

**С.П. Пономаренко<sup>1</sup>, В.А. Циганкова<sup>2</sup>, Я.Б. Блюм<sup>3</sup>, А.П. Галкін<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Міжвідомчий науково-технологічний центр «Агробіотех» НАН і МОН України, Київ

<sup>2</sup> Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, Київ

<sup>3</sup> Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, Київ

## **НОВИЙ НАПРЯМОК У РОСЛИННИЦТВІ — ЗАСТОСУВАННЯ ПРИРОДНИХ ПОЛІКОМПОНЕНТНИХ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ РОСЛИН З БІОЗАХИСНИМ ЕФЕКТОМ**



З використанням методу точкової дот-блот гібридизації виявлено різницю ступенів гомології між mRNA контрольних рослин і малими регуляторними si/miRNA, виділеними із проростків пшениці, кукурудзи, сої, цукрового буряка, нуту та ін. 2-го покоління, отриманих з насіння рослин, інфікованих та оброблених новими полікомпонентними регуляторами росту рослин Regoplant® і Stipro® у 1-му поколінні. Доведено, що ця різниця пов'язана з частковим пере-програмуванням геному клітин під впливом біостимуляторів при вирощуванні рослин на інфікованих фонах, що виявляється в індукції синтезу низькомолекулярних si/mi RNA з антипатогенними та антипаразитарними властивостями, які є складовими імунної системи живого організму.

Ключові слова: стійкість рослин, імунітет, біостимулятори росту, si/miRNA, дот-блот-гібридизація.

### **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ РОСЛИН ІЗ БІОЗАХИСНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ**

Упродовж останніх 15-и років великої уваги надається виділенню з клітин еукаріотів та визначенню біологічної ролі малих регуляторних РНК (small regulatory RNA) в RNAi (RNA interference) в процесі, який прийнято називати *пост-транскрипційний сайленсинг генів* (PTGS) у рослин, тварин та грибів [1–7]. Сайленсинг генів — процес, у результаті якого відбувається або деградація, або блокування трансляції молекул-мішеней mRNA, — має велике значення в адаптаційній резистентності до вірусів, захисті геному від транспозицій мобільних ДНК-елементів, а також в онтогенетичній регуляції експресії генів. Основну роль у сайленсингу виконують 2 типи малих регулятор-

них RNA: miRNA (microRNA) та siRNA (short interfering RNA) [1–6]. MicroRNA утворюються з молекул-попередників шляхом двох раундів ендорибонуклеазного розщеплення за допомогою RNase-111 подібних ферментів. Спочатку за допомогою рибонуклеази RNase 111 Drosha утворюється pre-miRNA-первинний шпилько-подібний подовжений (70 нт) транскрипт з одностанцюгових окремих геномних локусів. Ці молекули pre-miRNA експортуються в цитоплазму, де відбувається їх процесинг за допомогою ендорибонуклеази RNase 111 Dicer, в результаті чого утворюються зрілі одностанцюгові (довжиною 21–22 нт) молекули miRNA, які інкорпорується в miRNPs (micro-ribonucleoproteins) [3, 4]. Short interfering RNA (розміром 22–24 нт) утворюються з подовжених двостанцюгових попередників RNA — dsRNA (double-stranded RNA) в результаті їх розщеплення ендорибонуклеазою RNase III Dicer на короткі одностанцюгові (ss)siRNA (sing-

le-stranded siRNA) [1, 2, 5, 6]. Одна частина (ss)siRNA використовується для «сайленсингування» молекул-мішеней mRNA, тоді як інші молекули (ss)siRNA функціонують як праймери до комплементарних послідовностей mRNA, на яких за допомогою полімерази RdRP (RNA-dependent RNA polymerase) утворюються нові молекули dsRNA. Допускають, що siRNA є похідними від подовжених послідовностей, що повторюються, транспозонів та трансгенів. Встановлено, що si/miRNA близькі за структурою і функцією (характеризуються антисенсовою комплементарною структурою до mRNA) і відіграють подвійну роль у рослин [1–15]:

1) разом із сайт-специфічними мультисубодиничними ендо- та екзонуклеазами, які є складовими RISC-комплексу (RNA-induced silencing complex) визначають період життя кожної з молекул mRNA, насамперед знищують шляхом або деградації (розщеплення), або блокування (сайленсингу) трансляції аберантні та недосконалі за структурою молекули mRNA, які можуть з'являтися помилково в клітинах;

2) виконують захисні (антипатогенні та антипаразитичні) функції.

