rapidly growing callus. Determination of activity phytohormones-antagonists in primary callus NILs soybean showed that the activity of IAA was higher than the activity of the hormone-antagonist ABA in all isolines regardless of their photoperiodic response. Maximum activity IAA was found in line Clark with shortday reaction, and the minimum - in the isoline L 94-1110 with photoperiodic neutral reaction. As the culture medium doesn't contain native auxins we can assume that endogenous auxin, which is synthesized by primary callus tissues, determines their level of activity. It is a higher level of activity of auxin in shortday isolines, determines their faster rate of the callusogenesis. ABA activity in the callus is slightly lower than auxin in all investigated NILs. Though the connection between photoperiodic response isolines and ABA activity was not found. The results of the study of hormones antagonistic content in primary callus showed that the IAA content far exceeds ABA growth inhibition hormone. Growing, watered, not morphogenic callus characterized by intense growth callus cells both by intense proliferation, and by the expense a specific form of plant cell growth - "Growth stretching," which is determined by IAA physiological effect. It is established, those callus varieties Clark and isolines L 63-3016, L 65-3366, which show shortday photoperiodic response, are characterized by the maximum content of IAA. Isolines with photoperiodic neutral reaction are characterized by lower content IAA in callus. By the content of ABA investigated isolines don't differ significantly, with the exception of Clark, which has a maximum content of both IAA and ABA. The phytohormonal balance indicator of IAA / ABA content for hormone-antagonists is clearly correlated with the photoperiodic response: SD isolines are characterized by higher value comparing to photoperiodic neutral genotypes. The results suggest that E-series genes can be involved in the callusogenesis control indirectly through their phytohormonal balance determination. ***Conclusions.*** Thus, in the course of the studies, we found that IAA activity in primary callus of isogenic soybean lines is higher than the active hormone antagonist - ABA. It is shown that growth stimulation phytohormon content is significantly higher than growth inhibition content in the rapidly growing, watered, not morphogenic callus of all investigated isogenic lines. The ratio of IAA / ABA reflects the phytohormonal balance in primary callus tissues and correlates with the frequency callusogenesis, depending on genotype and photoperiodic response isoline. NILs with a shortday photoperiodic response is characterized by more intense callusogenesis and high rate of IAA / ABA comparing to photoperiodic neutral isolines.

Key words: Glycine max (L.) Merr., E-genes, NILs, photoperiodic response, phytohormonal status, callus

Рекомендує до друку
Н. М. Дробик

Надійшла 27.01.2017

УДК 579.695

О. Г. ГОРШКОВА, Т. В. ГУДЗЕНКО, О. В. ВОЛЮВАЧ

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ШТАМУ *PSEUDOMONAS CEPACIA* ONU-327 – ДЕСТРУКТОРА ФЕНОЛЬНИХ І ВАЖКО ОКИСНЮВАЛЬНИХ СПОЛУК

Експериментально встановлено, що відібраний із забрудненого ґрунтового середовища біохімічно активний непатогенний штам мікроорганізму – ідентифікований як *Pseudomonas cepacia* ONU-327, здатен переносити "залпові навантаження" іонів важких металів. Виявлена висока сорбційно-акумулююча здатність штаму *P. cepacia* ONU-327 у складі біофлокул щодо

Cu (II), Zn (II), Pb (II), Cr (VI) та повна дефенолізація води за його присутності дозволяють рекомендувати цей штам мікроорганізму в біотехнологіях очистки води від різних полютантів.

Ключові слова: Pseudomonas cepacia ONU-327, сорбент іонів важких металів, деструктор фенольних сполук

На сьогоднішній день актуальними залишаються проблеми, пов'язані із охороною навколишнього середовища від високотоксичних хімічних речовин різної природи. Глибоке очищення відпрацьованих технологічних розчинів і стічних вод лише фармацевтичної промисловості, медичних закладів, хімічного, гальванічного виробництва дозволить значно поліпшити екологічний стан, перешкоджаючи потраплянню токсичних фенольних та інших важкоокиснювальних циклічних сполук та йонів важких металів у природні водойми у концентраціях, що перевищують їх гранично допустиму концентрацію (ГДК).

