Bergman L. Untersuchungen an Kulturen von haploiden Geweben von Antirrhinum majus. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 1959. V. 71, N. 4. P. 459-473.
325. Mel'nik V.M., Spiridonova K.V., Andreev I.O., Strashnyuk N.M., Kunakh V.A. Rearrangements of the 18S-25S ribosomal RNA nuclear gene in culture *in vitro* of some *Gentiana* L. species. *Бюлетень державного Никітського бот. саду*. 2002. Вип. 86. С. 63-66.
326. Mel'nyk V.M., Drobyk N.M., Twardovska M.O., Kunakh V.A. Chapter 7. Karyology of European Species

- of Genus *Gentiana* L. In: The *Gentianaceae*. V.1. Characterization and Ecology. J.J. Rybczynski et al. (eds). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 2014. P. 219-230.
327. Mosula M.Z., Andreev I.O., Bublyk O.M., Mel'nyk V.M., Konvalyuk I.I., Drobyk N.M., Kunakh V.A. Molecular markers to assess genetic diversity of *Gentiana lutea* L. from the Ukrainian Carpathians. *Plant Genetic Resources*. 2015. V. 13, N 3. P. 266-273. – doi:<http://dx.doi.org/10.1017/S147926211400194X>.
328. Navrotska D., Andreev I., Betekhtin A., Rojek M., Parnikoza I., Myryuta G., Porinnik O., Miryuta N., Szymanovska-Pulra J., Grakhov V., Ivannikov R., Hasterok R., Kunakh V.A. Assessment of molecular cytogenetic, morphometric and biochemical parameters of *Deschampsia antarctica* from its southern range limit in maritime Antarctic. *Polish Polar Research*. 2018. V. 30, N 4. P. 525-548.
329. Navrotska D.O., Twardowska M.O., Andreev I.O., Parnikoza I.Yu., Betekhtin A.A., Zahrychuk O.M., Drobyk N.M., Hasterok R., Kunakh V.A. New forms of chromosome polymorphism in *Deschampsia antarctica* Desv. from the Argentina Island of the Maritime Antarctic Region. *Ukrainian Antarctic Journ.* 2014. № 13. C. 185-191.
330. Navrotska D., Twardowska M., Andreev I., Spiridonova K., Kunakh V. Study of genomic variation in *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae) from the maritime Antarctic. *Biopol. Cell*. 2016. Vol. 32, N5. P. 402.
331. Nuzhyna N., Parnikoza I., Poronnik O., Kozeretka I., Kunakh V. Anatomical features of different chromosomal forms of *Deschampsia antarctica* Desv. *Berichte zur Polar-und Meerforschung*, 2018, 716. Polar Systems under Pressure. 27th International polar conf. (Rostock, 25-29 March). 2018. P. 137.
332. Parnikoza I.Yu., Andreev I.O., Bublyk O.M., Spiridonova K.V., Golembiewska J., Kubiak M., Kuczynska A., Mystkowska K., Oledrzhynska N., Urasinska B., Slezak-Parnikoza A., Gorniak M., Wojciechowski K., Didukh J.P., Kunakh V.A. The current state of steppe perennial plants population: A case study of *Iris pumila*. *Biologia*. 2017, v.72, N1, p.24-35.
333. Parnikoza I., Kozeretka I., Kunakh V.A. Vascular plants of the maritime Antarctic: origin and adaptation. *Amer. J. Plant Sci.* 2011. V. 2, N 3. P. 381-395.
334. Parnikoza I.Yu., Miryuta N.Yu., Maidanyuk D.N., Loparev S.A., Korsun S.G., Budzanivska I.G., Shevchenko T. P., Polischuk V.P., Kunakh V.A., Kozeretka I.A. Habitat and leaf cytogenetic characteristics of *Deschampsia antarctica* Desv. in the Maritime Antarctic. *Polar Sci.* 2007. V. 1, N2. P. 121-128.
335. Parnikoza I., Miryuta N., Ozheredova I., Kozeretka I., Smykla J., Kunakh V., Convey P. Comparative analysis of *Deschampsia antarctica* Desv. population adaptability in the natural environment of the Admiralty Bay region (King George Island, maritime Antarctic). *Polar Biol.* 2015. V. 38. P. 1401-1411.
336. Parnikoza I., Rozhok A., Convey P., Veselski M., Esefeld J., Ochyra R., Mustafa O., Braun C., Peter H. U., Smykla J., Kunakh V., Kozeretka I. Spread of Antarctic vegetation by the kelp gull: comparison of two maritime Antarctic regions. *Polar Biol.* 2018. Voll.41, N6. P. 1143-1155. Doi.org/10.1007/s00300-018-2274-9.
337. Rabokon A.M., Pirko Y.V., Demkovich A.Ye., Andreev I.O., Parnikoza I.Yu., Kozeretka I.A., Kunakh V., Blume Y.B. Intron length polymorphism of β -tubulin genes in *Deschampsia antarctica* Desv. across the Western coast of the Antarctic peninsula. *Polar Sci.* 2018. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.polar.2018.11.001>.
338. Solov'yan V.T., Andreev I.O., Kolotova T.Yu., Pogribniy P.V., Tamavsky D.T., Kunakh V.A. The cleavage of nuclear DNA into high molecular weight DNA fragments occurs not only during apoptosis but also accompanies changes in functional activity of the nonapoptotic cells. *Exp. Cell Res.* 1997. V. 235. P. 130-137.
339. Straus J. Maize endosperm tissue grown in vitro. II. Morphology and Cytology. *Am. J. Bot.* 1954. V. 41. P. 833-839
340. Tulecke W.R. The pollen of *Ginkgo biloba*. In vitro culture and tissue formation. *Am. J. Bot.* 1957. V. 44, No. 5. P. 602-608.
341. Volkov R.A., Kozeretka I.A., Kyryachenko S.S., Andreev I.O., Maidanyuk D.N., Parnikoza I.Yu., Kunakh V.A. Molecular evolution and variability of ITS1-ITS2 in population of *Deschampsia antarctica* from two regions of the maritime Antarctic. *Polar Sci.* 2010. V. 4, N 3. P. 469-478.
342. Zakhlenjuk O.V., Kunakh V.A. Aneuploidy induced by plant growth regulators. In: Progress and topics in cytogenetics. V. 7B, Aneuploidy. Part B: Induction and test systems. Baldev K. Vig, Avery A. Sandberg (eds). Alan R. Liss, Inc. New York. 1988. P. 39-53.
343. Zakhlenjuk O.V., Kunakh V.A. III. *Arnebia euchroma*: in vitro culture and the production of shikonin and other secondary metabolites // In: Biotechnology in agriculture and forestry. V. 41. Medicinal and aromatic plants X. Y.P.S. Bajaj (ed.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 1998. P. 28-44.
344. Zakhlenjuk O.V., Vidmachenko T.V., Kunakh V.A., Davydenkov N.V., Rabinovich S.A. Comparative characteristics of shikonin accumulating *Arnebia euchroma* suspension culture and its P-fluorophenylalanine-resistant variant. *Acta Horticult.* 1993. V. 330. P. 293-298.