В обох випадках ці біологічні ефекти досягаються шляхом зв'язування si/miRNA з комплементарною полінуклеотидною ланкою mRNA власних клітин чи mRNA хворобоутворюючих вірусів, або mRNA паразитичних організмів (напр., нематод). У клітинах тварин та рослин si/miRNA функціонують різними шляхами: si/miRNA тварин зв'язуються з 3'-UTR ділянками (3'-untranslated regions) або з ORF (open reading frame) молекул-мішеней mRNA, в той час як si/miRNA рослин зв'язуються з кодуючими послідовностями mRNA [16].

Але у випадках інфікування великої маси клітин у тканинах рослин шкідниками синтезується недостатньо молекул si/miRNA проти тих чи інших паразитів і тому, відповідно, не досягається захисний ефект. Вчені пропонують два підходи підвищення кількості si/miRNA у відповідь на патогенез [1, 5, 8–10]:

1) за допомогою введення в клітини додаткової кількості копій генів si/miRNA шляхом генетичної трансформації;

2) активацією експресії власних клітинних генів синтезу si/miRNA якимисьь специфічними індукторами.

До нових ефективних вітчизняних препаратів — індукторів імунізаційних властивостей рослин — належать створені державним підприємством «Міжвідомчий науково-технологічний центр "Агробіотех" НАН і МОН України» композиційні поліфункціональні препарати Стімпо та Регоплант, біозахисні властивості яких обумовлені синергійним ефектом взаємодії продуктів життєдіяльності в культурі *in vitro* гриба-мікроміцета *Cylindrocarpus obtusiusculum* 680, виділеного з кореневої системи женьшеню (суміш амінокислот, вуглеводів, жирних кислот, полісахаридів, фітогормонів, мікроелементів) та аверсектинів — комплексних антипаразитарних макролідних антибіотиків, продуктів метаболізму ґрунтового стрептоміцету *Streptomyces avermitilis* [17].

Як виявлено нами у проведених молекулярно-генетичних дослідженнях [18, 19], ці препарати значно підвищують стійкість рослин до різних патогенів завдяки стимуляції ними синтезу власне клітинних малих регуляторних RNA (small regulatory RNA), що беруть участь в RNAi-процесі (RNA interference), який прийнято називати *посттранскрипційним сайленсингом генів* (PTGS) у рослин, тварин та грибів [20–25].

До числа наших фундаментальних досягнень можна віднести розкриття молекулярно-генетичних механізмів опосередкованої дії екзогенних регуляторів росту через ендогенний пул фітогормонів та вперше одержаних результатів, які свідчать про активізацію в клітинах рослин ендогенних si/miRNA, специфічно комплементарних до mRNA патогену чи паразиту і є складовими імунної системи в боротьбі із хворобами, шкідниками, стресами і, як наслідок, збереження і більш повна реалізація генотипу, за рахунок чого збільшується врожай і його якість.

Нами показано, що ознаки стійкості рослин успадковуються і проявляються у другому і навіть у третьому поколінні як домінантний гомозиготний локус без розщеплення.

На початку ХХ ст. український вчений *М.Г. Холодний* виявив у точках росту рослин невідомі до того ростові речовини, які були названі *фітогормонами*, або *регуляторами росту рослин*. Ще тоді він передбачив, що прийде час, коли штучні аналоги фітогормонів будуть відігравати не меншу роль, ніж сорти та інші агроприйоми. Пізніше вчені різних країн створили чимало штучних та природних аналогів фітогормонів, однак через неприйнятність цього нового знання широким загалом вони не знайшли практичного застосування.