Мета дослідження – запропонувати для використання в біотехнології очистки стічних вод від фенольних і важкоокиснювальних сполук, а також іонів важких металів, непатогенний біохімічно активний штам мікроорганізму з притаманними йому за встановлених оптимальних умов поліфункціональними біотехнологічними властивостями.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктом дослідження слугував біохімічно активний штам мікроорганізму, відібраний із забрудненого ґрунтового середовища. За сукупністю морфологічних, культуральних, фізіолого-біохімічних ознак визначили його приналежність до бактерій роду *Pseudomonas cepacia* ONU-327. Для здійснення мікробіологічного способу очистки води від полютантів бактерії культивували за температури +28 ^{0}C, у живильному середовищі складу (г/л): KH_2PO_4 – 1,5; Na_2HPO_4 – 3; NaCl – 5; NH_4Cl – 1; пептон – 10; глюкоза – 2; дріжджовий екстракт – 5 (pH = 7). Нарощування біомаси здійснювали упродовж 48 год до досягнення щільності культури не менш 5 г/л по сухій біомасі. Залишковий вміст іонів важких металів (ІВМ) у надосадовій рідині визначали атомно-абсорбційним методом на полум'яному атомно-абсорбційному спектрофотометрі «Сатурн» у полум'ї суміші «повітря – пропан – бутан». Концентрацію фенолу в пробах води визначали фотометричним аналізом, суть якого полягає в утворенні забарвлених сполук фенолу з 4-аміноантипірином за присутності гексаціаноферату (III) калію при pH 10,0. Вимірювання проводили на фотокоелектроколориметрі (ФЕК) при довжині хвилі 540 нм. Експерименти здійснювали в п'яти повторах. Статистичну обробку результатів досліджень проводили, використовуючи загальноприйняті методи варіаційної статистики за допомогою програми «Microsoft Office Excel 2003" із визначенням *t*-критерію Стьюдента. Статистично вірогідною вважали різницю при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Експериментально знайдено, що ґрунтовий штам *P. cepacia* ONU-327 виявляв стійкість до порівняно високих концентрацій ІВМ. Встановлено для окремих ІВМ їх концентрації, що є «пороговими» для досліджуваного штаму: Ni (II) – 10 мг/л; Cu (II) – 50 мг/л [1]; Zn (II) – 20 мг/л [3]; Pb (II) – 60 мг/л [4] (рис. 1).

Особливо високу резистентність штам *P. cepacia* ONU-327 виявляв до Pb (II). За встановлених «порогових» концентрацій ІВМ була проведена спроба очистки води від ІВМ іммобілізованими у складі біофлокул клітинами бактерій штаму *P. cepacia* ONU-327 (рис. 2). Сорбційно-акумулююча здатність штаму *P. cepacia* ONU-327 зростає в послідовності: Ni (II) < Cu (II) < Zn (II) < Pb (II). Із рис. 2 видно, що за обробки води мікробіологічним реагентом – *P. cepacia* ONU-327, у складі біофлокул концентрація Pb (II) у воді зменшувалася в найбільшому ступені з 60,0 до 0,03±0,003 мг/л, тобто до ГДК (ступінь очистки води ≥99,9%).