**DEPARTMENT OF CELL POPULATION
GENETICS AT THE INSTITUTE
OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS
OF THE NAS OF UKRAINE: HISTORY
AND MAJOR SCIENTIFIC ACHIEVEMENTS
(TO THE 30th ANNIVERSARY
FROM THE ESTABLISHMENT)**

V. A. Kunakh

Institute of Molecular Biology and Genetics
of the National Academy of Sciences of Ukraine
Ukraine, 03143, Kyiv,
Akademika Zabolotnogo street, 150
e-mail: kunakh@imbg.org.ua

The article briefly reviews the milestones in the history of the Department of cell population genetics, established in 1988 at the Institute of Molecular Biology and Genetics by the decision of the Presidium of the Academy of Sciences of Ukraine. This department and its predecessor, the Laboratory of cell population

genetics (founded in 1983), were the place where a new scientific field of cell population genetics emerged that has provided the theoretical foundation for modern cellular and genetic technologies. Particular attention is paid to the scientific achievements of the staff of the Department of cell population genetics. In the context of the obtained results, the features of the development of cutting edge fields of genetics of somatic cells of intact plants and cells cultured *in vitro*, cell population genetics, genetic foundations of cell selection, cell biology and biotechnology are analyzed since the second half of the last century and to this day. The achievements of the Department's staff both in the field of fundamental and applied research, in the implementation of their inventions, as well as in the training of scientific personnel are addressed.

Key words: history of science, cell population genetics, plant tissue culture, plant biotechnology, variability and plasticity of plant genome, plant adaptation.