У 1987 р. було організовано Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАНУ, а в 1989 р. розроблена державна програма створення сучасних регуляторів росту рослин. Ці дослідження підтримала Національна академія наук, Українська академія аграрних наук та Міністерство освіти і науки. І якщо говорити про успіхи цієї державної справи, то в нашій країні створено широкий спектр регуляторів росту рослин: штучних аналогів фітогормонів, біотехнологічних продуктів життєдіяльності грибів-епіфітів з кореневої системи лікарських рослин, а також композиції природних і штучних регуляторів росту рослин. Один із основних механізмів їх дії є прискорення передачі інформації, закладеної в клітинному геномі. Фізіологічні ефекти українських регуляторів подібні до дії фітогормонів. За допомогою тест-об'єктів доведено, що препарати мають відповідну цілеспрямовану активність фітогормонів ауксинової і цитокінінової природи. За впливу біостимуляторів активізується синтез основних біомакромолекул, в т. ч. ендогенних фітогормонів. Ці реакції на молекулярному рівні — основа інтенсифікації фізіологічних процесів росту та поділу клітин і як результат — інтегральний ріст та розвиток рослин, підвищення стійкості до хвороб та стресів, збільшення врожаю, покращення якості про-

дукції рослинництва. Світові лідери агрови-робництва вже давно використовують інноваційні елементи технологій з використанням регуляторів росту рослин, «високі технології» активно реалізуються в органічному землеробстві за вимогами ФАО та СОТ.

Широкі наукові дослідження і виробничі випробування, зокрема препаратів *Біолан* та *Емістим С* у зоні Полісся і Лісостепу підтвердили факт зменшення надходження радіонуклідів у продукцію рослинництва на забруднених ними ґрунтах. За умови використання їх з пестицидами для допосівної обробки насіння регулятори росту рослин підсилюють стійкість ґрунтової мікрофлори до негативної дії пестицидів. Це досягнення — результат п'ятирічних досліджень науковців Інституту мікробіології та вірусології Національної академії наук. Екологічна роль регуляторів обумовлена як прямою дією на мікробні угруповання, так і впливом через кореневу систему рослин, розвиток яких на 15—37 відсотків підсилюється.

Про реальний внесок науки вказують спільні накази по тодішньому Міністерству агропромислового комплексу та Українській академії аграрних наук: «Про впровадження біостимуляторів росту рослин для допосівної обробки насіння» 1995 р.; «Про організацію науково-виробничої перевірки та впровадження нових біостимуляторів росту рослин на посівах сільськогосподарських культур» 1995 р.; «Про державну підтримку міжнародного співробітництва в галузі високих і критичних технологій» 1997 р.; «Про впровадження нових регуляторів росту рослин» 1999р. та інші нормативні документи. Але історично так мало статися, що саме в Україні на протязі останніх 20 років, з моменту створення Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАНУ, було створено 15 регуляторів росту рослин. Саме стільки препаратів та 27 препаративних форм зареєстровано в Україні Міністерством екобезпеки та охорони навколишнього середовища.

На переданих Президією НАНУ виробничих площах Інституту біоорганічної хімії та наф-

тохімії Державним підприємством «МНТЦ «Агробіотех» створені сучасні біотехнологічні виробництва регуляторів росту рослин, які ліцензовані Міністерством промислової політики та Мінагрополітики та продовольства України. Більш того, виконуючи завдання затвердженої Мінпромполітики «Програми розвитку вітчизняного виробництва засобів за-

хисту і регуляторів рослин на 2004—2009 роки, МНТЦ «Агробіотех» створив нові унікальні регулятори росту рослин «Біолан», «Біосил», «Біомакс», «Радостим». Вже сьогодні створені виробництва спроможні на протязі року забезпечити новітніми регуляторами росту рослин виробників аграрного комплексу на площах понад 1 млн. га.

Таблиця 1

**Вплив різних норм Калібру\* та Біолану на забур'яненість посівів пшениці озимої (сорт Подолянка). Уманський державний університет, 2012 р.**

Варіант	Через місяць після внесення препаратів			
	Кількість бур'янів, шт./м <sup>2</sup>	Зниження забур'яненості, %	Маса бур'янів, г/м <sup>2</sup>	Зниження забур'яненості, %
Без препаратів (контроль)	34,1	0	50,7	0
Біолан 10 мл/га	20,7	39,3	35,2	30,6
Калібр 45 г/га	16,5	51,5	21,7	57,2
Калібр 60 г/га	14,8	56,6	19,3	61,9
Калібр 75 г/га	14,0	58,9	18,9	62,7
Калібр 45 г/га*	12,9	62,2	19,6	61,3
Біолан 10 мл/га				
Калібр 60 г/га*	11,5	66,3	16,3	67,9
Біолан 10 мл/га				
Калібр 75 г/га*	10,4	69,5	15,1	70,2
Біолан 10 мл/га				

Примітка. \* — гербіцид, виробник Дюпон Інтернешенел, Швейцарія.