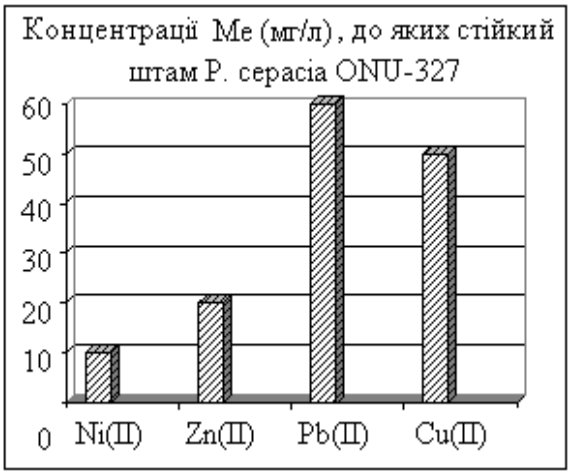


Рис. 1. Концентрації ІВМ (мг/л), до яких штам *P. cepacia* ONU-327 виявляв стійкість

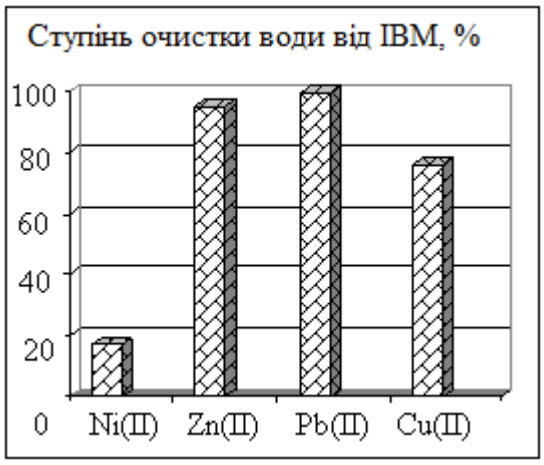


Рис. 2. Ступінь очистки води від ІВМ іммобілізованими клітинами бактерій штаму *P. cepacia* ONU-327

Також експериментально було підтверджено високу ефективність біотехнологічної обробки промислових стоків і стічних вод медичних підприємств з переважним умістом фенольних сполук за допомогою мікробіологічного реагента – штаму *P. cepacia* ONU-327. Для цього його культивували упродовж доби за температури +30 ^{0}C на МПА, бактеріальні клітини суспендували у мінеральне середовище М-9 та в кількості 7,5×10^5 КУО/мл вносили у забруднену фенольними сполуками воду. Без додаткових енерговитрат і введення хімреагентів спостерігалась повна дефенолізація стоків. Запропонований спосіб дозволяє, порівняно з найближчим аналогом [2], досягти за присутності мікробіологічного реагенту – *P. cepacia* ONU-327, ступеня очистки багатокомпонентних за складом природних та промислових вод від фенолів (з концентрацією до 300 мг/л) на рівні 95–99% та на відміну від найближчого аналога на 95-97 % вилучити супутні неорганічні полютанти - такі іони важких металів, як: цинк, свинець, хром шестивалентний [5]. Повна дефенолізація води за температури 30 ^{0}C здійснювалась протягом 18–20 діб (рис. 3).



Рис. 3. Кінетична крива ступеня дефенолізації води (%) за присутності штаму *P. cepacia* ONU-327 в кількості 7,5×10^5 КУО/мл

Відомий спосіб [6], у якому деструктивну очистку стічних вод від фенолів здійснюють методом окиснення перекисом водню в присутності каталізатора, який не потребує попередньої стадії його активації, оскільки як каталізатор використовують глинистий матеріал складу (% мас.): SiO_2 - 74-75; Al_2O_3 – 6-7; сума FeO і Fe_2O_3 – 2-3; TiO_2 – 0,5-1; решта – оксиди лужних та лужноземельних металів, і який викликає розклад перекису водню, що сприяє ефективному руйнуванню фенолу (ступінь очистки води від фенолу складає 97-100%). На жаль, основним недоліком [6] є використання додаткового хімічного окисника, що здатен окиснювати супутні у стічних водах органічні забруднювачі у більш токсичні, ніж вихідні

сполуки, речовини; використання сорбентів (глинистого мінералу, активованого монтморилоніту) не забезпечує глибоке очищення води від інших небезпечних полютантів неорганічної природи (іони важких металів), присутніх у природних та промислових фенол-вмісних стічних водах перелічених вище виробництв. Перевагами розробленого нами способу дефенолізації промислових вод з використанням в якості мікробіологічного реагенту *P. cepacia* ONU-327 є екобезпечність, висока ефективність, простота здійснення, спосіб не викликає вторинного забруднення; є промислово використовуваним, а також не потребує кардинальних змін у технології виробництва.

Висновки

Виявлені поліфункціональні біотехнологічні властивості непатогенного біохімічно активного штаму *P. cepacia* ONU-327 дозволяють запропонувати застосовувати його у складі біопрепаратів, призначених для широкого використання в біотехнологіях очистки концентрованих технологічних розчинів і стічних вод перерахованих вище виробництв від високотоксичних іонів важких металів і фенольних сполук.

1. *Гудзенко Т. В.* Вилучення міді (II) та нікелю (II) із концентрованих водних розчинів глиною, хітозаном та іммобілізованими мікроорганізмами / [Т. В. Гудзенко, О. В. Волювач, Т. О. Бєляєва та ін.] // Мікробіологія і біотехнологія. — 2012. — № 4. — С. 36—43.
2. *Пат. 2174495 Российская Федерация*. МПК C02F 1/72. Способ очистки сточных вод от фенола / Ханхасаева С. Ц., Батоева А. А., Щапова М. А., Рязанцев А. А.; заявитель и патентообладатель: Байкальский институт природопользования СО РАН. — 2000110942/12; заявл. 28.04.2000: опубл. 10.10.2001.
3. *Пат. 90119 Україна*. МПК C02F 1/24. Спосіб мікробіологічного очищення води від іонів цинку / Іваниця В. О., Гудзенко Т. В., Волювач О. В., Бєляєва Т. О., Горшкова О. Г., Конуп І. П., Баранов О. О.; заявник і патентовласник Одеський національний університет імені І. І. Мечникова. — u201315133 ; заявл. 24.12.2013 : опубл. 12.05.2014, Бюл. № 9.
4. *Пат. 106378 Україна*. МПК C02F 3/34. Спосіб мікробіологічної очистки розчинів від іонів свинцю / Іваниця В. О., Горшкова О. Г., Гудзенко Т. В., Волювач О. В., Бєляєва Т. О., Конуп І. П.; заявник і патентовласник Одеський національний університет імені І. І. Мечникова. — u 2015 10227; заявл. 19.10.2015: опубл. 25.04.2016, Бюл. № 8.
5. *Пат. 102265 Україна*. МПК C02F 1/24, C02F 1/50, C02F/ 3/34. Спосіб очищення води від хрому (VI) з використанням мікроорганізмів / Іваниця В.О., Гудзенко Т.В., Волювач О.В., Горшкова О.Г., Бєляєва Т.О., Конуп І.П.; заявник і патентовласник Одеський національний університет імені І. І. Мечникова. — u201503500; заявл. 15.04.2015: опубл. 26.10.2015., Бюл. № 20.
6. *Пат. 74733 Україна*. МПК C02F 1/72. Спосіб деструктивного очищення стічних вод від фенолів / Кашковський В. І., Войновський В. В., Матяш Л. П., Решетар Т. П. — 20040705939; заявл. 19.07.2004: опубл. 16.01.2006, Бюл. № 1.

Е. Г. Горшкова, Т. В. Гудзенко, О. В. Волювач
Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ШТАММА *PSEUDOMONAS CEPACIA* ONU-327 – ДЕСТРУКТОРА ФЕНОЛЬНЫХ И ТРУДНООКИСЛЯЕМЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Экспериментально установлено, что выделенный из загрязненного грунта биохимически активный непатогенный штамм микроорганизма – идентифицированный как *Pseudomonas cepacia* ONU-327, способен переносить «залповые загрузки» ионов тяжелых металлов. Обнаруженная высокая сорбционно-аккумулирующая способность штамма *P. cepacia* ONU-327 в составе биофлокул по отношению к Cu (II), Zn (II), Pb (II), Cr (VI) и полная дефенолизация воды в его присутствии позволяют рекомендовать данный штамм микроорганизма в биотехнологиях очистки воды от различных загрязнителей.