Таблиця 2

**Ефективність біостимуляторів у порівнянні з традиційними хімічними препаратами — протруйниками насіння проти нематоди пшеничної, жужелиці, озимої совки, злакових мух (2011 р.)**

Варіант	Норма витрат, л/т	Нематода пшенична		Жужелиця		Совка озима		Мухи злакові	
		1	2	1	2	1	2	1	2
		Контроль		42,5		36,6		15,2	
Стимпо	0,025	22,5	47	14,6	60	9,9	35	17,1	57
Регоплант	0,25	5,4	87	6,8	81	5,9	61	10,1	74
Юнта Кваттро*	0,15	3,5	92	0,1	100	0	100	2,1	95
Селест Топ**	0,2	4,1	90	1,9	95	0	100	2,8	93
Імадаклоприд	1,0	17,9	58	1,1	97	0,6	96	2,1	95
НСР <sub>05</sub>		1,1		0,9		0,8		2,3	

Примітка. \* — фунгіцид фірми «Bayer Crop Science»; \*\* — інсектицид фірми «Syngenta»; 1 — кількість пошкоджених проростків; 2 — біологічна ефективність, %

Ще в наказі МінАПК і УААН 1999 року № 330/113 від 18.10.1999р. «Про провадження нових регуляторів росту рослин» було наголошено, що зазначений агроприйм є найбільш ефективним, і дає можливість виробникам додатково отримати 15–20 % продукції рослинництва з покращенням якості, особливо за умов застосування недостатньої кількості елементів живлення.

Під керівництвом проф. *Грицаєнко З.М.* в Уманському державному аграрному університеті протягом 12 років виконувалися дослідження

по темі «Розробка новітніх технологій виробництва екологічної продукції з мінімальним пестицидним навантаженням у сівозмінах». Була показана екологічна та економічна ефективність спільного використання регуляторів росту рослин з сучасними гербіцидами при зменшенні на 20–25 % норм використання останніх (табл. 1).

За останні роки вчені Одеського селекційно-генетичного інституту НААНУ перевірили створені регулятори росту в технологіях вирощування високопродуктивних сортів зернових ку-

Таблиця 3

**Ефективність біостимуляторів у порівнянні з іншими препаратами – протруйниками насіння проти збудників гнилі і цвілі сої (2011 р.)**

Варіант	Норма витрат, л/т	Fusarium sp.		Botrytis cynerea		Alternaria sp.		Комплекс грибів зберігання***	
		1	2	1	2	1	2	1	2
Контроль		43,6		29,3		9,7		32,4	
Стимпо	0,025	12,8	71	8,1	72	1,1	89	8,9	73
Регоплант	0,25	1,8	96	0,6	98	0,5	95	4,5	86
Ламардор*	0,2	1,5	97	0	100	0	100	0	100
Юнта–Кваттро**	1,5	0	100	0	100	0	100	0	100
НСР		0,8		0,7		0,6		1,4	

*Примітка.* \* – фунгіцид фірми «Bayer Crop Science»; \*\* – Юнта-Кваттро – фунгіцид фірми «Bayer Crop Science»; \*\*\* – гриби *Mucor spp.*, *Rhizopus spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Tricholhescium roseum*; 1 – кількість інфікованих зернівок, %; 2 – біологічна ефективність, %.

Таблиця 4

**Ефективність біостимуляторів у порівнянні з іншими препаратами – протруйниками насіння проти збудників гнилі і цвілі кукурудзи (2011 р.)**

Варіант	Норма витрат, л/т	Fusarium sp.		Alternaria sp.		Nigrospora sp.		Комплекс грибів зберігання***	
		1	2	1	2	1	2	1	2
Контроль		21,8		12,9		11,7		65,4	
Стимпо	0,025	10,3	53	2,6	80	4,6	6,1	27,1	59
Регоплант	0,25	9,1	28	0,7	95	0,6	95	13,6	79
Ламардор*	0,2	1,5	97	0	100	0	100	0	100
Юнта–Кваттро**	1,5	0	100	0	100	0	100	0	100
НСР		0,5		0,8		0,6		3,1	

*Примітка.* \* – фунгіцид фірми «Bayer Crop Science»; \*\* – фунгіцид фірми «Bayer Crop Science»; \*\*\* – гриби *Mucor spp.*, *Rhizopus spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Tricholhescium roseum*; 1 – кількість інфікованих зернівок, %; 2 – біологічна ефективність, %.