Ключевые слова: Pseudomonas cepacia ONU-327, сорбент ионов тяжелых металлов, деструктор фенольных соединений

O. G. Gorshkova, T. V. Gudzenko, O. V. Voliuvach
I. I. Mechnikov Odessa National University, Odessa, Ukraine

BIOTECHNOLOGICAL PROPERTIES STRAIN *PSEUDOMONAS SEPACIA* ONU-327 - PHENOLIC AND DESTRUCTOR HARD OXIDIZING COMPOUNDS

It was established experimentally that isolated from contaminated soil biochemical activity of the non-pathogenic microorganism strain - identified as Pseudomonas sepacia ONU-327 is capable of transferring "salvo load" of heavy metal ions. The concentrations of individual heavy metal ions were determined, which are "threshold" for the strain under study: Ni (II) - 10 mg/l; Cu (II) - 50 mg/l; Zn (II) - 20 mg/l; Pb (II) - 60 mg/l. The sorption-accumulating capacity of strain P. cepacia ONU-327 is increased in the sequence: Ni (II) < Cu (II) < Zn (II) < Pb (II). Especially high resistance of P. cepacia strain ONU-327 was detected with respect to Pb (II). It was shown that when water was treated with a microbiological reagent - P. cepacia ONU-327 in the bioflocculs, the concentration of Pb (II) in water decreased most from 60.0 to 0.03 ± 0.003 mg/l. The high efficiency of biotechnological treatment of industrial wastewater and sewage of medical enterprises with the main content of phenolic compounds was experimentally confirmed with the help of microbiological reagent - strain P. cepacia ONU-327. Complete dephenolization of water (in the presence of heavy metal ions) at a temperature of 30 ° C was carried out for 18-20 days. Advantages of the developed method of dephenolization of industrial waters using the strain P. cepacia ONU-327 is environmental safety, high efficiency, ease of implementation, does not cause secondary pollution, does not require any drastic changes in production technology. The discovered polyfunctional biotechnological properties of the nonpathogenic biochemical active strain P. cepacia ONU-327 make it possible to recommend it as a part of biologics intended for wide use in biotechnologies of wastewater treatment from highly toxic heavy metal ions and phenolic compounds.

Key words: Pseudomonas sepacia ONU-327, sorbent of heavy metals, phenolic compounds destructor

Рекомендує до друку
Н. М. Дробик

Надійшла 30.01.2017

УДК 5.57.576.4

[1]А. О. ПОТРОХОВ, [3]З. В. ЗУБР, [2]О. П. ТРОХИМЕНКО, [1]Н. А. МАТВЄЄВА

[1]Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України
вул. Академіка Заболотного, 148, Київ, 03680
[2]Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика
вул. Дорогожицька, 9, Київ, 04112
[3]Інститут вірусології Словацької Академії наук
вул. Дубравска, 9, Братислава, Словакія, 84505

ОЦІНКА ПРОТИВІРУСНОЇ АКТИВНОСТІ ЕКСТРАТІВ ІЗ ТРАНСГЕННИХ РОСЛИН ТЮТЮНУ З ГЕНОМ ІНТЕРФЕРОНУ α-2b ЛЮДИНИ

Здійснено оцінку активності екстрактів із трансгенних рослин тютюну з геном інтерферону α-2b людини. Вміст інтерферону становив від 1017 до 2295 пг/г маси загального розчинного білка. При тестування екстрактів, отриманих з трансгенних рослин, на культурі клітин перещеплювальних текстикул поросят (ПТП), яка була інфіковані вірусом везикулярного стоматиту (ВВС), виявили інтерфероноподібну активність від $1{,}553\times10^{-3}$ до $3{,}009\times10^{-3}$ МО/мг. Поряд із цим, рослини не набули стійкості до фітовірусних інфекцій. Інфікування трансгенних рослин різними фітовірусами призводило до розвитку захворювань.