Рис. 1. Парадокси сьогодення

льтур і показали доцільність використання біостимуляторів в захисно-стимулюючих композиціях з сучасними пестицидами при обробці насіння і обприскуванні посівів, особливо на інфікованих полях (табл. 2, 3, 4).

Особливого значення набувають регулятори росту рослин при допосівній обробці насіння. Якість зерна, адаптація його до конкретних ґрунтових зон та конкретних полів, зняття фі-

тотоксичної дії протруйників, підсилення енергії проростання та польової схожості насіння роблять цей агрозахід економічно ефективним та екологічно доцільним.

Наразі після проведених випробувань згідно з діючими законодавствами ряду країн препарати Державного підприємства «МНТЦ "Агробіотех" зареєстровані в Республіці Беларусь, Російській Федерації, Казахстані, Німеччині та Китаї.

Безумовно, великого значення для продовольчої безпеки держави набувають нові регулятори росту рослин Regoplant® і Stimpro® із біозахисним ефектом (табл. 5).

Окрім показників ефективності на 10 млн. га застосування, наданих у таблиці, ці високі технології дають можливість на 25–30 % зменшити норми застосування добрив та пестицидів без зменшення обсягів сільськогосподарського виробництва та з покращенням якості вирощеної продукції рослинництва, збереженням генетичного потенціалу насіння і значної економії коштів (десятки млн. дол. США на рік) на закупівлю закордонних пестицидів і підви-

Таблиця 5

**Техніко-економічне обґрунтування застосування біостимуляторів росту рослин на орієнтовних площах посіву зернових с/г культур( 2013–2015 рр.)**

Показники	Усього за 3 роки	У тому числі		
		2013р.	2014р.	2015 р.
Площі посівів зернових с/г культур, млн. га	Всього 14,6	14,6	14,6	14,6
в тому числі із застосуванням біостимуляторів росту рослин, млн. га	0,3	3,0	10,0	10,0
у відсотках до загальної площі посівів, %	2,1	20,5	68,5	68,5
Потреба біостимуляторів росту рослин (50 мл/га), тис. л	665	15	150	500
на суму, млн. дол. США.	66,5	1,5	15,0	50,0
Гарантована ефективність застосування біостимуляторів росту рослин (прибавка врожаю), тис. т	6650	150	1500	5000
Економічний ефект, млн. дол. США	1703,5	41,25	412,5	1250,0
Очікуване надходження коштів до бюджету (ПДВ 20 %) від реалізації додатково отриманого зерна озимої пшениці за рахунок застосування біостимуляторів, млн. грн.	340,75	8,25	82,5	250,0
Прибуток (економічний ефект мінус витрати на біостимулятори та відрахування до бюджету (ПДВ), млн. грн.	1296,5	31,5	315,0	950,0
<b>Поставка на експорт</b>				
тис. л			50,0	200,0
млн. дол. США			5,0	20,0



Рис. 2. Майбутні перспективи



Рис. 3. Зелена революція

щення експортного потенціалу як продукції рослинництва, так і високих технологій, які стають реальною статтею експорту. Сьогодні експортний потенціал розробок ДП МНТЦ «Агробіотех» у Німеччину, Китай, Росію, Білорусь, Казахстан складає 39 % і забезпечує

близько 1 млн. гектарів посівів ряду основних сільськогосподарських культур.

Протягом останніх років нами було проведено значний об'єм робіт по відпрацюванню біотехнології виробництва у біореакторах, а від 16.11.2012 р. відпрацьовано процес промислового виробництва полікомпонентних регуляторів росту рослин з біозахисним ефектом на реконструйованому біотехнологічному підприємстві «Біоветфарм» (Новоград-Волинський).

Потужності біотехнологічного виробництва ДП «МНТЦ «Агробіотех» та «Біоветфарм» дозволяють виробляти щомісяця 100 т сучасних біологічних регуляторів росту рослин з біозахисним ефектом, тобто забезпечувати 10 млн. га/рік посівів основних сільськогосподарських культур.

### ВИСНОВКИ

Здобутки українських вчених по створенню сучасних біотехнологічних регуляторів росту рослин опубліковані у 7 монографіях, 317 публікаціях, 89 патентах і отримали визнання в ряді країн світу. Але найголовнішим є те, що створені в Україні технології затребувані та мають попит в багатьох країнах світу (100 тис. упаковок ємистиму С – біостимулятора росту рослин природного походження – поставлено з України в Китай в 2013 році).

Якщо «глобалізований» бізнес формується в країнах багатих, а чисельність населення швидко росте в бідних, то виникає питання: чи можуть люди врівноважити цю загрозову невідповідність? Чи можна, принаймні, завдяки новим винаходам, вирішити проблеми голоду?

Отже, що ми маємо на сьогодні і що необхідно зробити на майбутнє (рис. 1–3).

*Колектив державного підприємства «Міжвідомчий науково-технологічний центр "Агробіотех"» НАН і МОН України, об'єднавши зусилля фахівців наукових установ України та ряду інших країн, створив 15 найменувань українських регуляторів росту рослин, визнаних в Україні, Росії, Білорусі, Казахстані, Німеччині*

та Китаї. На черзі Канада, де завершується реєстрація і підписана угода на поставку високотехнологій на американський континент.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Elbashir S.M., Lendeckel W., Tusch T.* RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs // *Genes Dev.* — 2001. — Vol. 15. — P. 188–200.
2. *Hamilton A., Voinnet O., Chappell L. et al.* Two classes of short interfering RNA in RNA silencing // *The EMBO Journal.* — 2002. — Vol. 21, № 17. — P. 4671–4679.
3. *Lee V., Ahn C., Han J. et al.* The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing // *Nature.* — 2003. — Vol. 425. — P. 415–419.
4. *Mourelatos Z., Dostie J., Paushkin S. et al.* MiRNPs: a novel class of ribonucleoproteins containing numerous microRNAs // *Genes Dev.* — 2002. — Vol. 16. — P. 720–728.
5. *Leung R.K.M., Whittaker P.A.* RNA interference: from gene silencing to gene-specific therapeutics // *Pharmacology and Therapeutics.* — 2005. — № 107. — P. 222–239.
6. *Aravin A., Tusch T.* Identification and characterization of small RNAs involved in RNA silencing // *FEBS Letters.* — 2005. — V. 579. — P. 5830–5840.
7. *Fuller V.L., Lilley C.J., Urwin P.E.* Nematode resistance // *New Phytologist.* — 2008. — Vol. 180. — P. 27–44.
8. *Bakhetia M., Charlton W.L., Urwin P.E. et al.* RNA interference and plant parasitic nematodes // *Trends in Plant Science.* — 2005. — Vol. 10, № 8. — P. 362–367.
9. *Gheysen G., Vanholme B.* RNAi from plants to nematodes // *Trends in Biotechnology.* — 2006. — Vol. 25, № 3. — P. 89–92.
10. *Knox D.P., Geldhof P., Visser A., Britton C.* RNA interference in parasitic nematodes of animals: a reality check? // *Trends in Parasitology.* — 2007. — Vol. 23, № 3. — P. 105–107.
11. *Jian X., Zhang L., Li G. et al.* Identification of novel stress-regulated microRNAs from *Oryza sativa* L. // *Genomics.* — 2010. — Vol. 95. — P. 47–55.
12. *Chen Ft., Hu Z., Zhang H.* Identification of MicroRNAs in Wild Soybean (*Glycine soja*) // *J. of Integrative Plant Biology.* — 2009. — Vol. 51, № 12. — P. 1071–1079.
13. *Park W., Song R., Messing J., Chen X.* CARPEL FACTORY a Dicer Homolog, and HEN1, a Novel Protein, Act in microRNA Metabolism in *Arabidopsis thaliana* induced silencing complex (RISC), which targets homologous RNAs for degradation // *Current Biology.* — 2002. — Vol. 12. — P. 1484–1495.
14. *Llave C., Kasschau K.D., Rector M.A., Carrington J.C.* Endogenous and Silencing-Associated Small RNAs in Plants // *Plant Cell.* — 2002. — Vol. 14. — P. 1605–1619.
15. *Lu C., Meyers B.C., Green P.G.* Construction of small RNA cDNA libraries for deep sequencing // *Methods.* — 2007. — Vol. 43. — P. 110–117.
16. *Yang T., Xue L., An L.* Functional diversity of miRNA in plants // *Plant Science.* — 2007. — Vol. 172. — P. 423–432.
17. *Пономаренко С.П., Терек О.М., Грицаенко З.М. и др.* Биорегуляция роста и развития растений // «Биорегуляция микробно-растительных систем» / Под ред. Иутинской Г.А. и Пономаренко С. П. — Гл. 4. — К.: Нічлава, 2010. — 464 с.
18. *Tsygankova V.A., Galkin A.P., Galkina L.O. et al.* Gene expression under regulators' stimulation of plant growth and development // «New plant growth regulators: basic research and technologies of application» / Ed. S.P. Ponomarenko, H.O. Iutyńska. — Ch. 3. — Kyiv: Nichlava, 2011. — 211 p.
19. *Циганкова В.А., Андрусевич Я.В., Блюм Я.Б.* Виділення з клітин рослин малих регуляторних si/ miRNA з антинематодною активністю // ДАН України. — 2011. — № 9. — С. 159–164.
20. *Elbashir S.M., Lendeckel W., Tusch T.* RNA interference is mediated by 21 – and 22-nucleotide RNAs // *Genes and Development.* — 2001. — Vol. 15. — P. 188–200.
21. *Hamilton A., Voinnet O., Chappell L., Baulcombe D.* Two classes of short interfering RNA in RNA silencing // *EMBO Journal.* — 2002. — Vol. 21, № 17. — P. 4671–4679.
22. *Lee Y., Ahn C., Han J. et al.* The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing // *Nature.* — 2003. — Vol. 425. — P. 415–419.
23. *Mourelatos Z., Dostie J., Paushkin S. et al.* MiRNPs: a novel class of ribonucleoproteins containing numerous microRNAs // *Genes Dev.* — 2002. — Vol. 16. — P. 720–728.
24. *Leung R.K.M., Whittaker P.A.* RNA interference: from gene silencing to gene-specific therapeutics // *Pharmacol. Therapeutics.* — 2005. — № 107. — P. 222–239.
25. *Aravin A., Tusch T.* Identification and characterization of small RNAs involved in RNA silencing // *FEBS Letters.* — 2005. — Vol. 579. — P. 5830–5840.



С.П. Пономаренко, В.А. Цыганкова,  
Я.Б. Блум, А.П. Галкин

НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ В РАСТЕНИЕВОДСТВЕ –  
ПРИМЕНЕНИЕ ПРИРОДНЫХ  
ПОЛИКОМПОНЕНТНЫХ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА  
РАСТЕНИЙ С БИОЗАЩИТНЫМ ЭФФЕКТОМ

С использованием метода дот-блот точечной гибридизации обнаружено разницу степеней гомологии между mRNA контрольных растений и малыми регуляторными si/mi RNA, выделенными из проростков пшеницы, кукурузы, сои, сахарной свеклы, нута и др. 2-го поколения, полученных из семян растений, инфицированных и обработанных новыми поликомпонентными регуляторами роста растений Regoplant® и Stimpo® в 1-м поколении. Доведено, что эта разница связана с частичным перепрограммированием генома клеток под влиянием биостимуляторов при выращивании растений на инфицированных фонах, что оказывается в индукции синтеза низкомолекулярных si/miRNA из антипатогенными и антипаразитарными свойствами, которые являются составляющими иммунной системы живого организма.

*Ключевые слова:* устойчивость растений, иммунитет, биостимуляторы роста, si/miRNA. дот-блот-гибридизация.

S.P. Ponomarenko, V.A. Tsygankova,  
Ya.B. Blume, A.P. Galkin

NEW TREND IN CROP PRODUCTION –  
APPLICATION OF PLANT NATURAL  
MULTICOMPONENT GROWTH REGULATORS  
WITH BIOPROTECTIVE EFFECT

With the help of the Dot-blot hybridization the difference in steps of homology between mRNA of control plants and small regulatory si/mi RNA isolated from second-generation plantlets of wheat, corn, soybeans, sugar beets, chick-pea, etc. cultivated from the seeds of plants infected and processed by new polycponent plant growth regulators Regoplant® and Stimpo® in the first generation was found. It is proved that this difference is related to a partial reprogramming of the cell genome under the influence of biostimulators on growing plants with infected backgrounds that turns out in induction of low-molecular si/miRNA with antipathogenic and antiparasitic properties, which are the components of the immune system of a living organism.

*Key words:* plant stability, immunity, growth biostimulators, si/miRNA, Dot-blot hybridization.

Стаття надійшла до редакції 01.07.13